

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE AQUICULTURA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE  
AQUICULTURA**

Henrique Cesar Venâncio

**PRODUÇÃO DA MICROALGA *Scenedesmus obliquus* EM  
UM SISTEMA LAMINAR DE CULTIVO DE ALGAS**

Florianópolis  
2016



Henrique Cesar Venâncio

**PRODUÇÃO DA MICROALGA *Scenedesmus obliquus* EM  
UM SISTEMA LAMINAR DE CULTIVO DE ALGAS**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Engenharia de Aquicultura, Departamento de Aquicultura, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para a obtenção do grau de Bacharel em Engenharia de Aquicultura.

Orientador: Prof. Roberto Bianchini Derner, Dr.

Co-orientador: Eng. Aquicultura Rafael da Fonseca Arantes, Dr.

Co-orientador: Biol. Rafael Garcia Lopes, M. Sc.

Florianópolis  
2016

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

Venâncio, Henrique Cesar

PRODUÇÃO DA MICROALGA *Scenedesmus obliquus* EM UM SISTEMA LAMINAR DE CULTIVO DE ALGAS / Henrique Cesar Venâncio ; orientador, Roberto Bianchini Derner ; coorientador, Rafael Garcia Lopes, coorientador, Rafael da Fonseca Arantes. - Florianópolis, SC, 2016.  
69 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias. Graduação em Engenharia de Aquicultura.

Inclui referências

1. Engenharia de Aquicultura. 2. Aquicultura. 3. microalga. 4. Superintensivo. 5. Biomassa. I. Derner, Roberto Bianchini. II. Lopes, Rafael Garcia. III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Engenharia de Aquicultura. IV. Título.

Henrique Cesar Venâncio

**PRODUÇÃO DA MICROALGA *Scenedesmus obliquus* EM  
UM SISTEMA LAMINAR DE CULTIVO DE ALGAS**

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do grau de **Bacharel em Engenharia de Aquicultura**, e aprovado em sua forma final pelo Departamento de Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, 12 de Julho de 2016.

---

Prof. Roberto Bianchini Derner  
**Orientador**

**Banca Examinadora:**

---

Biol. Rafael Garcia Lopes, M. Sc.  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

Eng. de Aquicultura Rafael da Fonseca Arantes, Dr.  
Universidade Federal de Santa Catarina



Este trabalho é dedicado aos  
colegas de classe e laboratório e  
minha querida mãe.





## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a minha mãe Alessandra Iracema Rossa, heroína que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, de desânimo e cansaço e que durante toda a minha vida me educou e me ensinou o verdadeiro valor das coisas simples do dia-a-dia e o respeito ao próximo. Também agradeço a Silvane Rodrigues que se juntou à família e que considero como uma segunda mãe. À minha avó Terezinha Lemos Rossa e minha segunda avó Zeli Maria Vieira por sempre me manterem nutrido e me salvando às 06:30 quando o despertador do celular não funcionava. Ao meu padrinho Edson Alexandre Rossa, que por muitas das vezes me deu clareza nos questionamentos da vida e aos momentos filosóficos nas noites de final de semana. Agradeço também aos meus bichos de estimação: Bonita, Lilica e o Gato que ainda por serem rotulados de seres irracionais, conseguem se comunicar e demonstrar seus pensamentos em forma de carinho e afeto em todos os dias, fazendo sol ou chuva. E aos que infelizmente não estão mais entre nós, meus cães: Toby e Cristal. Agradeço aos meus colegas de classe da turma (2011.2), que passaram 5 anos compartilhando momentos de alegria e correria nos finais de cada semestre, e que com certeza se tornaram excelentes profissionais. Agradeço aos amigos mais antigos de laboratório, Herculano, Marco, Morgana, Ulysses, Rodrigo, Bruna, Marcelo e Giovanni. Agradeço aos professores que desempenharam com dedicação as aulas ministradas. Agradeço ao professor Roberto Bianchini Derner pela orientação, apoio e confiança nos trabalhos em que fui proposto a realizar durante os 4 anos de estágio. Agradeço ao meu co-orientador de laboratório Rafael da Fonseca Arantes por todo seu conhecimento profissional, e ao meu supervisor Rafael Garcia Lopes pela sua paciência de 4 anos me aturando todo dia no laboratório. Agradeço a todos os funcionários da Universidade, mas não poderia deixar de mencionar a Jussara Gonçalves, que atenciosamente durante todo o período acadêmico atendeu aos socorros burocráticos da UFSC. Também agradeço ao Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações - MCTIC e ao/ Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico - CNPq e Tecnológico pela bolsa de Iniciação Científica no Projeto de Pesquisa “Produção de biomassa de microalgas em escala piloto para a obtenção de biodiesel” Processo: 407513/2013-2.



“- Quando eu cansei, eu dormi.  
- Quando eu tinha fome, eu comi.  
- Quando eu tinha que ir, você sabe, eu fui  
- E foi assim que você chegou tão longe?  
- Foi. ”

*Forrest Gump, 1986.*



## RESUMO

Neste trabalho foi desenvolvida uma análise experimental de produtividade com a microalga *Scenedesmus obliquus* em um Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA). O SLCA consistiu de uma rampa de vidro, com 5,2 m de comprimento e 1,2 m de largura, inclinação de 1%, um reservatório, bomba de circulação, sistema eletrônico de monitoramento e controle de pH através da injeção de CO<sub>2</sub>. A cultura foi mantida permanentemente em circulação, numa vazão de 367 L.min<sup>-1</sup>, velocidade de 51 cm.s<sup>-1</sup> numa lâmina de água de 10 mm. O cultivo foi iniciado com uma biomassa 1,2 g.L<sup>-1</sup> num volume de 130 L, operado em batelada alimentada utilizando o meio 4NBBMP/3. Diariamente foi determinado: densidade celular (cel.mL<sup>-1</sup>10<sup>4</sup>), biomassa (g.L<sup>-1</sup> em peso seco), clorofila (µg.mL<sup>-1</sup>), carotenoides totais (µg.mL<sup>-1</sup>), nitrato (µM), fosfato (µM), pH, temperatura e irradiância. Ao fim de 22 dias foi alcançada biomassa de 11,38 g.L<sup>-1</sup> com produtividade média de 0,51 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, atingindo até 1,15 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> durante a fase inicial. O SLCA apresentou grande potencial para o cultivo superintensivo de microalgas, uma vez que, foram obtidos valores de produtividade muito superiores àqueles obtidos nos sistemas tradicionais de cultivo de microalgas.

**Palavras-chave:** *Scenedesmus obliquus*. Cultivo superintensivo. Produtividade. Biomassa.



## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sistema Laminar de Cultivo de Algas instalado no Laboratório de Cultivo de Algas - UFSC. ....	24
Figura 2 - Condições de luz em um fotobiorreator utilizando iluminação de um lado em diferentes densidades celulares. ....	25
Figura 3 – Esquema prático do funcionamento de raceways.....	26
Figura 4 - Velocidades de fluxo na superfície de diferentes raceways comumente utilizados na indústria, no qual o vermelho é velocidade alta e azul baixa velocidade. ....	27
Figura 5 – Foto em microscópio da microalga dulcícola <i>Scenedesmus obliquus</i> . ....	33
Figura 6 - Frascos com 5 L de cultura de <i>Scenedesmus obliquus</i> . ....	34
Figura 7 - Fotobiorreatores verticais fechados com culturas de <i>Scenedesmus obliquus</i> . ....	35
Figura 8 - Sistema Laminar de Cultivo de Algas: superfície de cultivo (A); represa (B); reservatório (C); bomba hidráulica (D); difusores de CO <sub>2</sub> (E) e medidor e controlador de pH (F). ....	36
Figura 9 - Bomba hidráulica Pentair PBF-051 com pré-filtro e rotor fechado.....	37
Figura 10 - Reservatório em formato trapezoidal com volume de operação de 32,9 L em material de vidro BLINDEX (10 mm). .	38
Figura 11 - Difusores utilizados para a adição do CO <sub>2</sub> pressurizado (A). Cilindro de CO <sub>2</sub> (B). ....	40
Figura 12 - Filtro de disco AZUD, 5 micra (esquerda) e filtro bag PALL, 1 micra (direita). ....	42
Figura 13 – Monitor e controlador de pH Kontrol 40.....	43
Figura 14 - Níveis de Irradiância durante o dia em horários distintos (A), Irradiância média em horários de coleta (B).....	47
Figura 15 - Temperatura em horários distintos (A), Temperatura média do cultivo nos horários de coleta (B). ....	49
Figura 16 - Valores de pH em horários distintos (A), média do pH nos horários de coleta (B). ....	50

Figura 17 - – Médias da saturação do Oxigênio Dissolvido em três pontos do SLCA (A), média da concentração do Oxigênio Dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) em três pontos do SLCA (B). .....	51
Figura 18 - Concentração de Carotenoides totais na biomassa ( $\text{mg/g}$ ) (A), Concentração de Clorofila <i>a</i> na biomassa (B). .....	52
Figura 19 - Consumo de $\text{N-NO}_3$ em porcentagem correlacionado com a Irradiância média dos dias de cultivo. ....	53
Figura 20 - Biomassa (em peso seco, $\text{g.L}^{-1}$ ) no SLCA ao longo dos 22 dias de cultivo. ....	54
Figura 21 - Produtividade Volumétrica ( $\text{g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ). ....	54
Figura 22 - Ganho diário em biomassa no período entre 08:00 e 18:00. ....	55
Figura 23 - Perda noturna em biomassa entre 18:00 e 08:00. ....	55
Figura 24 - Perda noturna em biomassa ( $\text{g.L}^{-1}$ ) correlacionada com a irradiância às 18:00 (fim da tarde) e às 08:00 (início da manhã), durante o cultivo. ....	56
Figura 25 - Visualização em microscópio óptico da microalga <i>Scenedesmus obliquus</i> no início do cultivo (A) e ao final do cultivo (B) no SLCA. ....	60
Figura 26 – Projeção sugerindo um novo Sistema Laminar de Cultivo de Algas. Desenho realizado em software SketchUp® 2016 em três dimensões. ....	61



## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Especificações de cada seção do Sistema Laminar de Cultivo de Algas em área ( $A$ , $m^2$ ), volume ( $V$ , $L$ ), zona escura ( $L$ ) e zona morta (%). .....	39
Tabela 2 - Comparação de Sistemas Laminares de Cultivo de Algas (SLCA). Área de cultivo ( $A$ , $m^2$ ), volume de cultivo ( $V$ , $L$ ), relação $S/V$ ( $m^{-1}$ ), produtividade por área ( $PA$ , $g.m^{-2}.d^{-1}$ ), produtividade volumétrica ( $PV$ , $g.L^{-1}.d^{-1}$ ) e concentração de biomassa ( $g.L^{-1}$ ) final.....	57
Tabela 3 - Especificações de cada seção do Sistema Laminar de Cultivo de Algas em área ( $A$ , $m^2$ ), volume ( $V$ , $L$ ), zona escura ( $L$ ) e zona morta (%) em comparação com a área ( $A$ Nova, $m^2$ ) e volume ( $V$ Nova, $L$ ) do novo sistema sugerido na Figura 26. Sistema operado com coluna d'água de 15 mm ( $V$ 15 mm) e 6 mm ( $V$ 6 mm). .....	62

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>21</b>
1.1 Sistemas de Cultivo.....	24
1.1.1 Cultivo Fechado .....	24
1.1.2 Cultivo Aberto .....	25
1.1.3 Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA).....	27
1.2 Seleção da Cepa .....	29
<b>2 OBJETIVO GERAL.....</b>	<b>31</b>
2.1 Objetivos Específicos.....	31
<b>3 METODOLOGIA .....</b>	<b>33</b>
3.1 Organismo e condições de cultivo .....	33
3.2 Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA).....	35
3.3 Suprimento de CO <sub>2</sub> .....	39
3.4 Modo de operação do SLCA.....	40
3.5 Caracterização hidrodinâmica do curso d'água .....	43
3.6 Métodos analíticos .....	44
3.7 Produtividade e razão Superfície:Volume .....	45
<b>4 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....</b>	<b>47</b>
4.1 Irradiância .....	47
4.2 Temperatura .....	48
4.3 pH.....	49
4.4 Oxigênio Dissolvido (OD).....	50
4.5 Clorofila <i>a</i> Carotenoides totais .....	51
4.6 Consumo de Nitrogênio em relação à iluminação .....	52
4.7 Concentração de Biomassa (peso seco) .....	53
4.8 Produtividade Volumétrica / Ganho em biomassa na Fase Iluminada / Perda noturna em biomassa .....	54
4.9 Produtividade por Área .....	56

<b>5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>58</b>
<b>6 PERSPECTIVAS FUTURAS.....</b>	<b>59</b>
<b>REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>63</b>



## 1 INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas as microalgas têm sido muito estudadas por causa de suas potenciais aplicações industriais. Devido à grande diversidade de espécies, as microalgas têm sido empregadas na alimentação humana e animal e, por produzir inúmeros compostos valiosos, também podem ser empregadas na geração de biocombustíveis e nas indústrias farmacêutica e cosmética (DE MARCHIN, 2015).

Em relação aos biocombustíveis, a biomassa de microalgas tem sido considerada como uma potencial matéria-prima para diferentes tipos de biocombustíveis renováveis como: biodiesel, derivado da reserva lipídica, bioetanol, obtido através da fermentação dos carboidratos (BRÁNYIKOVÁ, et al. 2011) e metano, produzido a partir da digestão anaeróbia (CHISTI, 2008).

O aumento pela demanda global de energia, devido à industrialização em larga escala, e para os meios de transporte, tem gerado uma alta dependência por combustíveis fósseis, como o petróleo. Reconhecidamente, a queima dos combustíveis fósseis tem gerado inúmeros problemas associados, dentre estes o aquecimento global (MALCATA, 2011). Desta forma, combustíveis renováveis como o biodiesel, reconhecidos como eco amigáveis, têm recentemente ganhado popularidade, pois podem complementar e até substituir a necessidade de matéria-prima fóssil.

Num cenário de aumento constante da demanda por combustíveis em nível mundial, estudos relatam que o consumo de energia a partir de combustíveis fósseis representam 88% do consumo total de energia, enquanto a energia nuclear e hidrelétrica correspondem a 5 e 6% do total de energia primária, respectivamente (CHEN, et al. 2011). Ainda, a queima dos combustíveis fósseis é o maior contribuinte na formação dos Gases de Efeito Estufa na biosfera, não só contribuindo para o aquecimento global, mas também com outros impactos sobre o meio ambiente e a vida humana (MATA, 2010). Esta situação levou à introdução de novas fontes alternativas de energia, com ênfase na busca de matéria-prima, como a biomassa, que pode ser convertida em biocombustíveis, estimando-se que a queima destes biocombustíveis possa emitir 40% menos CO<sub>2</sub> em relação aos combustíveis fósseis (PALOMINO, 2010).

Atualmente, o biodiesel é produzido a partir de sementes de plantas oleaginosas, principalmente soja. No entanto, as microalgas podem ser uma alternativa adequada de matéria-prima, uma vez que diversas espécies podem biossintetizar elevadas quantidades de lipídios, que podem ser extraídos e utilizados para este fim.

Os micro-organismos consomem CO<sub>2</sub> como um nutriente, tem um potencial de rendimento muito mais elevado do que outras fontes de biomassa terrestre e pode ser cultivado em uma ampla variedade de fontes de água (MIRANDA, 2012).

Apesar do grande número de espécies, ainda há um abismo entre a quantidade de espécies de microalgas exploradas comercialmente e o real potencial biotecnológico deste grupo de micro-organismos (RICHMOND, 1988, 2000), principalmente por que o cultivo em larga escala ainda é limitado pela engenharia aplicada e por fatores biológicos que estão sendo estudados (JEREZ, et al. 2014). Por exemplo, o uso eficiente da luz para alcançar elevadas taxas de produção nos cultivos, melhorias no processo de separação da biomassa e o processamento da biomassa gerada devem ser melhorados para alcançar um eficiente uso de energia e de nutrientes (JEREZ, et al. 2014).

Para se projetar um sistema eficiente de produção de biomassa de microalgas este não pode ser realizado sem conhecimento adequado da fisiologia do organismo, dentre diversos aspectos. Um dos maiores problemas, se não o maior, em processos de cultivo fotoautotróficos é a necessidade de luz como fonte de energia. Somente em baixas concentrações de biomassa a luz é distribuída adequadamente em toda a coluna d'água (JACOB, 2012). Segundo Zappi, et al. (2015), a intensidade de irradiação média para apenas uma célula microalgal é modulada não apenas pela radiação disponível no ambiente, mas também pela densidade da cultura, a mistura, a profundidade da coluna d'água (trajeto de luz, ou passo óptico) e dá a frequência do ciclo de luz-escuro (fotoperíodo). Ainda, depende da concepção da unidade de cultivo e da configuração espacial em relação à exposição ao sol (ZAPPI, et al. 2015).

Os principais critérios a serem considerados em relação à engenharia para o desenvolvimento de um sistema de cultivo eficiente incluem: disponibilidade de luz na coluna d'água, troca de gases do meio líquido para atmosfera e vice-versa e o melhor

dimensionamento da razão superfície-volume (DOUCHA, 2006). Diversas soluções têm sido descritas na literatura, tendo a maioria delas como objetivo a melhoria no fornecimento de luz para as células microalgais. Exemplos de sistemas eficientes são os fotobiorreatores tubulares verticais e horizontais com diferentes configurações e os reatores de placas planas, com pequeno passo óptico (JACOB, 2012). Doucha e Lívanský (2014), desenvolveram cultivos em sistemas de operados com uma fina coluna d'água (sistema laminar) e relatam que uma camada (lâmina) com 0,7 mm permitiu uma máxima utilização da luz solar, que, em geral, não pode ser alcançada por qualaquer outro sistema de cultivo, seja aberto ou fechado.

Cultivos de *Scenedesmus* e *Chlorella* têm sido desenvolvidos em Sistemas Laminares e, devido ao melhor aproveitamento da luz – por conta da estreita coluna d'água e consequente diminuição do passo óptico, nestes cultivos a utilização da luz é mais eficiente e permite que sejam alcançadas altas densidades microalgais com concentrações de biomassa no cultivo entre 15-35 g.L<sup>-1</sup> (MASOJÍDEK, et al. 2011, MASOJÍDEK, TORZILLO, 2014, DOUCHA, LÍVANSKÝ, 2014).

O conceito apresentado no trabalho de Doucha e Livanski (2014) se trata de uma nova abordagem, onde o aumento da área de superfície de cultivo e a diminuição do volume de cultura visam contribuir para maior passagem de luz para as células (na zona de iluminação), permitindo uma distribuição homogênea de luz e consequentemente uma melhor absorção de fótons pelas microalgas. Na busca por demonstrar este efeito, neste trabalho foi desenvolvido um Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA, Figura 1), visando estudar o crescimento de uma espécie de microalga e relacionar este com alguns fatores ambientais.

Figura 1 - Sistema Laminar de Cultivo de Algas instalado no Laboratório de Cultivo de Algas - UFSC.



Autor: Marcelo Santana (2016)

Embora a produção em larga escala de microalgas ainda continue sendo um grande desafio, avanços no campo de engenharia pretendem desenvolver este processo de maneira ambientalmente amigável em poucos anos (WILLIAMS, 2010). Para reverter este quadro, de baixa utilização eficaz da luz, uma quantidade considerável de pesquisas ainda deve ser gerada, com desenvolvimentos e experimentações a serem feitas antes que a biomassa de microalgas possa ser produzida em uma escala suficientemente grande para suprir a demanda gerada atualmente.

### 1.1 Sistemas de Cultivo

As tecnologias de produção em larga escala de microalgas podem ser divididas em dois grandes grupos: sistemas de cultivo aberto e sistemas de cultivo fechado. Os sistemas de cultivo aberto quase sempre estão localizados no exterior (a céu aberto) e contam com luz natural para a iluminação das culturas. Os sistemas fechados (no contexto de fotobiorreatores) podem estar localizados no exterior ou no interior de salas (galpões e estufas).

#### 1.1.1 Cultivo Fechado

Considerando o uso da luz, o objetivo primordial dos cultivos fechados ou fotobiorreatores fechados é expor todas as células igualmente a iluminação intermitente, isso significa ter células se movendo de dentro para fora da zona iluminada na cultura (OJAMAE, 2011). Entretanto, este assunto é essencial ao

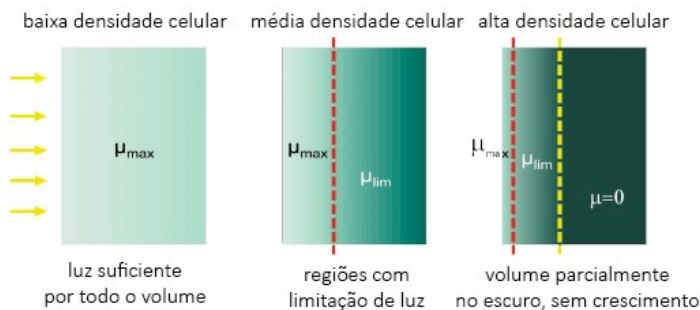


projetar um fotobiorreator, pois a melhora do regime de luz resulta na maior produção de biomassa (RICHMOND, 2004).

Sistemas de cultivos fechados possuem algumas vantagens sobre os sistemas abertos convencionais por uma série de razões, incluindo: baixo risco de contaminação, melhor controle de parâmetros de cultivo tais como pH e temperatura, além de uma mistura uniforme, maior densidade celular e produtividade (UGWU, et al. 2008). Em contrapartida, existe uma baixa atividade fotossintética devido à diminuição da transparência do recipiente a partir do qual as paredes do reator são feitas, devido à perda de luz sobre a superfície da cultura e a acumulação excessiva de oxigênio, que inibe a fotossíntese (DOUCHA, 2014), necessitando de colunas não iluminadas para desgaseificação e remoção de oxigênio (CHISTI, 2007).

O passo óptico de cultivos em raceways é geralmente elevado (15-30 cm), o que implica numa baixa densidade da biomassa, devido à penetração reduzida de luz na suspensão à medida que a concentração celular do cultivo aumenta como pode ser observado no esquema montado na Figura 2.

Figura 2 - Condições de luz em um fotobiorreator utilizando iluminação de um lado em diferentes densidades celulares.



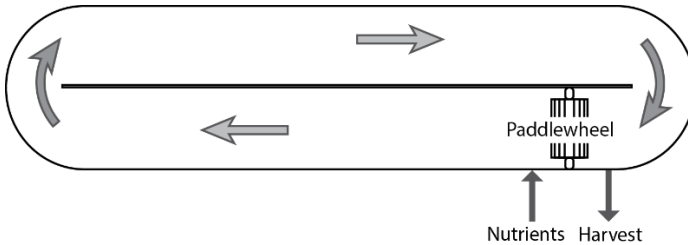
Fonte: Jacob, 2012

### 1.1.2 Cultivo Aberto

Raceways, são tanques longos com uma parede divisória central, em torno do qual a cultura de microalgas em suspensão circula impulsionada por meio de pás rotativas (Figura 3). São caracterizados por uma construção simples e custos relativamente baixos (DE MARCHIN, 2015). Comumente possuem uma coluna

d'água com cerca de 20 cm e velocidade do fluxo da cultura entre 15 e 30  $\text{cm.s}^{-1}$ , sendo esta uma velocidade considerada ótima do ponto de vista da mistura e da prevenção de sedimentação devido ao efeito de turbulência da suspensão microalgal (DOUCHA, 1995).

Figura 3 – Esquema prático do funcionamento de raceways.



Disponível em: <http://goo.gl/orAz2g> Acesso em Junho. 2016.

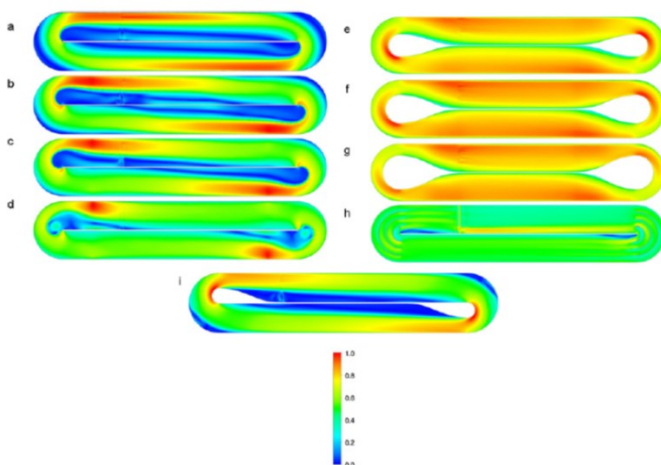
Por outro lado, existem desvantagens deste tipo de sistema em relação à utilização da luz e a concentração de microalgas, que não deve ser maior de 500  $\text{mg.L}^{-1}$  (DOUCHA, 2006). Essa concentração é considerada baixa nos cultivos de microalgas e aumentam o risco de contaminação por outras espécies de algas indesejáveis (DOUCHA, 2006). Apesar do uso comum de raceways, o sistema tem muitos inconvenientes, resultando em produtividades baixas (PULZ, SCHEIBENBOGEN, 1998; TREDICI, 2004), dentre eles, alguns pontos podem ser destacados:

- O uso de uma coluna d'água alta a concentração não deve ser superior a 500  $\text{mg.L}^{-1}$ , cultivos com maiores concentrações, já testadas, a produtividade diminui acentuadamente (RICHMOND, 1988; GROBBELAAR, 1990; VONSHAK, 1997).
- Baixa velocidade (10-30  $\text{cm.s}^{-1}$ ) do fluxo de microalgas em suspensão pode resultar em foto-inibição das algas, auto sombreamento e acúmulo de oxigênio na coluna d'água, aumentando assim a fotorrespiração e diminuindo a eficiência fotossintética e a produtividade (DEMIRBAS, 2010; PARK, et al. 2011).
- Volume alto de cultivo acaba acumulando energia térmica do sol durante o curso do dia, aumentando assim a perda de biomassa à noite pela respiração das células.

Recentemente, Liffman, et al. (2013) avaliaram a velocidade de fluxo em raceways convencionais por Dinâmica de

Fluido Computacional (DFC), mostrando que em situações de velocidade não homogênea em todo o sistema, existe a formação de zonas com baixo fluxo (Figura 4) onde ocorre a má distribuição de nutrientes e  $\text{CO}_2$ .

Figura 4 - Velocidades de fluxo na superfície de diferentes raceways comumente utilizados na indústria, no qual o vermelho é velocidade alta e azul baixa velocidade.



Fonte: Liffman et al. 2013.

### 1.1.3 Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA)

Em sistemas de cultivo laminares, a suspensão de microalgas é submetida ao escoamento sobre uma superfície plana exposta à radiação solar (SETLÍK, 1970). Sistemas Laminares de Cultivo de Algas (SLCA) são caracterizados por manter o fluxo de microalgas em milímetros de coluna d'água, sob céu aberto, em fluxo altamente turbulento, o que permite alta produtividade volumétrica e por área. Outra importante característica deste sistema é sua elevada razão entre a área de superfície exposta e o volume total da cultura ( $S/V$ ) em torno de  $100 \text{ m}^{-1}$ , ou seja, o aumento da área de cultivo (área fotossinteticamente ativa) e a diminuição do volume total de cultivo. Unidades de cultivo com relações  $S/V$  com valores de  $100 \text{ m}^{-1}$  proporcionam cultivos com concentrações  $25\text{-}35 \text{ g.L}^{-1}$  (MASOJIDEK, et al. 2011).

Nestes sistemas são utilizadas plataformas inclinadas, consideradas como superfície fotossinteticamente ativa. Estes sistemas acabam gerando vantagens em relação aos sistemas de cultivos abertos, como irradiância solar direta sobre a cultura, fácil perda de calor, fácil limpeza e manutenção e uma desgaseificação eficiente. O sistema laminar apresenta características positivas encontradas nos sistemas fechados (operação em altas densidades de biomassa para alcançar alta produtividade volumétrica) (ZAPPI, et al. 2015). Algumas das características positivas de um SLCA são esclarecidas pelos seguintes tópicos:

- Em qualquer sistema de cultivo a temperatura é um parâmetro importante que deve ser monitorado, não só para o crescimento eficaz de microalgas, mas também para promover o melhor metabolismo celular e a composição bioquímica adequada (JUNEJA, et al. 2013).

- Alta turbulência da camada em suspensão fluindo a uma velocidade de  $50-60 \text{ cm.s}^{-1}$  ao longo da superfície do sistema resulta numa elevada frequência de luz / escuro para as células microalgais individualmente, permitindo maior utilização da luz e reduzido efeito de fotoinibição (DOUCHA, 2014).

- O volume de cultura por unidade de área de cultivo é 50 x menor e a densidade de algas no momento da colheita é 100 x mais elevada do que em raceways, reduzindo significativamente o cultivo e os custos de processamento a jusante; menor de cultura permite um melhor controle dos parâmetros de crescimento. Uma elevada densidade de celular minimiza a contaminação de cultura (DOUCHA, 2014).

Sistemas Laminares de Cultivo retêm facilmente calor por irradiação solar, mas, por outro lado, são também rapidamente resfriados pela evaporação de água a temperaturas mais elevadas (MASOJIDEK, et al. 2011). A unidade conta com elevado efeito de resfriamento, mesmo sob elevadas temperaturas do ar e altas intensidades de luz solar, evitando o aquecimento excessivo do cultivo (DOUCHA, LÍVANSKÝ, 2006, 2009). Devido a uma camada muito fina de cultura de algas e a um baixo volume de cultura, a temperatura ótima de crescimento é rapidamente alcançada após o início do dia (DOUCHA, 2014). Além disso, a temperatura da cultura da noite é baixa e provoca menor perda noturna de biomassa pela diminuição do metabolismo celular,

uma vez que terá menor respiração das células (DOUCHA, 2014).

## 1.2 Seleção da Cepa

As características de produtividade em biomassa de uma determinada cepa selecionada sob condições ambientais específicas é de extrema importância (CAGLA, 2016). Dessa forma, uma seleção de cepas de microalgas altamente adaptáveis e tolerantes é essencial, uma vez que permite um crescimento eficiente sob variações das condições climáticas e consequentemente com menores requisitos para o controle das condições de cultivo (GRIFFITHS, HARRISON, 2009).

Um ponto importante é a capacidade desta espécie (*Scenedesmus obliquus*) em crescer a níveis elevados de pH, assim, na maioria outros micro-organismos não crescem rapidamente a tal pH elevado (DE MARCHIN, 2015). A partir da carga de biocompostos de grande interesse e disponibilidade da alga no Laboratório em que o estudo foi desenvolvido optou-se por testar a capacidade máxima de cultivo da unidade experimental utilizando uma cepa de microalga dulcícola da espécie *Scenedesmus obliquus*.



## 2 OBJETIVO GERAL

Estudar o desempenho do Sistema Laminar de Cultivo de Algas - SLCA através do desenvolvimento da cultivo da microalga *Scenedesmus obliquus*.

### 2.1 Objetivos Específicos

- Determinar o crescimento da cultura de *S. obliquus* no SLCA;
- Determinar a produtividade volumétrica e por área obtida na cultura;
- Relacionar o efeito da iluminação e da temperatura sobre o crescimento e produtividade em biomassa;
- Quantificar a perda noturna de biomassa.





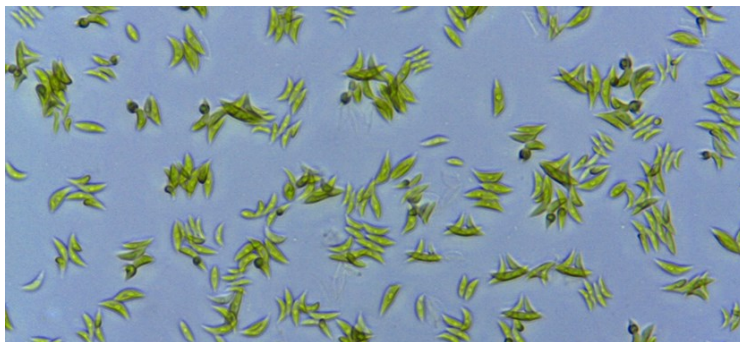
### 3 METODOLOGIA

#### 3.1 Organismo e condições de cultivo

Nesse estudo foi utilizada uma cepa de microalga dulcícola *Scenedesmus obliquus* (KUTZING, 1833) isolada e mantida no Banco de Cepas do Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), situado na Barra da Lagoa, Florianópolis, Santa Catarina (27°34'56.1"S e 48°26'29.2"W). A cepa de *S. obliquus* foi mantida em meio Bold's Basal Medium (BBM) (NICHOLS, 1973), em câmara de germinação numa temperatura de 18 °C, irradiância de  $150 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e fotoperíodo de 8 h de luz e 16 h de escuro (8:16).

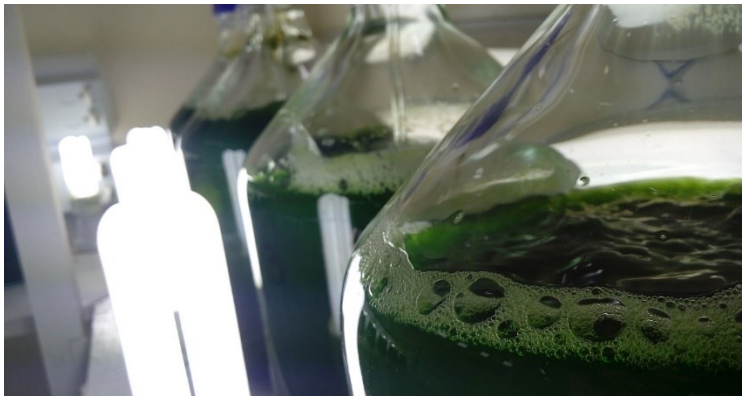
A partir da cepa foram desenvolvidas culturas em sistema de batelada para a produção do inóculo, utilizando meio BBM modificado (4NBBMP/3) empregado no LCA. As modificações consistiram de um meio enriquecido com quatro vezes a concentração de nitrato e subtraída três vezes a concentração de fosfato em relação ao meio BBM tradicional. Semanalmente estas culturas foram submetidas ao aumento de volume, até atingir o volume de 20 L, (Figura. 6). Os cultivos foram desenvolvidos na sala de Cultivo Inicial, numa irradiância de  $690 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , temperatura de 22 °C e fotoperíodo de 24:0, com aeração constante empregando ar atmosférico enriquecido com 0,5% de CO<sub>2</sub>.

Figura 5 – Foto em microscópio da microalga dulcícola *Scenedesmus obliquus*.



Fonte: Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) – UFSC

Figura 6 - Frascos com 5 L de cultura de *Scenedesmus obliquus*.



Fonte: Henrique Cesar Venâncio (2016)

Na sequência os frascos foram transferidos para um fotobiorreator verticais, e aumentado seu volume para 50 L (Figura. 7) com passo óptico de 0,05 m. Após 5 dias de cultivo o volume desta cultura foi aumentado para 100 L e mantida sob condições de temperatura de 23 °C, pH 7,5, com borbulhamento contínuo de ar atmosférico enriquecido com CO<sub>2</sub> a 1,0% (v/v), irradiância de 460  $\mu\text{mol m}^2\cdot\text{s}^{-1}$  e meio BBM modificado (4NBBMP/3). Após 13 dias de cultivo a concentração de biomassa alcançou 1,2  $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$ , sendo então empregada para a inoculação do Sistema Laminar de Cultivo de Algas. A cultura no SLCA foi iniciada com esta elevada concentração de biomassa visando à redução da possibilidade de ocorrer o efeito de saturação da luz, que pode causar a foto-inibição, levando ao declínio na capacidade fotossintética e do crescimento da cultura (MATTOS, et al. 2015).

Figura 7 - Fotobiorreatores verticais fechados com culturas de *Scenedesmus obliquus*.



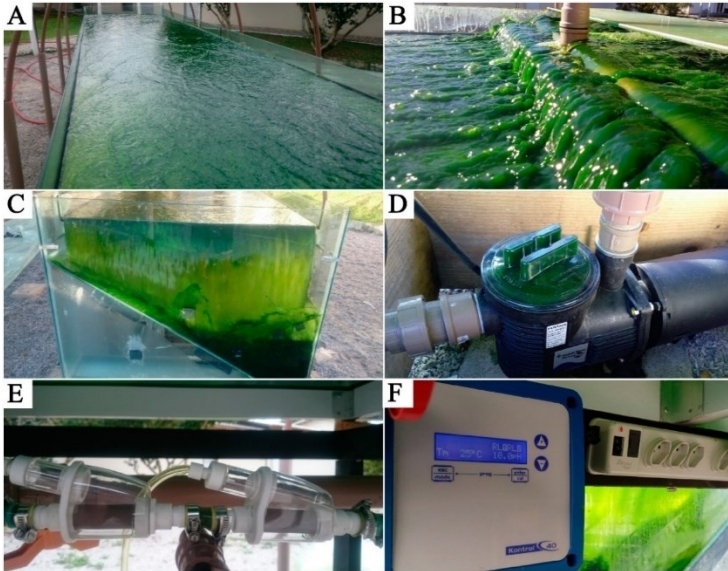
Fonte: Henrique Cesar Venâncio (2016)

Após obter a biomassa desejada no sistema de fotobiorreatores verticais o inóculo foi transferido para o Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA) no período noturno (20:30), mantida em recirculação até a primeira coleta no dia seguinte. A concentração de soluções de nutrientes do meio 4NBBMP/3 foram preparadas diluindo reagentes de padrão analítico em água destilada a uma concentração definida para cada litro, quais sejam:  $\text{NaNO}_3 = 100 \text{ g}$ ;  $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O} = 2.5 \text{ g}$ ;  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 7.5 \text{ g}$ ;  $\text{K}_2\text{HPO}_4 = 2.5 \text{ g}$ ;  $\text{KH}_2\text{PO}_4 = 5.83 \text{ g}$ ;  $\text{NaCl} = 2.5 \text{ g}$ ;  $\text{EDTA} = 50 \text{ g}$ ;  $\text{KOH} = 31 \text{ g}$ ;  $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 4.98 \text{ g}$ ;  $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O} = 8.82 \text{ g}$ ;  $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O} = 1.44 \text{ g}$ ;  $\text{MoO}_3 = 0.71 \text{ g}$ ;  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O} = 1.57 \text{ g}$ ;  $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O} = 0.49 \text{ g}$ .

### 3.2 Sistema Laminar de Cultivo de Algas (SLCA)

O SLCA consiste de cinco partes: superfície de cultivo (A) - represa (B) - reservatório (C) - bombeamento (D) - difusores de  $\text{CO}_2$  (E) e medidor e controlador de pH (F) demonstrados com mais detalhes na Figura 8. O ciclo de operação tem início no reservatório, de onde a cultura foi permanentemente recirculada com auxílio de uma bomba hidráulica, via tubulação de recalque para a área da represa. A represa foi utilizada para diminuir a turbulência causada pela alta vazão e pressão causadas pelo bombeamento, afim de homogeneizar a coluna d'água e velocidade na superfície iluminada de cultivo (1% de inclinação ou 0,001 m/m).

Figura 8 - Sistema Laminar de Cultivo de Algas: superfície de cultivo (A); represa (B); reservatório (C); bomba hidráulica (D); difusores de CO<sub>2</sub> (E) e medidor e controlador de pH (F).



Fonte: Henrique Cesar Venâncio (2016)

A unidade de cultivo foi monitorada regularmente através de medidas de temperatura, oxigênio dissolvido e pH. A superfície de cultivo, a represa e reservatório foram construídos empregando vidro temperado de 10 mm, soldado com silicone e sustentado por um estrado de alumínio, além de uma base de madeira, e coberto por uma estrutura em forma de arco com uma lona de plástico removível (instalada somente no período noturno e para evitar chuvas causando diluição da cultura). Para bombeamento da cultura foi utilizada uma bomba hidráulica (Pentair, Modelo BPF-051, 2 CV Figura 9) com pré-filtro e rotor fechado.

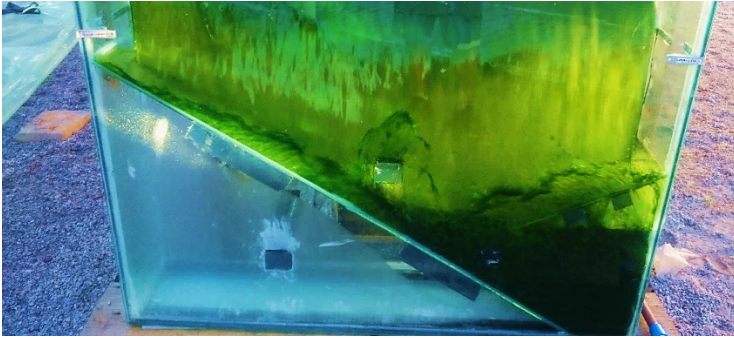
Figura 9 - Bomba hidráulica Pentair PBF-051 com pré-filtro e rotor fechado.



Fonte: Henrique Cesar Venâncio (2016)

Aa superfície de cultivo conta dimensões de 1,20 por 4,80 m e coluna d'água de 10 mm e área de 5,76 m<sup>2</sup>, desta forma contendo um volume trabalhado de 58 L. A represa possui lamina d'água de 60 mm devido a uma régua de vidro situado no início da unidade de cultivo, está área possui dimensões de 0,4 por 1,20 m e 0,05 m de coluna d'água, totalizando um volume de 24 L. O reservatório tem formato trapezoidal (Figura 10) para diminuir a volume morto da cultura e possui volume de trabalho de 31 L. O volume morto contido no sistema é somada pelas áreas do reservatório (31 L), tubulação (13 L) e tambor da bomba hidráulica (4 L) e o volume ativo é situado na superfície de cultivo (58 L) e represa (24 L) totalizando um volume de 130 L no SLCA.

Figura 10 - Reservatório em formato trapezoidal com volume de operação de 32,9 L em material de vidro BLINDEX (10 mm).



Fonte: Henrique Cesar Venâncio (2016)

Assim, a relação superfície volume (S/V) da unidade foi de  $48 \text{ m}^{-1}$  ou  $1 \text{ m}^2 / 0,02 \text{ m}^3$ . A relação do volume morto sobre o volume total do sistema resultada numa percentagem de volume operado em um sistema não foto sinteticamente ativo de 55,54%. Especificações de cada seção do SLCA em relação à área e volumes podem ser consultadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Especificações de cada seção do Sistema Laminar de Cultivo de Algas em área (A, m<sup>2</sup>), volume (V, L), zona escura (L) e zona morta (%).

<b>Seções</b>	<b>A</b>	<b>V</b>
Represa	0,5	24
Superfície de cultivo	5,8	58
*Reservatório		31
Área retângulo		
Área triângulo retângulo		
Tubulação		13
Pré-filtro bomba		4
**Volume morto		48
***		37%
<b>Volume total da unidade</b>		<b>130</b>
<b>S/V</b>		<b>48</b>

\*Volume de reservatório = V (retângulo) + V (Triângulo retângulo)

\*\*Volume morto = V (reservatório + tubulação + pré-filtro)

\*\*\*Volume morto = V (volume morto) / V (total da unidade) x 100

Fonte: Desenvolvido pelo autor

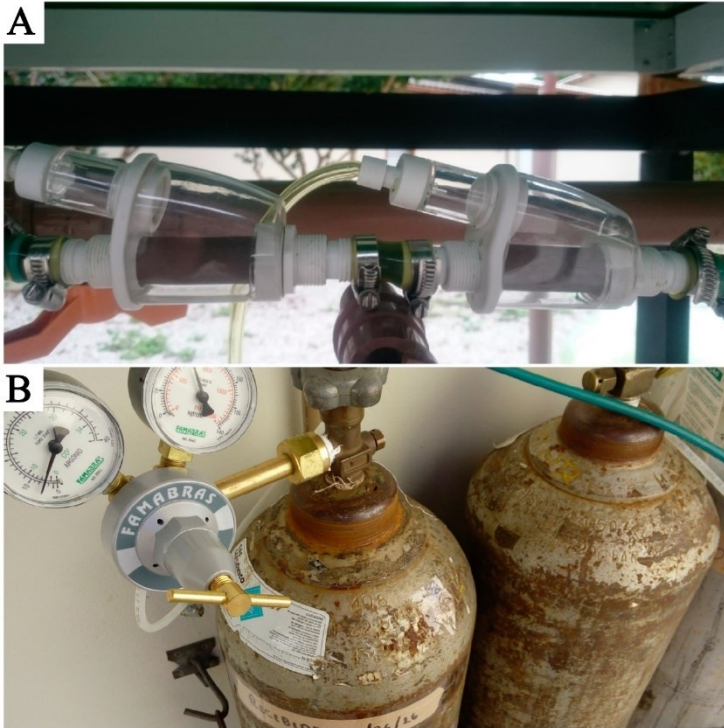
### 3.3 Suprimento de CO<sub>2</sub>

Visando ao aumento da oferta de carbono, uma vez que o percentual existente na atmosfera (0,036%) não é suficiente para suprir a demanda por este elemento numa cultura superintensiva de microalgas – foi empregado CO<sub>2</sub> (proveniente de cilindros pressurizados), adicionado à cultura com o emprego de difusores (Figura 11B). A regulação da adição do CO<sub>2</sub> foi feita a partir do



controlador de pH, visando a estabilizar o pH entre 8,3 e 8,7. Para dissolução do CO<sub>2</sub> no meio foram utilizados dois difusores com tubo de porcelana (Macro Aqua Externo) (Figura 11A), localizados na tubulação de recalque, e mantidos sobre pressão de 50 kgf/cm<sup>2</sup>.

Figura 11 - Difusores utilizados para a adição do CO<sub>2</sub> pressurizado (A). Cilindro de CO<sub>2</sub> (B).



Fonte: Henrique Cesar Venâncio (2016)

### 3.4 Modo de operação do SLCA

Diariamente, durante todo o cultivo, foram retiradas amostras de 50 mL da cultura no início da manhã (08:00) para a realização de análises de turbidez (NTU), densidade celular ( $\text{cels.mL}^{-1} \times 10^4$ ), nitrato ( $\mu\text{M}$ ), fosfato ( $\mu\text{M}$ ) e concentração de biomassa em peso seco ( $\text{g.L}^{-1}$ ). Clorofila *a* ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e



carotenoides totais ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) foram analisados em horários de 08:00, 12:00 e 18:00. Ao fim da tarde (18:00) foram novamente realizadas as análises para a determinação dos mesmos parâmetros da manhã, com exceção da densidade celular.

Os valores de irradiância ( $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ), temperatura ( $^{\circ}\text{C}$ ), oxigênio dissolvido (% de saturação e  $\text{mg.L}^{-1}$ ) e pH foram determinados às 08:00, 10:00, 12:00, 14:00, 16:00 e 18:00, em pontos diferentes do sistema laminar sendo eles: represa, reservatório e ao final da superfície inclinada. A irradiância foi medida com um irradiômetro (Light Meter modelo LI-250<sup>a</sup>), temperatura e oxigênio dissolvido pelo medidor de oxigênio YSI modelo ProODO e pH por um pHmetro YSI EcoSense® modelo pH100A.

A operação do SLCA foi realizada em modo de batelada alimentada, para que a adição de nutrientes pudesse favorecer o crescimento em densidade celular (GARCÍA-CAÑEDO, 2016).

O experimento foi realizado em batelada alimentada, onde a reposição diária de nutrientes o início da manhã. Para que houvesse o reajuste diário de todos os nutrientes contidos no meio 4NBBPP/3 foi determinado de que os mesmos foram consumidos em proporção ao nitrato, ou seja, a medida em que o  $\text{N-NO}_3$  é consumido em 24 horas, ele é reajustado para manter-se a uma concentração final de  $729,4 \text{ mg.L}^{-1}$ , os demais nutrientes foram adicionados na mesma proporção em relação ao consumo do nitrato.

O volume de água no sistema de cultivo foi mantido constante com o emprego de uma boia de nível, sendo que a água precisou ser repostada devido à evaporação. A água de reposição foi filtrada utilizando através de um sistema de filtração com filtros de disco (Helix systems AZUD) de 5 micrometros e filtros bag (PALL) de 1 micrometro (Figura 12). Para quantificação do volume evaporado foi utilizado um hidrômetro (ELSTER M170-X).



Figura 13 – Monitor e controlador de pH Kontrol 40



Fonte: Henrique Cesar Venâncio (2016)

### 3.5 Caracterização hidrodinâmica do curso d'água

Foi utilizada a equação de Manning (MANNING, 1891) para o cálculo e determinação da velocidade média em suspensão na superfície de cultivo, utilizada experimentalmente em fotobiorreatores de sistema laminar (MASOJÍDEK, et al. 2011). A equação de Manning é apresentada abaixo:

$$v = \frac{R_h^{2/3} \times S_0^{1/2}}{n} \quad (1)$$

Onde:

$v$  = velocidade média ( $\text{m.s}^{-1}$ ).

$R_h$  = Raio Hidráulico (m)

$S_0$  = Inclinação.

$n$  = coeficiente de resistência.

Previamente o raio hidráulico é calculado para dar continuidade a equação de velocidade média,  $R_h$  é determinado através da equação (Eq.2).

$$R_h = \frac{A}{P} = \frac{b \times h}{b + 2 \times h} \quad (2)$$

Onde:

$A$  = Área de superfície de cultivo ( $\text{m}^2$ ).

$P$  = Perímetro molhado (m).

$b$  = Largura da superfície (m).  
 $h$  = Altura da coluna d'água (m).  
 $R_h$  = Raio Hidráulico (m).

Com largura  $b$  de 1,20 m e coluna d'água ( $h$ ) de 0,01 m, tem-se o raio hidráulico  $R_h$  de 0,0984 m. Aplicando-se a equação (Eq.1) os valores de  $S_0$  de 0,001 m/m,  $R_h$  de 0,00984 e  $n$  de 0,009 obtemos a velocidade média do fluido de 0,51 m.s<sup>-1</sup>. Coeficiente de resistência de Manning são tabelados (CHOW, 1959, p.110), listando valores mínimos de  $n$  para material de vidro. A vazão ( $Q$ ) então é determinada pela equação:

$$Q = A \times v \quad (3)$$

Onde:

$Q$  = vazão (m<sup>3</sup>.h<sup>-1</sup>).

$A$  = Área de superfície de cultivo (m<sup>2</sup>).

$v$  = velocidade média (m.s<sup>-1</sup>).

Valores obtidos de área (0,012 m<sup>2</sup>) e velocidade média do fluido (0,51 m/s) são aplicados a (Eq.3) e obtido valores de 0,0061 m<sup>3</sup>/s, portanto é necessária uma vazão de 22 m<sup>3</sup>/h para preenchimento da superfície de cultivo com lamina d'água ( $h$ ) de 10 mm e base ( $b$ ) de 1,2 m. Simplificando os cálculos de vazão ( $Q$ ) e velocidade média ( $v$ ) temos a seguinte equação:

$$\begin{aligned}
 R_h = \frac{A}{P} = \frac{b \times h}{b + 2 \times h} \rightarrow v = \frac{R_h^{2/3} \times S_0^{1/2}}{n} \rightarrow Q \\
 = \frac{A \times (R_h^{2/3} \times S_0^{1/2})}{n} \quad (4)
 \end{aligned}$$

### 3.6 Métodos analíticos

A concentração de nitrato foi determinada a partir do meio filtrado das amostras da cultura do SLCA, seguindo o método colorimétrico (HACH®). Para isso foi utilizado o reagente Permachem Reagent® NitraVer 5 adicionado a 10 mL do meio filtrado, diluído dez vezes com água deionizada, mantido em repouso por 13 min para posteriormente ser medido em espectrofotômetro (410 nm).

O fosfato também foi determinado a partir do meio filtrado da amostra. As amostras (15 mL) foram mantidas em tubos Falcon e armazenadas em freezer (-20 °C) até análise pelo método de Aminot e Chaussepied (1983).

A concentração de biomassa (em peso seco) foi determinada pelo método gravimétrico (APHA, 2005) empregando filtros de fibra de vidro GF-1 (0,45 micrometro). Foram filtrados 20 mL de cultura e o filtro foi mantido em estufa (60 °C) durante 24 h (até peso constante), depois foi deixado esfriar em dessecadora vácuo. A biomassa foi determinada pela diferença do peso final e inicial do filtro, dividido pelo volume filtrado.

Para a determinação da densidade celular (cel/mL) foi utilizada Câmara de Neubauer e microscópio óptico. O teor de clorofila ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) e carotenoides totais ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) foi determinado a partir da amostra de 10mL. A amostra foi filtrada (Fibra de vidro GF-6), e o filtro foi congelado. Ao final do período de cultivo os filtros foram macerados e o material foi ressuspenso em acetona 90%. A clorofila *a* e carotenoides totais foram determinados com auxílio de espectrofotômetro nos comprimentos de onda 664, 630 e 480 nm, respectivamente.

### 3.7 Produtividade e razão Superfície:Volume

Para obter valores de produtividade por área e volume foram utilizadas as equações (5) e (6), respectivamente:

$$PA = \frac{Pm \times V}{A} \quad (5)$$

Onde:

$PA$  = Produtividade por Área ( $\text{g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ).

$Pm$  = Produtividade por dia ( $\text{g.L}^{-1}$ ).

$V$  = Volume total (L).

$A$  = Área da superfície de cultivo ( $\text{m}^2$ ).

$$PV = \frac{[B]}{T} \quad (6)$$

Onde:

$PV$  = Produtividade Volumétrica ( $\text{g.L}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ).

$B$  = Concentração de Biomassa ( $\text{g.L}^{-1}$ ).

$T$  = Tempo de cultivo (dias).

A relação de superfície e volume ( $S/V$ ) foi calculada utilizando a seguinte equação:

$$S/V = \frac{S}{V} \quad (7)$$

Onde:

$S$  = Área de superfície de cultivo ( $m^2$ ).

$V$  = Volume total ( $m^3$ ).

$S/V$  = Relação superfície:Volume ( $m^{-1}$ ).

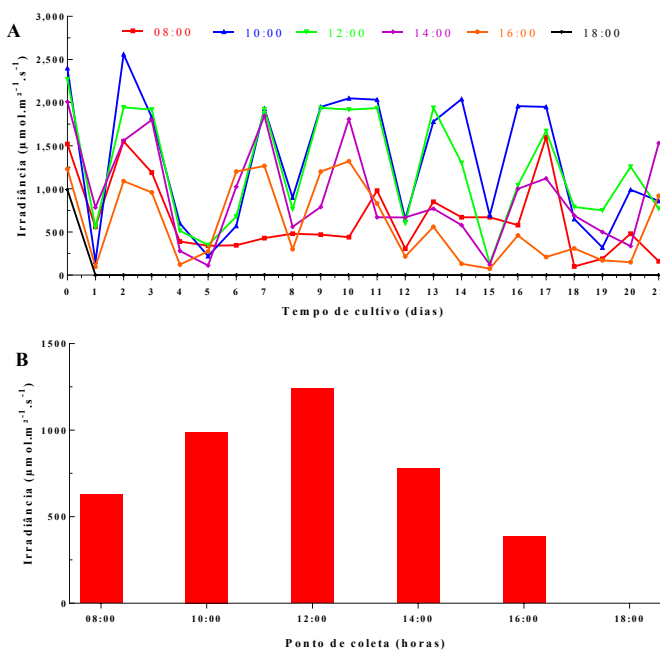
Aplicando-se valores de área de 6,24  $m^2$  e o volume de 0,130  $m^3$ , correspondente ao sistema avaliado neste trabalho obtemos um valor de aproximadamente 48  $m^{-1}$  ou 1  $m^2/0,02 m^3$ , ou seja, para cada metro quadrado de área o sistema possui 20 L de cultura.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Irradiância

Os dados da irradiância solar em diferentes horários, apresentados na Figura 14A, apresentaram variações em  $960 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (16:00) e  $2.500 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (10:00) nos primeiros 3 dias de cultivo (verão) e nos demais dias oscilaram entre  $75 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (16:00) e  $2.050 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  (10:00), devido a mudança de horário local (inverno). Dias de cultivo com valores de irradiância abaixo de  $1.000 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , foram causado por dias nublados ou chuvosos, uma vez que o sistema foi montado a céu aberto, é provável que se tenham grandes variações nestes parâmetros em outras estações climáticas aqui nesta região.

Figura 14 - Níveis de Irradiância durante o dia em horários distintos (A), Irradiância média em horários de coleta (B).



Fonte: Desenvolvido pelo autor

Durante todo o período de cultivo a média dos valores de irradiância foi superior a  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , que de acordo com

Torzillo, et al. (2003) é suficiente para manter as microalgas com luz suficiente e ativas fotossinteticamente em um sistema de cultivo aberto. O curso de irradiância média durante o dia (Figura 14B) mostrou um padrão diurno típico com maiores valores de irradiância entres os horários de 10:00 e 16:00, e com menores valores no início da manhã (08:00) e final da tarde (18:00).

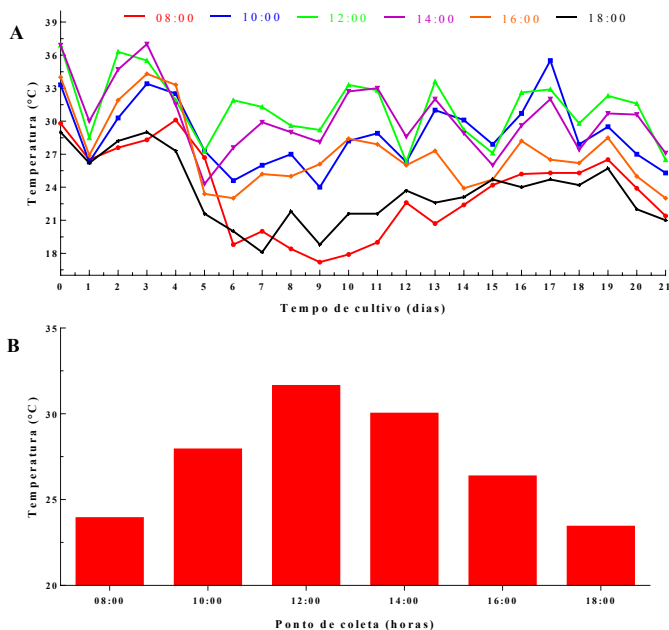
## 4.2 Temperatura

Os resultados de temperatura, durante o período de cultivo e em diferentes horários do dia, podem ser observados na Figura 15A. A partir do dia 5 os valores de temperatura apresentaram uma ampla variação até o dia 11, devido à chegada de uma massa de ar frio à Santa Catarina. Como apresentado na Figura 15A, foram atingidos valores mínimos de 17 e 18,3 °C durante a manhã (08:00) e final da tarde (18:00), respectivamente. Entretanto, as medidas de temperatura durante o período diurno (10:00 – 14:00) mostraram uma média de 30 °C (Figura 18B), devido a maior incidência do sol.

Os dados da temperatura no início das manhãs e às 12:00 mostraram valores similares a demais cultivos de Sistemas Laminares de Cultivo em outros países (JEREZ, et al. 2014; MASOJIDEK, et al. 2011; DOUCHA, 2006; DE MARCHIN, 2015). Assim como a irradiância, a temperatura também apresentou valores médios com padrões típicos durante o dia, como pode ser observado na Figura 15B, além de demonstrar um acelerado aumento a partir das 08:00, e rápido declínio após às 16:00. Em geral, a temperatura máxima do sistema não ultrapassou 37 °C, uma vez que o sistema possui extensa superfície de cultivo, o que ocasiona uma forma eficiente da perda de calor por evaporação. Neste trabalho a taxa de evaporação variou entre 4 e 5  $L.m^{-2}.d^{-1}$ , em dias ensolarados, sendo que estes valores são similares àqueles (5  $L.m^{-2}.d^{-1}$ ) obtidos por Doucha e Lívanský (2006, 2009), sob dias de verão em sistemas de cultivo semelhantes. Durante o período de cultivo (22 dias) foram repostos 275 L de água, isto devido à soma das evaporações diárias, ou seja, 2x mais que o volume total da unidade experimental (130 L).



Figura 15 - Temperatura em horários distintos (A), Temperatura média do cultivo nos horários de coleta (B).

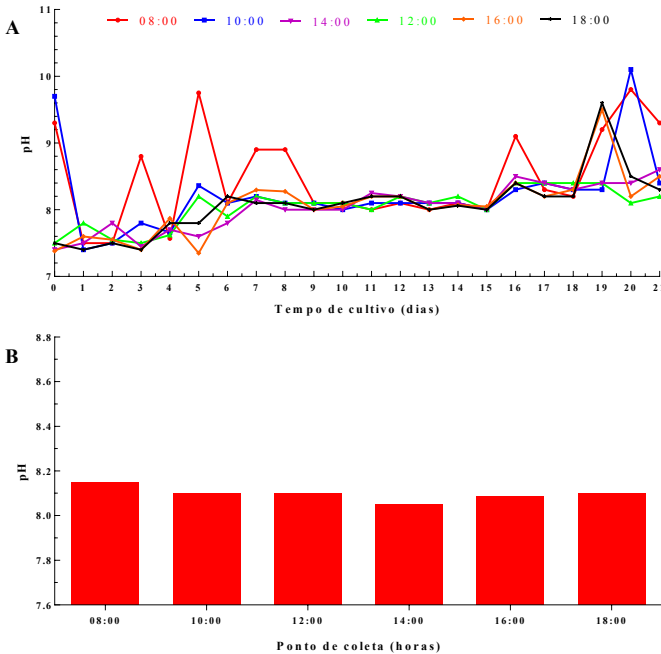


Fonte: Desenvolvido pelo autor

### 4.3 pH

Durante os 22 dias de cultivo o pH apresentou uma variação média entre 7,8 – 8,3 (Figura 19B), devido ao controle do pH por injeção de  $\text{CO}_2$  na cultura. Os picos de pH, ocorridos em horários de 08:00 e 18:00 (Figura 16A) se devem à ausência da injeção de  $\text{CO}_2$  naqueles momentos, entretanto, de acordo com Thielmann (1990), mesmo em níveis elevados de pH, a microalga *Scenedesmus obliquus* demonstrou maior resistência.

Figura 16 - Valores de pH em horários distintos (A), média do pH nos horários de coleta (B).



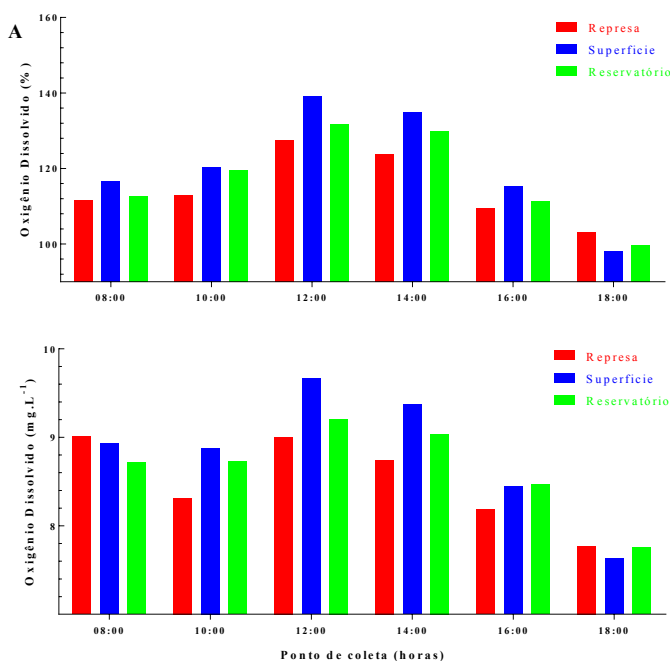
Fonte: Desenvolvido pelo autor

#### 4.4 Oxigênio Dissolvido (OD)

Na Figura 17 B é possível observar as variações na média da concentração ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) de OD em diferentes pontos (represa, superfície e reservatório) e em horários de coleta. O valor médio mostrou-se crescente a partir do início da manhã, atingindo maiores valores ao meio dia e decrescendo até o final da tarde. As variações na concentração do OD no decorrer das horas do dia são esperadas, isto devido à maior incidência da radiação solar entre às 10:00 e 14:00, sobre o sistema de cultivo, que resulta em alta atividade fotossintética das células microalgas e da liberação de  $\text{O}_2$  na coluna d'água. Além disso, como pode ser visualizado na figura 20B, as concentrações de OD entre os pontos de coleta do sistema não mostraram extratificação considerável, sendo que, este dado pode estar relacionado ao

pequeno comprimento (5 m) da superfície de cultivo, uma vez que Doucha e Lívanský (2006; 2009), em sistemas com 28 m e 20 m de comprimento, perceberam variações de  $10 \text{ mg.L}^{-1}$  e  $13 \text{ mg.L}^{-1}$  entre o início e o fim da superfície de cultivo. Os valores da saturação do OD (%) mostraram perfis similares às concentrações no decorrer do período iluminado (Figura 17A) e nos diferentes pontos do sistema.

Figura 17 - - Médias da saturação do Oxigênio Dissolvido em três pontos do SLCA (A), média da concentração do Oxigênio Dissolvido ( $\text{mg.L}^{-1}$ ) em três pontos do SLCA (B).



Fonte: Desenvolvido pelo autor

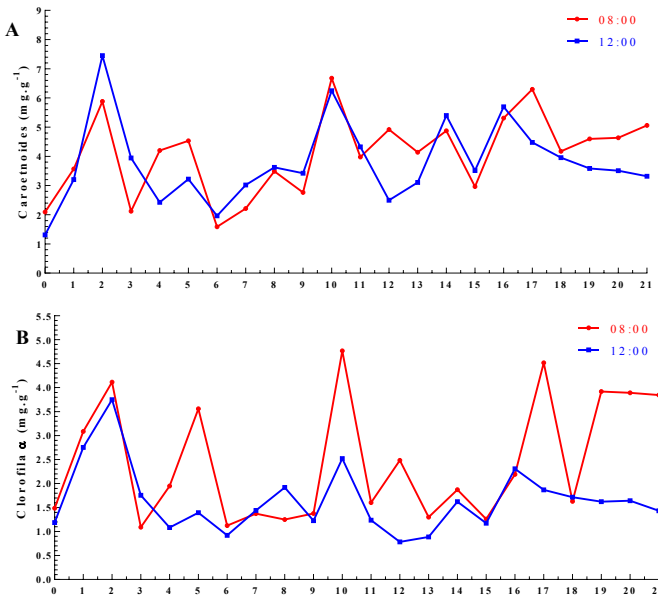
#### 4.5 Clorofila *a* Carotenoides totais

As concentrações de Clorofila *a* na biomassa ( $\text{mg.g}^{-1}$ ), em dois horários (08:00 e 12:00), são mostradas na Figura 21B. A concentração de clorofila *a* na biomassa teve perfis distintos em relação aos horários, foi observado que em horários de maior incidência luminosa (12:00), e a partir do dia 3, ocorreu uma

menor concentração em relação às 08:00. Esta tendência foi melhor observada quando foram relacionados os dados das Figuras 18B e 14A, sendo que o teor de clorofila  $\alpha$  foi maior em horários de baixa luminosidade e foi menor quando a incidência luminosa foi maior, como no horário do meio-dia.

Além disso, a partir das variações no dia (Figura 18B), foi observado uma rápida mudança na concentração de pigmentos em poucas horas, indicando uma aclimatação eficiente sob as variações de luminosidade, sendo o mesmo perfil observado em experimentos de Grobbelaar, et al. (1995), igualmente em Sistemas Laminares. Os resultados apresentados na Figura 18A sugerem que esta aclimatação também foi bastante rápida em relação à concentração de carotenoides.

Figura 18 - Concentração de Carotenoides totais na biomassa (mg/g) (A), Concentração de Clorofila  $\alpha$  na biomassa (B).



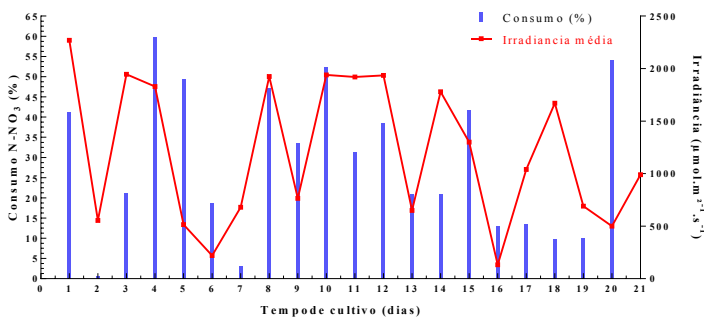
Fonte: Desenvolvido pelo autor

#### 4.6 Consumo de Nitrogênio em relação à iluminação

O consumo de nitrogênio foi calculado a partir da diferença medida às 08:00 em relação à concentração inicial deste

composto no meio de cultura. Conforme pode ser visualizado na Figura 19, o consumo de nitrogênio não foi 100% em nenhum dia do cultivo, mostrando que não houve falta deste nutriente. Na Figura 19 é apresentada a relação entre as porcentagens de consumo de nitrogênio e as irradiações médias de cada dia. Pode-se observar uma tendência de maior consumo de nitrogênio quando a cultura foi exposta a alta irradiação solar.

Figura 19 - Consumo de N-NO<sub>3</sub> em porcentagem correlacionado com a Irradiância média dos dias de cultivo.

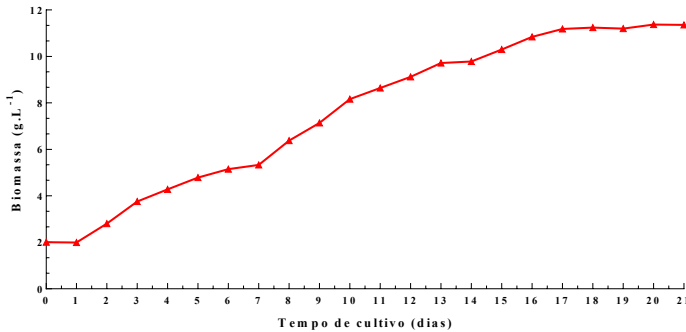


Fonte: Desenvolvido pelo autor

#### 4.7 Concentração de Biomassa (peso seco)

Neste trabalho a concentração máxima de biomassa (peso seco) foi 11,36 g.L<sup>-1</sup>, que foi alcançada no SLCA, em batelada alimentada, em 22 dias de cultivo. Como pode ser visto na Figura 20, a concentração de biomassa ao longo do cultivo mostrou um aumento linear e, a partir do dia 17, pode-se observar uma diminuição no crescimento linear. A partir deste dia, a cultura teve estabilizada a concentração de biomassa, portanto alcançou a fase estacionária do cultivo.

Figura 20 - Biomassa (em peso seco,  $\text{g.L}^{-1}$ ) no SLCA ao longo dos 22 dias de cultivo.

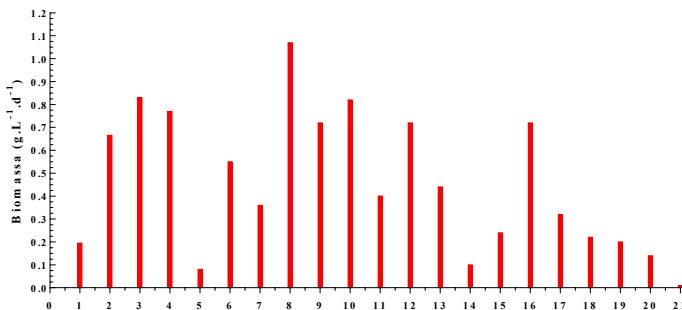


Fonte: Desenvolvido pelo autor

#### 4.8 Produtividade Volumétrica / Ganho em biomassa na Fase Iluminada / Perda noturna em biomassa

A produtividade volumétrica média do cultivo foi de  $0,5 \text{ g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ . Na Figura 21 é apresentada a produtividade volumétrica por dia, com valores que variaram de  $0,1 \text{ g.L}^{-1}$  a  $1,07 \text{ g.L}^{-1}$ , sendo que este valor é definido pela biomassa produzida durante o dia (ganho em biomassa na fase iluminada) menos a biomassa perdida durante a noite (perda noturna em biomassa).

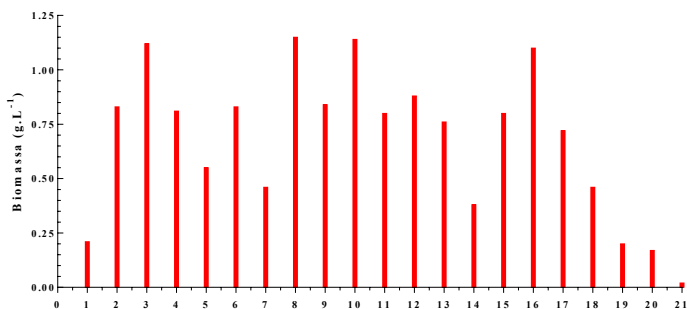
Figura 21 - Produtividade Volumétrica ( $\text{g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ).



Fonte: Desenvolvido pelo autor

Os perfis variados na produtividade volumétrica foram causados pela variação desordenada da temperatura durante a noite e da irradiação incidente na superfície do cultivo durante o dia. Na Figura 22 é apresentado o ganho em biomassa na fase clara (durante o dia), entre 08:00 e 18:00.

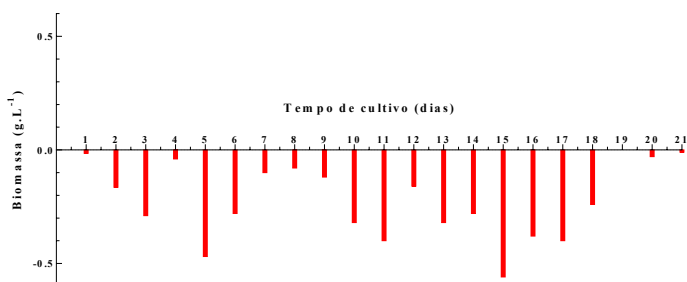
Figura 22 - Ganho diário em biomassa no período entre 08:00 e 18:00.



Fonte: Desenvolvido pelo autor

Na Figura 23 são apresentados os valores da perda noturna em biomassa, sendo que a maior perda noturna foi de 7%, coincidindo com valores em outros estudos com *Scenedesmus obliquus* em reatores de placa, que atingiram uma perda noturna de 6% em temperaturas noturnas de 5 °C (HINDERSIN, et al. 2014).

Figura 23 - Perda noturna em biomassa entre 18:00 e 08:00.

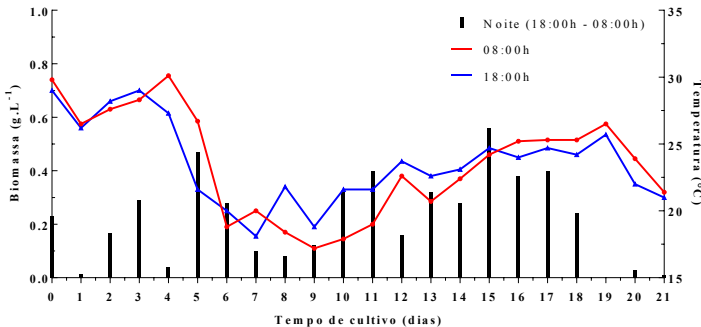


Fonte: Desenvolvido pelo autor

Entretanto, foi possível observar (Figura 24) que as menores perdas noturnas em biomassa estão relacionadas à baixa

temperatura registrada em alguns momentos do cultivo. A partir do dia 6 foi observada uma menor temperatura ao final e no início do dia, sendo que neste período a cultura apresentou uma menor perda em biomassa, continuando com este mesmo perfil durante cinco dias. Com o aumento da temperatura durante a noite foi observado um aumento nos valores na perda em biomassa.

Figura 24 - Perda noturna em biomassa ( $\text{g.L}^{-1}$ ) correlacionada com a irradiância às 18:00 (fim da tarde) e às 08:00 (início da manhã), durante o cultivo.



Fonte: Desenvolvido pelo autor

#### 4.9 Produtividade por Área

A produtividade máxima por área ( $10,7 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ ) obtida no SLCA é apresentada na Tabela 2. Figueroa (2013) comparou a produtividade de dois SLCA com as mesmas características do sistema de Masojidek, et al. (2011), variando a S/V em 100 e 135  $\text{m}^{-1}$ , com produtividades de 14 e 18  $\text{g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ , respectivamente. A produtividade alcançada no primeiro sistema demonstrou ser inferior àquela do segundo, mostrando que a relação de superfície:volume tendencia a uma maior produtividade. No entanto, apesar de que neste trabalho o sistema possuir um S/V 64% menor do que aquela utilizada por Masojidek, et al. (2011), este gerou apenas 42% a menos de produtividade.

Na Tabela 2 também são apresentados dados comparativos (de outros autores) com os dados deste trabalho. É possível destacar que alguns sistemas (MASOJIDEK, et al. 2011; DOUCHA, 2006) possuem uma S/V em torno de 50% e que também possuem 50% a mais de produtividade em relação ao realizado neste trabalho, isto demonstra que o SLCA avaliado



neste trabalho apresenta valores de produtividade e S/V proporcionais ao citados anteriormente. Ainda, o SLCA estudado destaca-se sobre outros trabalhos (DOUCHA, 2005; GROBBELAAR, et al. 1995; TORZILLO, et al. 2010), atingindo maiores valores de produção mesmo com menores relações de superfície e volume.

Além, de que as condições ambientais (iluminação e temperatura, por exemplo), são diferentes nos cultivos referenciados na Tabela 2 em relação a este estudo, no qual possam interferir nos perfis de produção e produtividade do sistema.

Supõe-se que cultivos no SLCA localizado no Laboratório de Cultivo de Algas possam gerar diferentes concentrações de biomassas e produtividades em cultivos em outras épocas dos anos, bem como, com outras espécies de microalgas. A partir destas observações, alguns pontos são levantados de que produtividades de biomassa mais elevadas são esperadas em sistemas com relações de S/V maiores, já concluídas anteriormente por Masojidek, et al. (2011), Figueroa (2013), Grobbelaar (1989) e Janssen, et al. (2000).

Tabela 2 - Comparação de Sistemas Laminares de Cultivo de Algas (SLCA). Área de cultivo (A, m<sup>2</sup>), volume de cultivo (V, L), relação S/V (m<sup>-1</sup>), produtividade por área (PA, g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup>), produtividade volumétrica (PV, g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>) e concentração de biomassa (g.L<sup>-1</sup>) final.

A	V	*S/V	PA	PV	C	Referência
6,2	130	48	10,7	0,52	11,4	Neste estudo
224	2.000	112	23,5	2,32	44,0	Doucha (2006)
224	2.550	88	15,0	0,59	8,3	Grobbelaar et al. (1995)
55	400	138	22,6			Doucha (2005)
24	225	107	18,7	2,71	46,0	Masojidek et al. (2011)
32	300	107	45,0	1,20	26,4	Morales-Amaral et al. (2015)
5	110	45	5,8	0,18	1,8	Torzillo et al. (2010)

$$*S/V = A (m^2)/V(m^3)$$

Fonte: Desenvolvido pelo autor

## 5 CONCLUSÕES

Os fatores ambientais luz e temperatura apresentaram relação com o cultivo, que levou a diferentes perfis de produtividade no Sistema Laminar de Cultivo de Algas. A temperatura da cultura durante a noite foi baixa, chegando a 17°C. Esta baixa temperatura provocou menores perdas em biomassa durante a noite.

As condições de cultivo empregadas neste trabalho, como a disponibilidade de CO<sub>2</sub> e de nutrientes, não causaram limitações no cultivo, uma vez que estes foram constantemente suplementados. O pH também não demonstrou ser um fator limitante no presente estudo devido ao controle através da adição de CO<sub>2</sub>, permitindo manter o pH entre 8,3 e 8,7.

Quando os parâmetros citados acima não influenciaram negativamente o cultivo, inclusive a temperatura, presume-se de que a irradiância tenha sido absorvida no decorrer do aumento da densidade da cultura. Portanto, mesmo com valores mínimos de irradiância necessários para haver atividade fotossintética e síntese de carbono, a coluna d'água de 10 mm ainda pode ter atuado de modo que a iluminação tenha se tornado limitante.

A produção de algas no SLCA alcançou a concentração 11,38 g.l<sup>-1</sup> (biomassa seca), produtividade volumétrica de 0,51 g.l<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup> e produtividade por área de 10,7g.m<sup>-2</sup>.d<sup>-1</sup> numa relação S/V de 48 m<sup>-1</sup>, demonstrando resultados positivos semelhante a outros sistemas laminares de cultivo quando comparado a Doucha (2005), Grobbelaar, et al. (1995) e Torzillo, et al. (2010). Além de que o sistema estudado obteve valores proporcionais de produtividade em relação à Masojidek, et al. (2011) e Doucha (2006).

Assim, o Sistema Laminar de Cultivo de Algas destacou-se positivamente em comparação com outros cultivos desenvolvidos em sistemas abertos e demais SLCAs reportados na literatura, resultando numa boa perspectiva para o uso desta tecnologia de cultivo para a produção de biomassa microalgal, uma vez que este sistema necessita de menor volume de água e de menor área, além de permitir que sejam alcançadas grande biomassa e elevada produtividade.

## 6 PERSPECTIVAS FUTURAS

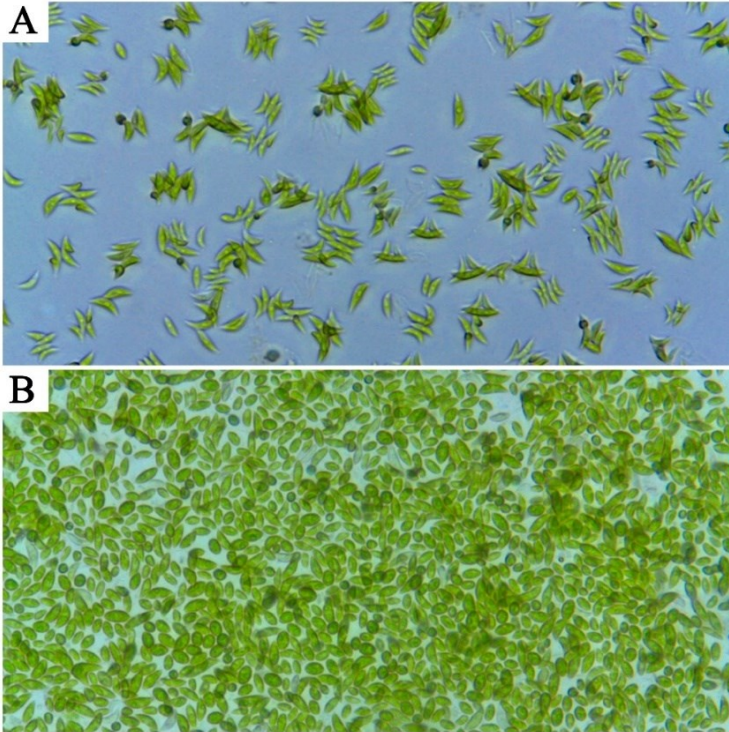
Um dos pontos de maior importância no cultivo de microalgas é a disponibilidade de carbono na cultura, entretanto, este insumo é o de maior custo na produção de microalgas (KADAM, 1997) e, para diminuir este gasto existem algumas alternativas de fontes de carbono. O carbono utilizado neste trabalho foi de fonte inorgânica, proveniente de cilindros contendo CO<sub>2</sub> pressurizado, o que pode tornar muito custoso o uso desta fonte de carbono em cultivos de larga escala. Uma forma de substituir esta fonte de carbono pode ser a utilização de CH<sub>4</sub> provindo da biodigestão de gases a partir da biodigestão de matéria orgânica. Esta fonte de carbono tem se destacado positivamente em cultivos de maior escala. Trabalhos de Doucha et al. (2008) demonstraram que o uso de CH<sub>4</sub>, em concentrações de 13% (v/v), a partir da biodigestão de resíduos municipais, em cultivos de *Chlorella vulgaris* apresentaram uma produtividade diária em biomassa volumétrica de 2,5 g.L<sup>-1</sup>.d<sup>-1</sup>, assim, demonstrando ser uma promissora fonte de carbono em cultivos microalgais.

Outro ponto notável no decorrer do experimento foi observar em microscópio óptico a mudança na morfologia das células da microalga *Scenedesmus obliquus*, sendo que, originalmente esta espécie apresenta a formação de cenóbios (LÜRLING, 1999) e forma de lua. Na Figura 25A é possível observar que há presença de cenóbios e o formato da célula em “lua” no primeiro dia de cultivo no SLCA, porém, na Figura 25B é apresentada a situação das células ao final do experimento, demonstrando que houve aumento no número de células, houve ausência de cenóbios e o formato de lua não foi notado.

A partir destas imagens segere-se de que a ausência de cenóbios e o formato de lua podem ter sido causados pelo efeito de cisalhamento, induzido pela alta pressão causada pelo rotor fechado da bomba de circulação. Não há como saber o efeito deste processo na produtividade da microalga, , Mirón et al. (2003) avaliaram apenas o efeito do borbulhamento de ar no cultivo de *Phaedactylum tricorutum*, e demonstraram que houve um dano causado às células e o conseqüente estresse celular. Assim, no intuito de mitigar este possível estresse causado durante o cultivo pelo bombeamento hidráulico, seria

recomendado o uso de uma bomba de baixa pressão equipada com rotor aberto.

Figura 25 - Visualização em microscópio óptico da microalga *Scenedesmus obliquus* no início do cultivo (A) e ao final do cultivo (B) no SLCA.

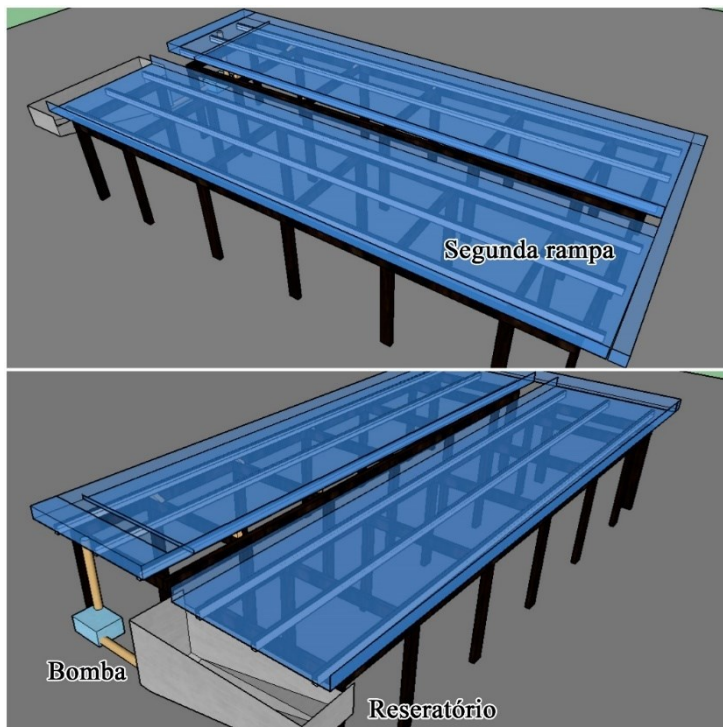


Fonte: Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) – UFSC

Após a conclusão dos resultados positivos obtidos no Sistema Laminar de Cultivo de Algas avaliado neste trabalho, que permitiu alcançar valores de produtividade proporcionais e também maiores do que aqueles de outros cultivos (DOUCHA, 2005; GROBBELAAR, et al., 1995; TORZILLO, et al. 2010; MASOJIDEK, et al, 2011; DOUCHA, 2006), comparando a relação de superfície e volume (S/V). Portanto, em estudos posteriores sugere-se um aumento da área de superfície de cultivo, com a adição de uma segunda rampa inclinada, juntamente na modificação do reservatório (operado com volume

mínimo) e diminuição da tubulação de sucção e recalque (circulação), como sugerido na Figura 26. Todos estes itens são indicados justamente para permitir uma diminuição na porcentagem do volume morto e um aumento na razão superfície/volume.

Figura 26 – Projeção sugerindo um novo Sistema Laminar de Cultivo de Algas. Desenho realizado em software SketchUp® 2016 em três dimensões.



Fonte: Henrique Cesar Venâncio (2016)

Após a projeção de um novo sistema será possível obter valores aproximados de volume morto, volume total de cultivo e a relação S/V. Conforme apresentado na Tabela 3, é possível observar os valores dos parâmetros anteriormente citados, sendo que, quando utilizada o novo desenho do SLCA obtemos uma diminuição notável do volume morto de 37% do sistema atual para 18% e maior S/V saindo de  $48 \text{ m}^{-1}$  e atingindo o valor de  $70 \text{ m}^{-1}$ . Isto devido à diminuição do volume do reservatório,

ausência de pré-filtro da bomba hidráulica e diminuição considerável da tubulação de recalque e sucção. Assim, possível é esperado um aumento na produtividade por área do sistema.

Também é destacado na Tabela 3 a variação da coluna d'água e seus respectivos S/Vs. No item V 6 mm e V 15 mm estes obtêm valores de  $48 \text{ m}^{-1}$  e  $104 \text{ m}^{-1}$ , desta forma apenas a mudança em alguns milímetros na coluna d'água é possível dobrar os valores em relação ao sistema laminar deste trabalho.

Tabela 3 - Especificações de cada seção do Sistema Laminar de Cultivo de Algas em área (A,  $\text{m}^2$ ), volume (V, L), zona escura (L) e zona morta (%) em comparação com a área (A Nova,  $\text{m}^2$ ) e volume (V Nova, L) do novo sistema sugerido na Figura 26. Sistema operado com coluna d'água de 15 mm (V 15 mm) e 6 mm (V 6 mm).

Seções	A	V	A Nova	V Nova	V 15mm	V 6mm
Represa	0,5	24	0,5	24	24	24
Superfície de cultivo	5,8	58	12	120	180	72
*Reservatório		31		31	50	20
<b>Calha</b>			0,002	2,3	2,3	2,3
Tubulação		13		2	2	2
Pré-filtro bomba		4		0	0	0
**Volume morto		48		33	52	22
***		37%		18%	20%	18%
<b>Volume total da unidade</b>		130		179	258	120
<b>S/V</b>		48		70	48	104

\*Volume de reservatório = V (retângulo) + V (Triângulo retângulo)

\*\*Volume morto = V (reservatório + tubulação + pré-filtro)

\*\*\*Volume morto = V (volume morto) / V (total da unidade) x 100

Fonte: Desenvolvido pelo autor

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAIN, A.; MARCEL, C. **Manuel des analyses chimiques en milieu marin préparé**. França: Cnexo. Brest. 395 p. 1983.

APHA. American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **21<sup>o</sup>ed**, n. 1, p. 1085, 2005.

BRÁNYIKOVÁ, I. et al. Microalgae novel highly efficient starch producers. **Biotechnology and bioengineering**, v. 108, n. 4, p. 76-766, abr. 2011.

CARBALLO-CARDENAS, E. C. et al. Vitamin E (a-tocopherol) production by the marine microalgae *Dunaliella tertiolecta* and *Tetraselmis suecica* in batch cultivation. **Biomolecular Engineering**, v. 20, n. 4-6, p. 139–147, 2003.

CHEN, C. Y. et al. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71–81, 2011.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 126–131, 2008.

CHOW, V. T. Development of Uniform Flow and it's Formulas. In: CHOW, V. T. **Open-Channel Hydraulics**. Illionois: Mcgraw-hill Book Compacny, Inc., 1959. Cap. 5. p. 89-127.

DE MARCHIN, T.; ERPICUM, M.; FRANCK, F. Photosynthesis of *Scenedesmus obliquus* in outdoor open thin-layer cascade system in high and low CO<sub>2</sub> in Belgium. **Journal of Biotechnology**, v. 215, p. 2–12, dez. 2015.

DEMIRBAS, A. Use of algae as biofuel sources. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 12, p. 2738–2749, 2010.

DOUCHA, J. et al. Microalgae as a Means for Converting Flue Gas CO<sub>2</sub> Into Biomass With a High Content of Starch. **International Conference and Exhibition on Bioenergy**. April, 2008.

DOUCHA, J. D.; LÍVANSKÝ, K. High Density Outdoor Microalgal Culture. **Algal Biorefineries: Volume 1: Cultivation of Cells and Products**, p. 1–324, 2014.

DOUCHA, J.; LÍVANSKÝ, K. Novel outdoor thin-layer high density microalgal culture system: Productivity and operational parameters. **Algological Studies**, v. 76, n. Fevereiro, p. 129–147, 1995.

DOUCHA, J.; LÍVANSKÝ, K. Outdoor open thin-layer microalgal photobioreactor: Potential productivity. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 1, p. 111–117, 2009.

DOUCHA, J.; LÍVANSKÝ, K. Productivity, CO<sub>2</sub>/O<sub>2</sub> exchange and hydraulics in outdoor open high density microalgal (*Chlorella* sp.) photobioreactors operated in a Middle and Southern European climate. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, n. 6, p. 811–826, 2006.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LÍVANSKÝ, K. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor. **Journal of Applied Phycology**, v. 17, n. 5, p. 403–412, 2005.

FIGUEROA, F. L.; JEREZ, C. G.; KORBEE, N. Use of in vivo chlorophyll fluorescence to estimate photosynthetic activity and biomass productivity in microalgae grown in different culture systems. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 41, n. 5, p. 801–819, 2013.

GARCÍA-CASAL, M. N. et al. Antioxidant capacity, polyphenol content and iron bioavailability from algae (*Ulva* sp., *Sargassum* sp. and *Porphyra* sp.) in human subjects. **The British journal of nutrition**, v. 101, n. 1, p. 79–85, 2009.

GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 269–274, 2009.

GRIFFITHS, M. J.; HARRISON, S. T. L. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 5, p. 493–507, 2009.

GROBBELAAR, J. U. et al. Variation in some photosynthetic characteristics of microalgae cultured in outdoor thin-layered



sloping reactors. **Journal of Applied Phycology**, v. 7, n. 2, p. 175–184, 1995.

GROBBELAAR, J. U.; SOEDER, C. J.; STENGEL, E. Modeling algal productivity in large outdoor cultures and waste treatment systems. **Biomass**, v. 21, n. 4, p. 297–314, 1990.

GROBBELAAR, J. U. Do light/dark cycles of medium frequency enhance phytoplankton productivity? **Journal of Applied Phycology**, v. 1, n. 4, p. 333–340, 1989.

HINDERSIN, S. et al. Key parameters for outdoor biomass production of *Scenedesmus obliquus* in solar tracked photobioreactors. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 6, p. 2315–2325, fev. 2014.

JACOB, A.; BUCHARSKY, E. C.; GUENTERSCHELL, K. The Application of Transparent Glass Sponge for Improvement of Light Distribution in Photobioreactors. **Journal of Bioprocessing & Biotechniques**, v. 02, n. 01, p. 1–8, 2012.

JANSSEN, M. et al. Efficiency of light utilization of *Chlamydomonas reinhardtii* under medium-duration light/dark cycles. **Journal of Biotechnology**, v. 78, n. 2, p. 123–137, 2000.

JEREZ, C. G. et al. Hydrodynamics and photosynthesis performance of *Chlorella fusca* (Chlorophyta) grown in a thin-layer cascade (TLC) system. **Aquatic Biology**, v. 22, p. 111–122, 2014.

JUNEJA, A.; CEBALLOS, R. M.; MURTHY, G. S. Effects of environmental factors and nutrient availability on the biochemical composition of algae for biofuels production: A review. **Energies**, v. 6, n. 9, p. 4607–4638, 2013.

KADAM, K. L. Power plant flue gas as a source of [CO<sub>2</sub>] for microalgae cultivation: Economic impact of different process options. **Energy Conversion and Management**, v. 38, p. 505–510, 1997.

KUNJAPUR, A. M.; ELDRIDGE, R. B. Photobioreactor Design for Commercial Biofuel Production from Microalgae. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 8, p. 3516–3526, 2010.

KÜTZING, F. T. **Synopsis Diatomearum, oder, Versuch einer systematischen Zusammenstellung der Diatomeen.** Berlin, p. 529 – 634, 1833.

LIFFMAN, K. et al. Comparing the energy efficiency of different high rate algal raceway pond designs using computational fluid dynamics. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 91, n. 2, p. 221–226, 2013.

LIU, Z.-Y.; WANG, G.-C.; ZHOU, B.-C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 11, p. 4717–4722, 2008.

LÜRLING, M.; BEEKMAN, W. Grazer-induced defenses in *Scenedesmus* (Chlorococcales; Chlorophyceae): coenobium and spine formation. **Phycologia**, v. 38, n. 5, p. 368–376, 1999.

MALCATA, F. X. Microalgae and biofuels: A promising partnership? **Trends in Biotechnology**, v. 29, n. 11, p. 542–549, 2011.

MANNING R. On the flow of water in open channels and pipes. **Transactions of the Institution of Civil Engineers of Ireland**, v. 20, p. 161-207, 1891.

MASOJÍDEK, J. et al. Productivity correlated to photobiochemical performance of *Chlorella* mass cultures grown outdoors in thin-layer cascades. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 38, n. 2, p. 307–317, 2011.

MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G. Mass Cultivation of Freshwater Microalgae. In: **Earth Systems and Environmental Sciences, Elsevier**. 2. ed, 13 p, 2014.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217–232, 2010.

MATTOS, E. R. et al. Enhancement of biomass production in *Scenedesmus bijuga* high-density culture using weakly absorbed green light. **Biomass and Bioenergy**, v. 81, p. 473–478, out. 2015.

MIRANDA, J. R.; PASSARINHO, P. C.; GOUVEIA, L. Pre-treatment optimization of *Scenedesmus obliquus* microalga for

bioethanol production. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 342–348, 2012.

MIRÓN, A. S. et al. Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors.

**Biochemical Engineering Journal**, v. 16, n. 3, p. 287–297, dez. 2003.

MORALES-AMARAL, M. DEL M. et al. Outdoor production of *Scenedesmus* sp. in thin-layer and raceway reactors using centrate from anaerobic digestion as the sole nutrient source. **Algal Research**, v. 12, p. 99–108, nov. 2015.

NICHOLS, H.W. Growth media – freshwater. In: STEIN, J.R. **Handbook of Phycolgical Methods: Culture Methods and Growth Measurements**. Cambridge: Cambridge University Press, 1973. Cap. 1. p. 7-24.

OJAMÄE, K. **Growth physiology and photosynthetic performance of green microalgae mass culture grown in a thin-layer cascade**. 2011. 42 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Biologia, Departamento de Botânica, Universidade de Tartu, Tartu, 2011.

PALOMINO, M; ESTRADA, F.C; LOPEZ, G.J. Microalgas: potencial para la producción de biodiesel. In: IV Congresso brasileiro de mamona e I Simpósio internacional de oleaginosas energéticas, 1., 2010, João Pessoa. **Inclusão Social e Energia: Anais**. Campina Grande: Embrapa Algodão. v. 1, p. 149 – 157, 2010.

PARK, J. B. K.; CRAGGS, R. J.; SHILTON, A. N. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 35–42, 2011.

PULZ, O.; SCHEIBENBOGEN, K. Photobioreactors : Design and Performance with Respect to Light Energy Input. **Advances in Biochemical Engineering/Biotechnology**, v. 59, p. 123–152, 1998.

QUEVEDO, C.; MORALES, S. P.; ACOSTA, A. Crecimiento de *Scenedesmus* sp. em diferentes médios de cultivo para la producción de proteína microalgal. **VitaeRevista De La Facultad De Química Farmaceutica**, v. 15, p. 25–31, 2008.

- RICHMOND, A. A prerequisite for industrial microalga culture efficient utilization of solar irradiation. **Algal Biotechnology**, p. 237–244, 1988.
- RICHMOND, A. Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology/edited by Amos Richmond. **Orton.Catie.Ac.Cr**, p. 472, 2004.
- RICHMOND, A. Microalgal biotechnology at the turn of the millennium: A personal view. **Journal of Applied Phycology**, v. 12, n. 3-5, p. 441–451, 2000.
- SETLÍK, I.; SUST, V.; MÁLEK, I. Dual Purpose Open Circulation Units for Large Scale Culture of Algae in Temperate Zones. I. Basic Design Considerations and Scheme of a Pilot Plant. **Algological Studies/Archiv für Hydrobiologie, Supplement Volumes**, v. 1, p. 111–164, 1970.
- SMITH, V. H. et al. The ecology of algal biodiesel production. **Trends in Ecology & Evolution**, v. 25, n. 5, p. 301–309, 2010.
- TORZILLO, G. et al. A two-plane tubular photobioreactor for outdoor culture of Spirulina. **Biotechnology and bioengineering**, v. 42, n. 7, p. 891–898, 1993.
- TORZILLO, G. et al. Biological constraints in algal biotechnology. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 8, n. 6, p. 338–348, 2003.
- TORZILLO, G. et al. Microalgae culturing in thin-layer photobioreactors. **Chemical Engineering Transactions**, v. 20, p. 265–270, 2010.
- TREDICI, M.R. Mass Production of Microalgae: Photobioreactors. In: **Handbook of Microalgal Culture**. p. 178–214, 2004.
- UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 10, p. 4021–4028, 2008.
- VONSHAK, A. Outdoor mass production of Spirulina: the basic concept. **Spirulina platensis (Arthrospira): physiology, cell**

**biology and biotechnology.** London: Taylor & Francis, p. 43-66, 1997.

WILLIAMS, P. J. L. B.; LAURENS, L. M. L. Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. **Energy & Environmental Science**, v. 3, n. 5, p. 554, 2010.

ZAPPI, M. E.; PROKOP, A.; K. BAJPAI, R. **Algal Biorefineries Volume 2: Products and Refinery Design.** Springer International Publishing, v. 2, p. 557, 2015.