

**unesp**  UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA  
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”  
CAMPUS DE GUARATINGUETÁ

**JULIANA LAIATE**

**Estudo do Processo de Cultivo da Microalga *Chlorella minutissima* e Caracterização  
Termoquímica de sua Biomassa para Aplicação em Gaseificação**

Guaratinguetá - SP  
2018

**Juliana Laiate**

**Estudo do Processo de Cultivo da Microalga *Chlorella minutissima* e Caracterização  
Termoquímica de sua Biomassa para Aplicação em Gaseificação**

Tese apresentada à Faculdade de Engenharia  
do Campus de Guaratinguetá, Universidade  
Estadual Paulista, para a obtenção do título de  
Doutor em Engenharia Mecânica na área de  
Gestão e Otimização.

Orientador: Prof. Dr. Messias Borges Silva  
Co-orientador: Prof. Dr. Ronney Arismel  
Mancebo Boloy

Guaratinguetá - SP  
2018

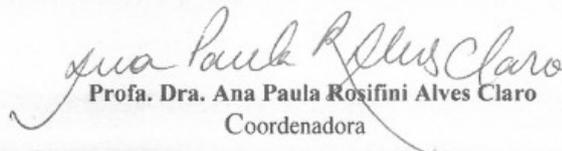
L185e	<p>Laiate, Juliana</p> <p>Estudo do processo de cultivo da microalga chlorella minutíssima e caracterização termoquímica de sua biomassa para aplicação em gaseificação / Juliana Laiate. – Guaratinguetá, 2018.</p> <p>131 f : il.</p> <p>Bibliografia: f. 117-129</p> <p>Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, 2018.</p> <p>Orientador: Prof. Dr. Messias Borges Silva</p> <p>Coorientador: Prof. Dr. Ronney Arismel Mancebo</p> <p>1. Gaseificação de biomassa. 2 Métodos experimentais 3. Microalga 4. Taguchi, Métodos (Controle de qualidade) I. Título.</p> <p style="text-align: right;">CDU 620.91 (043)</p>
-------	--

*JULIANA LAIATE*

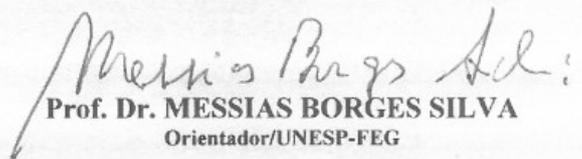
ESTA TESE FOI JULGADA ADEQUADA PARA A OBTENÇÃO DO TÍTULO DE  
“DOUTOR EM ENGENHARIA MECÂNICA”

PROGRAMA: ENGENHARIA MECÂNICA

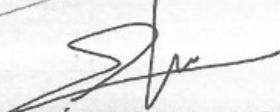
APROVADA EM SUA FORMA FINAL PELO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO

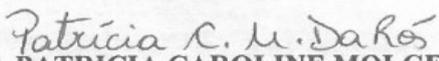
  
Prof. Dra. Ana Paula Rosifini Alves Claro  
Coordenadora

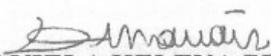
**BANCA EXAMINADORA:**

  
Prof. Dr. MESSIAS BORGES SILVA  
Orientador/UNESP-FEG

  
Prof. Dr. JOSÉ ROBERTO DALE LUCHE  
UNESP-FEG

  
PROF. DR. JOSÉ MIGUEL ANGULO IBÁÑEZ  
Universidad de Granada/Espanha

  
Prof. Dr. PATRICIA CAROLINE MOLGERO DA RÓS  
EEL/USP

  
Prof. Dr. DANIELA HELENA PELEGRINE GUIMARÃES  
EEL/USP

Agosto de 2018

## **DADOS CURRICULARES**

### **JULIANA LAIATE**

<b>NASCIMENTO</b>	08.01.1987 – Pindamonhangaba / SP
<b>FILIAÇÃO</b>	Paulo Sergio Laiate Silvana Bueno Laiate
<b>2006/2010</b>	Graduação em Engenharia de Produção Mecânica Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá – FEG/UNESP
<b>2011/2011</b>	Especialização em Gestão de Negócios Saint Paul Institute of Finance.
<b>2015/2018</b>	Doutorado em Engenharia Mecânica – Área de Gestão e Otimização Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá – FEG/UNESP.
<b>2017/2017</b>	Doctorado en Estadística Matemática y Aplicada Universidad de Granada – España

dedico este trabalho de modo especial, à minha família, por todo o apoio, amor e compreensão nos momentos mais tortuosos.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus, por ter me dado a vida e a força para lutar diante das adversidades. Quando a caminhada era pesada demais, me trouxe conforto e paz interior.

ao meu marido, *Luiz Fernando*, que me acompanhou e sempre me incentivou desde o início dessa jornada, e que, independente da situação, sempre acreditou mais em mim do que eu mesma.

aos meus pais, *Paulo e Silvana*, que sempre me apoiaram.

a minha irmã, *Gabriela*, que sempre torceu por mim.

as minhas lindas afilhadas, *Maria Cecília, Helena e Maria Clara*, que mesmo não tendo ideia alguma do que acontece, são capazes de me fazer desligar completamente e recarregar minhas energias.

ao *Professor Beto*, por todo o carinho, preocupação e os quilos a mais que me fez ganhar com café da tarde na Kero Mais. Obrigada por compartilhar seu espaço comigo e por ser especial.

ao meu orientador, *Prof. Dr. Messias Borges Silva*, e co-orientador, *Prof. Dr. Ronney Arismel Mancebo Boloy*, por me aceitarem como orientada.

a *Carla, Ítalo e Du*, pelos cultivos no Laboratório de Engenharia de Microalgas da EEL-USP.

a *Prof. Dra. Ivonete Ávila, Gretta e Carlos*, por permitirem o uso do laboratório para as minhas análises e por todas as dicas.

a *Prof. Dra. Michelle Leali*, por me auxiliar com a realização da termogravimetria.

ao *Prof. Dr. José Miguel*, por compartilhar seu conhecimento.

a *ANP-PRH48*, pelo subsídio no início da pesquisa.

a todos que direta ou indiretamente contribuíram para o meu crescimento e desenvolvimento.

*“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo.”*

Martin Luther King

**LAIATE, J. Estudo do Processo de Cultivo da Microalga *Chlorella minutíssima* e Caracterização Termoquímica de sua Biomassa para Aplicação em Gaseificação. 130 f.** Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Faculdade de Engenharia do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Guaratinguetá, 2018.

## RESUMO

O interesse na diversificação da matriz energética por meio de fontes de energias renováveis tem promovido mudanças no âmbito nacional e internacional, em setores acadêmicos, industriais, sociais e governamentais com foco no desenvolvimento de processos biotecnológicos baseados nos três pilares da sustentabilidade: ambiental, social e econômico. Frente a esse contexto, as microalgas são consideradas uma fonte promissora alternativa para a produção de biocombustíveis por apresentarem alta taxa de crescimento e de concentração de lipídeos. O presente trabalho realizou um estudo do processo de cultivo da microalga marinha *Chlorella minutíssima* por meio da ferramenta DOE – *Design of Experiments* para maximização da sua concentração microalgal e do teor lipídico simultaneamente, além de sua caracterização termoquímica para aplicação no processo de gaseificação. O cultivo ocorreu em fotobiorreator tubular descontínuo do tipo coluna de bolhas seguindo o arranjo ortogonal  $L_8$  de Taguchi, e as variáveis de processo foram fluxo de  $CO_2$  na alimentação, concentração de nitrato, concentração de fosfato, suplementação, temperatura e salinidade. A investigação demonstrou que a concentração de nitrato e fosfato, o fluxo de gás carbônico, a suplementação do meio e a temperatura são fatores influentes na concentração microalgal e no teor lipídico, sendo a melhor configuração para maximização conjunta, utilizando-se a função *desirability*, com o nitrato operando em nível alto e os demais fatores em nível baixo. A análise elementar forneceu teores condizentes com alguns relatos da literatura, a termogravimetria auxiliou na identificação das faixas de temperatura com maior taxa de decomposição (300 °C a 400 °C), e o poder calorífico superior da biomassa encontrado se demonstrou atrativo para a produção de *syngas* quando comparado ao de materiais como casca de arroz e lascas de eucalipto já empregados na gaseificação em maior escala. Dessa forma, a metodologia empregada e os resultados apresentados neste trabalho podem auxiliar na busca da viabilização econômica do cultivo, em grande escala, da microalga marinha *Chlorella minutíssima* para produção de biocombustível pelo processo de gaseificação.

**PALAVRAS-CHAVE:** Planejamento de Experimentos. DOE. Taguchi. Otimização com Múltiplas Respostas. *Desirability*. Microalgas. *Chlorella minutíssima*. Gaseificação.

**LAIATE, J. Study of the cultivation process of microalgae *Chlorella minutissima* and thermochemical characterization of its biomass for application in gasification. 130 f.** Thesis (Doctorate in Mechanical Engineering) – School of Engineering, Campus Guaratinguetá, São Paulo State University (UNESP), Guaratinguetá, 2018.

### **ABSTRACT**

The interest in diversifying the energy matrix through renewable energy sources has promoted changes at the national and international levels in academic, industrial, social and governmental sectors, focused on the development of biotechnological processes based on the three pillars of sustainability: environmental, social and economic. In this context, microalgae are considered a strong promising alternative source for the production of biofuels due to their high rate of growth and lipid concentration. The present work carried out a study of the cultivation process of the marine microalgae *Chlorella minutissima* using DOE – Design of Experiments to maximize the cell growth and the lipid content simultaneously, besides its thermochemical characterization for application in the gasification process. Cultivation occurred in a discontinuous-tubular photobioreactor, bubble-column type, following Taguchi L<sub>8</sub> Orthogonal Array design, and the process variables were: CO<sub>2</sub> feed flow rate, nitrate concentration, phosphate concentration, supplementation (metals and vitamins), temperature and salinity. Results showed that the nitrate and phosphate concentration, CO<sub>2</sub> feed flow, supplements and temperature are influential factors in the cell growth and lipid content, and the best configuration presenting good results for simultaneous maximization, using desirability, was nitrate operating at high level and the other factors at low level. Ultimate analysis provided levels consistent with some reports in the literature. Thermogravimetric analysis identified the temperature ranges with the highest decomposition rate (300 °C to 400 °C). The higher heating value of the biomass found was attractive for the production of syngas when compared to raw materials such as rice husk and eucalyptus chips already used in the larger scale gasification. In face of, the methodology employed and the results presented in this work can be useful in seeking economic feasibility of the large-scale cultivation of *Chlorella minutissima* for the production of biofuels by the gasification process.

**KEYWORDS:** Design of Experiments. DOE. Taguchi. Multiresponse Optimization. *Desirability*. Microalgae. *Chlorella minutissima*. Gasification.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Produção de energia elétrica por fonte.....	18
Figura 2 – Pontuação para a seção de energia renovável .....	18
Figura 3 – Esquema de ocorrência do efeito estufa.....	21
Figura 4 – Classificação da pesquisa.....	25
Figura 5 – Publicações para o uso de microalgas na produção de biocombustíveis .....	27
Figura 6 – Áreas das publicações referente ao uso de microalgas na produção de biocombustíveis.....	27
Figura 7 – Geração de energia elétrica mundial por fonte .....	29
Figura 8 – Benefícios da eficiência energética.....	30
Figura 9 – Geração de energia elétrica total no Brasil .....	31
Figura 10 – Evolução da participação das principais fontes na matriz energética brasileira ..	32
Figura 11 – Classificação das microalgas.....	36
Figura 12 – Mercado para produtos derivados de algas .....	38
Figura 13 – Variação da biomassa em regime batelada .....	39
Figura 14 – Fotobiorreatores para cultivo de microalgas .....	41
Figura 15 – Produção de biocombustíveis de algas.....	44
Figura 16 – Processos de conversão de biomassa microalgal em biocombustíveis .....	45
Figura 17 – Efeito da temperatura e da umidade da biomassa na eficiência da gaseificação .	48
Figura 18 – Gaseificadores de biomassa .....	49
Figura 19 – Estratégia inicial do planejamento experimental .....	55
Figura 20 – Modelo geral de um processo .....	56
Figura 21 – Objetivos da otimização do método de Derringer e Suich.....	70
Figura 22 – Relações de importância entre o alvo e os limites no <i>desirability</i> .....	70
Figura 23 – Etapas da fase experimental .....	73
Figura 24 – Cepário .....	75
Figura 25 – Fotobiorreatores experimentais do tipo coluna de bolhas.....	76
Figura 26 – Colheita da biomassa.....	77
Figura 27 – Quantificação dos lipídeos totais .....	79
Figura 28 – Ensaio em bomba calorimétrica para determinação de PCS.....	80
Figura 29 – Análise termogravimétrica .....	81
Figura 30 – Forno para calorimetria exploratória diferencial .....	82
Figura 31 – Analisador elementar Perkin Elmer 2400 series ii.....	82

Figura 32 – Fluxograma das etapas desempenhadas na pesquisa .....	85
Figura 33 – Efeito dos fatores em relação à média sobre a concentração microalgal.....	86
Figura 34 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para a biomassa .....	87
Figura 35 – Gráfico normal dos efeitos padronizados para biomassa.....	88
Figura 36 – Efeito dos fatores em relação à razão S/N sobre a concentração microalgal.....	91
Figura 37 – Efeito dos fatores em relação à média sobre o teor lipídico .....	93
Figura 38 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para teor lipídico.....	94
Figura 39 – Gráfico normal dos efeitos padronizados para teor lipídico .....	95
Figura 40 – Efeito dos fatores em relação à razão S/N sobre o teor lipídico .....	98
Figura 41 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados em relação à S/N para teor lipídico .....	100
Figura 42 – Otimização simultânea para a configuração inicial .....	102
Figura 43 – Condição para otimização conjunta das variáveis respostas.....	103
Figura 44 – Análise termogravimétrica em atmosfera inerte para a biomassa da <i>Chlorella minutissima</i> .....	106
Figura 45 – Análise termogravimétrica em atmosfera oxidativa para a biomassa da <i>Chlorella minutissima</i> .....	107
Figura 46 – Calorimetria exploratória diferencial – DSC .....	108
Figura 47 – Características observadas durante o ensaio de PCS .....	110

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Frequência das palavras-chaves norteadoras da pesquisa .....	22
Tabela 2 – Produtividade de óleo de culturas terrestres comparada à microalga.....	37
Tabela 3 – Reagentes para a composição do meio f/2.....	74
Tabela 4 – Fatores para o estudo exploratório.....	83
Tabela 5 – Matriz L <sub>8</sub> de Taguchi .....	83
Tabela 6 – Resultados de biomassa (g/L) e teor lipídico (%) .....	85
Tabela 7 – Análise de variância para a biomassa em relação à média – fotobiorreator de 20 L .....	89
Tabela 8 – Análise de variância para a biomassa em relação à média – fotobiorreator de 50 L .....	89
Tabela 9 – Análise de variância para a biomassa em relação à S/N – fotobiorreator de 20 L... .....	92
Tabela 10 – Análise de variância para a biomassa em relação à S/N – fotobiorreator de 50 L. .....	93
Tabela 11 – Análise de variância para o teor lipídico em relação à média – fotobiorreator de 20 L.....	96
Tabela 12 – Análise de variância para o teor lipídico em relação à média – fotobiorreator de 50 L.....	96
Tabela 13 – Análise de variância para o teor lipídico em relação à S/N – fotobiorreator de 20 L.....	99
Tabela 14 – Análise de variância para o teor lipídico em relação à S/N – fotobiorreator de 50 L.....	99
Tabela 15 – Configuração inicial para o otimizador de resposta .....	101
Tabela 16 – Variação da <i>desirability</i> com alterações de valores de peso.....	103
Tabela 17 – Valores de concentração microalgal e teor lipídico.....	104
Tabela 18 – Análise elementar de diversas linhagens de microalgas.....	105
Tabela 19 – Poder calorífico superior da biomassa da <i>Chlorella minutissima</i> .....	109
Tabela 20 – Poder calorífico superior de diferentes biomassas.....	110
Tabela 21 – Valores de PCS encontrados para a <i>Chlorella minutissima</i> .....	111

## LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Exemplos de biocombustíveis .....	33
Quadro 2 – Comparativo entre os biocombustíveis e produtos derivados do petróleo .....	35
Quadro 3 – Classificação das microalgas de acordo com a classe e pigmentação .....	36
Quadro 4 – Vantagens e limitações de <i>raceways</i> e fotobiorreatores .....	40
Quadro 5 – Comparativo entre <i>raceways</i> e fotobiorreatores .....	42
Quadro 6 – Vantagens e desvantagens dos sistemas de gaseificação de biomassa .....	51
Quadro 7 – Aplicações da gaseificação em biomassa microalgal .....	53
Quadro 8 – Resultados para um teste de hipótese .....	59
Quadro 9 – Hipóteses para ANOVA de dois fatores .....	60
Quadro 10 – ANOVA: 2 fatores, 2 níveis e <i>n</i> réplicas .....	61
Quadro 11 – ANOVA .....	62
Quadro 12 – Estudos relevantes com a aplicação da função <i>desirability</i> .....	72

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ANP	Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis
DOE	Design of Experiments
DSC	Calorimetria Exploratória Diferencial
EPE	Empresa de Pesquisa Energética
IAEA	International Atomic Energy Agency
IEA	International Energy Agency
MME	Ministério de Minas e Energia
PCS	Poder Calorífico Superior
PNPB	Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel
RISE	Regulatory Indicators for Sustainable Energy
Tep	Toneladas equivalente de petróleo
TGA	Análise Termogravimétrica
TWh	Terawatt-hora

## LISTA DE SÍMBOLOS

$A$	nível de significância do teste
$A_i$	efeito do $i$ -ésimo tratamento do fator A
$AB_{ij}$	efeito da $ij$ -ésima interação AB entre os fatores
$B$	probabilidade de se cometer erro tipo II
$D$	desirability global
$d_i$	desirability individual
$\varepsilon_{ijk}$	componente do erro aleatório
$F$	valor da distribuição F de Snedecor
g.l.	graus de liberdade
$H_0$	hipótese nula
$H_1$	hipótese alternativa
$I$	número de níveis de A
$J$	número de níveis de B
$K$	número de fatores
$K$	número de réplicas
$L$	menor valor aceitável para a resposta Y
MS	média quadrática
$N$	número de experimentos
$P$	valor da probabilidade que fornece o grau de confiança da significância de cada fator ou interação
$s'$	variação da taxa da desirability com a resposta
$S^2$	Variância
S/N	razão sinal-ruído
SS	soma dos quadrados
$SS_T$	soma dos quadrados total
$T$	valor desejado ótimo
$t'$	variação da taxa da desirability com a resposta
$U$	maior valor aceitável para a resposta Y
$M$	média geral
$W$	soma dos graus de importância
$w_i$	grau de importância de cada resposta individual
$Y_{ijk}$	( $ijk$ )-ésima observação obtida no experimento

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	17
1.1	CONSIDERAÇÕES INICIAIS E CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA	17
1.2	PROBLEMA DE PESQUISA .....	20
1.3	JUSTIFICATIVA .....	22
1.4	TEMA .....	23
1.5	OBJETIVOS .....	23
<b>1.5.1</b>	<b>Objetivo geral</b> .....	23
<b>1.5.2</b>	<b>Objetivos específicos</b> .....	23
1.6	MÉTODO DE PESQUISA .....	24
1.7	DELIMITAÇÃO DO TRABALHO .....	25
1.8	CONTRIBUIÇÕES .....	26
1.9	ESTRUTURA DO TRABALHO .....	28
<b>2</b>	<b>REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	29
2.1	CENÁRIO DA ENERGIA NO MUNDO .....	29
2.2	CENÁRIO DA ENERGIA NO BRASIL .....	31
2.3	BIOCOMBUSTÍVEIS COMO ALTERNATIVA ENERGÉTICA .....	33
2.4	GERAÇÕES DOS BIOCOMBUSTÍVEIS .....	34
2.5	MICROALGAS .....	35
<b>2.5.1</b>	<b><i>Chlorella minutíssima</i></b> .....	38
2.6	SISTEMAS DE CULTIVO .....	38
2.7	O POTENCIAL ENERGÉTICO DAS MICROALGAS .....	42
2.8	GASEIFICAÇÃO .....	45
<b>2.8.1</b>	<b>Agentes gaseificantes</b> .....	48
<b>2.8.2</b>	<b>Configuração dos gaseificadores</b> .....	49
2.9	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL .....	54
2.10	METODOLOGIA DE PROJETO DE EXPERIMENTOS .....	56
2.11	ANÁLISE DE VARIÂNCIA - ANOVA .....	58
2.12	MÉTODO TAGUCHI .....	62
2.13	FUNÇÃO <i>DESIRABILITY</i> .....	66
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	73
3.1	MATERIAIS E CONDIÇÕES DE CULTIVO .....	73
<b>3.1.1</b>	<b>Linhagem da microalga</b> .....	73

3.1.2	<b>Reagentes</b> .....	73
3.1.3	<b>Manutenção da cepa</b> .....	74
3.1.4	<b>Fotobiorreator do tipo coluna de bolhas</b> .....	75
3.1.5	<b>Desinfecção da água e dos fotobiorreatores</b> .....	76
3.1.6	<b>Colheita da biomassa</b> .....	77
3.1.7	<b>Determinações analíticas</b> .....	77
3.1.7.1	Quantificação da biomassa por turbidimetria e contagem celular.....	77
3.1.7.2	Peso seco da biomassa.....	78
3.1.7.3	Quantificação de lipídeos totais.....	78
3.1.7.4	Determinação do poder calorífico superior – PCS.....	79
3.1.7.5	Análise termogravimétrica – TGA .....	80
3.1.7.6	Calorimetria exploratória diferencial – DSC.....	81
3.1.7.7	Análise elementar – CHN.....	82
3.2	<b>MÉTODOS</b> .....	83
3.2.1	<b>Arranjo ortogonal L<sub>8</sub> de Taguchi</b> .....	83
3.2.2	<b>ANOVA para análise dos fatores influentes</b> .....	84
3.2.3	<b>Modelagem e simulação</b> .....	84
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	85
4.1	<b>CONCENTRAÇÃO MICROALGAL – BIOMASSA</b> .....	86
4.1.1	<b>Avaliação da concentração microalgal em relação à média</b> .....	86
4.1.2	<b>Avaliação da concentração microalgal em relação à razão S/N</b> .....	91
4.2	<b>TEOR LIPÍDICO</b> .....	93
4.2.1	<b>Avaliação do teor lipídico (%) em relação à média</b> .....	93
4.2.2	<b>Avaliação do teor lipídico (%) em relação à razão S/N</b> .....	97
4.3	<b>OTIMIZAÇÃO COM A FUNÇÃO <i>DESIRABILITY</i></b> .....	100
4.4	<b>ANÁLISE ELEMENTAR DA BIOMASSA</b> .....	104
4.5	<b>ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DA BIOMASSA</b> .....	105
4.6	<b>CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL DA BIOMASSA</b> .....	108
4.7	<b>PODER CALORÍFICO SUPERIOR DA BIOMASSA</b> .....	109
4.8	<b>ANÁLISES TERMOQUÍMICAS E A GASEIFICAÇÃO</b> .....	111
5	<b>CONCLUSÕES</b> .....	113
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	116
	<b>APÊNDICE A – Coeficientes do modelo linear</b> .....	129

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 CONSIDERAÇÕES INICIAIS E CONTEXTUALIZAÇÃO DO PROBLEMA

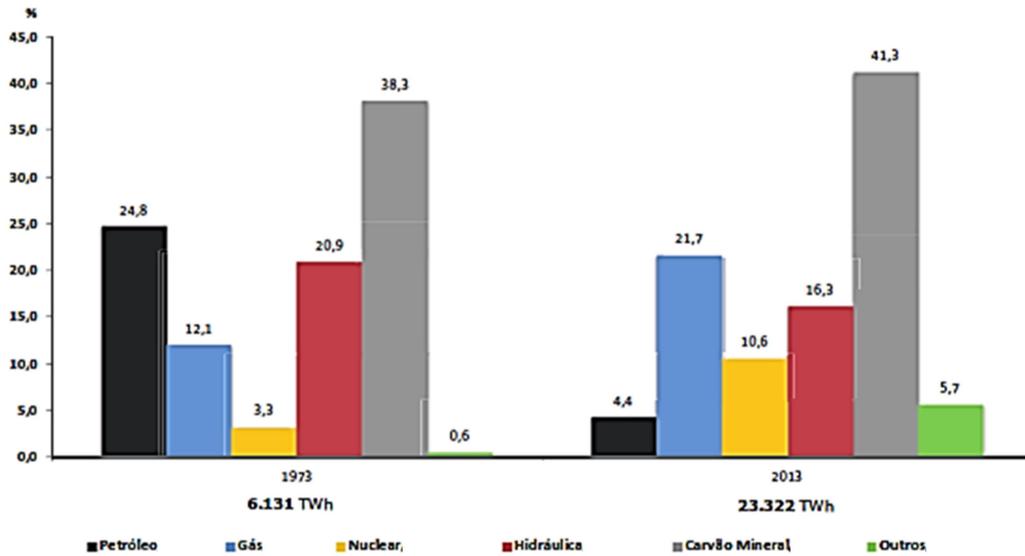
Quando se realiza um estudo na história de países industrializados ou em desenvolvimento, no que se refere ao modelo energético, nota-se que o mesmo toma como base o uso de recursos não renováveis e poluentes, a exemplo do petróleo. Por muito tempo, a ideia de um consumo desenfreado dos combustíveis fósseis era o único caminho a ser seguido em busca do crescimento econômico. Atualmente, políticas sustentáveis de energia são uma crescente necessidade mundial para a manutenção do crescimento econômico e proteção ambiental para mitigação dos impactos. De acordo com a Agência Internacional de Energia (*International Energy Agency – IEA*, 2017), a população mundial passará de 7,4 bilhões para a casa dos 9 bilhões nos próximos 20 anos, e considerando um crescimento econômico global de 3,4% anual, as necessidades energéticas aumentarão em 30% no mesmo período, o que equivale a adicionar países como China e Índia à demanda global.

Nota-se ainda que o aumento dos custos de energia associado a elevadas emissões de carbono, aquecimento global e esgotamento dos combustíveis fósseis representam um desafio urgente nos últimos anos (LI et al., 2016; NEVES et al., 2017). No final de 2014, uma avaliação da *British Petroleum – BP* demonstrou que as reservas mundiais de petróleo, gás natural e carvão poderiam atender uma produção global de no máximo 53, 54 e 110 anos respectivamente (CHEN; WU, 2017), o que torna a conservação de recursos e desenvolvimento de meios alternativos de energia uma preocupação global, já que 67,4% da produção de energia elétrica mundial é oriunda das fontes citadas anteriormente, conforme observado na Figura 1. Além disso, de acordo com o Ministério de Minas e Energia - MME (2016), somente 10,2% da oferta de energia no mundo é proveniente de fontes renováveis. Nesse contexto, prevenir uma crise energética representa um dos principais desafios do século XXI, para manutenção do desenvolvimento econômico e preservação da sobrevivência humana (KANNAN; VAKEESAN, 2016).

Dessa forma, os recursos energéticos convencionais, que simbolizam a alta eficiência no direcionamento do progresso econômico, frente a seu esgotamento acelerado e problemas ambientais causados por suas emissões, abre espaço para o desenvolvimento intensivo de pesquisas que promovam a proteção ambiental por meio de tecnologias limpas, uma vez que a geração de energia baseada em combustíveis fósseis tem sido considerada insustentável no longo prazo, tornando-se evidente o crescimento do setor energético com foco em uma matriz

que dependa, principalmente, de recursos renováveis (ELLABBAN; ABU-RUB; BLAABJERG, 2014).

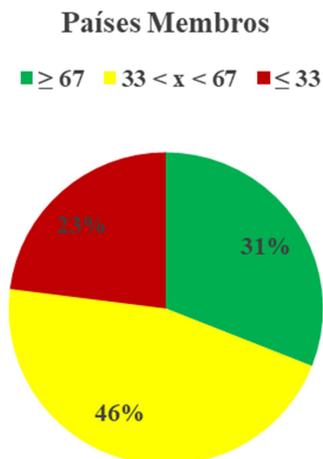
Figura 1 – Produção de energia elétrica por fonte.



Fonte: MME (2016).

De acordo com o *Regulatory Indicators for Sustainable Energy – RISE* (2016), de seus 111 países membros, 31% se encontram na zona verde, ou seja, apresentam políticas robustas de apoio à energia sustentável, 46% se encontram na zona amarela com oportunidades de melhorias em suas práticas enquanto que 23% dos países não demonstram esforços na construção de uma política mais sustentável, conforme indicado na Figura 2.

Figura 2 – Pontuação para a seção de energia renovável.



Fonte: Adaptado de RISE (2016).

É nesse cenário que se observa que muitos países estão motivados a adotar o uso de biocombustíveis a partir de matérias-primas renováveis (CHISTI, 2006; KOLLER; MUHR; BRAUNEGG, 2014; NEVES et al., 2017). Esse tipo de combustível apresenta níveis de oxigênio entre 10-45% em massa seca quando comparados a combustíveis fósseis (valores próximos a zero), além de níveis muito baixos de enxofre, que permitem uma combustão mais limpa e eficiente (NWOKOAGBARA; OLALEYE; WANG, 2015).

Para Ghadiryanfar et al. (2016), matérias-primas como a cana-de-açúcar e grãos como milho, soja e trigo representam uma alternativa para a produção de biocombustíveis conhecidos como de primeira geração (etanol, biodiesel) mas que podem acarretar em competição com a finalidade alimentícia desses produtos, uma vez que o propósito essencial da agricultura é garantir quantidades suficientes de alimento para a demanda nutricional da população. Entretanto, se houver um planejamento estruturado nas condições de cultivo de cada país ao redor do mundo, é possível adotar uma direção que suporte o desenvolvimento da agricultura em termos de produção sustentável, visto que a biomassa pode substituir uma série de produtos químicos, incluindo a linha de petroquímicos, desde que seu potencial esteja atrelado ao seu uso eficiente (LOZANO et al., 2018; SADOWSKI; BAER-NAWROCKA, 2018).

O range de pesquisas para a transição global no caminho da sustentabilidade é muito amplo e inclui, além da biomassa, tópicos como energia solar e eólica, construções verdes, veículos elétricos, políticas para a minimização das mudanças climáticas e gestão para a integração de energias renováveis aos sistemas de geração e distribuição atuais. Frente à vasta gama, a biomassa proveniente do cultivo de microalgas vem ganhando destaque e se demonstra como uma alternativa interessante na produção de biocombustíveis, principalmente por não apresentar concorrência direta com os alimentos e meios de cultivos terrestres (MUBARAK; SHAIJA; SUCHITHRA, 2015; ZHANG et al., 2010), além de poder ser convertida em combustíveis líquidos e gasosos a exemplo do biodiesel, bioetanol e biohidrogênio, por meio de processos termoquímicos e bioquímicos, sendo a pirólise e a gaseificação os métodos mais apropriados para essa conversão, tornando-se um recurso promissor capaz de atender a demanda global de combustíveis no futuro (DEMIRBAS, 2010; SANSANIWAL; ROSEN; TYAGI, 2017).

Além disso, fatores como rápido crescimento quando comparada as demais culturas terrestres e sua habilidade em converter/capturar CO<sub>2</sub> da atmosfera pelo processo fotossintético durante o cultivo, tornam a produção de biomassa microalgal atrativa nos esforços ao desenvolvimento de processos mais sustentáveis, e sua gaseificação tem sido

considerada um processo relevante na transformação em biocombustível, por tratar-se de uma oxidação parcial, ou seja, menores quantidades de oxigênio requeridas quando comparadas à combustão completa (ADNAN; HOSSAIN, 2018; SHEKH et al., 2016; ZENG et al., 2017). O resultado dessa transformação depende, além de parâmetros operacionais (temperatura, pressão, agentes gaseificantes), das características da biomassa adquirida ao longo do cultivo (HARUN et al., 2014). Sendo assim, ser capaz de identificar os fatores mais relevantes para maximização da concentração microalgal durante o período de cultivo, torna-se de extrema importância para o abastecimento do processo de conversão energética.

O Planejamento de Experimentos (*Design of Experiments* – DOE) é uma ferramenta capaz de lidar com essa exploração dos fatores mais relevantes para o cultivo, já que tem se estabelecido como uma aplicação de sucesso em vários segmentos (*design* e desenvolvimento de produto, qualidade, indústrias químicas, desenvolvimento de *softwares* para engenharia, entre outros), uma vez que por meio de uma avaliação sistemática embasada em experimentos e modelamento matemático, avalia impactos, efeitos e interações dos fatores em relação à performance da variável resposta em análise, além de estimar a combinação de recursos disponíveis capaz de maximizar níveis de produtividade e minimizar custos sem perda de qualidade (MONTGOMERY, 2005; NOBAHAR; MOJIB; MOHARRAMI, 2015; SCHLUETER; GEYER, 2018).

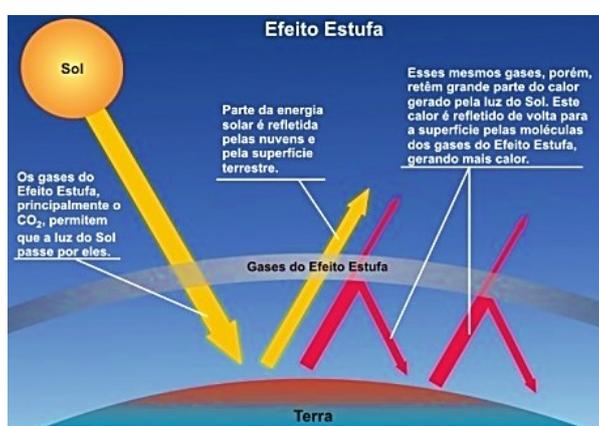
Sendo assim, contar com uma ferramenta que seja capaz de identificar os fatores que influenciam substancialmente um determinado processo, seja ele de qualquer espécie, identificar as faixas em que os mesmos possam operar de forma otimizada e selecionar os níveis mais adequados que proporcionem resultados otimizados, leva a ganhos tanto na área econômica quanto na ambiental e social, e contribui, significativamente, para que governantes bem como as indústrias e a sociedade enfrentem o grande número de desafios para trilhar o caminho da sustentabilidade e, assim, garantir e proporcionar o progresso e a qualidade de vida para as gerações futuras (LOZANO et al., 2018).

## 1.2 PROBLEMA DE PESQUISA

Para o século XXI, há estudos que revelam uma projeção alarmante no que se refere ao aumento da temperatura média global em 4 °C. Durante o período de 1880 a 2012, o aumento já atingiu a casa do 0,85 °C, sendo que boa parte dessa alteração ocorreu durante as últimas décadas, influenciando a degradação de ecossistemas e o desenvolvimento sustentável da economia e da sociedade. As emissões de gases do efeito estufa, que se referem a uma parcela

da radiação infravermelha emitida pela superfície terrestre e absorvida por determinados gases presentes na atmosfera, conforme indicado na Figura 3, principalmente o gás carbônico ( $\text{CO}_2$ ), são consideradas as grandes responsáveis por tais mudanças. Sua concentração, na atmosfera, aumentou em cerca de 40% entre 1750 e 2011, muito em virtude da queima de combustíveis fósseis que constituem 80% do consumo global de energia primária, dos quais 58% é consumido somente pelo setor de transportes (MOGHADDAM et al., 2015; SHUKLA; VERMA; MISRA, 2017; WANG; JIANG; LANG, 2017).

Figura 3 – Esquema de ocorrência do efeito estufa.



Fonte: <https://www.todamateria.com.br/efeito-estufa/> (2018).

Dessa forma, nota-se uma crescente necessidade na busca de combustíveis que sejam capazes de minimizar a crise energética, bem como os impactos das alterações climáticas. É nessa vertente, que biocombustíveis derivados de microalgas tornam-se uma opção atrativa e promissora, já que sua matéria-prima é capaz de capturar  $\text{CO}_2$  da atmosfera durante o cultivo, não compete com a finalidade alimentícia de recursos da agricultura, além de poder ser cultivada em águas salgadas, reduzindo a utilização de água doce para o processo de transformação (BAUER et al., 2016; LIU; CLARENS; COLOSI, 2012).

Sendo considerada um dos recursos mais poderosos para a biotecnologia, incluindo áreas de biocombustíveis, compostos bioativos, alimentação animal, agricultura, entre outros, as microalgas apresentam muitos desafios referentes ao seu cultivo para a produção em grande escala de biomassa, devido à elevada exigência de nutrientes e estabelecimento de parâmetros efetivos de controle de processo. Conseqüentemente, poder contar com ferramentas e técnicas matemáticas que auxiliem na designação desses parâmetros, a exemplo do DOE, reduz, significativamente custos e promove ganhos de qualidade e produtividade

para exploração de todo o seu potencial energético (GULDHE et al. 2017; SELVARAJ; CHANDRAMOHAN; MOHANRAJ, 2014).

### 1.3 JUSTIFICATIVA

A gaseificação tem sido reconhecida como uma tecnologia importante e promissora na conversão de biomassa microalgal em gás de síntese para fins energéticos (LIU et al, 2017). Entretanto, apenas alguns estudos têm examinado completamente o potencial desse recurso, principalmente quanto à aplicação de ferramentas estatísticas durante seu cultivo para aumento de produtividade e determinação de fatores influentes.

A Tabela 1 sumariza os dados referentes a uma apuração realizada na base de dados Scopus frente ao cruzamento de palavras-chaves da área de pesquisa desenvolvida na tese em questão. Nota-se que a comunidade científica demonstra interesse no desenvolvimento de pesquisas relativas a biocombustíveis advindos de microalgas, mas que nada se encontra em termos de aplicação de técnicas de Planejamento de Experimentos para a microalga *Chlorella minutíssima* e sua gaseificação, que são objetos de estudo da tese apresentada, o que justifica a relevância do desenvolvimento do presente trabalho.

Tabela 1 – Frequência das palavras-chaves norteadoras da pesquisa.

Palavras-chaves	Frequência	Base
Microalgae and Biofuel	3753	Scopus
Microalgae and DOE	370	
Microalgae and Gasification	148	
Gasification and Design of Experiments	29	
Microalgae and DOE and Gasification	5	
Microalgae and Taguchi Method and Gasification	0	
Chlorella minutíssima and DOE and Gasification	0	
Chlorella minutíssima and Taguchi Method and Gasification	0	
Chlorella minutíssima and DOE	0	
Chlorella minutíssima and Taguchi Method	0	
Chlorella minutíssima and Gasification	0	

Fonte: Scopus (2018).

## 1.4 TEMA

O tema deste trabalho se refere ao emprego de ferramentas estatísticas e modelos matemáticos embasados na ferramenta de DOE (seleção da variável resposta, escolha dos fatores, seus níveis e ranges, determinação do *design* experimental, realização de experimentos, análises estatísticas dos dados, conclusões e recomendações) para aumento da concentração celular e do teor lipídico simultaneamente, em níveis aceitáveis do processo de cultivo da microalga marinha *Chlorella minutíssima*, bem como análises termoquímicas (análise elementar, termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial, poder calorífico superior) para a gaseificação de sua biomassa.

## 1.5 OBJETIVOS

### 1.5.1 Objetivo geral

A presente tese apresentou como objetivo geral maximizar a concentração microalgal e o teor lipídico simultaneamente, garantindo que de um mesmo cultivo fosse possível tanto a extração de óleo quanto análises termoquímicas para a gaseificação de biomassa, e selecionar os ajustes dos parâmetros influentes no processo de cultivo para operar em seus níveis otimizados.

### 1.5.2 Objetivos específicos

Para o alcance do objetivo geral, foram propostos os seguintes objetivos específicos:

- Aplicar o arranjo experimental de Taguchi ( $L_8$ ) para o cultivo da microalga marinha *Chlorella minutíssima* em fotobiorreator tubular do tipo coluna de bolhas em escala laboratorial;
- Analisar os resultados experimentais por meio da ferramenta DOE;
- Selecionar as condições operacionais ótimas dos fatores de processo tanto para a concentração microalgal quanto para o teor lipídico e apontar o grau de influência dos mesmos nas variáveis respostas;
- Caracterizar a biomassa da condição otimizada para aplicação no processo de gaseificação.

## 1.6 MÉTODO DE PESQUISA

De acordo com Lacerda et al. (2013), para que uma pesquisa seja reconhecida de forma sólida e relevante para a comunidade científica e a sociedade como um todo, faz-se necessário um método robusto para condução dos estudos. O processo de investigação deve contemplar métodos e técnicas condizentes com a questão de pesquisa, os pressupostos e os objetivos propostos, visto que o método indica o percurso e a técnica fornece o transcurso para o resultado, tornando-se essencial o entendimento do propósito do estudo para estruturação, caracterização e sustentação da conduta investigativa (BERTO; NAKANO, 2014).

Segundo Castilho, Borges e Pereira (2014), uma pesquisa pode ser classificada quanto à (aos):

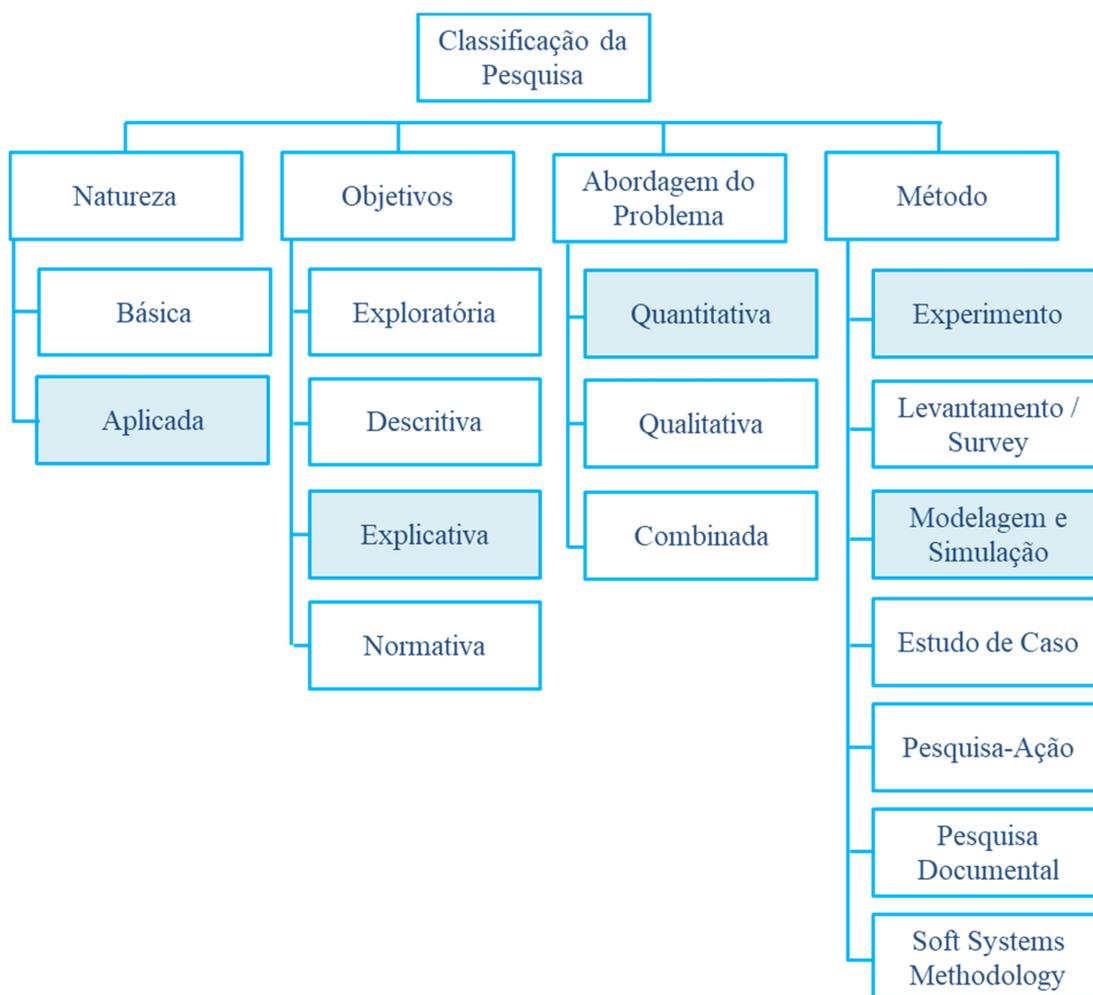
- sua natureza: básica e aplicada;
- objetivos: exploratória, descritiva, explicativa, prescritiva;
- abordagem: quantitativa e qualitativa;
- método: bibliográfico, documental, experimental, levantamento, pesquisa-ação e estudo de caso.

Quanto a sua natureza, a presente tese classifica-se em aplicada por empenhar-se em desenvolver, testar e avaliar processos e produtos para aplicações práticas. Quanto aos objetivos tem caráter explicativo, já que conduz experimentos, manipula e se controla variáveis, além de analisar e interpretar dados. No que se refere à abordagem, a mesma é quantitativa, uma vez que se quantifica dados e emprega-se recursos e técnicas estatísticas para garantia de obtenção de informação. Quanto ao método, o estudo se utiliza de experimentos para investigação, e de modelagem e simulação para mensuração de variáveis de interesse e apontamento de relação entre as mesmas.

Para Prodanov e de Freitas (2013), boa parte das pesquisas explicativas contam com o auxílio de método experimental para manipulação e controle das variáveis, e a identificação de qual variável independente determina a causa da variável dependente. O uso do modelo matemático auxilia na melhor compreensão do ambiente em questão, identificação de problemas, formulação de estratégias e apoio e sistematização para o processo de tomada de decisão (MIGUEL, 2012).

A Figura 4 sintetiza a classificação da tese quanto à natureza, objetivos, abordagem e método.

Figura 4 – Classificação da pesquisa.



Fonte: Adaptado de Bertrand; Fransoo (2002), Castilho; Borges; Pereira (2014) e Miguel (2012).

## 1.7 DELIMITAÇÃO DO TRABALHO

A presente tese, por meio de suas limitações, visa fornecer indicações e sugestões para pesquisas futuras. A mesma se propõe a realizar um estudo a respeito do comportamento da biomassa da microalga *Chlorella minutissima* em termos de produção celular e teor lipídico, com suporte da ferramenta DOE e avaliações termoquímicas para obtenção de biocombustível no processo de gaseificação.

Os métodos e técnicas aqui utilizados são apenas alguns, dentro do universo disponível, e ainda, muitas são as espécies de microalgas que podem ser exploradas para aplicações energéticas. Dessa forma, não se pretende inferir que os métodos e matéria-prima utilizados são mais eficazes que outros disponíveis na literatura. Sendo assim, os resultados apresentados são válidos, somente, para as condições experimentais aqui percorridas, não sendo possível extrapolação de seus limites de verificação.

## 1.8 CONTRIBUIÇÕES

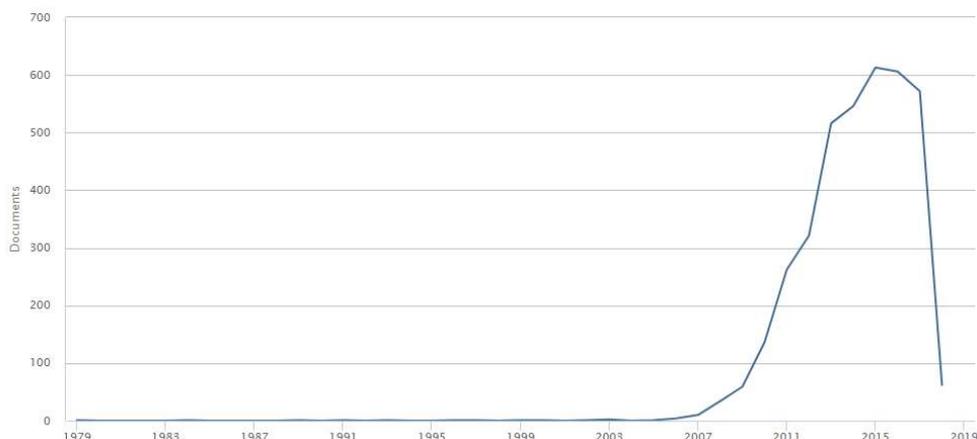
O mundo tem se deparado com um cenário muito preocupante em termos de energia e preservação ambiental. Os crescentes impactos, principalmente, após a Primeira Revolução industrial, devido ao aumento no consumo de combustíveis fósseis, tem agravado o efeito estufa pelo acréscimo de emissões à atmosfera, promovido incrementos na temperatura média do planeta a cada ano, levando a redução de chuvas e desaparecimento de espécies tanto da fauna quanto da flora, além do desafio de uma crise energética perante a perspectiva do esgotamento futuro das reservas de combustíveis tradicionais (CARRIJO et al., 2015).

Sendo assim, o interesse na diversificação da matriz energética com fontes de energias renováveis, como os biocombustíveis, tem mobilizado internacionalmente e de forma ímpar, setores acadêmicos, industriais, sociais e governamentais com ênfase no desenvolvimento de processos biotecnológicos sobre o tripé de sustentabilidade ambiental, social e econômica.

Dessa maneira, avanços em estudos que verifiquem as possibilidades de substituição por fontes promissoras capazes de atender a demanda, promovem ganhos significativos. É nesse contexto, que as microalgas vêm ganhando destaque, principalmente, por características como elevada taxa de crescimento, capacidade de acúmulo de lipídeos e carboidratos em suas células (produção de biodiesel e bioetanol), sequestro de CO<sub>2</sub>, cultivo em águas residuais e não competitividade alimentícia (LAM; LEE, 2012).

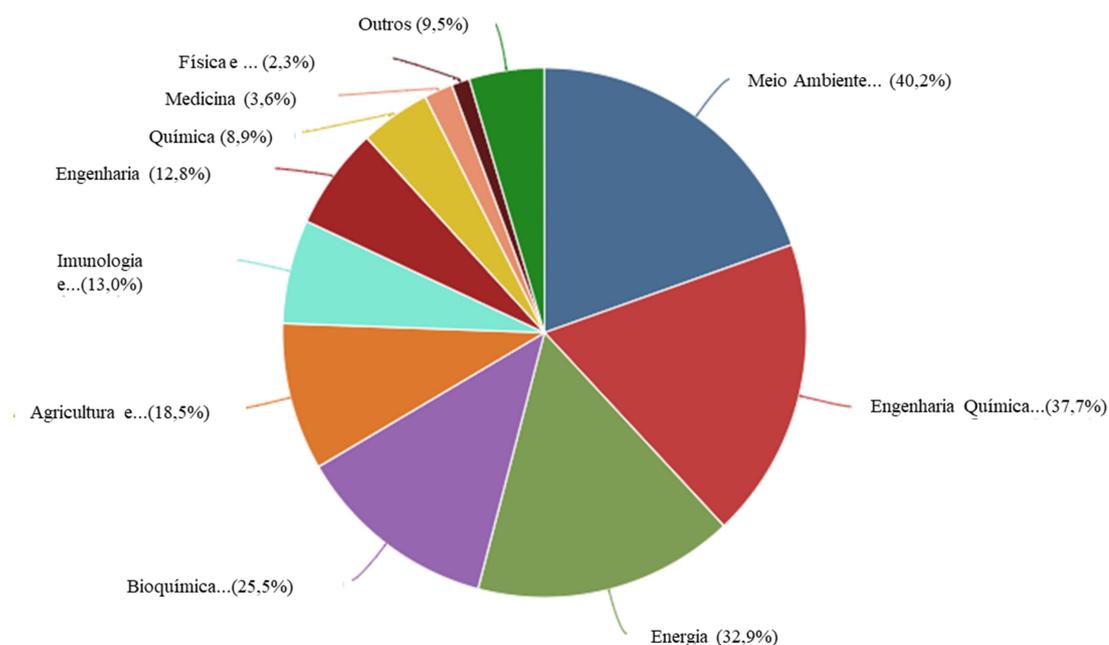
Uma busca realizada na base de dados Scopus, demonstra o interesse da comunidade científica em relação ao uso de microalga para a produção de biocombustível, uma vez que foram encontrados 3753 documentos publicados em relação ao cruzamento de tais palavras-chaves para o período de 1979 a 2018, conforme ilustrado na Figura 5. Dentre as áreas com maior concentração de publicação, pode-se citar: Ciência Ambiental, com 40,2%, Engenharia Química com 37,7%, Energia com 32,9%, Bioquímica, Genética e Biologia Molecular com 25,5% e Agricultura e Ciências Biológicas com 18,5%. Vale ressaltar que na base de dados consultada, um mesmo trabalho pode ser classificado em mais de uma área, o que gera um percentual superior a 100% conforme Figura 6.

Figura 5 – Publicações para o uso de microalgas na produção de biocombustíveis.



Fonte: Scopus (2018).

Figura 6 – Áreas das publicações referente ao uso de microalgas na produção de biocombustíveis.



Fonte: Scopus (2018).

Ainda que se confirme o uso desse campo de pesquisa de forma crescente para a comunidade científica, pouco se observa da utilização de ferramentas estatísticas na área de bioprocessos referente à produção de biocombustíveis advindos de microalgas. Ao longo dessa pesquisa, não foram encontrados estudos na literatura que relacionassem o uso da microalga *Chlorella minutissima* combinada com planejamento de experimentos (DOE) e gaseificação (Tabela 1), para estabelecimento de melhores condições viáveis para o processo

de cultivo. Sendo assim, o uso de métodos experimentais atrelados a ferramentas de otimização, podem proporcionar avanços significativos no que se refere a bioprocessos.

## 1.9 ESTRUTURA DO TRABALHO

A tese em questão divide-se em 5 capítulos organizados da seguinte forma:

No Capítulo 1, foram realizadas as considerações iniciais e a contextualização do problema, justificando a escolha do tema e apresentando os objetivos, método de pesquisa, delimitações do trabalho e contribuições.

No capítulo 2, são abordados os referenciais teóricos fundamentais para o entendimento deste trabalho, apresentando conceitos a respeito do potencial energético das microalgas, sistemas de cultivo, a gaseificação como processo de transformação, planejamento de experimentos (DOE), Método de Taguchi, alguns conceitos sobre análise de variância (ANOVA) e função *desirability*.

No capítulo 3, discorre-se a respeito dos métodos e etapas do projeto experimental desde o cultivo até a realização de análises térmicas e químicas de forma sucinta, bem como as etapas de simulação.

Os principais resultados alcançados com a pesquisa, como análise de significância, apresentação gráfica dos efeitos dos fatores, simulação para melhoria da concentração microalgal e do teor lipídico, curvas de termogravimetria (TGA) e caracterização química da biomassa são apresentados e discutidos no Capítulo 4.

Por fim, no Capítulo 5, são apresentadas, de forma sucinta, as principais conclusões acerca do estudo, bem como sugestões para direcionamento de trabalhos futuros que possam dar prosseguimento ao aqui descrito.

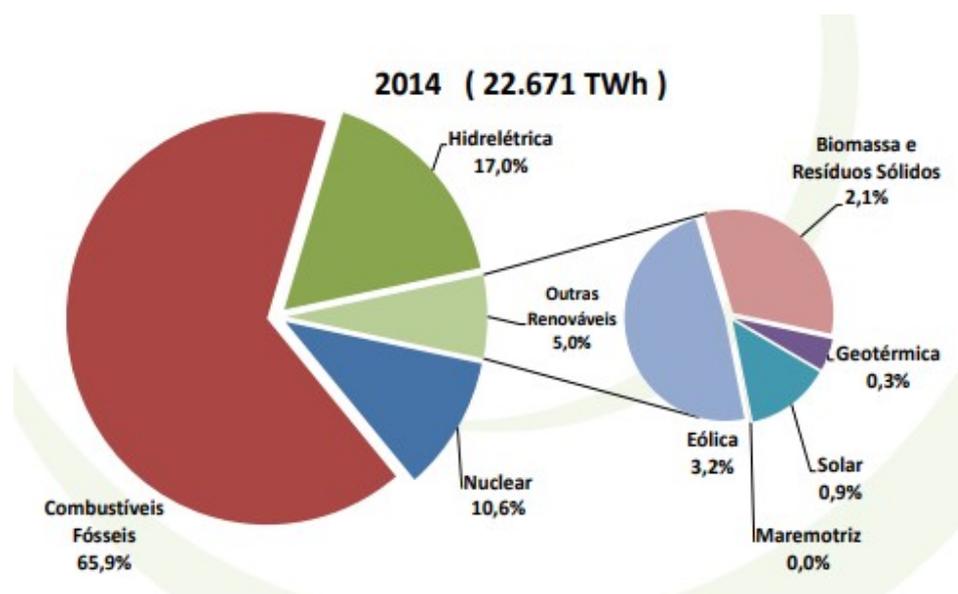
## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 CENÁRIO DA ENERGIA NO MUNDO

A energia é considerada a principal impulsionadora do crescimento e desenvolvimento econômico, cultural e social, o que a torna um recurso precioso para a manutenção do progresso. Somente no ano de 2014, o consumo de energia primária atingiu a marca dos 13 bilhões de toneladas equivalente de petróleo (tep), o que corresponde a um aumento de 22% e 54% quando comparado aos anos de 2004 e 1994 respectivamente. Para satisfazer esse aumento de demanda energética, há uma exploração acelerada dos recursos naturais e queima em larga escala de combustíveis fósseis, que, por sua vez, acarretam em problemas como escassez de recursos, intensificação do efeito estufa e alterações climáticas (ARTO et al., 2016; CHEN; WU, 2017; KANNAN; VAKEESAN, 2016).

Tomando como base, ainda, o ano de 2014, a geração de energia elétrica atingiu a incrível marca de 22.671 TWh (Terawatt-hora), quase três vezes mais do que foi gerado em 1980 (8.027 TWh), e teve como principal fonte, os combustíveis fósseis com a marca de 65,9%. Somente 5% do que foi gerado foi proveniente de recursos renováveis, sendo 3,2% eólica, 2,1% de biomassa e resíduos sólidos, 0,9% solar e 0,3% geotérmica (EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA – EPE, 2017). A Figura 7 ilustra tal divisão.

Figura 7 – Geração de energia elétrica mundial por fonte.



Fonte: EPE (2017).

Frente a esse cenário, observa-se que boa parte do que é gerado de energia sustenta-se em fontes limitadas e com previsão de esgotamento em um futuro próximo, deixando um alerta a sociedade como um todo sobre o desenvolvimento de meios alternativos e eficientes.

De acordo com IEA (2016), a criação de fortes políticas de eficiência energética é de vital importância para a redução de custos repassados a consumidores, minimização de alterações climáticas e poluição atmosférica, além de estabilidade no fornecimento e aumento do acesso a todos, ou seja, o aumento de eficiência é capaz de proporcionar inúmeros benefícios que impactam positivamente no desenvolvimento macroeconômico, no aumento da produtividade industrial e do orçamento público, nas melhorias de fornecimento, além de saúde e bem-estar à sociedade. A Figura 8 elucida os principais benefícios alcançados com a busca da eficiência energética.

Figura 8 – Benefícios da eficiência energética.



Fonte: Adaptado de IEA (2016).

Nesse sentido, não há dúvidas de que a energia é crucial para o desenvolvimento econômico e social de qualquer país, mas seu embasamento em combustíveis fósseis tem sido considerado insustentável ambientalmente, tornando-se necessário o desenvolvimento de tecnologias apropriadas capazes de satisfazer à demanda, bem como alinhadas a um mundo mais sustentável (INTERNACIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY – IAEA, 2005).

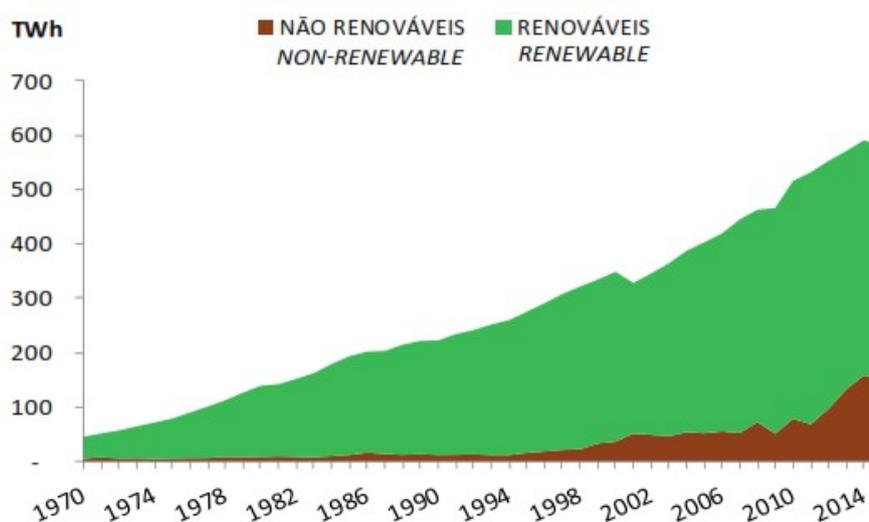
## 2.2 CENÁRIO DA ENERGIA NO BRASIL

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis – ANP (2017), 86% da energia no mundo é proveniente de fontes energéticas não renováveis, sendo o Brasil considerado um dos países pioneiros no desenvolvimento de fontes renováveis de energia para alternativas estratégicas na substituição de combustíveis fósseis, já que 45% de sua energia bem como 18% dos combustíveis consumidos são oriundos de recursos renováveis.

No segmento de combustíveis, frente à crise do petróleo no país, os biocombustíveis líquidos, como etanol oriundo da cana-de-açúcar e o biodiesel, produzido a partir de óleos vegetais ou gorduras animais, adicionado ao diesel de petróleo em proporções variáveis, tem contribuído significativamente para a ampliação da capacidade de fornecimento (ANP, 2017; PEDROSA; CORRÊA, 2016).

No que se refere à energia elétrica, é possível observar que, ao longo do tempo, o Brasil vem suportando boa parte de sua geração em fontes de recursos renováveis, conforme Figura 9, visto que suas características territoriais e condições climáticas propiciam tal fato, sendo as hidrelétricas as grandes responsáveis por boa parte do percentual, com 64% da oferta interna (MME, 2016).

Figura 9 – Geração de energia elétrica total no Brasil.



Fonte: MME (2016).

De acordo com Hunt, de Freitas e Pereira Júnior (2014), as bacias hidrográficas em combinação com os reservatórios de armazenamento foram projetados para a geração constante de energia ao longo do ano, desde que haja um equilíbrio entre o período chuvoso e o de seca, ou seja, é necessário chuva no lugar certo. Essa necessidade é ainda mais importante quando se observa a localização dos reservatórios e suas respectivas capacidades de armazenamento: 70,1% na região Sudeste e Centro-Oeste, 18% no Nordeste, 6,9% na região Sul e 5% no Norte. Nos últimos anos, os reservatórios se encontram abaixo do nível desejado para fornecimento confortável de energia, devido à escassez de chuvas, o que acarretou no acionamento de usinas termelétricas para atendimento da demanda, contribuindo para aumento dos preços de forma significativa.

No que se refere à matriz energética do país como um todo, nota-se uma considerada evolução tanto na ampliação de oferta quanto na diversificação das fontes desde a crise do petróleo na década de 70 conforme Figura 10.

Figura 10 – Evolução da participação das principais fontes na matriz energética brasileira.



Fonte: Vaz, Steckelberg e Pietrafesa (2015).

Dessa forma, o Brasil vem ganhando cada vez mais destaque acerca de sua considerável capacidade de geração de energia e diversidade de matriz energética pela implementação de fontes renováveis, que o levam a uma posição proeminente entre os países geradores de energia limpa. Entretanto, muitos ainda são os desafios para o estabelecimento dessas fontes em substituição as de origem fóssil, principalmente no que diz respeito a investimentos elevados em tecnologia para geração de níveis satisfatórios de produção capazes de atender à demanda crescente (GUERRA et al., 2015).

### 2.3 BIOCOMBUSTÍVEIS COMO ALTERNATIVA ENERGÉTICA

O desenvolvimento sustentável é aquele capaz de garantir as necessidades da geração atual sem comprometimento das gerações futuras, tanto no âmbito social, quanto na preservação e manutenção do meio ambiente e crescimento econômico (BRASIL, 2017). No que se refere à energia, muitos estudos têm sido realizados para a transição entre uma produção embasada majoritariamente em recursos não renováveis para uma produção mais limpa e eficiente (ARTO et al., 2016; LAMBERT et al., 2014; KANNAN; VAKEESAN, 2016). Fica claro que o apoio à disseminação de mercados sustentáveis para os sistemas de energia possuem um papel fundamental no cumprimento de objetivos atrelados à redução de emissões de gases do efeito estufa, impactos climáticos, garantias de abastecimento e aumento de eficiência (ELLABBAN; ABU-RUB; BLAABJERG, 2014). Nesse contexto, políticas que incentivem a produção de biocombustíveis estão cada vez mais alinhadas com as necessidades energéticas futuras.

Os biocombustíveis são aqueles derivados de biomassa renovável que possuem a capacidade de substituir de forma parcial ou total os combustíveis derivados de fontes fósseis (petróleo e gás natural) que são utilizados em motores ciclodiesel automotivos (caminhões, tratores, automóveis, etc) ou estacionários (geradores de eletricidade, calor, etc). Para que o uso de biocombustíveis seja implementado de forma adequada, faz-se necessário a criação de uma legislação de controle, bem como requisitos de qualidade do produto, controle de efluentes das instalações produtoras e distribuição adequada (CHIACCHIARINI; 2017; MME, 2017). Os principais exemplos de biocombustíveis são o carvão vegetal, álcool, biogás, biogás de síntese, biodiesel e bio-óleo. O Quadro 1 sintetiza as informações referentes à matéria-prima e processo de obtenção para tais exemplos.

Quadro 1 – Exemplos de biocombustíveis.

<b>Biocombustível</b>	<b>Matéria-Prima</b>	<b>Processo de Obtenção</b>
Carvão Vegetal	Madeira	Pirólise
Álcool	Açúcares	Fermentação Anaeróbica
Biogás	Biomassa	Fermentação Anaeróbica
Biogás de Síntese	Biomassa	Gaseificação
Biodiesel	Óleos e Gorduras	Esterificação ou Transesterificação
Bio-Óleo	Óleos e Gorduras	Craqueamento ou Hidrocraqueamento

Fonte: Adaptado de Oliveira et al. (2007).

De acordo com a Agência Internacional de Energia – IEA (2017), 4% das necessidades globais de combustível para transporte serão supridas por biocombustíveis em 2018, e estima-se que em 2050, os mesmos serão responsáveis por 25% da energia mundial no setor de transportes, tornando-se cada vez mais essenciais pesquisas voltadas a tipos de matérias-primas, tecnologias de conversão e implementação eficiente.

No Brasil, o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), criado pelo governo no ano de 2004 com o objetivo de introduzir o biodiesel na matriz energética brasileira, representa a preocupação do país em estar à frente de soluções alternativas de energia. O percentual de mistura iniciou em 2003 de forma facultativa, passando para 2% e 3% em 2008, 8% no início do ano de 2018, sendo que o índice atual é de 10% (ANP, 2017; MME, 2018). Pode-se citar também, o Programa Nacional do Álcool – Proálcool como incentivador da libertação de dependência de combustíveis fósseis, criado em 1975 frente à crise do petróleo (ANDRADE; CARVALHO; SOUZA, 2009).

## 2.4 GERAÇÕES DOS BIOCOMBUSTÍVEIS

Os biocombustíveis podem ser classificados em quatro gerações conforme indicado a seguir (CETESB, 2016; ENMC; 2017; RAJNEESH et al., 2017; SUGANYA et al., 2016):

- primeira geração: produzido por meio de açúcares, amidos e óleos vegetais. Geram debates à respeito da concorrência direta com os alimentos e meios de cultivos terrestres;
- segunda geração: utilização de biomassa lignocelulósica, incluindo resíduos agrícolas, industriais e florestais. Não competem com alimentos e podem reduzir em 90% as emissões de CO<sub>2</sub> na atmosfera comparados a combustíveis fósseis;
- terceira geração: uso de algas, microalgas e cianobactérias. Apresentam elevada produtividade quando comparada às demais culturas e não necessitam de água potável para cultivo. Entretanto, as tecnologias nesse segmento ainda estão em desenvolvimento para produção em larga escala e possuem custos elevados, necessitando otimizar o processo para torná-lo viável economicamente;
- quarta geração: foco em retirada de CO<sub>2</sub> da atmosfera e armazenamento em troncos, galhos e folhas, transformando a biomassa rica em carbono em combustível; desenvolvimento de microorganismos geneticamente modificados como cianobactérias para armazenamento de CO<sub>2</sub>.

O Quadro 2 apresenta um comparativo entre as gerações de biocombustíveis e produtos derivados do petróleo.

Quadro 2 – Comparativo entre os biocombustíveis e produtos derivados do petróleo.

Fonte	Matéria-Prima	Tecnologia	Produto	Vantagem	Desvantagem
<b>Fóssil</b>	Petróleo bruto	Refinaria	GLP, gasolina, nafta, diesel, querosene, combustíveis para aviação	Alta eficiência energética, tecnologia estabelecida e desenvolvida, facilidade de transporte	Contribuem para o aumento do efeito estufa, crises econômicas, diminuição das reservas (não renovável)
<b>1ª Geração</b>	Óleo vegetal, milho, girassol, cana-de-açúcar	Transesterificação química e enzimática, fermentação microbiana	Biodiesel, etanol de milho e de açúcar	Preços mais acessíveis, minimiza problemas ambientais	Mistura parcial em combustível fóssil, competição alimentar
<b>2ª Geração</b>	Resíduos agrícolas, industriais e florestais	Hidrólise, fermentação, transesterificação	Bio-óleo, etanol, butanol e mistura de álcoois	Não há competição com alimentos, mais sustentável	Tecnologia em desenvolvimento
<b>3ª Geração</b>	Algas, microalgas e cianobactérias	Engenharia metabólica	Biodiesel, bioetanol, biohidrogênio, biometano	Cultivo em águas residuais, não compete com alimentos, captura de CO <sub>2</sub>	Tecnologia em desenvolvimento, custos elevados
<b>4ª Geração</b>	Biomassa de celulose (eucalipto)	Biogenética (árvores modificadas) aliada a técnicas da 2ª geração	Carvão vegetal, mistura de álcoois	Retirada de CO <sub>2</sub> da atmosfera (energia carbono-negativa)	Tecnologia em desenvolvimento, custos elevados

Fonte: Adaptado de CETESB (2016); Demirbas (2011), ENMC (2017) e Suganya et al. (2016).

## 2.5 MICROALGAS

As microalgas são microrganismos unicelulares fotossintéticos que habitam ambientes salinos ou de água doce e que são capazes de converter luz solar, água e dióxido de carbono em biomassa. Biologistas classificam esses microrganismos principalmente por sua coloração,

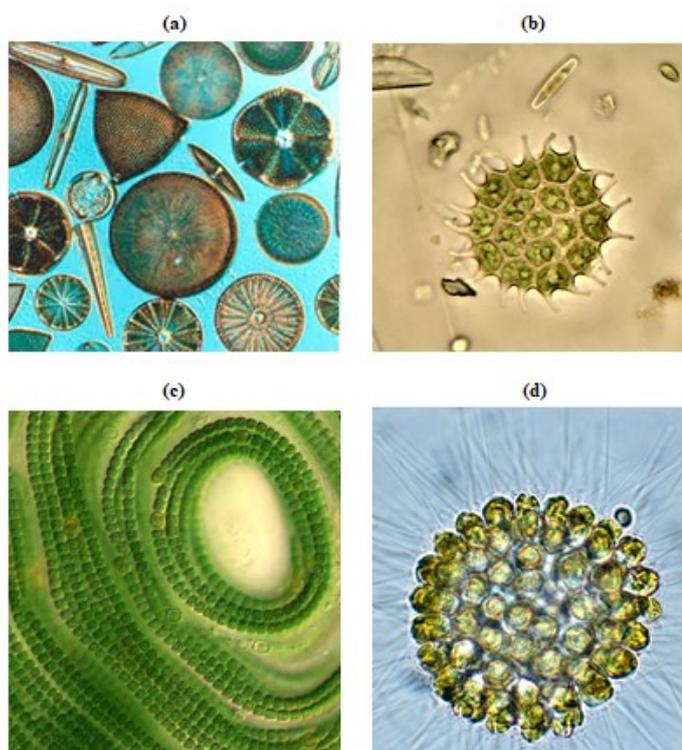
ciclo de vida e estrutura celular (DEMIRBAS, 2010; MONIAK; MORESCO, 2014). No Quadro 3, encontram-se as classes mais abundantes de microalgas de acordo com sua pigmentação e a Figura 11 faz uma ilustração dessas classes.

Quadro 3 – Classificação das microalgas de acordo com a classe e pigmentação.

Microalgas	Classe	Pigmentação
	<i>Bacillariophyceae</i>	Diatomácea
	<i>Chlorophyceae</i>	Verde
	<i>Chrysophyceae</i>	Dourada
	<i>Cyanophyceae</i>	Azul-verde

Fonte: Demirbas (2010).

Figura 11 – Classificação das microalgas: (a) *Bacillariophyceae*; (b) *Chlorophyceae*; (c) *Cyanophyceae*; (d) *Chrysophyceae*.



Fonte: Al Hattab e Ghaly (2015).

As microalgas apresentam um potencial elevado na produção de biomassa e de lipídeos quando comparado a culturas terrestres e oferecem a vantagem de não comprometer a produção de alimentos. Sua composição é, basicamente, carboidratos, lipídeos, proteínas e ácidos nucleicos, e a proporção varia conforme as condições de cultivo (CHISTI, 2007;

MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; SINGH; GU, 2010). A Tabela 2 fornece um comparativo da produtividade de óleo de microalga à de culturas terrestres.

Tabela 2 – Produtividade de óleo de culturas terrestres comparada à microalga.

<b>Cultura</b>	<b>Óleo (L/ha)</b>
Coco	2689
Palma	5950
Soja	446
Girassol	952
Microalga	1000000

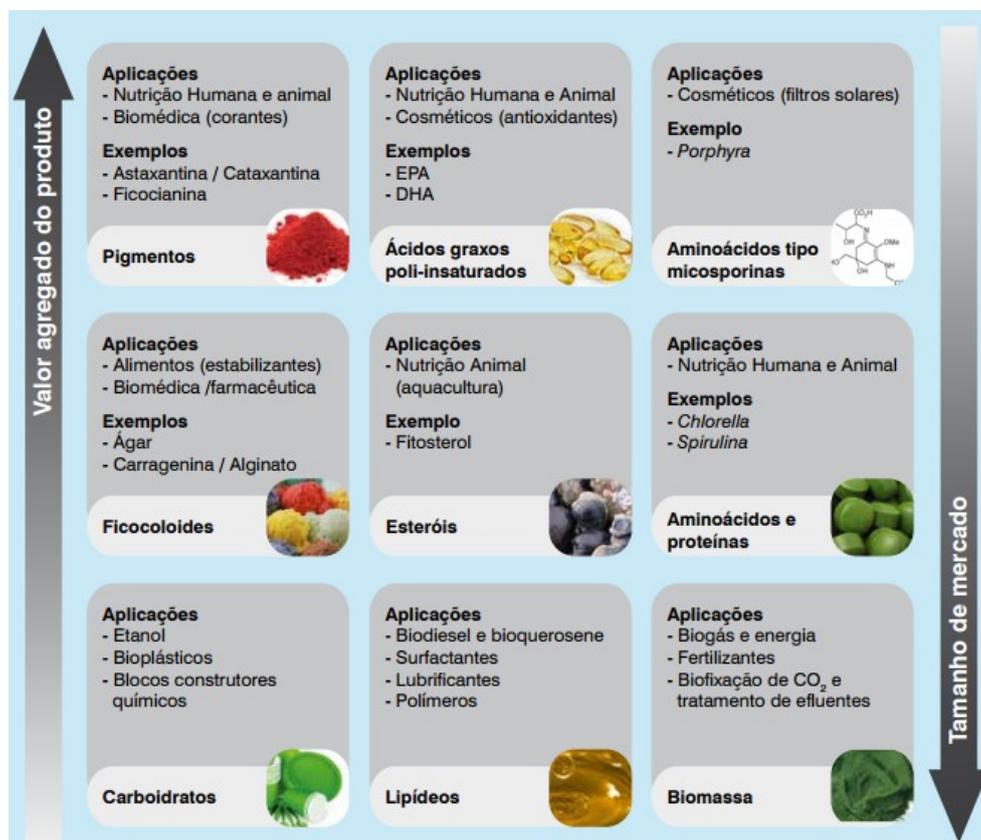
Fonte: Adaptado de Chist (2007) e Demirbas (2011).

Além disso, são capazes de produzir uma gama elevada de produtos como pigmentos (clorofila, carotenoides, ficobilina), compostos bioativos (compostos antibacterianos, antifúngico, antiviral, antiprotozoário), proteínas, polissacarídeos ( $\beta$  1,3-glucana, carragenana, amido, alginatos, celulose), biopoliésteres e lipídeos (poli-insaturados, ácidos graxos e hidrocarbonetos) (SANTOS, 2016). Frente a essa diversidade, a produção anual de biomassa microalgal triplicou no período de 2004 a 2013, atingindo a marca de 15 mil toneladas/ano (peso seco), sendo as principais espécies pertencentes aos gêneros *Chlorella* e *Arthrospira* (Spirulina) utilizadas, principalmente, pelas indústrias de cosméticos, alimentação humana e aquicultura (EMBRAPA, 2016). Na Figura 12 encontram-se os principais mercados para produtos derivados de algas.

Para garantir o seu pleno desenvolvimento, as microalgas precisam dispor de macronutrientes essenciais (carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio, silício, ferro) para construção de estrutura de biomoléculas e regulação de atividades metabólicas, micronutrientes (manganês, molibdênio, cobalto, boro, vanádio, zinco, cobre, selênio) para estruturação e atividade enzimática, e baixas concentrações de vitaminas (tiamina (B<sub>1</sub>), biotina (B<sub>7</sub>) e cianocobalamina (B<sub>12</sub>)) para transporte de CO<sub>2</sub> (GUILLARD, 1975; LOURENÇO, 2006).

No que se refere à taxa fotossintética, metabolismo e produtividade em biomassa, fatores como temperatura, intensidade luminosa, gás carbônico e nutrientes possuem grande influência, e devem ser controlados adequadamente para garantir um bom crescimento celular no meio de cultivo (CHIST, 2007).

Figura 12 – Mercado para produtos derivados de algas.



Fonte: EMBRAPA, 2016.

### 2.5.1 *Chlorella minutissima*

A espécie *Chlorella minutissima*, matéria-prima para a realização experimental da presente tese, é uma microalga do grupo das clorofíceas, unicelular, eucariótica, esférica e com diâmetro variando entre 5 e 10 µm, encontrada comumente em lagos e com grande habilidade de realizar fotossíntese. O interesse econômico em seu cultivo tem crescido consideravelmente por apresentar facilidade de cultivo e conteúdo proteico elevado (ILLMAN; SCRAGG; SHALESS, 2000; RODRIGUES; BELLI FILHO, 2004).

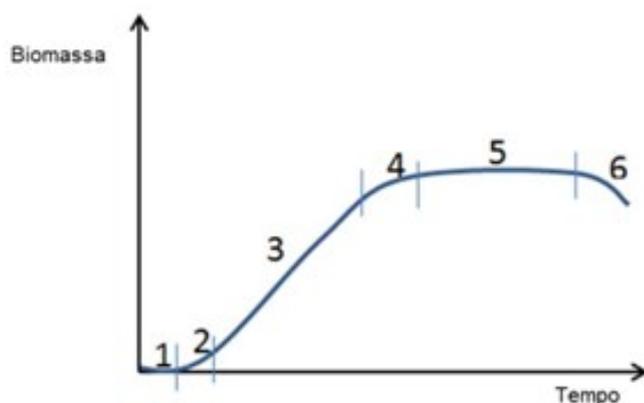
## 2.6 SISTEMAS DE CULTIVO

De acordo com Lourenço (2006), os cultivos de microalgas podem ocorrer em regime batelada, semicontínuos e contínuos. No primeiro, a inoculação ocorre no meio fresco no início do cultivo, sem nenhuma adição posterior de nutriente, passando por seis fases de crescimento descritas a seguir e ilustradas na Figura 13:

- 1 – fase de adaptação ou fase lag: processo de adaptação fisiológica das células frente às modificações de condições de cultivo;
- 2 – fase de aceleração do crescimento: início da multiplicação das células em taxa de crescimento inferior ao valor máximo;
- 3 – fase de crescimento exponencial: crescimento acelerado com taxa específica em valor máximo;
- 4 – fase de desaceleração do crescimento: a concentração de nutrientes torna-se limitante e a taxa de crescimento específica declina;
- 5 – fase estacionária: velocidade de crescimento diminui e iguala-se à taxa de morte. Os microrganismos mantêm-se por um tempo, em concentração praticamente constante de biomassa, por meio da utilização de reservas internas de nutrientes;
- 6 – fase de morte: esgotamento de nutrientes da cultura de microrganismos.

Já no cultivo semicontínuo, uma parcela do meio algal é removida e substituída por meio de cultura novo sem algas, durante a fase exponencial na qual as células apresentam estado fisiológico favorável para resistir ao efeito da diluição do meio de cultura. No contínuo, ocorre um permanente processo de entrada e saída de cultura em iguais taxas e de modo constante (LOURENÇO, 2006).

Figura 13 – Variação da biomassa em regime batelada.



Fonte: Amaral (2013).

No que se refere ao tipo de sistema, o cultivo das microalgas pode ocorrer tanto em sistemas fechados quanto em sistemas abertos. Nos sistemas fechados, a estrutura é composta por paredes transparentes para exposição à luz solar ou radiação artificial para realização da fotossíntese, recebendo o nome de fotobiorreatores que podem ser tubular, *flat-plate* (placas)

ou coluna. Já nos sistemas abertos, a condução do cultivo ocorre em tanques ou piscinas abertas, conhecidas como *raceways*, diretamente expostas ao meio ambiente (SUALI; SARBATLY, 2012; RAZZAK, 2013). O Quadro 4 discorre, de forma resumida, sobre as principais vantagens e limitações de sistemas abertos e fechados.

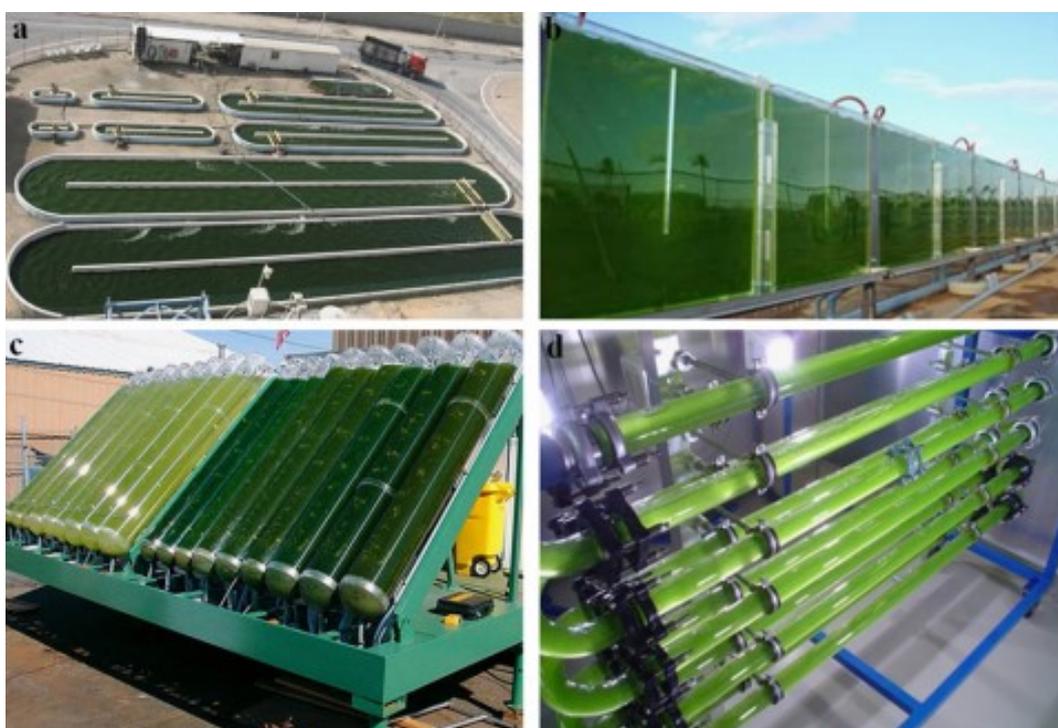
Quadro 4 – Vantagens e limitações de *raceways* e fotobiorreatores.

<b>Sistema</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Limitações</b>
<b><i>Raceways</i></b>	Baixo custo Fácil de limpar Não utiliza terras agricultáveis Baixo <i>input</i> de energia Fácil manutenção	Baixa produtividade de biomassa Elevada área territorial Aplicável a algumas algas Baixa utilização de luz e CO <sub>2</sub> Culturas facilmente contaminadas
<b>Fotobiorreator tubular</b>	Superfície de iluminação elevada Adequado para culturas ao ar livre Custo relativamente baixo Boa produtividade de biomassa	Crescimento de microrganismo na parede Propício à sujeira (incrustação) Requer grandes áreas Gradientes de pH, O <sub>2</sub> dissolvido e CO <sub>2</sub> ao longo do tubo
<b>Fotobiorreator <i>flat-plate</i></b>	Alta produtividade de biomassa Fácil de esterilizar Baixo acúmulo de oxigênio Boa incidência de luz Superfície de iluminação elevada Adequado para culturas ao ar livre	Dificuldade para produção em larga escala Dificuldade para controle de temperatura Possibilidade de stress hidrodinâmico Pode ocorrer crescimento de microrganismo na parede
<b>Fotobiorreator de coluna</b>	Compacto Alta transferência de massa Baixo consumo de energia Promove boa mistura Fácil de esterilizar Reduz foto-inibição e foto-oxidação	Pequena área de iluminação Custo elevado comparado a <i>raceways</i> Tensão de cisalhamento elevada Construção sofisticada. Limitação do aumento de escala para instalações industriais (altura do reator e profundidade da coluna)

Fonte: Adaptado de Brennan e Owende (2010).

O sucesso da produção em grande escala das microalgas depende, basicamente do *design* e da performance dos fotobiorreatores. A crescente busca por fontes alternativas de energia tem promovido pesquisas tanto em campo quanto laboratoriais para a melhor configuração para o cultivo de microalgas (BITOG et al., 2011). A Figura 14 demonstra as principais configurações de fotobiorreatores utilizadas para cultivo e o Quadro 5 realiza uma comparação qualitativa, sucinta, a respeito dos sistemas para produção em grande escala.

Figura 14 – Fotobiorreatores para cultivo de microalgas: (a) *raceway*; (b) *flat-plate*; (c) tubular; (d) horizontal contínuo.



Fonte: Bitog et al. (2011).

Ao finalizar o período de cultivo, independente do sistema escolhido, é necessário proceder com a colheita da biomassa microalgal do meio de cultura para posterior processamento, sendo tal fase responsável pela maior parte dos custos gerados, pois envolve mais de uma etapa como floculação, centrifugação e filtração, por exemplo. A escolha do método de colheita vai depender do tipo de microalga e de sua densidade celular (PRAGYA; PANDEY; SAHOO, 2013; ZHANG et al., 2010).

Quadro 5 – Comparativo entre *raceways* e fotobiorreatores.

<b>Característica</b>	<b><i>Raceway</i></b>	<b>Fotobiorreator</b>
Controle de contaminação	Difícil	Fácil
Risco de contaminação	Alto	Baixo
Perdas de CO <sub>2</sub>	Depende do pH, alcalinidade	Depende do pH, alcalinidade
Inibição por O <sub>2</sub>	Menor	Maior
Perdas por evaporação	Alto	Baixo
Uso eficiente da luz	Pobre	Rico
Controle de temperatura	Difícil	Alcançável
Razão área/volume	Baixo	Alto
Concentração celular	Baixa	Alta
Área requerida	Alta	Baixa
Controle de processo	Difícil	Fácil
Controle de espécies	Difícil	Fácil
Agitação	Baixa	Uniforme
Regime de operação	Batelada ou semicontínuo	Batelada ou semicontínuo
Produtividade de biomassa	Baixo	3-5 vezes mais
Tensão hidrodinâmica sobre as células	Muito baixa	Baixa à alta
Controle de transferência gasosa	Baixo	Alto
Custo de investimento	Baixo	Alto

Fonte: Adaptado de Bitog et al. (2011), Mata et al. (2010).

## 2.7 O POTENCIAL ENERGÉTICO DAS MICROALGAS

Atualmente, a demanda energética mundial é suprida quase que em sua totalidade pela exploração e produção de combustíveis fósseis, sendo somente 5% e 2% advindos de hidrelétricas e outras fontes renováveis, respectivamente. Entretanto, o esgotamento das reservas e os impactos ambientais negativos ocasionados por seu consumo, levam a necessidades urgentes para o estabelecimento de outras fontes renováveis e eficientes de energia (CHACCHIARINI, 2017).

Nesse contexto, os biocombustíveis advindos de biomassa tornam-se uma opção favorável para minimizar impactos ambientais e garantir a segurança da oferta energética. Entretanto, é essencial a análise de alguns pontos conforme descritos por Rawat et al. (2013):

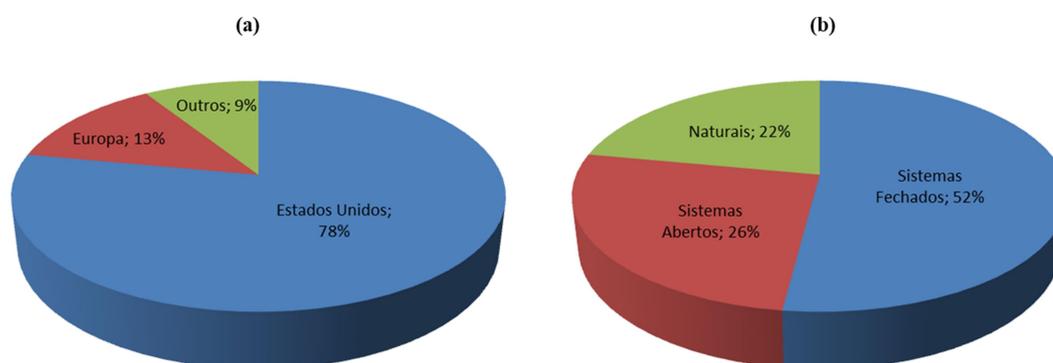
- os biocombustíveis de primeira geração implicam na finalidade alimentícia desses produtos e podem acarretar na elevação de preços por conta de um propósito duplo: alimentação e combustível;
- os biocombustíveis de segunda geração não possuem competitividade alimentícia mas apresentam desafios em termos de sua produção, principalmente no que se refere a controle de parâmetros de processo, a exemplo de temperatura.

Nesse sentido, os biocombustíveis de terceira geração, baseados no cultivo de microalgas, tem ganhado destaque, nos últimos anos, como fonte energética alternativa, principalmente, por esses microrganismos apresentarem alta taxa de crescimento e capacidade em acumular lipídios e carboidratos no interior de suas células para a produção de biodiesel e bioetanol, respectivamente, além de poderem ser cultivados em águas salgadas ou residuais que são inadequadas para a agricultura, possuírem eficiência fotossintética maior do que a de plantas terrestres, terem potencial de produzir 25 – 220 vezes mais triglicerídeos do que plantas terrestres que podem ser convertidos em biodiesel pelo processo de transesterificação, possuírem um alto rendimento por área e custos de transportes de sua biomassa mais baixos quando comparados a de outras culturas , utilizarem 1,83 Kg de CO<sub>2</sub> para cada 1 Kg de biomassa produzida, seu cultivo pode ocorrer o ano todo, em terras não agricultáveis e não há a necessidade de uso de herbicidas ou pesticidas reduzindo impactos ambientais (LAM; LEE, 2012; REWAT et al, 2013; SUGANYA et al., 2016).

Frente a inúmeras vantagens, muitas empresas ao redor do mundo tem demonstrado interesse na produção de biocombustíveis advindos de algas, utilizando-se dos sistemas explorados anteriormente. A Figura 15 ilustra a divisão dessa produção por região e a proporção das tecnologias empregadas.

Apesar do grande número de benefícios adquiridos com as microalgas, surgem alguns desafios quando se pensa em produção em larga escala, principalmente no que se refere à colheita de biomassa responsável por boa parte dos custos, e contaminação em sistemas abertos por bactérias, fungos ou protozoários que geram competição por nutrientes levando a morte da cultura (SINGH; GU, 2010; SUGANYA et al., 2016; ZHANG et al., 2010).

Figura 15 – Produção de biocombustíveis de algas: (a) divisão das companhias produtoras por região; (b) tecnologias de cultivo empregadas pelas companhias.



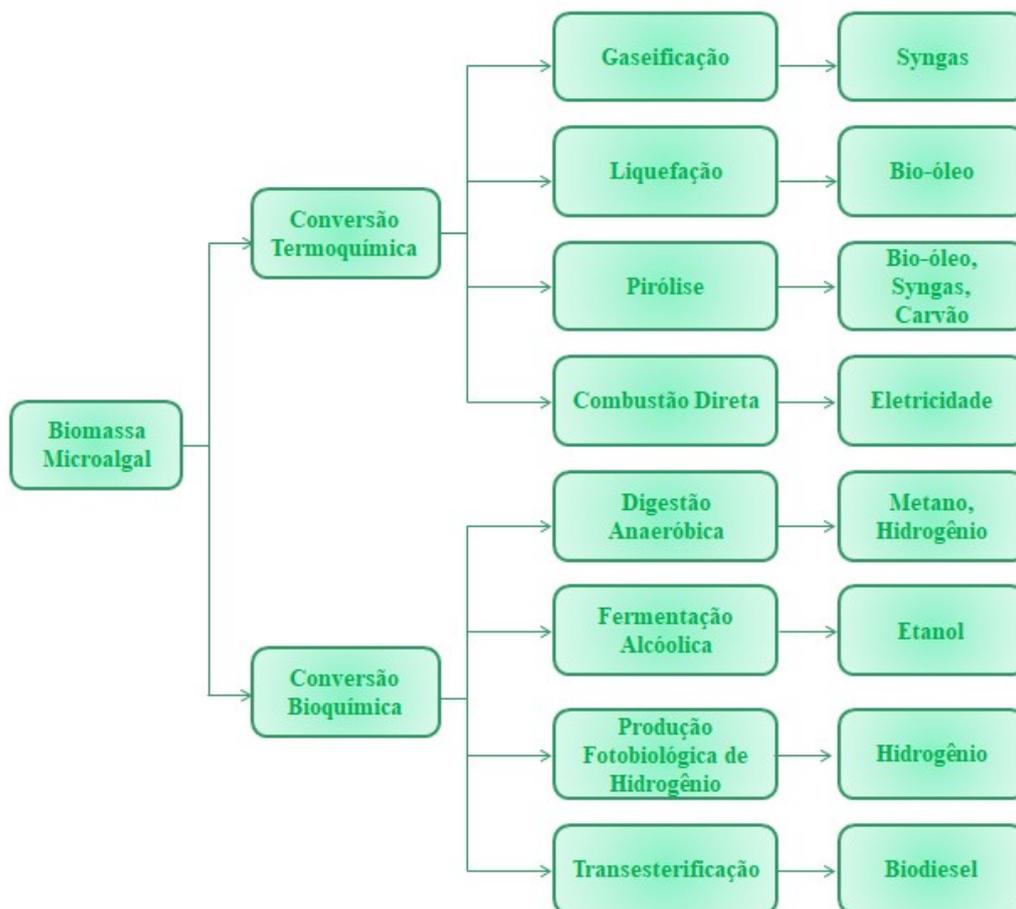
Fonte: Adaptado de Singh e Gu (2010).

As principais tecnologias empregadas na transformação de microalgas em biocombustíveis se referem à conversão termoquímica e bioquímica, sendo que os fatores que influenciam diretamente no tipo a ser escolhido dizem respeito à quantidade de matéria-prima, ou seja, quantidade de biomassa, e suas características, questões econômicas, especificações de projeto e a forma final do produto, ou seja, o tipo de energia (BRENNAN; OWENDE, 2010; DEMIRBAS, 2011; SUGANYA et al., 2016).

A conversão bioquímica pode ser categorizada em digestão anaeróbica, fermentação alcoólica, produção fotobiológica de hidrogênio e transesterificação. Nesse processo, a transformação da biomassa em biocombustível ocorre pela ação de microrganismos. Já a conversão termoquímica divide-se em gaseificação, liquefação, pirólise e combustão direta. Baseia-se no aquecimento e decomposição da biomassa na presença ou abstinência de ar ou oxigênio. Geralmente, não há uma preferência entre os métodos de conversão, mas a termoquímica tem se demonstrado mais favorável, uma vez que o processo bioquímico tem apresentado baixa eficiência de conversão, reações lentas tornando as etapas muito longas, e elevados custos de produção (AZIZI; MORAVEJI; NAJAFABADI, 2018).

Na Figura 16 é possível consultar os processos de conversão da biomassa microalgal e os principais produtos gerados.

Figura 16 – Processos de conversão de biomassa microalgal em biocombustíveis.



Fonte: Adaptado de Brennan e Owende (2010) e Suganya et al. (2016).

## 2.8 GASEIFICAÇÃO

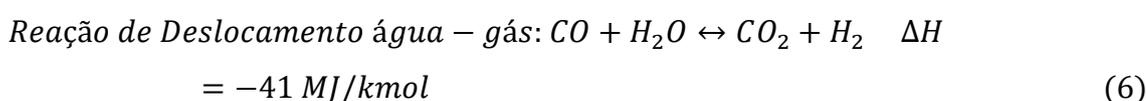
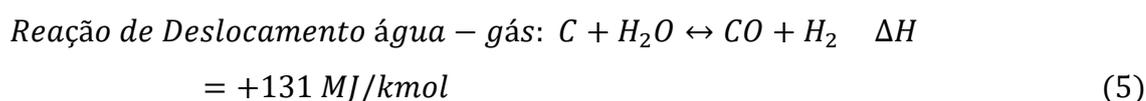
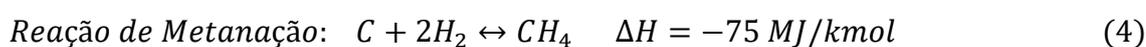
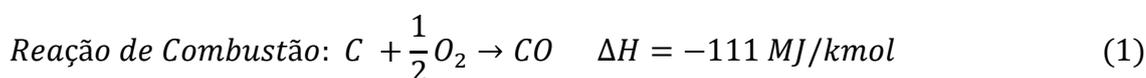
A gaseificação é um processo de conversão termoquímica no qual materiais hidrocarbonetos são convertidos em uma mistura de gás combustível também conhecido como gás de síntese ou *syngas*. Trata-se de uma oxidação parcial de biomassa em presença de ar, oxigênio, argônio, água ou vapor, conhecidos como agentes gaseificantes, a elevadas temperaturas (800 – 1000 °C) que ocorre em reator denominado gaseificador. O *syngas*, oriundo de biomassa, pode ser produzido por meio de duas rotas: gaseificação catalítica e não catalítica. Na primeira, a operação pode ocorrer a temperaturas menores enquanto que na segunda, a temperatura precisa atingir um patamar de cerca de 1300 °C. Sua produção consiste, basicamente, na reação da biomassa com o agente gaseificante gerando uma mistura de CO, CO<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>, e CH<sub>4</sub>, com baixo poder calorífico (4 – 6 MJ/Nm<sup>3</sup>), podendo ser queimado diretamente ou utilizado como combustível para motores a gás ou turbinas a gás, desde que arrefecido (temperaturas de saída variando de 400 °C a 800 °C) e limpo para a máxima remoção de vapor d'água, poeira e alcatrão. Para maiores rendimentos térmicos, menores

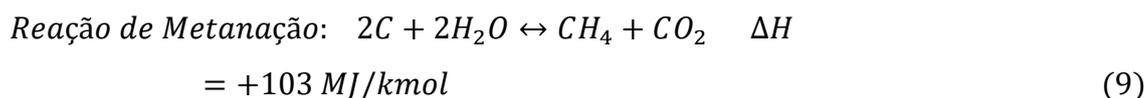
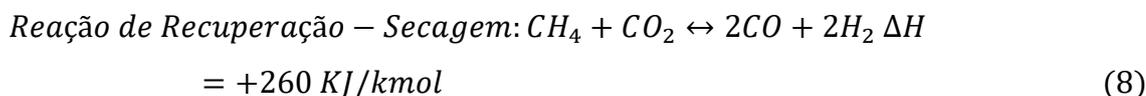
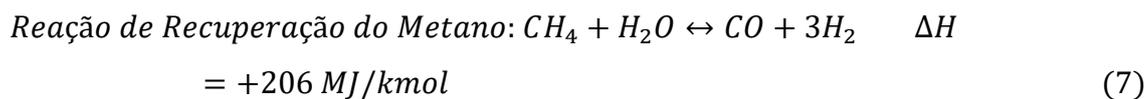
custos e maior qualidade do *syngas*, a biomassa seca se torna mais adequada, sendo que para alguns modelos de gaseificadores, um limite de até 40% de umidade pode ser aceitável (ADNAN; HOSSAIN, 2018; AZIZI; MORAVEJI; NAJAFABADI, 2018; BRENNAN; OWENDE, 2010; DEMIRBAS, 2011; SANSANIWAL; ROSEN; TYAGI, 2017; SUGANYA et al., 2016).

O processo da conversão da biomassa em gás de síntese ocorre em quatro etapas (ANDRADE, 2007; WANG et al. 2015):

- etapa 1: processo endotérmico para secagem da biomassa (100 – 200 °C);
- etapa 2: decomposição térmica da biomassa em ausência de oxigênio (pirólise – 300 – 600 °C);
- etapa 3: combustão com temperaturas variando de 700 a 1300 °C dependendo da escolha do agente oxidante;
- etapa 4: reações de gaseificação, no qual o carvão reage com o oxigênio, vapor d'água, dióxido de carbono e hidrogênio, produzindo uma mistura de gases.

Para Alghurabie et al. (2013) e Moghadam et al. (2014) as equações de 1 a 9 se referem as principais reações (endotérmicas e exotérmicas, simultaneamente) que ocorrem no processo de gaseificação:



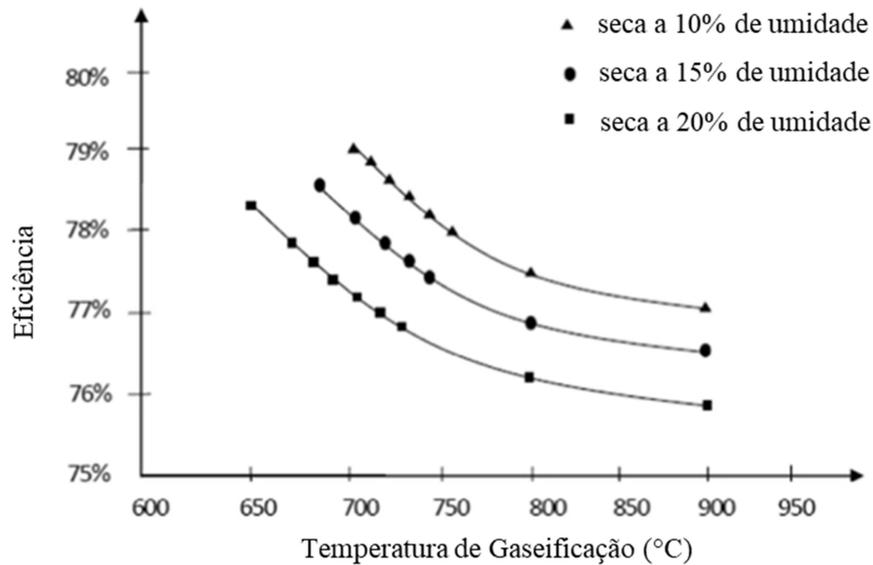


Tal processo tem sido considerado uma tecnologia promissora para a redução de resíduos e emissões, aumento da oferta energética, geração de energia de alto valor (é capaz de gerar H<sub>2</sub> com a incorporação de vapor durante a conversão termoquímica da biomassa) e encorajamento do desenvolvimento econômico. Entretanto, o *syngas* produzido, geralmente, possui uma quantidade significativa de alcatrão que minimiza sua qualidade e interfere na viabilidade técnica e econômica do processo (SANSANIWAL et al., 2017; WATSON et al., 2018).

De acordo com Azizi, Moraveji e Najafabadi (2018), parâmetros como o agente gaseificante escolhido, tempo de permanência, a composição química e o tamanho da partícula da biomassa são influenciadores diretos na qualidade e quantidade do biocombustível gerado no processo de gaseificação. Em se tratando de microalgas, em sua grande maioria, a biomassa contém, basicamente, carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio, sendo o teor de enxofre extremamente baixo em comparação a outras biomassas. No que se refere ao tamanho da partícula, Campanella e Harold (2012) demonstraram não haver diferença significativa no rendimento do *syngas* para variações de tamanho.

A temperatura é também considerada um dos parâmetros mais importantes na qualidade do gás produzido e na eficiência do processo, uma vez que as reações que ocorrem no interior do gaseificador são, em sua grande maioria, endotérmicas, reduzindo teores de alcatrão e aumentando quantidades de H<sub>2</sub>, CO e CO<sub>2</sub>. Por outro lado, temperaturas mais baixas (entre 300 °C e 600 °C) favorecem a formação de metano (CH<sub>4</sub>) (BURAGOHAİN; MAHANTA; MOHOLKAR, 2010; ZENG et al., 2017). A Figura 17 ilustra a eficiência do processo de gaseificação de acordo com a umidade da biomassa utilizada e a temperatura.

Figura 17 – Efeito da temperatura e da umidade da biomassa na eficiência da gaseificação.



Fonte: Sansaniwal et al. (2017).

Em termos monetários, os custos atrelados à implementação em larga escala da gaseificação, tanto o de capital (transporte, sistemas de gaseificação, sistemas de geração de energia, sistemas para limpeza do gás) quanto o operacional, dependem do tamanho e da complexidade da planta, do processamento da matéria-prima utilizada no processo de conversão, dos parâmetros de processo e da aplicação final do *syngas* produzido (WATSON et al., 2018).

### 2.8.1 Agentes gaseificantes

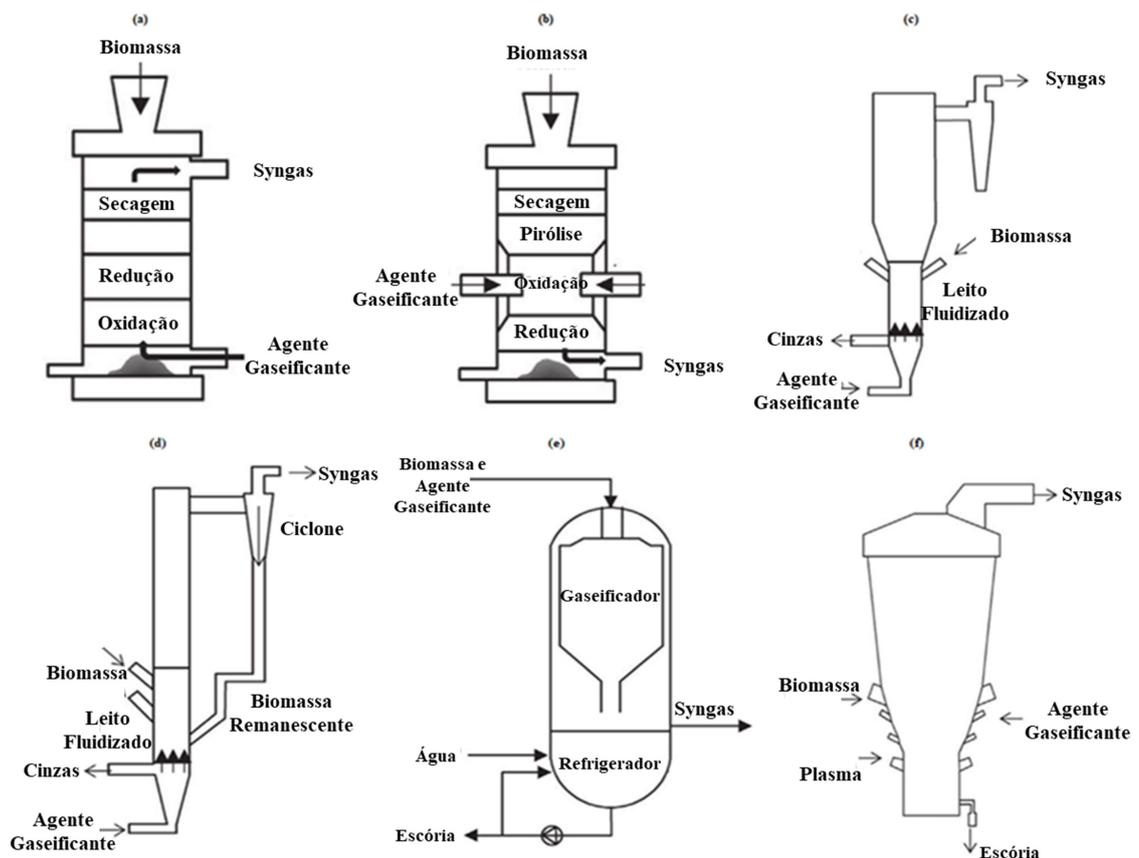
Os agentes gaseificantes podem ser endotérmicos ou exotérmicos e os mais utilizados são o ar, vapor e oxigênio, sendo que sua escolha influencia diretamente na composição do *syngas* obtido no processo de conversão. O ar é o agente mais comum por sua abundância na natureza e facilidade de emprego, e seu desempenho na gaseificação depende, principalmente, da temperatura e da razão de equivalência. Por conter alto teor de nitrogênio (79%), o *syngas* produzido é altamente diluído, aumentando os custos de separação. Já o uso do vapor durante a gaseificação é capaz de aumentar a quantidade de H<sub>2</sub> e CO<sub>2</sub> e reduzir CO e CH<sub>4</sub>, bem como a quantidade de alcatrão em 17% a 24% quando comparado ao ar e oxigênio respectivamente. No que se refere ao emprego do oxigênio, os custos são mais elevados tanto para aquisição do agente quanto para sua separação do gás de síntese, sendo utilizado muitas vezes em conjunto

com o vapor para a minimização dos gastos. Entretanto, possibilita a obtenção de um gás combustível com melhor qualidade em termos de poder calorífico (ADNAN et al., 2017; KIRSANOVS et al., 2016; MOHAMMED et al., 2011; ROCHE et al., 2014).

## 2.8.2 Configuração dos gaseificadores

A configuração do reator para a gaseificação, ou simplesmente gaseificador, depende das características da biomassa, das reações que ocorrem em seu interior e do conteúdo de cinzas. Podem se classificar em leito fixo (*updraft* e *downdraft*), leito fluidizado (borbulhante e circulante), fluxo arrastado e plasma, conforme ilustra a Figura 18.

Figura 18 – Gaseificadores de biomassa: (a) leito fixo *updraft*; (b) leito fixo *downdraft*; (c) leito fluidizado borbulhante; (d) leito fluidizado circulante; (e) fluxo arrastado; (f) plasma.



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

Nos gaseificadores de leito fixo, a direção do escoamento do combustível e do agente gaseificante é que definirão o modelo. No modelo *updraft*, o agente gaseificante é introduzido na parte inferior do reator e permite a interação da biomassa com os gases combustíveis na

corrente contrária. Esse modelo possui alta eficiência térmica, mas também propicia a contaminação do *syngas* pela formação de alcatrão. Já no modelo *downdraft*, a interação entre o agente gaseificante e a biomassa ocorrem no mesmo sentido na zona de pirólise, sendo necessário resfriamento do *syngas* para aplicação com alta eficiência, pois o mesmo sai com elevada temperatura (SANSANIWAL; ROSEN; TYAGI, 2017).

Por outro lado, os de leito fluidizado se caracterizam pelo regime fluidodinâmico, se utilizam de material inerte, geralmente sílica, para o processo de conversão facilitando maior área de contato com a matéria-prima. Nesse modelo, o meio fluidizante (ar, vapor, oxigênio ou uma mistura desses gases) é forçado a passar pelo interior do reator (LINK et al., 2012; WORLEY et al., 2012).

Já o gaseificador de fluxo arrastado, permite o trabalho com altas temperaturas e pressão, fato que favorece a formação de escória devido à fusão das cinzas da biomassa. Entretanto, com altas temperaturas e baixo tempo de residência, o *syngas* é praticamente isento de impureza orgânica (alcatrão) (QUITETE; SOUZA, 2014).

A tecnologia a plasma na gaseificação melhora o aproveitamento do processo devido ao aumento da dissociação molecular do gás, pode ser aplicada a uma grande variedade de biomassas com diferentes ranges de tamanho de partícula e reduz a emissão de gases nocivos. Entretanto, trata-se de uma tecnologia nova e com custos elevados (WATSON et al., 2018).

O Quadro 6 discorre, de forma sucinta, sobre as principais vantagens e desvantagens das configurações dos gaseificadores. Já o Quadro 7 ilustra exemplos de estudos encontrados na literatura referentes à gaseificação de biomassa microalgal em variações de configuração de gaseificadores e comparativos de eficiência energética com biomassas oriundas de outras fontes.

Quadro 6 – Vantagens e desvantagens dos sistemas de gaseificação de biomassa.

(contínua)

<b>Configuração</b>	<b>Vantagens</b>	<b>Desvantagens</b>
<b>Leito Fixo</b> <i>Updraft</i>	Tolerância elevada ao conteúdo de cinzas; Permite teores mais altos de umidade da biomassa; Menos sensível a quantidade e tamanho da biomassa; Baixa temperatura do gás de saída.	Acúmulo de alcatrão elevado; Limpeza do gás para operação em motor.
<b>Leito Fixo</b> <i>Downdraft</i>	Baixo acúmulo de alcatrão; Necessidade de limpeza do gás mais baixa.	Aplicável somente para biomassa mais densa; Baixa eficiência energética; Alta temperatura do gás de saída; Alto acúmulo de cinzas.
<b>Leito Fluidizado</b> <b>Borbulhante</b>	Transferência de calor excelente; Alto grau de mistura; Fácil sistema de remoção de cinzas; Menos sensível a variações da biomassa; Pode trabalhar com grandes quantidades e baixa qualidade da biomassa; Taxas elevadas de reação; Baixo tempo de residência; Investimento baixo para grande escala.	Operação mais complexa devido à inclusão de agente fluidizante; O gás produzido apresenta altas taxas de alcatrão; Formação de eutéticos a altas temperaturas causando aglomerações que atrapalham a fluidez; Requer altas velocidades do fluxo de gás quando comparado ao leito fixo.

Quadro 6 – Vantagens e desvantagens dos sistemas de gaseificação de biomassa.

(conclusão)

<b>Leito Fluidizado Circulante</b>	<p>Reciclagem de partículas;          Transferência de calor excelente;          Alto grau de mistura;          Fácil sistema de remoção de cinzas;          Menos sensível a variações da biomassa;          Pode trabalhar com grandes quantidades e baixa qualidade da biomassa;          Taxas elevadas de reação;          Baixo tempo de residência;          Investimento baixo para grande escala.</p>	<p>Requer alta velocidade do agente gaseificante;          Operação mais complexa do que a de leitos fixos;          O gás produzido apresenta altas taxas de alcatrão;          Formação de eutéticos a altas temperaturas causando aglomerações que atrapalham a fluidez;          Requer altas velocidades do fluxo de gás quando comparado ao leito fixo.</p>
<b>Fluxo Arrastado</b>	<p>Flexibilidade de biomassa;          Baixo tempo de residência;          Temperatura de reação uniforme ao longo do reator;          Pode trabalhar com temperaturas e pressões elevadas (acima de 1400 °C e de 2 a 7 MPa);          Baixa quantidade de alcatrão no gás produzido;          Cinzas removidas como escória;</p>	<p>Grande quantidade de agente oxidante necessária;          Elevado <i>heat input</i>;          Nível de calor elevado no gás produzido;          Custos elevados devido aos parâmetros para reação.</p>
<b>Plasma</b>	<p>Trabalha com qualquer tipo de resíduo;          Cinzas removidas como escória;          Pouco ou quase zero conteúdo de cinzas no gás produzido.</p>	<p>Tecnologia relativamente nova;          Investimento elevado;          Custos de operação elevados;          Manutenção frequente;          Produção de energia líquida baixa.</p>

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

Quadro 7 – Aplicações da gaseificação em biomassa microalgal.

Resumo	Referência
CLG ( <i>chemical looping gasification</i> ) da biomassa microalgal em presença de vapor e em reator de leito fixo, promoveu aumento de eficiência em cerca de 20% devido à oxidação parcial de O <sub>2</sub> presente no vapor.	Liu et al., 2017
Amostras de <i>Cladophora</i> e <i>Chlorella</i> utilizadas para a produção de biocombustível por meio de pirólise e gaseificação. Os resultados indicaram que aumentos na temperatura promoveram aumentos no rendimento do <i>syngas</i> produzido, composto principalmente por CO <sub>2</sub> , CO, H <sub>2</sub> e CH <sub>4</sub> .	Demirbas, M. F., 2011
Processo integrado de gaseificação da microalga <i>Nannochloropsis oculata</i> utilizando CO <sub>2</sub> como agente gaseificante. A taxa H <sub>2</sub> /CO foi maior para a microalga com 1,35, do que a da folha de palmeira (1,23) e a da casca de arroz (1,04).	Adnan e Hossain, 2018.
Gaseificação da microalga <i>Spirulina platensis</i> em leito fluidizado para investigar os efeitos da temperatura, taxa de equivalência e proporção de vapor injetado na composição de <i>syngas</i> quando comparado a gaseificação da madeira. O <i>syngas</i> resultante da microalga apresentou maiores proporções de cinzas.	Yang et al., 2013.
Gaseificação convencional e supercrítica da microalga <i>Nannochloropsis sp.</i> para comparativo de eficiência energética. Na primeira, o valor atingido foi de 42% enquanto que na segunda foi de 57%.	Muhammad, Oda e Kashiwagi, 2015.

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

## 2.9 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Independente da área de pesquisa em que se deseja atuar é essencial conhecer quais variáveis são importantes em algum tipo de estudo, bem como identificar quais são os limites inferior e superior de valores dessas variáveis para proposição de melhorias. Quanto mais se conhece a respeito de etapas de um processo, maior a capacidade de realização de experimentos para descrevê-lo e assim obter dados que possam ser transformados em informação para auxílio à tomada de decisão.

De acordo com Montgomery (2005), o planejamento experimental é uma ferramenta essencial e crítica para a ciência e engenharia, no que se refere a melhorias de produto e processo, podendo resultar em:

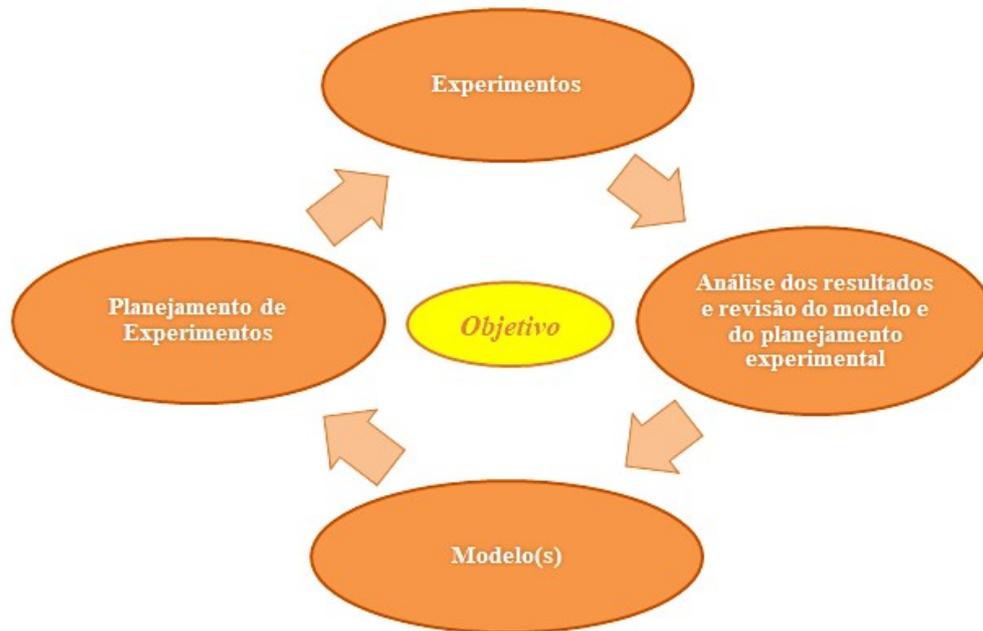
- aumento de produtividade;
- redução de variabilidade;
- redução de tempo de desenvolvimento;
- minimização de custos.

Entretanto, é de extrema importância que antes de realizar os experimentos os critérios e objetivos estejam bem claros e definidos, de modo a subsidiar a escolha:

- das variáveis envolvidas nos experimentos;
- da faixa de variação das variáveis selecionadas;
- dos níveis escolhidos para essas variáveis;
- da variável resposta;
- do planejamento experimental.

Na etapa de planejamento experimental, leva-se em consideração o tamanho da amostra (número de réplicas), a seleção de uma ordem de realização dos experimentos e o método de análise dos resultados dos experimentos para guiar uma tomada objetiva de decisão (FAROOQ et al., 2016). A estratégia inicial do planejamento experimental pode ser observada na Figura 19.

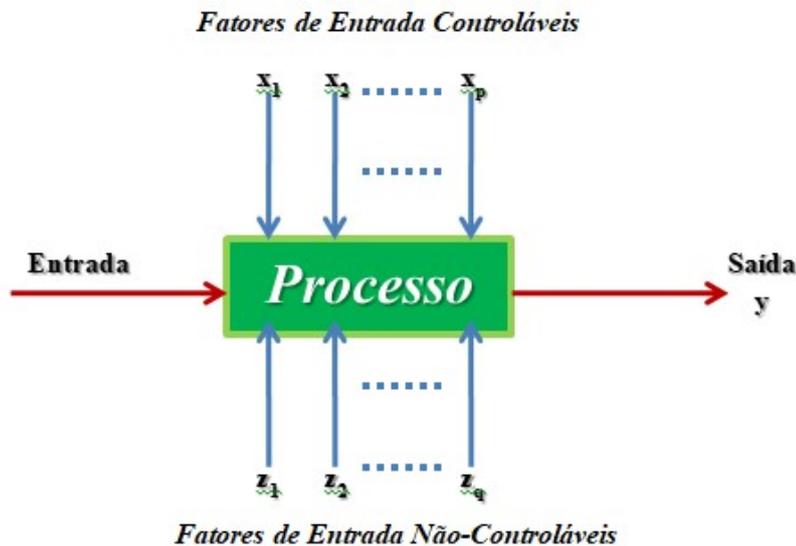
Figura 19 – Estratégia inicial do planejamento experimental.



Fonte: Adaptado de Barros Neto et al. (2007) e Farooq et al. (2016).

Para a realização de um experimento bem planejado o mesmo deve consistir num teste ou numa série de testes, no qual são feitas mudanças propositalmente nas variáveis de entrada de um processo, a fim de se observar e identificar mudanças correspondentes na resposta de saída. Quais parâmetros serão modificados, como e qual será a magnitude dessa mudança devem estar alinhados ao planejamento experimental e, conseqüentemente, ao objetivo de estudo. O processo nada mais é do que uma combinação de máquinas, métodos e pessoas que transformam o material de entrada em um produto de saída com uma ou mais características de qualidade observáveis, as quais se denominam resposta (MONTGOMERY, 2005; SCHLUETER; GEYER, 2018; MILLER et al., 2014; THOMAS et al., 2014). Algumas das variáveis do processo são controláveis enquanto que outras são não-controláveis, recebendo estas o nome de ruído conforme ilustrado na Figura 20.

Figura 20 – Modelo geral de um processo.



Fonte: Adaptado de Montgomery e Runger (2003).

Sendo assim, o planejamento experimental pode ser utilizado para o desenvolvimento do processo bem como para a solução de problemas de processo, visando melhorar o seu desempenho ou transformá-lo em um processo robusto a fontes externas de variabilidade possuindo como principais objetivos (BESHAH; WOLDEGEBRIEL; DESTA, 2015; COHEN; TIPLICA; KOBI, 2016; MONTGOMERY, 2005; SIBALIJA; MAJSTOROVIC; SOKOVIC, 2011):

- determinar quais variáveis são mais influentes na resposta  $y$ ;
- determinar os valores a serem atribuídos a  $x$  de modo que  $y$  esteja próximo a exigência nominal;
- determinar os valores a serem atribuídos a  $x$  de modo que a variabilidade em  $y$  seja pequena;
- determinar os valores a serem atribuídos a  $x$  de modo que os efeitos das variáveis não-controláveis sejam minimizados.

## 2.10 METODOLOGIA DE PROJETO DE EXPERIMENTOS

O Projeto de Experimentos, termo traduzido do inglês para *Design of Experiments* (DOE), se refere a uma metodologia desenvolvida entre os anos de 1920 e 1930 por Sir Ronald A. Fisher, um estatístico, biólogo evolutivo e geneticista inglês, que contribuiu

substancialmente para as fundações da moderna ciência estatística, por meio do uso de métodos estatísticos e da análise de dados. Sua primeira aplicação ocorreu na Universidade de Londres, quando Fisher utilizou o *Design of Experiments* (DOE) em experimentos agrícolas e em ciências biológicas, obtendo grande sucesso em sua pesquisa. Fora do meio acadêmico, a primeira aplicação industrial do DOE ocorreu no ano de 1930 na *British Textile*. Logo após a Segunda Guerra Mundial, empresas dos Estados Unidos e da Europa introduziram a metodologia para a otimização de seus processos industriais. A notória eficácia do DOE tornou-o uma das principais ferramentas de melhoria de processos. Tal metodologia aprimorou-se com o tempo e recebeu importantes contribuições de pesquisadores como Box, Hunter, Taguchi, entre outros (BARROS NETO et al., 2007; DIXON et al., 2006; MONTGOMERY, 2005).

Para Montgomery (2005), uma maneira sistemática de avaliar a magnitude das fontes de variação que influenciam um processo é por meio da identificação e seleção dos fatores que contribuem para tal variação, seguido pelo modelo matemático que inclua os fatores escolhidos e o planejamento de experimentos eficientes para estimar seus efeitos. Os experimentos devem ser realizados de acordo com o planejado, sendo que detectar, documentar e analisar anormalidades que ocorreram na condução experimental é essencial para garantir um estudo de sucesso. Vale ressaltar que a viabilidade do estudo deve ser levada em consideração antes de iniciá-lo.

Barros Neto et al. (2007) afirmam que para se obter um planejamento de experimentos satisfatório, o uso de réplicas, aleatorização e blocagem representa um ótimo caminho. Quando um teste é repetido diversas vezes em unidades experimentais distintas, avalia-se a significância estatística do incremento experimental por meio da criação de uma variação para a variável resposta. Por outro lado, a aleatorização de um experimento possibilita aumentar sua validade, uma vez que a chance dos efeitos desconhecidos serem distribuídos entre os níveis dos fatores também aumenta. Pode-se citar ainda que quando a homogeneidade das condições experimentais não puder ser mantida, emprega-se uma técnica estatística denominada blocagem, na qual se constrói um bloco que representa parte do experimento completo e que se julga mais uniforme do que o todo, a fim de se avaliar se essa falta de homogeneidade interfere nos resultados.

Após a seleção dos fatores e de seus respectivos níveis, inicia-se a fase de execução dos experimentos. O arranjo experimental mais comum se refere ao fatorial completo, no qual o número de experimentos é igual ao número de níveis experimentais elevado ao número de fatores. Por exemplo, ao se utilizar o caso típico de fatoriais em dois níveis, o número de

experimentos ( $N$ ) para se avaliar  $k$  fatores é dado por  $N = 2^k$ . Os fatoriais completos garantem a cobertura de todo o espaço experimental, entretanto, o número de fatores cresce linearmente, enquanto que o número de experimentos cresce exponencialmente, o que pode tornar o processo de experimentação inviável caso se explore uma quantidade muito grande de fatores (MONTGOMERY, 2005).

Segundo Montgomery e Runger (2003), quando não há muito interesse nas interações entre os fatores, pode-se utilizar uma quantidade menor de experimentos que seja suficiente para avaliar os efeitos principais ou as interações de baixa ordem. Dessa maneira, frações do experimento completo são suficientes para identificar os fatores influentes.

De acordo com Box, Hunter e Hunter (1978), uma meia fração de um experimento  $2^k$  contém  $2^{k-1}$  experimentos. Sendo assim, o arranjo é construído por meio de um fatorial completo  $2^{k-1}$ , igualando-se a coluna representativa do fator remanescente com os fatores que fazem parte do fatorial completo  $2^{k-1}$ . Por exemplo, um arranjo  $2^{3-1}$  possui uma parte completa  $2^2$ . Sendo os fatores originais A, B e C, e considerando A e B para compor um fatorial completo, admite-se que  $C = AB$ . Essa relação recebe o nome de confundimento, e a identidade entre os fatores faz com que não seja mais possível estimar o efeito do fator separadamente, mas sim da combinação linear formada. Vale ressaltar que a intensidade do confundimento entre os efeitos principais e as interações possibilita a escolha do fracionamento mais adequado para cada situação. A escolha de um fatorial fracionado ao invés de um fatorial completo pode tornar o experimento mais viável economicamente, além de reduzir seu tempo de execução, quando se analisa um número grande de fatores, uma vez que o mesmo leva em consideração uma quantidade relativamente pequena de experimentos com o intuito de identificar os fatores realmente influentes.

Dessa forma, o planejamento de experimentos representa uma abordagem sistemática e é fundamental para a compreensão de um produto, processo ou serviço e alcance de melhorias de qualidade e eficiência (ANTONY; SIVANATHAN; GIJO, 2014; RELKAR; NANDURKAR; 2012). Sua aplicação atinge as mais diversas áreas da engenharia (química, materiais, mecânica), processos biológicos entre outros (HRICOVA; NAPRSTKOVA, 2015; SUN et al., 2010; VADAKKEPAT; TAN; HONG, 2012).

## 2.11 ANÁLISE DE VARIÂNCIA - ANOVA

Quando se deseja testar se alterações no nível de um fator ou se interações entre fatores são significativas, utiliza-se um método quantitativo clássico conhecido como análise de

variância ou ANOVA no qual se emprega um teste de hipótese para a média fundamentado na relação existente entre a variação dentro de um tratamento (*Within*) e a variação entre tratamentos (*Between*). No que se refere à variação dentro de um tratamento, a mesma é originária da execução repetida dos ensaios. Neste caso, calculando-se a média das réplicas, obtém-se a média dentro do tratamento. Quanto mais as réplicas se afastarem da média, maior a variação dentro do tratamento. Além disso, ao dividir a variação *Between* pela variação *Within*, obtém-se a estatística do teste da Distribuição *F* de Snedecor. Tal valor quando comparado com um valor de *F* crítico, obtido pela combinação do nível de significância com o número de graus de liberdade da variação *Within*, permite a aceitação ou a rejeição da hipótese nula de igualdade entre as médias dos níveis dos fatores (FAN et al., 2017; MONTGOMERY, 2005).

A hipótese nada mais é do que uma afirmação que se deseja testar por meio de dados amostrais. Segundo Montgomery e Runger (2003), ao se realizar o teste de hipótese é possível cometer dois tipos de erro que se excluem mutuamente. O primeiro se refere ao Erro Tipo I, ou seja, rejeita-se a hipótese nula ( $H_0$ ) quando na verdade ela é verdadeira. A probabilidade de se cometer este tipo de erro é denominada nível de significância do teste ( $\alpha$ ). Já o segundo, se refere ao Erro Tipo II no qual a hipótese nula é aceita quando na verdade ela é falsa, sendo a probabilidade de se cometer este tipo de erro conhecida como  $\beta$ .

De acordo com Montgomery (2005), o nível de confiança do teste é  $1 - \alpha$ , ou seja, aceita-se  $H_0$  quando a mesma é verdadeira. Já o poder do teste é calculado subtraindo-se da unidade o valor de  $\beta$  ( $1 - \beta$ ). Tal probabilidade se refere a rejeitar  $H_0$  quando a mesma for falsa. Os possíveis resultados de um teste de hipótese e suas probabilidades condicionadas à realidade podem ser visualizados no Quadro 8:

Quadro 8 – Resultados para um teste de hipótese.

		<i>Realidade</i>	
		$H_0$ Verdadeira	$H_0$ Falsa
<i>Decisão</i>	Aceitar $H_0$	Decisão Correta ( $1-\alpha$ )	Erro Tipo II ( $\beta$ )
	Rejeitar $H_0$	Erro Tipo I ( $\alpha$ )	Decisão Correta ( $1-\beta$ )

Fonte: Costa Neto (1977).

Por meio da amostra, é possível calcular a estatística do teste e compará-la ao valor crítico determinado por  $\alpha$ , o que acarreta na aceitação ou na rejeição da hipótese nula. Segundo Montgomery (2005), a Região Crítica é estabelecida pelo conjunto de todos os

valores da estatística de teste que levam à rejeição da hipótese  $H_0$ . No caso de planejamento de experimentos, para se avaliar a significância do efeito dos níveis de um fator A, bem como de um fator B, é essencial testar a hipótese da igualdade entre as respostas médias obtidas com os níveis dos dois fatores, além de determinar se há interação entre os dois fatores. Neste caso, as hipóteses necessárias para a realização do teste estão apresentadas no Quadro 9:

Quadro 9 – Hipóteses para ANOVA de dois fatores.

<i>Hipóteses</i>	<i>Efeitos Principais</i>	<i>Interações</i>
Hipótese Nula ( $H_0$ )	$H_0: A_1 = A_2$	$H_0: AB_{ij} = 0$
Hipótese Alternativa ( $H_1$ )	$H_1: A_1 \neq A_2$	$H_1: AB_{ij} \neq 0$

Fonte: Costa Neto (1977).

De acordo com o Quadro 9, nota-se que a aceitação de  $H_0$  indica que os efeitos obtidos nos dois níveis dos fatores A e B são iguais na resposta. Já na hipótese alternativa, os efeitos são diferentes. No caso da interação, aceitar a hipótese  $H_0$  demonstra que a interação não é significativa. Quando dois níveis de um fator gerarem respostas médias estatisticamente iguais, admite-se que o fator não tem influência na resposta de interesse. Caso contrário, ou seja, quando se identifica uma diferença significativa, admite-se que o fator é importante. O modelo matemático para tratar um fatorial completo com dois fatores (A e B) em dois níveis é:

$$Y_{ijk} = \mu + A_i + B_j + AB_{ij} + \varepsilon_{ijk} \quad (10)$$

Sendo que:

- $i$ : número de níveis de A;
- $j$ : número de níveis de B;
- $k$ : número de réplicas;
- $Y_{ijk}$ : ( $ijk$ )-ésima observação obtida no experimento;
- $\mu$ : média geral;
- $A_i$ : efeito do  $i$ -ésimo tratamento do fator A;
- $B_j$ : efeito do  $j$ -ésimo tratamento do fator B;
- $AB_{ij}$ : efeito da  $ij$ -ésima interação AB entre os fatores;
- $\varepsilon_{ijk}$ : componente do erro aleatório.

De acordo com Montgomery e Runger (2003), as fórmulas para se construir a ANOVA levando-se em consideração dois fatores, no caso o fator A com  $a$  níveis, o fator B com  $b$  níveis e  $n$  réplicas, podem ser visualizadas no Quadro 10:

Quadro 10 – ANOVA: 2 fatores, 2 níveis e  $n$  réplicas.

Soma de cada linha ( $Y_{sl}$ )	$\sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}$	Média de cada linha ( $\bar{Y}_l$ )	$\frac{1}{bn} \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}$
Soma de cada coluna ( $Y_{sc}$ )	$\sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^n y_{ijk}$	Média de cada Coluna ( $\bar{Y}_c$ )	$\frac{1}{an} \sum_{i=1}^a \sum_{k=1}^n y_{ijk}$
Soma dentro de cada célula ( $Y_{scel}$ )	$\sum_{k=1}^n y_{ijk}$	Média dentro de cada célula ( $\bar{Y}_{cel}$ )	$\frac{1}{n} \sum_{k=1}^n y_{ijk}$
Soma Geral ( $Y_{st}$ )	$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}$	Média Geral ( $\bar{Y}_t$ )	$\frac{1}{abn} \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}$

Fonte: Montgomery e Runger (2003).

Por meio dos somatórios listados acima, é possível escrever a Soma dos Quadrados Total ( $SS_T$ ) como:

$$\sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (y_{ijk} - \bar{y}_t)^2 = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n [(\bar{y}_l - \bar{y}_t) + (\bar{y}_c - \bar{y}_t) + (\bar{y}_{cel} - \bar{y}_l - \bar{y}_c + \bar{y}_t) + (y_{ijk} - \bar{y}_{cel})]^2 =$$

$$bn \sum_{i=1}^a (\bar{y}_l - \bar{y}_t)^2 + an \sum_{j=1}^b (\bar{y}_c - \bar{y}_t)^2 + n \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b (\bar{y}_{cel} - \bar{y}_l - \bar{y}_c + \bar{y}_t)^2 + \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n (y_{ijk} - \bar{y}_{cel})^2 \quad (11)$$

Sendo assim, a Soma dos Quadrados Total do arranjo é dada pela soma dos quadrados referente aos tratamentos de linha  $SS_A$  (fator A), soma dos quadrados referente aos tratamentos de coluna  $SS_B$  (fator B), a soma de quadrados devido à interação entre A e B ( $SS_{AB}$ ) e a soma de quadrados devido ao erro experimental  $SS_E$ . Dessa maneira, é possível escrever:

$$SS_T = SS_A + SS_B + SS_{AB} + SS_E \quad (12)$$

As equações das somas dos quadrados total, do fator A e do fator B, também podem ser escritas como:

$$SS_T = \sum_{i=1}^a \sum_{j=1}^b \sum_{k=1}^n y_{ijk}^2 - \frac{y_{st}^2}{abn} \quad (13)$$

$$SS_A = \frac{1}{bn} \sum_{i=1}^a y_{st}^2 - \frac{y_{st}^2}{abn} \quad (14)$$

$$SS_B = \frac{1}{an} \sum_{j=1}^b y_{sc}^2 - \frac{y_{st}^2}{abn} \quad (15)$$

As equações listadas acima podem ser resumidas no Quadro 11 da ANOVA:

Quadro 11 – ANOVA.

<i>Fonte de Variação</i>	<i>Soma dos Quadrados</i>	<i>Graus de Liberdade</i>	<i>Média Quadrática</i>	<i>F<sub>0</sub></i>
Fator A	$SS_A$	$a-1$	$MS_A = \frac{SS_A}{a-1}$	$F_0 = \frac{MS_A}{MS_E}$
Fator B	$SS_B$	$b-1$	$MS_B = \frac{SS_B}{b-1}$	$F_0 = \frac{MS_B}{MS_E}$
Interação AB	$SS_{AB}$	$(a-1)(b-1)$	$MS_{AB} = \frac{SS_{AB}}{(a-1)(b-1)}$	$F_0 = \frac{MS_{AB}}{MS_E}$
Erro	$SS_E$	$ab(n-1)$	$MS_E = \frac{SS_E}{ab(n-1)}$	
<b>TOTAL</b>	$SS_T$	$abn-1$		

Fonte: Montgomery e Runger (2003).

## 2.12 MÉTODO TAGUCHI

O método de Taguchi tem sido amplamente utilizado por sua capacidade de estabelecer uma configuração ideal de *design* no estudo da relação dos fatores (variáveis controláveis) com as variáveis respostas, além de sua flexibilidade em trabalhar tanto com variáveis contínuas, quanto discretas e qualitativas (HONG, 2012).

Para Yang e Peng (2012), a engenharia da qualidade se beneficia da aplicação do método para atingimento de variâncias mínimas de produto e de processo que geram qualidade elevada e custos reduzidos.

O método baseia-se em uma matriz ortogonal e investiga, simultaneamente, os fatores significativos (ou variáveis de decisão) que melhoram a função objetivo de forma mais eficaz. Trata-se de um processo robusto que substitui experimentos fatoriais completos (o número de experimentos aumenta conforme o número de parâmetros do processo em questão se eleva) por meio de uma matriz ortogonal que estipula a forma de conduzir o menor número de experimentos que gere dados suficientes para a determinação dos fatores que afetam o parâmetro de desempenho (ALBETLAN; DONG; LOW, 2015; BALAK; ZAKERI; RAHIMIPOUR, 2015; BALONI; PATAK; CHANNIWALA, 2015).

As primeiras aplicações do Método Taguchi ocorreram em produtos eletrônicos, automotivos e de fotografia. De acordo com Padke (1989), a introdução dos fundamentos do Projeto Robusto nos processos industriais, representou um fator preponderante para o crescimento das indústrias japonesas.

Segundo Ross (1996) e Selvaraj, Chandramohan e Mohanraj (2014), o Método Taguchi possui vantagens como:

- reduz, economicamente, a variabilidade da variável resposta;
- indica a melhor maneira de descobrir as condições ótimas do processo durante os experimentos laboratoriais;
- representa uma importante ferramenta para melhorar a produtividade do setor de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D);
- pode ser aplicado em qualquer tipo de processo.

E para sua aplicação, é essencial seguir os seguintes passos:

- selecionar as variáveis respostas a serem otimizadas;
- identificar os fatores (variáveis de entrada) que afetam as variáveis respostas;
- determinar os níveis dos fatores estudados;
- selecionar o arranjo ortogonal mais apropriado para o caso em questão (os arranjos podem ser consultados em (TAGUCHI; KONISHI, 1987);
- atribuir fatores e interações às colunas do arranjo selecionado;
- executar os experimentos (nesta etapa, é essencial aleatorizar os ensaios com a finalidade de minimizar o erro sistemático);

- analisar os resultados por meio da razão sinal-ruído (S/N) e da análise de variância (ANOVA);
- determinar os parâmetros ótimos para o processo em questão;
- realizar experimentos para confirmar os resultados, caso seja necessário.

No que se refere à análise por meio da razão sinal-ruído (S/N), é necessário definir claramente o objetivo da otimização, com a finalidade de escolher adequadamente a função S/N a ser empregada. Existem três objetivos que podem ser alcançados por meio da aplicação do Método Taguchi: menor é melhor, maior é melhor e nominal é melhor. As equações 7, 8 e 9 representam cada um desses objetivos (KUMAR; SURESHKUMAR; VELRAJ, 2015).

- Menor é melhor:

$$\frac{S}{N} = -10 \log \frac{\sum y_i^2}{n} \quad (16)$$

Onde:  $y_i$  representa os valores individuais das respostas e  $n$  o número de réplicas.

- Maior é melhor:

$$\frac{S}{N} = -10 \log \left( \frac{1}{n} \sum \frac{1}{y_i^2} \right) \quad (17)$$

- Nominal é melhor:

$$\frac{S}{N} = 10 \log \frac{\bar{y}^2}{S^2} \quad (18)$$

Onde:  $S^2$  representa a variância.

A razão sinal-ruído nada mais é do que uma função logarítmica utilizada para otimizar processos por meio da minimização de sua variabilidade, ou seja, pode ser entendida como o inverso da variância, e sua maximização possibilita a redução da variabilidade do processo no caso de mudanças indesejáveis no ambiente externo, isto é, mudanças nos fatores incontroláveis também conhecidos como ruídos. Sendo assim, para minimizar a variabilidade, o nível do fator que produzir o maior valor para a razão sinal-ruído deve ser escolhido (MONTGOMERY, 2005).

Após a análise por meio da razão sinal-ruído, aplica-se a análise de variância (ANOVA) com a finalidade de testar a igualdade das diversas médias, identificando quais parâmetros (fatores) do processo são estatisticamente significativos. Os resultados da ANOVA são apresentados na forma de uma tabela que demonstra para cada fator ou interação os valores de:

- *SS*: soma dos desvios da média ao quadrado. Para  $n$  valores de  $y_i$  e para a média  $\bar{y}$  dos valores, tem-se que:

$$SS = \sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2 \quad (19)$$

- *g.l.*: graus de liberdade. Para calculá-lo, basta subtrair 1 do número de níveis de cada fator.
- *MS*: média dos quadrados (*mean of squares*):

$$MS = \frac{SS}{g.l.} \quad (20)$$

- *F*: valor da distribuição *F* de Snedecor. Representa a razão entre a média dos quadrados do efeito e a média dos quadrados do erro:

$$F = \frac{MS_{efeito}}{MS_{erro}} \quad (21)$$

O teste *F* é utilizado para verificar a significância de cada fator ou interação na variável resposta ou na razão sinal-ruído.

- *p*: valor da probabilidade que fornece o grau de confiança da significância de cada fator ou interação.

Segundo Montgomery (2005), alguns dos arranjos de Taguchi são fatoriais fracionários, e dependendo da área em que o método será aplicado, do número de fatores identificados e do experimento escolhido, o arranjo pode tornar-se saturado. Sendo assim, tais arranjos não conseguem avaliar as interações entre os fatores, a não ser que os mesmos sejam não

saturados, e mesmo assim, só é possível avaliar algumas interações de interesse, sendo que apenas interações duplas serão contempladas.

Dessa maneira, nota-se que o Método Taguchi gera modelos lineares de primeira ordem, e dependendo da situação em que será aplicado, só serão obtidos modelos lineares para o estudo em questão, ou seja, deve-se estar atento se o modelo proposto pelo método é adequado ou não para a realidade explorada.

### 2.13 FUNÇÃO *DESIRABILITY*

De acordo com Barros Neto et al. (2007), considerando-se um problema geral de otimização com várias respostas ( $y_1, y_2, y_3, \dots, y_m$ ), para as quais se constrói modelos baseados no mesmo conjunto de fatores codificados ( $x_1, x_2, x_3, \dots, x_m$ ), é possível descobrir os níveis dos fatores que produzirão o conjunto de respostas mais satisfatório de diversas maneiras. No primeiro caso, o número de fatores significativos  $x_i$  permite a visualização dos modelos ajustados e o número de respostas não é grande demais, possibilitando a sobreposição das superfícies de resposta e, conseqüentemente, a localização da melhor região por inspeção visual. Já o segundo caso, se refere ao tipo de objetivo, ou seja, quando se deseja maximizar ou minimizar uma dada resposta mantendo as demais sujeitas a determinadas restrições. Sendo assim, aconselha-se o uso de métodos de programação linear ou até mesmo não linear, que são comumente utilizados na engenharia.

Agora, se o problema em questão não se encaixa em nenhuma das categorias expostas anteriormente, aconselha-se o uso de uma metodologia de otimização simultânea denominada função *desirability* proposta primeiramente por E. C. Harrington e, posteriormente, aprimorada por G. C. Derringer e R. Suich, que quando adequadamente empregada pode fornecer resultados satisfatórios (MONTGOMERY, 2005).

De acordo com Van Gysegem et al. (2004), a função *desirability* é definida como um método multicritério capaz de avaliar um conjunto de respostas, simultaneamente, possibilitando a determinação do conjunto de condições mais desejável para as propriedades estudadas, ou seja, a qualidade de um produto ou processo que possui múltiplas características de qualidade é completamente inaceitável se uma dessas características estiver fora dos limites desejados. O método baseia-se no estabelecimento de um relacionamento entre as respostas e as variáveis independentes, seguido pela transformação unilateral ou bilateral de Harrington, ou seja, cada uma das respostas do conjunto original é transformada em uma função *desirability* individual ( $d_i$ ) pertencente ao intervalo [0;1].

Por meio do valor da *desirability* individual, é possível realizar as seguintes conclusões:

- $d_i = 1$ : a resposta  $y_i$  está no seu valor desejável;
- $0,80 \leq d_i < 1$ : a resposta  $y_i$  está excelente;
- $0,63 \leq d_i < 0,80$ : a resposta  $y_i$  está adequada;
- $0,40 \leq d_i < 0,63$ : a resposta  $y_i$  está aceitável, mas pobre;
- $0,30 \leq d_i < 0,40$ : a resposta  $y_i$  está no limite de aceitabilidade;
- $0 \leq d_i < 0,30$ : a resposta  $y_i$  está fora da faixa adequada;

Ao se calcular as funções *desirability* para todas as respostas, as mesmas são combinadas em uma função denominada *Desirability* Global ( $D$ ), que corresponde a média geométrica das  $m$  *desirability* individuais, conforme a equação 22:

$$D = \sqrt[m]{d_1 \times d_2 \times d_3 \times \dots \times d_m} \quad (22)$$

De acordo com Barros Neto et al. (2007), a transformação das *desirability* individuais em uma *desirability* global permite que a otimização simultânea das várias respostas se reduza à maximização de um único valor ( $D$ ), ou seja, em sua essência, o método condensa um problema de otimização multivariado em um problema univariado.

A equação (22) é empregada somente quando todas as respostas tiverem o mesmo grau de importância. Caso contrário, deve-se utilizar a equação (23):

$$D = \left[ \prod_{i=1}^n d_i^{w_i} \right]^{\frac{1}{W}} \quad (23)$$

Onde:  $w_i$  representa o grau de importância de cada resposta individual, e  $W$  a soma dos graus de importância.

De maneira geral, o valor de  $D$  avalia os níveis do conjunto combinado das respostas e também pertence ao intervalo  $[0;1]$ . Seu valor será maximizado quanto mais as respostas se aproximarem de suas respectivas especificações, ou seja, quanto mais próximo da unidade o valor de  $D$  estiver, mais as respostas originais estarão próximas de seus limites de especificação.

Uma vantagem do uso da média geométrica é que a mesma torna a *desirability* global nula sempre que uma das respostas possuir um valor inaceitável, não importando se os valores das demais respostas forem satisfatórios. Além disso, a utilização da média geométrica tem a

vantagem de alcançar a solução global de maneira balanceada, permitindo que todas as respostas atinjam os valores esperados e forçando o algoritmo a se aproximar das especificações impostas. Se tal fato não ocorrer, o algoritmo retorna uma solução inviável e indesejável para o problema (BARROS NETO et al., 2007; KARATAPANIS et al., 2011; PAIVA, 2006).

Entretanto, o método possui algumas desvantagens. A primeira se refere a transformação das *desirability* individuais na *desirability* global. Tal transformação não leva em consideração a estrutura de variância-covariância das respostas. Além disso, ao se aumentar consideravelmente o número de variáveis respostas, há um aumento da não linearidade de  $D$ , o que pode acarretar na localização de ótimos locais apenas (BARROS NETO et al., 2007; KARATAPANIS et al., 2011; PAIVA, 2006).

De acordo com Callado e Montgomery (2003), as funções *desirability* individuais são calculadas conforme o objetivo que se deseja alcançar para cada resposta, ou seja, sua maximização, minimização ou normalização (também conhecida como função bilateral). Para cada um dos objetivos, as funções *desirability* individuais são estruturadas da seguinte forma:

- Maximização: para que um valor desejado ótimo  $T$  seja máximo para uma resposta  $Y$ , tem-se a seguinte função *desirability*:

$$d = \begin{cases} 0 & \text{se } Y < L \\ \left\{ \frac{Y-L}{T-L} \right\}^{s'} & \text{se } L \leq Y \leq T \\ 1 & \text{se } Y > T \end{cases} \quad (24)$$

Onde:  $L$  é o menor valor aceitável para a resposta  $Y$ .

- Minimização: para que um valor desejado ótimo  $T$  seja mínimo para uma resposta  $Y$ , tem-se a seguinte função *desirability*:

$$d = \begin{cases} 1 & \text{se } T < Y \\ \left\{ \frac{U-Y}{U-T} \right\}^{t'} & \text{se } T \leq Y \leq U \\ 0 & \text{se } Y > U \end{cases} \quad (25)$$

Onde:  $U$  é o maior valor aceitável para a resposta  $Y$ .

- Função Bilateral (Normalização): é aquela em que o valor desejado  $T$  está localizado entre o limite inferior ( $L$ ) e o limite superior ( $U$ ). Neste caso, a função *desirability* é:

$$d = \left. \begin{array}{ll} 0 & \text{se } Y < L \text{ ou } Y > U \\ \left\{ \frac{Y-L}{T-L} \right\}^{s'} & \text{se } L \leq Y \leq T \\ \left\{ \frac{U-Y}{U-T} \right\}^{t'} & \text{se } T \leq Y \leq U \end{array} \right\} \quad (26)$$

Nas equações expostas anteriormente, nota-se o surgimento de dois parâmetros:  $s'$  e  $t'$ . Para Montgomery (2005), tais parâmetros definem a variação da taxa da *desirability* com a resposta, ou seja, variando-se os valores de  $s'$  e  $t'$ , é possível acelerar ou retardar a *desirability*, além de se atribuir diferentes valores aos diversos níveis de reposta. Dessa maneira, ao se definir valores elevados para  $s'$  e  $t'$ , o valor da *desirability* decairá rapidamente, tornando-se muito baixo, a não ser quando  $Y$  estiver muito próximo do valor ótimo desejado. Por outro lado, ao se definir valores baixos para os parâmetros em questão, os mesmos farão com que a taxa de variação da resposta seja mais ampla, sem que a *desirability* seja diminuída.

De acordo com Barros Neto et al. (2007), a escolha dos parâmetros  $s'$  e  $t'$  vai depender da prioridade ou da importância relativa que se deseja atribuir a cada resposta. Sendo assim, a taxa de variação ou a queda da *desirability* não precisam ser simétricas em torno de  $T$ , ou seja, os valores de  $s'$  e  $t'$  podem ser diferentes.

Nota-se que a variação desses parâmetros gera um conjunto de soluções otimizadas, e que a variação entre essas soluções indica o quão robusta é a condição experimental estudada, ou seja, se as soluções forem insensíveis a variação de  $s'$  e  $t'$ , significa que o procedimento experimental é robusto. As Figuras 21 e 22 demonstram de maneira sintetizada os objetivos da otimização do Método de Derringer e Suich, e as relações de importância entre o alvo e os limites na transformação das respostas em *desirability* individuais:

Figura 21 – Objetivos da otimização do método de Derringer e Suich.

Objetivo	Características	Representação Esquemática
Minimizar	O valor da função <i>desirability</i> aumenta enquanto que o valor da resposta original se aproxima de um valor alvo mínimo. Abaixo do alvo, $d = 1$ ; acima do limite superior, $d = 0$	
Normalizar	Quando a resposta se move em direção alvo, o valor da função <i>desirability</i> aumenta. Acima ou abaixo dos limites, $d = 0$ ; no alvo $d = 1$ .	
Maximizar	O valor da função <i>desirability</i> aumenta quando o valor da resposta aumenta. Abaixo do limite inferior, $d = 0$ ; acima do alvo, $d = 1$ .	

Fonte: Paiva (2006)

Figura 22 – Relações de importância entre o alvo e os limites no *desirability*.

	Se o peso é menor que 1 (valor mínimo é 0,1), então, menos ênfase se dá ao alvo.
	Quando o peso é igual a 1, a importância dada ao alvo é igual à importância dada aos limites.
	Se o peso dado à resposta é maior do que 1 (o valor máximo é 10), então, mais ênfase é dada ao alvo.

Fonte: Paiva (2006).

Para Barros Neto *et al.* (2007), apesar da metodologia de Derringer e Suich ser muito interessante (é possível maximizar algumas das respostas, definir o valor-alvo de outras, além de minimizar algumas simultaneamente), é necessário ter todo o cuidado quando se otimiza

várias respostas simultaneamente. Se o algoritmo for aplicado mecanicamente, é bem provável que se encontre um conjunto de condições matematicamente otimizadas, porém sem viabilidade prática. Tal fato é possível quando algumas condições de contorno tenham sido relaxadas no início da investigação, ou porque os parâmetros  $s'$  e  $t'$  não tenham sido escolhidos adequadamente. Às vezes, só é possível perceber que o problema está mal formulado quando se percebe que condições experimentais absurdas são dadas como ótimas pelo *software* utilizado.

De uma forma geral, a função *desirability* representa uma técnica capaz de fornecer a visão global de um processo específico, sendo um meio eficaz de otimização simultânea de problemas com múltiplas respostas que consideram diversas métricas (PASANDIDEH; NIAKI, 2006; RAISSI; FARSANI, 2009). No Quadro 12, é possível verificar os estudos de maior relevância, por meio de um resumo, com a aplicação da função *desirability*. Nota-se uma variedade de áreas que tem apresentado sucesso com a aplicação da ferramenta.

Quadro 12 – Estudos relevantes com a aplicação da função *desirability*.

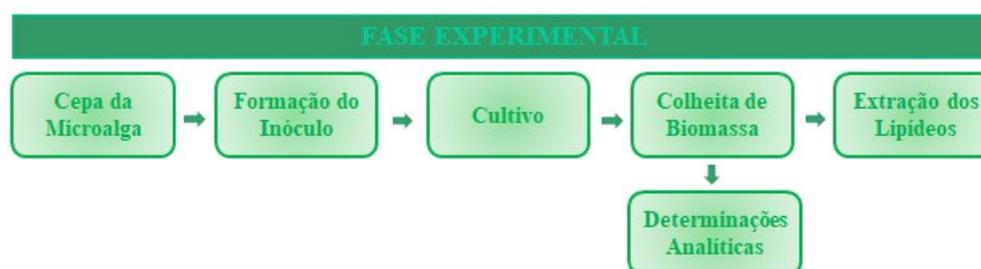
Resumo	Referência
Avaliação de duas diferentes metas de performance de cromatografia. Permitiu prever a melhor condição operacional em cromatografia líquida micelar para aminoácido (fenyl thiohydantion) em relação à tempo de resolução e análise.	Safa e Hadjmohammadi (2005).
Otimização da produção média de glutamina durante a fermentação. A aplicação da ferramenta minimizou a concentração de glutamato (subproduto da fermentação) e os custos de produção em 53,6% e 7,1% respectivamente.	Li et al. (2007)
Utilização de um fatorial completo para averiguar o desempenho à fadiga de um aço sedimentado por meio dos parâmetros distância <i>standoff</i> , número de cavitação, tamanho do bico e tempo de exposição. A ferramenta permitiu a melhor configuração dos fatores.	Mobin e Li (2016)
Otimização da produção de hidrogênio por meio de águas residuais de cervejaria e lodo anaeróbico. Um arranjo Box-Behnken para três fatores foi utilizado para a coleta de dados de rendimento de H <sub>2</sub> e taxa de produção. A <i>desirability</i> global foi de 0,894 e os valores preditos para as variáveis respostas foram condizentes com os encontrados no experimento confirmatório.	Shi et al. (2010)
Melhoria das características de qualidade de torneamento CNC em ambiente criogênico para configuração adequada dos fatores velocidade e profundidade de corte e raio da ferramenta.	Aggarwal et al. (2008)
Determinação da configuração dos fatores de produção de tecido para otimização da permeabilidade do ar, condutibilidade térmica e proteção UV.	Ghosh et al. (2016)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

O presente trabalho teve sua parte experimental referente ao cultivo de microalga bem como as determinações analíticas de quantificação de biomassa e de lipídeos totais no Laboratório de Engenharia de Microalgas da Escola de Engenharia de Lorena – USP conforme citado nos trabalhos de Amaral (2013) e Loures (2016). Já a análise termogravimétrica e ensaio em bomba calorimétrica ocorreram no Laboratório de Análises Térmicas e Laboratório de Combustíveis Renováveis e Captura de Carbono, respectivamente, ambos na Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá – UNESP. As seções 3.1.1 a 3.1.7 apresentam as etapas do desenvolvimento experimental conforme Figura 23.

Figura 23 – Etapas da fase experimental.



Fonte: Próprio autor.

#### 3.1 MATERIAIS E CONDIÇÕES DE CULTIVO

##### 3.1.1 Linhagem da microalga

Para o estudo em questão, utilizou-se a linhagem da microalga marinha *Chlorella minutíssima* isolada em Cabo Frio – RJ, pertencente ao Banco de Algas Marinhas do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo – USP, gentilmente doada pelo Departamento de Oceanografia Biológica do Instituto Oceanográfico da USP, São Paulo.

##### 3.1.2 Reagentes

Todos os reagentes utilizados na execução dos experimentos, bem como na preparação dos meios de cultura, foram de grau padrão analítico para microbiologia, garantindo menor variabilidade e maior precisão no meio de cultura f/2 sem sílica, largamente utilizado em pesquisas que trabalham com microalgas marinhas. O mesmo meio foi utilizado para a

manutenção do banco de células, preparação dos inóculos e experimentos sempre com água destilada. Os reagentes e suas respectivas concentrações podem ser consultados na Tabela 3.

Tabela 3 – Reagentes para a composição do meio f/2.

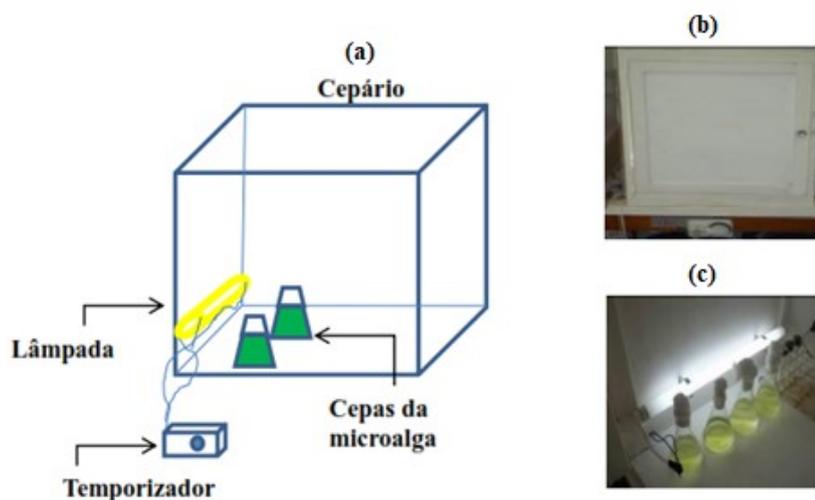
<b>Reagentes</b>	<b>Concentração</b>
Sal marinho	33,3 g/L
NaNO <sub>3</sub>	75 g/L
NaH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub> .H <sub>2</sub> O	5 g/L
FeCl <sub>3</sub> .6H <sub>2</sub> O	3,15 g/L
Na <sub>2</sub> EDTA	4,3 g/L
ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	22,2 mg/L
MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O	180 mg/L
Na <sub>2</sub> MoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O	6,3 mg/L
CoCl <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O	10 mg/L
CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O	9,8 mg/L
Tiamina (B1)	100 mg/L
Cianocobalamina (B12)	0,5 mg/L
Biotina (B7)	0,5 mg/L

Fonte: Guillard,1975.

### 3.1.3 Manutenção da cepa

A manutenção da cepa ocorreu por meio do cultivo de volumes de 100 mL de cepa microalgal em meio f/2 sem sílica dentro de uma caixa de madeira equipada com lâmpada fluorescente de 15 W ligada a um temporizador que controlava o fotoperíodo em 12h:12h luz/escuro, conforme indicado esquematicamente na Figura 24.

Figura 24 – Cepário: (a) desenho esquemático; (b) cepário externo; (c) cepário interno.



Fonte: Amaral (2013).

### 3.1.4 Fotobiorreator do tipo coluna de bolhas

Para o cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima*, utilizou-se um sistema de seis fotobiorreatores do tipo coluna de bolhas com iluminação externa e agitação pneumática. O sistema dividiu-se em:

- 3 tubos de material acrílico com diâmetro interno de 184 mm, 2033 mm de altura, 5 mm de espessura de parede e 50 L de volume;
- 3 tubos de material acrílico com 135 mm de diâmetro interno, 1200 mm de altura, 5 mm de espessura de parede e 20 L de volume

O sistema de aeração foi mantido por um difusor do tipo pedra porosa, em formato anelar, com 135 mm de diâmetro situado na base inferior do centro do tubo, conectado por uma mangueira de silicone a um compressor de ar diafragmático com vazão de 2 vvm (volume de ar por volume de meio por minuto), garantindo a dispersão de microbolhas de ar no sistema.

A injeção de CO<sub>2</sub> foi controlada por uma válvula solenoide e com valor de 4% em relação à vazão de ar do meio (2 vvm) por meio de um fluxômetro para controle de vazão do gás.

Para o cultivo, a concentração do inóculo foi de 10% (v/v), trabalhou-se em triplicata com volume útil de 18 L para cada coluna de 20 L e 44 L para cada coluna de 50 L. Um compressor de ar BOYU (modelo ACQ-0003) garantiu a agitação pneumática. O CO<sub>2</sub> comprimido (cilindros industriais) era introduzido ao sistema concomitantemente à vazão de

ar durante a aeração, desde que requerido como fonte de carbono conforme planejamento experimental.

Todo o sistema foi mantido em sala climatizada e isolada de luz difusa, com temperatura constante mantida por um aparelho de ar condicionado do tipo quente/frio. Lâmpadas fluorescentes de 40 W forneceram iluminância de 150 lux medida por um luxímetro digital. A Figura 25 ilustra os fotobiorreatores utilizados para o cultivo.

Figura 25 – Fotobiorreatores experimentais do tipo coluna de bolhas.



Fonte: LOURES (2016).

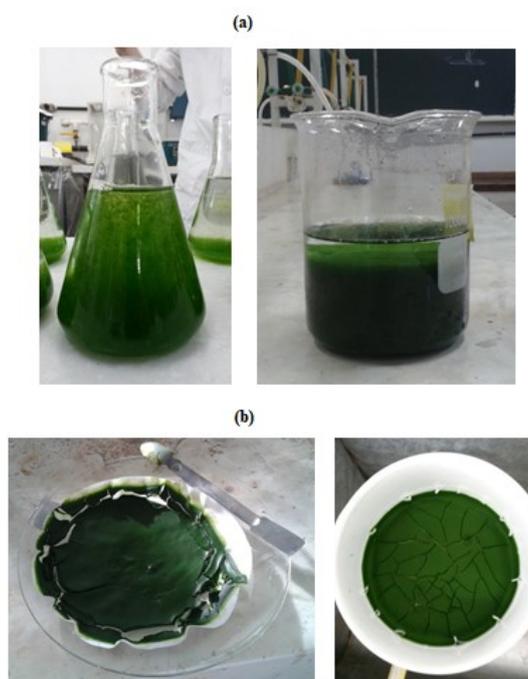
### 3.1.5 Desinfecção da água e dos fotobiorreatores

Para desinfecção dos fotobiorreatores, aplicou-se uma solução de hipoclorito de sódio comercial (2% a 3% de cloro ativo) pelo período de duas horas, seguido de enxágue em água de torneira. Em seguida, o volume útil dos fotobiorreatores (186 L) foi preenchido com água de torneira e 10,2 ml de solução de hipoclorito de sódio (12% de cloro ativo). Tal solução foi mantida em repouso por 12 horas no escuro, seguida por 2 horas de aeração para remoção do cloro residual (adaptado de MOHEIMANI e BOROWITZKA, 2006). O procedimento se repetiu para as mangueiras de borracha com micro furos para agitação do meio de cultivo.

### 3.1.6 Colheita da biomassa

A recuperação da biomassa após cada cultivo, ocorreu por floculação induzida por solução  $1 \text{ mol.L}^{-1}$  de sulfato de alumínio. O processo consistiu da adição de 2 mL da solução floculante para cada 1 L de meio de cultivo, gerando a formação de flocos celulares. A filtragem do conteúdo, após total floculação, ocorreu em papel de filtro qualitativo para retenção da biomassa úmida. Tal biomassa foi lavada com solução  $6 \text{ mol.L}^{-1}$  de formiato de amônio para retirada de sal marinho utilizado no cultivo. Por último, a biomassa foi congelada para posterior liofilização. A Figura 26 ilustra a colheita da biomassa por meio das etapas de floculação e filtragem.

Figura 26 – Colheita da biomassa: (a) floculação; (b) filtragem.



Fonte: Próprio autor.

### 3.1.7 Determinações analíticas

#### 3.1.7.1 Quantificação da biomassa por turbidimetria e contagem celular

Para acompanhamento do crescimento celular, amostras foram coletadas periodicamente em condições assépticas. A quantificação foi calculada por meio da densidade óptica ( $\lambda = 690 \text{ nm}$ ), ou seja, análise de absorbância em espectrofotômetro UV-Vis (modelo

Bel Photonics) com auxílio de curva de calibração pré-determinada. Para a contagem celular utilizou-se um microscópio modelo BIOVAL com auxílio de um hemacitômetro tipo câmara de Neubauer de 0,1 mm de profundidade (LOURENÇO, 2006). Os métodos de contagem e absorvância foram relacionados por meio de curva de calibração para acompanhamento do crescimento celular.

### 3.1.7.2 Peso seco da biomassa

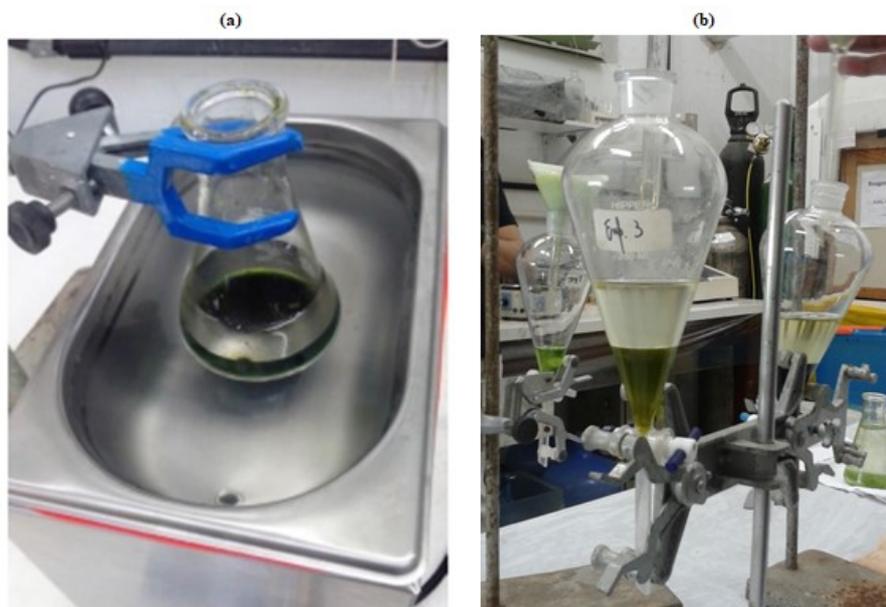
Para identificação do peso seco da biomassa filtrada, a umidade foi determinada por um detector de umidade Marte, modelo ID50, utilizando-se 0,1 g de amostra. Em seguida, a biomassa total foi pesada em uma balança analítica e desconsiderou-se a porcentagem de umidade encontrada do valor obtido na pesagem.

### 3.1.7.3 Quantificação de lipídeos totais

Para a quantificação de lipídeos totais, utilizou-se a metodologia de Bligh and Dyer modificada (BLIGH; DYER, 1959; RANJAN; PATIL; MOHOLKAR, 2010), por meio de amostras de 1 g de biomassa liofilizada. O primeiro passo consistiu da adição dos solventes clorofórmio, metanol e água na proporção de 1:2:0,8 (v/v/v) à biomassa. As amostras foram agitadas por alguns minutos até completa homogeneização dos solventes. Em seguida, a mistura ficou em banho de ultrassom por 1 hora. Após esse tempo, filtrou-se a mistura em papel de filtro qualitativo e descartou-se a massa retida. O filtrado foi levado a um funil de separação, adicionando-se clorofórmio e água para promoção da separação da fase apolar (lipídica) e apolar. A Figura 27 ilustra o banho de ultrassom e o funil de separação para a quantificação dos lipídeos. O percentual de lipídeos em g/100g de biomassa foi determinado pela Equação 27.

$$\% \text{ Lipídeos} = \frac{\text{massa final de lipídeos}}{\text{massa da biomassa seca}} \times 100 \quad (27)$$

Figura 27 – Quantificação dos lipídeos totais: (a) banho de ultrassom; (b) funil de separação.



Fonte: Próprio autor.

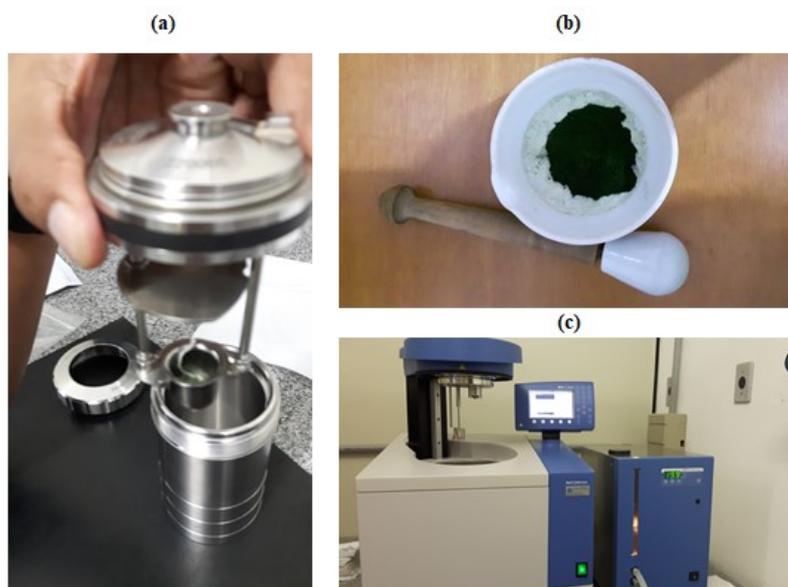
#### 3.1.7.4 Determinação do poder calorífico superior – PCS

Para a determinação do poder calorífico superior – PCS utilizou-se um calorímetro da marca IKA, modelo C2000. Primeiramente, a granulometria da biomassa foi homogeneizada com o auxílio de um gral com pistilo de porcelana, a fim de garantir maior convergência dos resultados.

Antes da determinação dos valores, o equipamento foi calibrado com padrão IKA de ácido oxálico e verificou-se se o cilindro de oxigênio ( $O_2$ ) estava aberto com pressão de 28 a 30 bar, trabalhando-se com a pressão de 28 bar. Ligou-se o reservatório de água e aguardou a estabilização de temperatura em 25 °C.

As amostras foram colocadas em cadinho de inox e pesadas em balança Shimadzu (modelo AUX220) com peso de aproximadamente 0,35 g. Em seguida, amarrou-se cuidadosamente barbante no aro de ignição do vaso, conectou-se o cadinho no suporte e mergulhou a extremidade do barbante na amostra juntamente com um fio de algodão padronizado para garantir contato de ignição. Todo o conjunto foi inserido à bomba que foi fechada com anel de rosca. A bomba foi cuidadosamente conectada ao calorímetro para prosseguimento do teste. Na Figura 28 é possível observar a configuração da amostra no vaso de pressão e o equipamento utilizado para teste.

Figura 28 – Ensaio em bomba calorimétrica para determinação de PCS: (a) vaso com biomassa e fio de barbante; (b) gral com pistilo de porcelana; (c) calorímetro.

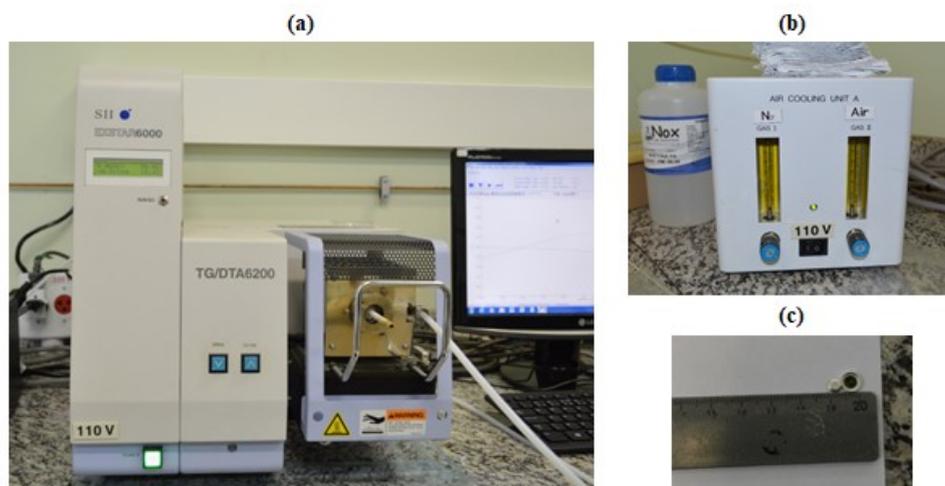


Fonte: Próprio autor.

### 3.1.7.5 Análise termogravimétrica – TGA

A análise termogravimétrica – TGA foi realizada em termobalança EXTAR 6000 acoplada a computador para registro gráfico. Inicialmente, o equipamento foi ligado para aquecimento e estabilização da balança por cerca de 30 minutos. Para checagem de estabilidade, um padrão de índio (In) de 20,03 mg foi pesado. Posteriormente, a amostra foi pesada em balança convencional Shimadzu (modelo AUX220) com peso de aproximadamente 10 mg para atmosfera  $N_2$  e para atmosfera ar sintético. O cadinho utilizado foi o de platina (inerte a maioria dos gases e aos materiais inorgânicos fundidos), limpo com acetona e aquecido com bico de Bunsen para remoção de qualquer impureza de ensaios anteriores. A atmosfera que envolveu a amostra foi tanto a oxidativa (ar sintético) quanto a inerte ( $N_2$ ), separadamente. Adotou-se a seguinte configuração de teste: temperatura inicial ( $T_i$ ) de 30 °C, temperatura final ( $T_f$ ) de 1000 °C, razão de aquecimento de 10 °C/min e fluxo de 100 mL/min de  $N_2$  e 100 mL/min de  $O_2$ . A Figura 29 explicita o equipamento utilizado para teste.

Figura 29 – Análise termogravimétrica: (a) termobalança; (b) cooler; (c) amostra de biomassa microalgal.



Fonte: Próprio autor.

### 3.1.7.6 Calorimetria exploratória diferencial – DSC

A calorimetria exploratória diferencial – DSC foi realizada em forno Q20. Primeiramente, o equipamento foi ligado e aguardou-se um sinal luminoso verde indicar sua estabilização. A atmosfera de nitrogênio no compartimento da amostra foi ajustada. No computador, as temperaturas inicial e final, bem como a razão de aquecimento foram estabelecidas. Para a temperatura final na DSC, utilizou-se a temperatura inicial de degradação na TGA. Com os parâmetros estabelecidos, obteve-se a linha de base e realizou-se a calibração do equipamento. A amostra foi pesada em balança convencional Shimadzu (modelo AUX220) com peso de aproximadamente 5 mg e encapsulada em cadinho de alumínio. Por último, a referência (cadinho vazio em que a curva padrão é do índio (In)) e a amostra foram colocadas no forno com a seguinte configuração: temperatura inicial ( $T_i$ ) de 30 °C, temperatura final ( $T_f$ ) de 250 °C, razão de aquecimento de 10 °C/min e fluxo de 40 mL/min de  $N_2$ . O equipamento utilizado para o teste pode ser visto na Figura 30.

Figura 30 – Forno para calorimetria exploratória diferencial.



Fonte: Próprio autor.

### 3.1.7.7 Análise elementar – CHN

Para quantificação de carbono (C), hidrogênio (H) e nitrogênio (N), uma amostra foi enviada à Central Analítica do Instituto Químico da USP. A análise baseou-se no método de Pregl-Dumas, no qual a amostra é sujeita à combustão em uma atmosfera de oxigênio puro, e os gases resultantes desse processo são quantificados em um detector TCD (detector de condutividade térmica) (CENTRAL ANALÍTICA, 2017). A Figura 31 ilustra o equipamento utilizado para a análise.

Figura 31 – Analisador elementar Perkin Elmer 2400 series ii.



Fonte: Central Analítica (2017).

## 3.2 MÉTODOS

### 3.2.1 Arranjo ortogonal L<sub>8</sub> de Taguchi

Para realização do planejamento experimental exploratório do cultivo da microalga *Chlorella minutissima*, utilizou-se o arranjo ortogonal L<sub>8</sub> de Taguchi para checagem da influência de seis fatores (variáveis independentes) nas respostas (variáveis dependentes) concentração celular e teor lipídico. Tais fatores foram: gás carbônico (CO<sub>2</sub>), nitrato (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>), fosfato (PO<sub>4</sub><sup>-2</sup>), suplementação (metais e vitaminas), temperatura e salinidade. Para as análises estatísticas bem como a construção do modelo e simulação foi utilizado o *software* Minitab<sup>®</sup> 18. As Tabelas 4 e 5 indicam os fatores de estudo (codificação e níveis) e a matriz L<sub>8</sub> de Taguchi, respectivamente.

Tabela 4 – Fatores para o estudo exploratório.

Fatores	Unidade	Código	Nível Baixo (1)	Nível Alto (2)
CO <sub>2</sub>	%	A	0	2
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	g/L	B	0,25	0,50
PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	g/L	C	0,35	0,65
Suplementação	mL	D	1	2
Temperatura	°C	E	20	30
Salinidade	g/L	F	15	30

Fonte: Próprio autor.

Tabela 5 – Matriz L<sub>8</sub> de Taguchi.

Experimento	CO <sub>2</sub>	NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	Suplementação	Temperatura	Salinidade
1	2	2	1	2	1	1
2	2	2	1	1	2	2
3	2	1	2	2	1	2
4	2	1	2	1	2	1
5	1	2	2	2	2	1
6	1	2	2	1	1	2
7	1	1	1	2	2	2
8	1	1	1	1	1	1

Fonte: Próprio autor.

### 3.2.2 ANOVA para análise dos fatores influentes

Com o intuito de estabelecer o melhor ajuste de processo para o cultivo da microalga *Chlorella minutissima* em termos de maximização de biomassa (concentração microalgal) e de teor lipídico, utilizou-se a análise de variância (ANOVA), por meio do *software* Minitab<sup>®</sup> 18, para testar a igualdade das médias, identificando os parâmetros de processo que são estatisticamente significativos. Os gráficos de efeitos principais auxiliaram na avaliação do comportamento das variáveis respostas em função de alterações nos níveis dos fatores.

### 3.2.3 Modelagem e simulação

No que se refere à determinação do modelo matemático, o mesmo baseou-se nos efeitos dos fatores fornecidos pela análise de variância. Com a identificação das variáveis independentes mais significativas para as variáveis dependentes, utilizou-se a função *desirability* para determinação das melhores condições de ajustes do processo, garantindo a otimização simultânea de ambas as variáveis respostas. O critério escolhido foi o de maximização da concentração microalgal e do teor lipídico. As simulações ocorreram no *software* Minitab<sup>®</sup> 18 orientadas pela busca de uma *desirability* global (D) próxima de 1. Após a identificação da melhor configuração dos fatores, um experimento confirmatório foi realizado para validação.

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

No presente capítulo, todos os resultados encontrados durante o desenvolvimento do trabalho experimental e das simulações são apresentados e discutidos. A Figura 32 ilustra o fluxograma das principais etapas desempenhadas ao longo de toda a pesquisa.

Figura 32 – Fluxograma das etapas desempenhadas na pesquisa.



Fonte: Próprio autor.

Com o intuito de avaliar os dados de concentração microalgal (g/L) e o teor lipídico (%) do cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima*, realizou-se os experimentos seguindo a matriz  $L_8$  de Taguchi, conforme Tabela 5, em triplicata para cada condição experimental, com fatores de interesse operando em 2 níveis já descritos na Tabela 4. A Tabela 6 demonstra a média dos resultados para cada variável resposta de interesse.

Tabela 6 – Resultados de biomassa (g/L) e teor lipídico (%).

Experimento	Fatores Codificados						Média Biomassa (g/L)		Média Teor Lipídico (%)	
	A	B	C	D	E	F	Reator		Reator	
							20 L	50 L	20 L	50 L
1	2	2	1	2	1	1	0,345	0,322	27,22	31,34
2	2	2	1	1	2	2	0,245	0,193	42,98	37,08
3	2	1	2	2	1	2	0,185	0,219	34,63	30,85
4	2	1	2	1	2	1	0,200	0,216	40,59	29,19
5	1	2	2	2	2	1	0,222	0,193	23,97	34,01
6	1	2	2	1	1	2	0,377	0,324	37,57	30,37
7	1	1	1	2	2	2	0,293	0,273	22,86	23,37
8	1	1	1	1	1	1	0,295	0,305	36,86	34,26

Fonte: Próprio Autor.

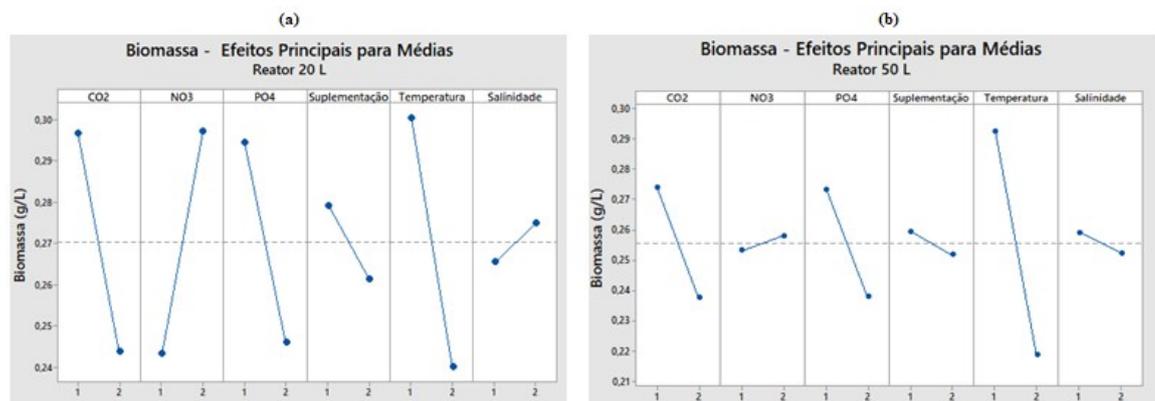
Partindo-se da Tabela 6 e com o auxílio do *software* Minitab® 18, foi possível identificar os fatores que realmente influenciaram em cada uma das variáveis respostas, além de maximizar ambas, simultaneamente, utilizando-se da função *desirability*.

#### 4.1 CONCENTRAÇÃO MICROALGAL – BIOMASSA

##### 4.1.1 Avaliação da concentração microalgal em relação à média

Com os dados de concentração microalgal (g/L), construiu-se o gráfico dos efeitos principais em relação à média tanto para o fotobiorreator de 20 L quanto para o de 50 L, conforme a Figura 33, objetivando-se a maximização da variável resposta.

Figura 33 – Efeito dos fatores em relação à média sobre a concentração microalgal: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.



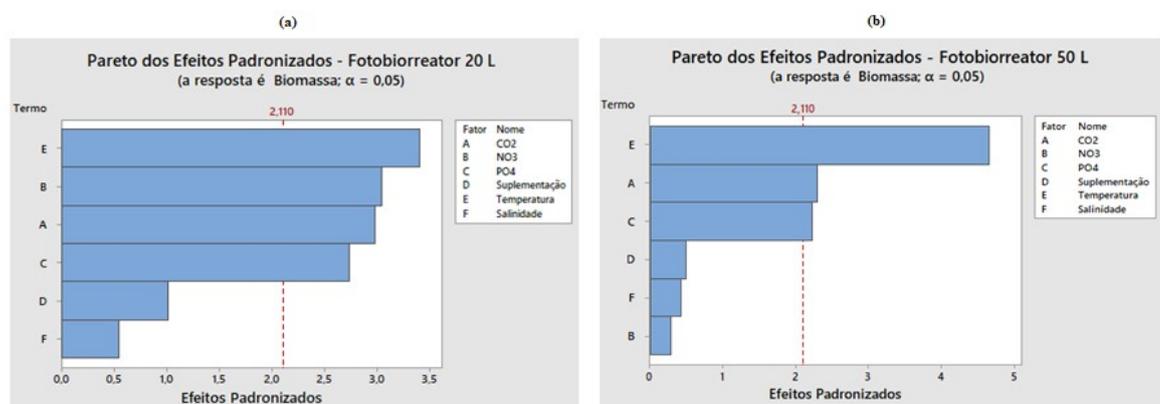
Fonte: Próprio autor.

O gráfico dos efeitos principais em relação à média ilustra o comportamento da variável resposta frente a variações dentro do range especificado de cada fator, sendo que quanto maior a amplitude entre os níveis, maior a influência daquele fator na resposta. Por meio da Figura 33, nota-se que no fotobiorreator de 20 L, os fatores que apresentaram maior amplitude entre os níveis foram o CO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-2</sup> e a temperatura, enquanto que para o fotobiorreator de 50 L, CO<sub>2</sub>, PO<sub>4</sub><sup>-2</sup> e temperatura foram os fatores de maior magnitude. A temperatura, em ambos os cultivos, foi o fator de maior influência para a maximização da concentração microalgal. Pode-se justificar a diferença de amplitude dos fatores em cada fotobiorreator, pela falta de algum ajuste operacional atrelado à ampliação de escala ou ao surgimento de algum tipo de ruído não identificado durante o cultivo.

Tomando como base o gráfico dos efeitos principais, um ajuste preliminar para a maximização de concentração microalgal no fotobiorreator de 20 L seria: CO<sub>2</sub> (A), PO<sub>4</sub><sup>-2</sup> (C), suplementação (D) e temperatura (E) no nível baixo de seus respectivos ranges de variação, enquanto que NO<sub>3</sub><sup>-</sup> (B) e salinidade (F) deveriam operar em nível alto. Para o fotobiorreator de 50 L, o ajuste permanece o mesmo, com exceção do fator salinidade que apresenta uma média maior de biomassa (g/L) em seu nível baixo: 0,259 g/L contra 0,252 g/L no nível alto. Por tratar-se de uma diferença muito pequena, conforme a própria amplitude da reta indica, o custo em se operar o fator no nível baixo ou alto pode ser levado em consideração para a tomada de decisão.

Outra forma de avaliar o efeito dos fatores sobre a média da variável resposta, diz respeito ao Gráfico de Pareto dos Efeitos Padronizados, no qual os valores absolutos dos efeitos são demonstrados desde o maior efeito até o menor. Trata-se de uma estatística t que testa a hipótese nula de que o efeito é zero, contando com uma linha de referência para indicar quais efeitos são estatisticamente significativos. As barras que ultrapassarem a linha referência são estatisticamente significativas para um determinado nível de significância. A Figura 34 ilustra o Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados ao nível de significância de 5% ( $\alpha$ ) tanto para o fotobiorreator de 20 L quanto para o de 50 L. Nota-se que os fatores significativos coincidem com o gráfico dos efeitos principais em ambos os casos, sendo temperatura, nitrato, gás carbônico e fosfato mais influentes na variável resposta concentração microalgal para o fotobiorreator de 20 L e temperatura, gás carbônico e fosfato para o de 50 L.

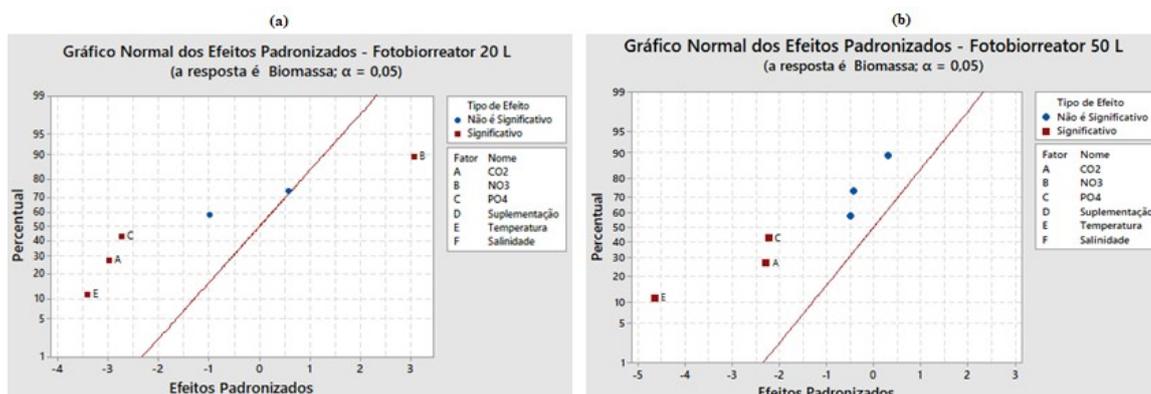
Figura 34 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para a biomassa: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.



Fonte: Próprio autor.

Como o Pareto exibe somente o valor absoluto dos efeitos, é necessário o uso do gráfico de probabilidade normal dos efeitos padronizados para avaliação da magnitude e direção dos efeitos. Nesse caso, os efeitos dos fatores são comparados com uma linha de ajuste de distribuição em que todos os efeitos são iguais à zero, sendo que fatores localizados à esquerda exibem efeitos negativos sobre a resposta, ou seja, a mudança de nível baixo para o nível alto diminui o seu valor, enquanto que os localizados à direita fornecem efeitos positivos sobre a resposta, isto é, a mudança de nível baixo para o nível alto promove aumento do seu valor. A Figura 35 exibe o gráfico normal dos efeitos padronizados para os fotobiorreatores estudados para a concentração microalgal considerando um nível de significância de 5%.

Figura 35 – Gráfico normal dos efeitos padronizados para biomassa: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.



Fonte: Próprio autor.

Para o fotobiorreator de 20 L,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$  e temperatura são fatores estatisticamente significativos para  $\alpha$  igual a 5%, sendo que somente o nitrato promove efeito positivo sobre a concentração microalgal quando seu ajuste passa de nível baixo para o nível alto, uma vez que o mesmo se localiza à direita da linha de referência, enquanto que os demais fatores significativos exibem efeitos negativos sobre a resposta, já que se localizam à esquerda da linha referência, sendo necessário ajustá-los em seus níveis baixos para maximização da concentração microalgal. Já no fotobiorreator de 50 L,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$  e temperatura são os fatores estatisticamente significativos para a produção de biomassa e promovem efeitos negativos, sendo que o ajuste de ambos deve ocorrer no nível baixo para aumento de concentração celular.

Apesar do gráfico dos efeitos principais, gráfico de Pareto e gráfico normal dos efeitos padronizados fornecerem informações importantes a respeito da influência dos fatores perante

a variável resposta, a ANOVA (análise de variância) é essencial para checar quais fatores realmente possuem significância estatística comprovada na produção de biomassa, sendo o grau de confiança da influência de cada fator determinado por meio do teste F. Tomando como base um grau de confiança de 95%, ou seja,  $\alpha$  igual a 5%, todos os fatores que apresentarem  $P_{critico}$  menor que 0,05, exercem influência significativa na concentração microalgal. As Tabelas 7 e 8 fornecem os resultados do teste F para os fotobiorreatores de 20 L e 50 L, respectivamente.

Tabela 7 – Análise de variância para a biomassa em relação à média – fotobiorreator de 20 L.

Fonte	GL	SQ	QM	Valor F	Valor – P
CO <sub>2</sub>	1	0,016801	0,016801	8,96	0,008
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1	0,017442	0,017442	9,30	0,007
PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	1	0,014162	0,014162	7,55	0,014
Suplementação	1	0,001926	0,001926	1,03	0,325
Temperatura	1	0,021901	0,021901	11,68	0,003
Salinidade	1	0,000570	0,000570	0,30	0,588
Erro	17	0,031881	0,001875		

Fonte: Próprio autor.

Tabela 8 – Análise de variância para a biomassa em relação à média – fotobiorreator de 50 L.

Fonte	GL	SQ	QM	Valor F	Valor – P
CO <sub>2</sub>	1	0,007884	0,007884	5,25	0,035
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1	0,000126	0,000126	0,08	0,776
PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	1	0,007455	0,007455	4,96	0,040
Suplementação	1	0,000360	0,000360	0,24	0,631
Temperatura	1	0,032487	0,032487	21,63	0,000
Salinidade	1	0,000273	0,000273	0,18	0,675
Erro	17	0,025534	0,001502		

Fonte: Próprio autor.

Baseando-se no teste F, os fatores decisivos para a produção de biomassa no fotobiorreator de 20 L foram CO<sub>2</sub>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, PO<sub>4</sub><sup>-2</sup> e temperatura, visto que todos apresentaram

$P_{\text{crítico}}$  (Valor – P ou *p-value*) com valor inferior a 0,05, comprovando estatisticamente a influência significativa na variável resposta. Já no fotobiorreator de 50 L, o único fator que não se demonstra significativo com 95% de confiança quando comparado ao de 20 L foi o nitrato. Tal divergência pode estar atrelada à ampliação de escala ou ao surgimento de algum tipo de ruído não identificado durante o cultivo.

A ANOVA juntamente com os gráficos de efeitos principais apontam que o melhor ajuste para a produção de biomassa em se tratando do cultivo da *Chlorella minutissima* se refere à:  $CO_2$ ,  $PO_4^{-2}$ , suplementação e temperatura em nível baixo,  $NO_3^-$  e salinidade em nível alto, sendo os fatores de maior influência em ambos os cultivos (tanto o fotobiorreator de 20 L quanto o de 50 L)  $CO_2$ ,  $PO_4^{-2}$  e temperatura.

Dessa forma, nota-se que as análises estatísticas foram de encontro a informações fornecidas pela literatura, uma vez que para garantir o seu pleno desenvolvimento, as microalgas precisam dispor de macronutrientes essenciais, entre eles o fósforo, para construção de estrutura de biomoléculas e regulação de atividades metabólicas. No que se refere à taxa fotossintética, metabolismo e produtividade em biomassa, fatores como temperatura e gás carbônico possuem grande influência, e devem ser controlados adequadamente para garantir um bom crescimento celular no meio de cultivo. Já a concentração de nitrogênio vai definir a concentração de proteínas e de clorofilas nas células, bem como a taxa de divisão celular (CHIST, 2007; GUILLARD, 1975; LOURENÇO, 2006).

Sendo assim, o melhor ajuste dos fatores mais influentes vai depender da espécie cultivada, visto que cada uma responde distintamente em termos de crescimento celular frente às concentrações dos mesmos.

Além da ANOVA, foi possível estabelecer um modelo de primeira ordem para a previsão de concentração microalgal frente aos ajustes dos fatores. As equações 28 e 29, se referem ao modelo linear para os fotobiorreatores de 20 L e 50 L, respectivamente.

$$Y_{\text{biomassa } 20L} = 0,2702 - 0,0265CO_2 + 0,02696NO_3^- - 0,0243PO_4^{-2} - 0,00896\text{Suplementação} - 0,0302\text{Temperatura} - 0,00487\text{Salinidade} \quad (28)$$

$$Y_{\text{biomassa } 50L} = 0,2557 - 0,0181CO_2 + 0,00229NO_3^- - 0,01763PO_4^{-2} - 0,0039\text{Suplementação} - 0,0368\text{Temperatura} - 0,0034\text{Salinidade} \quad (29)$$

Para avaliar a significância dos coeficientes do modelo de primeira ordem, realizou-se um teste ao nível de significância de 5%, sendo influentes aqueles que apresentaram *p-value*  $\leq$

0,05. Tanto para o fotobiorreator de 20 L quanto para o de 50 L, foi possível reduzir o modelo mantendo-se somente os termos com associação estatisticamente significativa com a variável resposta concentração microalgal. Os valores de teste podem ser consultados nas Figuras A1 e A2 do Anexo A. No primeiro caso, suplementação e salinidade não se mostraram significantes ( $p\text{-value} > 0,05$ ), enquanto que no segundo caso, foi necessário retirar também o nitrato. Sendo assim, os modelos reduzidos de primeira ordem são apresentados nas Equações 30 e 31 para os fotobiorreatores de 20 L e 50 L, respectivamente.

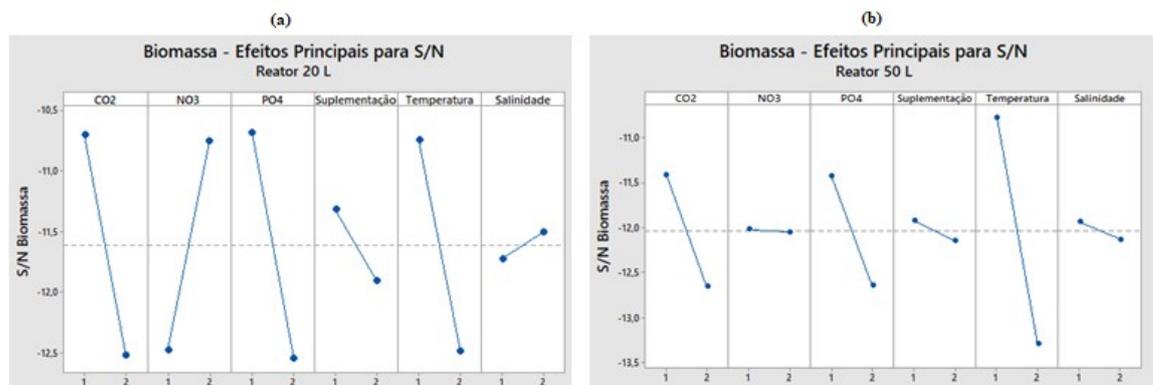
$$Y_{biomassa\ 20L} = 0,27021 - 0,02646CO_2 + 0,02696NO_3^- - 0,02429PO_4^{-2} - 0,03021Temperatura \quad (30)$$

$$Y_{biomassa\ 50L} = 0,25571 - 0,01813CO_2 - 0,01762PO_4 - 0,03679Temperatura \quad (31)$$

#### 4.1.2 Avaliação da concentração microalgal em relação à razão S/N

A razão sinal-ruído (S/N) permite a minimização da variabilidade do processo frente a ruídos, sendo que o nível do fator que produzir o maior valor para a razão sinal-ruído deve ser escolhido. Dessa forma, os resultados também foram analisados em relação à S/N, e como o objetivo é a maior concentração microalgal, utilizou-se a Equação 17 “maior é melhor” para transformação da variável resposta. O gráfico dos efeitos principais em relação à S/N pode ser visualizado na Figura 36.

Figura 36 – Efeito dos fatores em relação à razão S/N sobre a concentração microalgal: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.



Fonte: Próprio autor.

Nota-se que para a diminuição da variabilidade do processo de cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima* em relação à concentração celular, tanto para o fotobiorreator de 20 L quanto para o de 50 L, os fatores  $\text{CO}_2$ ,  $\text{PO}_4^{-2}$ , suplementação e a temperatura devem ser ajustados em seus níveis baixos, enquanto que  $\text{NO}_3^-$  e salinidade devem operar em nível alto para o cultivo em menor volume, e em nível baixo para o cultivo em maior volume. A diferença de ajuste pode estar atrelada à presença de ruídos e falha no sistema operacional. Observa-se que o ajuste dos fatores em relação à razão S/N se manteve o mesmo proposto pela Figura 33 em relação à média, com uma pequena variação entre as duas análises no que se refere ao nitrato para o fotobiorreator de 50 L.

No que se refere à ANOVA, para o fotobiorreator de 20 L, suplementação e salinidade apresentaram  $p\text{-value} > 0,05$ , conforme Tabela 9, não indicando significância dos fatores na concentração microalgal, sendo esse resultado também fornecido pela análise de variância em relação à média conforme a Tabela 7. Já para o fotobiorreator de 50 L, além da suplementação e salinidade, o nitrato se apresentou como fator não significativo estatisticamente, como ilustra a Tabela 10, fato que também ocorreu com a análise em relação a média conforme a Tabela 8.

Tabela 9 – Análise de variância para a biomassa em relação à S/N – fotobiorreator de 20 L.

Fonte	GL	SQ	QM	Valor F	Valor – P
$\text{CO}_2$	1	20,212	20,2117	11,44	0,004
$\text{NO}_3^-$	1	17,509	17,5095	9,91	0,006
$\text{PO}_4^{-2}$	1	20,729	20,7286	11,73	0,003
Suplementação	1	2,007	2,0071	1,14	0,301
Temperatura	1	18,232	18,2317	10,32	0,005
Salinidade	1	0,313	0,3128	0,18	0,679
Erro	17	30,047	1,7674		

Fonte: Próprio autor.

Tabela 10 – Análise de variância para a biomassa em relação à S/N – fotobiorreator de 50 L.

Fonte	GL	SQ	QM	Valor F	Valor – P
CO <sub>2</sub>	1	8,9386	8,9386	5,41	0,033
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1	0,0096	0,0096	0,01	0,940
PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	1	8,9398	8,9398	5,41	0,033
Suplementação	1	0,2713	0,2713	0,16	0,690
Temperatura	1	37,1365	37,1365	22,46	0,000
Salinidade	1	0,2759	0,2759	0,17	0,688
Erro	17	28,1088	1,6535		

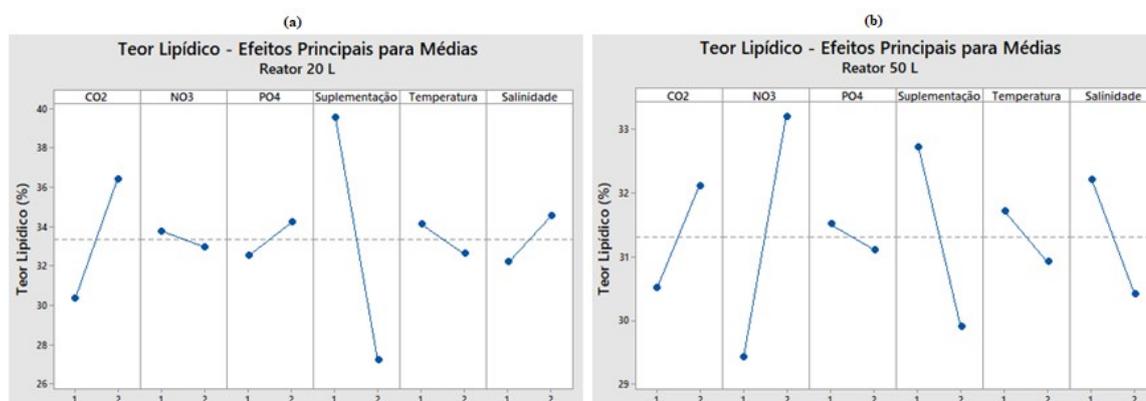
Fonte: Próprio autor.

## 4.2 TEOR LIPÍDICO

### 4.2.1 Avaliação do teor lipídico (%) em relação à média

Com os dados de teor lipídico (%), construiu-se o gráfico dos efeitos principais em relação à média tanto para o fotobiorreator de 20 L quanto para o de 50 L, conforme a Figura 37, objetivando-se a maximização da variável resposta.

Figura 37 – Efeito dos fatores em relação à média sobre o teor lipídico: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.



Fonte: Próprio autor.

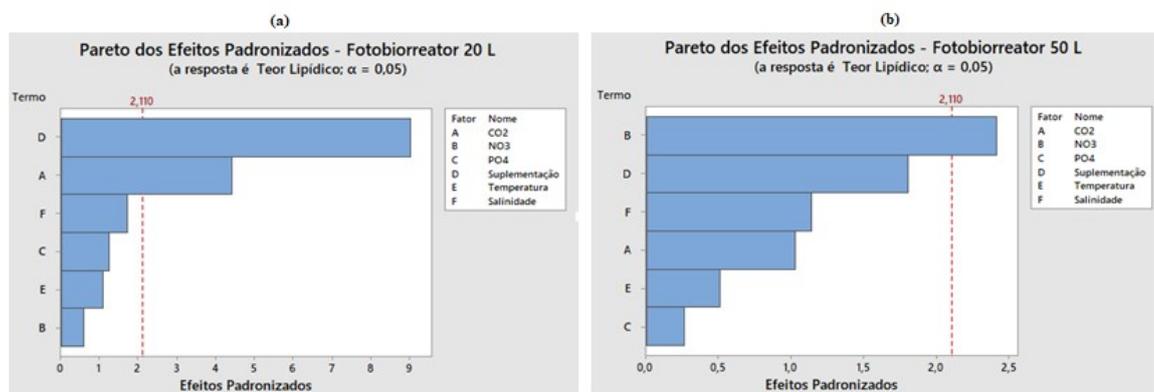
Por meio da Figura 37, nota-se que no fotobiorreator de 20 L, os fatores que apresentaram maior amplitude entre os níveis foram o CO<sub>2</sub> e a suplementação, enquanto que

para o fotobiorreator de 50 L,  $\text{CO}_2$ ,  $\text{NO}_3^-$ , suplementação e salinidade foram os fatores de maior magnitude. Em ambos os cultivos, a suplementação foi um fator de grande influência para a maximização do teor lipídico. Pode-se justificar a diferença de amplitude dos fatores em cada fotobiorreator, bem como a divergência de melhor nível para maximização do teor lipídico, principalmente no que se refere a nitrato, fosfato e salinidade, pela falta de algum ajuste operacional atrelado à ampliação de escala ou ao surgimento de algum tipo de ruído não identificado durante o cultivo.

Tomando como base o gráfico dos efeitos principais, um ajuste preliminar para a maximização de teor lipídico no fotobiorreator de 20 L seria:  $\text{CO}_2$  (A),  $\text{PO}_4^{-2}$  (C) e salinidade (F) no nível alto de seus respectivos ranges de variação, enquanto que  $\text{NO}_3^-$  (B), suplementação (D) e temperatura (E) deveriam operar em nível baixo. Para o fotobiorreator de 50 L, o ajuste consiste em  $\text{CO}_2$  (A) e  $\text{NO}_3^-$  (B) operando em nível alto, enquanto que os demais fatores devem operar em nível baixo para um maior acúmulo de lipídeos.

Para o Gráfico de Pareto de Efeitos Padronizados ao nível de significância de 5% ( $\alpha$ ), no fotobiorreator de 20 L os fatores significativos coincidiram com o gráfico dos efeitos principais levando-se em consideração a amplitude da reta, sendo suplementação e gás carbônico mais influentes na variável resposta teor lipídico. O mesmo não ocorreu para o fotobiorreator de 50 L, que pelo Pareto, apresentou somente o nitrato como sendo fator influente na variável resposta, conforme ilustrado na Figura 38.

Figura 38 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados para teor lipídico: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.

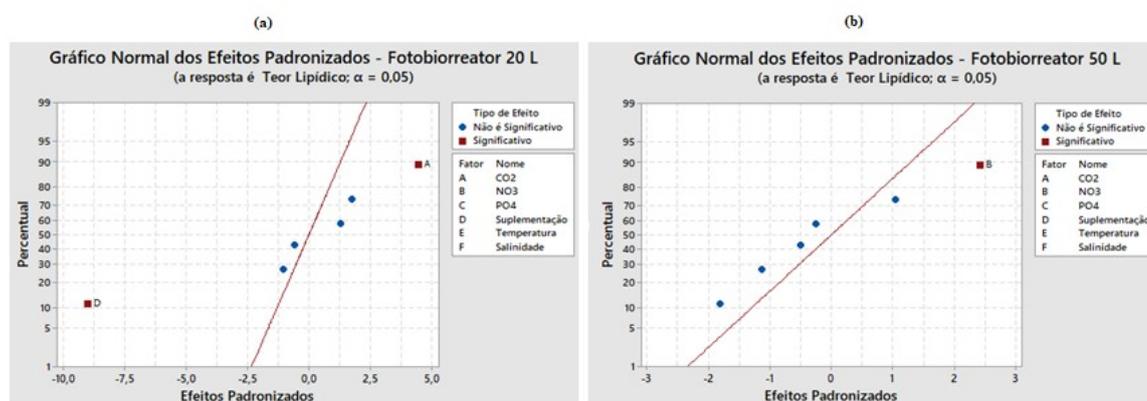


Fonte: Próprio autor.

Avaliando-se o gráfico normal dos efeitos padronizados ilustrado na Figura 39, para o fotobiorreator de 20 L, o  $\text{CO}_2$  e a suplementação são fatores estatisticamente significativos

para  $\alpha$  igual a 5%, sendo que somente o gás carbônico promove efeito positivo sobre o teor lipídico quando seu ajuste passa de nível baixo para o nível alto, uma vez que o mesmo se localiza à direita da linha de referência, enquanto que a suplementação exibe efeito negativo sobre a resposta, já que se localiza à esquerda da linha referência, sendo necessário ajustá-la em seu nível baixo para maximização do teor lipídico. Já para o fotobiorreator de 50 L, somente o nitrato é estatisticamente significativo para o acúmulo de lipídeo e promove efeito positivo, sendo que seu ajuste deve ocorrer no nível alto para aumento do teor lipídico.

Figura 39 – Gráfico normal dos efeitos padronizados para teor lipídico: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.



Fonte: Próprio autor.

Frente aos resultados fornecidos pelos gráficos de efeitos principais, Pareto e gráfico normal dos efeitos padronizados, a análise de variância foi essencial para checar quais fatores realmente possuem significância estatística comprovada no teor lipídico. Tomando como base um grau de confiança de 95%, ou seja,  $\alpha$  igual a 5%, todos os fatores que apresentarem  $P_{critico}$  menor que 0,05, exercem influência significativa no acúmulo de lipídeos. As Tabelas 11 e 12 fornecem os resultados do teste F para os fotobiorreatores de 20 L e 50 L, respectivamente.

Tabela 11 – Análise de variância para o teor lipídico em relação à média – fotobiorreator de 20 L.

<b>Fonte</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor – P</b>
CO <sub>2</sub>	1	218,83	218,829	19,54	0,000
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1	3,85	3,848	0,34	0,565
PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	1	17,60	17,596	1,57	0,227
Suplementação	1	912,30	912,297	81,48	0,000
Temperatura	1	12,98	12,980	1,16	0,297
Salinidade	1	33,11	33,112	2,96	0,104
Erro	17	190,34	11,197		

Fonte: Próprio autor.

Tabela 12 – Análise de variância para o teor lipídico em relação à média – fotobiorreator de 50 L.

<b>Fonte</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor – P</b>
CO <sub>2</sub>	1	15,585	15,585	1,06	0,317
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1	85,730	85,730	5,84	0,027
PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	1	0,992	0,992	0,07	0,798
Suplementação	1	48,053	48,053	3,27	0,088
Temperatura	1	3,776	3,776	0,26	0,619
Salinidade	1	19,117	19,117	1,30	0,270
Erro	17	249,589	14,682		

Fonte: Próprio autor.

Observando-se as Tabelas 11 e 12, nota-se que as divergências referentes aos fatores significativos para o teor lipídico se comprovam, sendo possível afirmar com 95% de confiança que os fatores gás carbônico, suplementação e nitrato são estatisticamente influentes. De acordo com Verma et al. (2010), nível baixo de suplementação e níveis altos de CO<sub>2</sub> e NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, como encontrado nas análises estatísticas da Figura 37, propiciam o acúmulo de óleo, sendo que fatores químicos, físicos, fase de crescimento e forma de cultivo afetam a quantidade de triacilglicerídeos e a composição de ácidos graxos (HU et al., 2008). Sendo assim, o melhor ajuste dos fatores mais influentes vai depender da espécie cultivada, visto que cada uma responde distintamente em termos de teor lipídico frente às concentrações dos mesmos.

Além da ANOVA, foi possível estabelecer um modelo de primeira ordem para a previsão de teor lipídico frente aos ajustes dos fatores. As equações 32 e 33, se referem ao modelo linear para os fotobiorreatores de 20 L e 50 L, respectivamente.

$$Y_{\text{óleo } 20L} = 33,337 + 3,020CO_2 - 0,400NO_3^- + 0,856PO_4^{-2} - 6,165\text{Suplementação} - 0,735\text{Temperatura} + 1,175\text{Salinidade} \quad (32)$$

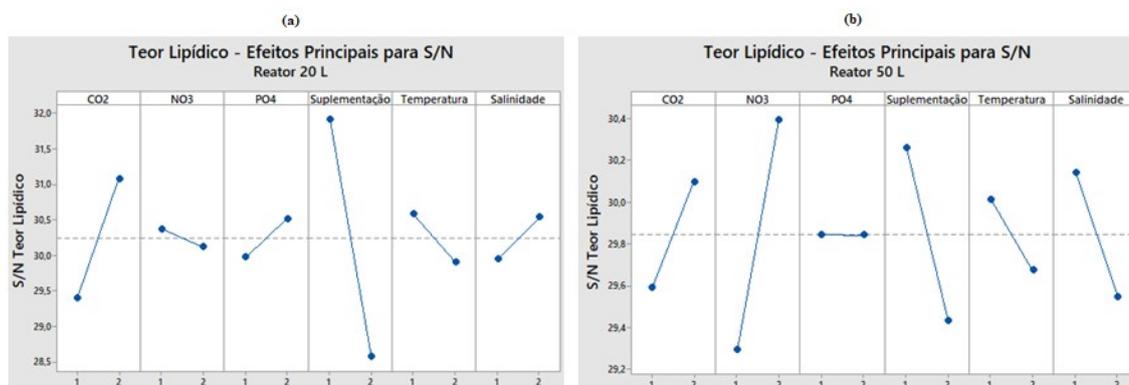
$$Y_{\text{óleo } 50L} = 31,311 + 0,806CO_2 + 1,890NO_3^- - 0,203PO_4^{-2} - 1,415\text{Suplementação} - 0,397\text{Temperatura} - 0,892\text{Salinidade} \quad (33)$$

Para avaliar a significância dos coeficientes do modelo de primeira ordem descritos pelas Equações 32 e 33, realizou-se um teste ao nível de significância de 5%, sendo influentes aqueles que apresentaram  $p\text{-value} \leq 0,05$ . Para o fotobiorreator de 20 L, os coeficientes de gás carbônico e suplementação demonstraram-se estatisticamente significativos, enquanto que para o fotobiorreator de 50 L, somente o nitrato se mostrou significativo na variável resposta. Os valores de teste podem ser consultados nas Figuras A3 e A4 do Anexo A.

#### 4.2.2 Avaliação do teor lipídico (%) em relação à razão S/N

Os resultados também foram analisados em relação à S/N para minimização da variabilidade do processo frente a ruídos, sendo que o nível do fator que produzir o maior valor para a razão sinal-ruído deve ser escolhido, e como o objetivo é o aumento do teor lipídico, utilizou-se a Equação 17 “maior é melhor” para transformação da variável resposta. O gráfico dos efeitos principais em relação à S/N pode ser visualizado na Figura 40.

Figura 40 – Efeito dos fatores em relação à razão S/N sobre o teor lipídico: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.



Fonte: Próprio autor.

Nota-se que para a diminuição da variabilidade do processo de cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima* em relação ao teor lipídico, para o fotobiorreator de 20 L, os fatores  $\text{NO}_3^-$ , suplementação e temperatura devem ser ajustados em seus níveis baixos, enquanto que  $\text{CO}_2$ ,  $\text{PO}_4^{2-}$  e salinidade devem operar em nível alto para um maior acúmulo de lipídeo. Já para o fotobiorreator de 50 L, suplementação, temperatura e salinidade devem ser ajustados em seus níveis baixos, enquanto que  $\text{CO}_2$  e  $\text{NO}_3^-$  devem operar em nível alto. O  $\text{PO}_4^{2-}$  não demonstrou influência substancial no acúmulo de lipídeo com a troca de nível no fotobiorreator de maior volume. Nesse caso, o custo do fator pode ser levado em consideração ao optar pelo melhor ajuste.

No que se refere aos dois cultivos, os fatores nitrato e salinidade apresentaram divergência no sentido do efeito que promovem na variável resposta. No cultivo em menor escala, o nitrato tem efeito negativo no teor lipídico quando alterado seu nível de baixo para alto, comportamento contrário ao que ocorre no cultivo em maior escala. Já para a salinidade, o efeito é positivo no fotobiorreator de 20 L e negativo no fotobiorreator de 50 L. A diferença de ajuste pode estar atrelada à presença de ruídos e falha no sistema operacional. Observa-se que o ajuste dos fatores em relação à razão S/N se manteve o mesmo proposto pela Figura 37 em relação à média, com uma pequena variação entre as duas análises no que se refere ao fosfato para o fotobiorreator de 50 L, visto que para a razão S/N a variação do nível desse fator não promoveu aumento significativo no acúmulo de lipídeo.

No que se refere à ANOVA, com 95% de confiança, para o fotobiorreator de 20 L, nitrato, fosfato, temperatura e salinidade apresentaram  $p\text{-value} > 0,05$ , conforme Tabela 13, não indicando significância dos fatores no teor lipídico, sendo esse resultado também

fornecido pela análise de variância em relação à média conforme a Tabela 11. Já para o fotobiorreator de 50 L, somente o nitrato se demonstrou estatisticamente significativo, sendo os demais fatores não influentes ao nível de 5% de significância como ilustra a Tabela 14, fato que também ocorreu com a análise em relação a média conforme a Tabela 12.

Tabela 13 – Análise de variância para o teor lipídico em relação à S/N – fotobiorreator de 20 L.

<b>Fonte</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor - P</b>
CO <sub>2</sub>	1	16,626	16,6262	20,42	0,000
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1	0,392	0,3923	0,48	0,497
PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	1	1,833	1,8325	2,25	0,152
Suplementação	1	67,706	67,7056	83,14	0,000
Temperatura	1	2,746	2,7455	3,37	0,084
Salinidade	1	2,099	2,0991	2,58	0,127
Erro	17	13,844	0,8144		

Fonte: Próprio autor.

Tabela 14 – Análise de variância para o teor lipídico em relação à S/N – fotobiorreator de 50 L.

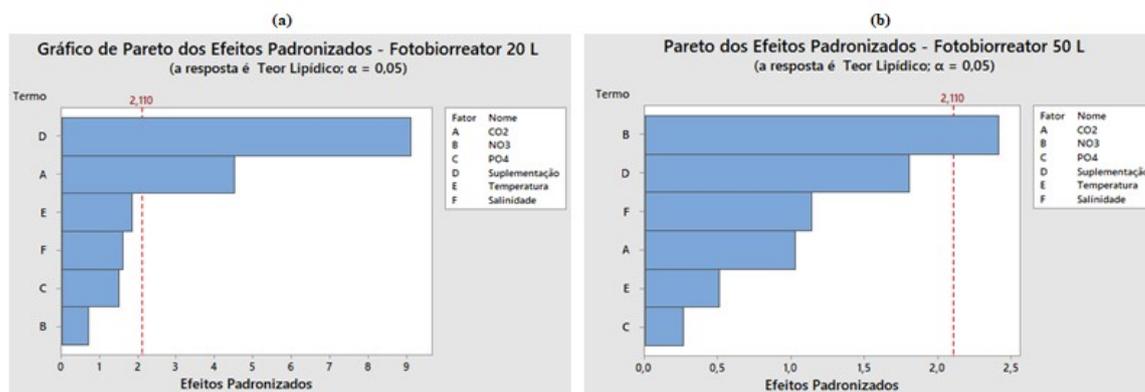
<b>Fonte</b>	<b>GL</b>	<b>SQ</b>	<b>QM</b>	<b>Valor F</b>	<b>Valor - P</b>
CO <sub>2</sub>	1	1,6090	1,6090	1,30	0,269
NO <sub>3</sub> <sup>-</sup>	1	7,4569	7,4569	6,04	0,025
PO <sub>4</sub> <sup>-2</sup>	1	0,0010	0,0010	0,00	0,978
Suplementação	1	4,2233	4,2233	3,42	0,082
Temperatura	1	0,6894	0,6894	0,56	0,465
Salinidade	1	2,1171	2,1171	1,72	0,208
Erro	17	20,9733	1,2337		

Fonte: Próprio autor.

Os resultados fornecidos pela análise de variância frente à razão sinal-ruído para os fatores influentes, também coincidiram com o gráfico de Pareto dos efeitos padronizados em ambos os cultivos, sendo que para o fotobiorreator de 20 L, suplementação e gás carbônico foram significativos para o aumento do teor lipídico ao nível de 5% de significância, e no

fotobiorreator de 50 L somente o nitrato demonstrou influência significativa. A Figura 41 ilustra o Pareto referente à S/N para cada volume de cultivo.

Figura 41 – Gráfico de Pareto dos efeitos padronizados em relação à S/N para teor lipídico: (a) fotobiorreator de 20 L; (b) fotobiorreator de 50 L.



Fonte: Próprio autor.

#### 4.3 OTIMIZAÇÃO COM A FUNÇÃO *DESIRABILITY*

Com a realização do planejamento experimental exploratório e a análise estatística dos dados tanto para a concentração microalgal quanto para o teor lipídico do cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima*, foi possível perceber que os fatores levantados para investigação se comportaram de maneira distinta perante cada variável resposta. No que se refere às divergências encontradas entre volumes de cultivo, as mesmas podem ser justificadas por falha operacional ou até mesmo ao surgimento de ruídos não identificados durante a experimentação. Por outro lado, quando o foco é a variável resposta, cada uma necessita de uma determinada condição de ajuste dos fatores para garantir o seu melhor desempenho.

Ao observar as análises realizadas para a variável resposta concentração microalgal, os fatores gás carbônico, fósforo e temperatura se demonstraram estatisticamente significativos ao nível de 5% de significância para o aumento da concentração microalgal, devendo ser ajustados em seus respectivos níveis baixos para um melhor desempenho. O nitrato se demonstrou influente para o cultivo em menor escala, e o ajuste que melhor promove aumento celular é o nível alto, ou seja, 0,50 g/L. Apesar de não ter se mostrado influente no cultivo em maior escala, o melhor ajuste coincide com o do fotobiorreator de 20 L. Por outro lado, quando se analisa a variável resposta teor lipídico, os fatores influentes ao nível de

significância de 5% para o seu aumento, se referem a gás carbônico, nitrato e suplementação, sendo os dois primeiros ajustados em nível alto e o último em nível baixo. Nota-se, portanto, que os fatores bem como seus ajustes variam conforme a variável resposta de interesse.

Sendo assim, como de um mesmo cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima* é interessante a maximização da concentração microalgal e do teor lipídico, simultaneamente, para a produção de biocombustíveis, torna-se essencial a determinação da melhor configuração dos fatores que seja capaz de promover melhor desempenho, concomitantemente, para ambas as variáveis respostas, ou seja, a otimização do processo deve ser tratada adequadamente com caráter multivariado.

Dessa forma, com o auxílio do *software* Minitab<sup>®</sup> 18, buscou-se a otimização das variáveis respostas em questão, atribuindo-se diversos valores para os parâmetros  $T$  (valor desejado ótimo),  $L$  (menor valor aceitável) e  $U$  (maior valor aceitável) da função *desirability* referente à maximização. Ao se optar pela maximização da redução das variáveis respostas em questão, automaticamente o *software* impediu a manipulação da coluna referente ao maior valor aceitável ( $U$ ), e passou a trabalhar unicamente com os valores de  $L$  e  $T$ . A configuração inicial do otimizador de resposta do *software* pode ser consultada na Tabela 15, na qual foram utilizados os menores valores experimentais tanto para concentração microalgal quanto para teor lipídico como limite inferior e os maiores valores obtidos durante a experimentação como alvo.

Tabela 15 – Configuração inicial para o otimizador de resposta.

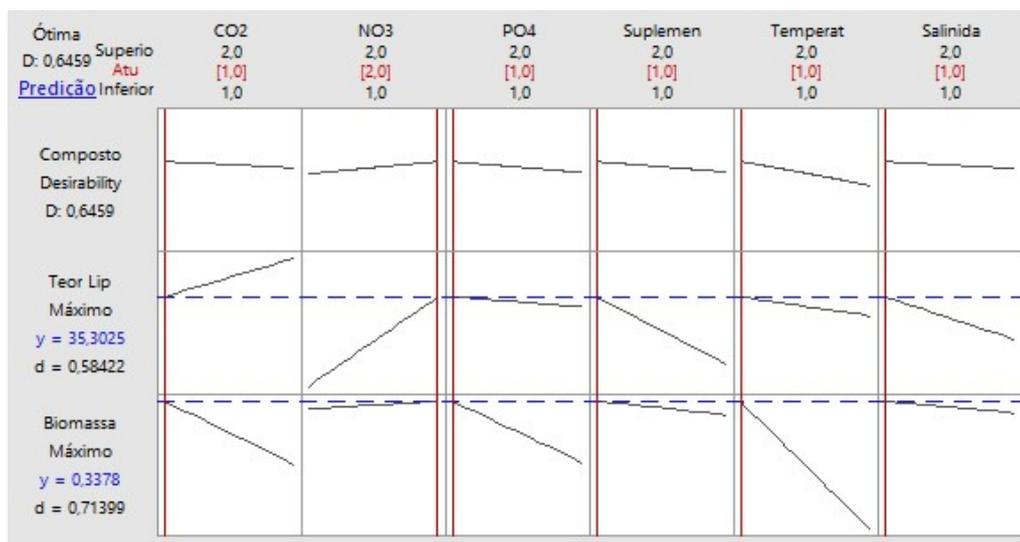
Resposta	Meta	Inferior (L)	Alvo (T)	Peso	Importância
Biomassa (g/L)	Maximizar	0,180	0,401	1	1
Teor Lipídico (%)	Maximizar	20,44	45,88	1	1

Fonte: Próprio autor.

Tal configuração retornou uma *desirability* global (D) de 0,6459, que está dentro do range de classificação da resposta  $y_i$  como adequada ( $0,63 \leq d_i < 0,80$ ), ou seja, tanto a concentração microalgal quanto o teor lipídico apresentaram valores previstos adequados, mas que não atingiram o range de valor desejado. A Figura 42 ilustra a tela com as principais informações da simulação de otimização. Além do valor da *desirability* global, é indicada também a *desirability* individual (d) para cada variável resposta, sendo 0,58422 para o teor lipídico considerada aceitável, porém pobre ( $0,40 \leq d_i < 0,63$ ), e 0,71399 para a concentração microalgal (biomassa) que é vista como adequada. Também é possível consultar o valor

simulado para a condição otimizada inicial de ambas as variáveis resposta. Nesse caso, o crescimento celular foi de 0,3378 g/L e 35,30% de acúmulo lipídico. Tais valores foram alcançados com base no melhor ajuste dos níveis que propiciem melhor resultado combinado entre as respostas, ou seja, otimização multivariada. Esta configuração de ajuste consiste em nitrato operando em nível alto e os demais fatores (gás carbônico, fosfato, suplementação, temperatura e salinidade) atuando em nível baixo.

Figura 42 – Otimização simultânea para a configuração inicial.



Fonte: Próprio autor.

A realização de simulações demonstrou que aumento nos valores do peso, indicando maior ênfase dada ao valor alvo do que ao limite inferior, gerou valores de *desirability* tanto global quanto individuais muito próximos de zero, o que é totalmente inaceitável, já que aponta valores de variáveis respostas completamente fora da faixa adequada. Por outro lado, se a ênfase é dada ao limite inferior e não ao alvo por meio da diminuição do peso, os valores de *desirability* se aproximam de 1, o que é considerado excelente e altamente desejável para as variáveis respostas. Entretanto, como o objetivo é a maximização das respostas, não é interessante que os valores alcançados sejam os do limite inferior. Os mesmos devem representar uma linha limite para o processo de cultivo. A Tabela 16 fornece um resumo com os valores de *desirability* para variações no peso.

Tabela 16 – Variação da *desirability* com alterações de valores de peso.

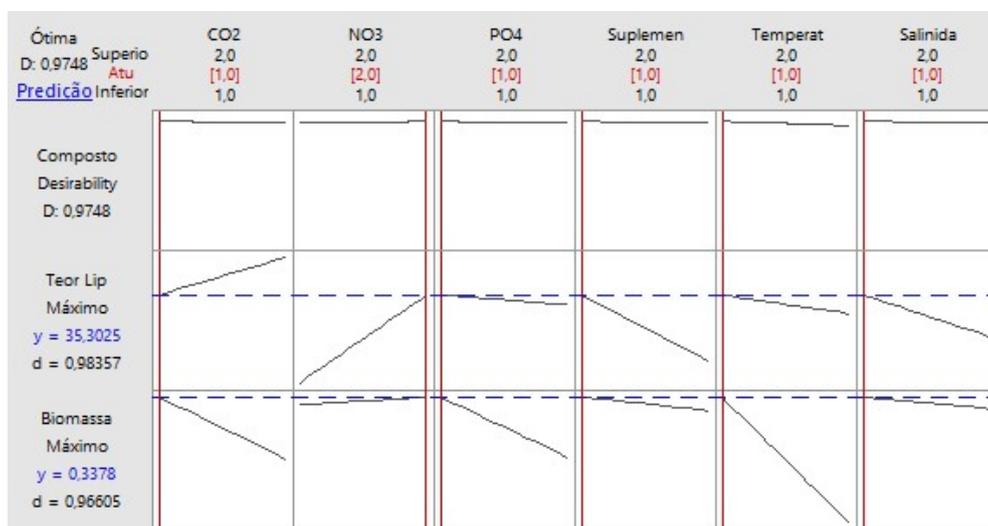
<i>Desirability</i>	Peso = 10	Peso = 0,1
Global	0,0126	0,9572
Biomassa	0,03443	0,94767
Teor Lipídico	0,00463	0,96687

Fonte: Próprio autor.

Além disso, observou-se que o aumento nos valores de alvo e manutenção dos valores de limite inferior para ambas as variáveis respostas, propiciam uma queda da *desirability* global. A mesma queda é observada quando o menor valor de concentração microalgal e de teor lipídico são mantidos como limite inferior, e o melhor resultado de biomassa assume a posição de alvo para aumento no valor desejável do teor lipídico. Invertendo-se a situação e mantendo-se o melhor resultado de teor lipídico na posição de alvo para aumento no valor desejável da concentração microalgal, também é gerada piora significativa na *desirability* global.

A simulação da otimização simultânea da concentração microalgal (biomassa) e do teor lipídico com melhor valor, forneceu *desirability* global de 0,9748, o que indica que as variáveis respostas encontram-se em seus valores desejados dentro do range de excelência (valor muito próximo de 1). Ao comparar o ajuste dos fatores proposto pela Figura 43 com o da Figura 42, observa-se que não houve alteração, indicando um ajuste fino na escolha dos limites e alvos para melhora da *desirability* global.

Figura 43 – Condição para otimização conjunta das variáveis respostas.



Fonte: Próprio autor.

Dessa forma, para verificação dos resultados fornecidos pela simulação, um experimento confirmatório foi realizado com o nitrato operando em nível alto e os demais fatores em nível baixo nos fotobiorreatores de 20 L, visto que a matriz  $L_8$  de Taguchi não fornece tal arranjo dos fatores. Os resultados validaram a ferramenta *desirability* como adequada para a otimização de múltiplas respostas, por meio da busca de uma solução viável capaz de satisfazer as condições desejadas para o processo de cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima* objetivando-se a maximização simultânea de sua concentração microalgal e acúmulo lipídico. A Tabela 17 fornece os resultados da simulação e do experimento confirmatório.

Tabela 17 – Valores de concentração microalgal e teor lipídico.

Variável Resposta	Simulação	Confirmatório
Concentração Microalgal (g/L)	0,3378	0,3396
Teor Lipídico (%)	35,3025	35,4035

Fonte: Próprio autor.

#### 4.4 ANÁLISE ELEMENTAR DA BIOMASSA

Após a determinação da melhor configuração dos fatores do processo para a maximização simultânea da concentração microalgal e do teor lipídico no cultivo da *Chlorella minutissima*, utilizou-se os fotobiorreatores de 20 L para produção de biomassa no ajuste otimizado, para realização da análise elementar em termos de carbono (C), hidrogênio (H), nitrogênio (N) e oxigênio (O). Tal análise se demonstra essencial para a previsão de quais gases serão emitidos durante o processo de conversão termoquímica, como a gaseificação durante a transformação da biomassa microalgal em biocombustível, bem como uma magnitude do seu poder calorífico. As análises realizadas na matéria-prima de estudo forneceram a seguinte porcentagem: 36,95% de carbono, 5,94% de hidrogênio, 5,24% de nitrogênio e 47,25% de oxigênio. A Tabela 18 ilustra um comparativo entre os valores obtidos com a biomassa da *Chlorella minutissima* cultivada na condição otimizada e dados presentes na literatura.

Tabela 18 – Análise elementar de diversas linhagens de microalgas.

<b>Espécie</b>	<b>C (%)</b>	<b>H (%)</b>	<b>N (%)</b>	<b>O (%)</b>	<b>Referência</b>
<i>Chlorella minutíssima</i>	36,95	5,94	5,24	47,25	Presente trabalho
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	47,20	6,40	7,50	36,20	Chen, Z. et al. (2017)
<i>Chlorella sp.</i>	44,88	3,35	7,05	43,45	Wu et al. (2018)
<i>Chlorella vulgaris</i>	41,10	6,40	7,30	40,50	Belotti et al. (2014)
<i>Nannochloropsis</i>	42,57	3,31	5,03	48,18	Wu et al. (2018)
<i>Nannochloropsis gaditana</i>	30,40	6,80	5,60	26,20	Muñoz et al. (2015)
<i>Botryococcus braunii</i>	32,20	6,40	5,70	27,20	Muñoz et al. (2015)
<i>Spirulina</i>	55,70	6,80	11,20	26,40	Biller et al. (2011)

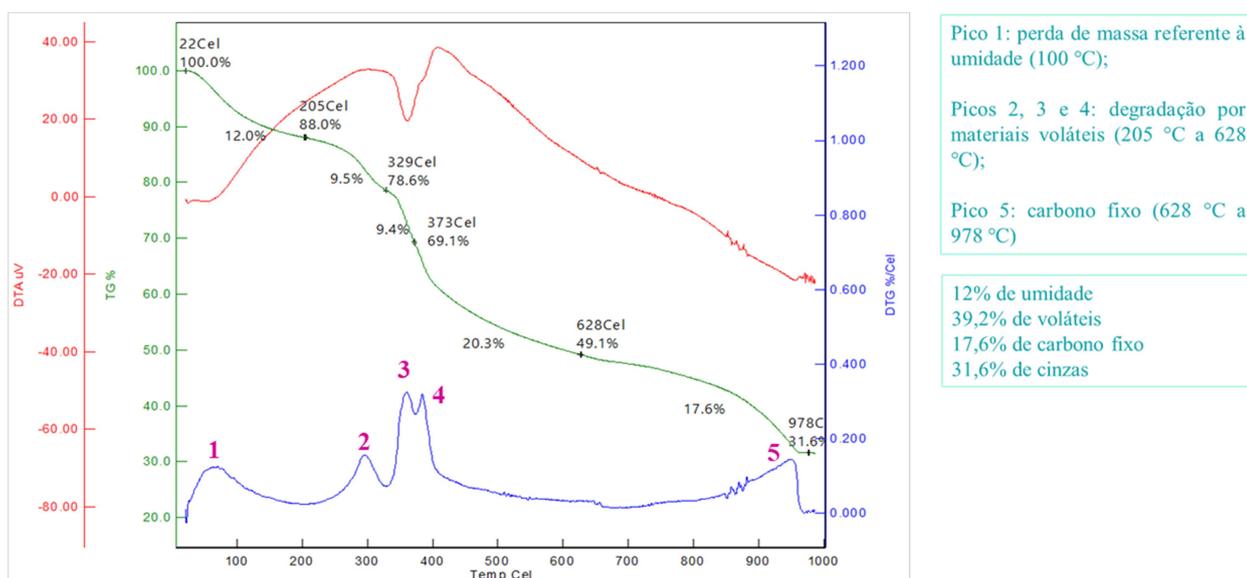
Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Nota-se que a quantidade de carbono presente na biomassa da microalga *Chlorella minutíssima* é um pouco inferior às das demais espécies de *Chlorella*, mas superior à linhagem de *Nannochloropsis gaditana* e *Botryococcus braunii*. Maiores quantidades de carbono e hidrogênio presentes na biomassa propiciam a conversão em um biocombustível com poder calorífico superior, e quanto maior o poder calorífico da espécie, maior será o acúmulo de lipídeos no interior de suas células quando comparado a quantidades de carboidratos e proteínas. Além disso, altas quantidades de carbono e oxigênio na biomassa propiciam a formação de CO<sub>2</sub> e CO na gaseificação, enquanto que baixas concentrações de nitrogênio minimizam as emissões de NO<sub>x</sub> (AZIZI; MORAVEJI; NAJAFABADI, 2018; RAHEEM et al., 2015).

#### 4.5 ANÁLISE TERMOGRAVIMÉTRICA DA BIOMASSA

A curva de decomposição térmica da microalga marinha *Chlorella minutíssima* em atmosfera inerte (nitrogênio) é ilustrada na Figura 44. A curva em verde referente a TG (termogravimetria) indica a decomposição da massa em função da temperatura por programação controlada, enquanto que a curva em azul referente a DTG (termogravimetria derivada), representa a derivada da curva TG para facilidade da visualização de picos proporcionais à variação de massa. Já a curva em vermelho refere-se a DTA (análise térmica diferencial), no qual a diferença de temperatura entre a biomassa microalgal e o oxalato de cálcio (material referência) foi medida.

Figura 44 – Análise termogravimétrica em atmosfera inerte para a biomassa da *Chlorella minutíssima*.



Fonte: Próprio autor.

Pela curva de DTG é possível identificar com maior precisão as temperaturas correspondentes aos eventos de degradação que não são claramente distinguidos na curva da TG, facilitando determinações quantitativas. Nota-se que para a biomassa da microalga *Chlorella minutíssima*, houve cinco eventos de degradação em atmosfera inerte com uma pequena oscilação na faixa de 800 °C a 900 °C devido a ruído. Tais eventos norteiam uma boa aproximação para a determinação da análise imediata e identificação de teores de umidade, voláteis, carbono fixo e cinzas conforme a metodologia descrita por Karatepe e Küçükbayrak (1993). O primeiro evento corresponde à perda de massa referente à umidade e iniciou-se próximo a 100 °C. Os três picos seguintes, na faixa de temperatura de 205 °C a 628 °C se referem à degradação por materiais voláteis, enquanto que o quinto evento representa a região de carbono fixo no material analisado (628 °C a 978 °C). Dessa forma, para a biomassa da *Chlorella minutíssima*, os teores encontrados na análise imediata pela aproximação da termogravimetria foram: 12% de umidade, 39,2% de voláteis, 17,6% de carbono fixo e 31,6% de cinzas. O conhecimento da proporção desses componentes é essencial no processo de gaseificação para seleção das condições de reação, do tipo de catalizador a ser empregado e da configuração do reator (LIU et al., 2017; WORLEY; YALE, 2012).

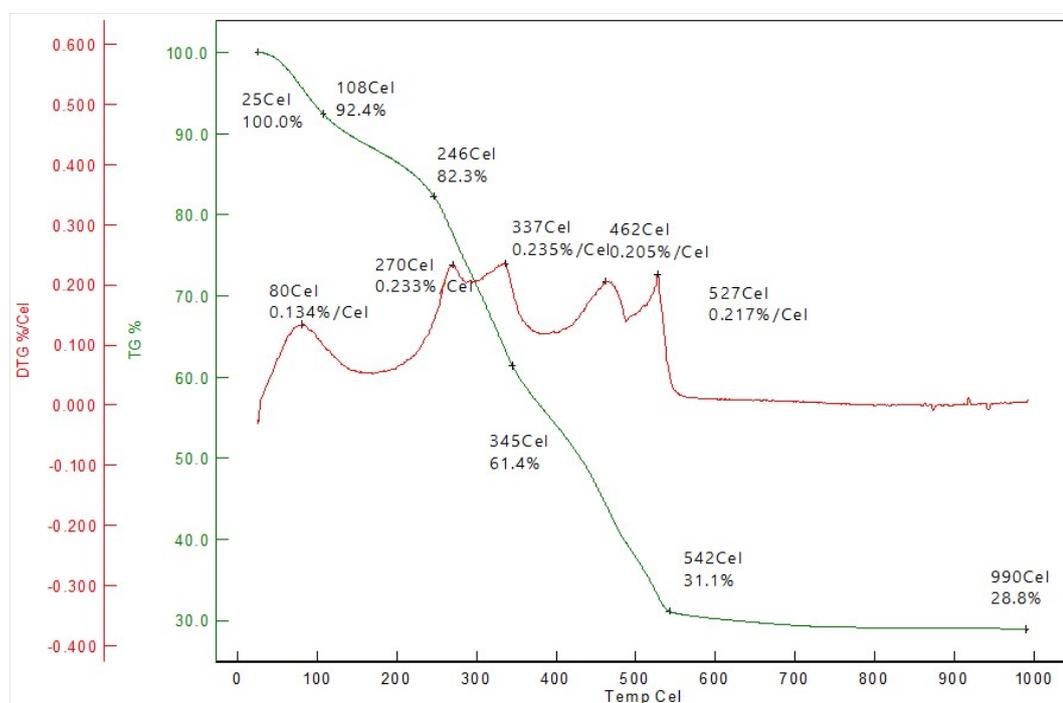
De acordo com a literatura, a decomposição da microalga é dividida em três estágios principais: o primeiro para a quebra de fosfolípidos e proteínas (25-190 °C), o segundo para a decomposição de carboidratos e proteínas (200-450 °C) e o terceiro para a quebra da cadeia

de ácidos graxos (temperaturas acima de 450 °C) (AGRAWAL; CHAKRABORTY, 2013; CHEN; MA; LIU, 2011).

Para a atmosfera oxidativa (ar sintético), o comportamento da biomassa em termos de sua degradação pode ser visualizado na Figura 45. Nota-se que na presença do ar, pela curva da DTG é possível observar a ocorrência de cinco picos de degradação, sendo o primeiro com início a 80 °C e o último a 527 °C. Para o ar, a menor temperatura que indica que o processo responsável pela variação de massa foi concluído atingiu o patamar de 990 °C, pouco maior que o nitrogênio que alcançou a marca de 978 °C. Em ambas as atmosferas, o maior pico de degradação ocorreu na faixa de 300 a 400 °C. É possível observar ainda, um menor conteúdo de cinzas na troca de atmosfera, passando de 31,6% com o nitrogênio para 28,8% com o ar sintético.

Os resultados encontrados tanto para a atmosfera de nitrogênio quanto para a atmosfera de ar sintético, em termos de intervalo de temperatura para as maiores perda de massa, foram semelhantes aos descritos por Raheem et al. (2015) para a *Chlorella vulgaris*: 200 a 630 °C.

Figura 45 – Análise termogravimétrica em atmosfera oxidativa para a biomassa da *Chlorella minutíssima*.

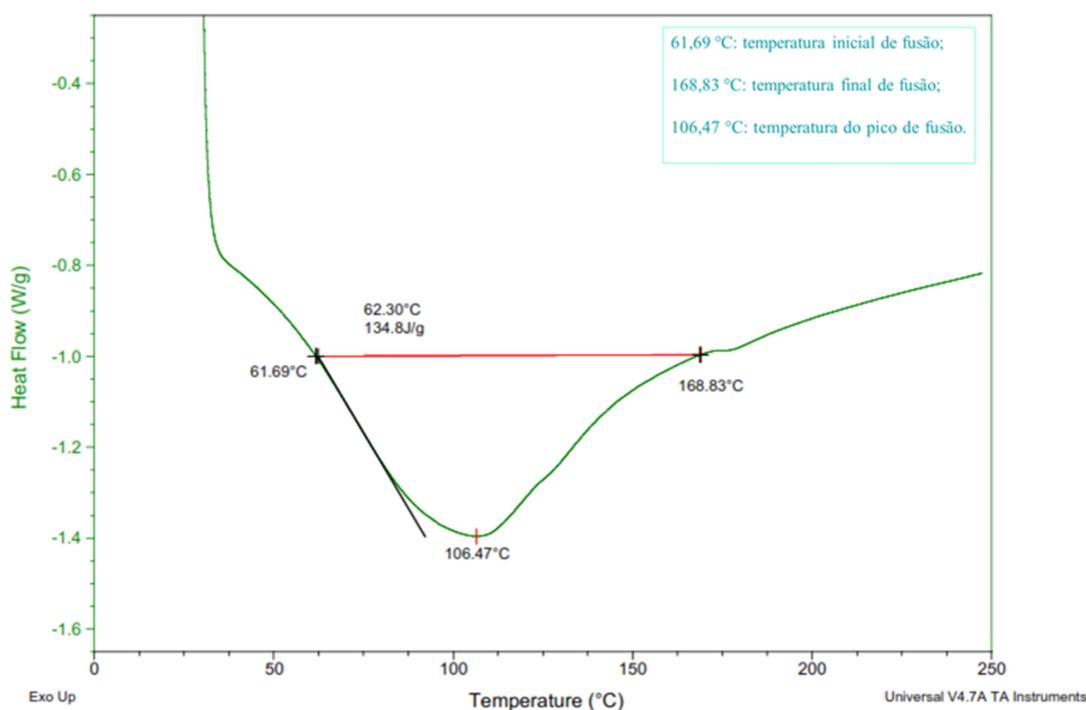


Fonte: Próprio autor.

#### 4.6 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL DA BIOMASSA

A calorimetria exploratória diferencial – DSC possibilitou a medição direta de energia envolvida no comportamento térmico da amostra de biomassa microalgal da *Chlorella minutíssima* por meio de uma relação linear entre a mudança de temperatura e o fluxo de calor. A compensação de potência no DSC é adotada por convenção termodinâmica em que eventos endotérmicos possuem variação positiva de entalpia ( $\Delta H > 0$ ). A Figura 46 ilustra a curva obtida com a biomassa em estudo por meio do DSC, sendo o seu  $\Delta H$  de 134,8 KJ/Kg. O pico único observado representa a porção da curva de DTA que se afasta da linha base em que a variação de temperatura ( $\Delta T$ ) é aproximadamente zero. Nota-se que se trata de um pico endotérmico, pois a temperatura da amostra tornou-se menor que a temperatura do material referência, ou seja,  $\Delta T$  é negativo. O intervalo de temperatura de 61,69 °C a 168,83 °C representou a saída e retorno à linha base da biomassa, sendo respectivamente, a temperatura inicial e final de fusão do material. Constata-se que a biomassa não é pura devido à curva de fusão não ser linear e sim assimétrica, sendo a temperatura do pico de fusão 106,47 °C.

Figura 46 – Calorimetria exploratória diferencial – DSC.



Fonte: Próprio autor.

#### 4.7 PODER CALORÍFICO SUPERIOR DA BIOMASSA

A investigação a respeito do poder calorífico de uma amostra é essencial para a determinação da energia liberada (entalpia) na forma de calor durante a combustão completa da unidade de massa dado em KJ/Kg. À pressão constante, o poder calorífico é igual à entalpia de combustão com sinal contrário pela primeira lei da termodinâmica. Quando se utiliza o termo superior junto ao poder calorífico, trata-se da quantidade de calor transferida com a água presente nos produtos de combustão no estado líquido (VAN WYLEN; SONNTAG; BORGNAKKE, 2003).

Para a determinação do poder calorífico superior (PCS) da biomassa da microalga *Chlorella minutíssima*, na condição otimizada de cultivo, foram utilizadas três amostras. Os resultados de cada amostra podem ser consultados na Tabela 19.

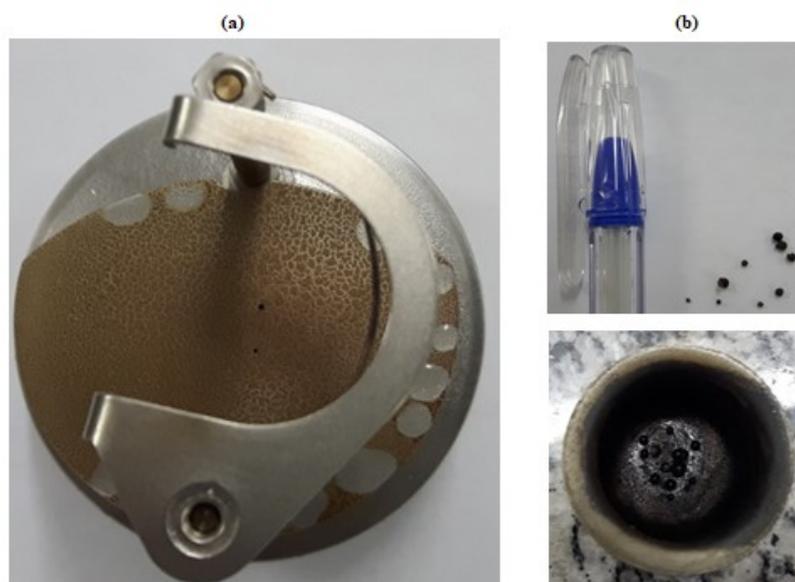
Tabela 19 – Poder calorífico superior da biomassa da *Chlorella minutíssima*.

<b>Amostra</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>Média</b>
<b>PCS (KJ/Kg)</b>	16566	16606	16654	16608,67

Fonte: Próprio autor.

Durante a experimentação, observou-se que a granulometria é um fator importantíssimo que influencia diretamente no valor do poder calorífico. Quanto mais desuniforme a amostra, maior a discrepância entre os valores encontrados. Quanto maior a homogeneidade da biomassa da *Chlorella minutíssima*, maiores os valores obtidos para poder calorífico. Além disso, após a realização do ensaio, o vaso de pressão adquiriu uma fina camada na cor marrom em toda a sua estrutura interna, o que indica a presença de voláteis em alta quantidade e alcatrão que geraram um montante significativo de fumaça durante a queima. As cinzas, ao final do teste, apresentaram um aspecto aglomerado, fato que indica a presença de metal, sendo este provavelmente oriundo da suplementação e arrastado da solução do meio durante o processo de floculação. A Figura 47 ilustra o vaso de pressão após a queima com o indicativo de alcatrão e o aspecto das cinzas.

Figura 47 – Características observadas durante o ensaio de PCS: (a) camada de alcatrão e voláteis; (b) cinzas aglomeradas.



Fonte: Próprio autor.

A Tabela 20 realiza um comparativo entre o valor do poder calorífico identificado para a condição otimizada de cultivo e dados da literatura para outras linhagens de microalga que foram empregadas para a conversão termoquímica em biocombustível, incluindo também a casca de arroz, lascas de eucalipto e a folha de palmeira utilizadas no processo de gaseificação. Nota-se que em termos de poder calorífico, a biomassa da *Chlorella minutissima* é aplicável para a sua transformação em biocombustível por meio do processo de gaseificação.

Tabela 20 – Poder calorífico superior de diferentes biomassas.

Fonte de Biomassa	PCS (KJ/Kg)	Referência
<i>Chlorella minutissima</i>	16608,67	Presente trabalho
Lascas de eucalipto	16490	Yang et al. (2013)
<i>Spirulina platensis</i>	19670	Yang et al. (2013)
Casca de arroz	14600	Pinto et al. (2016)
Folha de palmeira	18100	Ahmad et al. (2016)
<i>Chlorella vulgaris</i>	17720	Belotti et al. (2014)
<i>N. gaditana</i>	13700	Muñoz et al. (2015)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	16800	Du et al. (2012)

Fonte: Elaborado pelo próprio autor.

Nhuchhen e Salam (2012) propuseram um modelo de correlação linear e outro não linear para estabelecer o valor do poder calorífico superior de uma amostra de biomassa por meio dos teores de materiais voláteis, carbono fixo e cinzas fornecidos pela análise imediata, com intuito de reduzir custo e tempo de experimentação, e obter resultados condizentes a respeito da magnitude do PCS para auxílio na análise de sistemas energéticos. Os modelos podem ser consultados nas Equações 34 e 35, sendo a primeira referente a correlação linear e a segunda a não linear, em que V representa o teor de voláteis e CF o carbono fixo.

$$PCS = 19,2880 - 0,2135 \times \frac{V}{CF} + 0,0234 \times \frac{CF}{Cinzas} - 1,9584 \times \frac{Cinzas}{V} \quad (34)$$

$$PCS = 20,7999 - 0,3214 \times \frac{V}{CF} + 0,0051 \times \left(\frac{V}{CF}\right)^2 - 11,2277 \times \frac{Cinzas}{V} + 4,4953 \\ \times \left(\frac{Cinzas}{V}\right)^2 - 0,7223 \times \left(\frac{Cinzas}{V}\right)^3 + 0,0383 \times \left(\frac{Cinzas}{V}\right)^4 + 0,0076 \\ \times \frac{CF}{Cinzas} \quad (35)$$

A Tabela 21 ilustra um comparativo dos valores obtidos com os modelos levando-se em consideração a análise imediata fornecida pela análise termogravimétrica em atmosfera inerte e a média do ensaio em bomba calorimétrica. Nota-se que o modelo linear se ajustou melhor para a previsão do poder calorífico superior da biomassa da *Chlorella minutissima* quando comparado ao não linear, mas, ainda sim, com um alto desvio padrão de 451 KJ/Kg.

Tabela 21 – Valores de PCS encontrados para a *Chlorella minutissima*.

Fonte	Experimental	Modelo Linear	Modelo Não Linear
<b>PCS (KJ/Kg)</b>	16608,67	17246,80	13621,68

Fonte: Próprio autor.

#### 4.8 ANÁLISES TERMOQUÍMICAS E A GASEIFICAÇÃO

Diante das análises termoquímicas realizadas, observou-se que a termogravimetria auxiliou na identificação das faixas de temperatura em que ocorreu a degradação de massa por umidade, voláteis e carbono fixo, trazendo informações importantes a respeito dos parâmetros para operação do gaseificador em termos das quatro etapas principais do processo de

gaseificação: secagem, pirólise para energização da biomassa até o ponto em que a molécula é quebrada e as frações são volatilizadas, combustão e reações de gaseificação. A volatilização da biomassa da microalga *Chlorella minutissima* ocorreu na faixa de temperatura de 205 °C a 628 °C, e sua maior taxa de decomposição foi na faixa de 300 °C a 400 °C. Tais valores facilitam a identificação das zonas de temperatura para ocorrência de cada etapa da conversão em biocombustível, buscando a melhor eficiência energética, já que se trata de grandezas correlacionadas conforme demonstrado na Figura 17. A vantagem no uso da gaseificação para a biomassa microalgal se refere à permanência de suas cinzas e carbono residual resultando em um biocombustível mais limpo, com menores concentrações de partículas causadoras do efeito estufa, principalmente quando se utiliza catalizadores que promovem aumento da formação de hidrogênio e monóxido de carbono e diminuição de gás carbônico (ROCHE et al., 2014).

As informações a respeito dos elementos químicos da biomassa em termos de teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e oxigênio, aliadas a teores de umidade, parâmetros de temperatura, pressão e fator de ar, contribuem para a determinação das funções de Gibbs, imprescindíveis para o cálculo das constantes de equilíbrio químico suficiente para tornar o sistema de equações consistente e convergente para identificação dos coeficientes de cada composto formador do *syngas* (SILVA, 2016).

No que se refere ao poder calorífico superior, além de ser o parâmetro mais importante para definição do conteúdo de energia de um combustível, quando em conjunto com a análise elementar (C – H – N – O), tornam-se propriedades importantes da biomassa necessárias para o desenvolvimento de simulações de processo de conversão termoquímica em biocombustível.

Sendo assim, o conhecimento a respeito de composição qualitativa e quantitativa da biomassa para um processo de conversão de energia como a gaseificação, é essencial para definição de seu comportamento durante a transformação, sendo a termogravimetria, a calorimetria, a análise elementar e a imediata, as análises mais utilizadas para tal caracterização e que vão auxiliar na definição de parâmetros de operação, na composição do gás de síntese e em possíveis dificuldades operacionais.

## 5 CONCLUSÕES

Devido à crise dos combustíveis fósseis e seu alto poder poluente, o desenvolvimento de fontes renováveis para a sua substituição, tornou-se uma tendência importante para a produção de energia no âmbito global. Nesse sentido, os biocombustíveis podem reduzir a dependência do petróleo associada à vulnerabilidade política e econômica e as emissões de gases do efeito estufa e outros poluentes. É nesse cenário, que as microalgas representam uma matéria-prima promissora para a substituição de combustíveis fósseis, principalmente por apresentarem alta produtividade de biomassa e alto conteúdo lipídico. Entretanto, muitos são os desafios quando se pensa em produção em grande escala, especialmente atrelados aos custos de produção, uma vez que a transformação da biomassa em biocombustível ainda não é economicamente viável, sendo necessária a redução de custos para a implementação do processo. Alternativas como uso de espécies com alta eficiência fotossintética, cultivos em águas residuais como fontes de nutrientes de crescimento e progressos nos métodos de colheita, podem apresentar caminhos para minimização de custos e suporte aos benefícios da produção de biocombustíveis baseada em microalgas.

O presente trabalho discorreu à respeito do emprego de ferramentas estatísticas e modelos matemáticos embasados na ferramenta DOE (seleção da variável resposta, escolha dos fatores, seus níveis e ranges, determinação do *design* experimental, realização de experimentos, análises estatísticas dos dados, conclusões e recomendações) para aumento da concentração celular e do teor lipídico, simultaneamente, em níveis aceitáveis do processo de cultivo da microalga marinha *Chlorella minutissima*, bem como análises termoquímicas (análise elementar, termogravimétrica, calorimetria exploratória diferencial, poder calorífico superior) para a aplicação de sua biomassa no processo de gaseificação.

Foram realizados experimentos baseados na Matriz  $L_8$  de Taguchi para indicação das melhores condições operacionais de cultivo em fotobiorreator tubular do tipo coluna de bolhas em termos de fluxo de dióxido de carbono ( $CO_2$ ) na alimentação, concentração de nitrato ( $NO_3^-$ ), concentração de fosfato ( $PO_4^{2-}$ ), suplementação, temperatura e salinidade, capazes de gerar maior concentração microalgal da *Chlorella minutissima* e maior acúmulo de lipídeos no interior de suas células.

Pelos dados experimentais, verificou-se que a melhor configuração dos fatores que propiciou melhor concentração microalgal (0,401 g/L) divergiu da configuração necessária para um maior acúmulo de lipídeos (45,88 %). No primeiro caso, nitrato, fosfato e salinidade devem ser ajustados em seus níveis altos, enquanto que gás carbônico, suplementação e

temperatura devem operar em nível baixo. Já no segundo caso, a configuração de melhor desempenho foi trabalhar com gás carbônico, nitrato, temperatura e salinidade em seus níveis altos enquanto que fosfato e suplementação atuaram em nível baixo.

Além disso, os fatores estatisticamente significativos para a concentração microalgal não foram os mesmos para o teor lipídico. Nitrato a uma concentração de 0,50 g/L e gás carbônico a 2% com suplementação de 1 mL, foram fatores significativos para o acúmulo de óleo, enquanto que para a biomassa, além do  $\text{NO}_3^-$  e do  $\text{CO}_2$  (invertendo o ajuste do nível), temperatura a 20 °C e concentração de fosfato a 0,35 g/L foram apontados como influentes a um nível de significância de 5%.

Na maximização conjunta de ambas as variáveis respostas por meio da função *desirability*, a configuração dos fatores que forneceu um maior desempenho global (0,9748) consistiu em concentração de nitrato de 0,50 g/L, meio não enriquecido com  $\text{CO}_2$ , concentração de fosfato de 0,35 g/L, suplementação de 1 mL, temperatura de 20 °C e concentração de salinidade de 15 g/L.

A ferramenta se demonstrou satisfatória para a otimização conjunta, já que os valores fornecidos pela simulação da concentração microalgal (0,3378 g/L) e do teor lipídico (35,3025%) foram muito próximos dos encontrados com o experimento confirmatório: 0,3396 g/L e 30,4035%.

A condição otimizada de cultivo foi utilizada para a produção de matéria-prima para análises termoquímicas da biomassa que possam servir de norte no que se refere a sua conversão em biocombustível por meio da gaseificação. A análise elementar forneceu teores de 36,95% de carbono, 5,94% de hidrogênio, 5,24% de nitrogênio e 47,25% de oxigênio. Os valores encontrados são condizentes com alguns relatos da literatura de linhagens de microalgas que foram aplicadas em processos de pirólise e gaseificação.

No que diz respeito ao poder calorífico, a biomassa da microalga *Chlorella minutissima* apresentou PCS (16608,67 KJ/Kg) superior ao de lascas de eucalipto (16490 KJ/Kg) e de casca de arroz (14600 KJ/Kg) que já são empregados em gaseificação em maior escala para a produção de *syngas*.

Com relação à termogravimetria, conclui-se que sua realização auxiliou na identificação das faixas de temperatura em que ocorreu a degradação de massa por umidade, voláteis e carbono fixo, trazendo informações importantes a respeito dos parâmetros para operação do gaseificador em termos das quatro etapas principais do processo de gaseificação (secagem, pirólise, combustão e reações de gaseificação).

As análises termoquímicas contribuíram substancialmente para a caracterização da biomassa da microalga *Chlorella minutíssima* que pode vir a facilitar a seleção futura: das condições de reação no interior do gaseificador, de catalisadores, da configuração do reator, do fator de ar, da temperatura de operação, do tipo de agente gaseificante, da pressão e do tempo de residência.

Dessa forma, a metodologia empregada e os resultados apresentados neste trabalho podem ser considerados úteis para a viabilização econômica do cultivo em grande escala da microalga marinha *Chlorella minutíssima* para produção de biocombustível.

Quanto a sugestões para trabalhos futuros pode-se elencar:

- O uso das ferramentas do planejamento de experimento nos processos de colheita e extração da biomassa para redução de custos do processo;
- A exploração da otimização múltipla de respostas por meio de técnicas como Algoritmo Genético, Recozimento Simulado (*Simulated Annealing*), Colônia de Formigas, entre outros;
- O uso de um método MCDM (*Multiple-Criteria Decision-Making*) a fim de se atribuir pesos diferentes a cada variável resposta, uma vez que no presente trabalho ambas apresentaram o mesmo grau de importância;
- A determinação de novas alternativas eficientes para aglutinação de variáveis respostas em processos multi-objetivos;
- A combinação de Meta-Heurísticas com Redes Neurais para melhorias de processos com múltiplas respostas;
- O uso de sensores para monitoramento online do crescimento celular;
- O aprimoramento do sistema de agitação do fotobiorreator para evitar deposição;
- A melhora do sistema de floculação para extração da biomassa, para minimização de tempo e custos;
- A construção de um gaseificador em pequena escala para gaseificação de biomassa microalgal;
- O estudo fluidodinâmico da biomassa para avaliar fenômenos de mistura e segregação;
- A análise termoeconômico da produção do *syngas* e Análise de Ciclo de Vida do processo produtivo para avaliação da sustentabilidade econômica e ambiental do sistema.

## REFERÊNCIAS

- ADNAN, M. A.; HOSSAIN, M. M. Gasification of various biomasses including microalgae using CO<sub>2</sub>: a thermodynamic study. **Renewable Energy**, Oxford, v. 119, p. 598-607, 2018.
- ADNAN, M. A.; SUSANTO, H.; BINOUS, H.; MURAZA, O.; HOSSAIN, M. M. Feed compositions and gasification potential of several biomasses including a microalgae: a thermodynamic modeling approach. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 42, p. 17009-17019, 2017.
- AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS – ANP. **Biocombustíveis**. Disponível em: < <http://www.anp.gov.br/wwwanp/biocombustiveis>>. Acesso em 10 out 2017.
- AGGARWAL, A.; SINGH, H.; KUMAR, P.; SINGH, M. Optimization of multiple quality characteristics for CNC turning under cryogenic cutting environment using desirability function. **Journal of Materials Processing Technology**, Amsterdam, v. 205, p. 42-50, 2008.
- AGRAWAL, A.; CHAKRABORTY, S. A kinetic study of pyrolysis and combustion of microalgae *Chlorella vulgaris* using thermos-gravimetric analysis. **Bioresource Technology**, Essex, v. 128, p. 72-80, 2013.
- AHMAD, A.; ZHAO, Y.; SHAHBAZ, M.; BANO, S.; ZHANG, Z.; WANG, S.; LIU, Y. Carbon emissions, energy consumption and economic growth: An aggregate and disaggregate analysis of the Indian economy. **Energy Policy**, Surrey, v. 96, p. 131-143, 2016
- ALBETRAN, H.; DONG, Y.; LOW, I. M. Characterization and optimization of electrospun TiO<sub>2</sub>/PVP nanofibers using Taguchi design of experiment method. **Journal of Asian Ceramic Societies**, Singapore, v. 3, p. 292-300, 2015.
- ALGHURABIE, I. K.; HASAN, B. O.; JACKSON, B.; KOSMINSK, A.; ASHMAN, P. J. Fluidized bed gasification of Kingston coal and marine microalgae in a spouted bed reactor. **Chemical Engineering Research and Design**, Rugby, v. 91, p. 1614-1624, 2013.
- AL HATTAB, M.; GHALY, A. Production of biodiesel from marine and freshwater microalgae: a review. **Advances in Research**, London, v. 3, p. 107-155, 2015.
- AMARAL, M. S. **Cultivo da microalga marinha *Chlorella sp.* como fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel**. 2013. 102f. Dissertação (Mestrado em Ciências – Engenharia Química – Processos Catalíticos e Biocatalíticos) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.
- ANDRADE, E. T.; CARVALHO, S. R. G.; SOUZA, L. F. Programa do Proálcool e o etanol no Brasil. **Engevista**. v. 11, p. 127-136, 2009. Disponível em: < <http://www.uff.br/enzimo/arquivos/arqix001.pdf>>. Acesso em: 26 jan. 2018.
- ANDRADE, R. V. **Gaseificação de bagaço de cana: uma análise teórica e experimental**. 2007. 205f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica) – Instituto de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Itajubá, Itajubá, Minas Gerais, 2007.

ANTONY, J.; SIVANATHAN, L.; GIJO, E. V. Design of experiments in a higher education setting. **International Journal of Productivity and Performance Management**, Bingley, v. 63, p. 513-521, 2014.

ARTO, I.; CAPELLÁN-PÉREZ, I.; LAGO, R.; BUENO, G.; BARMEJO, R. The energy requirements of a developed world. **Energy for Sustainable Development**. Bangalore, v. 33, p. 1-13, 2016.

AZIZI, K.; MORAVEJI, M. K.; NAJAFABADI, H. A. A review on bio-fuel production from microalgal biomass by using pyrolysis method. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 82, p. 3046-3059, 2018.

BALAK, E. S. Z.; ZAKERI, M.; RAHIMIPOUR, M. Taguchi design and hardness optimization of ZrB<sub>2</sub>-based composites reinforced with chopped carbon fiber and different additives and prepared by SPS. **Journal of Alloys and Compounds**, Lausanne, v. 639, p. 617-625, 2015.

BALONI, B. D.; PATAK, Y.; CHANNIWALA, S. A. Centrifugal blower volute optimization based on Taguchi method. **Computers and Fluids**, New York, v. 112, p. 72-78, 2015.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 3 ed. Campinas: Editora Unicamp, 2007. 414 p.

BAUER, S. K.; GROTZ, L. S.; CONNELLY, E. B.; COLOSI, L. M. Reevaluation of the global warming impacts of algae-derived biofuels to account for possible contributions of nitrous oxide. **Bioresource Technology**, Essex, v. 218, p. 196-201, 2016.

BELOTTI, G.; DE CAPRARIIS, B.; DE FILIPPIS, P.; SCARSELLA, M.; VERDONE, N. Effect of *Chlorella vulgaris* growing conditions on bio-oil production via fast pyrolysis. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 61, p. 187-195, 2014.

BERTO, R. M. V. S.; NAKANO, D. Revisitando a produção científica nos anais do Encontro Nacional de Engenharia de Produção. **Production**, Munich, v. 24, p. 225-232, 2014.

BERTRAND, J. W. M.; FRANSOO, J. C. Operations management research methodologies using quantitative modeling. **International Journal of Operations and Production Management**, Brighton, v. 22, p. 241-264, 2002.

BESHAH, B.; WOLDEGEBRIEL, S.; DESTA, G. Multi-stage and multi-response process optimization in Taguchi Method. **Journal of EEA**, London, v. 33, p. 1-12, 2015.

BILLER, P.; ROSS, A. B. Potential yields and properties of oil from hydrothermal liquefaction of microalgae with different biochemical content. **Bioresource Technology**, Essex, v. 102, p. 215-225, 2011.

BITOG, J. P.; LEE, I. B.; LEE, C. G.; KIM, K. S.; HWANG, H. S.; HONG, S. W.; SEO, I. H.; KWON, K. S.; MOSTAFA, E. Application of computational fluid dynamic for modeling and designing photobioreactors for microalgae production: a review. **Computers and Electronics in Agricultur.**, New York, v. 76, p. 131-147, 2011.

BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, Ottawa, v. 37, p. 911-917, 1959.

BOX, G. E. P.; HUNTER, W. G.; HUNTER, J. S. **Statistics for experimenters**. New York: John Wiley and Sons, 1978.

BRASIL, A. **Os três pilares da sustentabilidade**: os desafios ambientais do século XXI para a iniciativa privada. Disponível em: <<http://economia.estadao.com.br/blogs/ecoando/os-tres-pilares-da-sustentabilidade-os-desafios-ambientais-do-seculo-xxi-para-a-iniciativa-privada/>>. Acesso em: 26 jun. 2017.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae: a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 14, p. 557-577, 2010.

BURAGOHAIN, B. M.; MAHANTA, P.; MOHOLKAR, V. S. Thermodynamic optimization of biomass gasification for decentralized power generation and Fischer-Tropsch synthesis. **Energy**, Surrey, v. 35, p. 2557-2579, 2010.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D. C. **Planejamento de experimentos usando o Statistica**. Rio de Janeiro: E-Papers Serviços Editoriais, 2003.

CAMPANELLA, A.; HAROLD, M. P. Fast pyrolysis of microalgae in a falling solids reactor effects of process variables and zeolite catalysts. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 46, p. 218-232, 2012.

CARRIJO, R. S.; SILVA, V. C. F.; DOS SANTOS, A. C. M.; COSTA, M. F.; FERREIRA, T. P. Uso de microalgas para a produção de biodiesel: vantagens e limitações. **Energia**, São Paulo, v. 5, p. 23-31, 2015.

CASTILHO, A. P.; BORGES, N. R. M.; PEREIRA, V. T. **Manual de metodologia científica**. 2 ed. Itumbiara: ILES/ULBRA, 2014. 151 p.

CENTRAL ANALÍTICA. Disponível em: <<http://ca.iq.usp.br/novo/>>. Acesso em: 08 nov. 2016.

COMPANHIA AMBIENTAL DO ESTADO DE SÃO PAULO – CETESB. Disponível em: <<http://cetesb.sp.gov.br/>>. Acesso em: 07 dez. 2016.

CHEN, C.; MA, X.; LIU, K. Thermogravimetric analysis of microalgae combustion under different oxygen supply concentrations. **Applied Energy**, London, v. 88, p. 3189-3196, 2011

CHEN, G. Q.; WU, X. F. Energy overview for globalized world economy: source, supply chain and sink. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 69, p. 735-749, 2017.

CHEN, Z.; LEI, J.; LI, Y.; SU, X.; HU, Z.; GUO, D. Studies on thermokinetic of *Chlorella pyrenoidosa* devolatilization via different models. **Bioresource Technology**, Essex, v. 244, p. 320-327, 2017.

CHIACCHIARINI, H. G. **Energía: investigaciones en América del Sur**. Bahía Blanca: Editorial de la Universidad Nacional del Sur, 2017. 330 p.

CHISTI, Y. Microalgae as sustainable cell factories. **Environmental Engineering and Management Journal**, Iasi, v. 5, p. 261-274, 2006.

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

COHEN, A.; TIPLICA, T.; KOBI, A. Design of experiments and statistical process control using wavelets analysis. **Control Engineering Practice**, Oxford, v. 49, p. 129-138, 2016.

COSTA NETO, P. L. O. **Estatística**. São Paulo: Edgard Blucher, 1977. 264 p.

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

DEMIRBAS, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: a solution to pollution problems. **Applied Energy**, London, v. 88, p. 3541-3547, 2011

DEMIRBAS, M. F. Biofuels from algae for sustainable development. **Applied Energy**, London, v. 88, p. 3473-3480, 2011.

DIXON, D.; EATOCK, J.; MEENAN; B. J.; MORGAN, M. Application of design of experiments (DOE) techniques to process validation in medical device manufacture. **Journal of Validation Technology**, Burlington, v. 12, 2006.

DU, Z.; MOHR, M.; MA, X.; CHENG, Y.; LIN, X.; LIU, Y.; et al. Hydrothermal pretreatment of microalgae for production of pyrolytic bio-oil with a low nitrogen content. **Bioresource Technology**, Essex, v. 120, p. 13-18, 2012.

ELLABBAN, O.; ABU-RUB, H.; BLAABJERG, F. Renewable energy resources: current status, future prospects and their enabling technology. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 39, p. 748-764, 2014.

EMBRAPA. Microalgas. **Agroenergia em revista**. v. 10, p. 1-60, 2016. Disponível em: < <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/153095/1/Agroenergia-Revista-microalgas-ed10-red.pdf> >. Acesso em: 22 nov. 2017.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA – EPE. **Anuário estatístico de energia elétrica 2017 ano base 2016**. Brasília: MME, 2017. 230 p.

ENTIDADE NACIONAL PARA O MERCADO DE COMBUSTÍVEL – ENMC. **Biocombustíveis no mundo**. Disponível em: < <http://www.enmc.pt/pt-PT/atividades/biocombustiveis/benchmarking/> >. Acesso em: 22 nov. 2017.

FAN, Z.; MA, T.; LI, W.; WANG, S.; MAO, Z.; XIE, X. A comparison of hydrogen-enriched natural gas (HCNG) and compressed natural gas (CNG): based on ANOVA models. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 42, p. 30029-30036, 2017.

FAROOQ, M. A.; NÓVOA, H.; ARAÚJO, A.; TAVARES, S. M. O. An innovative approach for planning and execution of pre-experimental runs for design of experiments. **European Research on Management and Business Economics**, Pontevedra, v. 22, p. 155-161, 2016.

GHADIRYANFAR, M.; ROSENTRATER, K. A.; KEYHANI, A.; OMID, M. A review of macroalgae production with potencial applications in biofuels and bioenergy. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 54, p. 473-481, 2016.

GHOSH, A.; MAL, P.; MAJUMDAR, A.; BANERJEE, D. Optimization of knitted fabric comfort and UV protection using desirability function. **Journal of Engineered Fibers and Fabrics**, North Carolina, v. 11, p. 20-28, 2016.

GUERRA, J. B. S. O. A.; DUTRA, L.; SCHWINDEN, N. B. C.; DE ANDRADE, S. F. Future scenarios and trends in energy generation in Brazil: supply and demand and mitigation forecasts. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 103, p. 197-210, 2015.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: SMITH, W. L.; CHANLEY, M. H. (Eds.). **Culture of marine invertebrate animals**. New York: Plenum. 1975. p. 29-60.

GULDHE A.; KUMARI, S.; RAMANNA, L.; RAMSUNDAR, P.; SINGH, P.; RAWAT, I.; BUZ, F. Prospects, recent advancements and challenges of different wastewater streams for microalgal cultivation. **Journal of Environmental Management**, London, v. 203, p. 299-315, 2017.

HARUN, R.; YIP, J. W. S.; THIRUVENKADAM, S.; GHANI, W. A. W. A. K.; CHERRINGTON, T.; DANQUAH, M. K. Algal biomass conversion to bioethanol – a step-by-step assessment. **Biotechnology Journal**, Weinheim, v. 9, p. 73-86, 2014.

HONG, C. W. Using the Taguchi method for effective market segmentation. **Expert System with Applications**, Louisiana, v. 39, p. 5451-5459, 2012.

HRICOVA, J.; NAPRSTKOVA, N. Surface roughness optimization in milling aluminium alloy by using the Taguchi's design of experiment. **Manufacturing Technology**, London, v. 15, p. 541-546, 2015

HU, Q.; SOMMERFELD, M.; JERVIS, E. et al. Harnessing plant biomass for biofuels and biomaterials microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **The Plant Journal**, Oxford, v. 54, p. 621-639, 2008.

HUNT, J. D.; DE FREITAS, PEREIRA JÚNIOR, A. O. Aumentando a capacidade de armazenamento energético do Brasil. In: IX CONGRESSO BRASILEIRO DE PLANEJAMENTO ENERGÉTICO, 25. 2014, Florianópolis. **Anais...** Florianópolis: Políticas Energéticas para a Sustentabilidade, 2014. p. 1-12.

ILLMAN, A. M.; SCRAGG, A. H.; SHALES, S. W. Increase in Chlorella strains calorific values when grown in low nitrogen medium. **Enzyme and Microbial Technology**, New York, v. 27, p. 631-635, 2000.

INTERNATIONAL ATOMIC ENERGY AGENCY – IAEA. **Energy indicators for sustainable development: guidelines and methodologies.** Austria: IAEA, 2005. 161 p.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY – IEA. **Energy efficiency indicators highlights.** Paris: OECD/IEA, 2016. 144 p.

INTERNATIONAL ENERGY AGENCY – IEA. **World energy outlook 2017: executive summary.** Paris: OECD/IEA, 2017. 13 p.

KANNAN, N.; VAKEESAN, D. Solar energy for future world: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 62, p. 1092-1105, 2016.

KARATAPANIS, A. E.; FIAMEGOS, Y. C.; SAKKAS, V. A.; STALIKAS, C. D. Effect of chromatographic parameters and detector settings on the response of HILIC-evaporative light-scattering detection system using experimental design approach and multicriteria optimization methodology. **Talanta**, London, v. 83, p. 1126-1133, 2011.

KARATEPE, N.; KÜÇÜKBAYRAK, S. Proximate analysis of some Turkish lignites by thermogravimetry. **Termochimica Acta**. v. 213, p. 147-150, 1993. Disponível em: <[https://ac.els-cdn.com/004060319380012Y/1-s2.0-004060319380012Y-main.pdf?\\_tid=b19de57a-11a0-11e8-b5d0-00000aacb35f&acdnat=1518624431\\_9d4a34d7c3d5491dfc3580873f1bae17](https://ac.els-cdn.com/004060319380012Y/1-s2.0-004060319380012Y-main.pdf?_tid=b19de57a-11a0-11e8-b5d0-00000aacb35f&acdnat=1518624431_9d4a34d7c3d5491dfc3580873f1bae17)>

KIRSANOVS, V.; BLUMBERGA, D.; DZIKEVICS, M.; KOVALS, A. Design of experimental investigations on the effect equivalence ratio, fuel moisture content and fuel consumption on gasification process. **Energy Procedia**, Estocolmo, v. 95, p. 189-194, 2016.

KOLLER, M.; MUHR, A.; BRAUNEGG, G. Microalgae as versatile cellular factories for valued products. **Algal Research**, Los Alamos, v. 6, p. 52-63, 2014.

KUMAR, R. S.; SURESHKUMAR, K.; VELRAJ, R. Optimization of biodiesel production from manilkara zapota (L.) seed oil using Taguchi method. **Fuel**, London, v. 140, p. 90-96, 2015.

LACERDA, D. P.; DRESCH, A.; PROENÇA, A.; ANTUNES JÚNIOR, J. A. V. Design science research: método de pesquisa para a engenharia de produção. **Gestão e Produção**, São Carlos, v. 20, p. 741-761, 2013.

LAM, M. K.; LEE, K. T. Microalgae biofuels: a critical review of issues, problems and the way forward. **Biotechnology Advances**, New York, v. 30, p. 673-690, 2012.

LAMBERT, J. G.; HALL, C. A. S.; BALOGH, S.; GUPTA, A.; ARNOLD M. Energy, EROI and quality of life. **Energy Policy**, Surrey, v. 64, p. 153-167, 2014

LI, C; XIAO, Q.; TANG, Y.; LI, L. A method integrating Taguchi RSM and MOPSO to CNC machining parameters optimization for energy saving. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 135, p. 263-275, 2016.

LI, J.; MA, C.; MA, Y.; LI, Y.; ZHOU, W.; XU, P. Medium optimization by combination of response surface methodology and desirability function: an application in glutamine production. **Applied Microbiology and Biotechnology**, Berlim, v. 74, p. 563-571, 2007.

LINK, S.; ARVELAKIS, S.; PAIST, A.; MARTIN, A.; LILIEDAHL, T.; SJOSTROM, K. Atmospheric fluidized bed gasification of untreated and leached olive residue, and co-gasification of olive residue, reed, pine pellets and Douglas fir wood chips. **Applied Energy**, London, v. 94, p. 89-97, 2012.

LIU, G.; LIAO, Y.; WU, Y.; MA, X.; CHEN, L. Characteristics of microalgae gasification through chemical looping in the presence of steam. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 42, p. 22730-22742, 2017.

LIU, X.; CLARENS, A. F.; COLOSI, L. M. Algae biodiesel has potencial despite inconclusive results to date. **Bioresource Technology**, Essex, v. 104, p. 803-806, 2012.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: Rima, 2006. 606 p.

LOURES, C. C. A. **Otimização do processo de cultivo da microalga *Chlorella minutissima* como fonte de matéria-prima para a produção de biodiesel**. 2016. 157f. Tese (Doutorado em Engenharia Mecânica – Gestão e Otimização) – Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, Guaratinguetá, 2016.

LOZANO, F. J.; LOZANO, R.; FREIRE, P.; GONZALEZ, C. J.; SAKAO, T.; ORTIZ, M. G.; TRIANNI A.; CARPENTER, A.; VIVEROS, T. New perspectives for green and sustainable chemistry and engineering: approaches from sustainable resource and energy use, management and transformation. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 172, p. 227-232, 2018.

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

MIGUEL, P. A. C. **Metodologia de pesquisa em engenharia de produção e gestão de operações**. 2 ed. Rio de Janeiro: Elsevier: ABEPRO, 2012. 260 p.

MILLER, C.; THOMAS, D.; IRIGOYEN, S. D.; HERSBERG, C.; NAGY, Z.; ROSSI, D.; SCHLUETER A. BIM-extracted energyplus model calibration for retrofit analysis of a historically listed building in Switzerland. In: 2014 ASHRAE/IBPSA-USA Building Simulation Conference, 2014. p. 331-338.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA – MME. **Destaques do setor de energia**. Disponível em: < <http://www.mme.gov.br/> >. Acesso em: 30 ago. 2018.

MINISTÉRIO DE MINAS E ENERGIA – MME. **Balanco energético nacional: ano base 2015**. Brasília, 2016. 296 p.

MOBIN, M.; LI, Z. Multi-response optimization of cavitation peenig parameters for improving fatigue performance using de desirability function approach. **International Journal of Applied Decision Sciences**, London, v. 9, p. 156-181.

MOGHADAM, R. A.; YUSUP, S.; UEMURA, Y.; CHIN, B. L. F.; LAM, H. L.; SHOAIABI, A. A. Syngas production from palm kernel shell and polyethylene waste blend in fluidized bed catalytic steam co-gasification process. **Energy**, California, v. 75, p. 40-44, 2014.

MOGHADDAM, E. A.; AHLGREN S.; HULTEBERG, C.; NORDBERG, A. Energy balance and global warming potential of biogas-based fuels from a life cycle perspective. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam, v. 132, p. 74-82, 2015.

MOHAMMED, M. A. A.; SALMIATON, A.; WAN A. W. A. K. G.; MOHAMMAD, A. M. S.; FAKHRU, L. R. A. Air gasification of empty fruit brunch for hydrogen-rich gas production in a fluidized-bed reactor. **Energy Conversion Management**, Oxford, v. 52, p. 1555-1561, 2011.

MOHEIMANI, N. R.; BOROWITZKA, M. A. The long-term culture of the coccolithophore *Pleurochrysis carterae* (Haptophyta) in outdoor raceway ponds. **Appl. Phycol**, Galway, v. 18, p. 703-712, 2006.

MONIAK, J. A.; MORESCO, C. Produção de biodiesel utilizando microalgas. **Revista de Saúde e Biologia**, Campo Mourão, v. 9, p. 65-74, 2014.

MONTGOMERY, D. C. **Design and analysis of experiments**. 6 ed. Hoboken, New Jersey: John Wiley and Sons, Inc., 2005. 643 p.

MONTGOMERY, D. C.; RUNGER, G. C. **Estatística aplicada e probabilidade para engenheiros**. 2 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2003. 463 p.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production. **Algal Research**, Los Alamos v.7, p. 117-123, 2015.

MUHAMMAD, A.; ODA, T.; KASHIWAGI, T. Novel power generation from microalgae: application of different gasification technologies. In: 4<sup>th</sup> International Conference on Renewable Energy Research and Applications, 2015, Palermo-Italy, 2015. p. 5.

MUÑOZ, R.; NAVIA, R.; CIUDAD, G.; TESSINI, C.; JEISON, D.; MELLA, R. et al. Preliminary biorefinery process proposal for protein and biofuels recovery from microalgae. **Fuel**, London, v. 150, p. 425-433, 2015.

NEVES, D.; BAPTISTA, P.; SIMÕES, M.; SILVA, C. A.; FIGUEIRA, J. R. Designing a municipal sustainable energy strategy using multi-criteria decision analysis. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 176, p. 251-260, 2017.

NHUCHHEN, D. R.; SALAM, P. A. Estimation of higher heating value of biomass from proximate analysis: a new approach. **Fuel**, London, v. 99, p. 55-63, 2012.

NOBAHAR, A.; MOJIB, S.; MOHARRAMI, M. Combined use of design of experiment and dynamic building simulation in assessment of energy efficiency in tropical residential buildings. **Energy and Buildings**, Lausanne, v. 86, p. 525-533, 2015.

NWOKOAGBARA, E.; OLALEYE, A. K.; WANG, M. Biodiesel from microalgae: the use of multi-criteria decision analysis for strain selection. **Fuel**, London, v. 159, p. 241-249, 2015.

OLIVEIRA, F. C. C.; SUAREZ, P. A. Z.; DOS SANTOS, W. L. P. Biodiesel: possibilidades e desafios. **Química e Sociedade**, São Paulo, v. 28, p. 3-8, 2007.

PADKE, M. S. **Quality engineering using robust design**. Englewood Cliffs, NJ: Prentice Hall, 1989.

PAIVA, A. P. **Metodologia de superfície de resposta e análise de componentes principais em otimização de processos de manufatura com múltiplas respostas correlacionadas**. 2006. 229 f. Tese (Doutorado em Projeto e Fabricação) – Instituto de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Itajubá, 2006.

PASANDIDEH, S. H. R.; NIAKI, S. T. A. Multi-response simulation optimization using genetic algorithm within desirability function framework. **Applied Mathematics and Computation**, New York, v. 175, p. 366-382, 2006.

PEDROSA, O.; CORRÊA, A. **A crise do petróleo e os desafios do pré-sal**. FGV Energia. 2016. Disponível em: <[http://www.fgv.br/fgvenergia/oswaldo\\_pedrosa\\_petroleo/files/assets/common/downloads/publication.pdf](http://www.fgv.br/fgvenergia/oswaldo_pedrosa_petroleo/files/assets/common/downloads/publication.pdf)>. Acesso em: 24 jan. 2017.

PINTO, F.; ANDRÉ, R.; MIRANDA, M.; NEVES, D.; VARELA, F.; SANTOS, J. Effect of gasification agente on co-gasification of rice production wastes mixtures. **Fuel**, London, v. 180, p. 407-416, 2016.

PRAGYA, N.; PANDEY, K. K.; SAHOO, P. K. A review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 24, p. 159-171, 2013.

PRODANOV, C. C.; DE FREITAS, E. C. **Metodologia do trabalho científico: métodos e técnicas da pesquisa e do trabalho acadêmico**. 2 ed. Novo Hamburgo: Freevale, 2013. 276 p.

QUITETE, C. P. B.; SOUZA, M. M. V. M. Remoção do alcatrão de correntes de gaseificação de biomassa: processos e catalisadores. **Química Nova**. v. 37, 2014. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-40422014000400019](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-40422014000400019)>.

RAHEEM, A.; SIVASANGAR, S.; AZLINA, W. A. K. G. W.; YAP, Y. H. T.; DANQUAH, M. K.; HARUN, R. Thermogravimetric study of *Chlorella vulgaris* for syngas production. **Algal Research**, Los Alamos, v. 12, p. 52-59, 2015.

RAISSI, S.; FARSANI, R. E. F. Statical process optimization through multi-response surface methodology. **World Academy of Science, Engineering and Technology**, Weinheim, v. 51, p. 267-271, 2009.

RAJNEESH; SINGH, S. P.; PATHAK, J.; SINHA, R. P. Cyanobacterial factories for the production of green energy and value-added products: An integrated approach for economic viability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 69, p. 578–595, 2017.

RANJAN, A.; PATIL, C.; MOHOLKAR, V. S. Mechanistic assessment of microalgal lipid extraction. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, v. 49, p. 2979-2985, 2010.

RAWAT, I.; KUMAR, R. R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Biodiesel from microalgae: a critical evaluation from laboratory to large scale production. **Applied Energy**, London, v. 103, p. 444-467, 2013.

RAZZAK, S. A.; HOSSAIN, M. M.; LUCKY, R. A.; BASSI A. S.; LASA, H. Integrated CO<sub>2</sub> capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 27, p. 622–653, 2013.

REGULATORY INDICATORS FOR SUSTAINABLE ENERGY. **A global scorecard for policy makers**. Washington DC: International Bank for Reconstruction and Development/ The World Bank, 2016. 240 p.

RELKAR, A. S.; NANDURKAR, K. N. Optimizing and analysing overall equipment effectiveness (OEE) through design of experiments (DOE). **Procedia Engineering**, Netherlands, v. 38, p. 2973-2980, 2012.

REWAT, I.; KUMAR, R. R.; MUTANDA, T.; BUX, F. Biodiesel from microalgae: a critical evaluation from laboratory to large scale production. **Applied Energy**, London, v. 103, p. 444-467, 2013.

ROCHE, E.; ANDRÉS, J. M.; NARROS, A.; RODRÍGUEZ, M. E. Air and air-steam gasification of swage sludge. The influence of dolomite and throughput in tar production and composition. **Fuel**, London, v. 115, p. 54-61, 2014.

RODRIGUES, J. B. R.; BELLI FILHO, P. Eficiência da microalga *Chlorella minutíssima* no tratamento de resíduos de suinocultura enriquecido com uréia. **Biotemas**, Florianópolis, v. 17, p. 7-26, 2004.

ROSS, P. J. **Taguchi Techniques for quality Engineering**. USA: McGraw-Hill, 1996.

SADOWSKI, A.; BAER-NAWROCKA, A. Food and environmental function in world agriculture – interdependence or competition. **Land Use Policy**, Guildford, v. 71, p. 578-583, 2018.

SAFA, F.; HADJMOHAMMADI, M. R. Simultaneous optimization of the resolution and analysis time in micellar liquid chromatography of phenyl thiohydantoin amino acids using Derringer's desirability function. **Journal of Chromatography A**, Hobart, v. 1078, p. 42-50, 2005.

SANSANIWAL, S. K.; ROSEN, M. A.; TYAGI, S. K. Global challenges in the sustainable development of biomass gasification: an overview. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 80, p. 23-43, 2017.

SANTOS, B. **Estratégias para aumentar a produtividade de biomassa de microalgas com carbono orgânico**. 2016. 104f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais – Tecnologia) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2016.

SCHLUETER, A.; GEYER, P. Linking BIM and design of experiments to balance architectural and technical design factors for energy performance. **Automation in Construction**, Amsterdam, v. 86, p. 33-43, 2018.

SCOPUS. Disponível em: <<https://www.scopus.com>>. Acesso em: 22 jan. 2018.

SELVARAJ, D. P.; CHANDRAMOHAN P.; MOHANRAJ M. Optimization of surface roughness, cutting force and tool wear of nitrogen alloyed duplex stainless steel in a dry turning process using Taguchi method. **Measurement**, London, v. 49, p. 205-215, 2014.

SHAHBAZ, M.; YUSUP, S.; NAZ, M. Y.; SULAIMAN, S. A.; INAYAT, A.; PARTAMA, A. Fluidization of palm kernel shell, pal oil fronds, and empty fruit bunches in a swirling fluidized bed gasifier. **Particulate Science and Technology**, London, v. 35, p. 1-8, 2016.

SHEKH, A. Y.; SHRIVASTAVA, P.; ANKIT, G.; KANNAN, K.; DEVI, S. S.; MUDLIAR, S. N. Biomass and lipid enhancement in *Chlorella* sp. with emphasis on biodiesel quality assessment through detailed FAME signature. **Bioresource Technology**, Essex, v. 201, p. 276-286, 2016.

SHI, X. Y.; JIN, D. W.; SUN, Q. Y.; LI, W. W. Optimization of conditions for hydrogen production from brewery wastewater by anaerobic sludge using desirability function approach. **Renewable Energy**, Oxford, v. 35, p. 1493-1498, 2010.

SHUKLA, J. B.; VERMA, M.; MISRA, A. K. Effect of global warming on sea level rise: a modeling study. **Ecological Complexity**, Leicester, v. 32, p. 99-110, 2017.

SIBALIJA, T.; MAJSTOROVIC, V.; SOKOVIC, M. Taguchi-based and intelligent optimization of a multi-response process using historical data. **Journal of Mechanical Engineering**, London, v. 57, p. 357-365, 2011.

SILVA, J. A. **Análise paramétrica da transformação termoquímica de biomassa via processo de gaseificação: uma abordagem numérica**. 2016. 105f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2016.

SINGH, J.; GU, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 14, p. 2596-2610, 2010.

SUALI, E.; SARBATLY, R. C. Conversion of microalgae to biofuel. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 16, p. 4316-4342, 2012

SUGANYA, T.; VARMAN, M.; MASJUKI, H. H.; RENGANATHAN, S. Macroalgae and microalgae as a potential source for commercial applications along with biofuels production: a biorefinery approach. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 55, p. 909-941, 2016.

SUN, B.; CHEN, Z.; GU, B.; HUANG, X. Injection molding process parameter optimization for warpage minimization based on uniform design of experiment. **Applied Mechanics and Materials**, Xiamen, v. 37-38, p. 570-575, 2010

TAGUCHI, G.; KONISHI, S. **Taguchi Methods Orthogonal Arrays and Linear Graphs: Tools for Quality Engineering**. American Supplier Institute, Dearborn, Michigan, 1987.

THOMAS, D.; MILLER C.; KAEMPF, J.; SCHLUETER A. Multiscale co-simulation of energyplus and citysim models derived from a building information model. In: Fifth German-Austrian IBPSA Conference, 2014. p. 469-476.

TODAMATERIA. **Efeito estufa**. Disponível em: < <https://www.todamateria.com.br/efeito-estufa/> >. Acesso em: 04 mar. 2018.

VADAKKEPAT, P; TAN, S. J.; HONG, C. Y. Model validation for a pair of biologically abstracted quadruped forelimbs through the design of experiment (DOE) technique. **Transactions of the Institute of Measurement and Control**, London, v. 34, p. 213-235, 2012.

VAN GYSEGHEM, E.; JIMIDAR, M., SNEYERS, R.; REDLICH, D.; VERHOEVEN, E.; MASSART, D. L.; VANDER HEYDEN, Y. Selection of reversed-phase liquid chromatographic columns with diverse selectivity towards the potential separation of impurities in drugs. **Journal of Chromatography A**, Hobart, n. 1042, p. 69-80, 2004.

VAN WYLEN, G. J.; SONNTAG, R. E.; BORGNAKKE, C. **Fundamentos da termodinâmica**. São Paulo: Edgard Blücher, 2003.

VAZ, M. S.; STECKELBERG, T. B.; PIETRAFESA, J. P. Papel da cana na matriz energética brasileira. **Journal of Social, Technological and Environmental Science**, São Paulo, v. 4, p. 215-229, 2015.

VERMA, N. M.; MEHROTRA, S.; SHUKLA, A.; MISHRA, B. N. Prospective of biodiesel production utilizing microalgae as the cell factories: a comprehensive discussion. **African Journal of Biotechnology**, Bloemfontein, v. 9, p. 1402-1411, 2010.

WANG, X.; JIANG, D.; LANG, X. Future extreme climate changes linked to global warming intensity. **Science Bulletin**, Lawrence, v. 62, p. 1673-1680, 2017.

WANG, Z.; HE, T.; QIN, J.; WU, J.; LI, J.; ZI, Z.; LIU, G.; WU, J.; SUN, L. Gasification of biomass with oxygen-enriched air in a pilot scale two-stage gasifier. **Fuel**, London, v. 150, p. 386-393, 2015.

WATSON, J.; ZHANG, Y.; BUCHUN, S.; CHEN, W. T.; SOUZA, R. Gasification of biowaste: a critical review and outlooks. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 83, p. 1-17, 2018.

WORLEY, M.; YALE, J. **Biomass gasification technology assessment**. Consolidated Report National Laboratory of the U.S. Department of Energy, United States, 2012.

WU, Z.; YANG, W.; YANG, B. Thermal characteristics and surface morphology of char during co-pyrolysis of low-rank coal blended with microalgal biomass: effects of *Nannochloropsis* and *Chlorella*. **Bioresource Technology**, Essex, v. 249, p. 501-509, 2018.

YANG, H. T.; PENG, P. C. Improved Taguchi method based contract capacity optimization for industrial consumer with self-owned generating units. **Energy Conversion and Management**, Oxford, v. 53, p. 282-290, 2012.

YANG, K. C.; WU, K. T.; HSIEH, M. H.; HSU, H. T.; CHEN, C. S.; CHEN, H. W. Co-gasification of woody and microalgae in a fluidized bed. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, Taoyuan City, v. 44, p. 1027-1033, 2013.

ZENG, J.; XIAO, R.; ZHANG, H.; CHEN, X.; ZENG, D.; MA, Z. Syngas production via biomass self-moisture chemical looping gasification. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v. 104, p. 1-7, 2017.

ZHANG, X.; HU, Q.; SOMMERFELD, M.; PURUHITO, E.; CHEN, Y. Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 5297-5304, 2010.

## APÊNDICE A – TABELA DE COEFICIENTES DO MODELO LINEAR

Figura A1 – Tabela de coeficientes em relação à média para biomassa do fotobiorreator de 20 L.

### Coeficientes Codificados

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P	VIF
Constante		0,27021	0,00884	30,57	0,000	
CO2	-0,05292	-0,02646	0,00884	-2,99	0,008	1,00
NO3	0,05392	0,02696	0,00884	3,05	0,007	1,00
PO4	-0,04858	-0,02429	0,00884	-2,75	0,014	1,00
Suplementação	-0,01792	-0,00896	0,00884	-1,01	0,325	1,00
Temperatura	-0,06042	-0,03021	0,00884	-3,42	0,003	1,00
Salinidade	0,00975	0,00487	0,00884	0,55	0,588	1,00

Fonte: Próprio autor.

Figura A2 – Tabela de coeficientes em relação à média para biomassa do fotobiorreator de 50 L.

### Coeficientes Codificados

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P	VIF
Constante		0,25571	0,00791	32,32	0,000	
CO2	-0,03625	-0,01813	0,00791	-2,29	0,035	1,00
NO3	0,00458	0,00229	0,00791	0,29	0,776	1,00
PO4	-0,03525	-0,01763	0,00791	-2,23	0,040	1,00
Suplementação	-0,00775	-0,00387	0,00791	-0,49	0,631	1,00
Temperatura	-0,07358	-0,03679	0,00791	-4,65	0,000	1,00
Salinidade	-0,00675	-0,00338	0,00791	-0,43	0,675	1,00

Fonte: Próprio autor.

Figura A3 – Tabela de coeficientes em relação à média para teor lipídico do fotobiorreator de 20 L.

### Coeficientes Codificados

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P	VIF
Constante		33,337	0,683	48,81	0,000	
CO2	6,039	3,020	0,683	4,42	0,000	1,00
NO3	-0,801	-0,400	0,683	-0,59	0,565	1,00
PO4	1,712	0,856	0,683	1,25	0,227	1,00
Suplementação	-12,331	-6,165	0,683	-9,03	0,000	1,00
Temperatura	-1,471	-0,735	0,683	-1,08	0,297	1,00
Salinidade	2,349	1,175	0,683	1,72	0,104	1,00

Fonte: Próprio autor.

Figura A4 – Tabela de coeficientes em relação à média para teor lipídico do fotobiorreator de 50 L.

### Coeficientes Codificados

Termo	Efeito	Coef	EP de Coef	Valor-T	Valor-P	VIF
Constante		31,311	0,782	40,03	0,000	
CO2	1,612	0,806	0,782	1,03	0,317	1,00
NO3	3,780	1,890	0,782	2,42	0,027	1,00
PO4	-0,407	-0,203	0,782	-0,26	0,798	1,00
Suplementação	-2,830	-1,415	0,782	-1,81	0,088	1,00
Temperatura	-0,793	-0,397	0,782	-0,51	0,619	1,00
Salinidade	-1,785	-0,892	0,782	-1,14	0,270	1,00

Fonte: Próprio autor.