

MARCO DELLIAN ZANETTA

**Desenvolvimento de fotobiorreatores tipo *Flat Panel* para o cultivo
superintensivo de microalgas**

Dissertação submetida ao Programa de Pós-graduação em Aquicultura da Universidade Federal de Santa Catarina para a obtenção do Grau de Mestre em Aquicultura.

Orientador: Roberto Bianchini Derner, Dr.
Coorientadora: Mônica Yumi Tsuzuki, Dra.

Florianópolis
2018

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

Zanetta, Marco Dellian

Desenvolvimento de fotobiorreatores tipo Flat
Panel para o cultivo superintensivo de microalgas /
Marco Dellian Zanetta ; orientador, Roberto
Bianchini Derner, coorientadora, Mônica Yumi
Tsuzuki, 2018.

58 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de
Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias,
Programa de Pós-Graduação em Aquicultura,
Florianópolis, 2018.

Inclui referências.

1. Aquicultura. 2. Transferência de massa. 3.
Passo óptico. 4. Flat Panel. I. Derner, Roberto
Bianchini . II. Tsuzuki, Mônica Yumi . III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura. IV. Título.

**Desenvolvimento de fotobiorreatores tipo *Flat Panel* para o cultivo
superintensivo de microalgas**

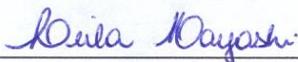
Por

MARCO DELLIAN ZANETTA

Esta dissertação foi julgada adequada para a obtenção do título de

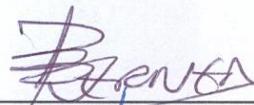
MESTRE EM AQUICULTURA

e aprovada em sua forma final pelo Programa de
Pós-Graduação em Aquicultura.



Prof. Leila Hayashi, Dra.
Coordenadora do PPG em Aquicultura

Banca Examinadora:



Dr. Roberto Bianchini Derner – *Orientador*



Dr. Felipe do Nascimento Vieira - UFSC



Dra. Katt Regina Lapa - UFSC

AGRADECIMENTOS

À minha família, especialmente meus pais Ricardo e Helena, por conseguirem transmitir todo o carinho e amor que um filho necessita, nos momentos bons e ruins.

Aos colegas que tive feliz oportunidade de conhecer, onde a troca de conhecimento e brincadeiras fez com que tudo se tornasse mais leve.

Ao meu orientador, Roberto Bianchini Derner, por todo ensinamento passado, não somente acadêmico, mas também de vida.

Ao grupo de alunos e pesquisadores do LCA, pois sem o apoio de cada integrante desta família, seria muito difícil chegar a este momento.

Aos meus amigos, por entenderem e apoiarem quando precisava me dedicar aos estudos, mas principalmente estarem presentes nos momentos de diversão.

Ao Programa de Pós-Graduação, pela oportunidade e por todo auxílio prestado.

À Capes, pela bolsa de estudos para execução deste trabalho.

RESUMO

Com o objetivo de estabelecer um sistema superintensivo para o cultivo de microalgas, foi planejado e implantado um conjunto de Fotobiorreatores (FBR) do tipo *Flat Panel* (FP). Para isto, foram construídas duas estruturas metálicas, onde foram instaladas telas metálicas para dar suporte aos FBR-FP. Cada estrutura metálica tinha capacidade para suportar até quatro FBR-FP, que consistiram de sacos plásticos com dimensões de 2,30 m x 0,75 m x 0,1 m (altura, largura e espessura) e volume útil de 150 L. Para a operação dos FBR-FP foram instalados um sistema de aeração com filtros e reguladores de pressão e fluxo e um sistema automatizado de controle do pH e da temperatura, além de redes de distribuição de ar comprimido e de injeção de CO₂ em alta pressão. Para o início da operação dos FBR-FP foi definida a taxa de aeração em 0,067 vvm (10 L min⁻¹), o coeficiente global de transferência de massa ($K_{La}(O_2)$) do sistema (gás-líquido) em 54,29 h⁻¹, e empregada irradiância de 400 μmol de fótons m⁻² s⁻¹, adequada para o cultivo da microalga *Nannochloropsis oculata*, utilizada nos cultivos. O experimento consistiu na variação da relação da superfície iluminada pelo volume da cultura (S/V), sendo: iluminação apenas por um lado do FBR-FP, apresentando S/V de 10,5 m⁻¹; e iluminação pelos dois lados do FBR-FP, com S/V correspondente a 21,0 m⁻¹. Ao final de 264 h (11 dias) foi obtida uma biomassa de 1,91 ± 0,15 g L⁻¹ no tratamento S/V 21,0 m⁻¹ e 1,13 ± 0,08 g L⁻¹ com o emprego da S/V 10,5 m⁻¹. Os resultados apontaram que é possível alcançar elevada produtividade em culturas com maior exposição das células algais a luz, com controle e segurança.

Palavras-chave: Aquicultura. Transferência de massa. Passo óptico. *Flat Panel*.

ABSTRACT

In order to establish a super intensive system for microalgae cultivation, a set of Flat Panel (FP) Photobioreactors (PBR) was planned and implemented. To do so, two metal structures were constructed, where metallic screens were installed to support the PBR-FP. Each metal structure had the capacity to support up to four PBR-FPs, which consisted of plastic bags with dimensions of 2.30 m x 0.75 m x 0.1 m (height, width and thickness) and useful volume of 150 L. To operate the PBR-FP, an aeration system was installed with filters and pressure and flow regulators, an automated pH and temperature control system, as well as compressed air distribution networks and high-pressure CO₂ injection. To start operating the PBR-FP, the aeration rate was set at 0.067 vvm (10 L min⁻¹), the overall mass transfer coefficient ($K_{La} (O_2)$) of the system (gas-liquid) at 54.29 h⁻¹, and irradiated with 400 μmol of photons m⁻² s⁻¹, suitable for the cultivation of the microalga *Nannochloropsis oculata*, used in the cultures. The experiment consisted in the variation of the relation of the surface illuminated by the volume of the culture (S/V), being: illumination only on one side of the PBR-FP, presenting S/V of 10.5 m⁻¹; and illumination on both sides of the PBR-FP, with S/V corresponding to 21.0 m⁻¹. At the end of 264 h (11 days) a biomass of 1.91 ±0.15 g L⁻¹ was obtained in the S/V treatment 21.0 m⁻¹ and 1.13 ±0.08 g L⁻¹ with the of the S/V 10.5 m⁻¹. The results showed that it is possible to achieve high productivity in cultures with greater exposure of algal cells to light, with control and safety.

Keywords: Aquaculture. Mass transfer. Optical path. Flat Panel.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Sistemas abertos de cultivo de microalgas.	20
Figura 2 - Fotobiorreator Tubular, Algomed (Alemanha).....	24
Figura 3 - Fotobiorreator tipo Flat Panel, Subitec (Alemanha).	25
Figura 4 - Fotobiorreator de coluna vertical, LCA (Brasil).....	26
Figura 5 - Desenho estrutural de um dos FBR-FP.	34
Figura 6 - Conjunto de FBR-FP instalados.	34
Figura 7 - Desenho esquemático de um FBR-FP (vista lateral).	36
Figura 8 - Gráfico do $K_{La}(O_2)$ do FBR-FP em função de diferentes taxas de aeração.....	40
Figura 9 - Coeficiente de extinção da luz no interior do FBR-FP em função da concentração de biomassa. (▲) 0,21 g L ⁻¹ ; (■) 0,34 g L ⁻¹ ; (◆) 0,51 g L ⁻¹	41
Figura 10 - Curvas de crescimento em densidade celular nas culturas da microalga <i>Nannochloropsis oculata</i> no FBR-FP.....	42
Figura 11 - Curvas de crescimento de <i>N. oculata</i> em biomassa sob diferentes relações S/V.....	43
Figura 12 - Temperatura média das culturas desenvolvidas nos FBR-FP empregando as relações S/V 21,0 m ⁻¹ e 10,5 m ⁻¹	45
Figura 13 - Variação do pH ao longo do experimento.	46

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Empresas de produção de microalgas que empregam sistemas abertos.....	21
Tabela 2 - Características de sistemas abertos e fechados.....	27
Tabela 3 - Composição do Meio LCA-AM (baseado no Meio Conway).....	39
Tabela 4 - Biomassa máxima alcançada (Bmax), Produtividade total em biomassa (P total) sob diferentes relações S/V no FBR-FP.	44

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	17
1.1	MICROALGAS E SUAS APLICAÇÕES	17
1.2	SISTEMAS DE CULTIVO	20
1.2.1	Sistemas Fechados	22
1.2.1.1	FBR Tubulares	23
1.2.1.2	FBR <i>Flat Panel</i> (FP)	24
1.2.1.3	FBR Coluna vertical	25
1.3	OBJETIVOS	28
1.3.1	Objetivo Geral	28
1.3.2	Objetivos Específicos	28
2	ARTIGO CIENTÍFICO	29
	RESUMO	30
	ABSTRACT	31
2.1	INTRODUÇÃO	32
2.2	MATERIAL E MÉTODOS	33
2.2.1	Fotobiorreator Tipo <i>Flat Panel</i>	33
2.2.1.1	Estrutura	33
2.2.1.2	Sistema de Monitoramento	35
2.2.1.3	Aeração	35
2.2.1.4	Coefficiente Global de Transferência de Massa K_{La}	37
2.2.1.5	Iluminação das culturas	37
2.2.2	Validação do FBR-FP	38
2.3	RESULTADOS E DISCUSSÃO	40
2.3.1	Transferência De Massa (K_{ja})	40
2.3.2	Iluminação	41
2.3.3	FBR-FP com diferentes relações S/V	42
2.3.3.1	Sistema de controle (APEX)	45
2.3.3.1.1	<i>Temperatura</i>	45

2.3.3.1.2 <i>pH</i>	46
2.4 CONCLUSÃO.....	47
REFERÊNCIAS.....	48
REFERENCIAS DA INTRODUÇÃO.....	53

1 INTRODUÇÃO

1.1 MICROALGAS E SUAS APLICAÇÕES

As microalgas fazem parte de um grupo bastante diverso de micro-organismos unicelulares, apresentam clorofila *a* e outros pigmentos fotossintéticos, sendo capazes de realizar a fotossíntese oxigênica (HOEK; MANN; JAHNS, 1995; MULLER-FEUGA, 2000; RAVEN; EVERT; EICHHORN, 2001; CONVERTI et al., 2009). Em ambientes aquáticos as microalgas são à base de diversas cadeias tróficas, portanto, estudos sobre sua produção são muito importantes para compreender suas aplicações na aquicultura, por exemplo. O cultivo comercial de microalgas é uma atividade consolidada por empresas em diversos países, contudo, no Brasil, há muito a ser feito para viabilizar esta atividade (DERNER, 2016).

De modo geral, as microalgas podem se desenvolver em qualquer lugar onde existam três fatores essenciais: umidade, luz e nutrientes. A maioria das espécies de microalgas apresenta elevada razão de crescimento e alta produtividade quando comparadas com culturas agrícolas, por exemplo, necessitando de uma área reduzida para sua produção (CHISTI, 2007).

O interesse que se impõe às microalgas reside no potencial de:

- Reduzir os Gases do Efeito Estufa (GEE), através da biofixação do CO_2 presente nos gases dos processos de combustão industrial (WANG et al., 2008);
- Tratar os efluentes domésticos e industriais, uma vez que as microalgas podem assimilar os nutrientes dissolvidos (NH_4^+ , NO_3^- , PO_4^{3-}) que seriam encaminhados ao ambiente (WANG et al., 2008);
- A biomassa poder ser empregada para produzir biocombustíveis, adubo orgânico (devido à elevada concentração de N e de P) (WANG et al., 2008);
- Extração de compostos, de acordo com a especificidade de cada microalga, ácidos graxos poli-insaturados, corantes naturais, açúcares, pigmentos antioxidantes, compostos bioativos de alto valor comercial e biomassa (LI et al., 2008; RAJA et al., 2008).

Conforme Ho et al. (2011), a biofixação de CO_2 a partir da produção de biomassa de microalgas é mais ecológica e sustentável

quando comparada a outros processos físico/químicos de remoção de CO₂. Ainda de acordo com os mesmos autores, encontrar microalgas com potencial para rápido crescimento e que sejam produtores de compostos de alto valor econômico fomentaria a viabilidade de sua produção.

De acordo com Borges (2005), o potencial de absorção de CO₂ da microalga *Nannochloropsis oculata* (D.J. HIBBERD, 1981), da Classe Eustigmatophyceae, é a melhor opção, dentre outras 10 espécies estudadas pelo autor, devido à sua maior produção e conteúdo lipídico. Microalgas deste gênero também se destacam por serem produtoras de um importante ácido graxo poli-insaturado essencial, o ácido Eicosapentaenoico (EPA) da família ômega-3 (BROWN et al., 1997; ZITTELLI et al., 1999; ZOU et al., 2000; LOURENÇO, 2006).

Haja vista a contaminação iminente de águas residuárias, estudos apontam as microalgas como um possível agente mitigador dos impactos ambientais causados pelo lançamento indevido dos efluentes nos corpos receptores. Wang e Lan (2011) comprovaram que a microalga *Neochloris oleabundans* é capaz de reduzir consideravelmente as quantidades de nitrato e fosfato encontrados em águas residuárias, produzindo ainda elevada biomassa com grande acúmulo de triglicerídeos, que poderiam ser utilizados para geração de biocombustíveis. Magnotti et al. (2016) afirmam ainda que a utilização da água residual de cultivos intensivos de *L. vannamei* é uma boa alternativa para a produção em biomassa de microalgas, comparando a produção de *N. oculata* e *T. chuii* com meio de cultura f/2, melhorando assim características químicas para posterior descarte ou reutilização do efluente.

Unindo o desejo da redução da emissão de Gases do Efeito Estufa com uma matéria-prima alternativa para a geração de biocombustíveis, a biomassa das microalgas pode ser utilizada para esta finalidade, uma vez que algumas espécies apresentam elevadas produtividades quando comparadas a outras matérias-primas como, por exemplo, soja e palma. Além disso, as microalgas podem ser induzidas a acumular quantidades substanciais de lipídeos, contribuindo para um elevado rendimento em óleo, utilizado na produção de biocombustíveis (KANEL; GUELCHER, 1999; BARCLAY, 2005).

Contudo, a escolha da(s) microalga(s) para utilizar na produção de biocombustíveis deve passar por critérios como: i) Produtividade em biomassa; ii) Conteúdo lipídico (triglicerídeos livres); iii) Resistência a intempéries; iv) Facilidade de separação e processamento da biomassa; v) Valor agregado, com intuito de obter outros produtos químicos valiosos (RICHMOND, 2004).

De acordo com a European Commission (2007), as microalgas vêm sendo alvo de um grande número de consórcios, empresas privadas e públicas em P&D, objetivando a produção eficaz e barata para produção de grandes quantidades de biocombustível.

Além dos estudos relacionados à produção de biocombustíveis, pesquisas recentes tendem a aprimorar o uso da biomassa de microalgas e cianobactérias como matéria-prima para obtenção de princípios bioativos, como anticancerígenos, antimicrobianos e antivirais (TREDICI et al., 2009; MILLEDGE, 2011; SATYANARAYANA et al., 2011).

Além das aplicações anteriormente descritas, conforme Derner et al. (2006), indiscutivelmente e em nível mundial, a aplicação mais importante (em volume) das microalgas é na alimentação de organismos cultivados em aquicultura. De maneira direta, estes micro-organismos desempenham papel essencial na alimentação de moluscos bivalves (mexilhões, ostras, vieiras), no estágio larval de gastrópodes marinhos (abalone) e larvas de camarões peneídeos. De modo indireto, também são utilizados na produção de zooplâncton (rotífero, artêmia), que servem assim para a fase larval carnívora de peixes e camarões (YÚFERA; LUBIÁN, 1990).

A microalga *Nannochloropsis oculata* aparece como uma das espécies cultivadas mais importantes para alimentação do rotífero *Brachionus plicatilis* (ZITTELLI et al., 1999). Galvão et al. (1996) afirmam sua utilização na alimentação de rotíferos por ser uma microalga rica também em ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) n-3 e vitamina B12. Segundo Conceição et al. (2010), o alimento vivo é o principal item na alimentação da larvicultura comercial, sendo, portanto, impossível o desenvolvimento de cultivos comerciais de moluscos, camarões marinhos e de alguns peixes sem o emprego das microalgas (DERNER, 2016).

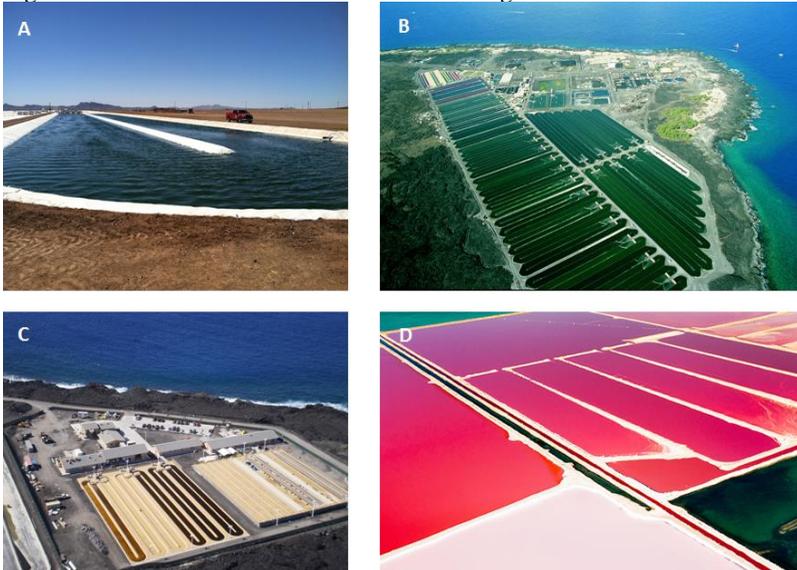
A produção de microalgas para a aquicultura, assim como para os demais fins, tem como gargalo o elevado custo de produção, que envolve desde a implantação dos sistemas até o desenvolvimento do produto e do seu processamento. De acordo com Yúfera e Lubián (1990), para o desenvolvimento na fase de larvicultura dos bivalves, a produção de microalgas compreende em média 30% dos custos operacionais. Portanto, o desenvolvimento de técnicas adequadas de cultivo e de sistemas de cultivo de alta eficiência é essencial para o aperfeiçoamento da produção de microalgas, uma vez que se busca o aumento da sobrevivência dos organismos cultivados, assim como, a redução no custo de produção (DERNER, 2016).

1.2 SISTEMAS DE CULTIVO

A produção de microalgas é usualmente realizada em sistemas de cultivo que podem ser abertos ou fechados, que por sua vez podem ser instalados em ambientes internos (*indoor*) ou externos (*outdoor*) (OZKAN et al., 2012; VASUMATHI et al., 2012). Esses sistemas são classificados de acordo com o seu design, e devem ser adequados aos requisitos específicos das espécies de microalgas cultivadas ou ao produto a ser obtido.

Sistemas abertos são comumente empregados em cultivos comerciais e estes, em geral, apresentam baixos custos de implantação e baixa demanda energética, sendo principalmente aplicáveis onde existe alta disponibilidade de radiação solar e grandes áreas para as instalações dos tanques de cultivo (CHISTI, 2007). Na Figura 1 e na Tabela 1 são apresentadas imagens e informações de algumas das principais empresas que utilizam sistemas abertos.

Figura 1 - Sistemas abertos de cultivo de microalgas.



Fonte: A – Sapphire Energy, Novo México (EUA) (2014); B – Cyanotech, Havaí (EUA) (2018); C – Cellana, Havaí (EUA) (2013); D – BASF, Hutt Lagoon (AUS) (2016).

Tabela 1- Empresas de produção de microalgas que empregam sistemas abertos.

Empresa	Microalgas	Local / Hectares
Sapphire Energy, Inc.	<i>Scenedesmus dimorphus</i> <i>Nannochloropsis</i> spp. <i>Arthrospira platensis</i>	Novo México, EUA, \cong 5
Earthrise Nutritional, LLC (DIC group)	<i>Arthrospira platensis</i>	Califórnia, EUA, \cong 33
Hainan-DIC Microalgae Co., Ltd. (DIC group)	<i>Arthrospira platensis</i>	Hainan, China, \cong 15
Cellana, Inc.	<i>Nannochloropsis</i> spp.	Havaí, EUA \cong 0,7
Cyanotech Co.	<i>Arthrospira platensis</i> <i>Haematococcus pluvialis</i>	Havaí, EUA, \cong 25
BASF (Nutrition & Health division)	<i>Dunalliella salina</i>	Hutt Lagoon, Austrália, \cong 740

Fonte: Adaptado de Maeda et al. (2018).

Apesar dos sistemas abertos serem muito usuais, estes apresentam limitações, como a relativa facilidade de as culturas sofrerem contaminações e o menor controle das condições de cultivo, além de nem todas as microalgas suportarem as mais variadas intempéries (RICHMOND, 1999). Outro fator importante é o autossombreamento, onde as células algais que estão mais próximas da superfície iluminada da cultura provocam sombra naquelas células do interior da cultura, assim, por conta desta redução na passagem da luz não é possível que seja alcançada elevada produtividade (POSTEN, 2009).

Norsker et al. (2011) afirmam que a reduzida produção de biomassa em sistemas abertos, em torno de $0,3 \text{ g L}^{-1}$, ocorre devido à baixa penetração da luz no sistema. Na literatura são apresentadas diferentes concentrações da biomassa em sistemas abertos autotróficos, como: $0,18 \text{ g L}^{-1}$ com a microalga *Chlamydomonas reinhardtii* (BLIFERNEZ-KLASSEN et al., 2012); $0,60 \text{ g L}^{-1}$ com *Chlorella* sp. e $0,40 \text{ g L}^{-1}$ com *Nannochloropsis* sp. (CHEIRSILP; TORPEE, 2012) e $0,80 \text{ g L}^{-1}$ com *Scenedesmus obliquus* (GIRARD et al. 2014). Contudo, podem ser aplicadas técnicas visando aumentar a produtividade nestes

sistemas, como o aumento da relação entre a superfície iluminada e o volume da cultura (Relação S/V), ou até mesmo a melhora da mistura (agitação) do meio de cultura no sistema, podendo alcançar assim elevadas concentrações de biomassa (SUTHERLAND et al., 2014). De toda forma, a otimização da disponibilidade de luz nos sistemas de cultivo, levando ao aumento da relação S/V, é de vital importância para que sejam desenvolvidas culturas de elevada produtividade.

1.2.1 Sistemas Fechados

Sistemas fechados, usualmente denominados fotobiorreatores (FBR), são projetados para superar algumas limitações e potencializar a produtividade: são habitualmente construídos com elevada relação S/V - o que maximiza a exposição das células à luz - permitindo maior controle das condições de cultivo e reduzindo o risco de contaminação, até mesmo de outras microalgas, garantindo o cultivo de cepas específicas (SIERRA et al., 2008; BAHADAR; KHAN, 2013).

A evolução dos FBR ocorreu principalmente em escala laboratorial e, para tornar estes sistemas comerciais, ou seja, a produção de microalgas em larga escala, um dos principais gargalos está no elevado custo de implantação, assim como na dificuldade de escalabilidade dos sistemas (TREDICI et al., 2010). De modo geral, não existe um sistema ótimo padrão para o cultivo de microalgas, uma vez que a escolha de sistemas abertos ou fechados, *indoor* ou *outdoor*, é ditado pelas espécies, pela localização do empreendimento e pelo o produto final que se propõe obter. Entretanto, é possível a otimização de cada sistema, buscando os principais princípios para a produção de microalgas (POSTEN, 2009; TREDICI et al., 2010):

- Mistura eficiente, a fim de evitar gradientes e bioincrustações;
- Transferência de massa elevada ($K_L a$), com a oferta de CO_2 para todo o sistema e eficiente fotossíntese, além de evitar a saturação de O_2 ;
- Elevada relação S/V, a fim de aumentar a produtividade volumétrica;
- Controle da temperatura, pH, CO_2 e nutrientes de acordo com as necessidades de cada espécie;
- Determinação da fase exponencial de crescimento, para determinar o regime de colheita.

De modo geral, nos sistemas fechados, ou FBR, busca-se o desenvolvimento de sistemas que atendam aos requisitos para um melhor desenvolvimento das espécies e, que seja possível escalonar sua produção para nível comercial (TREDICI, 2004; TREDICI et al., 2010).

1.2.1.1 FBR Tubulares

Por conta da capacidade de produção de elevada biomassa quando comparado aos sistemas abertos, os FBR tubulares (Fig. 2), assim como os FBR em painéis, são os mais populares e considerados os mais promissores para o cultivo em áreas externas (BAHADAR; KHAN, 2013).

Entretanto, a baixa transferência de massa gás-líquido é um limitante destes sistemas, que se configura como um problema ainda maior em cultivo em larga escala (UGWU et al., 2008), podendo resultar em fotoinibição, saturação do oxigênio e elevação da temperatura a níveis inapropriados para determinadas espécies de microalgas.

Como consequência da elevação da temperatura destacam-se as bioincrustações, processo de aderência das células algais à parede do sistema que, limitando a passagem de luz, leva à diminuição da atividade fotossintética e conseqüentemente não possibilita que seja alcançado ótimo crescimento das culturas (ARBIB et al., 2013). Em consequência da mistura ineficiente pela baixa transferência de massa, são reportados gradientes de pH, que podem influenciar na disponibilidade de nutrientes, bem como no crescimento microalgal, além de poder influenciar na forma em que o nitrogênio amoniacal se encontra no meio e na presença de O₂ ao longo dos tubos, causando a saturação deste gás (MATA et al., 2010).

Figura 2 - Fotobiorreator Tubular, Algomed (Alemanha).



Fonte: Algomed (2017).

1.2.1.2 FBR *Flat Panel* (FP)

Os fotobiorreatores tipo *Flat Panel* (FBR-FP) (Fig. 3) são desenvolvidos com elevada área superficial, caminho luminoso estreito (passo óptico) e podem ser orientados para obter a melhor exposição à radiação luminosa (WANG et al., 2012). A mistura da cultura pode ser promovida pelo bombeamento do meio de cultivo ou por aeração (MATA et al., 2010). Este sistema é caracterizado pela facilidade de manutenção, adequabilidade para o cultivo em áreas externas e maior controle das culturas de microalgas (UGWU et al., 2008; MATA et al., 2010). Como limitações, reporta-se o difícil controle da temperatura, bioincrustações e estresse hidrodinâmico devido à agitação no cultivo de algumas espécies no sistema (UGWU et al., 2008).

Figura 3 - Fotobiorreator tipo *Flat Panel*, Subitec (Alemanha).



Fonte: Subitec (2014).

1.2.1.3 FBR Coluna vertical

Os FBR de coluna vertical (Fig. 4) são adequados para o cultivo de microalgas em larga escala, pois são compactos, fáceis de operar e têm custo reduzido (UGWU et al., 2008; WANG et al., 2012). Dentre os modelos de FBR de coluna vertical, os de coluna de bolhas e de “*airlift*” geralmente não excedem 0,2 m de diâmetro, para que não haja comprometimento da disponibilidade luminosa no interior da cultura (SÁNCHEZ MIRÓN et al., 2000). Estes FBR têm sido construídos com extensão máxima de 4 metros, por razões estruturais e a fim de reduzir possíveis limitações de transferência de massa, que resultariam no estabelecimento de gradientes de pH, CO₂ e saturação de O₂ no meio de cultivo (WANG et al., 2012).

Figura 4 - Fotobiorreator de coluna vertical, LCA (Brasil).



Fonte: LCA (2013).

Na tabela a seguir (Tab. 2) são apresentadas algumas das vantagens e desvantagens comparativas dos sistemas abertos e fechados:

Tabela 2 - Características de sistemas abertos e fechados.

Crítérios	Sistema Aberto	Sistema Fechado
Necessidade de espaço	Maior	Menor (depende do design)
Risco de contaminação (bactérias, protozoários etc.)	Maior	Menor
Risco de contaminação com outras microalgas	Maior	Menor
Perda de água por evaporação	Maior	Menor
Investimento	Menor	Maior
Presença de CO ₂ no sistema	Menor (Restrito a troca com ar)	Maior (Técnicas de injeção de CO ₂)
Risco de perda de CO ₂	Maior	Menor
Saída de O ₂ da cultura	(Restrito a troca com ar)	(Técnicas de degaseificação)
Flexibilidade de produção	Menor	Maior
Possibilidade de padronização	Menor	Maior
Controle do processo	Menor	Maior
Ocorrência da Fase <i>Lag</i> (depende modo de cultivo)	Maior	Menor
Dependência das condições climáticas (<i>outdoor</i>)	Maior	Menor
Volume de cultivo	Maior	Menor
Produtividade	Menor	Maior
Relação Superfície/Volume	Menor	Maior
Risco de fotoinibição	Maior	Menor
Necessidade de técnicas de iluminação	Menor	Maior

Fonte: Adaptado de Prokop et al. (2015).

Partindo do princípio da necessidade de desenvolvimento de sistemas eficientes para a produção de microalgas, visando principalmente à obtenção de elevada produtividade em biomassa e culturas com baixa contaminação, este trabalho foi importante para aprimorar o conhecimento imposto a sistemas de produção. Foi proposto o desenvolvimento de um conjunto de Fotobiorreatores tipo *Flat Panel* (FBR-FP), onde este foi submetido a características de alguns dos requisitos utilizados para o crescimento microalgal nas culturas desenvolvidas nos principais tipos de FBR reportados na literatura, visando alcançar a melhor transferência de massa relacionada à incorporação de CO₂ e à taxa de aeração, a taxa de extinção de luz em três concentrações de biomassa diferentes, bem como, o aumento da relação superfície/volume para obter elevada biomassa e produtividade.

1.3 OBJETIVOS

1.3.1 Objetivo Geral

O objetivo geral do trabalho foi à implantação de um sistema de cultivo de microalgas constituído por um conjunto de FBR-FP, para o cultivo superintensivo de microalgas.

1.3.2 Objetivos Específicos

- Dimensionar e instalar a estrutura de apoio dos FBR-FP, constituída de redes de distribuição de ar comprimido e de CO₂, luminárias e base metálica para os sacos plásticos.
- Determinar a taxa de aeração ideal e do K_{La} para os FBR-FP.
- Estabelecer o controle da injeção de CO₂ através de um sistema automatizado.
- Determinar o coeficiente de extinção da luz (passo óptico) em diferentes concentrações de biomassa no FBR-FP.
- Validar o protótipo com a determinação de duas diferentes relações da superfície iluminada/volume (10,5 m⁻¹ e 21,0 m⁻¹) sobre a produtividade em culturas de *Nannochloropsis oculata* desenvolvidas nos FBR-FP.

2 ARTIGO CIENTÍFICO

PROJETO DE DESENVOLVIMENTO DE FOTOBIORREATORES TIPO *FLAT PANEL* PARA O CULTIVO SUPERINTENSIVO DE MICROALGAS

PROJECT OF DEVELOPMENT OF FLAT PANEL PHOTOBIORREATORS FOR THE SUPERINTENSIVE CULTURE OF MICROALGAS

O artigo foi formatado segundo as normas da revista Ciência Rural. Classificação Qualis CAPES B2 na área de Zootecnia e Recursos Pesqueiros e fator de impacto igual a 0.1415.

Marco Dellian Zanetta, Rafael da Fonseca Arantes, Rafael Garcia Lopes, Rafael Sales, Roberto Bianchini Derner

Federal University of Santa Catarina (UFSC), Laboratory of Algae Culture. Rua dos Coroas, 503 – Barra da Lagoa – CEP: 88061-600 – Florianópolis – SC – Brazil. E-mail: marco@zanetta.com.br

RESUMO

Com o objetivo de estabelecer um sistema superintensivo para o cultivo de microalgas, foi planejado e implantado um conjunto de Fotobiorreatores (FBR) do tipo *Flat Panel* (FP). Para isto, foram construídas duas estruturas metálicas, onde foram instaladas telas metálicas para dar suporte aos FBR-FP. Cada estrutura metálica tinha capacidade para suportar até quatro FBR-FP, que consistiram de sacos plásticos com dimensões de 2,30 m x 0,75 m x 0,1 m (altura, largura e espessura) e volume útil de 150 L. Para a operação dos FBR-FP foram instalados um sistema de aeração com filtros e reguladores de pressão e fluxo e um sistema automatizado de controle do pH e da temperatura, além de redes de distribuição de ar comprimido e de injeção de CO₂ em alta pressão. Para o início da operação dos FBR-FP foi definida a taxa de aeração em 0,067 vvm (10 L min⁻¹), o coeficiente global de transferência de massa ($K_{La}(O_2)$) do sistema (gás-líquido) em 54,29 h⁻¹, e empregada irradiância de 400 μmol de fótons m⁻² s⁻¹, adequada para o cultivo da microalga *Nannochloropsis oculata*, utilizada nos cultivos. O experimento consistiu na variação da relação da superfície iluminada pelo volume da cultura (S/V), sendo: iluminação apenas por um lado do FBR-FP, apresentando S/V de 10,5 m⁻¹; e iluminação pelos dois lados do FBR-FP, com S/V correspondente a 21,0 m⁻¹. Ao final de 264 h (11 dias) foi obtida uma biomassa de 1,91 ± 0,15 g L⁻¹ no tratamento S/V 21,0 m⁻¹ e 1,13 ± 0,08 g L⁻¹ com o emprego da S/V 10,5 m⁻¹. Os resultados apontaram que é possível alcançar elevada produtividade em culturas com maior exposição das células algais a luz, com controle e segurança.

Palavras-chave: Aquicultura. Transferência de massa. Passo óptico. *Flat Panel*.

ABSTRACT

In order to establish a super intensive system for microalgae cultivation, a set of Flat Panel (FP) Photobioreactors (PBR) was planned and implemented. To do so, two metal structures were constructed, where metallic screens were installed to support the PBR-FP. Each metal structure had the capacity to support up to four PBR-FPs, which consisted of plastic bags with dimensions of 2.30 m x 0.75 m x 0.1 m (height, width and thickness) and useful volume of 150 L. To operate the PBR-FP, an aeration system was installed with filters and pressure and flow regulators, an automated pH and temperature control system, as well as compressed air distribution networks and high-pressure CO₂ injection. To start operating the FBR-FP, the aeration rate was set at 0.067 vvm (10 L min⁻¹), the overall mass transfer coefficient (K_{La} (O₂)) of the system (gas-liquid) at 54.29 h⁻¹, and irradiated with 400 μmol of photons m⁻² s⁻¹, suitable for the cultivation of the microalga *Nannochloropsis oculata*, used in the cultures. The experiment consisted in the variation of the relation of the surface illuminated by the volume of the culture (S/V), being: illumination only on one side of the PBR-FP, presenting S/V of 10.5 m⁻¹; and illumination on both sides of the PBR-FP, with S/V corresponding to 21.0 m⁻¹. At the end of 264 h (11 days) a biomass of 1.91 ±0.15 g L⁻¹ was obtained in the S/V treatment 21.0 m⁻¹ and 1.13 ±0.08 g L⁻¹ with the of the S/V 10.5 m⁻¹. The results showed that it is possible to achieve high productivity in cultures with greater exposure of algal cells to light, with control and safety.

Keywords: Aquaculture. Mass transfer. Optical path. Flat Panel.

2.1 INTRODUÇÃO

Nos ambientes naturais as microalgas são à base de diversas cadeias tróficas, portanto, estudos sobre sua produção são muito importantes para compreender suas aplicações na aquicultura (DERNER, 2006; CHISTI, 2007). O desenvolvimento de técnicas adequadas de cultivo e de sistemas de cultivo de alta eficiência são essenciais para o aperfeiçoamento da produção das microalgas, uma vez que se busca o aumento da sobrevivência dos organismos cultivados, assim como, a redução no custo de produção (DERNER, 2016). Além da aquicultura, sua produção visa aos mais variados objetivos e produtos, que vão desde o tratamento de efluentes e fixação de carbono à extração de compostos e produção de biocombustíveis (LI et al., 2008; RAJA et al., 2008; WANG et al., 2008).

Para a produção de microalgas, os cultivos podem ser abertos (tanques, por exemplo) ou fechados (fotobiorreatores - FBR), que por sua vez podem ser instalados em ambientes internos (*indoor*) ou externos (*outdoor*) (OZKAN et al., 2012; VASUMATHI et al., 2012). Esses sistemas são classificados de acordo com o seu design, e devem ser adequados aos requisitos característicos das espécies de microalgas cultivadas ou ao produto a ser obtido.

Os FBR são projetados para potencializar a produtividade: são habitualmente construídos com elevada relação S/V - o que maximiza a exposição das células à luz - permitindo maior controle das condições de cultivo e reduzindo o risco de contaminação (SIERRA et al., 2008; BAHADAR; KHAN, 2013).

A evolução dos FBR ocorreu principalmente em escala laboratorial e, para tornar estes sistemas comerciais, ou seja, a produção de microalgas em larga escala, um dos principais gargalos está no elevado custo de implantação, assim como na dificuldade de escalabilidade dos sistemas (TREDICI et al., 2010). De modo geral, não existe um sistema ótimo padrão para o cultivo de microalgas, uma vez que a escolha de sistemas abertos ou fechados, indoor ou outdoor, é ditado pelas espécies, pela localização do empreendimento e pelo o produto final que se propõe obter. Entretanto, é possível a otimização de cada sistema, buscando os princípios fundamentais para a produção de microalgas (POSTEN, 2009; TREDICI et al., 2010): mistura eficiente, transferência de massa elevada ($K_L a$), elevada relação Superfície/Volume, controle da temperatura, pH, CO₂ e nutrientes e determinação da fase exponencial de crescimento.

Com o objetivo de desenvolver um sistema eficiente para a produção de microalgas, visando principalmente à obtenção de elevada produtividade em biomassa e culturas com baixa contaminação, foi projetado um conjunto de Fotobiorreatores tipo *Flat Panel* (FBR-FP), onde este foi submetido a características de alguns dos requisitos utilizados para o crescimento microalgal nas culturas desenvolvidas nos principais tipos de FBR reportados na literatura, visando alcançar a melhor transferência de massa relacionada à incorporação de CO₂ e à taxa de aeração, a taxa de extinção de luz em três concentrações de biomassa diferentes, bem como, o aumento da relação S/V.

2.2 MATERIAL E MÉTODOS

2.2.1 Fotobiorreator Tipo *Flat Panel*

2.2.1.1 Estrutura

Para a instalação do conjunto de FBR-FP, foi construída, uma estrutura metálica que consistiu de quatro armações em ferro galvanizado onde foram fixados painéis de tela (Belgo Durafor) para dar suporte aos sacos plásticos. Cada estrutura tinha 2,60 m de altura x 1,50 m de largura, com espessura de 10 cm (Fig. 5). No espaço entre os painéis de tela foram inseridos sacos plásticos incolores (estéreis e vedados de fábrica) com dimensões de 2,30 m x 0,75 m x 0,40 mm e volume útil de 150 L. Cada estrutura suporta quatro sacos plásticos, totalizando assim oito FBR-FP (Fig. 6) e volume total de produção é de 1.200 L de culturas de microalgas.

Figura 5 - Desenho estrutural de um dos FBR-FP.



A - Estrutura metálica; B - Painéis de tela; C - Saco plástico contendo cultura de microalgas.

Figura 6 - Conjunto de FBR-FP instalados.



Fonte: O Autor

2.2.1.2 Sistema de Monitoramento

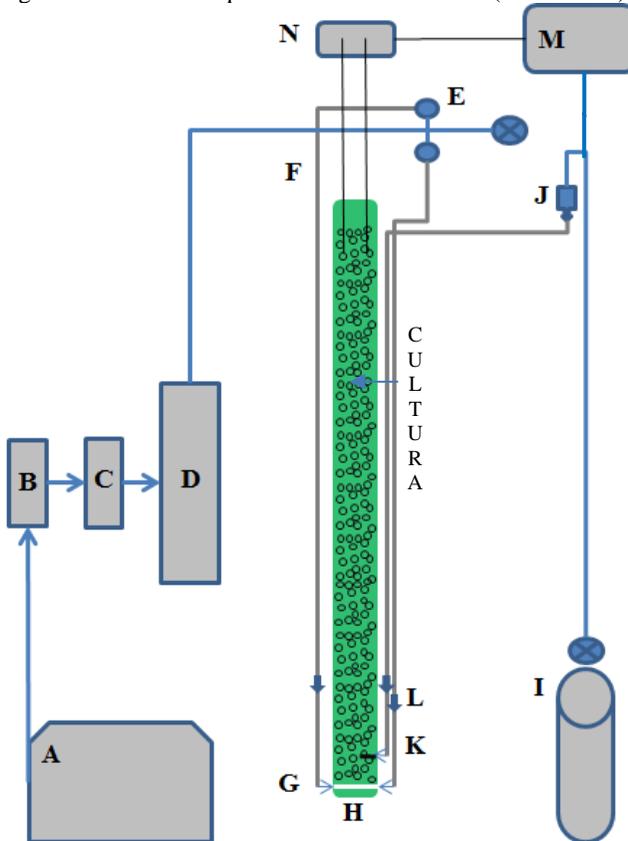
Para o controle do pH e monitoramento da temperatura, foi implantado um sistema automatizado - APEX Neptune System. Este sistema permite o acompanhamento em tempo real da temperatura e do pH das culturas, oferecendo maior controle e segurança aos cultivos. Os dados são armazenados numa conta do proprietário, em um sistema (Apex Fusion) baseado em nuvem (*cloud computing*) (www.apexfusion.com). O sistema consiste em uma central APEX conectada por cabo USB a módulos em série (um para cada FBR-FP), onde ficam conectados os sensores de pH e temperatura e, além de contar com um controlador manual.

Uma vez programada a variação (*range*) do pH no APEX, a sonda de pH no interior das culturas leva a informação à Central, que acusa a necessidade de injeção de CO₂, sendo acionada uma válvula solenoide que permite a liberação deste gás até o limite inferior programado.

2.2.1.3 Aeração

A rede de distribuição de ar comprimido é independente da alimentação sob demanda do CO₂, que por sua vez é monitorada e/ou controlada pelo sistema automatizado Apex Neptune System (Fig 7.). Deste modo, cada FBR-FP se torna único, resultando em uma maior segurança para o sistema como um todo.

Figura 7 - Desenho esquemático de um FBR-FP (vista lateral).



A - Compressor de ar; B e C - Filtros de ar; D - Rebatedor de umidade; E - Regulador de pressão; F - Mangueira de ar comprimido de 6 mm; G - Engate rápido; H - Tubo teflon perfurado; I - Cilindro de CO₂; J - Válvula solenoide; K - Mangueira porosa para injeção de CO₂; L - Válvula de retenção de fluidos (antirretorno); M - Central de comando APEX; N - Módulo Apex de monitoramento de pH e Temperatura.

Para a aeração do conjunto de 8 FBR-FP foi instalado um compressor de ar isento de óleo com capacidade para produzir até 149 L min⁻¹, visando promover uma mistura eficiente do meio de cultura com baixo risco de contaminação. Este equipamento contém um tanque pulmão com 100 L, para evitar a sobrecarga de trabalho. O ar passa por uma sequência de filtros coalescentes e em seguida por um separador de umidade, garantindo assim a pureza do ar injetado nas culturas. Este

sistema de aeração conta com tubos de ar de alta pressão de 25 mm e reguladores de pressão (mantida a aproximadamente 0,2 bar) na entrada de ar de cada FBR-FP.

2.2.1.4 Coeficiente Global de Transferência de Massa K_{La}

Segundo Talbot et al. (1990), a capacidade de transferência de massa de um sistema em particular é relacionada com o tamanho das bolhas, à velocidade de agitação, à temperatura e à taxa de aeração aplicada ao reator. Entretanto, sua medição é comumente aplicada para os FBR através da medição do Coeficiente Global de Transferência de Massa $-K_{La}(O_2)$, que pode ser convertido para $K_{La}(CO_2)$ (TALBOT et al., 1991), onde “ K_L ” representa a densidade, viscosidade, difusividade, temperatura etc., e a área interfacial “ a ”, depende do gás *hold up* e do tamanho das bolhas (CHISTI, 1989).

Para a determinação do $K_{La}(O_2)$, um FBR-FP foi completado com 150 L de água a uma salinidade de 30. A concentração inicial de oxigênio dissolvido (OD) na água foi medida com o auxílio de um oxímetro e, em seguida, através do tubo de teflon perfurado foi injetado/borbulhado nitrogênio gasoso na água até que a concentração de oxigênio chegasse a menos de 5% (v/v) da saturação. Neste ponto foi ligada a aeração (com ar atmosférico sob pressão), isto considerando três diferentes taxas de aeração 8, 10 e 15 L min⁻¹ (0,053, 0,067 e 0,1 vvm, respectivamente), até que a concentração de oxigênio retornasse à saturação inicial. Para estimar os valores de K_{La} foi aplicada a equação (1).

$$dC/dt = K_{La} (C^* - C) \quad (1)$$

Onde:

dC/dt = velocidade de transferência de O_2 (mg O_2 L⁻¹ h)

C^* = concentração de saturação de O_2 no líquido, em equilíbrio com P_g , segundo a lei de Henry (mg O_2 L⁻¹)

C = concentração de O_2 no líquido (mg O_2 L⁻¹)

P_g = pressão parcial de O_2 na bolha do gás (atm)

2.2.1.5 Iluminação das culturas

A iluminação das culturas nos FBR-FP foi realizada com o emprego de lâmpadas fluorescentes compactas, instaladas em painéis de alumínio com dimensões de 2,00 m de altura x 1,40 m de largura,

revestidos por placas de policarbonato incolor de 3 mm para impedir o contato com a água (respingos). Cada painel foi preparado com 60 lâmpadas (de 25 e 59 W, intercaladas) distribuídas horizontalmente em seis fileiras (10 lâmpadas por fileira), no qual o controle foi feito por interruptores específicos, podendo ligar 50 ou 100% das lâmpadas por fileira. Cada lado (face) do FBR-FP tem área correspondente a 1,57 m² (2,1 m x 0,75 m). Assim, quando o FBR foi iluminado pelos dois lados à área da superfície iluminada correspondeu a 3,15 m².

O coeficiente de extinção de luz foi verificado nas culturas iluminadas somente por um lado, ou seja, na relação S/V de 10,5 m⁻¹. Uma cultura de *Nannochloropsis oculata* em FBR-FP foi diluída aleatoriamente e foram obtidas três concentrações de biomassa (0,51; 0,34 e 0,21 g L⁻¹). Um sensor de medição de irradiância subaquática (PAR Neptune System) foi instalado no interior das culturas em cinco posições (distâncias) em relação à fonte luminosa inicial (0; 1,5; 4,0; 5,0; 7,5 e 9,0 cm).

2.2.2 Validação do FBR-FP

A água empregada nas culturas passou por tratamento em dois sistemas: sistema externo e sistema interno. No sistema externo a água é filtrada em filtros de disco (Helix systems AZUD) de 5 µm em recirculação por pelo menos 2 h e em seguida em filtros tipo *bag* (PALL) de 1 µm. No sistema interno a água passa por um reator de Ultravioleta (UV-C 75W) e filtros de cartucho de 1,0 e 0,5 µm, quanto então é mantida em recirculação através de sucessivas passagens por outro reator de Ultravioleta.

Para o desenvolvimento das culturas foi utilizada uma cepa da microalga marinha *Nannochloropsis oculata*, mantida no Banco de Cepas do Laboratório de Cultivo de Algas (LCA) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) – Brasil.

A fim de avaliar o efeito da relação da superfície iluminada pelo volume da cultura (S/V) foram aplicados dois tratamentos (em triplicata): iluminação pela disposição do painel luminoso somente em um dos lados dos FBR-FP, gerando uma relação S/V de 10,5 m⁻¹; disposição de um painel luminoso de cada um dos dois lados do FBR-FP, gerando uma relação S/V de 21,0 m⁻¹. As culturas experimentais de *N. oculata* foram desenvolvidas com uma biomassa inicial de 0,22 g L⁻¹, em salinidade 30, irradiância de 400 µmol de fótons m⁻² s⁻¹ em fotoperíodo integral, e taxa de aeração de 0,067 vvm (10 L min⁻¹).

Diariamente (09:00) foram retirados 50 mL de cada cultura experimental para o monitoramento da turbidez (NTU); densidade celular (cel mL^{-1}), concentração de nitrato (μM) pelo método HACH N° 8039 e concentração da biomassa em peso seco (g L^{-1}) determinada pelo método gravimétrico (APHA, 2005) empregando microfiltros de fibra de vidro GF-1 ($0,45 \mu\text{m}$ de porosidade).

Por se tratarem de cultivos em batelada alimentada, os nutrientes (Meio de Cultura LCA-AM) (Tab. 3) foram repostos diariamente em proporção ao consumo de nitrato.

Tabela 3 - Composição do Meio LCA-AM (baseado no Meio Conway).

Componente	Concentração no Meio (g L^{-1})
NaNO_3	0,510
$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	0,008
Na_2EDTA	0,010
Na_2PO_4	0,048
$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	0,00882
$\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,00144
$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	0,00610
$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	0,00157
$\text{CoCl}_2 \cdot \text{H}_2\text{O}$	0,00040

Fonte: LCA.

Para a análise de dados foi utilizado o programa GraphPad Prism 7.00, e foi aplicada análise estatística (ANOVA de uma via, $p < 0,05$), e quando detectada diferença significativa foi aplicado o Teste de Tukey para comparação entre as médias dos tratamentos.

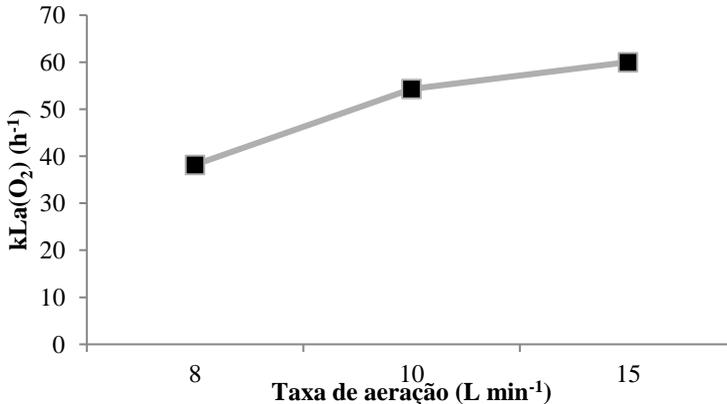
2.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

2.3.1 Transferência De Massa (K_{La})

De acordo com Fan et al. (2008), o design e as condições operacionais em FBR são fundamentais para aumentar a área interfacial (gás-líquido) ao máximo, facilitando assim a incorporação de CO_2 (gasoso) ao meio líquido. Segundo Talbot et al. (1990), a área interfacial depende do diâmetro das bolhas e da taxa de aeração aplicada ao sistema.

Neste trabalho foi determinado o $K_{La}(\text{O}_2)$ (Fig. 8) aplicando as diferentes taxas de aeração: 8, 10 e 15 L min^{-1} (0,053, 0,067 e 0,1 vvm, respectivamente). Pelo emprego do tubo perfurado, as bolhas formadas tinham entre 2 e 4 mm de diâmetro, sendo que este tamanho de bolhas, segundo Pereira (2012), permite ótima eficiência no que diz respeito à mistura da cultura, pois causa grande turbulência e, quanto menor o tamanho das bolhas, maior a área interfacial gás-líquido, o que proporciona maiores valores de K_{La} .

Figura 8 - Gráfico do $K_{La}(\text{O}_2)$ do FBR-FP em função de diferentes taxas de aeração.



Conforme pode ser visualizado no gráfico, os valores de $K_{La}(\text{O}_2)$ aumentaram a medida em que foi aumentada a taxa de aeração. O emprego da taxa de aeração de 8 L min^{-1} gerou um $K_{La}(\text{O}_2)$ correspondente a 38,19 h^{-1} , enquanto com o emprego das taxas de aeração de 10 e 15 L min^{-1} foram obtidos valores de 54,29 h^{-1} e 60,01 h^{-1} , respectivamente, contudo não foi verificado um aumento proporcional no $K_{La}(\text{O}_2)$ considerando a taxa de

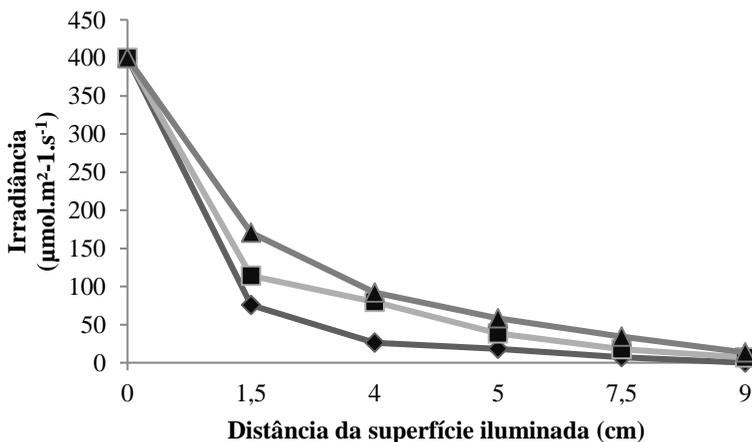
aeração mais elevada. Estes valores estão em concordância com aqueles verificados em fotobiorreatores, uma vez que Langley et al., (2012) reportam que o K_{LA} nestes sistemas de cultivo pode variar entre 5 e 100 h^{-1} .

De acordo com Ying et al., (2013), elevadas taxas de aeração podem provocar uma rápida passagem das bolhas na coluna da cultura, provocando baixa incorporação de CO_2 na cultura. Ainda, segundo Contreras et al., (1998) e Sobczuk et al., (2005), agitações intensivas em culturas de microalgas podem ocasionar dano celular. Deste modo, foi adotado para utilizar nos FBR-FP a taxa de aeração de 10 L min^{-1} (0,067 vvm) com $K_{LA}(\text{O}_2)$ de 54,29 h^{-1} .

2.3.2 Iluminação

De acordo Pereira (2016), a microalga *Nannochloropsis oculata* apresenta maior taxa fotossintética quando as culturas são iluminadas com 400 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$, assim, foi adotada esta irradiância para o desenvolvimento das culturas experimentais. O Coeficiente de extinção da luz no FBR-FP nas culturas de *N. oculata*, nas concentrações de biomassa: 0,21; 0,34 e 0,51 g L^{-1} é apresentado na Fig. 9.

Figura 9 - Coeficiente de extinção da luz no interior do FBR-FP em função da concentração de biomassa. (\blacktriangle) 0,21 g L^{-1} ; (\blacksquare) 0,34 g L^{-1} ; (\blacklozenge) 0,51 g L^{-1} .



Adotando que a irradiância de 400 $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ ilumina de forma homogênea os 150 L de cultura no FBR-FP, é possível observar no gráfico que com apenas 1,5 cm é possível iluminar um volume de cultura de aproximadamente 63, 42 e 28 L para as concentrações de

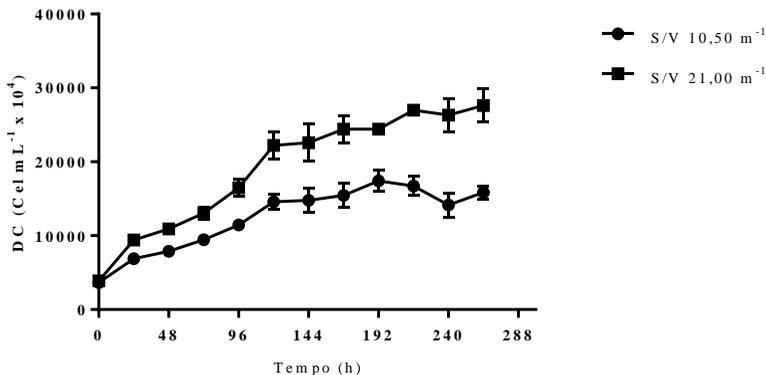
biomassa em 0,21, 0,34 e 0,51 g L⁻¹, respectivamente. Ou seja, quando adotamos uma cultura de 0,51 g L⁻¹, o coeficiente de extinção da luz chega a aproximadamente 80%, e quando utilizada a concentração de 0,21 g L⁻¹ temos 57%. Na medida em que a concentração da biomassa foi aumentada, a atenuação foi maior e conseqüentemente o volume iluminado foi cada vez menor, chegando a quase 100% em 9,0 cm de cultura, ocasionando limitação da fotossíntese e do crescimento.

Com estes resultados, é possível compreender que em apenas 1,5 cm de cultura, mesmo com concentração de biomassa baixa, temos cerca de 50% da cultura iluminada apenas, evidenciando a importância do passo óptico e da taxa de mistura do sistema. De acordo com Sierra et al. (2008) e Bahadar; Khan (2013), o aumento da relação S/V maximiza a exposição das células algais a luz. Deste modo, achar o equilíbrio referente ao acúmulo de biomassa à medida que se reduz o passo óptico com a produção volumétrica é fundamental para o sistema, sempre tendo como foco o produto final.

2.3.3 FBR-FP com diferentes relações S/V

Ao final de 264 h (11 dias) do experimento, foram construídas as Curva de Crescimento (Fig. 10).

Figura 10 - Curvas de crescimento em densidade celular nas culturas da microalga *Nannochloropsis oculata* no FBR-FP.



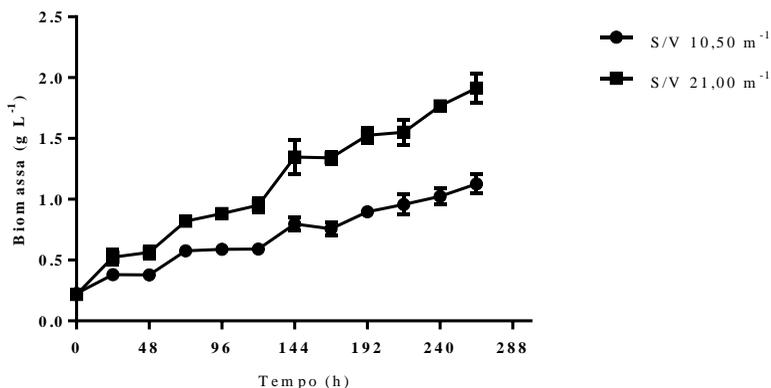
De acordo com o gráfico, não foi percebida uma fase *Lag* (adaptação) nas culturas em ambos os tratamentos, isto parece indicar que estas estavam bem aclimatadas às condições experimentais de

cultivo. As culturas submetidas ao tratamento com relação S/V de $21,0 \text{ m}^{-1}$ alcançaram densidade celular de $27.600 \times 10^4 \text{ cel mL}^{-1}$, enquanto as culturas do tratamento S/V $10,5 \text{ m}^{-1}$ alcançaram $15.800 \times 10^4 \text{ cel mL}^{-1}$. Ao verificar a estabilidade na densidade celular entre 216 e 264 h de cultivo, ficou configurado que as culturas atingiram a fase estacionária, quando foi encerrado o experimento.

Houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, ou seja, o emprego da iluminação pelos dois lados do FBR-FP permitiu que fosse alcançada maior densidade celular, possivelmente devido a maior disponibilidade de luz para as culturas.

No gráfico é possível perceber que o maior crescimento microalgal ocorreu entre 96 h e 120 h, sendo possivelmente o ponto de corte (diluição) no caso da aplicação de cultivos semicontínuos. Contudo, verificando o gráfico de biomassa (Fig. 11), nota-se que há um maior acúmulo diário de biomassa em 144 h com $0,4 \text{ g L}^{-1}$ para o tratamento com S/V $21,0 \text{ m}^{-1}$ e $0,21 \text{ g L}^{-1}$ para S/V de $10,5 \text{ m}^{-1}$. Por esta razão é muito importante à análise destes fatores para uma tomada de decisão.

Figura 11 - Curvas de crescimento de *N. oculata* em biomassa sob diferentes relações S/V.



Em relação à biomassa máxima alcançada, houve diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, onde, quando utilizada a relação S/V de $21,00 \text{ m}^{-1}$, foi possível alcançar maior biomassa, com $1,91 \pm 0,15 \text{ g L}^{-1}$ e produtividade total de $7,23 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$, enquanto o tratamento com a relação S/V de $10,50 \text{ m}^{-1}$ levou à obtenção de $1,13 \pm 0,08 \text{ g L}^{-1}$ e produtividade total de $4,24 \text{ mg L}^{-1} \text{ h}^{-1}$ (Tab. 4).

Tabela 4 - Biomassa máxima alcançada (Bmax), Produtividade total em biomassa (P total) sob diferentes relações S/V no FBR-FP.

Relação S/V (m ⁻¹)	Bmax (g L ⁻¹)	P total (mg L ⁻¹ h ⁻¹)
10,50	1,12 ± 0,08a	4,24a
21,00	1,91 ± 0,15b	7,23b

Valores expressos como média ± desvio padrão.

Letras diferentes nas colunas indicam diferenças significativas (p < 0,05).

De acordo com Ammar et al. (2018), a biomassa máxima alcançada da microalga *N. oculata*, em erlenmeyer de 400 mL com temperatura de 25,0 ± 1,0°C, irradiância de 2.000 lux (equivalente a menos que 30 μmol.m².s⁻¹), aeração constante de 3,5 L min⁻¹ e fotoperíodo de 18:6 foi de 0,85 g L⁻¹ em 20 dias de cultivo.

Já Converte et al. (2009), reportam uma produtividade de 5,41 mg L⁻¹ h⁻¹ em 14 dias em culturas desenvolvidas em erlenmeyer de 2 L, com temperatura de 25°C e iluminação de 70 μmol m⁻² s⁻¹. Estes resultados corroboram os encontrados neste trabalho, contudo, a produtividade em culturas com menor escala apresenta maior facilidade de controle, o que nos permite dizer que os FBR-FP proporcionaram produtividade satisfatória, uma vez que foi realizada em grande volume.

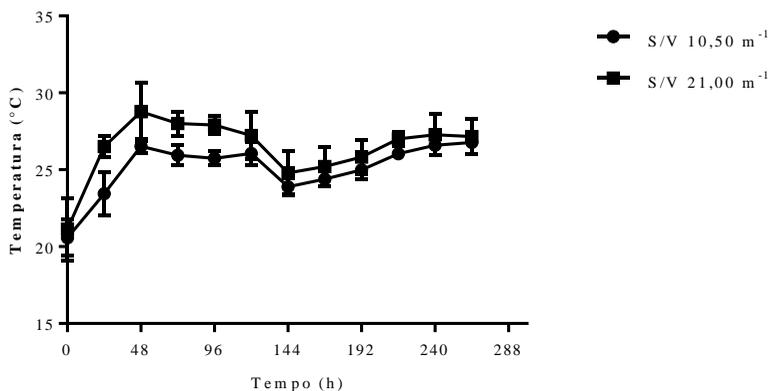
Produtividades desta espécie também são reportadas em larga escala em *Flat Panels*. Richmond e Zou (1999) buscaram aumentar a relação S/V alterando o passo óptico nos FP: 10,4; 5,2; 2,6 e 1,3 cm, assim, obtiveram maiores produtividades na medida em que este foi mais estreito: 5,5; 7,3; 9,3 e 12,1 g m⁻² d⁻¹, respectivamente. Esses resultados mostram que quanto menor o passo óptico maior é a produtividade, e, quando comparado com este trabalho, mostra que a produtividade encontrada com as relações S/V de 10,50 e de 21,00 m⁻¹ (10,90 e 18,60 g m⁻² dia⁻¹) são maiores que a reportada por aqueles autores.

2.3.3.1 Sistema de controle (APEX)

2.3.3.1.1 Temperatura

Os dados de temperatura obtido com o monitoramento feito com o uso do APEX demonstrou que houve aumento nas primeiras 48 h, provavelmente devido ao elevado calor irradiado pelos painéis de iluminação. Quando estabilizada com auxílio dos condicionadores de ar, a temperatura não apresentou grandes variações, com mínimas de 20,6 e 21,1°C e máximas de 26,8 e 28,8°C para o tratamento com relação S/V de 10,5 e 21,0 m⁻¹ respectivamente (Fig. 12).

Figura 12 - Temperatura média das culturas desenvolvidas nos FBR-FP empregando as relações S/V 21,0 m⁻¹ e 10,5 m⁻¹



O emprego de dois painéis de iluminação gerou consequentemente, o dobro de calor, contudo, mesmo apresentando temperaturas mais elevadas, a diferença entre os tratamentos não passou de 2°C durante todo o experimento. Seria interessante para cultivos futuros, que a aclimação do ambiente, com condicionadores de ar, seja realizada ainda no inóculo das culturas, para que não haja esta variação nas primeiras 48 h.

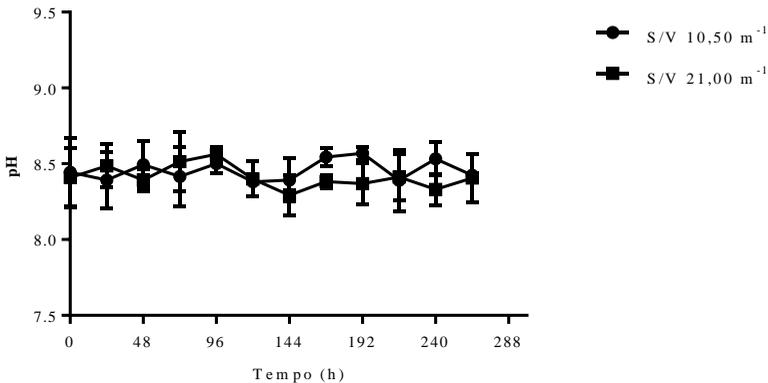
Segundo Converti et al. (2009) a microalga *Nannochloropsis oculata* tem elevada capacidade de suportar condições extremas de temperatura. Estudos apontam cultivos de *N. oculata* em temperaturas de 20 °C (CONVERTI et al., 2009), 25 °C (AMMAR et al., 2018) e 26

°C (CHIU et al., 2009). Desta maneira, é possível compreender que a variação de temperatura não teve influência nos resultados obtidos neste experimento.

2.3.3.1.2 pH

Conforme pode ser visualizado na Fig. 13, o pH foi mantido estável durante todo experimento. Isto demonstra que o controle deste fator pelo APEX, através da injeção de CO₂ sob demanda, funcionou de maneira adequada, não gerando diferenças significativas ($p < 0,05$) entre os tratamentos, mantendo o pH sempre no range preestabelecido (8,2 a 8,6), com valores mínimos de 8,3 e 8,4 e máximos de 8,6 e 8,5 para os tratamentos com relação S/V de 10,5 e 21,0 m⁻¹, respectivamente.

Figura 13 - Variação do pH ao longo do experimento.



O carbono é considerado o nutriente mais importante em termos de massa, uma vez que a quantidade deste elemento nas células algais é de aproximadamente 50% na biomassa seca (SÁNCHEZ MIRON et al., 2003). Como a microalga *Nannochloropsis* sp. tem maior razão de crescimento quando a aeração é enriquecida com CO₂ (HU; GAO, 2003), ou seja, necessitando ofertar Carbono (C) para maior produção de biomassa e conseqüentemente manter os níveis de pH adequados para seu crescimento, é muito importante a alimentação de CO₂ seja continuada nas culturas, e que o monitoramento por sensores de pH seja realizado para evitar a falta, que causa limitação no crescimento, ou o excesso deste gás nos cultivos de microalgas, podendo ocasionar algum

estresse, e ainda o desperdício e maior custo de produção (SAWAYAMA et al., 1995).

Neste trabalho buscou-se atender a requisitos impostos ao desenvolvimento de culturas de microalgas em um FBR-FP. O aumento da relação S/V nos FBR-FP permitiu que fossem alcançadas biomassa e produtividades competitivas aos sistemas superintensivos atuais. Contudo, é muito importante estar atento a outros fatores que também influenciam o crescimento microalgal, como: pH, temperatura, nutrientes, irradiância, K_{La} e tratamento de água. Testes como a validação deste sistema em ambiente *outdoor*, podendo haver diferentes comprimentos de onda da iluminação, diferentes maneiras de inserir o CO₂, bem como a quantificação de seu consumo, entre outros, devem ser realizados para validação completa do sistema, assim como sua utilização com outras espécies de microalgas.

2.4 CONCLUSÃO

A estrutura de suporte dos FBR-FP foi instalada e funcionou de maneira satisfatória para o desenvolvimento das culturas de microalgas.

A taxa de aeração estabelecida de 10 L min⁻¹ (0,067 vvm) mostrou-se eficiente e atendeu a demanda nos experimentos, além de ser possível alcançar um $K_{La}(O_2)$ de 54,29 h⁻¹, adequado para este tipo de sistema de cultivo.

O sistema automatizado APEX Neptune System permitiu o controle do pH pela injeção de CO₂ sob demanda, mostrando-se adequado e eficiente.

O coeficiente de extinção de luz aumenta de acordo com a concentração de biomassa e, em apenas 1,5 cm, o volume de cultura iluminado chega a cair 50%.

A iluminação pelos dois lados do FBR-FP (S/V de 21,0 m⁻¹) permitiu que fosse alcançada maior biomassa (1,91 ±0,15 g L⁻¹) em comparação com a iluminação somente por um lado (S/V de 10,5 m⁻¹) onde foi obtida 1,12 ±0,08 g L⁻¹.

REFERÊNCIAS

AMMAR, S. H. et al. Cultivation of *Nannochloropsis oculata* and *Isochrysis galbana* microalgae in produced water for bioremediation and biomass production. **Environmental Technology & Innovation**, v.10, p.132-142, 2018. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S2352186417304030?via%3Dihub>>. Accessed: Nov. 12, 2017. doi: doi.org/10.1016/j.eti.2018.02.002.

BAHADAR, A.; KHAN, M. B. Progress in energy from microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy. Reviews**, v.27, p.128-148, 2013. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032113004061>>. Accessed: Oct. 29, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2013.06.029.

CHISTI, Y. **Airlift Bioreactor (Applied Biotechnology advances)**. [S.l.]: Springer, 1989. ISBN 1851663207.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v.25(3), p.294-306, 2007. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975007000262>>. Accessed: Nov. 01, 2017. doi: 10.1016/j.biotechadv.2007.02.001.

CHIU, D. Y. et al. The airlift photobioreactors with flow patterning for high-density cultures of microalgae and carbon dioxide removal. **Eng. Life Sci**, v.9 p.254-260, 2009. Available from: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/elsc.200800113>> Accessed. Feb. 18, 2018. doi: 10.1002/elsc.200800113.

CONTRERAS, A. et al. Interaction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *Phaeodactylum tricorutum* in a concentric tube airlift photobioreactor. **Biotechnol. Bioeng.**, v.60(3), p.317-325, 1998. Available from: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/%28SICI%291097-0290%2819981105%2960%3A3%3C317%3A%3AAID-BIT7%3E3.0.CO%3B2-K>>. Accessed: Nov. 03, 2017. doi: 10.1002/(SICI)1097-0290(19981105)60:3<317:AID-BIT7>3.0.CO;2-K.

CONVERTI, A. et al. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and

Chlorella vulgaris for biodiesel production. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v.48, p.1146-1151, 2009.

Available from:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0255270109000415>>. Accessed: Nov. 04, 2017. doi: 10.1016/j.cep.2009.03.006.

DERNER, R. B. et al. Microalgae, products and applications. **Ciência Rural**, v.36(6), p1959-1967, 2006. Available from:

<http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0103-84782006000600050>. Accessed: Nov. 05, 2017. doi: 10.1590/S0103-84782006000600050.

DERNER, R. B. A importância das microalgas na aquicultura.

Aquaculture Brasil, v.1, p.62, 2016. Available from:

<<http://www.aquaculturebrasil.com/2016/08/01/importancia-das-microalgas-na-aquicultura/>>. Accessed: Dez. 12, 2017.

FAN, L. H. et al. Evaluation of a membrane-sparged helical tubular photobioreactor for carbon dioxide biofixation by *Chlorella vulgaris*. **Journal of Membrane Science**, v.325(1), p.336-345, 2008. Available from:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S037673880800731X>>. Accessed: Dez. 22, 2017. doi: 10.1016/j.memsci.2008.07.044.

HU, H.; GAO, K. Optimization of growth and fatty acid composition of a unicellular marine picoplankton, *Nannochloropsis* sp., with enriched carbon sources. **Biotechnol. Lett**, v.25, p.421-425, 2003. Available from:

<<https://link.springer.com/content/pdf/10.1023%2FA%3A1022489108980.pdf>>. Accessed: Nov. 17, 2017. doi: 10.1023/A:1022489108980.

LANGLEY, N. et al. A critical evaluation of CO₂ supplementation to algal systems by direct injection. **Biochemical, Engineering Journal**, v.68, p.70-75, 2012. Available

from:<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1369703X12002045>>. Accessed: Nov. 16, 2017. doi: 10.1016/j.bej.2012.07.013.

LI, Y. et al. Biofuels from microalgae. **Biotechnology Progress**. v.24(4), p.815-820, 2008. Available from:

<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0734975007000262>

%20(let%C3%B6lve:%202007>. Accessed: Nov. 06, 2017. doi: 10.1021/bp070371k.

OZKAN, A. et al. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. **Bioresource Technology**, v.114, p. 542–548, 2012. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0960852412004981>>. Accessed: Nov. 08, 2017. doi: 10.1016/j.biortech.2012.03.055.

PEREIRA, A. F. C. **Estudo de transferência de massa em sistemas multifásicos numa coluna air-lift**. 2012. 52f. Dissertação (Mestrado). Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto.

PEREIRA, G. H. M. **Efeito da correção de nutrientes na produção de biomassa da microalga *Nannochloropsis oculata* em batelada alimentada**. 2016. 47f. Monografia. Curso de Engenharia de Aquicultura. Universidade Federal de Santa Catarina.

POSTEN, C. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. **Eng. Life Sci**, v.9. p.165–177, 2009. Available from: <<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/elsc.200900003>>. Accessed: Oct. 07, 2017. doi: 10.1002/elsc.200900003.

RAJA, R. et al. A perspective on the biotechnological potential of microalgae. **Critical Reviews in Microbiology**, v.34(2), p.77-88, 2008. Available from: <https://www.researchgate.net/profile/Rathinam_Raja/publication/5287448_A_Perspective_on_the_Biotechnological_Potential_of_Microalgae/links/02e7e533a6e88c98e0000000/A-Perspective-on-the-Biotechnological-Potential-of-Microalgae.pdf?origin=publication_detail>. Accessed: Jan. 10, 2017. doi: 10.1080/10408410802086783.

RICHMOND, A.; ZOU, N. Efficient utilisation of high photon irradiance for mass production of photoautotrophic micro-organisms. **Journal of Applied Phycology**, v.11, p.123-127, 1999. Available from: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2F978-94-011-4449-0.pdf>> Accessed: Feb. 12, 2018. doi: 10.1023/A:1008033906840.

SÁNCHEZ MIRÓN, A. et al. Bubble-Column and Airlift Photobioreactors for algal culture. **American Institute of Chemical**

Engineers, v.46(9), p.1872-1887, 2000. Available from:
<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/epdf/10.1002/aic.690460915>>
Accessed. Nov. 15, 2017. doi: 10.1002/aic.690460915.

SAWAYAMA, S. et al. CO₂ fixation and oil production through microalga. **Energy Convers Manag**, v.36. p.729-731, 1995. Available from:
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/019689049500108P>>. Accessed: Nov. 16, 2017. doi: 10.1016/0196-8904(95)00108-P.

SIERRA, E. et al. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v.138, p.136-147, 2008.
<<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1385894707004068>>. Accessed: Nov. 18, 2017. doi: 10.1016/j.cej.2007.06.004.

SOBCZUK, T. M. et al. Effects of agitation on the microalgae *Phaeodactylum tricorutum* and *Porphyridium cruentum*. **Bioprocess Biosyst Eng**, v.28(4), p.243-250, 2005. Available from:
<<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00449-005-0030-3.pdf>> Accessed. Nov. 25, 2017. doi: 10.1007/s00449-005-0030-3.

TALBOT, P. et al. Carbon dioxide absorption characterization of a bioreactor for biomass production of *Phormidium bohneri*: comparative study of three types of diffuser. **Journal of Applied Phycology**, v.2, p.341-350, 1990. Available from:
<<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2FBF02180924.pdf>>
Accessed. Feb. 14, 2017. doi: 10.1007/BF02180924.

TALBOT, P. et al. Absorption of CO₂ in algal mass culture systems: A different characterization approach. **Biotechnol. Bioeng**, 37(9):834-842. 1991. Available from:
<<https://onlinelibrary.wiley.com/doi/pdf/10.1002/bit.260370907>>
Accessed. Dez. 11, 2017. doi: 10.1002/bit.260370907.

TREDICI, M.R. et al. Photobioreactors. In: FLICKINGER, M.C.; ANDERSON, S. (ed) **Encyclopedia of industrial biotechnology**: bioprocess, bioseparation, and cell technology, 2010. v.6, p.3821–3838.

VASUMATHI, K. K. et al. Parameters influencing the design of photobioreactors for the growth of microalgae. **Renewable and**

Sustainable Energy Reviews, v.16, p.5443-5450, 2012. Available from: <<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1364032112003930>>. Accessed. Nov. 07, 2017. doi: 10.1016/j.rser.2012.06.013.

WANG, B. et al. CO₂ bio-mitigation using microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v.79(5), p.707-718, 2008. Available from: <<https://link.springer.com/content/pdf/10.1007%2Fs00253-008-1518-y.pdf>> Accessed. Oct. 29, 2017. doi: 10.1007/s00253-008-1518-y.

YING, K. et al. Enhanced mass transfer in microbubble driven airlift bioreactor for microalgal culture. **Engineering**, v.05(09), p.735-743, 2013. Available from: <http://eprints.whiterose.ac.uk/104955/1/ENG_2013082910582475.pdf> Accessed. Oct. 23, 2017. doi. 10.4236/eng.2013.59088.

REFERENCIAS DA INTRODUÇÃO

ALGOMED (Alemanha). Fotobiorreator tubular (2017). Disponível em: <<https://www.algomed.de/en/image-gallery-for-roquette-klotze-gmbh-co-kg/>>. Acesso em: 24 abr. 2018.

ARBIB, Z. et al. Long term outdoor operation of a tubular airlift pilot photobioreactor and a high rate algal pond as tertiary treatment of urban wastewater. *Ecological Engineering*. v. 52. p. 143-153. 2013.

BAHADAR, A.; KHAN, M. B. Progress in energy from microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy. Reviews*: 27: 128–148, 2013.

BARCLAY, W. R. Mixtures of omega-3 and omega-6 highly unsaturated fatty acids from euryhaline microorganisms. US Patent 6977167; 2005.

BASF (Austrália). Cq5dam.web.16-9.8. 2016. Disponível em: <[https://www.basf.com/images/au/news-media/Blog/Hutt Lagoon 8 Steve Back.jpg-renditions/cq5dam.web.16-9.8.jpg](https://www.basf.com/images/au/news-media/Blog/Hutt_Lagoon_8_Steve_Back.jpg-renditions/cq5dam.web.16-9.8.jpg)>. Acesso em: 17 abr. 2018.

BLIFERNEZ-KLASSEN, O. et al. Cellulose degradation and assimilation by the unicellular phototrophic eukaryote *Chlamydomonas reinhardtii*. *Nat Commun* 3:1214. 2012.

BORGES, L. do V. Caracterização do potencial de absorção do dióxido de carbono atmosférico por microalgas utilizadas na aquicultura para geração de um mecanismo de desenvolvimento limpo (MDL). 57f. Dissertação de Mestrado, Departamento de Oceanografia, FURG, Rio Grande, RS, Brasil, 2005.

BROWN, R. et al. Nutritional properties of microalgae for mariculture. *Aquaculture*. Austrália, 51, 315-331, 1997.

CELLANA (Estados Unidos da América). Kona Demonstration Facility – Cellana – Algae-based products for a sustainable future. 2013. Disponível em: <[http://cellana.com/wp-content/uploads/KDF- Aerial-Photo- 1024x768.jpg](http://cellana.com/wp-content/uploads/KDF-Aerial-Photo-1024x768.jpg)>. Acesso em: 16 abr. 2018.

CHEIRSILP, B.; TORPEE, S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. *Bioresour Technol* 110:510–516. 2012.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. 25(3): 294–306. 2007.

CONCEIÇÃO, L. E. C. et al. Review article. Live feeds for early stages of fish rearing. *Aquaculture Research*. 2010.

CONVERTI, A. et al. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorellavulgaris* for biodiesel production. *Chemical Engineering and Processing: Process Intensification*. 1146-1151. 2009.

CYANOTECH CORPORATION (Estados Unidos da América). Aerial-SW. 2018. Disponível em: <<https://www.cyanotech.com/wp-content/uploads/2017/02/Aerial-SW.jpg>>. Acesso em: 16 abr. 2018

DERNER, R. B. et al. Microalgae, products and applications. *Ciência Rural*, Santa Maria. 36, 6, 1959-1967, nov-dez., 2006.

DERNER, R. B. A importância das microalgas na aquicultura. *Aquaculture Brasil*, Laguna, v. 1, p.62, jul./ago. 2016. Bimestral.

EUROPEAN COMMISSION. The impact of a minimum 10% obligation for biofuel use in the EU-27 in 2020 on agricultural markets, impact assessment renewable energy roadmap. European Commission (EC), Directorate-General For Agriculture and Rural Development. 2007.

GALVÃO, M. N.; YAMANAKA, N.; TANJI, S. Preservação de duas microalgas *Nannochloropsis oculata* e *Tetraselmis tetrahele* por resfriamento e congelamento. *Bol. Inst. Pesca*, 23: 1-11. 1996.

GIRARD, J. et al. Mixotrophic cultivation of green microalgae *Scenedesmus obliquus* on cheese whey permeate for biodiesel production. *Algal Res* 5:241–248. 2014.

HIBBERD, D.J. Notes on the taxonomy and nomenclature of the algal classes Eustigmatophyceae and Tribophyceae (synonym Xanthophyceae). *Journal of the Linnean Society of London, Botany* 82: 93-119. 1981.

HO, S. H. et al. Perspectives on microalgal CO₂ emissions mitigation systems – A review. *Biotechnol. Adv* 29:189-198. 2011.

HOEK, C.; MANN, D.G.; JAHNS, H.M. *Algae An Introduction to Phycology*. Cambridge University Press, Cambridge. ISBN 0-521-30419-9. 1995.

KANEL, J. S.; GUELCHER, S. A. Method for rupturing microalgae cells. US Patent 6000551; 1999.

LCA (Brasil). Fotobiorreator em coluna (2013). Disponível em: <<http://www.creaba.org.br/noticia/2582/Brasil-investe-na-pesquisa-de-biodiesel-a-partir-de-microalgas.aspx>. Acesso em: 12 nov. 2017.

LI, Y. et al. Biofuels from microalgae. *Biotechnology Progress*. 24(4):815–20. 2008.

LOURENÇO, S. DE O. *Cultivo de microalgas Marinhas: Princípios e aplicações*. Brasil: RiMa, 2006.

MAGNOTTI, C. et al. Using residual water from a marine shrimp farming BFT system. part I: nutrient removal and marine microalgae biomass production. *Aquaculture Research*. v. 47, p. 2435–2443. 2016.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 14(1), p. 217–232. doi:10.1016/j.rser.2009.07.020. - 2010.

MAEDA, Y. et al. Marine microalgae for production of biofuels and chemicals. *Science Direct. Current Opinion in Biotechnology*, 50:111–120. 2018.

MILLEDGE, J.J. Commercial application of microalgae other than as biofuels: a brief review. *Rev. Environ. Sci. Biotechnol.* 10: 31–41. 2011.

MULLER-FEUGA, A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends. *Journal of Applied Phycology*. 12. 527–534, 2000.

NORSKER, N. et al. Microalgal production—a close look at the economics. *Biotechnol. Adv.* 29, 24–27. 2011.

OZKAN, A. et al. Reduction of water and energy requirement of algae cultivation using an algae biofilm photobioreactor. *Bioresource Technology*, 114, p. 542–548, 2012.

POSTEN, C. Design principles of photo-bioreactors for cultivation of microalgae. *Eng. Life Sci.* 9: 165–177. 2009.

PROKOP, A.; BAJPAI, R. K.; ZAPPI, M. E. (ed). *Algal biorefineries, volume 2: Products and Refinery Design*. Springer, Dordrecht, The Netherlands, 150-151 p. 2015.

RAJA, R. et al. A perspective on the biotechnological potential of microalgae. *Critical Reviews in Microbiology* 34(2):77–88. 2008.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. *Biologia Vegetal*, 6. Ed., Guanabara-Koogan, 2001.

RICHMOND, A. Physiological principles and modes of cultivation in mass production of photoautotrophic microalgae. In: *Chemicals from Microalgae* (ed. Z. Cohen), pp. 353–386. Taylor & Francis, London. 1999.

RICHMOND, A. *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Blackwell Science Ltd; 2004.

SÁNCHEZ MIRÓN, A. et al. Bubble-Column and Airlift Photobioreactors for algal culture. *American Institute of Chemical Engineers*. 46(9), p. 1872-1887, 2000.

SAPPHIRE ENERGY (Estados Unidos da América). *Sapphire Energy 1 acre pond*. 2014. Disponível em: <[https://cdn.webvanta.com/000000/11/79/original/images/multimedia/Sapphire Energy 1 acre pond.jpg](https://cdn.webvanta.com/000000/11/79/original/images/multimedia/Sapphire%20Energy%201%20acre%20pond.jpg)>. Acesso em: 16 abr. 2018.

SATYANARAYANA, K.G.; MARIANO, A.B.; VARGAS, J.V.C. A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. *Int. J. Energ. Res.* 35: 291–311. 2011.

SIERRA, E. et al. Characterization of a flat plate photobioreactor for the production of microalgae. *Chemical Engineering Journal*, 138, 136- 147, 2008.

SUBITEC (Alemanha). Fotobiorreator Flat Panel. Disponível em: <<https://subitec.com/en/pilot-plants-of-photobioreactors-algae-cultivation>>. Acesso em: 23 abr. 2018.

SUTHERLAND, D.L.; TURNBULL, M.H.; CRAGGS, R.J. Increased pond depth improves algal productivity and nutrient removal in wastewater treatment high rate algal ponds. *Water Res.* 53, 271–281. 2014.

TREDICI, M.R. Mass production of microalgae: photobioreactors. In: *Handbook of Microalgal Cultures, Biotechnology and Applied Phycology* (ed. A. Richmond), pp. 178– 214. Blackwell, Oxford. 2004.

TREDICI, M.R. Microalgae cultures: limitation and potential. In: *The 1st European Algae Biomass Association Conference & General Assembly*, 3–4 June 2009, Florence, Italy. 2009.

TREDICI, M.R.; CHINI ZITTELLI, G.; RODOLFI, L. Photobioreactors. In: *Encyclopedia of Industrial Biotechnology: Bioprocess, Bioseparation, and Cell Technology*. Vol 6 (eds M.C. Flickinger & S. Anderson), pp. 3821–3838. John Wiley; Sons, Hoboken. 2010.

UGWU, C. U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA. Photobioreactors for mass cultivation of algae. *Bioresource Technology*. 99, p. 4021-4028, 2008.

VASUMATHI, K. K.; PREMALATHA, M.; SUBRAMANIAN, P. Parameters influencing the design of photobioreactors for the growth of microalgae. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 16, p. 5443-5450, 2012.

WANG, B. et al. CO₂ bio-mitigation using microalgae. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 79(5):707–18. 2008.

- WANG, B.; LAN, C. Q. Biomass production and nitrogen and phosphorus removal by the green alga *Neochlorisoleoabundans* in simulated wastewater and secondary municipal wastewater effluente. *Bioresource Technology*. 2011.
- WANG, B.; LAN, C. Q.; HORSMAN, M. Closed photobioreactor for production of microalgal biomasses. *Biotechnology Advances*. 30, p. 904-912. 2012.
- YÚFERA, M.; LUBIÁN L.M. Efects of microalgal diet on growth and development of invertebrates in marine aquaculture. in *An Introduction to Applied Phycology* (ed. by I. Akatsuka), pp. 209-227. The Hague, the Netherlands. 1990.
- ZITTELLI, G. C. et al. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. Cultures in outdoor tubular photobioreactors. *Journal of Biotechnology*. Italy, 70, 299-312, 1999.
- ZOU, N. et al. Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis* sp. (Eustigmatophyceae). *European Journal of Phycology*. 35: 2, 127-133, 2000.