



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO TECNOLÓGICO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA**

JEAN MICHEL PRANDINI

**REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE EFLUENTE SUINÍCOLA
ACOPLADO À PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS POR
MICROALGAS NATIVAS DE *Scenedesmus* spp. E *Chlorella* spp.**

**FLORIANÓPOLIS – SC
2016**

Jean Michel Prandini

**REMOÇÃO DE NUTRIENTES DE EFLUENTE SUINÍCOLA
ACOPLADO À PURIFICAÇÃO DE BIOGÁS POR
MICROALGAS NATIVAS DE *Scenedesmus* spp. E *Chlorella* spp.**

Dissertação submetida ao Programa de Pós
Graduação em Engenharia Química da
Universidade Federal de Santa Catarina,
para a obtenção do Grau de Mestre em
Engenharia Química.

Orientador: Prof. Dr. Hugo Moreira Soares

Coorientador: Prof. Dr. Márcio Luís Busi da
Silva

Florianópolis – SC
2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária
da UFSC.

Prandini, Jean Michel

Remoção de Nutrientes de Efluente Suinícola Acoplado à Purificação de Biogás por Microalgas Nativas de *Scenedesmus* spp. E *Chlorella* spp. / Jean Michel Prandini ; orientador, Hugo Moreira Soares ; coorientador, Márcio Luís Busi da Silva. – Florianópolis, SC, 2016.

145 p

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Santa Catarina, Centro Tecnológico. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química.

Inclui referências

1. Engenharia Química. 2. Purificação de biogás. 3. Microalgas. 4. Efluente suinícola. I. Soares, Hugo Moreira. II. Da Silva, Márcio Luís Busi. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química. IV. Título.

Termo de aprovação

Dedico este trabalho aos meus pais, Clóvis e Idalvina, minha avó Lurdes, meu irmão Jonatas e a Suzane

AGRADECIMENTOS

Primeiramente a Deus pela força, sabedoria e por me abençoar nesta trajetória.

Aos meus pais, Clóvis e Idalvina pelo incentivo, apoio e exemplo. À minha avó Lurdes pela fé transmitida. Ao meu irmão Jonatas por acreditar nas minhas escolhas. À Suzane, minha amada, por ter feito parte de todos os momentos dessa caminhada, me apoiando, incentivando e aconselhando.

Ao professor orientador Dr. Hugo Moreira Soares, pelo companheirismo, orientação e pelos conhecimentos transmitidos.

Ao coorientador Dr. Márcio Luís Busi da Silva pelo companheirismo, orientação, atenção dedicada a este trabalho, incentivo, ensinamentos e também pelo exemplo de pesquisador.

À Dra. Melissa Mezzari, pelo incentivo, apoio no desenvolvimento do projeto, pelos conhecimentos transmitidos e pela valiosa contribuição para o enriquecimento deste trabalho.

À UFSC e a EMBRAPA Suínos e Aves, que viabilizaram a execução deste trabalho, permitindo a interação entre as instituições.

A Eletrosul – ANEEL pelo financiamento desse projeto de pesquisa.

Aos funcionários da Embrapa Suínos e Aves.

Aos todos os colegas e amigos do laboratório LEAA – Embrapa Suínos e Aves, pelo companheirismo e pela contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

Aos colegas e amigos do Laboratório de Tratamento Biológico de Resíduos - LTBR da UFSC.

MUITO OBRIGADO!

RESUMO

O desenvolvimento de microalgas em águas residuais durante a fitorremediação oferece uma maneira barata de cultivo ao mesmo tempo em que reduz os custos com o tratamento e gera biomassa de alto valor agregado. A produtividade das microalgas, bem como a velocidade de consumo dos nutrientes, é limitada à quantidade de CO₂ atmosférico (0,04% v/v), necessário para a fotossíntese. No cenário da suinocultura, o CO₂ pode ser obtido diretamente de biodigestores, sendo que o biogás produzido nestes dispositivos é normalmente composto por 55-75% de CH₄, 20-40% de CO₂ e 1000-5000 ppmv de H₂S. O biogás pode ser fornecido às microalgas durante a fitorremediação do efluente suinícola. Este trabalho avaliou os efeitos do biogás derivado dos efluentes da suinocultura sobre a velocidade de crescimento de um consórcio de microalgas nativas *Chlorella* spp. e *Scenedesmus* spp. em um fotobiorreator em escala laboratorial. Utilizando fotoperíodos de 12 e de 24 horas luz por dia, e biogás ou ar atmosférico como fonte de CO₂, foram investigados os efeitos no crescimento do consórcio algal, com relação à remoção de N e P do digestato suinícola diluído e o efeito de purificação no biogás (remoção de CO₂ e H₂S). Os resultados mostram que a melhor condição foi a do fotoperíodo de 24 horas luz por dia com a utilização de biogás, apresentando crescimento microalgal de $141,8 \pm 3,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, velocidade de remoção de N e de P de $21,2 \pm 1,2$ e $3,5 \pm 2,5 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectivamente, e velocidade de remoção de CO₂ de $219 \pm 4,8 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. O pH das condições utilizando biogás foi controlado, apresentando variação de 6,2 à 8,8, e quando utilizou-se ar atmosférico, a variação foi de 8 à 11,6, assim, a utilização de biogás promoveu também a diminuição da concentração de amônia livre. O fósforo presente no efluente foi consumido rapidamente no início dos testes, contudo, este nutriente não foi limitante no crescimento das microalgas. O H₂S presente no biogás foi efetivamente removido (>99%), entretanto, houve perdas de CH₄ de até 18% v/v do biogás purificado e produção de O₂ de até 25% v/v. A adição de acetato de sódio no meio de cultura controlou a dessorção de O₂ ao biogás. Assim fica comprovado a melhoria do processo de fitorremediação do efluente suinícola utilizando o biogás como fonte de CO₂ ocorrendo simultaneamente à purificação do biogás.

Palavras chave: Purificação de biogás, Microalgas, Efluente suinícola.

ABSTRACT

The proliferation of microalgae in wastewater during phytoremediation offers an inexpensive way of cultivation, at the same time reducing the costs of treatment and generates high added value biomass. The productivity of microalgae, as well as the nutrient uptake velocity, is limited to the amount of atmospheric CO₂ (0.04% v/v) required for photosynthesis. In the scenarios of pig farming the CO₂ can be obtained directly from digesters, and the biogas produced in these devices is usually composed of 55-75% CH₄, 20-35% CO₂ and H₂S 1,000-5,000 ppmv. Biogas can be provided to microalgae during phycoremediation of pig effluent. This study evaluated the effects of secondary biogas from swine effluent on the growth rate of a consortium of native microalgae *Chlorella* spp. and *Scenedesmus* spp. in a photobiorreactor on laboratory scale. Photoperiod conditions were used for 12 and 24 hours light per day, using atmospheric air and biogas as a source of CO₂, were investigated on the growth, the removal of N and P of the diluted pig digestate and the effect of purification of biogas (removal of CO₂ and H₂S). The results show that the best condition was the photoperiod of 24 hours light per day with use of biogas, leading microalgal growth of $141.8 \pm 3.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, N and P removal rate of 21.2 ± 1.2 and $3.5 \pm 2.5 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, respectively, and CO₂ removal rate of $219 \pm 4.8 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$. The pH conditions using biogas was controlled ranging from 6.2 to 8.8, and using atmospheric air ranged from 8 to 11.6, thus, the use of biogas also promoted that the free ammonia concentration was lower. The phosphorus present in the effluent was rapidly consumed at the start of the test, but this is not limiting the growth of microalgae. H₂S present in the biogas was effectively removed (> 99%), but there was a loss of CH₄ up to 18% v/v of purified biogas and O₂ production up to 25% v/v. The use of sodium acetate controlled the desorption of O₂ in biogas. Thus it is demonstrated improvement of phycoremediation process of the pig effluent using the biogas as a source of CO₂ occurring simultaneously with biogas purification.

Keywords: Biogas purification, Microalgae, Piggery wastewater.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura da microalga verde <i>Chlorella sorokiniana</i> (Chlorophyceae).....	31
Figura 2 - Produção de carne suína no Brasil por ano.....	47
Figura 3 - Microalgas <i>Scenedemus</i> spp. (forma oval) e <i>Chlorella</i> spp. (forma esférica) observadas em microscópio óptico a lente ótica de aumento de 1000 vezes. As setas indicam as <i>Chlorella</i> spp.	68
Figura 4 - Fluxograma da Estação de Tratamento de dejetos suínos da Embrapa Aves e Suínos, Concórdia, SC. Os locais destacados indicam os pontos de coleta do efluente e do biogás utilizados presente estudo.	69
Figura 5 - (A) Desenho esquemático do fotobiorreator utilizado, (B) foto do fotobiorreator com lâmpadas LED a 20 cm de distância do fotobiorreator.....	72
Figura 6 - Dados experimentais e regressão linear entre ABS570nm e Clorofila a (A), ABS570nm e Peso seco (B), Clorofila a e Peso seco (C), dos testes preliminares de crescimento das algas.	84
Figura 7 – Crescimento de microalgas cultivadas sob condições de fotoperíodo de 12 e 24 horas luz por dia, com utilização de biogás (A) e cultivada com o fotobiorreator aberto ao ar (B).	87
Figura 8 - Perfil de pH dos ensaios de fotoperíodos de 12 e 24 horas luz por dia, com utilização de biogás e com reator aberto ao ar. As barras de erros representam o desvio padrão da média (n=2).....	91
Figura 9 - Perfis de remoção de nitrogênio amoniacal nos fotoperíodos 12 e 24 horas luz por dia, com utilização de biogás (A) e cultivada com o fotobiorreator aberto ao ar (B).....	93
Figura 10 - Perfis de concentração de nitrogênio amoniacal livre (N-NH ₃ - mg L ⁻¹) dos testes com biogás, com ar, nos fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia.	95
Figura 11 - Perfis de concentração de fosfato (P-PO ₄ ³⁻ - mg L ⁻¹) dos testes com biogás e ar, nos fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia. .	96
Figura 12 - Perfil de concentração de fosfato (P-PO ₄ ³⁻ - mg L ⁻¹) do ensaio (24 horas luz + biogás) com suplementação de P-NaH ₂ PO ₄ (26	

mg L ⁻¹) no efluente diluído. As barras representam o desvio padrão da média (n=2).....	97
Figura 13 - Perfis de concentração de CO ₂ , CH ₄ , e H ₂ S no teste controle abiótico envenenado com o bacteriostático azida de sódio (NaN ₃ – 1g L ⁻¹) (A) e o controle com apenas efluente diluído (B).	99
Figura 14 - Perfis de concentração de C-CO ₂ , COT (Carbono Orgânico Total) e CI (Carbono Inorgânico) no ensaio controle abiótico envenenado com o bacteriostático azida de sódio (NaN ₃ – 1g L ⁻¹) (A) e teste não estéril e sem adição de inóculo de microalgas (B).	101
Figura 15 - Perfis de concentração de CO ₂ e H ₂ S no teste de fotoperíodo de 12 horas luz por dia (A) e no teste com fotoperíodo de 24 horas luz por dia (B).	102
Figura 16 - Acompanhamento de sulfeto de hidrogênio (S-H ₂ S, acumulativo mg.VU _G ⁻¹) e tiosulfato (S-S ₂ SO ₃ ²⁻) somado a sulfato (S-SO ₄ ²⁻) (mg.VU _L ⁻¹) de um dos ensaios utilizando biogás com fotoperíodo de 24 horas luz. VU _G e VU _L são os volumes úteis gasoso e líquido, respectivamente.	104
Figura 17 - Perfis da velocidade específica do crescimento teórico de microalgas ao longo dos ensaios de fotoperíodo de 12 e 24 horas luz por dia utilizando biogás. Os rótulos de dados com ^a representam o teste de fotoperíodo de 12 e ^b se refere ao fotoperíodo de 24 horas luz por dia.	107
Figura 18 - Perfis de crescimento Produção de biomassa cultivada sob condições de fotoperíodo de 12 e 24 horas luz por dia, com utilização de biogás (A) e cultivada com o fotobiorreator aberto ao ar (B).	107
Figura 19 - Perfis de concentração de CH ₄ (%v/v) nos testes de fotoperíodo de 12 e de 24 horas luz por dia.	108
Figura 20 - Perfis de concentração de O ₂ (%v/v) nos testes de fotoperíodo de 12 e de 24 horas luz por dia. A seta indica a adição de acetato de sódio a 1g L ⁻¹ como uma fonte externa de carbono no 17° dia de ensaio.	110
Figura 21 - Correlação entre a remoção de C-CO ₂ cumulativo + CI e produção O ₂ por microalgas cultivadas em fotoperíodo de 12 e 24 horas luz, respectivamente.	111

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição da composição bioquímica típica de uma célula de microalgas	40
Tabela 2 - Usos potenciais da biomassa de Algas-bactérias.	42
Tabela 3 - Composição de dejetos suíno bruto.	48
Tabela 4 -Efeito do tipo de reator, meio de cultura, fotoperíodo, e composição da alimentação de gás na velocidade de crescimento de microalgas, fixação de CO ₂ e produtividade.	59
Tabela 5 - Resultado da caracterização do efluente suíno e do biogás (injetado no fotobiorreator) provenientes do reator anaeróbio (UASB) da ETDS da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia Santa Catarina. O desvio padrão se refere a n = 2 para o efluente e n = 4 para o biogás.....	85
Tabela 6 – Efeito do fotoperíodo e composição da alimentação do gás na velocidade de crescimento específica e (d ⁻¹) e na produtividade (mg L ⁻¹ d ⁻¹) das microalgas.	89
Tabela 7 – Velocidades de remoção de nitrogênio amoniacal por microalgas cultivadas na presença e na ausência de biogás sob diferentes fotoperíodos. As letras indicam diferença estatística entre as condições (p<0,05). Os ± representam o desvio padrão da média (n=2).	94
Tabela 8 - Velocidade de remoção de Fósforo (mg L ⁻¹ d ⁻¹) de diferentes estudos. Espécies de microalgas: ^a – Scenedesmus sp.; ^b – Chlorella sp.; ^c – Chlorogonium sp.. Todos os dados foram estimados por: P _{final} - P _{inicial} (mg L ⁻¹) / período de cultivo. O ± indica o desvio padrão.....	98
Tabela 9 - Mudanças na composição do biogás antes e depois da biofiltração por microalgas. Média ± desvio padrão para cada injeção de biogás. * Possibilidade de maior eficiência com aumento do tempo de retenção de gás no reator.....	113

NOMENCLATURA E SIMBOLOGIA

- %Vi - Percentagem volumétrica da substância analisada (%v/v);
 μ - Velocidade específica de crescimento (d^{-1});
ABS - Absorbância;
AC - Anidrase Carbônica;
ADP - Adenosina Difosfato;
ANOVA - Análise de Variância;
ATP - Adenosina Trifosfato;
C/N - Relação carbono nitrogênio;
CA - Coluna de Absorção;
CCM - Mecanismo de Concentração de Carbono;
CI - Carbônio Inorgânico ($mg L^{-1}$);
CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente;
COT - Carbono orgânico total ($mg L^{-1}$);
DBO - Demanda Bioquímica de Oxigênio ($mg L^{-1}$);
DQO - Demanda Química de Oxigênio ($mg L^{-1}$);
ETDS - Estação de Tratamento de Dejetos Suínos;
FAO - Food and Agriculture Organization of the United Nations;
FS I - Fotossistema I;
FS II - Fotossistema II;
LEAA - Laboratório de Estudos e Análises Ambientais;
M - Massa molar do elemento (mg);
MA - Massa total do determinado elemento presente no reator (mg);
n - Número de mols presente no sistema;
N/P - Relação nitrogênio fósforo;
 NH_3 - Amônia livre ($mg L^{-1}$);
 $N-NH_4^+$ - Nitrogênio na forma de íon amônio ($mg L^{-1}$);
 $N-NO_2^-$ - Nitrogênio na forma de nitrito ($mg L^{-1}$);
 $N-NO_3^-$ - Nitrogênio na forma de nitrato ($mg L^{-1}$);
NT - Nitrogênio total ($mg L^{-1}$);
NTU - Unidades nefelométricas de turbidez;
OD - Oxigênio dissolvido ($mg L^{-1}$);
P - Pressão do sistema (atm);
p < - Similaridade Estatística;
p > - Diferença Estatística;
 P_{max} - Produtividade ou velocidade de crescimento máximo das microalgas ($mg L^{-1} d^{-1}$);
 $P-PO_4^{3-}$ - Fósforo na forma de fosfato ($mg L^{-1}$);

R - Constante dos gases ideais ($\text{atm.L.mol}^{-1}.\text{K}^{-1}$);
RuBisCO - Ribulose Bifosfato Carboxilase;
SPACs -Sistemas de Produção de Animais Confinados;
SST - Concentração de Sólidos Suspensos Totais (mg L^{-1});
SSV - Sólidos Suspensos Voláteis (mg L^{-1});
T - Temperatura do sistema ($^{\circ}\text{K}$);
TRH - Tempo de Retenção Hidráulica (dias);
UASB - Upflow Anaerobioc Sludge Blanket;
V - Volume (L);
 VU_G - Volume útil da fase gasosa (L);
 VU_L - Volume útil da fase líquida (L);
X - Concentração da biomassa (mg L^{-1});
 X_0 - Concentração da biomassa inicial (mgL^{-1}).

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO.....	25
1.1 OBJETIVOS.....	27
1.1.1 Objetivo Geral.....	27
1.1.2 Objetivos Específicos.....	27
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	29
2.1 MICROALGAS.....	29
2.1.2 Chlorophyta – Algas Verdes.....	30
2.2 METABOLISMO DAS MICROALGAS.....	31
2.2.1 Conceito de Fotossíntese.....	32
2.3 NUTRIENTES.....	35
2.3.1 Carbono.....	35
2.3.2 Nitrogênio.....	37
2.3.3 Fósforo.....	39
2.4 BIOMASSA DE MICROALGAS.....	40
2.5 CONDIÇÕES DE CULTIVO.....	43
2.5.1 Luz.....	43
2.5.2 Temperatura.....	44
2.5.3 pH.....	45
2.6 SUINOCULTURA.....	46
2.6.1 Suinocultura e Meio Ambiente.....	47
2.6.2 Legislação.....	49
2.2.3 Geração e purificação de biogás de efluentes suinícolas.....	51
2.7 MICROALGAS E REMEDIAÇÃO DE EFLUENTES.....	54
2.7.1 Biorremediação de efluentes da suinocultura durante o cultivo de microalgas.....	55
2.7.2 Utilização do biogás como fonte de CO ₂ para aumento da produção microalgal e remoção de nutrientes.....	57

3 MATERIAL E MÉTODOS.....	67
3.1 OBTENÇÃO DO INÓCULO.....	67
3.2 OBTENÇÃO DO MEIO DE CULTURA E DO BIOGÁS.....	68
3.3 FOTOBIOREATOR (FBR).....	70
3.4 ENSAIOS REALIZADOS.....	72
3.5 METODOLOGIAS E TÉCNICAS LABORATORIAIS.....	74
3.5.1 Biomassa de Microalgas.....	74
3.5.2 Íons Nitrogenados, Fosfato, Sulfato e Tiosulfato, Carbono Inorgânico (CI) e Carbono Orgânico Total (COT).....	75
3.5.3 Cálculo da concentração de amônia livre.....	75
3.5.4 Análise e quantificação da massa dos gases.....	76
3.5.5 Cálculo da quantidade de sulfeto de hidrogênio (H ₂ S) aplicado.....	77
3.5.6 Análise da Clorofila <i>a</i>	77
3.5.7 Crescimento teórico com base no carbono presente no sistema.....	78
3.5.8 Velocidade específica de crescimento.....	79
3.5.9 Velocidade média de crescimento de microalgas.....	79
3.5.10 Remoção de CO ₂	80
3.5.11 Análise Estatística.....	81
4 RESULTADOS E DISCUSÃO.....	83
4.1 ESTUDO DA RELAÇÃO BIOMASSA SECA, Clorofila <i>a</i> E ABSORBÂNCIA À 570nm (ABS _{570nm}).....	83
4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE E DO BIOGÁS UTILIZADO.....	85
4.3 TESTES DE CRESCIMENTO UTILIZANDO FOTOPERÍODO DE 12 E 24 HORAS LUZ POR DIA COM SUPLEMENTAÇÃO DE BIOGÁS OU AR ATMOSFÉRICO.....	86
4.3.1 Avaliação da carga de H ₂ S aplicada.....	90
4.4 PERFIS DE pH.....	91

4.5 REMOÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL E VARIAÇÃO DO NITROGÊNIO AMONIAICAL LIVRE.....	92
4.6 REMOÇÃO DE FÓSFORO E TESTE COM ADIÇÃO DE FÓSFORO.....	96
4.7 PURIFICAÇÃO DO BIOGÁS.....	99
4.7.1 Controle Abiótico e Biológico do Biogás.....	99
4.7.2 Remoção de CO ₂ e H ₂ S.....	101
4.7.3 Balanço de enxofre.....	104
4.7.4 Balanço de Carbono – Crescimento teórico de microalgas.....	106
4.7.5 Perfis de CH ₄ e O ₂	108
5 CONCLUSÕES.....	115
6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	117
7 REFERÊNCIAS.....	119
ANEXOS.....	143

1 INTRODUÇÃO

As algas são uma fonte de biomassa atraente em virtude de alguns benefícios particulares, tais como: potencial para produção de biocombustíveis, composição de produtos alimentícios, composição de produtos fármacos, produção de vitaminas, etc. Além disso, as microalgas não competem com as culturas agrícolas para produção de alimentos, pois podem ser cultivadas em terras não aráveis, além de terem rápido crescimento e rendimento por unidade de área (ZENG et al., 2015; KUMAR et al., 2010). Podem ser produzidas pela utilização dos nutrientes presentes em águas residuárias (CHEAH et al, 2014; CHIU et al, 2015; MEZZARI et al, 2013), além de possuírem elevada velocidade de fixação de CO_2 (10 a 50 vezes maior do que as plantas terrestres) de distintas fontes, como gases de combustão.

A suinocultura representa uma atividade geradora de efluentes, os quais podem ser utilizados como meio de cultura para produção de microalgas. Estes efluentes são potencialmente poluidores, podendo causar eutrofização e contaminação dos solos, em virtude de elevadas concentrações de matéria orgânica e nutrientes, além de patógenos (FAO, 2005). Contudo, no cenário de produção de microalgas, a utilização desses efluentes como meio de cultura tem sido bastante pesquisada e tem demonstrado ser vantajosa, pois é uma maneira eficaz de cultivo que pode reduzir os custos operacionais e de infraestrutura para produção de biomassa, além de promover a remoção dos poluentes presentes (fitorremediação) (CANTRELL et al., 2008; CAI et al., 2013; HU et al., 2012; MEDEIROS et al., 2015; CHIU et al, 2015).

Além disso, a utilização de efluentes para cultivo de microalgas contém alguns benefícios intrínsecos devido à capacidade das microalgas crescerem em conjunto com outros microrganismos (como bactérias) sem necessidade de esterilização do efluente (RAWAT et al., 2011). Desta forma, pode ocorrer simbiose entre microalgas e bactérias em virtude da oxigenação fotossintética promovida pelas microalgas e consequente utilização pelas bactérias heterotróficas para degradação de material orgânico, liberando CO_2 às microalgas (OSWALD e GOTAAS, 1957).

As condições ambientais de cultivo como luz, disponibilidade de CO_2 , temperatura e agitação, afetam diretamente a produtividade das microalgas e consequentemente as velocidades de consumo de nutrientes (KUMAR et al., 2010). Em específico, a disponibilidade de

CO₂ é bastante relevante, uma vez que os níveis de CO₂ atmosférico são baixos (0,04% v/v) para suportar elevadas taxas de fotossíntese (ABEDINI-NAJAFABADI et al., 2015; CHENG et al., 2015). À vista disso, o uso de fonte externa de CO₂ tem sido demonstrado promissor para incrementar a produção de microalgas e também a fitorremediação, sendo que fontes ricas em CO₂ (exemplo gases de combustão) podem estar disponíveis a baixos custos ou até mesmo trazerem vantagens econômicas, dependendo da distância da fonte (SWARNALATHA et al., 2015; TONGPRAWHAN et al., 2014; ZHOU et al., 2014).

A biodigestão anaeróbia é um método bastante disseminado para promover a estabilização dos dejetos suínos. Este tratamento gera o digestato (com elevadas concentrações de nitrogênio e fósforo) como efluente final e o biogás, o qual contém elevadas concentrações de CH₄ (55-70%) e de CO₂ (30-40%), além de contaminantes como o H₂S (até 1%) (APPELS et al., 2008).

Neste sentido, a produção de microalgas a partir de digestato suínico pode ser beneficiada pela utilização da elevada concentração de CO₂ presente no biogás. A maximização da produção de microalgas no cenário proposto poderia conduzir a um maior rendimento das algas e taxas elevadas de remoção de nutrientes. No processo, o CO₂ e outros contaminantes do biogás, como o tóxico e corrosivo H₂S, podem ser eliminados simultaneamente (BAHR et al., 2014; SEREJO et al., 2015; POSADAS et al., 2015), levando ao final, um aumento do valor do biogás em virtude da remoção dos compostos indesejáveis.

Nessa perspectiva, diversas pesquisas tem sido realizadas com o foco de integração da utilização de efluentes e de fontes alternativas de CO₂ para o cultivo de microalgas. Entretanto, se tratando da utilização dos efluentes e do biogás derivados dos dejetos suínos para a fitorremediação, existem poucos trabalhos que os mencionam. Além disso, o H₂S presente no biogás tem sido mencionado por alguns autores, por causar efeitos tóxicos ao crescimento das microalgas em determinadas concentrações (KAO et al., 2012a; SHILTON, 2005; KÜSTER et al., 2005; GUPTA et al., 2014).

Neste contexto, o presente estudo visa contribuir para a avaliação de espécies nativas de microalgas aplicadas a fitorremediação dos efluentes da suinocultura utilizando biogás como fonte de CO₂. Este estudo também é motivado por representar uma possível alternativa aos processos convencionais de purificação de biogás, os quais possuem custos de produção.

1.1 OBJETIVOS

1.1.1 Objetivo Geral

Avaliar o crescimento de espécies nativas de microalgas utilizando biogás como fonte de CO₂ durante fitorremediação de efluente suinícola após tratamento por digestão anaeróbia, sob distintas condições de fotoperíodo.

1.1.2 Objetivos Específicos

- Comparar o efeito e comparar a utilização do biogás e do ar atmosférico como fonte de CO₂ no crescimento e na remoção de N e P de digestato suinícola por um consórcio de espécies nativas de *Scenedesmus* spp. e de *Chlorella* spp.
- Comparar o efeito do fotoperíodo de 12 e de 24 horas de luz por dia nas velocidades de crescimento, remoção de N e P de digestato suinícola e na remoção de CO₂ e H₂S do biogás.
- Verificar a existência de limitação de crescimento microalgal pela quantidade de P presente no efluente diluído.
- Demonstrar eficiência do processo na remoção de H₂S e CO₂ do biogás com intuito de estabelecer o processo como purificação do biogás.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 MICROALGAS

Ficologistas consideram quaisquer organismos com clorofila, porém sem raízes, caules e folhas, como sendo algas. Algas podem ser multicelulares ou unicelulares. As multicelulares, chamadas de macroalgas podem possuir estrutura contendo talo e são fixas no substrato. Algumas espécies podem chegar a 60 metros de comprimento. Já as unicelulares, vivem em suspensão no meio líquido e possuem dimensões microscópicas. (CARLSSON et al., 2007).

Dentre os tipos básicos de microalgas existem as cianobactérias bactérias fotossintéticas (bactérias fotossintéticas), que são organismos com estrutura interna simplificada com organelas desprovidas de membranas (organismos procariontes), e as demais microalgas são organismos com maior complexidade estrutural, apresentando estruturas delimitadas por membranas (eucariontes) (LEE, 2008). Elas estão distribuídas principalmente nas águas, mas também são encontradas na superfície de todos os tipos de solos. Embora apresentem na maioria das vezes vida independente, algumas microalgas vivem em associação simbiótica com uma variedade de outros organismos (TOMASELLI. L, 2004).

Na maioria dos habitats, as microalgas têm a função de produtor primário na cadeia alimentar, produzindo matéria orgânica através da luz solar, dióxido de carbono, e água. Além de formar a fonte básica de alimentos para as cadeias alimentares, elas também produzem o oxigênio necessário para o metabolismo dos organismos consumidores (LEE, 2008). Desta forma, o grande interesse no uso das microalgas reside no seu potencial de utilização de distintas formas, como na geração de biomassa para alimentos, rações, produtos químicos, bem como na remediação de efluentes carregados com nutrientes, que são aproveitáveis pelas mesmas para seu crescimento (CHU, 2012).

As investigações sobre fotossíntese começaram há quase 350 anos. Entretanto, somente no século XX a fotossíntese de microalgas foi estudada como um processo produtivo, utilizando a *Chlorella* sp. como organismo modelo. Estes estudos se deram principalmente por volta da década de 1940, quando microalgas foram cultivadas em quantidades maiores, objetivando algumas finalidades como a produção de lipídios,

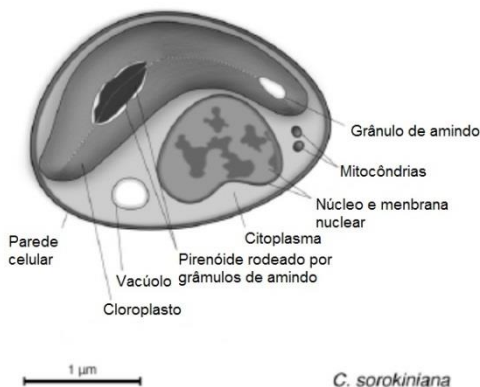
para a produção de energia utilizando efluentes gasosos, produção de substâncias antimicrobianas, a produção de vários produtos bioquímicos, e foram feitos planos para usar algas para tratamento de efluentes. (GROBBELAAR, 2010).

2.1.2 Chlorophyta – Algas Verdes

A classificação das algas baseia-se em várias propriedades, tais como a pigmentação, a natureza química do produto de armazenamento fotossintético, a organização das membranas fotossintéticas e outras características morfológicas. (CARLSSON et al, 2007).

A divisão de microalgas correspondente as Chlorophyta que tem cerca de 7.000 espécies, sendo que a maioria ocorrem em água doce (90%), incluindo lagos, lagoas, córregos e áreas úmidas, onde elas podem ter crescimento estimulado nas condições de poluição por nutrientes, o restante ocorre em água salgada (LELIAERT et al, 2012). Sua organização celular é eucariota, e a morfologia é variada incluindo desde formas unicelulares (Figura 1), flageladas ou não, até formas coloniais, filamentosas e parenquimatosas. A maior parte das algas verdes é microscópica, porém algumas espécies, tais como os do gênero *Cladophora*, são pluricelulares macroscópicas. Entre outras características das algas verdes, têm-se: paredes celulares construídas em sua maior parte de celulose, com alguma incorporação de hemicelulose e carbonato de cálcio em algumas espécies; as reservas de alimento de algas verdes é o amido, podendo este ser armazenado em um compartimento chamado pirenoide; microalgas podem ter duas ou mais organelas conhecidas como flagelos, que são utilizados como uma forma de locomoção; os pigmentos fotossintéticos de algas verdes são clorofilas *a* e *b*, e seus pigmentos acessórios são os carotenóides e as xantofilas (LEE, 2008).

Figura 1 - Estrutura da microalga verde *Chlorella sorokiniana* (Chlorophyceae).



Fonte: Gojkovic et al., 2015.

A divisão Chlorophyta possui quatro classes importantes, que são a Prasinophyceae (Micromonadophyceae), Charophyceae, Ulvophyceae, e as Chlorophyceae. As Chlorophyceae merecem destaque quanto sua utilização, algumas das principais características destas classe de microalgas, como a do gênero *Chlorella* Beyerinck, são a adição em alimentos naturais —“health food”, a espécie *Dunaliella salina* Teodoresco, é utilizada principalmente para a obtenção de betacaroteno e *Haematococcus pluvialis* Flotow para a obtenção de astaxantina (BECKER, 2004).

2.2 METABOLISMO DAS MICROALGAS

A forma de como as algas obtêm sua energia, ocorrem predominantemente nas formas autotróficas e/ou heterotróficas. Os organismos autotróficos são aqueles que obtêm sua energia através da absorção da energia da luz, e reduzem CO_2 pela oxidação de substratos, principalmente de água, com a liberação de O_2 . Já no metabolismo heterotrófico, a obtenção de energia ocorre a partir da utilização de compostos orgânicos produzidos por outros organismos (GROBBELAAR, 2013; LEE, 2008).

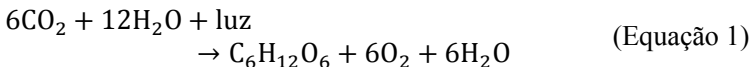
Além destes, existe também o crescimento mixotrófico, que é equivalente à autotrofia e a heterotrofia, onde ambos, compostos orgânicos e CO₂ são necessários para o crescimento. Neste tipo de metabolismo não existe diferenciação definitiva entre autotrofia e heterotrofia, com exceção em total escuridão, onde heterotrofia predominará (GROBBELAAR, 2013).

Dados da literatura mostram que a velocidade específica de crescimento em culturas de microalgas nas formas autotróficas, heterotróficas e mixotróficas variam de 0,2-0,7 d⁻¹, 0,4-0,9 d⁻¹ e 0,3-0,6 d⁻¹, respectivamente. A velocidade de crescimento das microalgas na condição heterotrófica é significativamente maior do que nos outros tipos de cultivos, embora seja dada importância também ao metabolismo autotrófico, onde as capacidades de remoção de nitrogênio e fósforo são mais elevadas que heterotroficamente (KIM et al, 2013).

Cada tipo de metabolismo tem suas vantagens e desvantagens. Nos cultivos autotróficos, se tem limitação do crescimento pela disponibilidade de luz, a luminosidade diminui à medida que aumenta a densidade de microalgas. Isto também resulta em limitação da remoção de nutrientes da água residual, ou meio de cultura. No caso de culturas heterotróficas e mixotróficas de microalgas, os meios de culturas são fáceis de serem contaminados com bactérias, sendo que os níveis de bactérias podem facilmente chegar a patamares que inibem o crescimento das microalgas (KIM et al, 2013; PEREZ-GARCIA, 2011).

2.2.1 Conceito de Fotossíntese

A forma de que plantas, algas e cianobactérias obtêm sua energia comumente ocorre pelo processo de fotossíntese, o qual utiliza água, luz e carbono inorgânico para produção de energia química através de uma série de reações que ocorrem em organelas denominadas cloroplastos (IVERSON, 2006; KE, 2001). A fotossíntese significa síntese de compostos orgânicos pela luz. Esta propriedade é atribuída somente aos seres autotróficos (vegetais), capazes de capturar, transformar e armazenar a energia (VIEIRA et al, 2010; FALKOWSKI e RAVEN, 2007). De forma geral, a fotossíntese pode ser descrita pela Equação 1:



O processo de fotossíntese ocorre integralmente em organelas especializadas, denominadas cloroplastos. Os cloroplastos contêm os pigmentos (clorofilas, carotenoides e ficobilinas) que captam a luz, e os carregadores de elétrons responsáveis pelas reações fotoquímicas e bioquímicas (VIEIRA et al, 2010; STREITI et al, 2005).

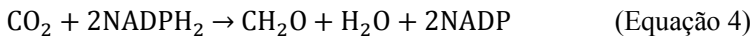
O processo fotossintético pode ser considerado como sendo uma reação de oxirredução, onde o carbono do CO₂ é reduzido (ganha elétrons) a compostos orgânicos, e a molécula de água é fotoxidada (perde elétrons). Todo gás carbônico necessário para o processo fotossintético chega aos cloroplastos na forma de dióxido de carbono dissolvido, ácido carbônico, ou um sal deste ácido (VIEIRA et al, 2010).

O processo fotossintético pode ser dividido em duas partes, as reações claras (fotoquímicas) e as reações escuras (bioquímicas). Nas reações claras, a energia da luz é captada por pigmentos fotossintéticos, principalmente pelas clorofilas, mas também por carotenóides, ambos possuem capacidade de absorver os fótons, e com isso, migrar de um estágio de energia eletrônica (níveis rotacionais e de vibração) para outro (KIRK et al, 2011; VIEIRA et al, 2010). Com isso se tem o desprendimento de um elétron da molécula de clorofila e, conseqüentemente, ocorre a fotólise da molécula de água, para repor o elétron perdido pela molécula de clorofila, liberando duas moléculas de oxigênio e dois hidrogênios. O hidrogênio passa ao longo de uma série de transportadores de hidrogênio, de modo que NADP é reduzido para NADPH₂. Associado a este transporte de hidrogênio, também há o transporte de elétrons no aparato fotossintético, ocorrendo a conversão de ADP e fosfato inorgânico à ATP. (KIRK et al, 2011). Desta forma podem-se resumir as reações que geram moléculas energéticas da fase clara pelas Equações 2 e 3:



As reações escuras ocorrem no estroma do cloroplasto, o NADPH₂ produzido nas reações de fase clara é usado para reduzir o CO₂ ao nível de hidratos de carbono, por meio de uma série de reações, durante o ciclo de Calvin. No ciclo de Calvin, CO₂ e água do ambiente

são combinados através da enzima ribulose bifosfato carboxilase/oxigenase (RuBisCO), com uma molécula aceptora (ribulose-1,5-bifosfato, abreviado RuBP) contendo cinco átomos de carbono, para gerar duas moléculas de um intermediário com três carbonos (3-fosfoglicerato). Esse intermediário é reduzido a carboidrato, utilizando ATP e o NADPH, gerados fotoquimicamente. O ciclo é completado pela regeneração do acceptor de cinco carbonos (ribulose-1,5-bifosfato, abreviado RuBP). Também é importante ressaltar que, a enzima RuBisCO, como indica seu nome, possui afinidade tanto para CO₂, como para o O₂ (TAIZ e ZEIGER, 2006). As reações escuras podem ser resumidas pelas Equações 4 e 5:



Consequentemente, pode-se afirmar que, a fotossíntese é limitada pela baixa concentração de CO₂ e de quantidade de luz disponibilizada (2.5.1). Ou seja, a elevação na concentração de CO₂, resulta na intensificação da fotossíntese. Deste modo, a injeção de CO₂ em culturas de algas é uma prática conhecida e difundida, para aumentar a produção da biomassa de algas (FERNANDEZ et al, 2012).

Em paralelo à fotossíntese ocorre a fotorrespiração, que representa um processo que compete para carboxilação, onde o carbono orgânico é convertido em CO₂, sem qualquer ganho metabólico. Tem sido muitas vezes considerado um processo de desperdício, mas também, como um componente para auxiliar a fotossíntese, e por conseguinte, o ciclo global do carbono (BAUWE et al., 2012). Neste processo, as funções da Rubisco é uma oxigenase, catalisando a reação de O₂ com a ribulose para formar fosfoglicolato, o qual segue para uma via glicolítica, onde há consumo de O₂, e formação de CO₂, gerando gasto de ATP. A fotorrespiração depende das concentrações relativas de oxigênio e CO₂. Enquanto que uma relação alta de O₂/CO₂ (elevada concentração de O₂, e baixa concentração de CO₂) estimula a fotorrespiração, e uma relação CO₂/O₂ baixa favorece carboxilação. Assim, sob alta irradiância, alto nível de oxigênio e CO₂ reduzido, o equilíbrio da reação é deslocado para a fotorrespiração.

Organismos fotossintéticos se diferem significativamente em suas taxas de fotorrespiração, em algumas espécies, pode ser tão elevada

como 50% da fotossíntese líquida. Para ótimos rendimentos em culturas de microalgas, é necessário minimizar os efeitos do fotorrespiração. Isto pode ser alcançado por uma remoção eficaz de oxigênio, e pelo enriquecimento de CO₂. Por esta razão, as culturas de microalgas são tipicamente cultivadas a uma relação muito mais elevada de CO₂/O₂ do que encontrado no ar (MASOJÍDEK et al., 2004).

2.3 NUTRIENTES

Os elementos mais importantes para o crescimento das microalgas, incluem o carbono, o nitrogênio e o fósforo. A fórmula estequiométrica média mais comum para os elementos presentes em uma microalga é C₁O_{0.48}H_{1.83}N_{0.11}P_{0.01}, e as formas assimiláveis destes elementos devem estar presentes no meio nestas proporções para o crescimento ideal (LARSDOTTER, 2006; CHISTI, 2007).

2.3.1 Carbono

O dióxido de carbono é, usualmente, a principal fonte de carbono para o cultivo fotossintético de microalgas. O CO₂ pode ser transferido continuamente ou intermitentemente da fase gasosa para a fase líquida do meio de cultura. A reatividade do gás carbônico em soluções aquosas estabelece vários equilíbrios em seu contato com a água (JACOB LOPEZ, 2007). A concentração de CO₂ na fase gasosa não reflete, necessariamente, a concentração de CO₂ que a microalga é exposta no meio líquido, isto depende do pH e do gradiente de concentração de CO₂ criado pela resistência à transferência de massa entre as duas fases (KUMAR et al., 2010). De acordo com a Lei de Henry, a concentração de CO₂ dissolvido em solução aquosa (dCO₂) está em equilíbrio com a pressão parcial do CO₂ atmosférico (pCO₂) e isto depende de vários fatores ambientais como a temperatura, os níveis de Ca²⁺, Mg²⁺ e salinidade (BABA e SHIRAIWA, 2012).

O CO₂ se dissocia no líquido de acordo com o sistema tampão CO₂-H₂CO₃^{*}-HCO₃⁻-CO₃²⁻ que por sua vez, é um dos melhores meios disponíveis para controlar, e manter os níveis de pH específicos para as espécies cultivadas. O sistema tampão carbonato-bicarbonato pode fornecer CO₂ para a fotossíntese através das seguintes reações:



Em águas doces naturais e marinhas, este sistema químico constitui o principal sistema de tamponamento. O consumo de carbono inorgânico através da fotossíntese, resulta na destruição da capacidade de tamponamento, que conduz a um aumento de pH (GOLDMAN et al., 1981). Não é incomum que a medida de pH chegue a níveis de 11 na produção de algas de alta densidade, quando não são disponíveis fontes adicionais de CO_2 (GROBBELAAR, 2013; BABA e SHIRAIWA, 2012).

A capacidade de fixação de CO_2 pelas microalgas é de cerca de 10 a 50 vezes maior do que as plantas terrestres, principalmente devido as microalgas conterem mais clorofila por unidade de área (RAEESOSSADTI et al., 2014; CHEAH et al., 2015). As microalgas são capazes de utilizar três diferentes vias de assimilação de carbono inorgânico: (1) assimilação direta do dióxido de carbono através da membrana plasmática; (2) utilização de bicarbonato através da indução da enzima anidrase carbônica (AC), que converte os íons HCO_3^- em CO_2 ; (3) transporte de bicarbonato diretamente através da membrana plasmática. As enzimas AC e a enzima RuBisCO são as responsáveis pela biocatálise destas reações (JACOB LOPEZ, 2007; LARSDOTTER, 2006).

A forma com que as diferentes espécies de microalgas se adaptam a uma ampla faixa de concentração de dióxido de carbono, está relacionada com um mecanismo biofísico essencial, denominado de mecanismo de concentração de carbono (CCM), que concentra o dióxido de carbono nos sítios de carboxilação fotossintéticos (HOLLAND et al., 2012; JAISWAL; KASHYAP, 2002). Estes mecanismos estão relacionados aos transportadores de carbono inorgânico através da membrana plasmática, no cloroplasto e também pelas anidrases carbônicas (BABA e SHIRAIWA, 2012). A partir deste mecanismo, as microalgas e cianobactérias podem exibir alta afinidade fotossintética por CO_2 quando submetida a condições baixas de CO_2 .

Por outro lado, a tolerância das espécies de microalgas para uma dada concentração de CO₂ é variável. Algumas espécies de microalgas possuem alta tolerância às elevadas concentrações de CO₂ (exemplo: *Chlorella* sp., *Scenedesmus* sp., *Nannochloropsis* sp., e *Chlorococcum* sp.). Apesar de que para o crescimento adequado para *Chlorella* sp. a quantidade de CO₂ é de cerca de 5%, a concentração de CO₂ otimizada para a maioria das espécies de microalgas, geralmente está entre 0,038-10% (v/v) (CHIU et al. 2008). Embora concentrações muito elevadas de CO₂ poderem inibir espécies de microalgas e cianobactérias, algumas espécies isoladas de ambientes extremos (espécies adaptadas) podem crescer rapidamente com tolerância em concentrações de CO₂ extremamente elevados, tais como >40% (ZHAO e SU, 2014; BABA e SHIRAIWA, 2012). Contudo, sob determinadas condições, como por exemplo mixotróficas, é importante mencionar que algumas espécies de microalgas podem metabolizar, além das formas de carbono inorgânico, uma variedade de compostos orgânicos, incluindo os açúcares, melão, ácido acético, assim como compostos presentes nas águas residuais e petróleo (KUMAR, et al, 2010).

2.3.2 Nitrogênio

O nitrogênio é um nutriente essencial para a produção de biomassa de algas, sendo um integrante chave de muitos componentes celulares das algas, tais como alcalóides, amidas, aminoácidos, proteínas, DNA, RNA, enzimas e vitaminas, representando 1 a 10% da biomassa total (massa seco) de algas, dependendo da disponibilidade. A maioria das microalgas são espécies capazes de utilizar uma variedade de fontes de nitrogênio, incluindo o nitrogênio orgânico (por exemplo, ureia, glicina, glutamina, peptona, extrato de levedura, etc.) e nitrogênio inorgânico (por exemplo, amônia, nitrato, nitrito etc.) (ZHOU, W, 2014).

Amônia é considerada a forma preferencial de nitrogênio assimilado pelas microalgas, elas assimilam NH₃ pela via glutamina sintetase (GS) ciclo sintetase-glutamato (GOGAT), e em muitas algas verdes, em certas condições, pela via NADP-glutamato desidrogenase (HELLEBUST e AHMAD, 1989). Nitrito e nitrato também podem ser utilizados pelas microalgas, através das enzimas nitrato redutase e nitrito redutase, respectivamente. Nitrato redutase utiliza a forma reduzida da

nicotinamida adenina dinucleótido (NADH) para transferir dois elétrons, resultando na conversão de nitrato em nitrito. Nitrito é reduzido para amônia por nitrito redutase e ferredoxina (Fd), um total de seis elétrons transferidos nesta reação. Assim, todas as formas de nitrogênio inorgânico são em última instância, reduzidas a amônia, antes de serem incorporados dentro do fluido intracelular (CAI et al, 2013).

Amônia não é só consumida pelo metabolismo celular, mas também por volatilização, onde uma quantidade significativa de amônia pode ser volatilizada pelo aumento do pH e da temperatura (deslocamento de NH_4^+ para NH_3). Para exemplificar Garcia et al. (2000) mostraram que a remoção de amônia ocorria principalmente pela assimilação de algas em tanques de alta taxa de crescimento. Contudo, também foi relatado que quando os tanques foram expostos ao clima quente, a volatilização de amônia foi acelerada, mesmo quando o pH estava abaixo de 9.

Ao contrário do NH_4^+ (amônio), o NH_3 (amônia) é altamente permeável nas membranas biológicas, através da bicamada lipídica, e também por meio de aquaporinas e outras proteínas específicas (COLLOS et al. 2014). A taxa de absorção de NH_3 não depende apenas da velocidade de difusão através da parede da célula, mas também, sobre a diferença entre a concentração no interior e no exterior das células. O NH_3 é assumido como sendo um composto tóxico as microalgas, principalmente quando a relação $\text{NH}_3/\text{NH}_4^+$ aumenta nas culturas. O NH_3 provoca inchaço e lise osmótica das células além disso, foi encontrada em algumas espécies, inibição na fotossíntese (NOKKAEW, A., et al 2013). Drath et al. (2008) relatam que a amônia desencadeia danos do fotossistema II (PSII) o que resulta em fotoinibição. Em um experimento com cianobactéria *Synechocystis* sp., em pH 8,8 (onde quase a metade do N amoniacal é NH_3) foi evidenciado que a atividade do PSII não foi afetada com 140 mg N- NH_3 L⁻¹, entretanto, com 840 mg N-amoniacal L⁻¹, as células mantiveram somente 20% de atividade no PSII. De acordo com Tam e Wong (1996), concentrações entre 20 e 250 mg de N-amoniacal L⁻¹ não geram diferenças significativas no crescimento de *Chlorella vulgaris* em pH ácido. Entretanto, em concentrações de 500 a 1000 mg de N-amoniacal L⁻¹, foi possível observar inibição no crescimento das microalgas. Contudo, Azov e Goldman (1982) reportam que a fotossíntese microagal é inibida a concentrações baixas de cerca de 28 mg N-amoniacal L⁻¹ em cultura de pH acima de 8.

As várias velocidades de crescimento, causadas por diferentes intensidade de inibição por NH_3 , podem estar relacionadas às respostas fisiológicas transitórias de curto prazo, através mudanças nas concentrações de NH_3 que podem ocorrer ao longo de algumas horas. Estas respostas de curto prazo, podem ou não, traduzir-se em mudanças na composição da comunidade em um longo prazo, já que um período transiente de lag/indução/aclimatação pode influenciar o resultado da competição das espécies no cultivo (COLLOS et al. 2014).

2.3.3 Fósforo

O fósforo é um nutriente muito importante para metabolismo das algas e muitos processos celulares, tais como, a transferência de energia, biossíntese de ácidos nucleicos, lipídios, proteínas e intermediários do metabolismo de carboidratos. Durante o metabolismo das microalgas, o fósforo, de preferência nas formas de dihidrogenofosfato (H_2PO_4^-) e hidrogenofosfato (HPO_4^{2-}), é incorporado em compostos orgânicos através da fosforilação, envolvendo a transformação da adenosina difosfato (ADP) para a adenosina trifosfato (ATP) (MARTINEZ et al, 1999).

Embora a biomassa de microalgas possua menos do que 1% de fósforo, este nutriente pode muitas vezes limitar o crescimento microalgal. Isto porque o fósforo é facilmente ligado à outros íons (por exemplo, cálcio e ferro), resultando na sua precipitação e, por conseguinte, tornando este essencial nutriente indisponível para absorção pelas algas (CAI et al, 2013). Contudo, as algas são também capazes para armazenar fósforo de forma excessiva na forma de polifosfatos, durante a chamada captação de luxo (*Luxury Uptake*) (GROBBELAAR, 2013). Além disso, a temperatura e a intensidade de luz são fatores que contribuem no armazenamento de fósforo nas células microalgais. Powell et al. (2008) demonstraram que o teor de fósforo de uma cultura contínua de algas cultivadas em mistura de água residuária sintética em laboratório, podia variar entre 0,41 e 3,16% do conteúdo da biomassa seca de microalgas dependendo das condições a que estão expostos. No mesmo experimento, Powell observou que o incremento de temperatura resulta em um acúmulo de fósforo na forma de polifosfato. Contudo, promovendo o aumento na luminosidade, o efeito é negativo, ou seja, a biomassa é estimulada a aumentar sua taxa

metabólica, necessitando usar polifosfato para geração de constituintes celulares.

2.4 BIOMASSA DE MICROALGAS

É convencional considerar quatro classes principais da constituição bioquímica das microalgas: carboidratos, proteínas, ácidos nucleicos e lipídios (Tabela 1). Estes grupos são semelhantes aos encontrados em outros organismos, contudo, as algas fornecem uma excepcional diversidade de biomoléculas, apresentando grande interesse comercial, como consequência, as algas são cultivadas para o propósito de obtenção destes compostos (WILLIAMS e LAURENS, 2010; ANDERSEN, 2004).

Tabela 1 - Distribuição da composição bioquímica típica de uma célula de microalgas

Composição bioquímica	Função	Proporção mássica (%)
Proteínas	Estrutura e metabolismo	40-60
Lipídeos	Estrutura e reservatório energético	5-60
Carboidratos	Estrutura e reservatório energético	8-30
Ácidos nucleicos	Suporte, vetor e regulador da informação genética	5-10

Fonte: Axelsson et al. 2012.

Historicamente, o primeiro cultivo de microalgas em larga escala comercial começou no início de 1960 no Japão, com a cultura de *Chlorella* sp. pela empresa Nihon Chlorella com utilização da biomassa gerada para fins alimentares (BELASCO, 1997). Com os avanços e descobertas científicas sobre microalgas, a aplicação das microalgas aumentou notavelmente. Hoje, as microalgas são cultivadas com diferentes propósitos, como de combustíveis renováveis (bioetanol, biodiesel, biometano, biohidrogênio, etc.), nutrição/alimentação (vitaminas, minerais, proteínas, gorduras), e outros produtos como biomoléculas, aminoácidos, pigmentos, etc. (POSTEN e WALTER, 2012; RAEESOSSADTI et al., 2014; RAJA et al., 2008). Vale destacar

que a aplicação de microalgas na saúde humana não se restringe somente na nutrição, mas também como agente que estimula o sistema imunológico, destrói os radicais livres e reduz os lipídios do sangue. Além disso, elas também têm a capacidade de reduzir úlceras gástricas, curar feridas, e prevenir a constipação, aterosclerose, hipercolesterolemia e câncer (POSTEN e WALTER, 2012).

Muitos compostos podem ser produzidos a partir de diferentes espécies de microalgas ou, pelas adaptações as condições ambientais em que são submetidas. Como por exemplo, em condições adversas, fatores de stress ambiental, tais como uma temperatura elevada ou baixa, anaerobiose, alta salinidade, foto-oxidação, alta pressão osmótica e radiação ultra-violeta, assim eles podem modificar bastante a sua composição química (SKJANES et al., 2013). Alguns compostos bioativos das microalgas podem ser obtidos diretamente a partir do metabolismo primário, tais como proteínas, ácidos graxos, vitaminas e pigmentos, ou podem ser sintetizados a partir de metabolismo secundário (relacionado as adaptações as condições ambientais). Tais compostos (cianovirina, ácido oleico, ácido linolênico, ácido palmitoleico, vitamina E, vitamina B12, β -caroteno, ficoacina, luteína e zeaxantina) podem apresentar ações antifúngicas, antivirais, antialgal, anti-enzimáticas, antibióticas, antimicrobiana, anti-inflamatórios, antimicróbicos, antioxidantes, e dentre outras. (BLACKBURN e VOLKMAN, 2012; De MORAIS et al., 2015).

Perante o setor energético, as algas possuem uma série de vantagens quando comparada as outras matérias primas para combustíveis: (1) não competem com as culturas de terras aráveis e de água doce (podem ser cultivados em água salgada); (2) podem crescer rapidamente, podendo conter alto teor de óleo (20-50%) (CHISTI, 2007); (3) podem fixar o dióxido de carbono, reduzindo assim as emissões de gases de efeito estufa; (4) podem utilizar os nutrientes da maioria das águas residuais, fornecendo assim, um método alternativo para o tratamento (JACOB LOPEZ, 2007); e (5) derivados de cultivo de microalgas após extração de lipídios, nomeadamente resíduos de biomassa de algas, podem ser utilizados como uma fonte de nitrogênio, de proteínas para ração animal, ou fertilizante para culturas (CAI et al., 2013).

A integração da produção de biomassa de microalgas com tratamento de águas residuais tem gerado melhores custos benéficos, em virtude da disponibilidade de nutrientes a baixos custos, ou com

custos negativos (SCHNEIDER et al., 2012). Esta biomassa é normalmente produzida por um consórcio de algas-bactérias que pode ser utilizado para vários fins (Tabela 2). No entanto, a biomassa produzida a partir de águas residuais, raramente pode ser adequada para a produção de alimentos, ou mesmo de produtos químicos de valor, levando em consideração os requisitos de qualidade e aceitação pública (MUNOZ e GUIEYSSE, 2006).

Tabela 2 - Usos potenciais da biomassa de Algas-bactérias.

Aplicações das microalgas	Exemplos/comentários	Referencias
Alimentação humana	Fonte de proteína e uso na suplementação de produtos como massas, sopas e bebidas.	LIANG et al. (2004)
Rações para animais	<i>Tetraselmis</i> sp., <i>Spirulina</i> sp. e <i>Chaetoceros</i> sp. utilizada como fonte de alimento para a produção de camarões ou salmonídeos.	BOROWITZ KA (1997); DAY et al. (1999)
Biomoléculas	Astaxantina, ácido ascórbico, b-caroteno, glicerol, ou poli-b-hidroxibutirato.	SPOLAORE et al. (2006); GHIRARDI et al. (2000)
Fertilizantes	Uso da biomassa como fonte de nitrogênio e fósforo em terras agriculturáveis.	CHAE et al. (2006)
Produção de biogás	A digestão anaeróbia da biomassa para produção de CH ₄ e CO ₂ .	PERAZOLLI et al. (2013)
Biocombustíveis	Combustíveis líquidos podem ser produzidos a partir da liquefação termoquímica ou de pirólise de microalgas.	CHRISTENS ON, L. e SIMS, R. (2011)

Fonte: Adaptado de Muñoz e Guieysse, 2006.

2.5 CONDIÇÕES DE CULTIVO

2.5.1 Luz

A luz é um dos fatores-chaves que controlam o curso dos processos fisiológicos nas microalgas. A quantidade (intensidade) e qualidade (comprimento de onda) da luz determina a quantidade de energia a qual é disponibilizada para o processo fotossintético (KRZEMIŃSKA et al., 2014). As células de microalgas podem absorver apenas uma fração do fluxo de fótons do comprimento de onda visível, dos quais é regida por vários fatores, incluindo a densidade das células, as propriedades ópticas das células, o passo óptico (PO) do reator, a taxa de mistura da cultura, ou fatores do meio de cultura (por exemplo, turbidez, temperatura, nutrientes e pH) (RICHMOND, A, 2013).

A resposta cinética das microalgas a intensidade da luz é normalmente linear ao crescimento (JACOB-LOPES et al., 2009). Contudo, a exposição prolongada à luz de alta intensidade (exemplo: luz solar em determinados períodos do dia) é destrutiva para os pigmentos e ao maquinário fotossintético, o que resulta em crescimento retardado ou perda da cultura por completo. Além disso, o crescimento de microalgas utilizando somente a luz solar, pode ser limitado a intensidades muito baixas, como por exemplo, em períodos chuvosos ou nublados (ZHAO et al., 2013). Estes empecilhos comumente ocorrem em sistemas de cultivo voltados ao tratamento de efluentes, como lagoas de maturação ou LATs (Lagoas de alta taxa, do inglês, HRAP - High Rate Algal Ponds), que utilizam a luz natural para crescimento de microalgas, porém, demandam de grandes áreas para promover a máxima quantidade de radiação possível às microalgas, já que normalmente o efluente é bastante turvo, o que possibilita o crescimento de microalgas somente na superfície. Além do mais, as próprias microalgas acabam sombreando umas às outras (ARAÚJO et al., 2012). Para revisão do efeito da intensidade luminosa no crescimento microalgal ver Tabela 4 na seção 2.7.2.

A utilização de fontes de luz artificiais pode ser uma solução aos problemas relacionados a luz solar. Usando faixas estreitas de luz, por exemplo, o diodo emissor de luz (LED), que é mais econômico para a manutenção fotossintética em comparação com o uso de lâmpadas fluorescentes comuns, as quais são compostas apenas por uma

combinação dos espectros de luz das faixas de absorção pelos pigmentos de clorofila (PRANDINI et al., 2013; ZHAO et al., 2013). A utilização de LEDs de luz vermelha no tratamento de dejetos suíno com microalgas propicia maiores velocidades de crescimento da biomassa microalgal e maior remoção de N e P do que a luz branca de lâmpadas fluorescentes. YAN et al., (2013) reportam eficiências de remoção de P de 77% e N 71%, com concentração de microalgas máxima de 249,8 mg L⁻¹ em 7 dias de ensaio, utilizando lâmpadas vermelhas, já utilizando lâmpadas brancas este autor obteve remoção de N e de P de 63,4 e 58,4% respectivamente, e concentração de microalgas máxima 237,4 mg L⁻¹ em 7 dias.

Além da intensidade e da qualidade da luz aplicada, o fotoperíodo também pode influenciar na quantidade diária de luz aplicada ao processo de cultivo de microalgas e, conseqüentemente, na produção de biomassa (KRZEMIŃSKA et al., 2014). Isto ocorre devido às microalgas poderem armazenar a energia da luz, para posterior utilização em períodos com ausência de luz (JACOB-LOPES et al., 2009). Por outro lado, algumas espécies de microalgas quando submetidas a condições de ausência de luminosidade, podem imediatamente utilizar o metabolismo heterotrófico para a manutenção de suas estruturas, no qual há liberação de dióxido de carbono, o que é desfavorável do ponto de vista de sequestro de carbono, mas contribui para remoção de matéria carbonácea do meio líquido e, conseqüentemente, para o polimento do efluente (JACOB LOPEZ, 2007).

2.5.2 Temperatura

A temperatura influencia diretamente na composição química das microalgas, absorção de nutrientes, fixação de dióxido de carbono e na velocidade de crescimento para todas as espécies de algas. Sabe-se que a taxa de crescimento vai aumentar com o aumento da temperatura até atingir a seu ponto ótimo, depois disto, o crescimento microalgal vai diminuir drasticamente com o aumento da temperatura (CASSIDY, K. O. 2011).

Quanto mais distante (temperaturas menores) das temperaturas ideais (≈ 25 à 30°C) (CASSIDY, 2011), as microalgas são facilmente submetidas à fotoinibição. Esta sensibilidade à luz brilhante em baixas temperaturas pode representar uma restrição operacional aos sistemas de

cultivo de microalgas ao ar livre em climas frios. Em temperaturas perto do ideal, as microalgas podem tolerar melhor altas intensidades de luz (LARSDOTTER, K. 2006).

2.5.3 pH

A velocidade de crescimento e composição de espécies de microalgas podem também ser afetadas pelo pH. Estudos de Mayo e Noike (1994) mostram o efeito do diferentes valores pH no crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*, que revelaram a preferência da microalga pelo pH entre 5,5 a 8 e também a sensibilidade da espécie em pH alcalinos (>9), afetando a produção da biomassa microalgal. Outros estudos, obtiveram os melhores valores de crescimento entre as faixas de pH 5 e 7, havendo a sensibilidade da mesma, quando foi submetida a condições de pH 9.

Como mencionado anteriormente (seção 3.3.1 - Carbono), o pH pode oscilar conforme a concentração de CO₂ do meio, sendo que a atividade fotossintética é o principal fator que regula as oscilações do pH em culturas de microalgas. O pH influencia diretamente forma moleculares do nitrogênio amoniacal (NH₃ e NH₄⁺), sendo que em meio levemente ácido à neutro haverá a predominância de NH₄⁺, já em meios alcalinos predominará NH₃. Desta forma, é comum ocorrer a remoção de amônio por volatilização (seção 3.3.2 Nitrogênio) (ALCANTARA et al., 2015). Contudo, se houver elevadas quantidades de amônia, pode haver efeitos tóxicos de inibição.

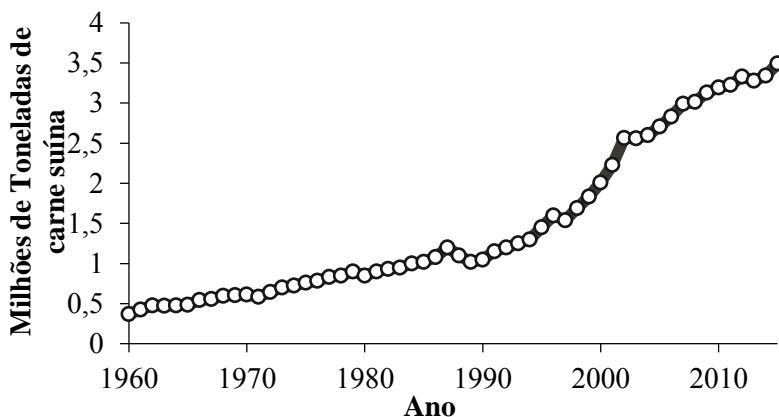
Em sistemas onde a fonte de CO₂ é regulada simplesmente pela solubilidade do CO₂ atmosférico, a velocidade de transferência de CO₂ para o líquido pode limitar a capacidade de tamponamento do pH causado pela dissolução de CO₂, fazendo com que a alta velocidade de assimilação de CO₂ pelas algas tornem o pH elevado. Desta forma, com condições de pH elevado esta susceptível a ocorrência de precipitação do fosfato por meio da formação de fosfatos de cálcio. Contudo, o fosfato pode dissolver-se novamente quando o pH cair (taxa de solubilização de CO₂ excede o consumo). É importante mencionar também que o pH alto pode induzir a floculação das algas, que por sua vez levam a remoção reduzida de nutrientes, mas esta floculação pode, por outro lado, facilitar a colheita da biomassa (BOROWITZKA, M.A 1998).

2.6 SUINOCULTURA

A Suinocultura é uma das atividades agropecuárias mais difundidas e praticadas no mundo. Desde os primeiros relatos de produção de porcos (3000 a.C.), até os dias atuais, a produção suinícola vem sofrendo adaptações para atender as maiores demandas de carne da população (GENTILINI et al, 2013). Notavelmente, nas últimas duas décadas, as modificações nos métodos de produção têm sido mais acentuadas, passando de um sistema de criação extensivo para um modelo intensivo de confinamento. Estes atuais sistemas de produção de animais confinados (SPACs), ou do inglês CAFOS (Concentrated Animal Feeding Operations), visam, principalmente, reduzir os custos de produção e aumentar a eficiência do processo. (KUNZ, A.; OLIVEIRA, P.A.V., 2006).

Tem-se dado grande atenção na produção suinícola para países em desenvolvimento, pois, nas últimas três décadas, estes têm aumentado a produção interna de carne suína cerca de três a quatro vezes, a uma taxa anual de mais de 5 por cento (USDA, 2013). Esse rápido crescimento tem sido estimulado pelas condições favoráveis a produção, como baixos custos operacionais, disponibilidade de alimento, terra, água e políticas ambientais menos restritivas que na Europa ou nos EUA (FAO, 2005). No Brasil, a produção suinícola teve grande aumento depois da abertura comercial, o que possibilitou o crescimento das exportações brasileiras através do incremento de tecnologias no setor, tendo crescido a uma taxa anual de 5,7%, enquanto que no resto do mundo, este crescimento foi de somente 2,2% (USDA, 2014). Atualmente o Brasil ocupa a 4ª posição no mundo, com aproximadamente 3,5 milhões toneladas de carne suína produzidas por ano (MIELE, et al, 2013).

Figura 2 - Produção de carne suína no Brasil por ano.



Fonte: USDA, 2014.

Geograficamente, aproximadamente 60% da produção de suínos no Brasil é concentrada nos três estados do sul: Santa Catarina, Paraná e Rio Grande do Sul. A produção nesses estados é verticalmente integrada, ou seja, a produção ocorre em múltiplos sítios, em unidades produtoras de leitões (UPL) e unidades de crescimento e terminação (UT) (MIELE, et al, 2013). Além disso, são utilizados instrumentos que interferem nos diversos elos da cadeia produtiva, passando pela melhoria dos índices zootécnicos da etapa de criação, pela modernização dos sistemas de abate e processamento das carcaças, bem como pela melhoria da eficiência na logística da distribuição dos insumos e da produção. Essa tendência à especialização das etapas do processo produtivo ocorreu em todo o país, mas se dá de forma mais intensa entre as integrações na região Sul, o que tem favorecido o desenvolvimento no setor, além da grande expansão das SPACS (GENTILINI et al, 2013).

2.6.1 Suinocultura e Meio Ambiente

Uma das características marcantes das SPACS na suinocultura é a produção de grandes volumes de dejetos em pequenas áreas. Os dejetos são compostos por fezes, urina, resíduos das instalações (ureia e cimento), sobras de alimentação e de água dos bebedouros, além de

eventuais entradas externas de água nos locais de armazenamento dos dejetos. A Tabela 3 mostra a composição típica do dejetos suíno bruto.

Essa elevada produção de dejetos próximos aos locais onde são produzidos representa um passivo ambiental, com potencial de poluição, tanto dos mananciais, por meio da transferência de carbono (C), nutrientes e microrganismos patogênicos, como do ar por meio de emissões gasosas especialmente amônia (NH₃), óxido nitroso (N₂O) e metano (CH₄) (PALHARES, 2014).

Tabela 3 - Composição de dejetos suíno bruto.

Sólidos Sedimentáveis (ml/L)	133-172
DBO (g/L)	6-9,2
COD (g/L)	11,6-17,5
TKN (g/L)	1,2-1,9
TP (g/L)	0,4-0,5

Fonte: Kunz et al. 2009.

Em virtude dos dejetos produzidos apresentarem elevados elementos fertilizantes, (Tabela 3), o principal destino dado é a aplicação como fonte de nutrientes às culturas agrícolas comerciais, com destaque para o milho, por causa da elevada demanda de nitrogênio. Entretanto, a aplicação do dejetos no solo é comumente feita em excesso, muitas vezes em decorrência da pouca área agrícola disponível e com obstáculos a mecanização (KUNZ, A.; OLIVEIRA, P.A.V., 2006). De acordo com Palhares (2014) e FAO (2005), as principais formas de poluição aliada à gestão do dejetos nas SPACS, bem como dos efluentes suinícolas são:

- A eutrofização, que é gerada a partir do transporte ou escoamento de nutrientes (nitrogênio, fósforo e outros) e matéria orgânica em corpos hídricos, dando possibilidade de desenvolvimento das algas. Estas, por sua vez, provocam o desenvolvimento de microrganismos heterotróficos aeróbios que se alimentam do carbono proveniente dos dejetos e da biomassa de microalgas. Assim, consumindo rapidamente o oxigênio dissolvido, provocando a morte e consequente decomposição de muitos organismos aeróbicos, diminuindo a

qualidade da água e conseqüentemente a alteração do ecossistema.

- Lixiviação de nitratos (NO_3^-), a qual ocorre sempre que a precipitação pluviométrica supera a evapotranspiração, favorecendo o transporte dos nitratos no solo acompanhado do movimento da água, podendo atingir o lençol freático causando a poluição.
- A volatilização de amônia poderá ocorrer durante e após a aplicação no solo. Após sua emissão, a NH_3 poderá retornar ao solo ou aos mananciais via deposição atmosférica, podendo gerar eutrofização ou, após sua nitrificação, a emissão de N_2O e NO .
- A contaminação do solo e água por patógenos pode ocorrer devido a transferência pelo escoamento superficial de diversos microrganismos de origem fecal, os quais são potencialmente patogênicos aos humanos. Sendo que, essa contaminação pode ser de origem bacteriana (*Salmonella*, *Campylobacter*, *Escherichia* e *Yersinia*), virótica (*Rotavirus*), parasitária por vermes (*Ascaris*) e protozoários (*Cryptosporidium* e *Toxoplasma*).
- A emissão de gases de efeito estufa (GEE) pode ocorrer tanto nos locais de produção e armazenamento dos dejetos, quanto após o uso destes no campo. Os principais GEE são o dióxido de carbono (CO_2), no campo produzido por microrganismos heterotróficos responsáveis pela decomposição de matéria orgânica dos dejetos; metano (CH_4) gerado por bactérias metanogênicas em condições estritamente anaeróbicas; e óxido nítrico (N_2O), sendo um gás intermediário, produzido durante a desnitrificação.

2.6.2 Legislação

Nas últimas décadas, em função do processo de globalização e das evidências dos problemas causados pela poluição, os mercados agropecuários nacionais e estrangeiros estão, cada vez mais, adotando critérios que minimizem os impactos causados pelas atividades agropecuárias (TRINDADE e SENNA, 2012). A edição das leis de crimes ambientais e de gerenciamento de recursos hídricos, bem como a

pressão dos órgãos sanitários no sentido do licenciamento ambiental para as atividades agroindustriais, vêm possibilitando a aplicação de tecnologias que agreguem valor aos resíduos e, ou, que minimizem os danos ambientais causados.

A Resolução nº357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente-CONAMA, dispõe sobre a classificação e diretrizes ambientais para o enquadramento dos corpos de águas superficiais, e estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. A Resolução nº430, de 13 de Maio de 2011 dispõe sobre condições, parâmetros, padrões e diretrizes para lançamento de efluentes em corpos de água receptores, sendo que é uma resolução que altera parcialmente e complementa a Resolução nº 357.

Em seu artigo 5º da Resolução nº430, é relatado que os efluentes não poderão conferir ao corpo receptor características de qualidade em desacordo com as metas obrigatórias progressivas, intermediárias e finais, do seu enquadramento. Em relação aos constituintes do efluente a ser lançado, a demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO 5 dias a 20°C) deverá ser removida em mínimo de 60% antes do lançamento. Entretanto, os limites de Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO), estabelecidos para as águas doces de classes 2 e 3, poderão ser elevados, caso o estudo da capacidade de autodepuração do corpo receptor demonstre que as concentrações mínimas de oxigênio dissolvido (OD) previstas não serão desobedecidas.

Para o nitrogênio amoniacal total, o limite de lançamento é de 20 mg L⁻¹. Para águas doces de classes 1 e 2, quando o nitrogênio for fator limitante para eutrofização, nas condições estabelecidas pelo órgão ambiental competente, o valor de nitrogênio total (após oxidação) não deverá ultrapassar 1,27 mg L⁻¹ para ambientes lênticos e 2,18 mg L⁻¹ para ambientes lóticos.

Para o fósforo, de acordo com a Lei nº 14.675/09 do Estado de Santa Catarina, que institui o Código Estadual do Meio Ambiente, o limite de concentração de fósforo total no efluente a ser lançado em corpo hídricos receptores é de 4 mg L⁻¹, ou de remoção de no mínimo 75% de fósforo total, no sistema de tratamento. Contudo, de acordo com Resolução nº430, não poderá haver mudança da classe da água do corpo receptor. Sendo que para a classe 1, o limite de fósforo é de 0,020 à 0,025 mg L⁻¹ de fósforo total, e para a classe 2, o limite para fósforo total é de 0,030 à 0,050 mg L⁻¹.

Além disso, existe a necessidade de melhor ajustamento em relação à maneira de utilização do efluente como fertilizante, em virtude dos impactos causados pelo manejo inadequado durante a aplicação como fertilizante. Em Santa Catarina recentemente foi modificada a Instrução Normativa referente a atividade suinícola (IN 11, 2014). Dentre os principais aspectos ampliados na IN, se tem os estudos com a determinação das taxas de aplicação de dejetos como fertilizantes determinadas áreas em função da análise de solo, tendo como objetivo minimizar as perdas de nutrientes do solo por erosão, lixiviação, escoamento superficial, volatilização, entre outras.

Contudo, como já mencionado, o volume de efluentes muitas vezes excede a quantidade de área disponível para aplicação como fertilizante, o que aliado a um controle mais rigoroso de disposição no solo (IN 11), traz a necessidade de implementação de sistemas que tornem o efluente passível de ser lançado em corpos hídricos.

2.2.3 Geração e purificação de biogás de efluentes suinícolas

Em todo o mundo vem crescendo o interesse em tecnologias que visem o desenvolvimento sustentável de fontes energéticas ambientalmente amigáveis. Com isso, dois fatores justificam o aumento no interesse do biogás: (I) porque a sua liberação para a atmosfera contribui em grande parte, para o efeito estufa, com consequentes e expressivos custos de remediação, e (II) porque o seu conteúdo energético é elevado, e a sua exploração pode gerar renda ou evitar custos (ABATZOGLOU et al, 2009).

A geração de biogás ocorre pelo processo de digestão anaeróbia, que envolve a degradação de materiais orgânicos em condições anaeróbias (potencial de oxirredução menor que -200 mV), por um consórcio de microrganismos, utilizando aceptores finais de elétrons como o SO_4^{2-} (redução de sulfato), ou CO_2 (formação de metano). A degradação anaeróbica depende de vários fatores como o pH, temperatura, TRH, relação C/N, etc. (CHERNICHARO, 1997; CHYNOWETH, D. P, et al, 1998; SANTOSH, Y et al, 2004; KUNZ et al, 2008).

Para tratamento de águas residuais de alta carga orgânica, como os efluentes da suinocultura, a digestão anaeróbia é um processo com ótimo custo econômico, em relação ao processo aeróbio, economizando

energia, adição de nutrientes e volume de reator (INSAM et al., 2015). Contudo, o tratamento anaeróbio é uma solução parcial ao potencial poluente do dejetos, considerando que eles não removem N e P a partir dos efluentes tratados desta forma, não reduzem a área de cultivo necessário para absorver esses nutrientes (KUNZ, 2009).

No Brasil a geração de energia com o uso de dejetos de suínos ainda é rara. No entanto, o sistema atual é favorável para o seu desenvolvimento, devido ao ciclo de alta dos preços do petróleo, combustíveis fósseis e gás natural, o que ajuda a tornar este tipo de modalidade mais viável. (AVACI et al., 2013).

A constituição típica do biogás é de cerca de 55-70% de CH_4 , 30-40% de CO_2 , frações de vapor d'água, traços de H_2S e H_2 , e possivelmente outros contaminantes (por exemplo, siloxanos). O poder calorífico do biogás é determinado pela quantidade de CH_4 que ele contém. A quantidade de 65% de metano equivale a aproximadamente 21–25 MJ/m^3 , sendo 30–40% abaixo que o poder calorífico do gás natural (37.3 MJ/m^3) (APPELS et al, 2008).

Os contaminantes mais comuns são o H_2S e outros compostos contendo enxofre (S), (ex. mercaptanos como CH_3SH) derivados da digestão anaeróbia de moléculas contendo enxofre (ex. proteínas) (ABATZOGLOU et al., 2009). Dependendo da composição orgânica do material digerido, o conteúdo de H_2S de biogás pode variar de cerca de 10 à 10.000 ppmv (0,0001 à 1% vol). H_2S é reativo com a maioria dos metais, e a reatividade é aumentada pela concentração, pressão, presença de água e temperaturas elevadas. O H_2S tem de ser removido a fim de evitar a corrosão em compressores de gás, tanques de armazenamento e motores (PERSSON et al., 2006; APPELS et al, 2008).

O CO_2 está presente, no biogás, em grandes quantidades e é considerado como um contaminante, já que o CO_2 é um gás inerte em termos de combustão, diminuindo assim o teor energético do biogás (RYCKEBOSCH et al., 2011).

Outros contaminantes são os compostos halogenados (corrosivos) e siloxanos (formam depósitos de sílica nas partes internas de motores). Entretanto estes compostos são mais frequentes em biogás de esgotos domésticos já que os halogenados são formados por tetracloroeto de carbono, clorobenzeno, clorofórmio e trifluormetano e os siloxanos estão nos xampu, detergentes e cosméticos (PERSSON et al., 2006).

Os métodos de purificação do biogás são divididos em processos físico-químicos de adsorção e absorção, e processos biológicos no qual microrganismos consomem os contaminantes e os transformam em formas menos prejudiciais. O princípio da separação por absorção é baseado em diferentes solubilidades dos componentes do biogás em uma solução líquida de lavagem. Em uma planta melhoramento, usando esta técnica, o biogás bruto é colocado em contato o líquido de lavagem dentro de uma coluna com um meio suporte a fim de aumentar a área de contato entre as fases. Os componentes a serem removidos do biogás (principalmente dióxido de carbono e gás sulfídrico), são tipicamente mais solúveis no líquido do que o metano, e são removidos da corrente de gás. Como resultado, a corrente de gás restante possui alta concentração de metano, e o líquido de lavagem que sai da coluna é rico em dióxido de carbono e sulfeto de hidrogênio (RYCKEBOSCH et al., 2011). Este processo pode ocorrer por meio de absorção física pressurizada e absorção química, onde existem componentes no líquido de lavagem que reagem com os componentes do biogás seletivamente (VIENNA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, 2012).

Um outro método de remoção é a adição de misturas líquidas de sais de ferro (tais como cloreto de ferro ou sulfato de ferro) para o interior do digestor para a precipitação de enxofre, através da formação de sais insolúveis como sulfeto de ferro (KRICH et al., 2005).

O sulfeto de hidrogênio pode ser removido através de oxidação por microrganismos quimioautotróficos das espécies *Thiobacillus* ou *Sulfolobus*. Esta oxidação requer uma certa quantidade de oxigênio que é adicionado por uma pequena quantidade de ar. O resultado dessa oxidação biológica, são compostos mais estáveis de enxofre elementar ou ácido sulfuroso, os quais são descarregados junto com as águas residuais (VIENNA UNIVERSITY OF TECHNOLOGY, 2012).

Existem também, uma série de outras formas de remoção de H_2S e CO_2 do biogás (ex: adsorção com carvão ativado e separação por membranas). Entretanto, tais processos apresentam os custos operacionais e de infraestrutura que são determinados pela adição de produtos químicos, uso de processos físicos e energéticos, como calor, água, e outras técnicas que requerem eletricidade (pressão e/ou resfriamento) (RYCKEBOSCH et al., 2011). Desta forma é imprescindível a investigação de formas de purificação que reduzam os custos no processo de purificação do biogás.

2.7 MICROALGAS E REMEDIAÇÃO DE EFLUENTES

O processo para tratamento de efluentes domésticos mais comumente utilizado é o processo biológico. Os processos de tratamento são selecionados e ditados de acordo com as características dos esgotos (especialmente o teor de matéria orgânica e de nutrientes) e as legislações pertinentes (WANG et al 1996; MOTA e VON SPERLING, 2009).

Existem duas classes principais de processos biológicos de fitorremediação, os naturais-extensivos e mecânicos-intensivos. Os processos naturais-extensivos incluem sistemas que são compostos por plantas (enraizadas ou flutuantes), que podem absorver poluentes, produzir e transferir oxigênio e, assim, estimular bactérias que também podem remover poluentes. Já os processos de fitorremediação mecânicos-intensivos, baseiam-se no uso de sistemas onde microalgas e/ou cianobactérias absorvem nutrientes e produzem oxigênio por fotossíntese, e também estimulam bactérias na remoção dos poluentes (OLGUÍN, 2003; MUÑOZ e GUIEYSSE, 2006; ALCANTARA et al., 2015). Estes processos à base de algas são comumente denominadas lagoas de oxidação ou lagoas de estabilização (MOTA e VON SPERLING, 2009). Os processos mecânicos-intensivos com uso de microalgas, exigem projetos mais complexos, podendo resultar em alto consumo de energia, mas também, em melhor qualidade do efluente (BRENNER, A.; ABELIOVICH, 2013).

O uso comercial de culturas de algas teve início há aproximadamente 75 anos, com a aplicação de tratamento de águas residuais e para a produção em massa de diferentes espécies, tais como *Chlorella* e *Dunaliella*. Atualmente, a produção de microalgas através do tratamento de efluentes tem sido desenvolvida em vários países do mundo, como Austrália, EUA, Tailândia, Taiwan e do México (ABDEL-RAOUF et al., 2012).

O interesse em culturas de microalgas deriva do fato de que os processos de tratamento convencionais sofrem de algumas desvantagens: (a) eficiência variável, dependendo do nutriente a ser removido; (b) alto custo de operação; (c) utilização de produtos químicos no processo que muitas vezes leva a poluição secundária; e (d) perda de valiosos nutrientes (N e P) (ABDEL-RAOUF et al., 2012; RAZZAK et al., 2013). Além disso, a utilização de microalgas em

tratamento de efluentes é vantajosa devido a geração de biomassa através da reciclagem dos nutrientes do efluente, sendo que, essa biomassa pode ser utilizada para vários fins (seção 3.4) (ZENG et al., 2015).

Durante a remoção biológica de nitrogênio pelos processos convencionais, tipicamente ocorre a oxidação de NH_4^+ para NO_2^- e NO_3^- por bactérias quimiolitotróficas aeróbias e archeas, pelo processo conhecido como nitrificação, seguido da redução de NO_2^- e NO_3^- a N_2 sobre condições anóxicas pelas bactérias heterotróficas no processo conhecido como desnitrificação (GODOS et al., 2010). Durante o tratamento com microalgas, este processo de nitrificação é estimulado pela oxigenação fotossintética (ALCANTARA et al., 2015; GONZÁLEZ et al., 2008; MEZZARI et al., 2013).

A oxigenação fotossintética também contribui para desativação de patógenos pelo aumento do pH, temperatura e concentração de oxigênio dissolvido (ABDEL-RAOUF et al., 2012; MUÑOZ e GUIEYSSE, 2006). Além disso, existe a remoção de metais pesados ocorre através de determinadas vias: (1) adsorção física; (2) síntese em compostos menos tóxicos pelas microalgas (exopolissacarídeos); (3) transporte ativo de metais pesados para dentro da célula e; (4) precipitação dos metais pesados gerado pelo aumento do pH durante a fotossíntese (ALCANTARA et al., 2015).

2.7.1 Biorremediação de efluentes da suinocultura durante o cultivo de microalgas

O cultivo das microalgas para a remediação de digestado suinícola (dejeito suíno digerido anaerobicamente), tem sido bastante investigado nos últimos anos (FAO., 2010; CAI et al., 2013; HU et al., 2012). A principal forma do nitrogênio solúvel presente em dejetos de suínos é de nitrogênio amoniacal, que é o tipo predominante de nitrogênio assimilado por algas (Seção - Nitrogênio). O fósforo existe em ambos as formas, mineral e orgânica, dos quais a forma ortofosfato solúvel é biologicamente disponível para as algas. Os outros macro e micro nutrientes, incluindo enxofre, magnésio e potássio, zinco, manganês, cobre e boro, também são encontrados nos dejetos de suínos, sendo adequados para suportar o crescimento de algas (HU et al., 2012).

Segundo Cheung et al. (1981), a reciclagem de dejetos suínos do ponto de vista ambiental é muito vantajosa, pois não só reutiliza o efluente rico em nutrientes (nitrogênio e fósforo), mas também minimiza a problemática da poluição das águas. De forma geral, há um conjunto substancial de literatura que demonstra a eficácia da utilização de microalgas para o tratamento, integrado a produção de biomassa, a partir de dejetos suínos (CAI et al., 2013; CHEUNG e WONG, 1981; HU et al., 2012; HU et al., 2013; SEVRIN-REYSSAC. J, 1998). Kebede-Westhead et al. (2006) testaram o crescimento de microalgas utilizando diferentes cargas de efluente suínico, e obtiveram crescimento de 7,1-9,4 g m⁻² d⁻¹ e remoção de N e P de 90% e 68-76% respectivamente. Molinuevo-Salces et al. (2010) obtiveram eficiência de remoção de carbono orgânico dissolvido (COD) de 42 a 68%; N-NH₄⁺ de 80 a 99% e P solúvel de 55 a 84%, com produtividade de microalgas de 50 a 330 mg L⁻¹ d⁻¹. Yan et al. (2013) obtiveram remoção de 71,1 ± 3,7% e 77,06 ± 3,3 para NT e PT respectivamente, com crescimento microalgal de 31,2 mg L⁻¹ d⁻¹.

Apesar disto, existem muitos fatores que afetam negativamente a fotossíntese e o crescimento das algas durante a fitorremediação de efluentes como a suinocultura, por exemplo: (1) dependência da energia solar, a qual é muito difusa, unidirecional e intermitente; (2) necessidade de oxigenação adequada no meio, sendo que isso tem uma relação com vários fatores, como a carga orgânica, a altura da lâmina da água do meio de cultura, flutuações sazonais na radiação e temperatura, turbidez da água, espécies de algas, presença de predadores, amônia e pH (BRENNER, A.; ABELIOVICH, 2013). De acordo com a Tabela 4 é possível verificar que a disponibilidade de luz sobre o crescimento de microalgas atua de maneira a estimular o crescimento de várias espécies, em consequência disso a incorporação de CO₂ e eventualmente de nutrientes (N e P) tende a ser maior.

Dentre outros fatores, fontes adicionais de CO₂, podem ser utilizadas para aumentar a velocidade de crescimento das microalgas (ver Tabela 4). Contudo, ainda é necessário desenvolvimento para tornar esta uma tecnologia viável, como por exemplo, integração com o tratamento de águas residuais, a produção de metabólitos úteis, produção de biocombustíveis, entre outros (NAKAJIMA AND UEDA, 2000).

2.7.2 Utilização do biogás como fonte de CO₂ para aumento da produção microalgal e remoção de nutrientes.

O cultivo de microalgas pode ser visto como uma variante mais eficiente das tecnologias atuais de remediação de efluentes da suinocultura, oferecendo o tratamento juntamente com a produção de biomassa de valor agregado. Apesar disso, o desafio para investigação neste setor é administrar as questões associadas à atenuação da luz e toxicidade da amônia, disponibilidade de CO₂, interações desarmônicas entre as espécies, relação C:N:P desbalanceada, presença de bactérias e predadores etc. (JI et al., 2013).

Desta forma, no intuito de diminuir tais desvantagens durante a ficorremediação, e gerar aumento na produtividade microalgal, bem como na velocidade de remoção de nutrientes, pode ser feita a adição de uma fonte extra de CO₂ (ALCANTARA et al., 2015). Morais e Costa (2007) cultivaram as microalgas *Chlorella kessleri* e *Scenedesmus obliquus* isoladas de lagoas de tratamento de esgoto doméstico e às submetteram à diferentes concentrações de CO₂ proveniente de uma termoeletrônica e, utilizando meio de cultura sintético com fotoperíodo de 12 horas luz por dia, obtiveram produtividades de 85 ± 2 e 90 ± 2 mg L⁻¹ d⁻¹ para as respectivas espécies.

Yun et al. (1997) utilizaram a espécie de microalga *Chlorella vulgaris* para a ficorremediação de efluentes de uma indústria siderúrgica e ar enriquecido com 15% de CO₂. Estes autores obtiveram velocidades de remoção de 22,2 e 624 mg L⁻¹ d⁻¹ para NH₃ e CO₂, respectivamente.

No estudo de Ji et al. (2013), três espécies de microalgas foram cultivadas em esgoto doméstico filtrado (0,2 µm filtros de nylon), com fotoperíodo de 16 horas luz por dia, e com aeração de ar com 15% de CO₂. As espécies de microalgas *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* e *Ourococcus multisporus* tiveram velocidades específicas de crescimento de 1,37; 1,14 e 1 d⁻¹, respectivamente, e concentração máxima de biomassa em torno de 290 a 310 mg L⁻¹. As máximas velocidades específicas de remoção de TN e TP foram de 16,8 mg-N g-celula⁻¹ e 3,1 mg-P g-cell⁻¹ para as espécies de *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus obliquus*, respectivamente.

Zhou et al. (2012), utilizando esgoto doméstico filtrado e autoclavado, reportaram que a microalga *Auxenochlorella protothecoides* teve crescimento de 0,69 e 1,16 g L⁻¹, remoção de

nitrogênio total de 39 e 100% e remoção de fósforo total de 42 e 90% com o enriquecido de 0,03 e 5% de CO₂, respectivamente.

Diversas fontes de CO₂ tem sido descritas para incrementar o CO₂ disponível às microalgas (reservatórios naturais, separação do CO₂ atmosférico, gases de combustão de indústrias, carbonatos solúveis, etc.). Contudo, tais fontes podem resultar em custos como de captação, separação e/ou transporte, dependendo da distância da fonte até o sistema de cultivo de microalgas (FEINBERG e KARPURK, 1990; WANG et al., 2008).

Vários estudos indicam que o CO₂ do biogás pode ser utilizado para o crescimento de microalgas (Tabela 4) e benefícios secundários, como purificação do biogás, podem ser obtidos (remoção de CO₂ e H₂S). Mann et al. (2009) obtiveram remoção de 97% de CO₂ e 100% de H₂S na purificação de biogás através do crescimento de microalgas. Conde et al. (1993) afirmam que H₂S é removido devido à alta solubilidade em meio líquido, e as microalgas precisam de certas quantidades de enxofre para geração de aminoácidos sulfurados essenciais. Estes autores obtiveram remoção de 77 a 95% de CO₂ e de mais de 60% para H₂S, tornando a concentração do o gás final de 88 a 97% de metano. Conde et al. (1993) ainda observaram que com a utilização do biogás as microalgas atingiram um crescimento de clorofila 40% maior que em comparação com a não utilização do biogás.

Desta forma, a purificação do biogás pelo uso de sistema de microalgas demonstra grande potencial para ser uma ferramenta eficaz, contribuindo para o avanço nos processos de purificação de biogás. Além disso, a integração da utilização do biogás como fonte de CO₂ durante a fitorremediação dos efluentes, podem resultar no aumento da eficiência de purificação do efluente em virtude da possibilidade do estímulo para crescimento das microalgas pelo CO₂ disponibilizado (YAN e ZHENG, 2013).

A Tabela 4 mostra vários trabalhos que cultivaram microalgas, mostrando as velocidades de crescimento de microalgas e as velocidades de remoção de CO₂ do gás utilizado de vários tipos de meio de cultura dentre os quais vários tipos efluentes, na grande maioria em condições estéreis as quais são favoráveis ao crescimento das microalgas, mas que podem possuir custos adicionais no processo.

Tabela 4 - Efeito do tipo de meio de cultura, fotoperíodo, e composição da alimentação de gás na velocidade de crescimento de microalgas, fixação de CO₂ e produtividade.

Microalga	Meio de cultura	Alimentação de gás e composição (% v/v)	Fotoperíodo (horas luz:escuro) [intensidade luminosa ($\mu\text{mols m}^{-2} \text{s}^{-1}$)]	μ (d ⁻¹)	Produtividade de celular (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Velocidade de assimilação de CO ₂ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Referência
<i>Chlorella vulgaris</i>	Bristol modificado	Aeração constante de ar enriquecido com 5% CO ₂	12:12 [47,3]	0,3	310	251,6	(Sydney et al., 2010).
<i>Boryococcus braunii</i>	Água do mar artificial			0,2	610	497	
<i>Spirulina platensis</i>	Zarrouk			0,2	730	318,6	
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	Água do mar artificial	Aeração intermitente de ar enriquecido com 12% CO ₂	12:12 [43,24]	-	220	413a	(De Moraes e Costa, 2007).
<i>Spirulina sp.</i>	Zarrouk modificado			-	87	163a	
<i>Chlorella kessleri</i>	Bristol modificado	Aeração intermitente de ar enriquecido com 18% CO ₂		-	140	260a	
<i>Scenedesmus Obliquus</i>							
<i>C. vulgaris</i>	Digestato esterilizado de efluente doméstico	Headspace contendo biogás (61,4% CH ₄ ; 32,6% CO ₂ ; 0,54% O ₂ ; H ₂ S <50 ppmv)	16:08 [150]	0,35	89	167a	Wang et al., 2015
<i>S. obliquus</i>				0,37	115	216a	
<i>C. vulgaris</i>				0,39	139	261a	
<i>S. obliquus</i>			14:10 [150]	0,4	151	284a	
<i>C. vulgaris</i>				0,32	73	137a	
<i>S. obliquus</i>			12:12 [150]	0,34	82	154a	
Policultura de <i>Chlorella sp.</i> , <i>Scenedesmus sp.</i> e	Meio Phovasoli <i>Haematococcus</i>	Constante aeração de ar enriquecido com 10% de CO ₂	16:08 [54,05]	0,32	1250	2350a	(Rimanti et al., 2014).

Microalga	Meio de cultura	Alimentação de gás e composição (% v/v)	Fotoperíodo (horas luz:escuro) [intensidade luminosa ($\mu\text{mols m}^{-2} \text{s}^{-1}$)]	μ (d^{-1})	Produtividade de celular ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Velocidade de assimilação de CO_2 ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Referência
<i>Ankistrodesmus</i> sp.		Constante aeração de ar enriquecido com 5% de CO_2		0,43	1450	2726a	
Espécie mutante de <i>Chlorella</i> sp.	Água do mar artificial	Constante aeração de ar enriquecido com 5% CO_2 ; 100ppm H_2S	24 [300]	-	214	402.3a	(Kao et al., 2012b)
		Constante aeração de ar enriquecido com 5% de CO_2 ; 50ppm H_2S		-	241	453.1a	
		Constante aeração de ar enriquecido com 5% de CO_2		-	244	458.7a	
		Aeração intermitente de ar enriquecido com 70% CH_4 ; 20% CO_2 ; H_2S <100 ppmv		-	276	524	
Espécie mutante de <i>Chlorella</i> sp.	Água do mar artificial	Constante aeração de ar enriquecido com 20% CO_2 ; 100ppm H_2S	24 [300]	-	242	454.9a	(Kao et al., 2012a)
		Constante aeração de ar enriquecido com 20% CO_2 ; 50ppm H_2S		-	261	490.7a	
		Constante aeração de ar enriquecido com 20% CO_2		-	262	492.6a	
		Aeração intermitente de ar enriquecido com 69% CH_4 ; 20% CO_2 ; H_2S <50 ppmv		-	301	565.9a	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Digestato suínico autoclavado com pH ajustado	Constante aeração de ar	24 [81,08]	-	48,7	91,5a	(Cheng et al., 2015)
<i>Chlorella</i>		Constante aeração de ar		-	85,6	160,9a	

Microalga	Meio de cultura	Alimentação de gás e composição (% v/v)	Fotoperíodo (horas luz:escuro [intensidade luminosa ($\mu\text{mols m}^{-2} \text{s}^{-1}$)])	μ (d^{-1})	Produtividade de celular ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Velocidade de assimilação de CO_2 ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Referência
<i>Pyrenoidosa</i>		enriquecido com 15% CO_2					
<i>C. vulgaris</i>	Digestato esterilizado de efluente doméstico	Headspace contendo biogás (61,32% CH_4 ; 34,45% CO_2 ; 0,62% O_2 ; H_2S <50 ppmv)	12:12 [200] (vermelho/azul: 5/5)	0,36	112	210,5a	(Zhao et al., 2015)
<i>S. obliquus</i>				0,45	217	407,9a	
<i>N. oleoabundans</i>				0,33	86	161,6a	
<i>C. vulgaris</i>	Digestato esterilizado de efluente doméstico	Headspace contendo biogás (61,32% CH_4 ; 34,45% CO_2 ; 0,62% O_2 ; H_2S <50 ppmv)	12:12 [200] (vermelho/azul: 9/1)	0,32	72	135,4a	(Zhao et al., 2015)
<i>S. obliquus</i>				0,39	135	253,8a	
<i>N. oleoabundans</i>				0,27	50	94a	
<i>Chlorella</i> sp.	Digestato esterilizado de efluente doméstico	Headspace contendo biogás (70,7% CH_4 ; 26,1% CO_2 ; 0,23% O_2 ; H_2S <50 ppmv)	16:08 [300]	-	47,7	89,7a	(Yan e Zheng, 2013)
			14:10 [350]	-	58,1	109,2a	
			12:12 [250]	-	28,8	54,1a	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Digestato suínico autoclavado diluído - 400 mg/L (COD) Digestato suínico autoclavado diluído - 1600 mg/L (COD)	Headspace contendo biogás (58,67% CH_4 ; 37,54% CO_2 ; 0,79% O_2 ; H_2S <50 ppmv)	12:12 [200]	0,48	124,4	233,8a	(Xu et al., 2015)
				0,38	311,3	585,2a	
<i>Desmodesmus</i> sp.		Reinjeções constantes de ar		0,12	25	39	(Swarnalatha et al., 2015)
		Reinjeções constantes de ar		0,21	114	207	
	Meio estéril BG11	Reinjeções constantes de ar	16:08 [30]	0,2	37	63	
<i>Kirchneriella cornuta</i>		Reinjeções constantes de ar enriquecido com 30% de CO_2		0,26	109	198	
<i>Acutodesmus</i> sp.		Reinjeções constantes de ar		0,18	32	47	

Microalga	Meio de cultura	Alimentação de gás e composição (% v/v)	Fotoperíodo (horas luz:escuro) [intensidade luminosa ($\mu\text{mol s}^{-1} \text{m}^{-2}$)]	μ (d^{-1})	Produtividade de celular ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Velocidade de assimilação de CO_2 ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Referência
		Reinjeções de ar com 30% de CO_2		0,25	103	186	
<i>N. gaditana</i>	Meio f/2 sintético	Constante aeração com (30% CO_2 ; 70% N_2) (Q: $0,07 \text{ v v}^{-1} \text{m}^{-1}$)	24 [100]	-	100	189	(Meier et al., 2015)
		Constante aeração com (72 \pm 2% CH_4 ; 28 \pm 2% CO_2) (Q: $0,000069 \text{ v v}^{-1} \text{m}^{-1}$)		-	30	56,4a	
<i>Chlorella</i> sp.	Digestato esterilizado de efluente doméstico	Headspace contendo biogás (67,6% CH_4 ; 28,4% CO_2 ; 0,7% O_2 ; H_2S <50 ppmv)	12:12 [800]	-	37,4c	70,4a	(Zhao et al., 2013)
			12:12 [1200]	-	45,7c	85,9a	
			12:12 [1600]	-	52,5c	98,7a	
			12:12 [2000]	-	58,6c	110a	
<i>Chlorella</i> sp.	Solução sintética de nutrientes	Aeração intermitente com (70% CH_4 ; 20% CO_2 ; 1% O_2 ; H_2S <100 ppmv) (Q: $0,005 \text{ v v}^{-1} \text{m}^{-1}$)	24 [40,5]	-	250	470a	(Sirikulrat e Koonaphapde elert, 2013)
		Aeração intermitente com (70% CH_4 ; 20% CO_2 ; 1% O_2 ; H_2S <100 ppmv) (Q: $0,05 \text{ v v}^{-1} \text{m}^{-1}$)		-	190	357,2a	
<i>S. obliquus</i>	Digestato esterilizado de efluente doméstico	Headspace contendo biogás (61,8% CH_4 ; 35,3% CO_2 ; 0,3% O_2 ; H_2S <50 ppmv)	12:12 [150-170]	-	56,6	106,4a	(Ouyang et al., 2015)
<i>Chlorella</i> sp.				-	50,3	94,5a	
<i>S. bibratium</i>				-	47,6	89,5a	
Policultura	Vinhaça digerida	Sem aeração	16:08 [104 \pm 25]	-	17,6b	33a	(Serejo et al.,

Microalga	Meio de cultura	Alimentação de gás e composição (% v/v)	Fotoperíodo (horas luz:escuro [intensidade luminosa ($\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$)])	μ (d^{-1})	Produtividade de celular ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Velocidade de assimilação de CO_2 ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Referência
de <i>Chlorella</i> sp., <i>Microspora</i> sp., <i>Pseudanabaena</i> sp., <i>Stigeoclonium</i> sp., <i>Planktolyngbya</i> sp. and <i>Geitlerinema</i> sp.	anaerobicamente diluída (10%)	Aeração constante com biogás sintético (30% CO_2 ; 70% N_2) (Q: 6,63 L d^{-1})	-	-	47,3b	89a	2015)
		Aeração constante com biogás sintético (29,5% CO_2 ; 5000ppmv H_2S ; 70% N_2) (Q: 19,9 L d^{-1})		-	65b	122a	
		Aeração constante com biogás sintético (29,5% CO_2 ; 5000ppmv H_2S ; 70% N_2) (Q: 39,8 L d^{-1})		-	81b	152,4a	
		Sem aeração		-	45,2b	85a	
Policultura de <i>Spirulina platensis</i> , <i>Phormidium</i> sp., <i>Oocystis</i> sp. and <i>Microspora</i> sp.	Meio mineral sintético	Aeração constante com biogás sintético (30% CO_2 ; H_2S 500 ppmv e balanceado com N_2)	24 [80]	-	52b	97,8a	(Bahr et al., 2014)
		Aeração constante com biogás sintético (30% CO_2 ; H_2S 5000 ppmv e balanceado com N_2)		-	52b	97,8a	
	Centrato diluído (14%) de efluente doméstico	-		26,1b	49a		
<i>Chlorogonium</i> sp.	Efluente doméstico não estéril	Mistura de ar com CO_2 (14,7%)	12:12 [100-200]	-	31,36	58,96	(Lee et al., 2015)
Policultura de <i>Planktolyngba brevicellularis</i> , <i>Stigeoclonium</i>	Vinhaça digerida anaerobicamente diluída (9%) misturada na L.A.T.	Aeração constante de biogás sintético (29,5% CO_2 ; 5000ppmv H_2S ; 70% CH_4)	16:08 [104 ± 25]	-	95,9 ± 5	180,29 ± 9,5a	(Posadas et al., 2015)

Microalga	Meio de cultura	Alimentação de gás e composição (% v/v)	Fotoperíodo (horas luz:escuro) [intensidade luminosa ($\mu\text{mols m}^{-2} \text{s}^{-1}$)]	μ (d^{-1})	Produtividade de celular ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Velocidade de assimilação de CO_2 ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$)	Referência
<i>tenuis</i> e <i>Limnotherix planktonica</i> .	Vinhaça digerida anaerobicamente diluída (9%) misturada na linha de circulação da CA.			-	106,5 ± 2,8	200,2 ± 5,3a	
	Vinhaça bruta diluída (9%) misturada na linha de circulação da CA.			-	126,2 ± 3,7	237,25 ± 7a	

a Estimado por: velocidade de fixação de CO_2 (μCO_2) = 1,88 (derivado de uma fórmula molecular típica de microalgas, $\text{CO}_{0,48}\text{H}_{1,83} \text{N}_{0,11} \text{P}_{0,01}$ por Chisti, 2007) \times produtividade de biomassa ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$).

b Estimado por: $Q_{\text{out}} \times$ concentração de biomassa (mg L^{-1}) na LAT / volume total.

c Estimado por: $X_{\text{max-Xo}}$ (mg L^{-1}) / período de cultivo.

Q: Vazão de gás em litros por dia (L d^{-1}) ou volume de gás por volume de meio de cultura por minuto ($\text{v v}^{-1} \text{m}^{-1}$).

Como se pode verificar na Tabela 4, existem poucos trabalhos que tem mencionado a utilização de biogás aliado a utilização de efluentes da suinocultura para cultivo de microalgas. Somente o recente trabalho de Xu et al. (2015) traz informações sobre utilização de efluente suínico para crescimento de microalgas integrado a utilização de CO₂ do biogás. Contudo, este autor menciona condições estéreis de cultivo, biogás dessulfurizado, além de espécies de microalgas selecionadas, sendo que tais condições podem trazer despesas adicionais à tecnologia.

Além disso, considerando que existem elevadas concentrações de H₂S presentes no biogás (até 5.000 ppm; KAO et al, 2012a) podem existir alguns efeitos inibidores sobre as microalgas. Para ilustrar, *Chlorella* sp. foi inibida quando aerada com ≥ 100 ppmv de H₂S (Tabela 4) (KAO et al., 2012a).

Outros trabalhos mencionam a inibição da fotossíntese em concentrações de H₂S a partir de 8 mg L⁻¹ (SHILTON, 2005). Yellowstone e Park, (1977) demonstraram que o H₂S influencia na fotoredução do CO₂ no fotossistema da microalga *Spirulina labyrinthiformis* quando exposta a concentrações de 20 a 41 mg H₂S L⁻¹. Küster et al. (2005) verificou que a LD₅₀ foi relatada a concentração de 1,87 mg H₂S L⁻¹ para a microalga *Scenedesmus vacuolatus*. A dose letal de 50% (DL₅₀) reportada por Gupta et al. (2014) para a espécie de *Chlamydomonas* sp. é de 112,2 mg H₂S L⁻¹.

Compostos derivados da oxidação biológica de H₂S também podem afetar o crescimento de microalgas. Por exemplo, SO₃²⁻ é conhecido por inibir a fixação de CO₂ pela fotossíntese de plantas devido a competição do pelo sítio ativo na enzima RuBisCO, além de inibir a produção mitocondrial de ATP (MALHOTRA e HOCKING 1976).

A molécula de H₂S é pequena e também é referida como um gasotransmissor (meio de comunicação intercelular através de sinais elétricos e de junções nervosas e/ou químicas) e por isso pode exercer influência nos microrganismos em quantidades pequenas (LLOYD, 2006). De acordo com Gupta et al. (2014) os efeitos inibitórios do H₂S são relatados: (1) transporte de CO₂ na fotossíntese e (2) inibição da proteína carregadora de elétron do PS II para o PS I o qual também é inibido pela toxina como o herbicida [3-(3,4- diclorofenil)-1,1-dimetilureia] (DCMU).

Assim, o presente trabalho visa contribuir, avaliando os efeitos do biogás não dessulfurizado durante o crescimento de microalgas e na fitorremediação de efluente suínico por um consórcio de microalgas nativas. Também será demonstrado o efeito de dois distintos fotoperíodos no desempenho do sistema, uma vez que a incorporação de CO_2 do biogás pelas microalgas depende da quantidade de luz fornecida. As informações que serão obtidas podem colaborar para o entendimento dos efeitos que o sistema integrado de microalgas, efluente e biogás, podem gerar sob a composição do biogás, na eficiência de purificação do efluente e na produção de microalgas.

3 MATERIAL E MÉTODOS

Todos os experimentos realizados neste trabalho foram desenvolvidos no Laboratório de Experimentação e Análises Ambiental (LEAA), o qual está localizado na Embrapa Suínos e Aves, do município de Concórdia - Santa Catarina.

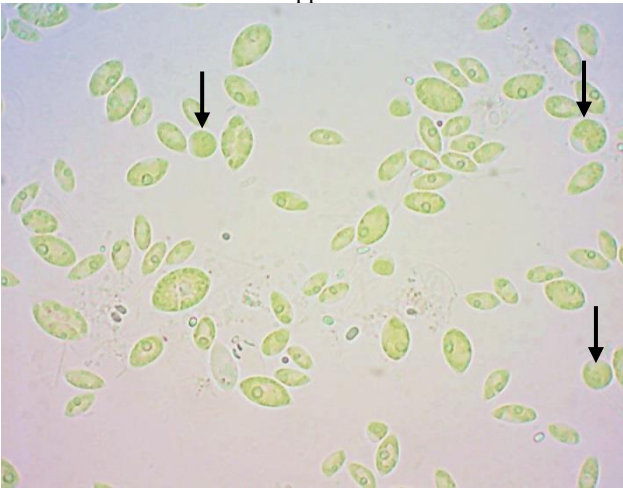
3.1 OBTENÇÃO DO INÓCULO

Um consórcio de microalgas constituído por espécies de *Scenedesmus* spp. e *Chlorella* spp. foi utilizado neste trabalho (Figura 3). Tais gêneros já têm sido estudados e são descritos por se desenvolverem naturalmente em meios contendo efluentes domésticos (RAWAT et al., 2011; ABDEL-RAOUF et al., 2012), agroindustriais (GODOS et al., 2010), e industriais em determinados casos (PITTMAN et al., 2011).

Este inóculo de microalgas utilizado foi coletado em uma lagoa facultativa de tratamento de dejetos suínos da Embrapa Suínos e Aves Concórdia – SC. Antes de ser utilizado nos testes, o inóculo foi aclimatado, em cultivo em batelada, com alimentação de 6% v/v de digestato suíno, iluminação de lâmpadas fluorescentes, temperatura ambiente de 22°C, em frascos de vidro sob agitação contínua provenientes de bombas de aquário. Este inóculo foi mantido durante todo o período experimental e foi utilizado para os testes.

O consórcio de microalgas utilizada nos testes foi identificado com auxílio de microscópio ótico (1000x) (Eclipse E200 - Nikon). A Figura 3 mostra uma imagem de microscópio do inóculo de microalgas mantidas em laboratório, usadas para os testes.

Figura 3 - Microalgas *Scenedemus* spp. (forma oval) e *Chlorella* spp. (forma esférica) observadas em microscópio óptico a lente ótica de aumento de 1000 vezes. As setas indicam as *Chlorella* spp.

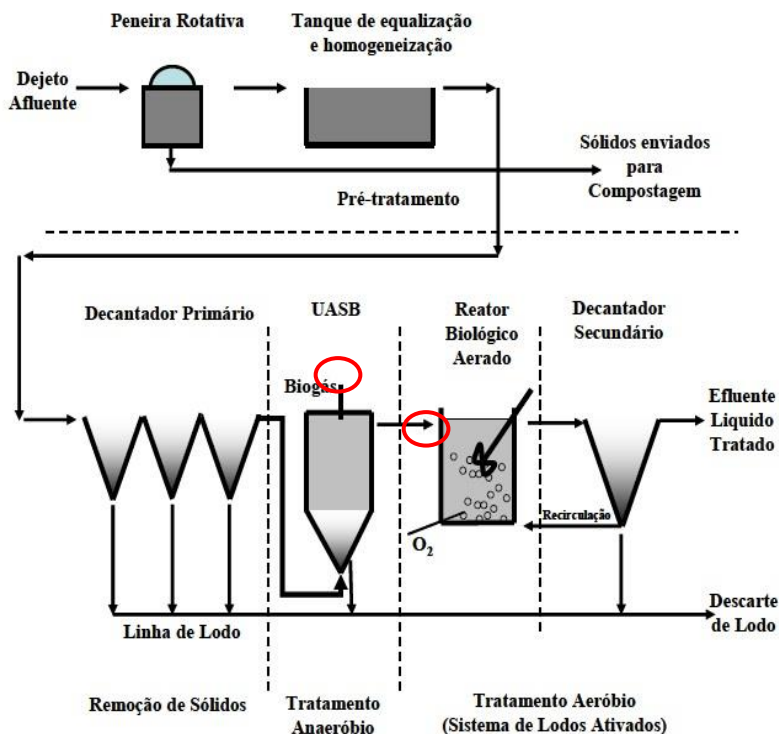


Fonte: Autor.

3.2 OBTENÇÃO DO MEIO DE CULTURA E DO BIOGÁS

O efluente suinícola e o biogás foram obtidos na Estação de Tratamento de Dejetos Suínos (ETDS) da Embrapa Suínos e Aves. O efluente era coletado em frascos plásticos de volume de 2 litros, sendo separada a quantidade necessária, para utilizar na alimentação dos experimentos. O biogás era coletado na canalização de saída de do biodigestor, armazenado em 2 sacos de polietileno de 15 à 20L cada, os quais eram imediatamente injetados no fotobiorreator. A Figura 4 apresenta o fluxograma de processo da ETDS.

Figura 4 - Fluxograma da Estação de Tratamento de dejetos suínos da Embrapa Aves e Suínos, Concórdia, SC. Os locais destacados indicam os pontos de coleta do efluente e do biogás utilizados presente estudo.



Fonte: Kunz et al. 2009.

Na ETDS, o dejetos oriundo das granjas de criação de suínos é recebido, e o tratamento preliminar é através de uma peneira de escovas rotativas, que realiza a separação de sólidos grosseiros. Posteriormente, é mantido em tanque de equalização, onde ocorre o armazenamento e homogeneização do material residual. Em seguida o dejetos é bombeado para o flotodecantador onde ocorre um tratamento físico-químico, realizado pela adição de agentes flocculantes (Tanino e Poliácridamida). O sobrenadante desta etapa é conduzido, por gravidade, até o reator biológico anaeróbico com manta de lodo de fluxo ascendente – Upflow Anaerobic Sludge Blanket (UASB), onde a matéria orgânica presente é biodegradada e digerida através de uma transformação por

microrganismos anaeróbios, tendo como produto final o biogás. Nesta estação, ainda contém um reator biológico aeróbio (RBA) que tem por finalidade degradar a matéria orgânica remanescente sob condições aeróbias e promover a oxidação do nitrogênio amoniacal. Após a passagem pelo RBA, o efluente é encaminhado a um Decantador Secundário (DS) onde se tem a separação do sólido-líquido, sendo que a fração líquida tratada segue para o corpo receptor (DELABARY, 2012).

O efluente utilizado foi coletado na saída do reator UASB, pois nesta etapa de tratamento o efluente contém alta concentração de nutrientes, como o NH_4^+ e o PO_4^{3-} , os quais são de extrema importância para o crescimento das microalgas. Desta forma, a utilização do efluente correspondente à saída do reator anaeróbio visa simular a utilização da saída de biodigestores anaeróbios, os quais tem utilização bastante disseminada como forma de manejo de efluente suinícola.

Para caracterizá-lo, foram realizadas determinações analíticas da série de sólidos (ST, SV, SST), Carbono Orgânico Total (COT), além dos íons amônio e fosfato.

O biogás gerado no reator UASB foi utilizado como fonte alternativa de CO_2 para o cultivo das microalgas. Assim, a integração da utilização do biogás durante o cultivo tem como objetivo, além de fornecer carbono às microalgas e estimular o crescimento microalgal, também demonstrar a eficiência como método de purificação do biogás.

3.3 FOTOBIORREATOR (FBR)

Dois frascos de vidro transparentes com capacidade de 8,45 litros cada um (30 cm altura x 20 cm diâmetro) foram utilizados como fotobiorreator. No intuito de obter volume útil adequado e devido as perdas de biogás durante as amostragens, estes frascos foram interconectados com mangueiras de teflon (impermeáveis ao gás) na parte superior e inferior do reator. Estes frascos foram vedados com rolhas de borracha, sendo que nas rolhas foram conectados registros para injeção de biogás e saturação de biogás no espaço gasoso do interior dos frascos (headspace). Para promover agitação do meio de cultura de cada frasco foram utilizados dois agitadores magnéticos, os quais ficaram em operação contínua durante a realização dos ensaios.

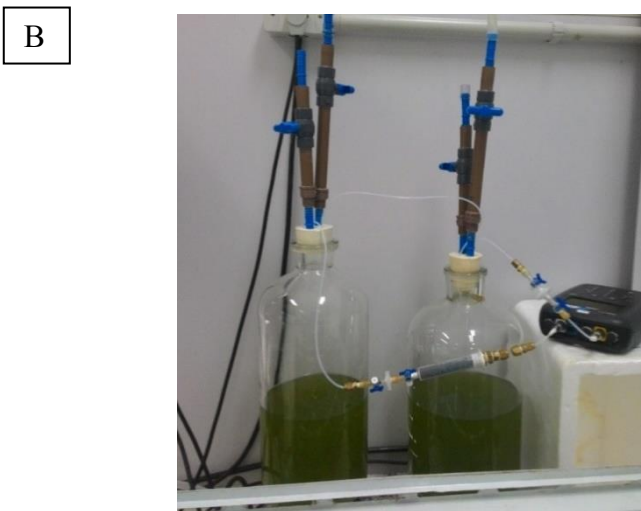
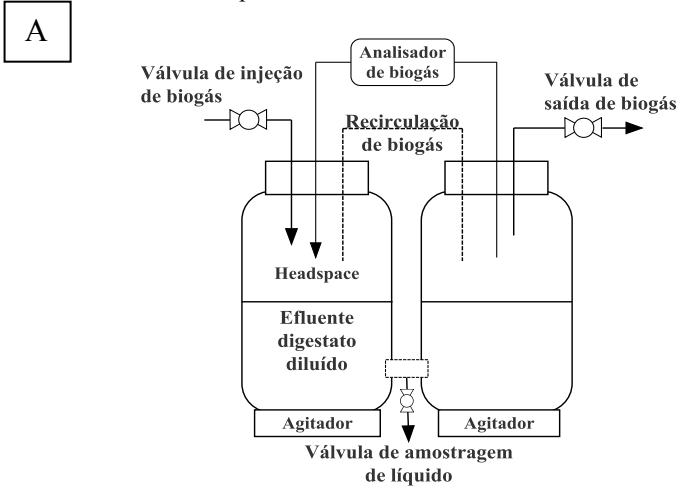
Nas rolhas também foram conectados mangueiras de teflon com acesso ao interior dos frascos as quais eram também conectadas a um analisador de biogás. A amostragem no meio de cultura era feita por uma válvula localizada na mangueira da parte inferior de reator. A Figura 5 (A) apresenta o esquema do fotobiorreator utilizado.

Para iluminação deste fotobiorreator foi utilizado dois painéis de lâmpadas LED (PGL-RBC 2500, Parus) que emitem luz de comprimento de onda de 630nm, tendo potência de 120 Watts cada painel. Estes painéis foram mantidos a 20 centímetros de distância do fotobiorreator, e a intensidade luminosa correspondeu a $148,5 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ a qual foi medida com um luxímetro. Para regulação do fotoperíodo foi utilizado um temporizador.

Os volumes correspondente a fase líquida (meio de cultura e microalgas) foram correspondente a 8,9 litros e o headspace teve volume de 8 litros. Estas proporções foram determinadas e mantidas para todos os testes.

As quantidades de efluente e inóculo também foram as mesmas para todos os testes realizados. Todos os testes continham 6 %v/v de efluente, 30%v/v de inóculo de uma solução de aproximadamente 250 mg L^{-1} de microalgas e 64 %v/v de água destilada. Estas condições foram preestabelecidas de acordo Michelin et al., (2015), o qual utilizou o mesmo tipo efluente e o mesmo consórcio de microalgas e comprovou que esta proporção de efluente é a condição onde se tem a maior velocidade média inicial de crescimento microalgal. A proporção de inóculo utilizado de 30% v/v ($\approx 75 \text{ mg L}^{-1}$ de microalgas) também foi utilizada por este autor. De acordo com Tongprawhan et al. (2014) a concentração inicial de microalgas é um parâmetro fundamental que influencia diretamente nas velocidades de crescimento. Portanto, a quantidade inicial de microalgas utilizada foi adequada, pois em testes preliminares foi verificado crescimento exponencial logo no primeiro dia de ensaio.

Figura 5 - (A) Desenho esquemático do fotobiorreator utilizado, (B) foto do fotobiorreator com lâmpadas LED a 20 cm de distância do fotobiorreator.



Fonte: Autor.

3.4 ENSAIOS REALIZADOS

Para verificar o efeito do biogás e de diferentes fotoperíodos no crescimento das microalgas, na remoção de CO_2 e também na remoção

dos nutrientes foram feitos ao total 4 diferentes condições de testes. Com o fotobiorreator aberto ao ar e fechado com injeções de biogás no headspace. Para cada uma destas duas condições foram feitos testes com dois fotoperíodos distintos, um de 24 horas luz por dia e outro de 12 horas luz por dia, os quais foram controlados com auxílio de um temporizador. Todos os ensaios mencionados acima tiveram duração de 13 a 21 dias (ensaios de longa duração), sendo que foram realizadas duplicadas com um tempo menor de duração (4 a 9 dias) para obtenção dos parâmetros de crescimento, remoção de nutrientes e da variação dos componentes do biogás.

Foram realizados dois ensaios que visaram quantificar as perdas dos gases, de maneira abióticas e biológicas (por bactérias presentes). No ensaio para verificar as perdas abióticas foi inoculado somente o efluente diluído com adição de um bacteriostático, o qual foi NaN_3 (1g L^{-1}) (azida sódica), portanto sem a adição de microalgas. Já no ensaio para verificar as perdas biológicas, foi adicionado o apenas o efluente diluído. Nestes dois testes foi injetado biogás no headspace do fotobiorreator, o qual foi analisado diariamente durante seis a sete dias.

Com intuito de verificar se o fósforo presente no efluente diluído causaria alguma limitação ao crescimento das microalgas, foi realizado um teste com adição extra de fósforo. Neste teste foi adicionada quantidades iniciais de 20 a 25 mg L^{-1} de $\text{P-NaH}_2\text{PO}_4$.

Para os ensaios utilizando biogás, a concentração de nitrogênio amoniacal do efluente foi balanceada com a adição de $\text{N-NH}_4\text{Cl}$ (cloreto de amônio). A adição de N sintético nesta condição teve por objetivo igualar as concentrações de nitrogênio amoniacal obtidas nos primeiros testes com as suas respectivas réplicas. Desta forma para os ensaios utilizando biogás, a concentração de nitrogênio amoniacal foi de aproximadamente 120 mg L^{-1} , portanto nesta condição teve a necessidade de adição de cloreto de amônia réplica respectiva. Para as condições utilizando ar atmosférico não houve a necessidade de adição de N sintético uma que a quantidade inicial obtida foram equivalentes as suas réplicas.

Durante a realização dos testes eram coletados diariamente 50mL de amostra, para não haver pressão negativa no interior do fotobiorreator, foram adicionados 50mL de água destilada. Foram feitas determinações de pH, temperatura (Hanna Instruments, HI 8424), oxigênio dissolvido (Lutron DO-5519) e biomassa (4.4.1). Posteriormente as amostras eram filtradas em membrana de papel de

porosidade de 0,6 μm . Destes 50mL, 4mL eram filtrados a 0,45 μm e congelados à -20°C para análise de carbono. O restante era esterilizado com 30 μL de clorofórmio e armazenado em geladeira (4°C) até o momento das demais determinações descritas a seguir.

3.5 METODOLOGIAS E TÉCNICAS LABORATORIAIS

3.5.1 Biomassa de Microalgas

A determinação da biomassa microalgácea foi obtida através da densidade ótica, analisada no espectrofotômetro HACH DR/2000, ajustado no comprimento de onda de 570nm. Para a obtenção da relação concentração da massa de microalgas (C_A) e densidade ótica, foi desenvolvida uma curva de calibração (regressão linear de biomassa seca versus $ABS_{570\text{nm}}$). Para aquisição da concentração de biomassa, foram coletadas amostras em triplicata de diferentes tempos durante um experimento preliminar (mesmas condições experimentais), assim o procedimento foi feito da seguinte forma: as amostras eram filtradas em filtros de papel de porosidade de 0,6 μm , previamente pesados, em seguida, os filtros eram secados a 105°C por 24 horas, esfriados em dessecador por 1 hora e depois eram pesados novamente.

O resultado da concentração da massa de microalgas obtido era plotado com as suas respectivas absorvâncias ($ABS_{570\text{nm}}$) e feito o cálculo de regressão linear no programa Microsoft Office Excel para obtenção da seguinte relação:

$$C_A \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = 536 \times ABS_{570\text{nm}} - 36,9 \quad \text{(Equação 8)}$$

Onde:

C_A : Concentração de massa de microalgas (mg L^{-1}).

Os limites de calibração para $ABS_{570\text{nm}}$ foram de aproximadamente de 0,15 a 0,9 NTU (medida de absorvância).

3.5.2 Íons Nitrogenados, Fosfato, Sulfato e Tiosulfato, Carbono Inorgânico (CI) e Carbono Orgânico Total (COT)

- N-NH₃: Metodologia padrão 4500-NH₃ D, que utiliza eletrodo seletivo a amônia (APHA, 2012).
- N-NO₂⁻ e N-NO₃⁻: Método colorimétrico em um sistema de análise por injeção em fluxo em um Sistema Multicanal FIALab – 2500 conforme (APHA 2012).
- P-PO₄³⁻: O método utilizado para quantificação do fosfato dissolvido foi Método Ácido Ascórbico 4500-P E (APHA, 2012).
- Para obtenção dos resultados de SO₄²⁻ e S₂O₃²⁻, utilizou-se o sistema de cromatografia de íons Thermo Scientific Dionex ICS-5000, com detector condutivimétrico com supressão eletrolítica. Para a separação foi utilizada coluna capilar IonPac AS18-Fast (0,4 x 150 mm) e pré-coluna IonPac AG18-Fast (0,4 x 35 mm), marca Dionex, com volume de injeção de 0,4 µL e com vazão de 0,012 ml min⁻¹.
- As determinações de carbono orgânico total dissolvido e inorgânico total dissolvido foram feitas pelo método da queima e quantificação do CO₂ em detector por infravermelho.

3.5.3 Cálculo da concentração de amônia livre

A concentração de amônia livre (NH₃) foi quantificada através do equilíbrio químico do sistema para formação de amônia livre através da equação abaixo, proposta por Anthonisen et al. (1976).

$$\text{NH}_3 \text{ (mg L}^{-1}\text{)} = \frac{17}{14} \times \frac{[\text{total de N amoniacal}] \times 10^{\text{pH}}}{e^{[6344/(273+T(\text{C}^{\circ}))]} + 10^{\text{pH}}} \quad (\text{Equação 9})$$

3.5.4 Análise e quantificação da massa dos gases

Foi utilizado o aparelho GEM 5000 – LANDTEC contendo célula interna emitente comprimento de onda de infravermelha com duplo canal de referência para análise dos gases CH₄ e CO₂, e célula eletroquímica interna para análises dos gases O₂, CO e H₂S. Os resultados são expressos em volume (% v/v e ppmv) a partir da pressão estática e da pressão diferencial dos gases no aparelho.

O aparelho ficava conectado ao fotobiorreator durante o tempo de ensaio, sendo que para a leitura dos gases, o aparelho era ligado de modo que o gás do fotobiorreator era aspirado, analisado, e devolvido para o fotobiorreator continuamente.

Para estimar a massa dos gases contendo no headspace do reator foi utilizado a Lei dos gases ideais com temperatura igual a 25°C de acordo com a Equação 10.

$$PV = nRT$$

(Equação
10)

Onde:

P: Pressão do sistema (atm);

V: Volume do sistema (L);

n: Número de mols presente no sistema;

R: Constante dos gases ideais (0,082 atm.L.mol⁻¹.K⁻¹);

T: Temperatura do sistema (K).

Para quantificar a massa elementar de cada componente presente, o valor de mols obtido na Equação acima para cada componente analisado, foi multiplicado pela percentagem da substância mensurada pelo aparelho (%Vi) e pela massa molecular do elemento de acordo com a Equação 11:

$$MA_i = M_i \times n \times (\%V_i \div 100)$$

(Equação
11)

Onde:

MA_i: Massa da substância quantificada no reator (mg);

M_i: Massa molar do elemento (mg mol⁻¹);

n: Número de mols da substância presente no headspace do reator (valor obtido pela Equação 10);

%Vi: Percentagem volumétrica da substância analisada (%v/v).

3.5.5 Cálculo da quantidade de sulfeto de hidrogênio (H₂S) aplicado

No intuito de quantificar a massa de H₂S inserida no reator ao longo de cada teste, foi calculado de forma cumulativa somando as massas de H₂S de cada injeção de biogás de acordo com a Equação 12. Neste cálculo foi estimado que todo H₂S injetado era dissolvido no líquido.

$$C_{\text{H}_2\text{S}} = \frac{\sum_{i=1}^n \text{IH}_2\text{S}}{\frac{V_L}{\Delta d}} \quad (\text{Equação 12})$$

No qual:

C_{H₂S}: Carga de H₂S aplicada do reator (mg L⁻¹ d⁻¹);

IH₂S: Massa de H₂S injetada no headspace do reator (mg V_G⁻¹ – miligrama por volume total de fase gasosa);

V_L: Volume da fase líquida do reator (litros);

Δd: Duração de tempo de ensaio (dias).

3.5.6 Análise da Clorofila *a*

A determinação da clorofila *a* usada neste trabalho é a metodologia descrita por Porra et al (1989). As amostras eram coletadas diariamente em duplicata e armazenadas a -20°C em ambiente escuro, para que não houvesse degradação da clorofila pela luz. As amostras foram centrifugadas por 40 segundos a uma rotação correspondente a 3000 vezes força da gravidade, em seguida retirava-se o sobrenadante, para a diluição do sedimentado com o metanol 99,94%. Para melhor diluição era utilizado agitador mecânico de tubos.

As leituras de absorvância foram feitas no aparelho espectrofotômetro VARIAN, INC. Cary® 50 UV-Vis. Os comprimentos de ondas utilizados para análise espectrofotométrica das amostras foram

de 665,2 e 652 nanômetros, tendo como o branco o metanol, de acordo com Porra et al., (1989). Os resultados obtidos eram submetidos a seguinte Equação:

$$\begin{aligned} \text{Clorofila } a \text{ mg L}^{-1} &= (16,29 \times ABS_{665,2nm}) \\ &- (8,54 \times ABS_{652nm}) \end{aligned} \quad (\text{Equação 13})$$

3.5.7 Crescimento teórico com base no carbono presente no sistema

No intuito de estabelecer um balanço do carbono presente no sistema, foi feita uma estimativa do crescimento das microalgas, em função da remoção do carbono do sistema. Foi utilizado como base a fração típica de carbono presente nas microalgas, que de acordo com Chisti et al (2007) é correspondente a 51,3%.

Desta forma para obter os dados da variação da massa microalgas em função do tempo foi elaborada a Equação 14 que está descrita a seguir.

$$\begin{aligned} C_A &= C_{AI} \\ &+ \sum_{i=1}^n \frac{[(CO2_i - CO2_t) + (TOC_i - TOC_t) + (TIC_i - TIC_t)]}{V_L} \end{aligned} \quad (\text{Equação 14})$$

Onde:

C_{AI} : Concentração de massa de microalgas do tempo i (mg L^{-1});

C_A : Concentração de massa de microalgas no tempo t (mg L^{-1});

$CO2_i$: Massa de carbono na forma de CO_2 (mg) no headspace do reator no tempo i ;

$CO2_t$: Massa de carbono na forma de CO_2 (mg) no headspace do reator no tempo t ;

TIC_i : Massa de carbono inorgânico dissolvido (mg) no tempo i ;

TIC_t : Massa de carbono inorgânico dissolvido (mg) no tempo t ;

TOC_i : Massa de carbono orgânico total (mg) no tempo i ;

TOC_t : Massa de carbono orgânico total (mg) no tempo t ;

FCM: Fração mássica de carbono das microalgas (0,513 g/g);
 V_L : Volume da fração líquida do reator (L).

3.5.8 Velocidade específica de crescimento

A velocidade específica de crescimento (μ) é a medida de quão rápido uma população microbiana cresce. Altos valores de μ são indicativos de elevadas velocidades de crescimento microbiano. A determinação da velocidade de crescimento específico foi calculada de acordo com a Equação 15 (SCHMIDELL et al., 2001).

$$\mu = \left(\frac{\ln X_t}{\ln X_0} \right) / \Delta t \quad \text{(Equação 15)}$$

Onde:

μ : Velocidade específica de crescimento (d^{-1});
 X_t : Concentração de microalgas no tempo t ($mg L^{-1}$);
 X_0 : Concentração de microalgas no tempo zero ($mg L^{-1}$);

3.5.9 Velocidade média de crescimento de microalgas

A velocidade produção ou crescimento de massa de microalgas foi determinada considerando a fase de crescimento linear inicial (3 a 5 dias) das microalgas de acordo com a Equação 16 (ABREU et al., 2012).

$$P_{\max} = \frac{X_t - X_0}{t_t - t_0} \quad \text{(Equação 16)}$$

Onde:

P: Produtividade ou velocidade de crescimento de microalgas ($mg L^{-1} d^{-1}$);
 X_0 : Concentração de microalgas no tempo zero ($mg L^{-1}$);
 X_t : Concentração de microalgas no tempo t ($mg L^{-1}$);
 t_0 : Tempo zero (dias);
 t_t : Tempo t (dias).

3.5.10 Remoção de CO₂

Para os testes utilizando biogás, a velocidade de remoção de CO₂ foi calculada durante a fase linear de remoção, para verificação dessa fase, os dados foram plotados de forma cumulativa das reinjeções.

$$R_{\text{CO}_2} = \frac{\sum_{i=1}^n \text{ICO}_2}{V_G (t_f - t_i)} \quad (\text{Equação } 17)$$

No qual:

R_{CO_2} : Velocidade de remoção de CO₂ (mg L⁻¹ d⁻¹);

ICO_2 : Massa de CO₂ injetada no headspace do reator (mg V_G⁻¹ – miligrama por litro de fase gasosa);

V_G : Volume do headspace do reator (L);

t_i : Tempo inicial (dias);

t_f : Tempo final (dias).

Para determinação da velocidade de fixação de CO₂ para os testes com os reatores abertos foi utilizado a Equação 18 de acordo com Tang et al. (2011).

$$R_{\text{CO}_2} = C_C \times P_{\text{max}} \times \left(\frac{M_{\text{CO}_2}}{M_C} \right) \quad (\text{Equação } 18)$$

Onde:

R_{CO_2} : Velocidade de remoção de CO₂ (mg L⁻¹ d⁻¹);

C_C : É a fração de carbono das células de microalgas (0,513) (CHISTI, 2007);

P_{max} : Máxima produtividade de biomassa;

M_{CO_2} : Massa molar do CO₂ (mg mol⁻¹);

M_C : Massa molar do Carbono (mg mol⁻¹);

3.5.11 Análise Estatística

Os dados foram analisados por meio de análise de variância de via única (ANOVA) $p < 0,05$, utilizando o programa Microsoft Office Excel, com duas repetições para cada condição.

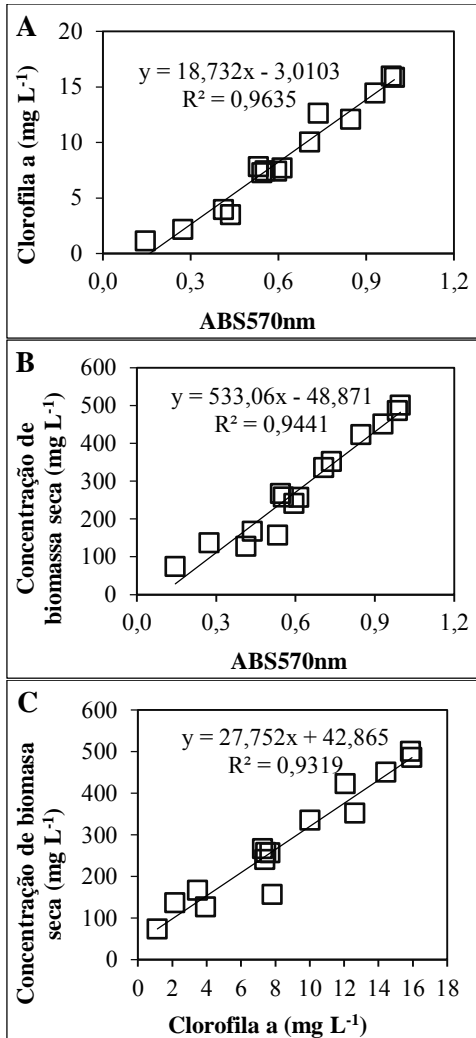
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ESTUDO DA RELAÇÃO BIOMASSA SECA, Clorofila *a* E ABSORBÂNCIA À 570nm (ABS_{570nm})

Este estudo teve como objetivo verificar a relação entre formas de quantificação da biomassa de microalgas. Esta investigação se faz necessária uma vez que o método de quantificação através da absorvância é mais prático e rápido que do peso seco e clorofila *a*. Além disso, a quantificação da biomassa de microalgas pode ser afetada pela heterogeneidade de culturas, a carga de sedimentos, bactérias e outras matérias orgânicas, gerando imprecisão durante a quantificação (LOWREY e YILDIZ, 2013).

Desta forma, foram realizados testes preliminares de crescimento de microalgas com fotoperíodo de 12 horas luz por dia, no qual as amostras foram coletadas diariamente e os dados de Biomassa Seca, Clorofila *a* e Absorvância à 570nm (ABS_{570nm}) foram correlacionados através de regressão linear a fim de se verificar linearidade através do coeficiente de determinação (r^2) e os modelos que predissessem tais relações.

Figura 6 - Dados experimentais e regressão linear entre ABS570nm e Clorofila a (A), ABS570nm e Peso seco (B), Clorofila a e Peso seco (C), dos testes preliminares de crescimento das algas.



As três relações apresentaram boa linearidade ($r^2 > 0,93$) (Figura 6), o que demonstra que é possível estimar os valores de peso

seco de microalgas e Clorofila *a* em função da ABS_{570nm} e estimar peso seco através de Clorofila *a* ou vice-versa. Entretanto, tais relações podem apresentar diferentes proporções e coeficientes quando a turbidez inicial do meio de cultura variar em função da quantidade de efluente, sendo que o mesmo é bastante turvo. Por outro lado o teor clorofila *a* pode variar sua concentração em função das condições de luminosidade, temperatura e pH, podendo assim conter diferentes proporções em relação a biomassa seca e a absorvância (RAMARAJ et al., 2013).

4.2 CARACTERIZAÇÃO DO EFLUENTE E DO BIOGÁS UTILIZADO

Os valores da Tabela 5 correspondem aos parâmetros analisados do efluente e do biogás da saída do reator anaeróbio (UASB) da ETDS da Embrapa Suínos e Aves.

Tabela 5 - Resultado da caracterização do efluente suíno e do biogás (injetado no fotobiorreator) provenientes do reator anaeróbio (UASB) da ETDS da Embrapa Suínos e Aves, Concórdia Santa Catarina. O desvio padrão se refere a $n = 2$ para o efluente e $n = 4$ para o biogás.

	Parâmetros	Concentração	Desvio padrão
Efluente da saída do biodigestor tipo UASB	Sólidos Totais ($mg L^{-1}$)	5724	73,5
	Sólidos Voláteis ($mg L^{-1}$)	2887	72,6
	Sólidos Suspensos ($mg L^{-1}$)	3,2	0,6
	CI ($mg L^{-1}$)	908	45,6
	COT ($mg L^{-1}$)	1833	638
	P- PO_4 ($mg L^{-1}$)	51	2,7
	N- NH_3 ($mg L^{-1}$)	1153	104
Biogás proveniente do biodigestor tipo UASB	CH_4 (% v/v)	69,7	3,3
	CO_2 (% v/v)	21,8	1,9
	O_2 (% v/v)	1,4	0,8
	CO (ppmv)	3,8	6,2
	H_2S (ppmv)	2549	592
	BAL* (% v/v)	7,2	3,2

*Outros gases que não são detectados pela metodologia de análise realizada.

Conforme a Tabela 5, o efluente utilizado possuía a presença de elevada concentração de nitrogênio amoniacal e também de fosfato

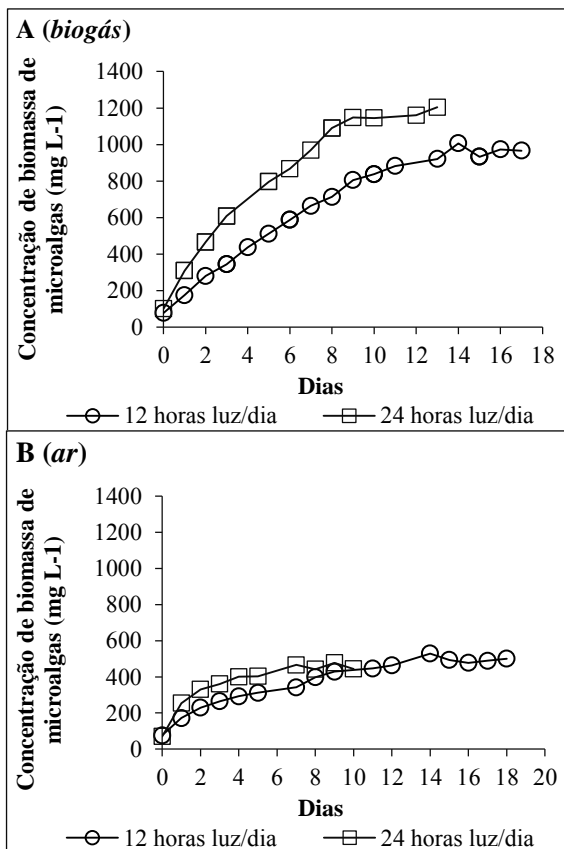
solúvel, em virtude do processo de digestão anaeróbia praticamente não remover nutrientes. Contudo a relação de N/P deste efluente foi de aproximadamente de 51, o que pode representar limitação por fósforo, por exemplo para espécies de *Chlorella* sp., uma vez que a relação N/P ideal para estas espécies são de 7. Contudo espécies de *Scenedesmus* sp. possuem relação ideal de N/P em torno de 30 (CAI et al., 2013). Outra observação interessante é que o efluente possuía elevada quantidade de carbono orgânico ($\approx 1800 \text{ mg L}^{-1}$) mesmo após remoção de aproximadamente 80% do carbono orgânico pelo tratamento anaeróbio (KUNZ et al., 2009).

O biogás utilizado continha oxigênio em sua composição por ser transportado em sacos polietileno até o laboratório, assim pode ter ocorrido eventual contaminação até o momento da análise. O biogás continha também elevadas concentrações de metano, além de dióxido de carbono e gás sulfídrico, sendo que a presença de CO_2 e H_2S constituem-se no principal problema para a viabilização de seu armazenamento e na produção de energia.

4.3 TESTES DE CRESCIMENTO UTILIZANDO FOTOPERÍODO DE 12 E 24 HORAS LUZ POR DIA COM SUPLEMENTAÇÃO DE BIOGÁS OU AR ATMOSFÉRICO

Para verificar a influência da utilização do biogás no crescimento das microalgas foram realizados testes com a adição de biogás no headspace do reator e testes com o reator aberto ao ar atmosférico. Além disso, estas duas condições foram submetidas a condições de fotoperíodo de 12 e de 24 horas luz por dia, para verificação da influência da luminosidade diária no crescimento das microalgas. O teste destes fotoperíodos mostrou-se importante, uma vez que em processos contínuos de purificação de biogás, durante a fase escura ocorre a diminuição do oxigênio dissolvido, e desta forma sucede o acúmulo de H_2S no líquido, podendo provocar efeitos tóxicos as microalgas (Tabela 4), além de não haver a fixação de CO_2 pela indisponibilidade de luz para a fotossíntese. A Figura 7 mostra o período de cultivo e o perfil de crescimento das microalgas nas condições mencionadas.

Figura 7 – Crescimento de microalgas cultivadas sob condições de fotoperíodo de 12 e 24 horas luz por dia, com utilização de biogás (A) e cultivada com o fotobiorreator aberto ao ar (B).



Concentração o consórcio de *Scenedesmus* spp. e *Chlorella* spp., nas condições com biogás, teve velocidade média de crescimento de $141,8 \pm 3,5$ e $89,4 \pm 2,9$ $\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$ para o fotoperíodo de 24 e 12 horas luz por dia, respectivamente, mostrando significativas diferenças ($p < 0,05$) na velocidade de crescimento entre estes dois fotoperíodos. Para os testes com o fotobiorreator aberto ao ar as velocidades de crescimento foram de $56,8 \pm 4,6$ e $44,9 \pm 6,9$ para o fotoperíodo de 24 e 12 horas luz por dia, respectivamente (Tabela 6). Com exposição ao ar

atmosférico as velocidades de crescimento foram estatisticamente iguais ($p > 0,05$) entre os fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia.

No presente estudo a utilização do ar pode ter gerado condições ambientais menos favoráveis às microalgas, tanto pelo baixo fornecimento de CO_2 , quanto pelo pH elevado (Item 4.4) e consequentemente alta concentração de amônia livre (Item 4.5). Desta forma, verificou-se os diferentes fotoperíodo geraram diferentes crescimentos das microalgas somente nas condições contendo biogás.

O total de intensidade de luz por dia (fluxo fotossintético diário) para os fotoperíodos 12 e 24 horas luz foram de $6,4 \text{ mol m}^{-2}$ e $12,8 \text{ mol m}^{-2}$, respectivamente. Contudo, o fluxo fotossintético diário obtido no presente estudo está abaixo das condições ótimas pra crescimento de microalgas, que são de $17,6 \text{ mol m}^{-2}$ relatados por Yan e Zheng (2013).

De acordo com Jacob-Lopes et al., (2009) a luz é um substrato limitante nestes sistemas, sendo que o crescimento das microalgas é afetado por zonas de luz/escuro, sendo que isso depende principalmente da configuração do reator, agitação e mistura, além do próprio fotoperíodo fornecido. Adicionalmente, a concentração de células é um outro parâmetro que determina a disponibilidade de luz devido a turbidez e sombreamento das próprias microalgas (EVERS, 1991). No presente estudo, a alta densidade de células pode ter sido um dos fatores que gerou o início da fase estacionária na curva de crescimento, entretanto, os resultados obtidos sugerem que o fotoperíodo é um fator fundamental que deve ser considerado durante o projeto e análise de fotobiorreatores para produção de biomassa.

Quando comparado aos casos da literatura, existem algumas disparidades observadas principalmente nos casos de meio de cultura sintético ou estéril ou devido a diferentes condições de luz (Revisão - Tabela 4). Por exemplo, Xu et al. (2015) obtiveram crescimento de $124,4$ a $311,3 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, usando digestato suínicola autoclavado contendo $1600 \text{ CODmg L}^{-1}$ e iluminado com $200 \mu\text{mol m}^{-2} \text{ s}^{-1}$ (maior disponibilidade de carbono e de luminosidade). Contudo, as velocidades de crescimento do presente trabalho foram maiores que as alcançadas por Bahr et al. (2014) ($26 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), e Serejo et al. (2015) ($81 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$), os quais utilizaram efluente não estéril e suplementação de biogás.

Tabela 6 – Efeito do fotoperíodo e composição da alimentação do gás na velocidade de crescimento específica e (d^{-1}) e na produtividade ($mg L^{-1} d^{-1}$) das microalgas.

Alimentação de gás	Fotoperíodo (horas de luz por dia)	μ (d^{-1})	Produtividade celular ($mg L^{-1} d^{-1}$)
Ar	12	$0,25 \pm 0,12$	$44,9 \pm 6,9$
Biogás		$0,5 \pm 0,1$	$89,4 \pm 2,9$
Ar	24	$0,32 \pm 0,05$	$56,8 \pm 4,6$
Biogás		$0,6 \pm 0,04$	$141,8 \pm 3,5$

Microalgas e bactérias podem se desenvolver juntas, tendo até mesmo ações sinérgicas entre si (MUÑOZ e GUIEYSSE, 2006). Contudo, as condições não estéreis do meio de cultura deste estudo podem desfavorecer o desenvolvimento das microalgas em virtude de que elas geralmente possuem velocidades de crescimento menores que as bactérias e ambos, microalgas e bactérias, podem produzir substâncias inibitórias que os afetem entre si. Além disso, a competição, predação, parasitismo/patogenicidade e presença de outros organismos podem afetar negativamente a produtividade microalgal e a qualidade produzida (POSTEN e WALTER 2012). No entanto, condições estéreis são mais caras e difíceis de se manter, assim vantagens econômicas certamente ocorrem em sistemas de produção de biomassa sem necessidade de esterilização.

A utilização de biogás mostrou ser benéfica para o crescimento das microalgas (Figura 7). As máximas concentrações de biomassa alcançadas foram de aproximadamente 1000; 1200; 520 e 480 $mg L^{-1}$ para as condições de 12 horas luz + biogás; 24 horas luz + biogás; 12 horas luz + ar e 24 horas luz + ar, respectivamente (Figura 6). Isto mostra que os níveis de gás carbônico do biogás puderam se difundir no meio líquido do sistema fechado e estimularam o crescimento das microalgas. Estes resultados estão de acordo com Swarnalatha et al. (2015), que utilizou concentrações de 30% v/v de CO_2 no headspace de um fotobiorreator fechado, o que resultou em concentração de biomassa, velocidade de crescimento e velocidade específica de crescimento maior que quando o ar atmosférico foi utilizado como fonte de CO_2 .

A abundância de CO_2 exerce influência em enzimas do metabolismo do carbono, como a anidrase carbônica e a RuBisCO.

Quando expostas a alta concentração de CO_2 , as microalgas podem aumentar a atividade de carboxilação e reprimir a atividade oxigenase, resultando em aumento da fotossíntese microalgal (YANG e GAO, 2003). Além disso, a baixa produção de microalgas para a condição com fotobiorreator aberto ao ar atmosférico, pode ser explicada pelo stress causado pelo pH (e consequente amônia livre, seção 4.4 e 4.5), além da forma que o carbono inorgânico está presente na água. Quando o CO_2 é dissolvido em água existe um equilíbrio dependente do pH entre o CO_2 , bicarbonato (HCO_3^-) e carbonato (CO_3^{2-}). Acima de pH 8,5 o equilíbrio é predominantemente no sentido de HCO_3^- , CO_3^{2-} e CO_2 e deve ser obtido de forma ativa por meio de mecanismos de concentração de carbono (MCC) da microalga, em que as células desidratam HCO_3^- utilizável (REINFELDER, 2011).

4.3.1 Avaliação da carga de H_2S aplicada

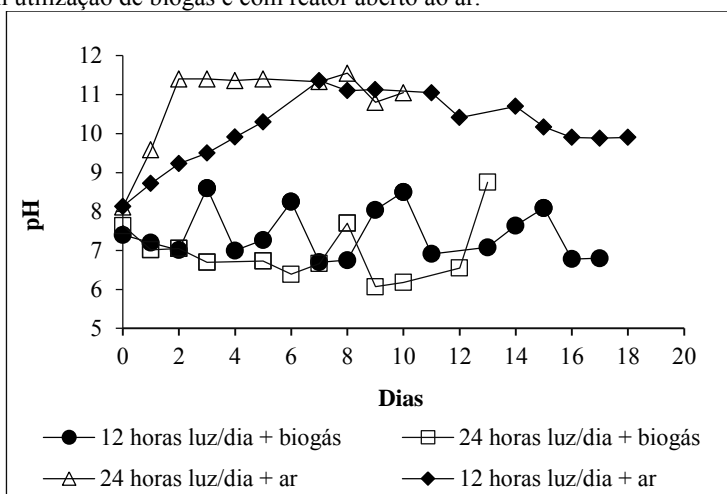
No presente estudo não foi verificada inibição do crescimento das microalgas por sulfeto de hidrogênio proveniente do biogás. A carga aplicada de H_2S variou de 0,52 a 1,83 $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ ($\text{mg H}_2\text{S/litro de meio de cultura/dia}$) para as condições contendo biogás. Sendo que a concentração de microalgas no início dos testes eram de $\approx 70 \text{ mg L}^{-1}$. Estes dados estão de acordo com Serejo et al. (2015) e Posadas et al. (2015), os quais não verificam inibição do crescimento das microalgas quando aplicadas cargas de H_2S de 0,77 a 1,71 $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ à concentração de microalgas de $\approx 350 \text{ mg L}^{-1}$.

Em condições estéreis de cultivo Kao et al. (2012a) verificaram que forte inibição ocorre quando as microalgas são submetidas a carga de H_2S acima de 48 $\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, tendo concentração de microalgas de $\approx 1,2 \text{ g L}^{-1}$. No presente estudo, apesar da carga de H_2S aplicada ter sido menor do que a mencionada por ser tóxico às microalgas, as injeções instantâneas de até 3000 ppmv de H_2S também não demonstraram toxicidade. Desta forma, ficou evidente que a quantidade de H_2S do biogás não foi tóxica, ao mesmo tempo em que o crescimento das microalgas foi estimulado pelo CO_2 presente no biogás.

4.4 PERFIS DE pH

A fotossíntese e a respiração são atividades das microalgas que podem causar grande impacto no equilíbrio químico do carbonato, resultando em mudanças de pH (DEN HENDE et al., 2012). Nos ensaios realizados, o pH oscilou de 6,2 a 8,8 e de 8 a 11,6 para os ensaios utilizando biogás e ar, respectivamente (Figura 8). O aumento do pH foi notável nos testes com o ar, o que sugere que as taxas de fotossíntese (assimilação de CO_2) realizada pelas microalgas foram maiores que a taxa de dissolução de CO_2 atmosférico, dessa forma acarretando no acúmulo de íons hidroxila no meio líquido (utilização de CO_2 e HCO_3^-) (ZHAO e SU, 2014). Contudo, a utilização de biogás promoveu a manutenção do pH devido a dissolução de CO_2 no meio líquido (CHEAH et al., 2014; YANG e GAO, 2003). Além disso, o sulfeto de hidrogênio pode ser oxidado por bactérias facultativas do gênero thiobacillus, o que resulta na formação de ácido sulfúrico contribuindo para diminuição do pH (RATTANAPAN e OUNSAHEHA, 2012).

Figura 8 - Perfil de pH dos ensaios de fotoperíodos de 12 e 24 horas luz por dia, com utilização de biogás e com reator aberto ao ar.



É mencionado pela literatura que a maioria das espécies de microalgas são favorecidas pelo pH neutro. Xiao et al. (2011) verificaram que a microalga *Scenedesmus quadricauda* cresceu bem no intervalo de pH de 6,5 a 8,5, porém o seu pH ótimo está na faixa de 7,5 a 8. Para *Chlorella vulgaris* o pH ótimo é de 6 a 8 (RACHLIN e GROSSO, 1991). O controle do pH nos meios de cultivo de microalgas podem ser caros e difíceis quando se trata de escala de campo. A injeção contínua de biogás contribuiu para manter o pH próximo de 7 como resultado do equilíbrio do CO₂, controlando assim, o efeito do aumento de pH e, conseqüentemente, diminuindo a quantidade de amônia livre presente (Seção 5.4.1 – Remoção de Nitrogênio).

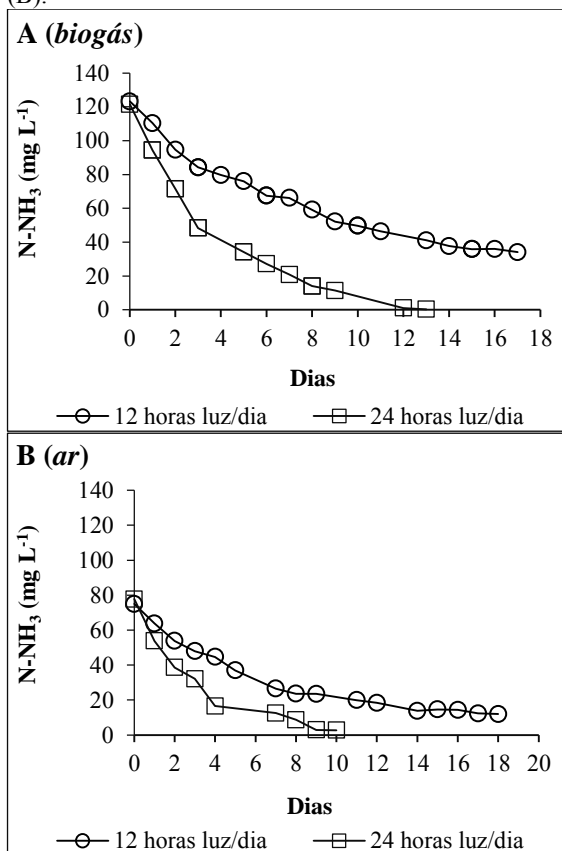
4.5 REMOÇÃO DE NITROGÊNIO TOTAL E VARIAÇÃO DO NITROGÊNIO AMONIAL LIVRE

As microalgas podem servir como importantes agentes para a biorremediação devido possuem capacidade de assimilar os nutrientes de águas residuais para o seu crescimento (CHEAH et al., 2014). Ao longo dos ensaios não houve formação de nitrito e nitrato, sendo que no tempo inicial dos testes as quantidades destes nutrientes também não eram elevadas (n/d a 10 mg L⁻¹ N-NO₂⁻ + N-NO₃⁻) e foram consumidas ao longo dos ensaios. A não formação de nitrito ou nitrato ao longo dos testes pode ter ocorrido possivelmente, devido ao fato de que as microalgas acabam inibindo a atividade das bactérias nitrificantes em virtude da competição pela fonte de carbono inorgânico ou pela formação de metabolitos das microalgas (CHOI et al., 2010).

A condição de fotoperíodo de 24 horas luz por dia com a adição de biogás mostrou significativa diferença de remoção de nitrogênio amoniacal em comparação as demais condições (p<0,05) (Tabela 7). As velocidades de remoção de N-NH₃ nos ensaios realizados com a presença de biogás foram de 21,2 ± 1,2; 14,1 ± 1,2 mg L⁻¹ d⁻¹ para os fotoperíodos de 24 e 12 horas de luz por dia, respectivamente (Tabela 7 e Figura 9). Na ausência de biogás, a velocidade de remoção de N-NH₃ foi de 12,9 ± 2 e 11,5 ± 1,3 mg L⁻¹ d⁻¹ para os fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia, respectivamente (Tabela 7 e Figura 9). Apesar das concentrações iniciais de nitrogênio serem diferentes para estas duas condições (Figura 9), até o momento em que o crescimento entrou em fase estacionária (Figura 7) havia quantidades de nitrogênio amoniacal

no no meio de cultura, o que comprova que não houve limitação de nitrogênio em ambos os casos.

Figura 9 - Perfis de remoção de nitrogênio amoniacal nos fotoperíodos 12 e 24 horas luz por dia, com utilização de biogás (A) e cultivada com o fotobiorreator aberto ao ar (B).



As velocidades de remoção de N-NH₃ obtidas no presente estudo foram menores do que relatado por Zhao et al. (2015), o qual obteve remoção de 30,4 e 29,2 mg-N L⁻¹ d⁻¹ para as espécies de *Scenedesmus obliquus* e *Chlorella vulgaris*, respectivamente, utilizando digestato doméstico esterilizado, e biogás dessulfurizado como fonte

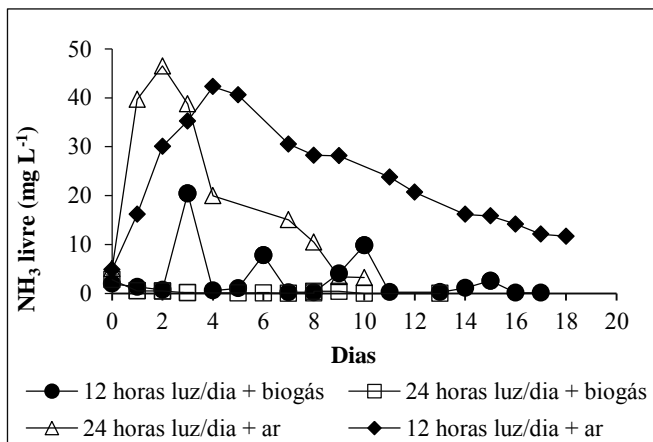
externa de CO₂, além de maiores intensidades de luminosidade (200 μmol m⁻² d⁻¹). Em condições otimizadas de intensidade luminosa, além de condições estéreis de cultivo, Ouyang et al. (2015) e Yan and Zheng (2013) obtiveram velocidades de remoção de nitrogênio de 46,8 e 51,03 mg-N L⁻¹ d⁻¹ para as microalgas *Chlorella* sp. e *Scenedesmus obliquus*, respectivamente. No trabalho de Xu et al. (2015), utilizando digestato suínico autoclavado e biogás dessulfurizado como fonte externa de CO₂, obtiveram velocidade de remoção de nitrogênio total de 9,3 mg-N L⁻¹ d⁻¹ em condições otimizadas de diluição. Lee et al. 2015 reportaram velocidade de remoção de nitrogênio total de aproximadamente 2,9 mg L⁻¹ d⁻¹, usando efluente doméstico não estéril.

Tabela 7 – Velocidades de remoção de nitrogênio amoniacal por microalgas cultivadas na presença e na ausência de biogás sob diferentes fotoperíodos. As letras indicam diferença estatística entre as condições (p<0,05). Os ± representam o desvio padrão da média (n=2).

		Velocidade de remoção de N-NH ₃ (mg L ⁻¹ d ⁻¹)	Correlação	
			N-NH ₃ /microalga (mg/mg)	r ²
Biogás	24 horas luz	21,2 ± 1,2 ^a	0,14 ± 0,01	0,99 ± 0,01
	12 horas luz	14,1 ± 1,2 ^b	0,15 ± 0,03	0,98 ± 0,01
Ar	24 horas luz	12,9 ± 2,0 ^b	0,16 ± 0,02	0,96 ± 0,01
	12 horas luz	11,5 ± 1,3 ^b	0,19 ± 0,07	0,96 ± 0,04

No presente estudo foi realizado uma relação entre o nitrogênio amoniacal consumido e a biomassa produzida para cada ensaio (representado na tabela como N-NH₃ /microalga (mg/mg)), as quais, mostraram uma forte linearidade com as velocidades de crescimento de microalgas (r², Tabela 7). No entanto, o valor de N-NH₃/microalga (mg/mg) (coeficiente angular) obtido nos ensaios com ar tiveram valor um pouco mais elevado do que os ensaios utilizando biogás. Isto sugere que nos ensaios expostos ao ar atmosférico a remoção de nitrogênio amoniacal ocorreu mais acentuadamente do que nas condições com biogás, ou que houve outras formas de remoção, como a volatilização de amônia da fase líquida do reator, uma vez que a quantidade de amônia livre (NH₃) também foram maiores nestas condições (Figura 10).

Figura 10 - Perfis de concentração de nitrogênio amoniacal livre ($N-NH_3$ - $mg L^{-1}$) dos testes com biogás, com ar, nos fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia.



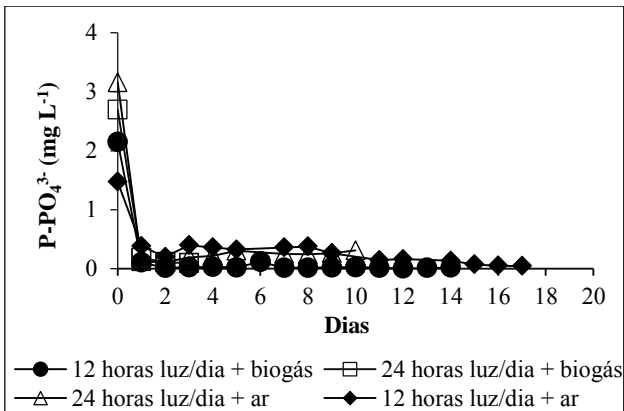
Os níveis de nitrogênio amoniacal livre ($N-NH_3$ livre) chegaram a $\approx 36 mg L^{-1}$ para os testes com reator aberto (Figura 10). Já utilizando biogás, os níveis de nitrogênio amoniacal livre foram mais baixos, de no máximo $\approx 18 mg L^{-1}$ (Figura 10). É reportado que concentrações partindo de 2,8 a 28 $mg L^{-1}$ de amônia livre são tóxicas para *S. obliquus* e *Chlorella vulgaris* (ABELIOVICH e AZOV, 1976; AZOV e GOLDMAN, 1982). Contudo, não foi evidenciado inibição do crescimento do consórcio de microalgas utilizadas neste trabalho. De acordo com Collos e Harrison (2014) algumas comunidades de microalgas podem se adaptar as concentrações de amônia livre e assim, haver uma seleção das espécies mais resistentes.

De acordo Ying et al. (2014) o pH pode ser controlado pelo fornecimento de uma determinada concentração de CO_2 , conseqüentemente, a amônia livre também é controlada (função do pH e temperatura do meio). Desta forma a utilização de biogás promoveu o controle da amônia livre, o que se torna benéfico para o processo, uma vez que a amônia livre é muito tóxica as microalgas por sua característica lipossolúvel e facilmente se difundir através membranas (Seção 3.3.2 - Nitrogênio) (COLLOS e HARRISON, 2014).

4.6 REMOÇÃO DE FÓSFORO E TESTE COM ADIÇÃO DE FÓSFORO

O P-PO_4^{3-} foi removido quase que completamente do efluente em cerca de 1 a 3 dias, independente dos fotoperíodos testados (Figura 11). Esta rápida remoção de fósforo pelas microalgas ocorre, segundo a literatura, pela capacidade de assimilação de luxo (luxury uptake), onde o fósforo é assimilado e acumulado na forma de polifosfatos no interior das células microalgais. Todavia, o acúmulo de fósforo nas microalgas varia de acordo com as condições e espécies de microalgas, o que torna difícil estimar a assimilação de fósforo em função do crescimento microalgal (SHILTON, 2005).

Figura 11 - Perfis de concentração de fosfato (P-PO_4^{3-} - mg L^{-1}) dos testes com biogás e ar, nos fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia.



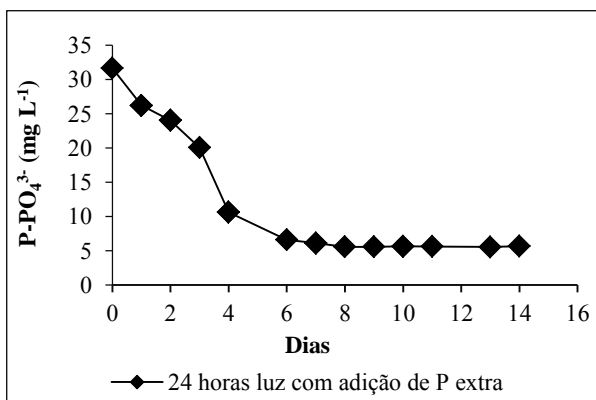
A remoção de P-PO_4^{3-} quase que totalmente logo no primeiro dia de teste para todos os ensaios realizados, poderia ser um indício de que houve limitação do crescimento das microalgas por falta de fósforo. Além disso, as quantidades iniciais de P-PO_4^{3-} de $2,3 \pm 0,3$ e $1,8 \pm 1,3$ mg L^{-1} nas condições de 12 horas luz e 24 horas luz com biogás, poderiam gerar teoricamente $232,5 \pm 15,2$ e $213,8 \pm 133,1$ de biomassa de microalgas, respectivamente, de acordo com a estequiometria típica mencionada por Chisti et al. (2007) de $\text{C}_1\text{O}_{0,48}\text{H}_{1,83}\text{N}_{0,11}\text{P}_{0,01}$. No entanto, a concentração de biomassa mensurada foi muito superior estes valores teóricos, implicando que as microalgas se adaptaram as

concentrações de fósforo disponíveis (BEUCKELS et al., 2015). Além disso, a literatura menciona que concentração de fósforo de cerca de $0,018 \text{ mg L}^{-1}$ é suficiente para o crescimento das microalgas (YEGUANG et al., 2006).

Para verificar se haveria limitação de crescimento em função do fósforo do efluente diluído, foi realizado um teste no qual foram adicionados quantidades extra de fósforo na forma de fosfato de sódio ($\text{P-NaH}_2\text{PO}_4 \approx 26 \text{ mg L}^{-1}$) no efluente diluído. Os resultados indicaram velocidade de crescimento de $128,8 \pm 2,8 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$, o que não foi significativamente diferente ($p > 0,05$), quando comparado aos testes somente o efluente diluído (Anexo 1). Da mesma forma, a máxima concentração de biomassa foi de $\approx 1,0 \pm 48,1 \text{ mg L}^{-1}$, a qual também não foi significativamente diferente ($p > 0,05$) que os alcançados utilizando com o efluente diluído (Anexo 1).

É evidente que para produção de biomassa de microalgas a baixos custos, a fonte de fósforo deve ser barata e disponível, como efluentes domésticos, animais, industriais, etc. (BAJPAI et al., 2014). Desta forma, no presente trabalho é evidenciado que as microalgas puderam crescer bem nas quantidades de fósforo dissolvido presentes apenas no efluente suinícola. Isto é de extrema relevância para sistemas produção de microalgas em que são utilizados fósforo de fonte mineiras, as quais, segundo pesquisas, podem se tornar escassas nas próximas décadas.

Figura 12 - Perfil de concentração de fosfato (P-PO_4^{3-} - mg L^{-1}) do ensaio (24 horas luz + biogás) com suplementação de $\text{P-NaH}_2\text{PO}_4$ (26 mg L^{-1}) no efluente diluído.



O $P-PO_4^{3-}$ não foi completamente removido do teste com suplementação extra de P, sobrando após 6 dias de ensaio, concentração de $9,6 \pm 4,3 \text{ mg-P-}PO_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ e $5 \text{ mg-P-}PO_4^{3-} \text{ L}^{-1}$ após 7 dias (Figura 12). A velocidade de remoção de $P-PO_4^{3-}$ deste ensaio foi $3,4 \pm 2,5 \text{ P-}PO_4^{3-} - \text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$.

Quando comparado aos dados da literatura (Tabela 8), a velocidade de remoção de P obtida é maior que em alguns casos, sendo menor somente que os obtidos por Yan e Zheng (2013) e Xu et al. (2015), os quais continham elevada quantidade de P inicial em seus testes (37 a 129 mg-P L^{-1}). Vale ressaltar que as concentrações de biomassa de microalgas inicial para os dados da literatura (Tabela 8) eram de 65 a 80 mg L^{-1} , portanto próximo das concentrações iniciais dos testes do presente estudo. Além disso, como mencionado anteriormente, as condições de cultivo como a luminosidade, presença de outros microrganismos, etc., são diferentes para cada caso, o que influencia no crescimento das microalgas e na assimilação dos nutrientes. Contudo, estes resultados mostram que as microalgas do presente estudo foram capazes de gerar níveis elevados de remoção de fosfato quando elas foram suplementadas fósforo extra.

Tabela 8 - Velocidade de remoção de Fósforo ($\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$) de diferentes estudos. Espécies de microalgas: ^a - *Scenedesmus* sp.; ^b - *Chlorella* sp.; ^c - *Chlorogonium* sp.. Todos os dados foram estimados por: $P_{\text{final}} - P_{\text{inicial}} (\text{mg L}^{-1}) / \text{período de cultivo}$. O \pm indica o desvio padrão.

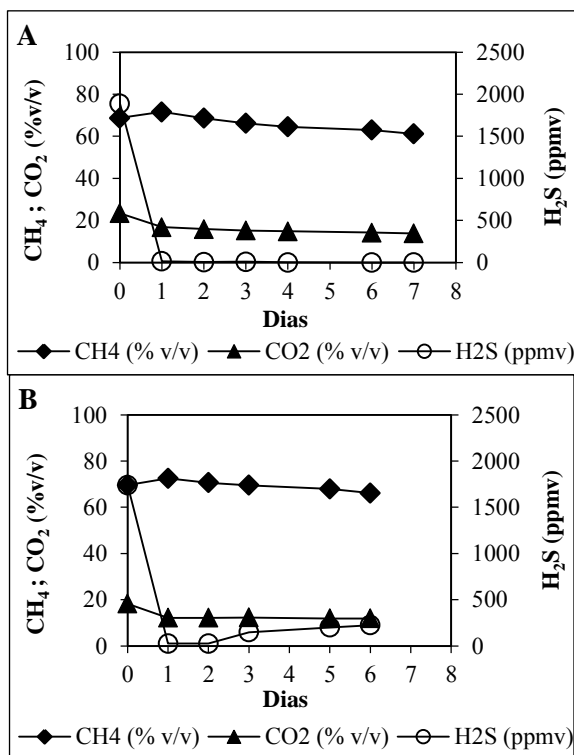
Velocidade de remoção de $P-PO_4^{3-}$ ($\text{mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$)	Referencias
$3,4 \pm 2,5$	Este estudo
0,39	LEE et al. (2015) ^c
4,99	YAN e ZHENG (2013) ^b
$1.66 \pm 0,13$	OUYANG (2015) ^a
$1.57 \pm 0,14$	OUYANG (2015) ^b
$13.22 \pm 1,47$	XU et al. (2015) ^a
$7.54 \pm 0,78$	XU et al. (2015) ^a
$1.04 \pm 0,11$	ZHAO et al. (2015) ^b
$0.97 \pm 0,1$	ZHAO et al. (2015) ^a

4.7 PURIFICAÇÃO DO BIOGÁS

4.7.1 Controle Abiótico e Biológico do Biogás

No intuito de se verificar as perdas abióticas dos gases do fotobiorreator, foi realizado um teste tendo apenas o efluente diluído mais a adição um bacteriostático (azida de sódio - NaN_3) em concentração de 1g L^{-1} (Controle Abiótico; Figura 13 - A). Outro teste controle feito, foi o controle com a adição de apenas o efluente diluído, o qual teve o objetivo de determinar o efeito dos microrganismos presentes na composição do biogás (Controle Biológico; Figura 13 - B).

Figura 13 - Perfis de concentração de CO_2 , CH_4 , e H_2S no teste controle abiótico envenenado com o bacteriostático azida de sódio ($\text{NaN}_3 - 1\text{g L}^{-1}$) (A) e o controle com apenas efluente diluído (B).



As análises dos componentes do biogás realizadas ao longo dos ensaios permitiu verificar que tanto o CO_2 quanto o CH_4 se mantiveram praticamente constantes ao longo tempo, em qualquer um dos testes controle. O CH_4 variou do tempo inicial ao final de 68,7 para 61,2 e de 69,6 para 66,1 %v/v nos controles abiótico e o biológico, respectivamente. Já o gás carbônico, do tempo inicial ao final variou de 23,4 para 13,8 e 18,3 para 11,9 %v/v nos controles abiótico e o biológico, respectivamente.

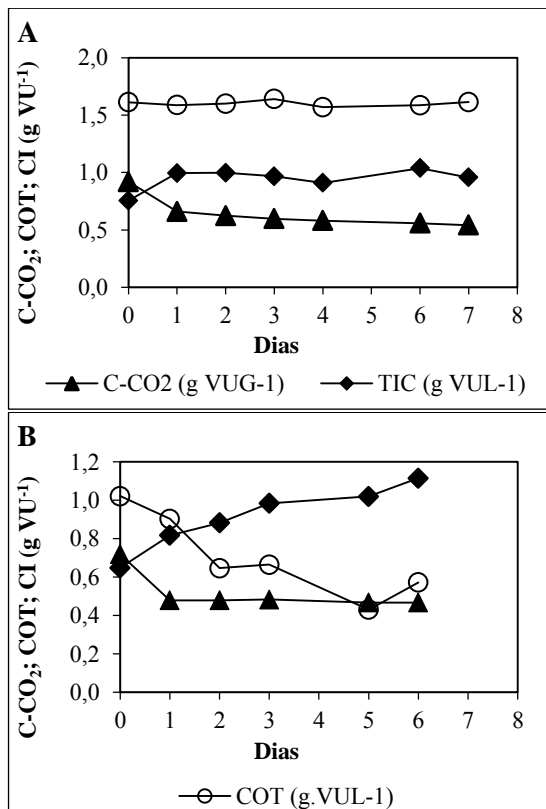
O H_2S foi removido completamente logo após o primeiro dia de teste, tanto no controle com bacteriostático, quanto no controle biológico. Na condição com bacteriostático, a remoção de H_2S provavelmente ocorreu devido a sua solubilização e posterior reação com oxigênio dissolvido que havia no meio líquido. A reação com oxigênio leva a formação de compostos mais estáveis como enxofre elementar, polissulfetos, sulfito e tiosulfato (GONZÁLEZ-SÁNCHEZ e REVAH, 2007).

No controle biológico, o H_2S pode ter sido removido também por via biológica por bactérias quimioautotróficas, gerando como produto final principalmente sulfato (RATTANAPAN e OUNSA NEHA, 2012). É possível verificar que houve produção de H_2S (até 250 ppmv no sexto dia) a partir do segundo dia no biológico (Figura 13 - B), mostrando que a falta de inóculo de microalgas fez com que condições anaeróbias surgissem no reator favorecendo a atividade de bactérias.

O CO_2 teve sua perda quase que totalmente no primeiro dia de teste para ambos os controles (Figura 14). A perda de CO_2 da fase gasosa foi proporcional ao aumento da concentração de carbono inorgânico da fase líquida (CI) somente para o ensaio com adição de azida de sódio (Figura 14 - A). Já para o controle sem a adição de microalgas, o COT foi consumido, provavelmente devido oxidação bacteriana, sendo que esta oxidação de carbono resultou em aumento do carbono inorgânico do líquido (Figura 14 - B).

Pode-se afirmar que o CO_2 do headspace se manteve praticamente constante após o reator entrar em equilíbrio entre as concentrações de CO_2 e carbono inorgânico. O CO_2 caiu de 16,8 para 13,8 %v/v em 6 dias de ensaio no controle abiótico e de 12,2 para 11,9 %v/v em 5 dias de ensaio no controle sem inóculo de microalgas, mostrando assim que as perdas de CO_2 do reator foram baixas (Figura 14).

Figura 14 - Perfis de concentração de C-CO₂ em grama por volume útil da fase gasosa (g VU⁻¹). COT (Carbono Orgânico Total) e CI (Carbono Inorgânico) em grama por volume útil da fase líquida (g VU⁻¹). O ensaio controle abiótico envenenado com o bacteriostático azida de sódio (NaN₃ – 1g L⁻¹) (A) e teste sem adição de inóculo de microalgas (B).

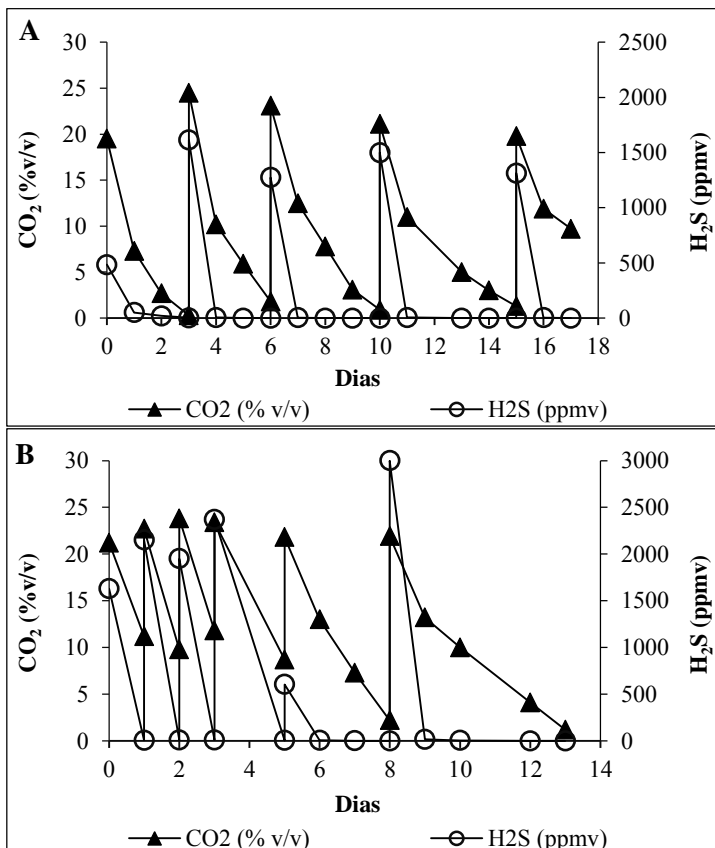


4.7.2 Remoção de CO₂ e H₂S

Durante a realização dos ensaios com microalgas foram feitas análises diárias dos gases CO₂, H₂S do headspace do reator. A Figura 15 mostra os perfis de remoção de CO₂ e H₂S, sendo que os dados apresentados nas figuras são referentes aos ensaios de longa duração,

sem levar em consideração a duplicata de menor tempo de ensaio. As reinjeções de biogás eram feitas para que houvesse CO_2 suficiente para as microalgas. Desta forma, neste estudo as fases líquida e gasosa foram assumidas por estarem em constante equilíbrio de CO_2 .

Figura 15 - Perfis de concentração de CO_2 e H_2S no teste de fotoperíodo de 12 horas luz por dia (A) e no teste com fotoperíodo de 24 horas luz por dia (B).



Como pode-se verificar na Figura 15, foram necessárias reinjeções de biogás mais constantes durante o ensaio com fotoperíodo

de 24 horas luz por dia quando comparado ao ensaio com fotoperíodo de 12 horas luz por dia.

As velocidades de remoção de CO₂ foram mais acentuadas nos períodos de até 6 dias de teste, tendo velocidade de remoção de 130,4 ± 6,6 e 219,4 ± 4,8 mg L⁻¹ d⁻¹ para os fotoperíodos de 12 e 24 horas luz por dia, respectivamente, e apresentando diferenças significativas para estes fotoperíodos (p<0,05). Posterior a isso, a velocidade de remoção de CO₂ caiu para 68,5 e 52,9 mg L⁻¹ d⁻¹ para os fotoperíodos de 12 e 24 horas luz por dia, respectivamente, que é quando o crescimento das microalgas se aproximaram da fase estacionária. Neste estágio a assimilação de CO₂ ocorre provavelmente para manutenção celular e acumulação de moléculas ricas em carbono, como lipídeos (MSANNE et al., 2012).

Para os testes utilizando ar, as velocidades de remoção de CO₂ foram de 84,4 ± 13 e 106,8 ± 8,7 mg L⁻¹ d⁻¹ para os fotoperíodos de 12 e 24 horas luz por dia, respectivamente sendo não apresentando diferenças significativas para estes fotoperíodos (p>0,05). Entretanto, estas velocidades são cerca de 1,6 e 2 vezes menores que as alcançadas com a utilização do biogás para os fotoperíodos de 12 e 24 horas luz por dia, respectivamente, tendo p<0,05 para ambos os fotoperíodos.

Ao total foram removidos até 87 %v/v do CO₂ presente no biogás injetado, porém, este valor poderia ter sido maior com um aumento do tempo de retenção do biogás no reator. Estes resultados estão de acordo com Mann et al. (2009) e Bahr et al. (2014) que reportam remoção de 97% e 90 do CO₂ respectivamente, durante purificação com sistemas utilizando de microalgas. É reportado que espécies *Scenedesmus* spp. e *Chlorella* spp. possuem tolerância a elevada concentração de CO₂, além de adequada velocidade de remoção de CO₂ e de crescimento (para revisão ver Tabela 4 na seção 2.7.2).

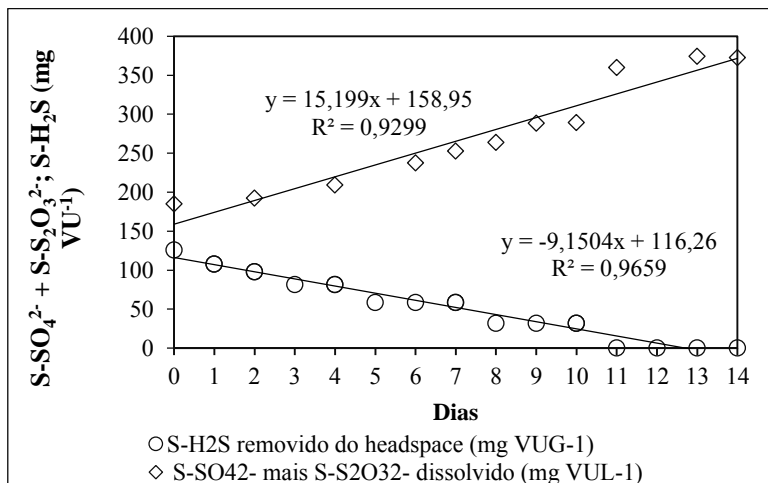
Após as reinjeções de biogás no headspace do reator foi verificado que o H₂S era rapidamente removido (99% de remoção depois do 1º dia após a reinjeção), assim, da mesma forma que nos testes controles realizados (remoção abiótica/biológica). Apesar dos efeitos inibitórios causados pela presença de H₂S (Item 2.7.2 e Tabela 4), não foi observado inibição às microalgas nas quantidades de biogás aplicadas (Item 4.3.1).

4.7.3 Balanço de enxofre

Em um dos ensaios com fotoperíodo de 24 e adição de biogás foi quantificado no meio líquido o tiosulfato ($S_2SO_3^{2-}$) e sulfato (SO_4^{2-}) dissolvidos. Esta investigação teve o objetivo realizar um balanço de massa, com intuito de provar a causa específica de remoção do H_2S do headspace do reator e, desta forma, se haveria mudanças do $S_2SO_3^{2-}$ e do SO_4^{2-} ao decorrer do ensaio.

Os resultados das concentrações de tiosulfato + sulfato e sulfeto de hidrogênio ao longo do teste estão ilustrados na Figura 16. No intuito de normalizar as proporções entre a fase gasosa (headspace – 8L) e líquida (9L) os dados foram apresentados em miligrama por volume útil ($mg\ VU^{-1}$) de cada fase, respectivamente, conforme Figura 16.

Figura 16 - Acompanhamento de sulfeto de hidrogênio (S- H_2S , acumulativo $mg.VU_G^{-1}$) e tiosulfato (S- $S_2SO_3^{2-}$) somado a sulfato (S- SO_4^{2-}) ($mg.VU_L^{-1}$) de um dos ensaios utilizando biogás com fotoperíodo de 24 horas luz. VU_G e VU_L são os volumes úteis gasoso e líquido, respectivamente.



O gás sulfídrico possui alta solubilidade em líquido devido sua alta constante adimensional de Henry (2,44) (SANDER, 1999). O H_2S pode ser dissolvido em diferentes formas como sulfeto (S^{2-}),

hidrosulfeto HS^- , e sulfeto de hidrogênio H_2S , sendo que estas proporções são dependentes principalmente do pH do meio (GONZÁLEZ-SÁNCHEZ e REVAH, 2007). No presente estudo, a remoção do H_2S do headspace do reator foi evidenciada por ocorrer abioticamente (Figura 13). Além disso, o $\text{S}_2\text{SO}_3^{2-}$ e SO_4^{2-} quantificados podem ter sido formados abioticamente (CLINE e RICHARDS, 1969). Entretanto, a hipótese remoção biológica de H_2S não pode ser descartada, as formas dissolvidas de sulfeto de hidrogênio podem ser oxidadas por muitos microrganismos, particularmente do gênero *Thiobacillus*, os quais que produzem energia através do uso de sulfetos (parcialmente ou totalmente reduzidos), formando também $\text{S}_2\text{SO}_3^{2-}$, SO_4^{2-} e ácido sulfúrico (SUZUKI, 1999).

Posadas et al. (2015), em um sistema de microalgas para purificação de biogás, verificaram que a via de remoção de H_2S é abiótica em virtude de não serem encontradas bactérias oxidadoras de H_2S através de análise de DNA. Além disso, o meio de cultura contendo microalgas possui elevadas concentrações de oxigênio dissolvido ($>8\text{mg L}^{-1}$), o que favoreceu a provável oxidação abiótica do H_2S .

Conforme a regressão linear apresentada na Figura 16, o enxofre proveniente do tiosulfato mais o sulfato foram gerados em quantidade de $15,2 \text{ mg VU}^{-1} \text{ dia}^{-1}$ enquanto o enxofre equivalente de sulfeto de hidrogênio foi removido em quantidade de $9,15 \text{ mg VU}^{-1} \text{ dia}^{-1}$. Esta falta de consistência no balanço para estes compostos pode ser atribuída ao fato de que outros compostos de enxofre podiam estar presentes no meio de cultura antes da injeção de biogás, e estes podem ter sido transformados em tiosulfato e sulfato, sendo que estas verificações foram além do objetivo deste trabalho. Contudo, é evidente que existe o acúmulo de compostos oxidados de enxofre no meio líquido, mostrando que existiu a oxidação posterior da dissolução de sulfeto de hidrogênio no meio de cultura de microalgas.

Os níveis de S- SO_4 máximos mencionados pela Lei 357 do CONAMA para classe 1 de águas doces do são de $83,44 \text{ mg L}^{-1}$. Neste ensaio foi quantificado $\text{S}_2\text{SO}_3^{2-}$ e SO_4^{2-} tendo concentração total de S equivalente destas formas, no final do ensaio foram de 350 mg L^{-1} . Isto sugere que para o ótimo fornecimento de CO_2 às microalgas, o acúmulo de S supera o imposto pelo requisito das águas doces de classe 1. Contudo vale mencionar que corpos receptores com elevadas vazões podem receber este efluente contendo $\text{S}_2\text{SO}_3^{2-}$ e SO_4^{2-} e não mudar sua classe de enquadramento respectivo. Além disso, pode ser verificada a

qualidade deste efluente final para possível reuso, como a utilização para lavagem de instalações produtivas de suínos.

4.7.4 Balanço de Carbono – Crescimento teórico de microalgas

Foi realizado um balanço de massa para carbono, sendo que este balanço é uma estimativa do crescimento das microalgas com base na sua composição típica de carbono (51,3% - CHISTI, 2007). Esta estimativa serviu para demonstrar que o carbono presente no sistema (C-CO₂, CI, COT), do testes usando biogás, foram incorporados a biomassa de microalgas (Figura 18).

Através de comparações dos perfis de crescimento de microalgas e da remoção de CO₂ se verificou que o CO₂ continuava sendo consumido mesmo após o crescimento real entrar na fase estacionária (Item 4.7.2 e Figura 15) que é quando as microalgas passa a incorporar carbono na sua biomassa para manutenção celular, além de possível acumulação em moléculas ricas em carbono como lipídeos (MSANNE et al., 2012). Desta forma foi elaborado uma condição para que o crescimento teórico também entrasse em fase estacionária. Esta condição foi adotada através da velocidade específica do crescimento teórico, determinado no dia em que se iniciasse a fase estacionária do crescimento real. O resultado para obtenção deste parâmetro se obteve através de comparação com o crescimento real, sendo que a velocidade específica adotada como condição foi $\leq 0,03 \text{ d}^{-1}$. Desta forma, o crescimento teórico com fotoperíodo de 12 horas luz por dia obteve velocidade de crescimento de $\leq 0,03 \text{ d}^{-1}$ no 13º dia de teste, enquanto para a condição de fotoperíodo de 24 horas luz foi no 11º dia (Figura 17).

Figura 17 - Perfis da velocidade específica do crescimento teórico de microalgas ao longo dos ensaios de fotoperíodo de 12 e 24 horas luz por dia utilizando biogás. Os rótulos de dados com ^a representam o teste de fotoperíodo de 12 e ^b se refere ao fotoperíodo de 24 horas luz por dia.

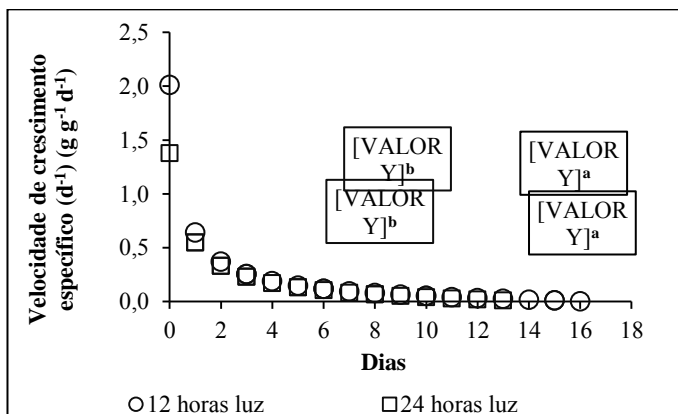
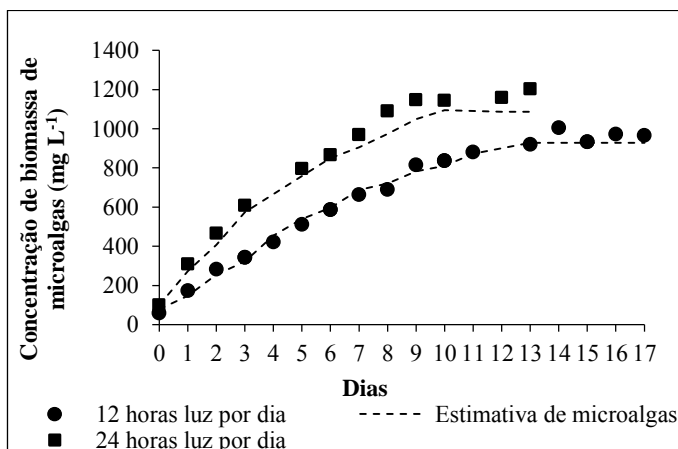


Figura 18 - Perfis de crescimento Produção de biomassa cultivada sob condições de fotoperíodo de 12 e 24 horas luz por dia, com utilização de biogás (A) e cultivada com o fotobiorreator aberto ao ar (B)



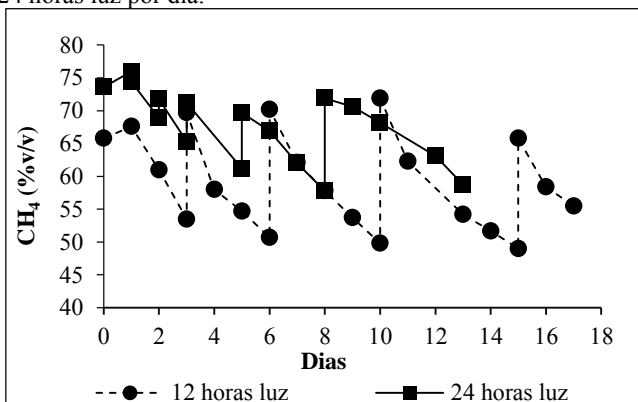
Foram obtidas ótimas relações dos dados de crescimento real com os dados do modelo de crescimento teórico através de regressão

linear ($r^2 > 0,98$ – Anexo 3). Desta forma, foi mostrado que o crescimento microalgal foi o responsável pela remoção do carbono presente no digestato e do CO_2 presente no biogás. Além disso, ficou claro que o crescimento das microalgas pode ser simulado com base na remoção destas fontes de carbono. Concentração de biomassa de microalgas

4.7.5 Perfis de CH_4 e O_2

Ao longo dos testes a concentração de CH_4 caiu em velocidades de $52,3 \pm 28,1$ e $30,4 \pm 5 \text{ mg L}^{-1} \text{ d}^{-1}$ para as condições de fotoperíodo de 24 e 12 horas luz por dia, respectivamente. Este valor representa perdas totais de $15,3 \pm 7,1$ e $18,2 \pm 9,2\% \text{ v/v}$ para os fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia, respectivamente. A Figura 19 mostra os perfis de CH_4 , sendo que para melhor visualização, os dados apresentados nas figuras são referentes aos ensaios de longa duração (sem levar em consideração a duplicata de menor tempo de ensaio).

Figura 19 - Perfis de concentração de CH_4 (%v/v) nos testes de fotoperíodo de 12 e de 24 horas luz por dia.



Não foi o escopo deste trabalho estudar o motivo pelo qual o metano foi consumido. Contudo, estas perdas de metano podem ter sido atribuídas a oxidação por bactérias metanotróficas, as quais transformam metano em compostos orgânicos como metanol e etanol, além de CO_2 e

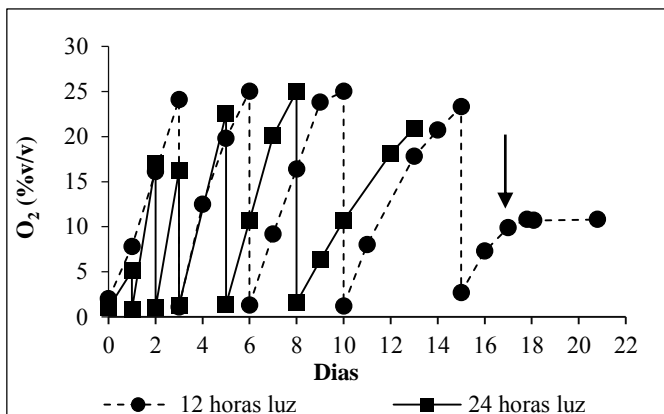
água (GE et al., 2014). Além disso, estas bactérias podem ter sido favorecidas pelas altas concentrações de oxigênio dissolvido ($>8 \text{ mg L}^{-1}$) gerados para atividade fotossintética das microalgas.

Apesar de vários estudos abordarem condições estéreis de cultivo (Revisão - Tabela 4), em operações em escala tais condições são difíceis e caras de se manter, dessa forma, mostrando que possíveis perdas biológicas de metano podem ocorrer em sistemas não estéreis de algas e bactérias.

No sistema de microalgas para purificação de biogás proposto por Posadas et al. (2015) (reatores de duas fases com coluna de absorção), as perdas de metano foram menores que 1%. Estes reatores possuem condições otimizadas de transferência de massa entre a fase gasosa e líquida, o que gera menores perdas de CH_4 por dissolução no líquido. Entretanto, este autor afirma que bactérias metanotróficas do gênero *Methylosarcina* foram quantificadas por análise de DNA.

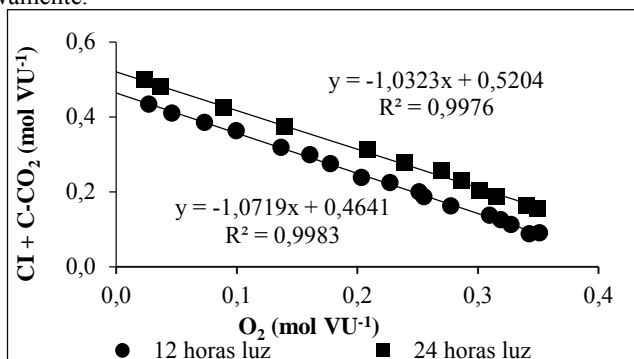
A concentração de oxigênio no headspace do reator, no momento da reinjeção de biogás, variou de 0,8 a 2,7 % v/v sendo que ao longo do período os níveis de O_2 subiam até 5 à >25 % v/v (Figura 20 – resultados apresentados são os ensaios de longa duração). Estes valores de oxigênio alcançados coincidem com os reportados por Meier et al. (2015), Converte et al. (2009) e Mann et al. (2009) os quais obtiveram de 20 a 22 % de oxigênio produzido em fotobiorreatores fechados com adição de biogás.

Figura 20 - Perfis de concentração de O_2 (%v/v) nos testes de fotoperíodo de 12 e de 24 horas luz por dia. A seta indica a adição de acetato de sódio a 1 g L^{-1} como uma fonte externa de carbono no 17º dia de ensaio.



No intuito de verificar o aumento de oxigênio em função do consumo de carbono, foram plotados a regressão linear entre o O_2 e o $C-CO_2 + CI$ para os testes. Esta regressão mostrou forte correlação ($r^2 > 0,99$) entre o aumento de oxigênio e o consumo de $C-CO_2 + CI$, tendo ≈ 1 mol de O_2 produzido para 1 mol de $C-CO_2 + CI$ consumido (Figura 21). Nesta relação o consumo do carbono inorgânico do líquido teve pouco influência, sendo que o seu consumo médio foi de $\approx 0,047$ mol VU^{-1} contra $\approx 0,3$ mol VU^{-1} do $C-CO_2$ para ambos fotoperíodos ao longo de cada teste com biogás.

Figura 21 - Correlação entre a remoção de C-CO₂ cumulativo + CI e produção O₂ por microalgas cultivadas em fotoperíodo de 12 e 24 horas luz, respectivamente.



O elevado teor de oxigênio no biogás purificado (Figura 20 e Tabela 9) é indesejável porque pode representar risco de explosão. A legislação brasileira impõe limite de concentração de oxigênio de $\leq 0,5\%$ (v/v) para o biometano de acordo com a Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (2015). As normas alemãs são um pouco menos restritivas, podendo conter até 3% v/v de oxigênio no biometano para uso comercial (BAHR et al., 2014). Desta forma, observa-se que em virtude da alta concentração de oxigênio produzido, a utilização deste sistema de microalgas para biopurificação de biogás poderia não ser viável, uma vez que seria necessário remover o oxigênio do biogás purificado.

No intuito de diminuir a quantidade de oxigênio desorvido para a fase gasosa do reator, foram adicionados uma fonte externa de matéria orgânica (acetato de sódio em 1g L^{-1}) durante o final do ensaio (17º dia) de fotoperíodo de 12 horas luz por dia. O objetivo era fornecer carbono orgânico para que as bactérias presentes utilizassem o O₂ para oxidação do acetato. Os resultados demonstraram que após adição de acetato houve estabilização do aumento da concentração de oxigênio para a fase gasosa do reator permanecendo em 10,8% (v/v) do 18º ao 21º dias (Figura 20).

Além do controle da adição de fonte externa de carbono orgânico, recentes trabalhos demonstram que a utilização de reatores de duas fases podem minimizar consideravelmente a problemática da presença de oxigênio no biogás purificado (BAHR et al., 2014; SEREJO

et al., 2015; MEIER et al., 2015; POSADAS. et al., 2015). Tais reatores visam a absorção física de CO_2 do biogás em colunas de borbulhamento (coluna de absorção – AC).

Utilizando este modelo de reator de duas fases, Meier et al. (2015) conseguiram reduzir de 22% de oxigênio presente no biogás purificado para 5%. Em condições otimizadas de recirculação do meio de cultura à coluna de absorção, Serejo et al. (2015) obtiveram cerca de 1% de O_2 no biogás purificado. Já Posadas et al. 2015 demonstraram que a adição de efluente (meio de cultura) na própria coluna de absorção pode reduzir a concentração de O_2 de $1,2 \pm 0,2$ para $0,7 \pm 0,2\%$ no biogás purificado, o que ocorre em virtude a oxidação bacteriana do material orgânico presente no efluente (mesmo princípio de ação biológica testada no presente trabalho).

No intuito de visualizar a eficiência de purificação do biogás pelo experimento do presente trabalho, foi elaborada a Tabela 9, que traz dados das concentrações dos compostos do biogás no momento da injeção no fotobiorreator e ao final, antes de cada reinjeção. É importante salientar que uma maior eficiência de remoção de CO_2 poderia ser obtida com um pequeno aumento no tempo de detenção do gás no fotobiorreator. Assim, é mostrado elevada eficiência de remoção de CO_2 , além de H_2S , ficando abaixo dos limites estipulados pelas legislações brasileira e europeia para comercialização de biometano. Contudo, a concentração de CH_4 e de O_2 obtidas tornam este biogás purificado inadequado para comercialização, o que indica que o processo ainda necessita de ajustes para se adequar aos parâmetros estimados pelas legislações.

Tabela 9 - Mudanças na composição do biogás antes e depois da biofiltração por microalgas. Média \pm desvio padrão para cada injeção de biogás. * Possibilidade de maior eficiência com aumento do tempo de retenção de gás no reator.

Fotoperíodo	Biogás	Biogás purificado	Requerimento para comercialização	
			Brasileiro	Europeu
12 horas luz	CH ₄ (% v/v)	50,4 \pm 1,9	\geq 96,5	\geq 85
	CO ₂ (% v/v)	21,6 \pm 2,2	\leq 3	\leq 6
	O ₂ (% v/v)	1,7 \pm 0,7	\leq 0,5	\leq 3
	H ₂ S (ppmv)	1237,4 \pm 443,2	\leq 10	\leq 7
24 horas luz	CH ₄ (% v/v)	64,7 \pm 6,9		
	CO ₂ (% v/v)	7,5* \pm 4,6		
	O ₂ (% v/v)	17,8 \pm 7,0		
	H ₂ S (ppmv)	1950,5 \pm 803,9		

5 CONCLUSÕES

- O uso do biogás promoveu velocidades de crescimento de 2,5 e 2 vezes maior que utilizando ar atmosférico para os fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia, respectivamente. A remoção de CO₂ foi 2,1 e 1,5 vezes maior utilizando biogás que utilizando ar atmosférico para os fotoperíodos de 24 e 12 horas luz por dia, respectivamente.
- A condição com fotoperíodo de 24 horas luz por dia aliado à utilização de biogás promoveu significativa diferença entre as demais condições em relação a velocidade de remoção de nitrogênio amoniacal. Tendo velocidade de máxima de 21,2 ± 1,2 mg L⁻¹ d⁻¹ para esta condição.
- O pH do meio de cultura foi efetivamente controlado pela adição do biogás, o que pode ter beneficiado no crescimento microalgal, tanto pelas condições de pH mais próximas do neutro, quanto pelo favorecimento de menores concentrações de amônia livre presente nos testes utilizando o biogás, gerando conseqüentemente menor toxicidade às microalgas.
- As concentrações de P-PO₄³⁻ de 1,8 ± 1,3 e de 2,3 ± 0,3 mg L⁻¹ presente no digestato suínico diluído (6% v/v) utilizado, mesmo sendo praticamente removida por total nos primeiros dias de teste, não foram limitantes no crescimento das microalgas.
- A estimativa de crescimento de microalgas com base na remoção das formas de carbono teve ótima relação com o crescimento real (r² > 0,99), mostrando que o CO₂ do biogás foi efetivamente utilizado pelas microalgas.
- Como método para purificação do biogás, este sistema de cultivo mostrou ser altamente eficiente para remoção de H₂S (>99%) e de CO₂ (até 94,5%). Apesar da produção de O₂ ter sido linear a remoção de CO₂ + CI, a adição de acetato de sódio se demonstrou favorável no controle da produção O₂ na fase gasosa, o que demonstra ser um possível parâmetro para o controle do oxigênio no biogás purificado. Contudo, a configuração de reator utilizado pode ter favorecido as perdas de CH₄, as quais foram de até 18%, sendo atribuído via dissolução no meio líquido e possível oxidação microbiana.

6 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar a eficiência na purificação do biogás em um fotobiorreator com alimentação de biogás e efluente de forma contínua;
- Otimizar a quantidade diária de luz fornecida através do controle do fotoperíodo e/ou da intensidade luminosa;
- Realizar um balanço do custo energético do sistema de microalgas em escala de capô com utilização de luz artificial durante períodos de fase escura;
- Caracterizar as espécies de microalgas e outros microrganismos de interesse no processo com relação a possíveis variações no decorrer do período de cultivo;
- Caracterizar a biomassa de microalgas produzida no sistema quanto a composição dos pigmentos, polissacarídeos, triglicerídeos, ácidos graxos, vitaminas e eventuais contaminantes.

7 REFERÊNCIAS

ABATZOGLOU, N.; BOIVIN, S. A review of biogas purification processes, **Biofuels, Bioprod. Bioref**, v.3, p.42–71, 2009.

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

ABEDINI NAJAFABADI, H.; MALEKZADEH, M.; JALILIAN, F.; VOSSOUGH, M.; PAZUKI, G. Effect of various carbon sources on biomass and lipid production of *Chlorella vulgaris* during nutrient sufficient and nitrogen starvation conditions. **Bioresource Technology**, v. 180, p. 311–317, 2015.

ABELIOVICH, A.; AZOV, Y. Toxicity of ammonia to algae in sewage oxidation ponds. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 31, n. 6, p. 801–806, 1976.

ABINANDAN, S.; SHANTHAKUMAR, S. Challenges and opportunities in application of microalgae (Chlorophyta) for wastewater treatment: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 123–132, 2015.

Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: <http://nxt.anp.gov.br/nxt/gateway.dll/leg/resolucoes_anp/2008/junho/ra_np%2016%20-%202008.xml>. Acesso em 15 de outubro de 2015.

ALCANTARA, C., POSADAS E., GUIEYSSE, B., MUNOZ, R. Microalgae-based Wastewater Treatment. In.: KIM, S. **Handbook of marine microalgae**. Academic Press is an imprint of Elsevier. 2015.

ALGAE'S SECOND TRY. **Renewable Energy**, v. 333, p. 1238–1239, 2011. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21885769>>. Acesso em janeiro de 2015.

ANDERSEN, R. A., The Microalgal Cell. In: RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phyiology**. London: Blackwell Science, 2004. p.312-351.

ANJOS, M.; FERNANDES, B. D.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; DRAGONE, G. Optimization of CO₂ bio-mitigation by *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 149–154, 2013.

ANTHONISEN, A. C. et al. **Inhibition of nitrification by ammonia and nitrous acid**. Journal Water Pollution Control Federation, v. 48, p. 835-852, 1976.

APPELS, L.; BAEYENS, J.; DEGREVE, J.; DEWIL, R.; Principles and potential of the anaerobic digestion of waste-activated sludge, **Progress in Energy and Combustion Science**, vol. 34, p.755-781, 2008.

APPELS, L.; LAUWERS, J.; DEGRÈVE, J.; HELSEN, L.; LIEVENS, B.; WILLEMS, K.; et al. Anaerobic digestion in global bio-energy production: potential and research challenges. **Renew Sustain Energy Rev**, v.15, p.295-301, 2011.

ARAÚJO, Iria S.; OLIVEIRA, José L. R.; ALVES, Rui G. C. M.; BELLI FILHO, Paulo.; COSTA, Rejane H. R. Avaliação de sistema de tratamento de dejetos suínos instalado no Estado de Santa Catarina. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.16, n.7, p.745–753, 2012.

AVACI, A.B.; SOUZA, S.N.M.; WERNCKE, I.; CHAVES, L.I. Financial economic scenario for the microgeneration of electricity energy from swine – culture – originated biogás. **Renewable and Sustainable Energy Reviews** v.25, p.272-276, 2013.

AXELSSON, L.; FRANZÉN, M.; OSTWALD, M.; et al. Perspective: Jatropha cultivation in southern India: Assessing farmers' experiences. **Biofuels, Bioproducts and Biorefining**, v. 6, n.3, p.246-256, 2012.

AZOV, Y. & GOLDMAN, J. C. Free ammonia inhibition of algal photosynthesis in intensive cultures. **Appl. Environ. Microbiol**, v. 43, n. 4, p. 735-739, 1982.

BABA, M, & SHIRAIWA, Y. High-CO₂ Response Mechanisms in Microalgae, In: *Advances in Photosynthesis- Fundamental Aspects*. Edited by Najafpour, M., In- Tech, 978-9-533307-928-8Rijeka, Croatia, 2012.

BAHR, M.; DÍAZ, I.; DOMINGUEZ, A.; GONZÁLEZ SÁNCHEZ, A.; MUÑOZ, R. Microalgal-biotechnology as a platform for an integral biogas upgrading and nutrient removal from anaerobic effluents. **Environmental Science and Technology**, v. 48, n. 1, p. 573–581, 2014.

BAJPAI, R.; PROKOP, A.; ZAPPI, M. Cultivation of Cells and Products, **Algal Biorefineries**, v.1, 2014.

BAUWE, H., HAGEMANN, M., KERN, R. & TIMM, S. Photorespiration has a dual origin and manifold links to central metabolism. **Curr. Opin. Plant Biol.** v.15, p.269-275, 2012.

BECKER E. W. Micro-algae as a source of protein. **Biotechnology Advances**, v.25, p.207-210, 2006.

BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. London: Blackwell Science, p.312-351, 2004.

BELASCO, W. Algae Burgers for a Hungry World? The Rise and Fall of *Chlorella* Cuisine. **Technology and Culture**, v.38, p.608-634, 1997.

BELLI FILHO, Paulo.; CASTILHOS JR, Armando B.; COSTA, Rejane H.R.; SOARES, Sebastião R.; PERDOMO, Carlos. Tecnologias para o tratamento de dejetos de suínos, **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande, v.5, n.1, p.166-170, 2001.

BEUCKELS, A.; SMOLDERS, E.; MUYLEAERT, K. Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. **Water Research**, v. 77, p. 98–106, 2015.

BLACKBURN, S. I. and VOLKMAN, J. K. Microalgae: A Renewable Source of Bioproducts. In: DUNFORD N. T. **Food and Industrial Bioproducts and Bioprocessing**. John Wiley & Sons, Inc., First Edition. 2012.

BOROWITZKA, M.A. Limits to growth, in Wastewater treatment with algae, **Y.-S. WONG and N.F.Y. TAM**, Editors. Springer Verlag. p.203–226, 1998.

BOROWITZKA, M.A. Microalgae for aquaculture: opportunities and constraints. **J. Appl. Phycol.** v.9, p.393-401, 1997.

BOROWITZKA, Michael A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters, **Journal of Biotechnology**, v.70, p.313–321, 1999.

BRENNER, A.; ABELIOVICH, A. Water Purification: Algae in Wastewater Oxidation Ponds. In.: RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Blackwell Publishing Ltd, Second edition, 2013.

CAI, T.; PARK, S. Y.; LI, Y. Nutrient recovery from wastewater streams by microalgae: Status and prospects. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.19, p. 360–369, 2013.

CANTRELL, K. B.; DUCEY, T.; RO, K. S.; HUNT, P. G. Livestock waste-to-bioenergy generation opportunities. **Bioresource technology**, v. 99, n. 17, p. 7941–53, 2008.

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

CASSIDY, Keelin Owen. **Evaluating Algal Growth at Different Temperatures**. 2011. 59 f. Thesis (Master of Science in Biosystems and Agricultural Engineering) – College of Engineering at the University of Kentucky, Lexington, Kentucky, 2011.

CHAE, S.R., HWANG, E. J., SHIN, H.S. Single cell protein production of *Euglena gracilis* and carbon dioxide fixation in an innovative photobioreactor. **Bioresource Technology**, v.97.p.322-329, 2006.

CHEAH, W. Y.; SHOW, P. L.; CHANG, J.-S.; LING, T. C.; CHING JUAN, J. Biosequestration of atmospheric CO₂ and flue gas-containing CO₂ by microalgae. **Bioresource Technology**, 2014.

CHEN, Y.; CHENG, J. J.; CREAMERA, K. S. Inhibition of anaerobic digestion process: A review. **Bioresource Technology**, v.99, n.10, p.4044-4064. 2008.

CHENG, J.; XU, J.; HUANG, Y.; et al. Growth optimisation of microalga mutant at high CO₂ concentration to purify undiluted anaerobic digestion effluent of swine manure. **Bioresource Technology**, v. 177, p. 240–246, 2015.

CHERNICHARO, C.A.L. Fundamentos da digestão anaeróbia. **Reatores anaeróbios**. Belo Horizonte: UFMG, 1997.

CHEUNG, Y.H.; WONG, M.H. Properties of animal manures and sewage Sludges and their utilisation for algal growth. **Agricultural Wastes**, v. 3, p. 109-122, 1981.

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

CHIU, S. Y.; KAO, C. Y.; CHEN, C. H.; et al. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 9, p. 3389–3396, 2008.

CHIU, S.; KAO, C.; CHEN, T.; et al. Bioresource Technology Cultivation of microalgal *Chlorella* for biomass and lipid production using wastewater as nutrient resource. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 179–189, 2015.

CHOI, O.; DAS, A.; YU, C.; HU, Z. Nitrifying Bacterial Growth Inhibition in the Presence of Algae and Cyanobacteria. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 107, n. 6, p. 1004-1011, 2010.

CHRISTENSON, Logan and SIMS, Ronald. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. **Biotechnology Advances**. v.29, p.686–702, 2011.

CHU, W.L. Biotechnological applications of microalgae, **IeJSME**, v.6, p.24-37, 2012.

Chynoweth, D. P., Wilkie, A. C., Owens, J. M., Anaerobic pro-cessing of piggery wastes: a review. **Proceedings of the ASAE Annual International Meeting**, Orlando, Florida, USA 1998.

CLINE, J.; RICHARDS, F. Oxygenation of hydrogen sulfide in seawater at constant salinity, temperature and pH. **Environmental Science & Technology**, v. 3, n. 9, p. 838–843, 1969.

COLLOS, Y.; and HARRISON, P.J.; Acclimation and toxicity of high ammonium concentrations to unicellular algae. **Marine Pollution Bulletin**, v.80, p.8-23, 2014.

CONDE, J.L.; MORO, L.E.; TRAVIESO, L.; SANCHEZ, E.P.; LEIVA, A.; DUPEIRON, R.; ESCOBEDO, R. Biogas Purification Process using intensive Microalgae Cultures. **Biotechnology Letters**,v.3, p.317-320, 1993.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA Nº357 de 17 de março de 2005. Publicado no Diário Oficial da União. 18 março de 2005.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE – CONAMA Nº 430/2011 - complementa e altera a Resolução no 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA." - Data da legislação: 13/05/2011 - Publicação DOU nº 92, de 16/05/2011, pág. 89.

CONVERTI, A.; OLIVEIRA, R. P. S.; TORRES, B. R.; LODI, A.; ZILLI, M. Biogas production and valorization by means of a two-step biological process. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 23, p. 5771–5776, 2009.

COOPER, G. M., e HAUSMAN, R. E., *The Cell, A Molecular Approach* (4th edition). Sinauer Associates, p.356-36, 2006.

DAY, J.G., BENSON, E.E., FLECK, R.A. In vitro culture and conservation of microalgae: applications for aquaculture, biotechnology and environmental research. **In Vitro Cell. Dev. Plant**, v.35, p.127-136, 1999.

De GODOS, I. et al. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. **Bioresource Technology**, v.101, p.5150-5158, 2010.

DE LA NOUIE, J and BASSÈRES, A. Biotreatment of Anaerobically Digested Swine Manure with Microalgae. **Biological Waste**, Toulouse, France, v.29, p. 17-31, 1989.

DELABARY, G. S et al. **Avaliação do crescimento de três microalgas para a remoção de nutrientes de efluentes de estação de tratamento de dejetos de suínos**. Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, p. 111. 2013.

DEN HENDE, S. VAN; VERVAEREN, H.; BOON, N.; et al. Flue gas compounds and microalgae: (Bio-)chemical interactions leading to biotechnological opportunities. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 6, p. 1405–1424, 2012.

DOUŠKOVÁ, I.; KAŠTÁNEK, F.; MALÉTEROVÁ, Y.; et al. Utilization of distillery stillage for energy generation and concurrent production of valuable microalgal biomass in the sequence: Biogas-cogeneration-microalgae-products. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 3, p. 606–611, 2010.

EVERS, E. G. A model for light-limited continuous cultures: growth, shading, and maintenance. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 38, p. 254–259, 1991.

FALKOWSKI, P.G. & RAVEN, J.A. *Aquatic Photosynthesis, 2nd Ed.* Princeton University Press, Princeton, NJ. 2007

FAO (Food and Agriculture Organization), Pollution from industrialized livestock production, **Livestock Policy Brief**, Rome, p. 2, 2005.

FAO, Environmental and Natural Resources Service Series, **Algae-based biofuels: applications and co-products**, p.117, 2010.

FATMA, Fundação do Meio Ambiente. Instrução Normativa N° 11, disponível em: <<http://www.fatma.sc.gov.br/conteudo/instrucoes-normativas>>, Acesso em março de 2015.

FEINBERG, D.; KARPUK M. CO₂ Sources for Microalgae-Based Liquid Fuel Production. **Solar Energy Research Institute**, Colorado. U.S, 1990.

FENTON, O.; Ó HUALLACHÁIN., D. Agricultural nutrient surpluses as potential input sources to grow third generation biomass (microalgae): A review. **Algal Research**, v. 1, p. 49-56, 2012.

FERNANDEZ et al., Conversion of CO₂ into biomass by microalgae: how realistic a contribution may it be to significant CO₂ removal? **Appl Microbiol Biotechnol.** v.96, p.577–586, 2012.

FU, W.; GUDMUNDSSON, O.; FEIST, A. M.; HERJOLFSSON, G.; BRYNJOLFSSON, S.; PALSSON, Bernhard. Maximizing biomass productivity and cell density of *Chlorella vulgaris* by using light-emitting diode-based photobioreactor. **Journal of Biotechnology**, v. 161, p. 242-249, 2012.

GARCIA, J.; MUJERIEGO, R.; HERNANDEZ-Marine, M. High rate algal pond operating strategies for urban wastewater nitrogen removal. **Journal of Applied Phycology**, v.12, p.331-339, 2000.

GE, X.; YANG, L.; SHEETS, J. P.; YU, Z.; LI, Y. Biological conversion of methane to liquid fuels: Status and opportunities. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 8, p. 1460–1475, 2014.

GENTILINI, F. P.; ANCIUTI, M. A.; PEREIRA, L. M. R. Tópicos atuais na produção de suínos e aves, **Instituto Federal Sul-rio-grandense**, p. 271, 2013, Disponível em: <http://www.ifsul.edu.br/index.php?option=com_docman&Itemid=180>

GODOS, I.; VARGAS, V. A.; BLANCO, S.; GONZÁLEZ, M. C. G.; SOTO, R.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; BECARES, E.; MUÑOZ, R. A comparative evaluation of microalgae for the degradation of piggery wastewater under photosynthetic oxygenation. **Bioresource Technology**, v.101, p.5150-5158, 2010.

GOJKOVIC, Ž., et al. Selenium bioaccumulation and toxicity in cultures of green microalgae. **Algal Research**, v.7, p.106-116, 2015.

GOLDMAN, J.C.; DENNETT, M.R.; RILEY, C. B. Inorganic carbon sources and biomass regulation in intensive microalgal cultures. **Biotechnology and Bioengineering**, v.23, p.995-1014, 1981.

GONZÁLEZ, C.; MARCINIAK, J.; VILLAVERDE, S.; GARCÍA-ENCINA, P. A.; MUÑOZ, R. Microalgae-based processes for the biodegradation of pretreated piggery wastewaters. **Appl. Microbiol. Biotechnol.**, v.80, p.891-898, 2008.

GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, A.; REVAH, S. The effect of chemical oxidation on the biological sulfide oxidation by an alkaliphilic sulfoxidizing bacterial consortium. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 40, n. 2, p. 292–298, 2007.

GROBBELAAR, J.U. Inorganic Algal Nutrition. In.: RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology**. Blackwell Publishing Ltd, Second edition, 2013.

GROBBELAAR, J.U. Microalgal biomass production: challenges and realities. **Photosynth. Res.**, v.106, p.135-144, 2010.

GROBBELAAR, J.U. Microalgal biomass production: challenges and realities. **Photosynth. Res.** v.106, p.135-144, 2010.

GUPTA, E.; DOOLEY, F. D.; WARD, P. D. Evolutionary legacy response observed in algae and bryophytes following hydrogen sulfide administration. **Toxicological & Environmental Chemistry**, v. 96, n. 3, p. 442–450, 2014.

HELLEBUST, J. A.; AHMAD, I. Regulation of Nitrogen Assimilation in Green Microalgae. **Biological Oceanography**, v.6, p.241-255,1989.

HO, S.-H.; CHEN, C.-Y.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Perspectives on microalgal CO₂ -emission mitigation systems — A review Microalgae Mitigation of CO₂ emissions CO₂ biofixation Photobioreactor. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 189–198, 2011.

HOLLAND, D. P.; PANTORNO, A.; ORR, P. T.; STOJKOVIC, S.; BEARDALL, J. The impacts of a high CO₂ environment on a bicarbonate user: The cyanobacterium *Cylindrospermopsis raciborskii*. **Water Research**, v.46, 1430-1437, 2012.

HU, B.; MIN, M.; ZHOU, W.; DU, Z.; MOHR, M.; CHEN, P.; ZHU, J.; CHENG, Y.; LIU, Y.; RUAN, R. Enhanced mixotrophic growth of microalga *Chlorella* sp. on pretreated swine manure for simultaneous biofuel feedstock production and nutrient removal. **Bioresource Technology**, v. 126, p. 71-79, 2012.

HU, B.; ZHOU, W.; MIN, M.; DU, Z.; CHEN, P.; MA, X.; LIU, Y.; LEI, H.; SHI, J.; RUAN, R. Development of an effective acidogenically digested swine manure-based algal system for improved wastewater treatment and biofuel and feed production. **Applied Energy**, v. 107, p. 255-263, 2013.

INSAM, H.; GÓMEZ-BRANDÓN, M.; ASCHER, J. Manure-based biogas fermentation residues - Friend or foe of soil fertility? **Soil Biology and Biochemistry**, v.84, p.1-14, 2015.

IVERSON T.M. Evolution and unique bioenergetic mechanisms in oxygenic photosynthesis. **Curr Opin Chem Biol**, v.10, p.91-100, 2006.

JACOB LOPES, E. Seqüestro de dióxido de carbono em fotobiorreatores. **Tese de Doutorado**, UNICAMP, Campinas, 2007.

JACOB-LOPES, E.; SCOPARO, C. H. G.; LACERDA, L. M. C. F.; FRANCO, T. T. Effect of light cycles (night/day) on CO₂ fixation and biomass production by microalgae in photobioreactors. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 48, n. 1, p. 306–310, 2009.

JAISWAL, P.; KASHYAP, A. Isolation and characterization of mutants of two diazotrophic cyanobacteria tolerant to high concentrations of inorganic carbon. **Microbiological Research**. n.157, p.83-91, 2002.

JI, M.-K.; ABOU-SHANAB, R. A. I.; KIM, S.-H.; et al. Cultivation of microalgae species in tertiary municipal wastewater supplemented with CO₂ for nutrient removal and biomass production. **Ecological Engineering**, v. 58, p. 142–148, 2013.

KAO, C. Y.; CHIU, S. Y.; HUANG, T. T.; et al. Ability of a mutant strain of the microalga *Chlorella* sp. to capture carbon dioxide for biogas upgrading. **Applied Energy**, v. 93, p. 176–183, 2012b.

KAO, C., CHIU, S., HUANG, T., DAI, L., WANG, G., TSENG, C., CHEN, C., LIN, C. A mutant strain of microalga *Chlorella* sp. for the carbon dioxide capture from biogas. **Biomass Bioenergy**, v.36, p.132-140, 2012a.

KE, B., Photosynthesis. Photobiochemistry and photobiophysics. Dordrecht, The Netherlands: **Kluwer Academic Publishers**; 2001.

KEBEDE-WESTHEAD, E.; PIZARRO, C.; MULBRY, W. W. Treatment of swine manure effluent using freshwater algae: Production, nutrient recovery, and elemental composition of algal biomass at four effluent loading rates. **Journal of Applied Phycology**, Beltsville. USA, p. 41-46, 2006.

KIM, S., PARK J.E., CHO, Y.B., HWANG, S.J. Growth rate, organic carbon and nutrient removal rates of *Chlorella sorokiniana* in

autotrophic, heterotrophic and mixotrophic conditions. **Bioresour Technol**, v.144, p.8-13, 2013.

KIRK, J. T. O. Light and photosynthesis in aquatic ecosystems, Cambridge University Press, 3rd ed. p.572, 2011.

KRICH, K.; AUGENSTEIN, A.; BATMALE, J.; BENEMANN, J.; RUTLEDGE, B.; SALOUR, D.; Upgrading Dairy Biogas to Biomethane and Other Fuels. In: Andrews K., Editor. **Biomethane from Dairy Waste - A Sourcebook for the Production and Use of Renewable Natural Gas in California**. California: Clear Concepts, p. 47-69, 2005.

KRZEMIŃSKA, I.; PAWLIK-SKOWROŃSKA, B.; TRZCIŃSKA, M.; TYS, J. Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 37, n. 4, p. 735–741, 2014.

KUMAR, A., et al., Enhanced CO₂ fixation and biofuel production via microalgae: recent developments and future directions. **Trends in biotechnology**, v.28, p.371-380, 2010.

KUNZ, A.; MIELE, M.; STEINMETZ R.L.R, Advanced swine manure treatment and utilization in Brazil. **Bioresource Technology**, v.100, p. 5485-5489, 2009.

KUNZ, A.; OLIVEIRA, P.A.V. Aproveitamento de dejetos de animais para geração de biogás. **Revista Política Agrícola**, v.15, n.3, p.28-35, 2006.

KUNZ, A.; PERDOMO, C. C.; OLIVEIRA, P. A. V. de. Biodigestores: avanços e retrocessos. **Suinocultura Industrial**, Boletim Pecuário. Disponível em: <<http://www.boletimpecuario.com.br/notes/noticia.php?not=ancora2916> .boletimpecuario>, 2008.

KÜSTER, E.; DORUSCH, F.; ALTENBURGER, R. Effects of hydrogen sulfide to *Vibrio fischeri*, *Scenedesmus vacuolatus*, and

- Daphnia magna. **Environmental toxicology and chemistry / SETAC**, v. 24, n. 10, p. 2621–2629, 2005.
- LARSDOTTER, Karin. Wastewater treatment with microalgae – a literature review. **Environmental Microbiology**. School of Biotechnology. AlbaNova University, Stockholm, v. 62, p. 31–38, 2006.
- LEE, E.; HENG, R.; PILON, L. Spectral optical properties of selected photosynthetic microalgae producing biofuels. **Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer**, v. 114, p. 122–135, 2013.
- LEE, K.; and LEE, C. Effect of Light/dark Cycles on Wastewater Treatments by Microalgae. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, vol.6, no. 3, p. 194-199, 2001.
- LEE, R.E., "Phycology, 4th edition". **Cambridge University Press**. 2008.
- LELIAERT, F. et al. Phylogeny and molecular evolution of the green algae. **Crit. Rev. Plant Sci**. v. 31, p.1-46, 2012.
- LIANG, S.; LIU, X.; CHEN, F.; CHEN, Z. Current microalgal health food R & D activities in China. **Hydrobiologia**, v.512, p.45-48, 2004.
- LLOYD, D., Hydrogen Sulfide: Clandestine Microbial Messenger? **Trends Microbiology**, v.14, p.456-462, 2006.
- LOWREY , J.; YILDIZ, I. Comparative analysis of four cost effective laboratory methods for quantification of microalgae biomass in controlled environment wastewater and nutrient media, **Acta Hort.**, v. 1037, p. 1103-1108, 2013.
- MALHOTRA, S. S.; HOCKING, D. Biochemical and Cytological Effects of Sulphur Dioxide on Plant Metabolism. **New Phytologist**, v.76, n.2, p.227–237, 1976.

MANN, G.; SCHLEGEL, M.; SAKALOUSKAS, R. S. A. Biogas-conditioning with microalgae. **Agronomy research**, v.7, n.1, p.33–38, 2009.

MARTINEZ, ME.; JIMENEZ, JM.; EL YOUSFI, F. Influence of phosphorus concentration and temperature on growth and phosphorus uptake by the microalga *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v.67, p.233–40, 1999.

MSANNE, J.; XU, D.; KONDA, A. R.; et al. Metabolic and gene expression changes triggered by nitrogen deprivation in the photoautotrophically grown microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Coccomyxa* sp. C-169. **Phytochemistry**, v. 75, p. 50–59, 2012.

MASOJÍDEK J.; TORZILLO, G.; KOBLÍZEK, M. **Photosynthesis in Microalgae**. In: RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. London: Blackwell Science, p.312-351, 2004.

MAYO, A. W.; NOIKE. T. Response of mixed cultures of *Chlorella vulgaris* and heterotrophic bacteria to variation of pH. **Water Science and Technology**, v. 30, p.285-294, 1994.

MEDEIROS, D. L.; SALES, E. A.; KIPERSTOK, A. Energy production from microalgae biomass: carbon footprint and energy balance. **Journal of Cleaner Production**, v. 96, p.493-500, 2015.

MEIER, L.; PÉREZ, R.; AZÓCAR, L.; RIVAS, M.; JEISON, D. Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae: an attractive tool for biogas upgrading. **Biomass and Bioenergy**. v.73, p.102-109, 2015.

Metcalf & Eddy. Wastewater engineering: treatment and reuse. 4th ed. New York: **McGraw-Hill**; 2003.

MEZZARI, M. P.; DA SILVA, M. L. B.; NICOLOSO, R. S.; et al. Assessment of N₂O emission from a photobioreactor treating ammonia-rich swine wastewater digestate. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 327–332, 2013.

MEZZARI, Melissa P.; DA SILVA, M.L.B.; VIANCELLI, Aline.; IBELLI, Adriana M.G.; KUNZ, Airton.; SOARES, Hugo M. Bacteria-microalgae interactions during nitrification/denitrification processes in a photobioreactor treating swine wastewater. **III Simpósio Internacional sobre Gerenciamento de Resíduos Agropecuários e Agroindustriais**, São Pedro, SP, Março. 2013.

MICHELON, W.; DA SILVA, M. L. B.; MEZZARI, M. P.; et al. Effects of Nitrogen and Phosphorus on Biochemical Composition of Microalgae Polyculture Harvested from Phycoremediation of Piggery Wastewater Digestate. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, 2015.

MIELE, M.; ALMEIDA, M. M. T. B.; MONTICELLI, C. J.; OLIVEIRA, O. C. et al. Caracterização da Suinocultura no Brasil a partir do Censo Agropecuário 2006 do IBGE, Concórdia: **Embrapa Suínos e Aves**, p.149, 2013.

MOLINUEVO-SALCES, B.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M.C.; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C. Performance comparison of two photobioreactors configurations (open and closed to the atmosphere) treating anaerobically degraded swine slurry. **Bioresour. Technol.** v.101, p.5144–5149, 2010.

MORAIS, M.G.; COSTA, J.A.V. Carbon dioxide fixation by *Chlorella kessleri*, *C. vulgaris*, *Scenedesmus obliquus* and *Spirulina* sp. cultivated in flasks and vertical tubular photobioreactors. **Biotechnol. Lett.**, v.29, p.1349-1352, 2007.

MSANNE, J.; XU, D.; KONDA, A. R.; et al. Metabolic and gene expression changes triggered by nitrogen deprivation in the photoautotrophically grown microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* and *Coccomyxa* sp. C-169. **Phytochemistry**, v. 75, p. 50–59, 2012.

MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal-bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. **Water Research**, v. 40, n.15, p. 2799–2815, 2006.

NAKAJIMA, Y.; UEDA, R. The effect of reducing light harvesting pigment on marine microalgal productivity, **J. Appl. Phycol**, v.12, p.285-290, 2000.

OLGUÍN, E. J. Phytoremediation: Key issues for cost effective nutrient removal processes. **Biotechnol. Adv**, v.22, p.81-91, 2003.

OLIVEIRA, P. A. Manual de manejo e utilização dos dejetos de suínos. **Embrapa Suínos e Aves**. Documentos no 27, p. 188, 1993.

OSWALD WJ, GOTAAS HB. Photosynthesis in sewage treatment. **Trans Am Soc Civi Eng**, v.122, p.73-105, 1957.

OUYANG, Y.; ZHAO, Y.; SUN, S.; HU, C.; PING, L. Effect of light intensity on the capability of different microalgae species for simultaneous biogas upgrading and biogas slurry nutrient reduction. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 104, p. 157–163, 2015.

PALHARES, J. C. P.; GEBLER, L. Gestão ambiental na agropecuária. Brasília, DF: Embrapa, v.2, p.490, 2014.

PALMER, C.M., A composite rating of algae tolerating organic pollution. **J. Phycol**. v5, p.78-82, 1969.

PARK, J.; JIN, H.-F.; LIM, B.-R.; PARK, K.-Y.; LEE, K. Ammonia removal from anaerobic digestion effluent of livestock waste using green alga *Scenedesmus* sp. **Bioresource technology**, v. 101, n. 22, p. 8649-8657, 2010.

PERAZOLLI, S.; STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; NUNES, E. O.; Da SILVA, M. L. B. Biogas production from microalga biomass. In: SIMPÓSIO INTERNACIONAL SOBRE GERENCIAMENTO DE RESÍDUOS AGROPECUÁRIOS E AGROINDUSTRIAIS, 3, 2013, São Pedro, SP: SBERA, 2013.

PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F.M.E.; DE-BASHAN, L.E.; BASHAN, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water Research**, v. 45, p.11-36, 2011.

PEREZ-GARCIA, O.; et al. Efficiency of growth and nutrient uptake from wastewater by heterotrophic, autotrophic, and mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* immobilized with *Azospirillum brasilense*. **Journal of Phycology**, v.46, p.800-812, 2010.

PERSSON, M.; WELLINGER, A. Biogas upgrading upgrading to vehicle fuel standards and grid injection. **IEA Bioenergy**; 2006 [Relatório].

PetroSun Inc. PetroSun issues algae-to-biofuels corporate updates. Scottsdale, Marketwire; 2008.

PILON, L.; BERBEROGLU, H.; KANDILIAN, R. Radiation transfer in photobiological carbon dioxide fixation and fuel production by microalgae. **Journal of Quantitative Spectroscopy & Radiative Transfer**, v. 112, p. 2639–2660, 2011.

PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources. **Bioresource Technology**, n.102, p. 17-25, 2011.

POSADAS, E.; SEREJO, M. L.; BLANCO, S.; et al. Minimization of biomethane oxygen concentration during biogas upgrading in algal–bacterial photobioreactors. **Algal Research**, v. 12, p. 221–229, 2015.

POSTEN, C.; WALTER, C. **Microalgal Biotechnology: Integration and Economy**. 2012.

POWELL N.; SHILTON A.; PRATT S.; CHISTI Y. Factors influencing luxury uptake of phosphorus by microalgae in waste stabilization ponds. **Environ Sci Technol**, v.42, pg.5958-5962, 2008.

PRANDINI, Jean Michel.; MEZZARI, Melissa Paola.; DA SILVA, Marcio Luis Busi. Avaliação do crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* no tratamento de dejetos suíno sob diferentes condições de luminosidade. **7ª Jornada de Iniciação Científica – JINC**, v.7, p. 25-26, Concórdia.SC, 2013.

RACHLIN, J. W.; GROSSO, A. The effects of pH on the growth of *Chlorella vulgaris* and its interactions with cadmium toxicity. **Archives of environmental contamination and toxicology**, v. 20, n. 4, p. 505–508, 1991.

RAEESOSSADATI, M. J. J.; AHMADZADEH, H.; MCHENRY, M. P. P.; MOHEIMANI, N. R. R. CO₂ bioremediation by microalgae in photobioreactors: Impacts of biomass and CO₂ concentrations, light, and temperature. **Algal Research**, v. 6, p. 78–85, 2014.

RAJA, R.; HEMAISWARYA, S.; KUMAR, N.A.; SRIDHAR, S.; RENGASAMY, R.; A perspective on the biotechnological potential of microalgae, **Crit. Rev. Microbiol.** v.34, p.77-88, 2008.

RAMARAJ, R.; TSAI, D. D. W.; CHEN, P. H. Chlorophyll is not accurate measurement for Algal Biomass. **Chiang Mai Journal of Science**, v. 40, n. 4, p. 547–555, 2013.

RATTANAPAN, C.; OUNSANEHA, W. Removal of Hydrogen Sulfide Gas using Biofiltration - a Review. **Walailak Journal**, v. 9, n. 1, p. 9–18, 2012.

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

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

REINFELDER, J. R. Carbon concentrating mechanisms in eukaryotic marine phytoplankton. **Annual review of marine science**, v. 3, p. 291–315, 2011.

RICHMOND, A. Biological Principles of Mass Cultivation of Photoautotrophic Microalgae. In: A. **Handbook of Microalgal**

Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Blackwell Publishing Ltd, Second edition, 2013.

RINANTI, A.; DEWI, K.; KARDENA, E.; ASTUTI, D.I. Biotechnology Carbon Capture and Storage (CCS) by Mix-culture Green Microalgae to Enhancing Carbon Uptake Rate and Carbon Dioxide Removal Efficiency with Variation Aeration Rates in Closed System Photobioreactor. **Jurnal Teknologi**, v.69, p.105-109, 2014.

ROSE, JKC.; BRAAM, J.; FRY, SC.; NISHITANI, K. The XTH family of enzymes involved in xyloglucan endotransglucosylation and endohydrolysis: Current perspectives and a new unifying nomenclature, *Plant and cell physiology*, v.43, n.12, p. 1421-1435, 2002.

RYCKEBOSCH, E.; DROUILLON, M.; VERVAEREN, H., Techniques for transformation of biogas to biomethane, **Biomass and Bioenergy**, v.35, p.1633-1645, 2011.

SANDER, R. Compilation of Henry's law Constants for Inorganic and Organic Species of Potential Importance in Environmental Chemistry, 1999. Disponível em: <<http://www.mpch-mainz.mpg.de/~sander/res/henry.html>>. Acesso em 15 de dezembro de 2016.

SANTA CATARINA. Lei do Código Estadual do Meio Ambiente nº 16.342, de 21 de janeiro de 2014. **Diário Oficial do Estado**, Florianópolis, SC, 12 jan. 2014. n. 19.742, p. 2-11.

SANTOSH, Y.; SREEKRISHNAN, T.R.; KOHLI, S.; RANA, V. Enhancement of biogas production from solid substrates using different techniques-a review. **Bioresour. Technol.** v.95, p.1-10, 2004.

SCHMIDELL, W.; LIMA, A.U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W.; 2001. **Biociencia Industrial**. v.2. São Paulo: Edgard Blucher LTDA.

SCHNEIDER, R. C. S.; BJERK, T. R.; GRESSLER, P. D.; et al. Potential Production of Biofuel from Microalgae Biomass Produced in Wastewater. **Biodiesel - Feedstocks, Production and Applications**, p. 22, 2012.

SEREJO, M. L.; POSADAS, E.; BONCZ, M. A.; et al. Influence of Biogas Flow Rate on Biomass Composition During the Optimization of Biogas Upgrading in Microalgal-Bacterial Processes. **Environmental Science & Technology**, p. 150212112813001, 2015.

SEVRIN-REYSSAC, Josette. Biotreatment of swine manure by production of aquatic valuable biomasses. Agriculture. **Ecosystems and Environment**, v.68, p. 177-186, 1998.

SHILTON, A. N. Pond treatment technology. **IWA Publishing**, 2005.

SKJANES, K.; REBOURS, C.; LINDBLAD, P. Potential for green microalgae to produce hydrogen, pharmaceuticals and other high value product in a combined process. **Crit Rev Biotechnol** v.33, p.172-215. 2013.

SPOLAORE, P.; CASSAN, C. J.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. **Commercial applications of microalgae**, Bioscience and Bioengineering, v.101, n.2 p.87-96, 2006.

Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater is a joint publication of the American Public Health Association (APHA), the American Water Works Association (AWWA), and the Water Environment Federation (WEF), p.1,496. Hardcover. 2012.

STREITI, N.M.; CANTERLEI, L.P.; CANTOII, M.W.; HECKTHEUERII, L.H.H. As clorofilas. **Ciência Rural**, v.35, n.3, p.748-755, 2005.

SUZUKI, I. Oxidation of inorganic sulfur compounds: Chemical and enzymatic reactions. **Canadian journal of microbiology**, v. 45, n. 2, p. 97–105, 1999.

SWARNALATHA, G. V. V; HEGDE, N. S.; CHAUHAN, V. S.; SARADA, R. The effect of carbon dioxide rich environment on carbonic anhydrase activity, growth and metabolite production in indigenous freshwater microalgae. **Algal Research**, v. 9, p. 151–159, 2015.

SYDNEY, E. B.; STURM, W.; CESAR DE CARVALHO, J.; et al. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 15, p. 5892–5896, 2010.

TAIZ, L. & ZEIGER, E. Fisiologia Vegetal. Sinauer Associates, Inc. Sunderland, USA, 4 ed., 2006. 764p.

TAM N.F.Y. and WONG Y.S. Effect of ammonia concentrations on growth of *Chlorella vulgaris* and nitrogen removal from media. **Bioresource Technology**. v.57, p.45-50, 1996.

TANG, D.; HAN, W.; LI, P.; MIAO, X.; ZHONG, J.; CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. **Bioresour. Technol.** 102, 3071–3076, 2011.

TCHOBANOGLIOUS, G.; BURTON, F. L.; STENSEL, H. D.; Wastewater engineering: treatment and reuse. 4th ed. McGraw-Hill New York, NY: McGraw-Hill; 2003.

THEOFANOUS, E.; KYTHREOTOU, N.; PANAYIOTOU, G.; FLORIDES, G.; VYRIDES, I. Energy production from piggery waste using anaerobic digestion: Current status and potential in Cyprus, **Renewable Energy**, v. 71, p. 263-270, 2014.

TOMASELLI, Luisa. —The Microalgal Cell”. Handbook of Microalgal Culture: **Biotechnology and Applied Phycology**, Ed. Amos Richmond, Oxford, England: Blackwell Science, Ltd 2004.

TONGPRAWHAN, W.; SRINUANPAN, S.; CHEIRSILP, B. Biocapture of CO₂ from biogas by oleaginous microalgae for improving methane content and simultaneously producing lipid. **Bioresource Technology**, v. 170, p. 90–99, 2014.

TRAVIESO, L.; BENÍTEZ, F.; SÁNCHEZ, E.; BORJA, R.; MARTÍN, A.; COLMENAREJO, M. F. Batch mixed culture of *Chlorella vulgaris* using settled and diluted piggery waste. **Ecological Engineering**, v.28, p.158-165, 2006.

TRINDADE, G. R.; SENNA, A. J. T. Análise da Gestão Ambiental na Agropecuária no Município de São Gabriel (RS), *3º Seminário de Gestão Ambiental na Agropecuária*, Bento Gonçalves – RS, Brasil, 2012.

USDA, 2013. Livestock and Poultry: World Markets and Trade. 2014: Record Global Meat Trade. **United States Department of Agriculture**. Foreign Agricultural, Serviço [online], Disponível em: <http://apps.fas.usda.gov/psdonline/circulars/livestock_poultry.pdf>, Acesso em março de 2015.

USDA, 2014. Brazil Annual Livestock: Livestock and Products Annual, **United States Department of Agriculture**. Foreign Agricultural, Serviço [online], Disponível em: <http://gain.fas.usda.gov/Recent%20GAIN%20Publications/Livestock%20and%20Products%20Annual_Brasilia_Brazil_9-4-2014.pdf>, Acesso em março de 2015.

VIEIRA, E.L.; SOUZA, G.S.; SANTOS, A.R.; SILVA, J.S. Manual de fisiologia vegetal. São Luis: EDUFMA, 2010.

WANG, B.; DONG, W.; ZHANG, J.; XIANGDONG, C. Experimental study of high rate pond system treating piggery wastewater. **Water Sci Technol**, v.54, p.125-132, 1996.

WANG, B.; LI, Y.; WU, N.; LAN, C. Q. CO₂ bio-mitigation using microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 79, n. 5, p. 707–718, 2008.

WILLIAMS, PETER J. le B., and LAURENS, LIEVE. M. L. Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics, **Energy & Environmental Science**, v.3, p.554-90, 2010.

XIAO, R.; CHEN, R.; ZHANG, H. Y.; LI, H. Microalgae scenedesmus quadricauda grown in digested wastewater for simultaneous CO₂ fixation and nutrient removal. **Journal of Biobased Materials and Bioenergy**, v. 5, n. 2, p. 234–240, 2011.

YAN, C.; LUO, X.; ZHENG Z. Effects of various LED light qualities and light intensity supply strategies on purification of slurry from anaerobic digestion process by *Chlorella vulgaris*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v.79, p.81-87, 2013.

YAN, C.; ZHENG, Z. Performance of mixed LED light wavelengths on biogas upgrade and biogas fluid removal by microalga *Chlorella* sp. **Applied Energy**, v. 113, p. 1008–1014, 2014.

YAN, C.; ZHENG, Z. Performance of photoperiod and light intensity on biogas upgrade and biogas effluent nutrient reduction by the microalgae *Chlorella* sp. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 292–299, 2013.

YANG, Y.; GAO, K. S. Effects of CO₂ concentrations on the freshwater microalgae, *Chlamydomonas reihardtii*, *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 15, p. 379–389, 2003.

YEGUANG, L.; ZHONGKUI, L.; YAHONG, G.; HONGJUN, H.; CHUNTAO, Y.; YEXIN, O.; JIANPING G. Effect of N, P concentration on growth rate. **Acta Ecologica Sinica**, v.26, p.317–325, 2006.

YELLOWSTONE, I. I.; PARK, N. The Effect of Sulfide on the Blue-Green Algae of Hot Springs, **Introduction.**, v. 105, p. 79–105, 1977.

YING, K.; GILMOUR, D., J.; ZIMMERMAN, W., B. Effects of CO₂ and pH on Growth of the Microalga *Dunaliella salina*. **Journal of Microbial & Biochemical Technology**, v. 06, n. 03, p. 167–173, 2014.

YUN, Y.S.; LEE, S.B.; PARK, J.M.; LEE, C.I.; YANG, J.W. Carbon dioxide fixation by algal cultivation using wastewater nutrients. **J. Chem. Technol. Biotechnol.** v.69, p.451-455, 1997.

ZENG, X.; GUO, X.; SU, G.; et al. Bioprocess considerations for microalgal-based wastewater treatment and biomass production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 42, p. 1385–1392, 2015.

ZHAO, B.; SU, Y. Process effect of microalgal-carbon dioxide fixation and biomass production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 31, p. 121–132, 2014.

ZHAO, Y.; SUN, S.; HU, C.; et al. Performance of three microalgal strains in biogas slurry purification and biogas upgrade in response to various mixed light-emitting diode light wavelengths. **Bioresource Technology**, v. 187, p. 338–345, 2015.

ZHAO, Y.; WANG, J.; ZHANG, H.; YAN, C.; ZHANG, Y. Effects of various LED light wavelengths and intensities on microalgae-based simultaneous biogas upgrading and digestate nutrient reduction process. **Bioresource Technology**, v. 136, p. 461–468, 2013.

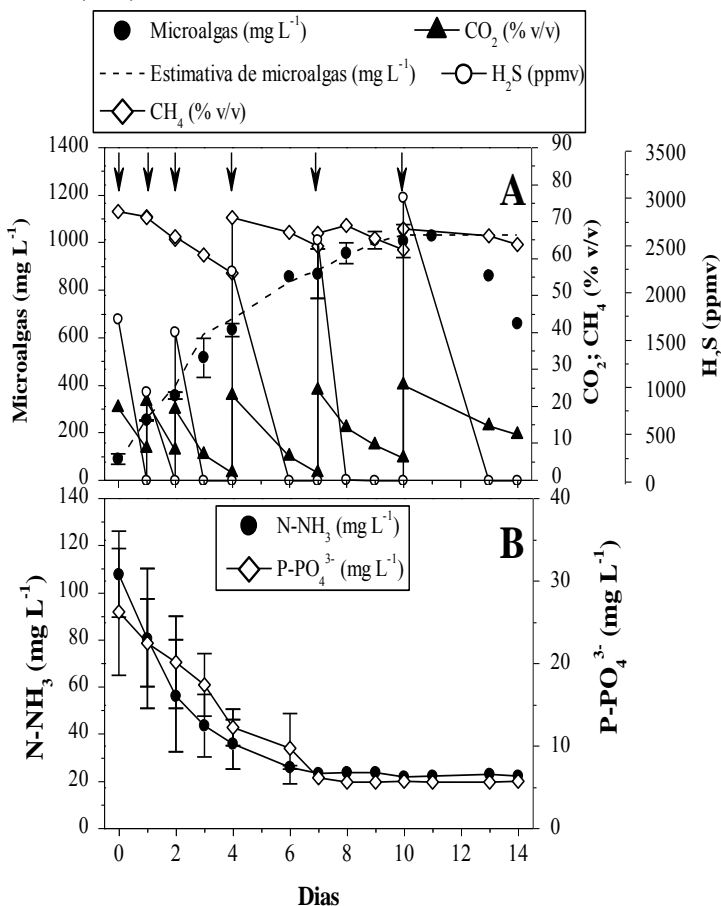
ZHOU, W., 2014. Potential Applications of Microalgae in Wastewater Treatments, Recent Advances in Microalgal Biotechnology. **Center for Biorefining, Bioproducts and Biosystems Engineering Department**, University of Minnesota, USA.

ZHOU, W.; CHEN, P.; MIN, M.; et al. Environment-enhancing algal biofuel production using wastewaters. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 36, p. 256–269, 2014.

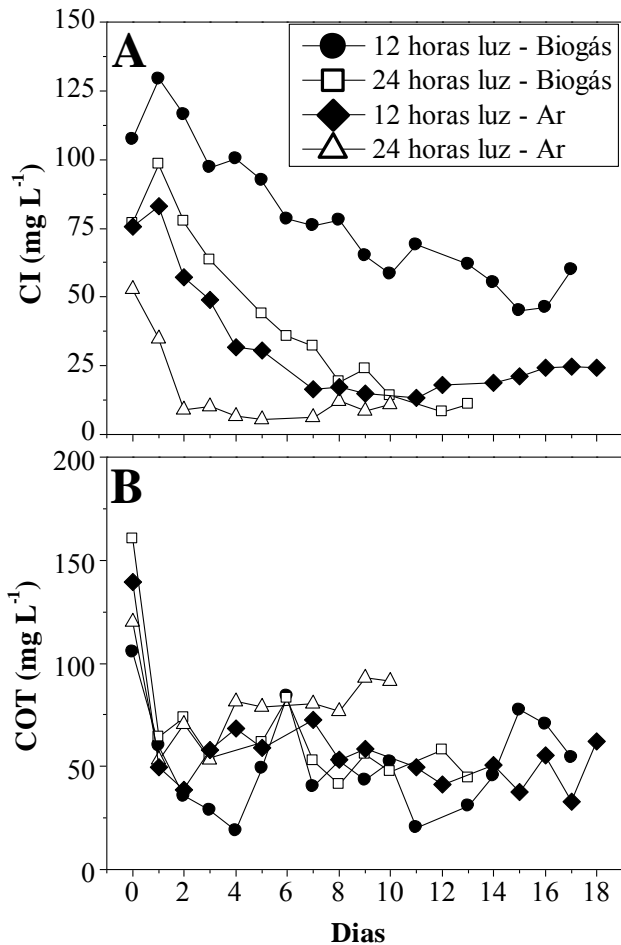
ZHOU, W.; MIN, M.; LI, Y.; et al. A hetero-photoautotrophic two-stage cultivation process to improve wastewater nutrient removal and enhance algal lipid accumulation. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 448–455, 2012.

ANEXOS

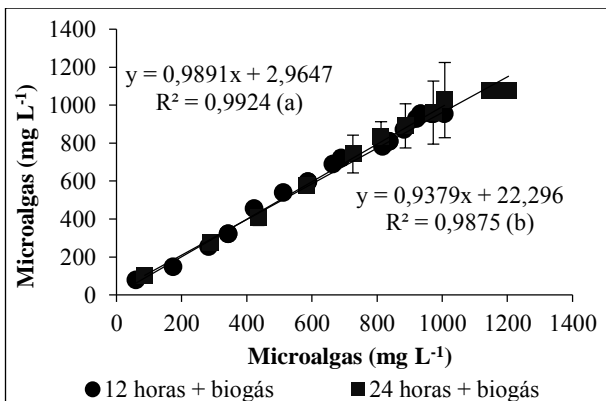
Anexo 1 - Perfis de concentração de CO_2 , CH_4 , H_2S , e biomassa de microalgas no ensaio com fotoperíodo de 24 horas luz por dia com suplementação extra de fósforo (A). As linhas tracejadas indicam o perfil da estimativa de crescimento de microalgas. Consumo de P-PO_4^{3-} e N-NH_3 ao longo do tempo. $\text{P-NaH}_2\text{PO}_4$ (26 mg L^{-1}) foi usado para suplementar a concentração de P presente no efluente diluído. As setas indicam as reinjeções de biogás. As barras representam o desvio padrão da média ($n=2$).



Anexo 2 - Efeito do fotoperíodo e do biogás do headspace no consumo microalgal de Carbono Inorgânico (CI) (A) e Carbono Orgânico total (COT) (B).



Anexo 3 - Regressão linear entre dados de crescimento microalgal real e de crescimento de microalgas teórico (modelo). O r^2 com (a) se refere ao fotoperíodo de 12 horas e (b) se refere ao fotoperíodo de 24 horas luz por dia.



Anexo 4 - Velocidade de crescimento de microalgas ($\text{mg L}^{-1} \text{d}^{-1}$) dos ensaios utilizando biogás e com diferentes fotoperíodos.

