



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Câmpus de São José do Rio Preto

ARTURO SOLIS MÉNDEZ

ESTUDO DAS VARIÁVEIS DE REATORES (RACEWAY E VERTICAL
AGITADO) PARA PRODUÇÃO DE *SPIRULINA PLATENSIS*

São José do Rio Preto

2019

ARTURO SOLIS MÉNDEZ

ESTUDO DAS VARIÁVEIS DE REATORES (RACEWAY E VERTICAL
AGITADO) PARA PRODUÇÃO DE *SPIRULINA PLATENSIS*

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de concentração – Engenharia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Orientador: Prof. Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi
Coorientador: Prof. Dr. Denis Cantú Lozano

São José do Rio Preto

2019

M538e	Méndez, Arturo Solis Estudo das variáveis de reatores (raceway e vertical agitado) para produção de <i>Spirulina platensis</i> / Arturo Solis Méndez. -- São José do Rio Preto, 2019 96 f. : il., tabs., fotos Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto Orientador: Vanildo Luiz Del Bianchi Coorientador: Denis Cantú Lozano 1. Raceway. 2. Vertical agitado. 3. <i>Spirulina platensis</i>. 4. Produção. 5. Variáveis. I. Título.
-------	---

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca do Instituto de Biociências Letras e Ciências Exatas, São José do Rio Preto. Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

ARTURO SOLIS MÉNDEZ

ESTUDO DAS VARIÁVEIS DE REATORES (RACEWAY E
VERTICAL AGITADO) PARA PRODUÇÃO DE *SPIRULINA*
PLATENSIS

Tese apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência de Alimentos, junto ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Área de concentração – Engenharia de Alimentos, do Instituto de Biociências, Letras e Ciências Exatas da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Câmpus de São José do Rio Preto.

Financiadora: CAPES

Comissão Examinadora

Prof Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi

UNESP – São José do Rio Preto

Orientador

Profa. Dra. Gisele Ferreira Bueno

UPSCIENCE LABS SOLUTIONS

Profa. Dra. Gleyce Teixeira Correia

UNILAGO – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Crispin Humberto Garcia Cruz

UNESP – São José do Rio Preto

Prof. Dr. Mauricio Bonatto Machado de Castilhos

UEMG – Frutal

Prof. Dr. Denis Cantú Lozano

ITO – Orizaba, México

Coorientador (convidado)

São José do Rio Preto, SP

26 de abril de 2019

Aos meus pais Ernesto Solis e Rebeca Méndez, a minha segunda mãe Delfina Méndez, aos meus irmãos Ernesto e Oscar, e à companheira da minha vida Mariana Molina, vocês são o motivo pelo qual consigo me superar dia a dia. Com amor dedico este trabalho a vocês.

A mis padres Ernesto Solis y Rebeca Méndez, a mi segunda madre Delfina Méndez, a mis hermanos Ernesto y Oscar, y a la compañera de mi vida Mariana Molina, ustedes son el motivo para superarme dia a dia. Con amor este trabajo es dedicado a ustedes.

AGRADECIMENTOS

A Deus, geralmente só quando precisamos ou estamos em apertos lembramos de Deus, dessa vez agradeço por me permitir chegar aqui e lograr mais um dos meus objetivos;

Aos meus pais, por ser meu exemplo na vida, ficar longe de vocês foi difícil, mas, mesmo na distancia, estiveram sempre comigo. Não existem palavras suficientes para expressar minha gratidão, Obrigado;

A minha segunda mãe e tia, muito obrigado pelo carinho, cuidado e amor, não tenho como agradecer tudo o que você fez por mim, te amo;

A minha companheira da vida, nossa trajetória longe de nosso país foi difícil, agradeço a ajuda nos momentos difíceis deste trabalho assim como a paciência, quero agradecer todos os momentos ao seu lado, tristezas, alegrias, brigas, risadas, aprendizados. Sem você não seria possível a conclusão do presente trabalho;

Aos meus irmãos, dou graças por tê-los como irmãos, obrigado pelo apoio, ajuda e confiança, vocês são meu exemplo de superação;

Ao meu Orientador e amigo o Professor Dr. Vanildo Luiz Del Bianchi, pela oportunidade brindada para formar parte do LaBio, pela amizade, confiança, ajuda, conselhos, ensinamentos e demais que levo comigo e estarão presentes sempre. Obrigado por tudo professor;

Ao Professor Dr. Denis Cantú Lozano, pela confiança, ajuda, ensinamentos, orientação, dedicação e sugestões ao longo deste trabalho;

Aos meus amigos Guilherme Schuina, Samara Murari, Raul Fujihara, Wellington Umeda, Tiago Polachini, Elisa Ribeiro, Raphael Machado, Mariana Oliveira, Larissa Rocha, Jessica Gomes, Gisele Ferreira, Ariane Chiareli, Débora Niz, pela parceria, ajuda e amizade ao longo desse caminho cheio de aprendizado, vocês foram peça fundamental no desenvolvimento desta pesquisa. Obrigado muchachos;

Aos meus amigos no México, Enrique Alvarado, Guillermo Cardenas, Alejandra Urias, Marlene Vergara, Francisco Rojas, Angel Juarez, pela amizade e apoio;

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001*, à qual agradeço,

A todos os membros da banca que aceitaram gentilmente participar deste momento, e por suas sugestões que foram muito bem-vindas;

A todos que participaram direta ou indiretamente desta conquista.

Meus sinceros agradecimentos.

RESUMO

O soro de queijo é um resíduo da indústria de laticínios altamente poluente, devido à elevada carga orgânica, medida pela DQO (Demanda Química de Oxigênio). É um resíduo que precisa ser tratado para uma posterior disposição no meio ambiente. A *Spirulina platensis* é capaz de diminuir a DQO do soro de queijo e produzir biomassa de alto valor agregado, além de outros subprodutos como clorofila, carotenoides e lipídios. A *Spirulina platensis* além da fonte de nutrientes, precisa de fatores físicos, como agitação, temperatura, luminosidade, tipo de reator (aberto ou fechado), para seu melhor crescimento. O objetivo deste trabalho foi analisar o crescimento da *Spirulina platensis* em diferentes reatores e condições de processo. Trabalhou-se com três tipos de reatores, frascos Erlenmeyer, “raceway” e verticais agitados, com diferentes tipos de iluminação (fluorescente, incandescente, LED tubular e LED fitas), intensidade de luz (alta e baixa), cores de luz (branca, azul, verde e vermelha), três velocidades de agitação (35, 78 e 114 rpm), assim como 2 tipos de agitadores (Rushton e hélice), stress de luz e diferentes áreas incididas (dimensões do reator). Determinou-se, o crescimento por meio da DO (densidade óptica) (560, 590 e 670 nm) e massa seca nos ensaios com solução padrão Schlösser. Nos ensaios com soro de queijo e com pré-tratamento, foi determinada a DQO ao longo do processo. Os resultados mostraram que os três comprimentos de onda representam o comportamento do crescimento da microalga, porém o resultado com maior absorção situa-se em 590 nm comprovado estatisticamente com o teste de ANOVA. Foi observado haver maior crescimento em solução padrão do que em soro de queijo em base na DO e quantidade de biomassa seca. Verificou-se que a cor de luz não influencia a remoção da DQO, no entanto, apresenta influência no crescimento da microalga. O reator “raceway” em batelada alimentada apresenta bons resultados de remoção da DQO, enquanto para produção de biomassa algal, recomenda-se um processo em batelada comum. Foi possível observar crescimento de biomassa algal no soro de queijo, representando uma boa alternativa para o tratamento e remoção da DQO com a microalga *Spirulina platensis*.

Palavras chave: Soro de queijo, *Spirulina platensis*, reator, cor de luz, agitação.

ABSTRACT

Whey is a highly polluting waste of dairy industry, due to its highest organic load, measured by COD (Chemical Oxygen Demand). It is a waste that needs to be treated for a correct disposal in the environment, according to Brazilian standards. Microalgae *Spirulina platensis* is able to reduce organic load from whey and produce high value-added biomass, and others by-products such as chlorophyll, carotenoids and lipids. The microalgae need a source of nutrients and physical factors, such as agitation, temperature, luminosity, type of reactor (open or closed), for their better growth. The objective of this work was analyzing microalgae growth conditions. It worked with three types of reactors, Erlenmeyer flasks, raceway and vertical agitated, with different types of lighting (fluorescent, tubular LED and LED strips), light intensity (high and low), color light (blue, green, red and white), three speeds (35, 78 and 114 rpm), two kinds of geometry agitators (Rushton and propeller), light stress and different illuminated areas (reactor dimensions) analyzing the growth process by optical density (OD) (560, 590 and 670 nm) and dry biomass in tests with Schlösser standard medium. In tests with whey and whey pretreated, it was analyzed OD, dry biomass and COD throughout the process. The results shown that the three wavelengths represent microalgae growth behavior, and the result with highest light absorption was 590 nm, statistically proved by ANOVA test. The growth in standard solution is better than the observed in whey, in terms of DO and quantity of dry biomass. It was possible to correlate OD and dry biomass. It was observed that high luminosity produced photo-inhibition in the microalgae growth. It has been observed that color light source had no influence on COD removal; however, influenced the microalgae growth. Raceway reactor on feed batch process showed best results in the COD removal, while for algae biomass production it is recommended a common batch process. Thus, it can be observed that whey treatment with *Spirulina platensis* represents a good alternative for COD reduction.

Keywords: Whey, *Spirulina platensis*, reactor, light color, agitation.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Morfologia da <i>Spirulina platensis</i> no microscópio (10x, 40x, 70x respectivamente)	21
Figura 2. Representação esquemática da produção de biomassa algal. Entradas e saídas potenciais.	24
Figura 3. Aspecto fundamental do ciclo de vida biológico da <i>Spirulina platensis</i>	25
Figura 4. Estrutura química da clorofila a.....	26
Figura 5. Lagoa e lagoa natural (lagoa Texcoco)	28
Figura 6. Exemplos de lagoa “raceway”	29
Figura 7. Reatores fechados em nível de laboratório.....	30
Figura 8. Valores de incidência de luz: iluminação lateral.	37
Figura 9. Valores de incidência de luz: iluminação central.	38
Figura 10. Valores de incidência de luz LED tubular ^a e esquema do reator em operação ^b	39
Figura 11. Reator vertical agitado iluminado com fita LED.....	40
Figura 12. Geometrias das hélices usadas: agitador tipo ^a hélice (agitação axial), agitador tipo ^b Rushton (agitação radial), no reator vertical e ^c Roda de pás no reator “raceway”	41
Figura 13. Absorvância da <i>Spirulina platensis</i> em diferentes comprimentos de onda.	46
Figura 14. Densidades ópticas em 590 e 670 nm ajustadas em um polinômio.....	47
Figura 15. Densidade óptica versus massa seca 590(a) e 670(b) nm	48
Figura 16. Comparação do crescimento do meio Schlösser e soro de queijo nos comprimentos de onda de ^a 560, ^b 590 e ^c 670 nm	49
Figura 17. Comparação do crescimento, em massa seca, em solução Schlösser e em soro de queijo	50
Figura 18. Redução da DQO do soro de queijo: iluminação lateral	51
Figura 19. Comparação das densidades ópticas de 560, 590 e 670 nm, com a configuração na direita	52

Figura 20. Comportamento da massa seca durante o tempo de tratamento do soro de queijo, com iluminação lateral.....	54
Figura 21. Redução da DQO com três picos de alimentação, iluminação central.....	55
Figura 22. Aumento da massa seca e DO no reator “raceway”, iluminação central.....	56
Figura 23. Aumento na quantidade de carotenoides pelos níveis de irradiação.	57
Figura 24. Redução da DQO no “raceway” LED.....	58
Figura 25. Massa seca no “raceway” com luz LED	59
Figura 26. Consumo de DQO e DO no “raceway” LED (três alimentações)	60
Figura 27. Aumento da massa seca no “raceway” com luz LED tubular	61
Figura 28. Redução da DQO do soro de queijo no crescimento da <i>Spirulina platensis</i> nos reatores agitados verticais em diferentes cores de luz (R1 branco, R2 azul, R3 verde e R4 vermelho)	62
Figura 29. Comparação do aumento da biomassa seca de <i>Spirulina platensis</i> nos reatores com quatro sistemas diferentes de cores de luz (^a R1-Branca, ^b R2-Azul, ^c R3-Verde e ^d R4-Vermelho).....	64
Figura 30. Crescimento de biomassa seca de <i>Spirulina platensis</i> no R1 (luz branca) com meio soro de queijo com pré-tratamento.....	66
Figura 31. Crescimento de biomassa seca de <i>Spirulina platensis</i> no R2 (luz azul) com meio soro de queijo com pre-tratamento.....	67
Figura 32. Crescimento de biomassa seca de <i>Spirulina platensis</i> no R3 (luz verde) com meio soro de queijo com pre-tratamento	68
Figura 33. Crescimento de biomassa seca de <i>Spirulina platensis</i> no R4 (luz vermelha) com meio soro de queijo com pre-tratamento.....	69
Figura 34. Comparação do crescimento de <i>Spirulina platensis</i> com diferentes cores de luz (R1 branca, R2 azul, R3 verde e R4 vermelho).....	71
Figura 35. Biomassa de <i>Spirulina platensis</i> obtida nos reatores com intensidades alta e baixa para solução Schlösser.	73

Figura 36. Biomassa de <i>Spirulina platensis</i> obtida nos reatores com intensidades alta e baixa para solução soro de queijo.....	74
Figura 37. DQO removida nas intensidades alta R3 e baixa R4.....	75
Figura 38. Comparação do crescimento de <i>Spirulina platensis</i> em diferentes velocidades de agitação.....	76
Figura 39. Comparação da biomassa de <i>Spirulina platensis</i> obtida com agitador tipo Rushton e hélice.....	77
Figura 40. Comparação do crescimento de <i>Spirulina platensis</i> com stress luminoso.....	78
Figura 41. Biomassa seca de <i>Spirulina platensis</i> produzida nos reatores com diferentes áreas superficiais.....	80
Figura 42. Biomassa seca de <i>Spirulina platensis</i> por área iluminada nos reatores com diferentes áreas superficiais.....	81
Figura 43. Biomassa de <i>Spirulina platensis</i> filtrada e Clorofila a extraída em acetona 90 %.....	84
Figura 44. Clorofila a durante o crescimento da <i>Spirulina platensis</i> com velocidade de agitação variável.....	85
Figura 45. Feofitina a durante o crescimento da <i>Spirulina platensis</i> com velocidade de agitação variável.....	86

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Conteúdo de ácidos graxos da <i>Spirulina platensis</i>	22
Tabela 2. Pigmentos de <i>Spirulina platensis</i>	23
Tabela 3. Principal produto obtido da produção de biomassa algal e algumas das áreas de aplicação.	33
Tabela 4. Meio padrão para cultivo de <i>Spirulina platensis</i> : Composição, por litro (de água destilada)	36
Tabela 5. Área iluminada e intensidade de luz fornecida nos reatores verticais.	42
Tabela 6. Análise de variância dos três comprimentos de onda durante o tempo de crescimento de biomassa.....	53
Tabela 7. Valores da redução da velocidade de consumo do substrato de <i>Spirulina platensis</i> em diferentes períodos de tempo.	63
Tabela 8. Dados analisados de eficiência de remoção de DQO pelo teste ANOVA.....	63
Tabela 9. Análise de variância e teste de Tukey dos sistemas iluminados com diferente cor de luz.....	65
Tabela 10. Dados do cultivo em soro de queijo com pré-tratamento, analisados pelo teste de ANOVA.	70
Tabela 11. Dados analisados da comparativa do crescimento com diferentes cores de luz com o teste de ANOVA	72
Tabela 12. Comparação da biomassa de <i>Spirulina platensis</i> obtida em cada reator e características de operação.....	82
Tabela 13. Valores máximos obtidos de biomassa seca nos diferentes reatores e nas diferentes condições usadas.	83
Tabela 14. Produção de Clorofila a, velocidade de produção e clorofila específica obtidos da biomassa de <i>Spirulina platensis</i> em diferentes velocidades de agitação.	85

Tabela 15. Produção de Feofitina a, velocidade de produção e feofitina especifica obtidos da biomassa de <i>Spirulina platensis</i> em diferentes velocidades de agitação.....	87
--	----

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

cm	Centímetro
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DO	Densidade óptica
DQO	Demanda Química de Oxigênio
g.L⁻¹	Gramas por litro
g.L⁻¹h⁻¹	Velocidade de produção
h	Horas
I	Intensidade da luz transmitida através da suspensão de células.
kg	kilograma
L	Litro
LED	Light emitting diode
LMT	Limite Máximo Permissível
Lx	Lux (Unidade para a intensidade de luz)
mL	Mililitro
nm	Nanômetro
P	Produtividade (mgL ⁻¹ h ⁻¹)
p/v	Concentração peso-volume
pH	Potencial Hidrogeniônico
rpm	Rotações por Minuto
W	Watt
µm	Micrómetro
cm²	Centímetros quadrados (Área)

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA	16
2. OBJETIVOS	18
2.1 OBJETIVO GERAL	18
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	18
3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
3.1 SORO DE QUEIJO	19
3.2 MICROALGAS	20
3.3 MICROALGA <i>SPIRULINA (ARTHROSPHIRA) PLATENSIS</i>	20
3.4 PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOMASSA	24
3.4.1 FLOCULAÇÃO	25
3.4.2 CLOROFILA A	25
3.5 FOTOBIOREADORES	26
3.5.1 SISTEMAS ABERTOS	26
3.5.1.1 TIPOS DE READORES ABERTOS	27
3.5.2 SISTEMAS FECHADOS	29
3.6 MEIOS PARA O CRESCIMENTO DA <i>SPIRULINA PLATENSIS</i>	31
3.6.1 STRESS EM MICRO-ORGANISMOS	32
3.7 USO DAS MICROALGAS	33
3.8 TRATAMENTO DE RESÍDUOS ALTERNATIVOS NO CRESCIMENTO DA MICROALGA	34
4. MATERIAIS E MÉTODOS	36
4.1 MATERIAIS	36
4.2 INOCULAÇÃO E OPERAÇÃO DOS READORES	37
4.2.1 FRASCOS ERLLENMEYER	37
4.2.2 REATOR “RACEWAY”	37
4.2.3 READORES VERTICAIS AGITADOS	39
4.3 DETERMINAÇÃO DE CLOROFILA A E FEOFITINA A	43
4.3.1 FILTRAÇÃO DA AMOSTRA	43
4.3.2 EXTRAÇÃO	43
4.3.3 CÁLCULO PARA A CORREÇÃO DA TURBIDEZ	44

4.4 ANÁLISE DE DEMANDA QUÍMICA DE OXIGÊNIO (DQO)	45
4.5 ANÁLISES DE DADOS	45
5. RESULTADOS E DISCUSSÃO	46
5.1 CRESCIMENTO DA MICROALGA <i>SPIRULINA PLATENSIS</i> (FRASCOS ERLERMAYER)	46
5.1.1 COMPARAÇÃO ENTRE O CRESCIMENTO DE <i>SPIRULINA</i> EM MEIO PADRÃO E EM SORO DE QUEIJO	48
5.2 CULTIVO DA MICROALGA EM REATOR TIPO “RACEWAY”	50
5.2.1 RACEWAY COM ILUMINAÇÃO LATERAL	50
5.2.2 “RACEWAY” ILUMINAÇÃO CENTRAL	54
2.2.3 “RACEWAY” LUZ LED	56
2.2.3.2 ENSAIO 2; COM CONTROLE DE PH	59
5.3 REATORES CILÍNDRICOS VERTICAIS	61
5.3.1 CULTIVO EM SORO DE QUEIJO	61
5.3.2 CULTIVO DE <i>SPIRULINA PLATENSIS</i> EM SORO DE QUEIJO COM PRÉ-TRATAMENTO	66
5.3.3 CULTIVO EM SOLUÇÃO PADRÃO SCHLÖSSER	70
5.3.3.2 VARIAÇÃO DA INTENSIDADE DE LUZ	73
5.3.3.3 VARIAÇÃO DA VELOCIDADE DE AGITAÇÃO	75
5.3.3.4 VARIAÇÃO DO TIPO DE GEOMETRIA (AGITADOR)	77
5.3.7 ANÁLISES DO STRESS LUMINOSO	78
5.3.8 CULTIVO DE <i>SPIRULINA PLATENSIS</i> EM SOLUÇÃO PADRÃO SCHLÖSSER: VARIÁVEL ÁREA SUPERFICIAL COM INCIDÊNCIA DE LUZ	79
5.3.9 ANÁLISE GERAL	82
5.4 CLOROFILA A E FEOFITINA A	84
6. CONCLUSÕES	88
7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	90
REFERÊNCIAS	91

1. INTRODUÇÃO E JUSTIFICATIVA

Muitos efluentes podem conter grandes quantidades de material orgânico, o que pode representar um grave problema para o meio ambiente. Neste sentido podemos mencionar o soro de queijo, um líquido amarelo obtido da produção de queijo, altamente poluente devido a sua elevada DQO - Demanda Química de Oxigênio (70 g.L^{-1}) e DBO - Demanda Biológica de Oxigênio (50 g.L^{-1}). Na produção de cada kg de queijo são produzidos aproximadamente 9 L de soro de queijo. Devido à quantidade de nutrientes presentes, é capaz de ser metabolizado por determinados micro-organismos, por exemplo as microalgas, que podem utilizá-lo como fonte de carbono e energia, reduzindo assim a carga poluente deste resíduo.

As microalgas podem ser consideradas matéria-prima para produção de biolipídios, pois os materiais para a produção de biodiesel, que se obtém tradicionalmente a partir de plantas oleaginosas, como milho e soja, apresentam alto custo, pelo deslocamento dos alimentos destinados ao consumo humano. Em comparação com outros produtos de petróleo e matérias-primas, as microalgas podem apresentar uma alta produtividade biolipídica.

A microalga *Spirulina platensis*, uma cianobactéria filamentosa foto-autotrófica com alto valor nutricional, contém 18 dos 20 aminoácidos conhecidos, alta qualidade proteica, cálcio, vitaminas e minerais essenciais, como o ferro, e 4-7 % de lipídios é uma das maiores fontes de clorofila na natureza. Por tais características, tem sido utilizada como aditivo em alimentos e produtos farmacêuticos, e além disso não requer tratamentos especiais para a sua produção.

A possibilidade do uso da microalga *Spirulina platensis* no tratamento de efluentes, sendo possível a remoção da DQO e fósforo, além da produção de biomassa com alto conteúdo de lipídios, proteína e clorofila, pode ser considerada como uma alternativa para a diminuição do impacto ambiental gerado pela descarga de efluentes contendo grande quantidade de matéria orgânica em corpos receptores.

Geralmente o tratamento de efluentes convencional é feito no processo de digestão aeróbia ou anaeróbia com lodo ativado, que é uma massa microbiana em forma de flocos adaptada para realizar tal processo. Para efetuar o tratamento de efluentes de modo eficiente, é necessário escolher um reator com as melhores especificações para o crescimento do micro-organismo.

A produção da microalga *Spirulina platensis* depende do fornecimento de luz (intensidade, periodicidade, cor), da fonte de luz (solar, incandescente, fluorescente, LED), da agitação (velocidade, geometria do agitador, presença de chicanas), da disponibilidade de nutrientes, do pH, da densidade celular inicial e da temperatura, além da escolha entre reatores abertos (sistemas com alta probabilidade de contaminação) e fechados (que limita a quantidade de oxigênio transferido ao sistema pela atmosfera).

O principal interesse desse estudo é determinar as melhores condições para o crescimento da microalga, influência da iluminação (cor, stress ao fotoperíodo), agitação velocidade e geometria das hélices utilizadas em diferentes tipos de reatores no crescimento em meio padrão e soro de queijo, afim de reduzir o impacto ambiental do soro de queijo descartado pelas indústrias de laticínios, além de obter subprodutos, tais como lipídios, pigmentos e biomassa.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar os efeitos da luminosidade, intensidade e agitação sobre o crescimento da microalga *Spirulina platensis* em meio Schlösser e soro de queijo.

2.2 Objetivos Específicos

- Analisar o melhor meio e comprimento de onda para produção da microalga *Spirulina platensis*;
- Analisar o cultivo da microalga em reator “raceway” utilizando diferentes configurações de incidência de luz, incandescente (direita, centro, LED);
- Analisar o cultivo da microalga em batelada e batelada alimentada com iluminação LED;
- Estudar o efeito do estresse devido à iluminação sobre a *Spirulina platensis* em reator vertical;
- Verificar o efeito da intensidade de luz sobre a *Spirulina platensis* em reator vertical;
- Verificar o efeito da agitação (velocidade e geometria do agitador) sobre o crescimento da microalga, em reator vertical.

3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 Soro de queijo

O soro de queijo é um resíduo líquido amarelo-esverdeado altamente poluidor, obtido da produção do queijo e da manufatura da caseína (CARVALHO et al., 2013).

Em proporção direta, para cada Kg de leite utilizado na produção de queijo, são gerados cerca de 90 % de soro de queijo. No soro, encontram-se proteínas e gorduras, as quais podem ser utilizadas como fonte de enriquecimento de outros produtos, ou com a finalidade de aumentar o rendimento do próprio processo de produção de queijo. Contém lactose (que representa 40 % da carga orgânica do soro de queijo) e alguns minerais, resultando em uma média de 6 a 6,5 % de sólidos, sendo que a lactose é o componente presente em maior proporção (PADÍN; DÍAS, 2009).

O soro de queijo resulta da separação da caseína na fabricação do queijo e, por conter quantidades substanciais de nutrientes, é considerado um poluente orgânico. O soro representa um sério poluente já que possui uma Demanda Química de Oxigênio (DQO) de 70 g.L⁻¹ (MALASPINA et al., 1995) e uma Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) de 30 a 50 g.L⁻¹. Portanto, a incorreta disposição deste resíduo resulta em sérios problemas ambientais e de poluição das águas (PONSANO; PINTO; GOMEZ, 1992).

O alto conteúdo de água presente na sua composição inviabiliza economicamente sua desidratação, e o fato de ser perecível agrava o problema, impossibilitando seu armazenamento prolongado, direcionando para seu aproveitamento na produção de biogás, etanol e proteínas concentradas (CORDI et al., 2007).

O soro de queijo é pouco aproveitado no setor tecnológico alimentício, representando um grande desperdício nutricional e financeiro, sendo grandes

volumes enviados para nutrição de suínos, ou direcionados a sistemas de tratamento de efluentes com baixa eficiência ou altos custos (ALMEIDA; BONASSI; ROÇA, 2001).

3.2 Microalgas

Uma alga é definida classicamente como um organismo fotossintético produtor de oxigênio. É um importante grupo de organismos vivos a partir de um paradoxo ecológico, no qual os maiores ecossistemas (os oceanos) são dominados pelo menor organismo. As microalgas encontram-se presentes em oceanos e mares, cuja área cobre 71 % da superfície da Terra, assim como também em lagos, lagoas e rios de água doce, bem como no solo, rochas, gelo, neve, plantas e animais. No total, 40 % da fotossíntese global é efetuada por algas (ANDERSEN, 1992).

Se considera como uma alga qualquer organismo contendo “clorofila a” e um talo não diferenciado em raízes, caule e folhas. As cianobactérias estão incluídas nesta definição, apesar de serem organismos procarióticos. Portanto, o termo microalga refere-se às algas microscópicas *sensu stricto*, e às bactérias fotossintéticas oxigenadas, ou seja, as cianobactérias, anteriormente conhecidas como *Cyanophyceae* (RICHMOND, 2003).

3.3 Microalga *Spirulina (Arthrospira) platensis*

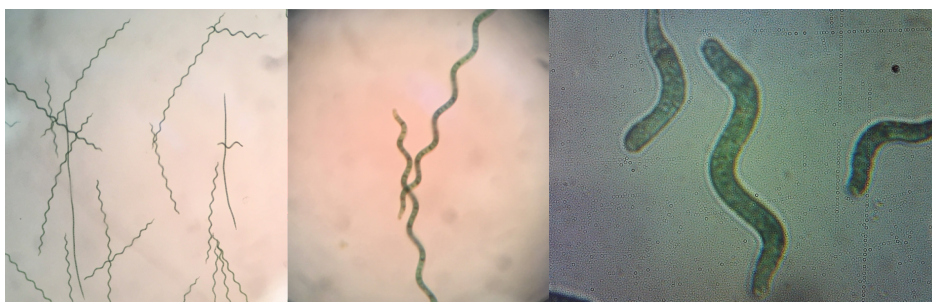
As microalgas combinam propriedades típicas de plantas (fotossíntese e simplicidade de requerimentos nutricionais) com atributos biotecnológicos de células microbianas (rápido crescimento em meio líquido e habilidade para acumular ou secretar metabólitos). Esta combinação favorece o uso destes microrganismos para aplicação em processos biotecnológicos (DEL CAMPO et al., 2007), além de um grande potencial econômico e industrial. São consideradas como grande fonte de proteínas, pigmentos, vitaminas e lipídios, sendo esses últimos estudados com a finalidade de produção de biocombustíveis (AVILA-LEON et al., 2012).

Historicamente, a população que habitava próximo à lagoa de Chad na África e do lago Texcoco dos Aztecas no México colhia *Spirulina* (*Arthrospira*) *platensis* da água dessas lagoas e a usava como alimento após a secagem. Este micro-organismo crescia naturalmente nessas lagoas devido a um pH elevado, alta concentração de sais e alto conteúdo de carbonato (COSTA; COLLA; DUARTE FILHO, 2004).

As espécies de *Spirulina* são cianobactérias (família das *Oscillatoriaceae*) com estrutura em forma de hélices, por meio de filamentos multicelulares, com aproximadamente 50-300 µm de diâmetro. Estas espécies podem ser encontradas em diferentes ambientes, como lagos salinos, solo, pântanos, água salobra, água do mar, fontes termais e água fresca (COSTA et al., 2002).

Spirulina platensis é uma cianobactéria filamentosa reconhecida pela característica morfológica do gênero: o arranjo do tricoma cilíndrico multicelular em uma hélice aberta à esquerda ao longo de todo o comprimento (Figura 1) (VONSHAK, 2002).

Figura 1. Morfologia da *Spirulina platensis* no microscópio (10x, 40x, 70x respectivamente)



(Fonte: do próprio autor)

Estas microalgas consideradas verde-azul são micro-organismos foto-autotróficos amplamente distribuídos na natureza, que tem sido utilizados como fonte de alimentação humana (suplemento proteico) por séculos (VONSHAK, 2002).

A *Spirulina platensis* é conhecida como o melhor gênero pelos valores nutricionais, contendo 18 dos 20 aminoácidos conhecidos, alta qualidade proteica, maior quantidade de cálcio que o leite, maior quantidade de vitamina B12 que o fígado bovino, vitaminas A, B2, B6, E, H e K e todos os minerais essenciais, oligoelementos e enzimas, além de ser um dos recursos mais ricos em ferro (DE CAIRE et al., 2000). Ela contém de 4 a 7 % de lipídios, sendo que, entre os ácidos graxos essenciais, temos os ácidos linoleico e γ -linolênico (Tabela 1).

Tabela 1. Conteúdo de ácidos graxos da *Spirulina platensis*.

Ácido graxo	Ácidos graxos (%)
(C ₁₄) ácido mirístico	0,23
(C ₁₆) ácido palmítico	46,07
(C _{16:1}) Δ^9 ácido palmitoleico	1,26
(C _{18:1}) Δ^9 ácido oleico	5,26
(C _{18:2}) $\Delta^{9,12}$ ácido linoleico	17,43
(C _{18:3}) $\Delta^{9,12,15}$ ácido linolênico	8,87
outros	20,88

(Fonte: SÁNCHEZ et al., 2003)

Spirulina platensis é um micro-organismo fotossintético que para seu cultivo depende amplamente da intensidade de luz, disponibilidade de nutrientes, além de elevado pH, densidade celular, temperatura (FERREIRA et al., 2012), salinidade e a presença de íons bicarbonato (VIEIRA COSTA et al., 2002). O crescimento celular de *Spirulina platensis* pode ser limitado por uma alta intensidade de luz (foto-inibição) ou uma baixa intensidade de luz (foto-limitação) (BEZERRA et al., 2008).

O uso da *Spirulina platensis* expandiu-se desde a sua aplicação original como suplementos alimentares humanos e ração animal até a produção de produtos químicos finos para diagnóstico clínico, pesquisa biológica e aplicações cosméticas. (RICHMOND, 2003). Na atualidade tem-se estudos de biossíntese de osmoprotetores a base de microalgas (KAGEYAMA et al., 2017), biossíntese de fotoprotetores solares produzidos a base de cianobactérias, micro e macroalgas (UDAYAN; ARUMUGAM; PANDEY, 2017), nutracêutico e comida funcional a

base de algas, pois são fonte de ômega-3 (SONANI; RASTOGI; MADAMWAR, 2017), uso de biomassa de microalgas para a criação de bioplásticos (RAHMAN; MILLER, 2017), microalgas como base na produção de carotenoides (β -caroteno e astaxantina) (RAJESH; ROHIT; VENKATA MOHAN, 2017).

O uso dos pigmentos de *Spirulina platensis* como corante tem sido estudado pelas indústrias de cosméticos, farmacêutica e alimentar, sendo que a microalga representa uma das maiores fontes de clorofila da natureza (1,15 % da biomassa) (CHAKDAR; PABBI, 2017).

Além da clorofila, a *Spirulina platensis* produz também carotenóides e ficocianinas. A Tabela 2 mostra os pigmentos que contém a *Spirulina platensis* (SÁNCHEZ et al., 2003).

Carotenoides são foto-pigmentos de lipídeos solúveis divididos em dois grupos: Carotenos e os derivados oxidativos, as xantofilas (DEL CAMPO; GARCÍA-GONZÁLEZ; GUERRERO, 2007). Eles absorvem energia de luz em uma faixa de comprimento de onda de 400-500 nm. Os carotenoides desempenham várias funções: em condições de alta luminosidade, eles protegem a clorofila da foto-oxidação e em condições de baixa luminosidade servem como pigmentos acessórios, isto é, colhem energia luminosa e transfere-a para moléculas de clorofila (KOLLER; MUHR; BRAUNEGG, 2014). A qualidade e a quantidade da luz são duas variáveis possíveis cuja manipulação pode aumentar a produção de carotenoides totais (OLAIZOLA; DUERR, 1990).

Tabela 2. Pigmentos de *Spirulina platensis*.

Pigmentos	mg 100g ⁻¹
Carotenoides	370
Clorofila a	1000
Ficocianina	14000

(Fonte: SÁNCHEZ et al., 2003)

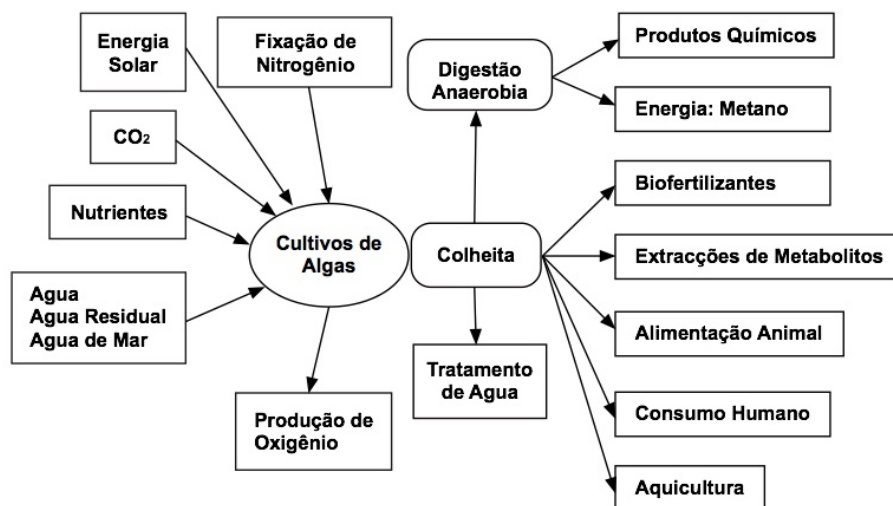
3.4 Processo de produção de biomassa

Os principais componentes do processo de produção de biomassa obtidos a partir da microalga *Spirulina platensis* estão apresentados na Figura 2, ilustrando as principais entradas e usos potenciais da biomassa produzida.

O processo pode ser dividido em duas etapas:

- 1) Acréscimo da biomassa algal, que envolve o conhecimento biológico e parâmetros operacionais.
- 2) Aspectos de engenharia lidando com o desenho do reator, obtenção e processamento da biomassa produzida (VONSHAK, 2002).

Figura 2. Representação esquemática da produção de biomassa algal. Entradas e saídas potenciais.

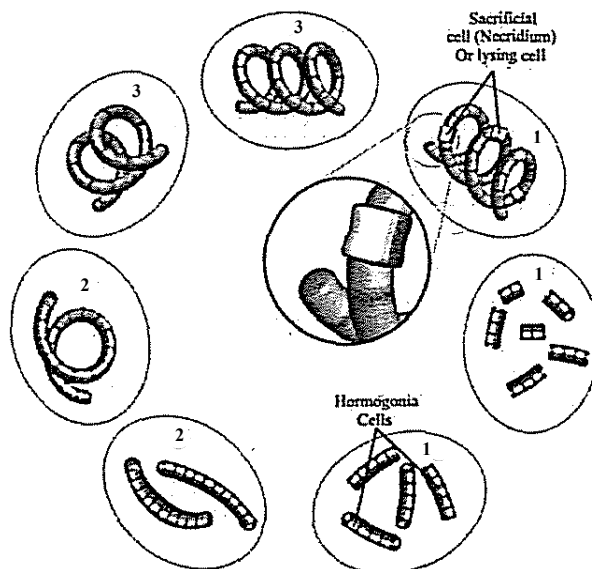


(Fonte: VONSHAK, 2002)

O aumento da concentração celular durante o cultivo incrementa a biomassa sem incidência direta da luz, observando o decréscimo da taxa de crescimento (VONSHAK, 2002). A Figura 3 apresenta o ciclo de vida biológico da *Spirulina platensis*, o qual é um aspecto fundamental devido às implicações taxonômicas, fisiológicas e de cultivo. O período é resumido em três etapas fundamentais:

¹fragmentação dos tricomas, ²processos de aumento e maturação das células hormonais e ³alongamento do tricoma.

Figura 3. Aspecto fundamental do ciclo de vida biológico da *Spirulina platensis*.



(Fonte: SÁNCHEZ et al., 2003)

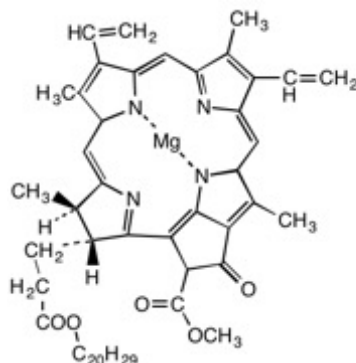
3.4.1 Flocculação

Após o cultivo, é necessária a recuperação da microalga. Comumente, são usados sais como cloreto de ferro (III) (FeCl_3), sulfato de alumínio ($\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$) e sulfato de ferro III ($\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$). Sais de metais multivalentes como o sulfato de alumínio tem sido amplamente utilizados para flocular biomassa algal no processo de tratamento de efluentes, porém a flocculação por sais de metais é inaceitável se a finalidade da biomassa é para uso em aquicultura (MOLINA GRIMA et al., 2003).

3.4.2 Clorofila a

A clorofila a (Figura 4) é o pigmento verde das plantas e é muito importante no processo de fotossíntese.

Figura 4. Estrutura química da clorofila a



(Fonte editada: ALLINGER et al., 1978)

É um complexo de magnésio de uma dihidroporfirina, contém uma cadeia de ácido propiônico modificado em forma de β -cetoéster cíclico. Contém também uma cadeia de ácido propiônico esterificada com um álcool diterpênico, o fitol, característica que confere lipossolubilidade à molécula (ALLINGER et al., 1978).

O uso dos pigmentos provenientes da *Spirulina platensis* como corantes tem sido explorados pela indústria farmacêutica, cosmética e de alimentos. Esta microalga apresenta um dos maiores conteúdos de clorofila encontrados na natureza, correspondente a 1,15 % da biomassa (DANESI et al., 2004).

3.5 Fotobioreatores

3.5.1 Sistemas abertos

Na produção de biomassa de microalgas, os sistemas podem ser classificados em três tipos: sistemas autotróficos, que utilizam a luz do sol como principal fonte de energia e CO_2 como fonte de carbono para o crescimento das microalgas; sistemas heterotróficos, que usam compostos orgânicos (e.g., glicose, acetato) como principal fonte de energia e carbono para o desenvolvimento da cultura; e, por último, sistemas mixotróficos que apresentam duas fases, uma autotrófica e outra heterotrófica (BOROWITZKA, 1999).

Os fotobiorreatores são reatores nos quais organismos fototróficos (células microbianas, algas ou plantas) crescem ou são usados para efetuar uma reação fotobiológica (RICHMOND, 2003). Esse termo é aplicado para lagos e canais abertos na produção de algas (MOLINA GRIMA et al., 1999).

Sistemas abertos, localizados quase sempre ao ar livre e que dependem da luz solar para a iluminação, são sistemas que não permitem uma cultura monosséptica, pois ficam inseridos em um ambiente potencialmente contaminante (MOLINA GRIMA et al., 1999).

Tem sido desenvolvidos cultivos de microalgas em lagoas abertas e reatores “raceway”, mas poucas espécies podem ser mantidas em sistemas abertos tradicionais com controle de contaminação, usando ambientes seletivos altamente alcalinos ou salinos (MOLINA et al., 2001).

O cultivo comercial da *Spirulina platensis* ocorre em reatores abertos ao ar livre “raceway”. O reator “raceway” é um canal oval raso longo revestido de material plástico ou concreto e a área de superfície varia entre 1000 - 5000 m². Utilizam, para manter as células em suspensão, um agitador circular com pás comumente chamado de roda de pás. Os parâmetros que afetam o crescimento e a produção da microalga são: profundidade, velocidade de agitação e densidade algal (RICHMOND, 2003).

A maioria das microalgas não pode ser mantida em sistemas abertos ao ar livre devido ao risco de contaminação por fungos, bactérias e protozoários, além da competição com outras microalgas que tendem a dominar independentemente das espécies originais usadas como inóculo (RICHMOND, 2003).

3.5.1.1 Tipos de reatores abertos

- **Lagoas abertas:** são mais fáceis e de menor custo de construção e operação. Variam em tamanho, forma, material usado para construção, tipo de agitação e

inclinação. Muitas vezes, o projeto de construção é essencialmente ditado pelas condições locais e pelos materiais disponíveis. Apesar dos muitos tipos diferentes de lagoas propostas, apenas três projetos foram desenvolvidos e operados em uma escala relativamente grande: (1) sistemas inclinados em que a mistura é alcançada através de bombeamento e fluxo de gravidade; (2) lagoas circulares com agitação proporcionada por um braço rotativo; (3) tanques “Raceway” construídos como um laço sem fim, no qual a cultura é circulada por rodas de pás. Somente os dois últimos, junto com as lagoas naturais, são usados para a produção comercial de microalgas (RICHMOND, 2003). Estes sistemas são os mais adequados para micro-organismos fotossintéticos destinados para a produção de biodiesel devido ao seu baixo custo de construção. Os sistemas mais utilizados são os tanques aerados com alta taxa de CO₂ (DA RÓS, 2012).

- **Lagos e Lagoas naturais:** quando as microalgas encontram condições climáticas adequadas e os suficientes nutrientes, crescem em maior quantidade se as características químicas da água são seletivas, por exemplo devido ao alto pH ou alta salinidade o crescimento é mono-específico. Alguns exemplos de lagoas naturais são o “caracol” no México e as lagoas rasas (RICHMOND, 2003). Na Figura 5, são mostrados exemplos de lagoas artificiais e a lagoa Texcoco no México.

Figura 5. Lagoa e lagoa natural (lagoa Texcoco)



(Fonte: <https://www.quora.com/Can-bacteria-be-cultivated-as-a-source-of-food>,
<https://www.google.com/maps>)

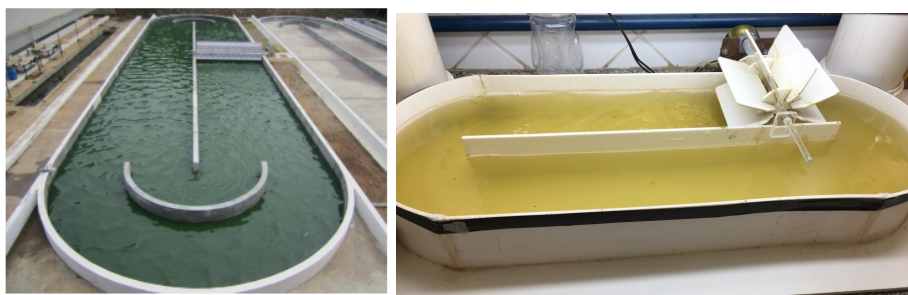
- **Sistemas inclinados:** Nos sistemas inclinados, existe turbulência criada pela gravidade, a suspensão de micro-organismos flui no sentido do topo para o fundo de uma superfície inclinada. Estes sistemas são limitados por vários problemas tais

como: sedimentação das células em pontos com baixa agitação, perdas consideráveis por evaporação, altas taxas de emissão de CO₂ e considerável necessidade de energia para recircular o cultivo (RICHMOND, 2003).

- **Lagoas circulares:** estes tipos de lagoas não são atrativas, pois exigem a construção de estruturas de concreto de alto custo e alto consumo de energia para a mistura, complexidade mecânica para injeção de CO₂ e uso ineficiente da terra (KLEIN, 2013). São amplamente utilizadas no Japão, Taiwan e Indonésia para a produção de biomassa de *Chlorella* (RICHMOND, 2003).

- **Lagoas “Raceway”:** São usadas na maioria das plantas comerciais para produção de biomassa de *Spirulina platensis*. Para um uso eficiente da luz, a profundidade do “raceway” deve estar dentro de certos limites, tipicamente de 12 a 15 cm, resultando em culturas de algas muito diluídas (KETHEESAN; NIRMALAKHANDAN, 2011). Na Figura 6, são mostradas uma lagoa “raceway” e a utilizada no laboratório.

Figura 6. Exemplos de lagoa “raceway”



(Fonte: <https://www.indiamart.com/proddetail/open-pond-photo-bioreactor-10531541688.html>, do próprio autor)

Existem desvantagens no uso de sistemas abertos tais como: perdas evaporativas excessivas, particularmente em climas quentes e secos, e falta de controle de temperatura (RICHMOND, 2003).

3.5.2 Sistemas fechados

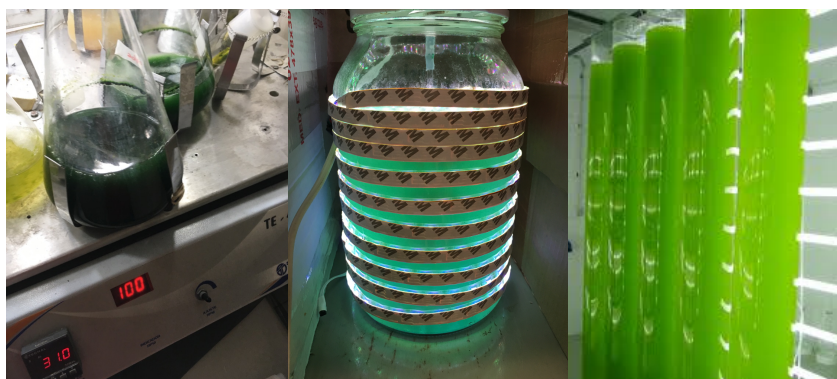
Os fotobioreatores totalmente fechados tem maior oportunidade de manter um cultivo monosséptico (dentre uma ampla variedade de algas) que nos reatores

abertos (MOLINA et al., 2001), podem ser localizados no interior ou exterior de edificações, sendo que sua localização na parte externa é mais comum, devido ao aproveitamento da luz do sol (MOLINA GRIMA et al., 2003).

Os reatores de sistema fechado podem ser definidos como os sistemas de cultivos fototróficos em que se fornece uma grande quantidade de luz, a qual não incide diretamente sobre a superfície do cultivo, mas atravessa as paredes transparentes para chegar na biomassa celular (RICHMOND, 2003).

Os fotobiorreatores em sistema fechado podem ser classificados com base no desenho e no modo de operação. Em termos de desenho, as principais categorias de reatores são: (1) plano ou tubular; (2) horizontal, inclinado, vertical ou espiral; e (3) coletor ou serpentina. Em termos operacionais inclui (4) reatores com ar ou bomba de mistura e (5) monofásicos (preenchidos com meio, com troca de gás ocorrendo em um trocador de gás separado) ou reatores bifásicos (nos quais tanto gás quanto líquido estão presentes e a transferência contínua de massa de gás ocorre no próprio reator). Os materiais de construção fornecem variações e subcategorias adicionais; (6) vidro ou plástico e (7) reatores rígidos ou flexíveis (RICHMOND, 2003). A Figura 7 mostra exemplos de reatores fechados em nível de laboratório.

Figura 7. Reatores fechados em nível de laboratório.



(Fonte: do próprio autor,

http://www.ipacuicultura.com/noticias/ultima_hora/69060/premios_para_proyectos_del_vii_programa_marco_y_horizonte_2020_cuyos_resultados_tengan_impacto_social.html)

A disponibilidade e intensidade de luz são os fatores que controlam a produtividade dos cultivos fotossintéticos (MOLINA GRIMA et al., 1999). A produção de biomassa não depende só da incidência de luz sobre a superfície do cultivo, mas sim da quantidade de energia disponível no nível da célula: regime de luz (quantidade de luz à qual as microalgas são expostas) e luz por célula (CHAUMONT, 1993).

Por razões econômicas, os sistemas de cultivo predominantes na produção em ampla escala comercial desses tipos de micro-organismos são os sistemas abertos, pois os sistemas fechados são mais caros e geralmente dificultam a ampliação de escala (COSTA; COLLA; FILHO, 2003).

3.6 Meios para o crescimento da *Spirulina platensis*

Existem muitos meios para o cultivo de microalgas em condições de laboratório. Muitas delas são modificações de formulações previamente publicadas e algumas são derivadas de análises da água no habitat nativo e de considerações ecológicas. As principais considerações de um meio de cultivo para o cultivo de microalgas são as seguintes (VONSHAK, 1993):

- (a) A concentração total de sais depende principalmente da origem ecológica do organismo.
- (b) Composição e concentração dos principais componentes iônicos, como potássio, magnésio, sódio, cálcio, sulfato e fosfato.
- (c) Fontes de nitrogênio, como nitrato, amônia e ureia, são amplamente utilizados, dependendo principalmente do desempenho das espécies e do pH ótimo. O crescimento é altamente dependente da disponibilidade de nitrogênio.
- (d) Fonte de carbono: o carbono inorgânico é normalmente fornecido como gás CO₂ em uma mistura de 1-5 % com ar. Outro meio de fornecer carbono é pela adição de

bicarbonato de sódio. A preferência é altamente dependente do pH ótimo para o crescimento.

(e) pH: usualmente, valores básicos de pH são usados para prevenir a precipitação de cálcio, magnésio e alguns dos oligoelementos.

(f) Oligoelementos: são geralmente fornecidos em uma mistura em concentrações previamente encontradas como efetivas (da ordem de microgramas por litro). No entanto, a necessidade de tais componentes para o crescimento nem sempre foi demonstrada. Para estabilidade da mistura de oligoelementos, são utilizados agentes quelantes, tais como citratos e EDTA.

(g) Vitaminas: muitas algas requerem vitaminas, como a tiamina e a cobalamina (B₁₂), para o crescimento.

Alguns pesquisadores têm mostrado que o uso de nitrato como fonte de nitrogênio resulta em altas concentrações de biomassa de *Spirulina platensis*, por isso a ampla utilização dos meios de cultivo de ZARROUK (1966), PAOLETTI et al. (1975) e SCHLOSSER (1982), que empregam KNO₃ ou NaNO₃ e bicarbonato de sódio. A utilização de nitratos, do ponto de vista econômico, resulta na busca de fontes de nitrogênio mais baratas como ureia e sais de amônio entre outros (MATSUDO, 2006).

3.6.1 Stress em micro-organismos

Um fator ambiental pode causar stress em micro-organismos quando se impõe desafios fisiológicos que comprometem a sobrevivência e a reprodução microbiana (ANDRADE-LINARES; LEHMANN; RILLIG, 2016). Para atingir este objetivo, adotam-se estratégias que modifiquem seu metabolismo, como regular a velocidade de crescimento ou modificar sua resistência, e dessa forma sobreviver às condições adversas. O dano provocado pelo stress, como a resposta do micro-organismo, depende do tipo e grau de stress empregado (FOLCH-MALLOL et al., 2004). Os micro-organismos estão expostos a stress bióticos e abióticos, como mudanças de

temperatura, falta de água, concentração de soluto, privação de nutrientes, metabólitos, antimicrobianos e predadores. Esses estressores ambientais podem comprometer a adequação microbiana em condições ambientais dinâmicas (ANDRADE-LINARES; LEHMANN; RILLIG, 2016).

3.7 Uso das microalgas

O uso de biomassa algal como fonte de proteína para consumo humano geral não é a única vantagem para a sua produção. A *Spirulina platensis* é utilizada com usos terapêuticos, pois contém diversas substâncias como lipídios, vitaminas, sais minerais e pigmentos (MACEDO; ALEGRE, 2001)

No entanto, sistemas de produção de biomassa podem ser desenvolvidos com diversas finalidades tais como: tratamento de águas residuais; produção de alimentos para peixes; produção de produtos químicos comerciais (glicerol, manitol, lipídios); produção de bioquímicos e pigmentos, como corantes naturais; e produção de biocombustíveis por fermentação de biomassa (bioetanol) (VONSHAK, 1993). Na Tabela 3 mostra-se uma lista de alguns dos principais produtos partir da biomassa algal.

Tabela 3. Principal produto obtido da produção de biomassa algal e algumas das áreas de aplicação.

Produto	Áreas de aplicação
<i>Oxigênio</i>	
<i>Biohidrogênio</i>	Criação de energia
<i>Pigmentos (clorofila, carotenoides, phycobilinas)</i>	Cosméticos, nutrição humana, tecnologia de alimentos, alimentos funcionais, farmacêutica e terapêutica.
<i>Lipídios (hidrocarbonetos de ácidos graxos polissaturados)</i>	Aplicações farmacêuticas e terapêuticas, nutrição humana, tecnologia de alimentos, alimentos funcionais, criação de energia (biodiesel, biogasolina), alimentação.
<i>Proteínas</i>	Nutrição humana, tecnologia de alimentos, alimentos funcionais

<i>Polisacarídeos</i> (β -1,3 <i>glucan</i> , <i>carrageenan</i> , <i>amido</i> , <i>Agar</i> , <i>alginato</i> , <i>celulosa</i>)	Nutrição humana, tecnologia de alimentos, alimentos funcionais, Aplicações farmacêuticas e terapêuticas, criação de energia (bioetanol)
<i>Compostos Bioativos</i> (<i>varios antibacteriais</i> , <i>anti-viral</i> , <i>anti-fungo</i> , <i>anti-algas</i>)	Antibióticos
<i>Bio poliésteres (Poly</i> <i>hidroxialcanoato)</i>	Bioplásticos “green plastic”

(Fonte: (KOLLER; MUHR; BRAUNEGG, 2014))

3.8 Tratamento de resíduos alternativos no crescimento da microalga

O tratamento de águas residuais com *Spirulina platensis* oferece muitas vantagens:

(1) sua forma filamentosa e sua capacidade de bioflocular torna sua colheita mais fácil do que outras microalgas; (2) sob condições apropriadas, seu conteúdo proteico pode atingir 60 a 70 % (m/m); (3) seu valor nutricional como alimento animal é reconhecido; (4) contém muitos compostos bioquímicos que podem ser extraídos para potencial aumento do valor da biomassa; (5) cresce melhor em meio alcalino; e (6) algumas espécies são resistentes à toxicidade da amônia encontrada em altos valores de pH (VONSHAK, 1993). Dentro da busca de outros resíduos que possam diminuir os gastos de produção da *Spirulina platensis*, alguns exemplos encontram-se listados abaixo:

Resíduos animais: A partir da composição típica de vários resíduos animais, por exemplo resíduos de aves, carneiros e suínos contém a maior carga de nitrogênio e fósforo, dois nutrientes necessários para o crescimento de microalgas.

Resíduos provenientes da digestão aeróbia e anaeróbia de efluentes: Em geral, o tratamento anaeróbio aumenta o pH do afluente sem alterar sua concentração de amônia, resultando em um meio mais adequado para o crescimento de cianobactérias do que em um tratamento aeróbio.

Resíduos domésticos: *Spirulina platensis* pode crescer adequadamente em esgoto bruto se for suplementada com 10 g.L⁻¹ de bicarbonato de sódio e 1 g.L⁻¹ de nitrato de sódio.

Resíduos humanos: Esta é uma área em desenvolvimento, de tecnologia simples e acessível, projetada para ser usada em escala de aldeias em países em desenvolvimento, a fim de produzir *Spirulina platensis* para alimentar animais ou seres humanos.

Efluentes contendo metais pesados: A remoção de metais pesados de efluentes poluídos é certamente um campo promissor para o uso de biomassa de microalgas e cianobactérias produzidas em águas residuais. *Spirulina platensis*, e outras algas, como *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Chlamydomonas* e *Oscillatoria*, têm sido usadas para a remoção de metais pesados.

Tomando em consideração que a *Spirulina platensis* pode crescer e tratar diferentes meios, como o soro de queijo, esta pesquisa teve a finalidade de estudar o crescimento da microalga tanto em meio soro de queijo como em meio Schlösser usando diferentes reatores e alterando fatores essenciais para o crescimento da microalga.

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Materiais

O meio utilizado para realizar o presente trabalho foi o meio Schlösser (1982); conforme Tabela 4.

Tabela 4. Meio padrão para cultivo de *Spirulina platensis*: Composição, por litro (de água destilada)

Reagente/Solução		Quantidade	
NaHCO ₃		13,61g	
Na ₂ CO ₃		4,03 g	
K ₂ HPO ₄		0,50 g	
NaNO ₃		2,50 g	
K ₂ SO ₄		1,00 g	
NaCl		1,00 g	
MgSO ₄ .7H ₂ O		0,20 g	
CaCl ₂ .2H ₂ O		0,04 g	
*”PIV” solução de metais		6 mL	
**”Chu” solução de micronutrientes		1 mL	
Vitamina B12 (15µg/100mL H ₂ O)		1 mL	
*”PIV” solução de metais		**”Chu” solução de micronutrientes	
Na ₂ EDTA	750 mg	Na ₂ EDTA	50,0 mg
FeCl ₃ .6H ₂ O	97 mg	H ₃ BO ₃	618,0 mg
MnCl ₂ .4H ₂ O	41 mg	CuSO ₄ .5H ₂ O	19,6 mg
ZnCl ₂	5 mg	ZnSO ₄ .7H ₂ O	44,0 mg
CoCl ₂ .6H ₂ O	2 mg	CoCl ₂ .6H ₂ O	20,0 mg
Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	4 mg	MnCl ₂ .4H ₂ O	12,6 mg
		Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	12,6 mg

A *Spirulina platensis* foi mantida em frascos Erlenmeyer de 500 mL com solução padrão (SCHLOSSER, 1982) a temperatura ambiente, em “shaker” a 100 rpm e iluminação com lâmpadas fluorescentes de 15 W (2240 Lx).

Realizou-se uma varredura do comprimento de onda numa faixa de 480 a 760 nm com a finalidade de determinar o ponto de maior absorção da *Spirulina platensis* e tentar correlacionar a biomassa e a DO.

4.2 Inoculação e Operação dos Reatores

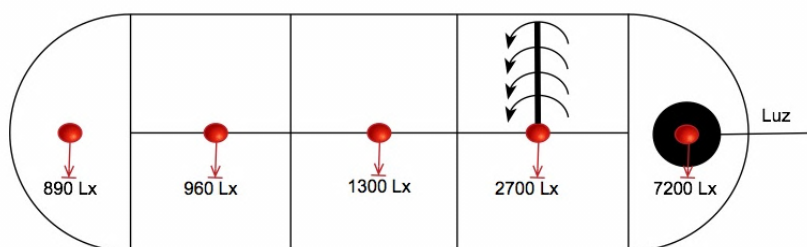
4.2.1 Frascos Erlenmeyer

O reator foi operado com as seguintes condições: luz fluorescente de 15 W (2240 Lx), DO inicial de 0,2, velocidade de rotação (“shaker”) 100 rpm, tempo de corrida de 19 dias em meio padrão e volume de 1L. Foram retiradas alíquotas de 5 mL para realizar as análises de DO e massa seca aproximadamente a 25 °C.

4.2.2 Reator “Raceway”

O reator “raceway” foi operado em modo batelada com volume de operação de 6 L aproximadamente a 25 °C, com agitação (eixo horizontal) de 25 rpm por meio de uma roda de pás. A luminosidade foi fornecida por meio de uma lâmpada incandescente de 20 W, sendo as intensidades medidas nos pontos centrais do reator em 5 compartimentos, como mostra a Figura 8.

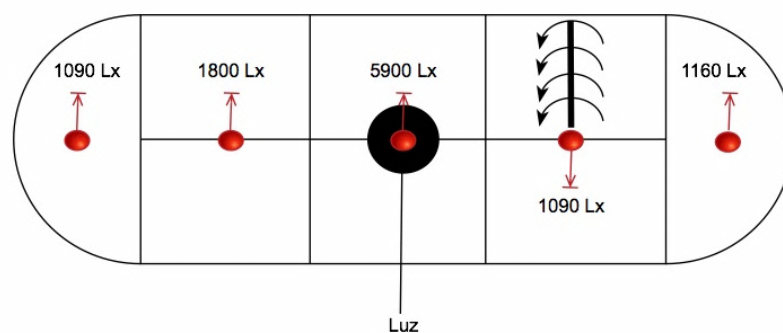
Figura 8. Valores de incidência de luz: iluminação lateral.



O reator foi alimentado com soro de queijo doce tipo ricota em pó com concentração de 1 g.L^{-1} (p/v) e inoculado com uma suspensão de *Spirulina platensis* com densidade óptica inicial aproximada de 0,1. Como o reator apresentou evaporação do meio pela grande área superficial em contato com o ar, todo dia era verificado o nível e completado com água destilada. Quando a DQO se aproximava de zero, adicionava-se uma solução concentrada de soro de queijo (10 g.L^{-1}) para realimentar o sistema.

Foi modificada a posição da fonte de luz sobre o reator, com as intensidades resultantes mostradas na Figura 9, para avaliar essa influência no crescimento da microalga. As condições de agitação, substrato e DO inicial foram mantidas.

Figura 9. Valores de incidência de luz: iluminação central.

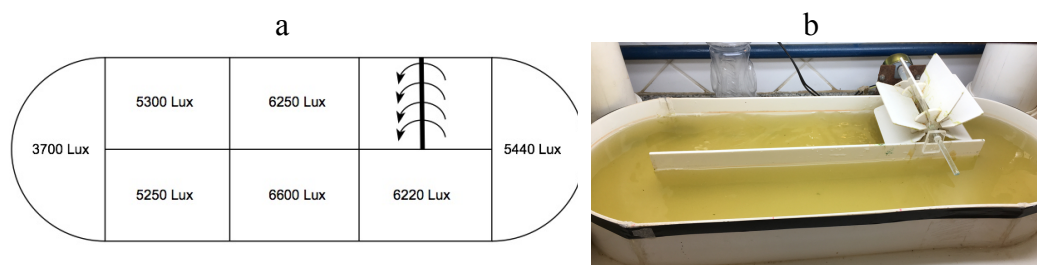


4.2.2.1 Luz LED

O reator “raceway” foi operado em modo batelada com volume de operação de 6 L, agitação (eixo horizontal) de 25 rpm, com inóculo com DO inicial aproximada de 0,1 aproximadamente a 25°C . A luminosidade foi fornecida com lâmpadas tubulares LED, sendo as intensidades de luz medidas em oito seções, conforme apresentado na Figura 10. O reator trabalhou com soro de queijo em pó com concentração de 1 g.L^{-1} (p/v) com pré-tratamento térmico. Diariamente, foi retirada uma alíquota de 10 mL para determinar DQO, DO e massa seca.

O pré-tratamento térmico consistiu em colocar o recipiente com soro de queijo em contato com vapor de água por 15 minutos a pressão ambiente, com a finalidade de reduzir a turbidez do soro.

Figura 10. Valores de incidência de luz LED tubular^a e esquema do reator em operação^b.

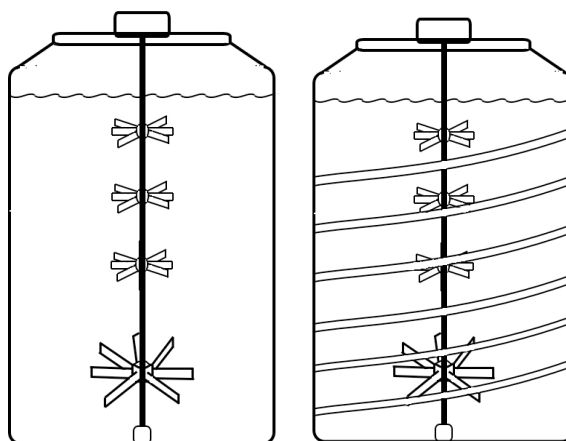


4.2.3 Reatores verticais agitados

Os reatores verticais agitados (Figura 11) foram operados em modo batelada com volume de operação de 2,5 L, densidade óptica inicial (DO) média de 0,1 de *Spirulina platensis* utilizando os meios padrão Schlösser, soro de queijo e soro de queijo com pré-tratamento com concentração de 1 gL⁻¹ (p/v), em uma agitação (eixo vertical) de 35 rpm com quatro agitadores (tipo Rushton) de 4 cm diâmetro colocados a 2, 7, 12 e 15 cm do fundo do reator e luz branca fornecida por fitas LED com 3000 Lx.

Em outro ensaio, com solução Schlösser, trocou-se o agitador do fundo por um de diâmetro maior (6 cm), com a finalidade de prevenir a sedimentação. Foi escolhida a velocidade de 35 rpm como ponto mínimo de agitação, pois, em velocidades menores, a biomassa sedimentou com o passar do tempo. Além disso, foram utilizadas as velocidades de 78 e 114 rpm, com temperatura ambiente (temperatura na faixa dos 25 °C) durante o período de luz e sem controle de temperatura no período de escuridão. Para fornecer a iluminação, foram colocadas fitas LED ao redor dos reatores de vidro, em foto-períodos de 12 h de luz, com luz branca 3000 Lx.

Figura 11. Reator vertical agitado iluminado com fita LED



Para determinar o efeito da luz (variável luz) sobre o crescimento da microalga e a redução da DQO do soro, colocou-se quatro diferentes cores de luz (R1-branca 3000, R2-azul 3800, R3-verde 3630 e R4-vermelha 840 Lx). O experimento foi realizado à temperatura ambiente de aproximadamente 30 °C.

O pH manteve-se alcalino 10 ± 2 no soro de queijo (RICHMOND; GROBBELAAR, 1986), corrigindo sempre que necessário com solução de NaOH 1N. No caso da solução Schlösser, não foi necessária a correção do pH.

Foi avaliado o crescimento da microalga *Spirulina platensis* em reatores com dois tipos de geometria das hélices, agitador tipo Rushton com 6 pás (agitação radial) e hélice com 3 pás (agitação axial) (Figura 12), com a finalidade de observar o crescimento e a homogeneização do sistema, mantendo a configuração dos outros testes, enquanto o agitador de hélice teve 4 agitadores nas mesmas alturas que o Rushton. Na Figura 12, mostra-se também o agitador roda de pás utilizado no reator “raceway”.

Figura 12. Geometrias das hélices usadas: agitador tipo ^ahélice (agitação axial), agitador tipo ^bRushton (agitação radial), no reator vertical e ^cRoda de pás no reator “raceway”.



Foi avaliada a influência de luzes piscantes no sistema, onde o reator R1 foi de luz branca com 3000 Lx, tomada como controle, R2 com a função “Smooth” (luzes vermelho-azul-verde em intervalos de 1,8 segundos para cada cor) com intensidade média de 2105 Lx, R3 com luz branca em função “Strobe” (decréscimo de intensidade até desligar em intervalos de 5 segundos) com intensidade média de 1829 Lx, e R4 com a função “Flash” (luzes vermelho-azul-verde-roxo-amarelo-turquesa-branco em intervalos de 2,13 segundos para cada cor) com intensidade média de 2213 Lx. Neste experimento, a temperatura ambiente foi de aproximadamente 35 °C pela época de verão.

Foi realizado um teste de produção celular em base à área superficial com incidência direta de luz tubular fluorescente. Os reatores com diferentes áreas e intensidades mostram-se na Tabela 5, com os agitadores colocados equivalentemente em 80, 60, 40 e 10 % da altura iluminada de cada reator.

Tabela 5. Área iluminada e intensidade de luz fornecida nos reatores verticais.

Reator				
	R1	R2	R3	R4
Área da base (cm²)	153,93	78,54	225	95,03
Altura (cm)	14	24,5	9	16,5
Área lateral (cm²)	570,20	769,69	540,00	615,75
Intensidade fornecida média (Lx)	8150	6300	7250	7550

Para a análise de concentração celular, a biomassa foi centrifugada e re-suspendida em 10 mL de água destilada e medida em espectrofotômetro HACH nos comprimentos de onda de 560, 590 e 670 nm, utilizando água destilada como branco. A massa seca foi determinada por gravimetria, em que a amostra usada para determinar a DO foi colocada em uma cápsula de porcelana e levada à secagem em estufa a 110 °C até peso constante.

Foi realizado um ajuste linear da densidade óptica em ligação à biomassa produzida, com a finalidade de obter uma correlação que explicasse o crescimento da microalga, pelo qual foi obtida a Eq. (1) com $R^2 = 0.8986$

$$DO = 1.7437MS - 0.1727 \quad \text{Eq. (1)}$$

Onde:

DO = Densidade óptica (absorvância 590 nm)

MS = Massa seca (g.L^{-1})

Esta correlação foi utilizada para determinar a biomassa em termos de g.L^{-1} nos estudos posteriores.

4.3 Determinação de Clorofila a e Feofitina a

As concentrações de “clorofila a” e “feofitina a” foram determinadas em espectrofotômetro, por meio das leituras nas densidades ópticas obtidas em três comprimentos de onda definidos (664, 665 e 750 nm). O método fornece resultados em termos de peso dos referidos pigmentos por unidade de volume (mg.m^{-3}) (CLESCERI et al., 1998).

4.3.1 Filtração da amostra

A filtração foi realizada minimizando-se a luminosidade incidida sobre a amostra de um volume conhecido, no caso 10 mL.

4.3.2 Extração

O filtro foi dobrado e triturado com adição de 2 a 3 mL de acetona 90 %, para preparar o extrato. Em seguida, colocou-se a amostra triturada em um tubo de ensaio e completou-se o volume de 10 mL com acetona 90 %. Armazenou-se a 4 °C por 2 horas no escuro. Após esse período, centrifugou-se a amostra (2500 rpm) durante 10 minutos (CLESCERI et al., 1998).

O extrato resultante foi colocado em uma cubeta de 1cm espessura, lendo-se as absorvâncias em:

- 750 nm: turbidez da amostra

➤ 664 nm: Clorofila a

Após realizarem-se as leituras, foi agregado 0.1mL (2 gotas) de HCl 0,1 N no extrato na cubeta com a finalidade de acidificar e degradar a clorofila e transformar em feofitina. Nova leitura foi efetuada nos comprimentos de onda de 665 e 750 nm.

As absorvâncias analisadas (antes e depois da acidificação) foram corrigidas através da subtração dos resultados obtidos a 750 nm, pois nesse comprimento de onda é medida apenas a turbidez da amostra.

4.3.3 Cálculo para a correção da turbidez

D_{664c} = Absorvância a 664 nm, corrigida - obtida antes da acidificação.

$$DO_{664c} = DO_{664} - DO_{750} \quad (2)$$

D_{665c} = Absorvância a 665 nm, corrigida - obtida depois da acidificação.

$$DO_{665c} = DO_{665} - DO_{750} \quad (3)$$

As concentrações de clorofila a e feofitina a podem ser obtidas a partir das seguintes equações monocromáticas:

$$Clorofila\ a, (mg/m^3) = \frac{26,7(DO_{664c} - DO_{665c})v}{VL} \quad (4)$$

$$Feofitina\ a, (mg/m^3) = \frac{26,7[1,7(DO_{665c}) - DO_{664c}]v}{VL} \quad (5)$$

Onde:

V = Volume, em litros, da amostra filtrada

v = Volume, em mL, de acetona 90 % usada para extração

L = Caminho ótico, em cm, da cubeta utilizada

DO_{664c} = Absorvância a 664nm, corrigida

DO_{665c} = Absorvância a 665nm, corrigida

4.4 Análise de Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A amostra foi centrifugada por 5 minutos a 3200 rpm, e a análise da DQO foi realizada pelo método de refluxo fechado, com leitura em espectrofotômetro HACH a 620 nm.

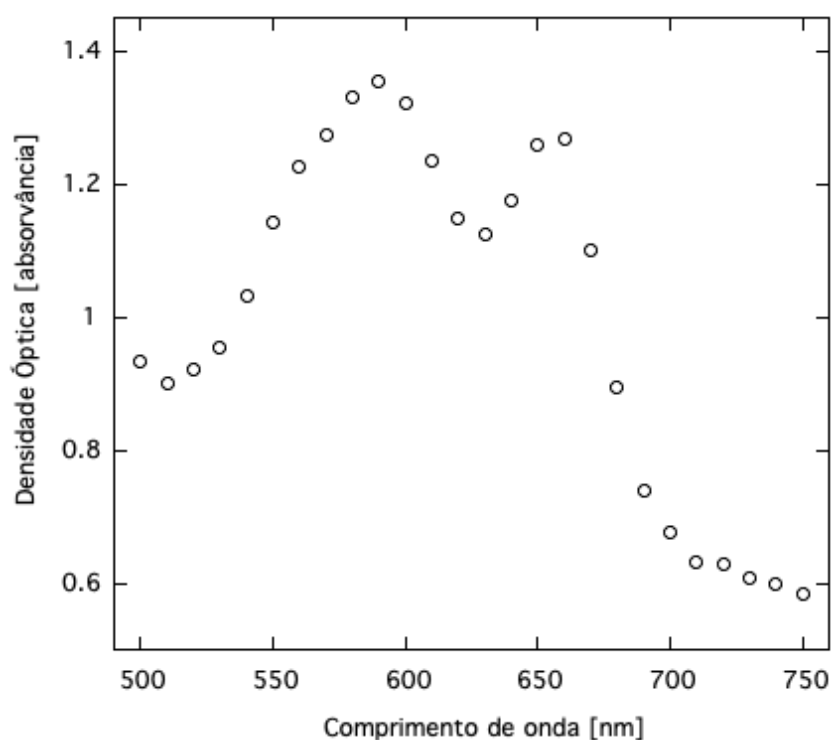
4.5 Análises de dados

A análise estatística foi realizada pelo teste de ANOVA, das análises realizadas por triplicata. O teste de Tukey foi utilizado quando a ANOVA apresentou diferença estatística entre os tratamentos. Todas as análises foram realizadas ao nível de 5% de probabilidade.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foi realizada uma varredura com a finalidade de determinar os pontos de absorção da *Spirulina platensis*. Estes pontos são apresentados na Figura 13, na qual os maiores resultados são observados nos comprimentos de onda de 590 e 670 nm, sendo este último usado pelos autores Costa; Colla; Duarte Filho (2004). Assim, decidiu-se trabalhar nesses comprimentos de onda.

Figura 13. Absorvância da *Spirulina platensis* em diferentes comprimentos de onda.

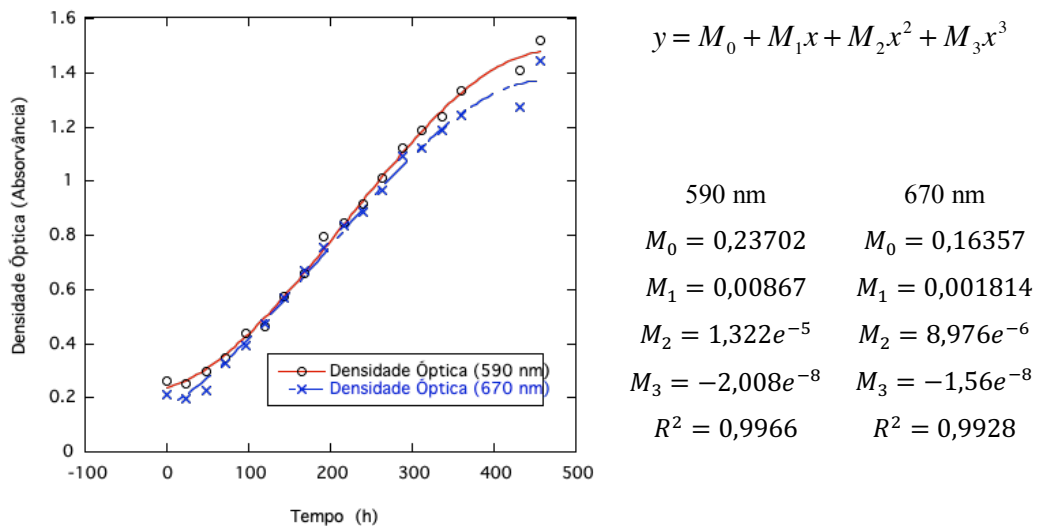


5.1 Crescimento da microalga *Spirulina platensis* (Frascos Erlenmayer)

Este experimento foi realizado com a finalidade de analisar o comprimento de onda e melhor meio para o crescimento da microalga. A Figura 14 apresenta os resultados de DO obtidos durante 19 dias, nos comprimentos de onda de 590 e 670 nm ajustados utilizando um polinômio de grau 3, para explicar o comportamento do crescimento baseado na DO e no tempo de crescimento. Decidiu-se trabalhar com os comprimentos de onda de 590 e 670 nm pois esses comprimentos

apresentam os maiores picos de absorção para a microalga *Spirulina platensis* e determinar o comprimento de onda a ser usado, como foi mostrado anteriormente na Figura 13.

Figura 14. Densidades ópticas em 590 e 670 nm ajustadas em um polinômio

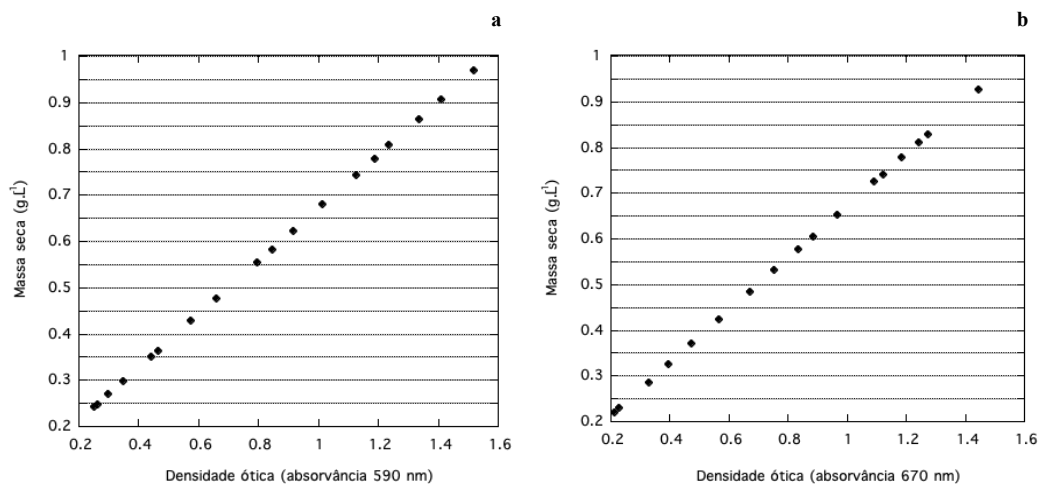


O crescimento da biomassa mostra uma fase lag (adaptação) ao meio Schlösser de aproximadamente 48 h, e posteriormente o crescimento é linear até as 360 h iniciando, após este tempo, uma fase estacionária.

Pode-se observar que os resultados são muito parecidos, mostrando um comportamento similar. Os resultados no comprimento de onda em 590 nm tem valores acima dos de 670 nm. Vários pesquisadores utilizam o valor de 670 nm em suas pesquisas (COLLA et al., 2007; VIEIRA COSTA; COLLA; DUARTE FILHO, 2004; WALTER et al., 2011), mas os resultados obtidos em 590 nm mostraram maior absorção.

A Figura 15 apresenta os gráficos de DO versus massa seca. Os resultados são muito similares.

Figura 15. Densidade óptica versus massa seca 590(a) e 670(b) nm

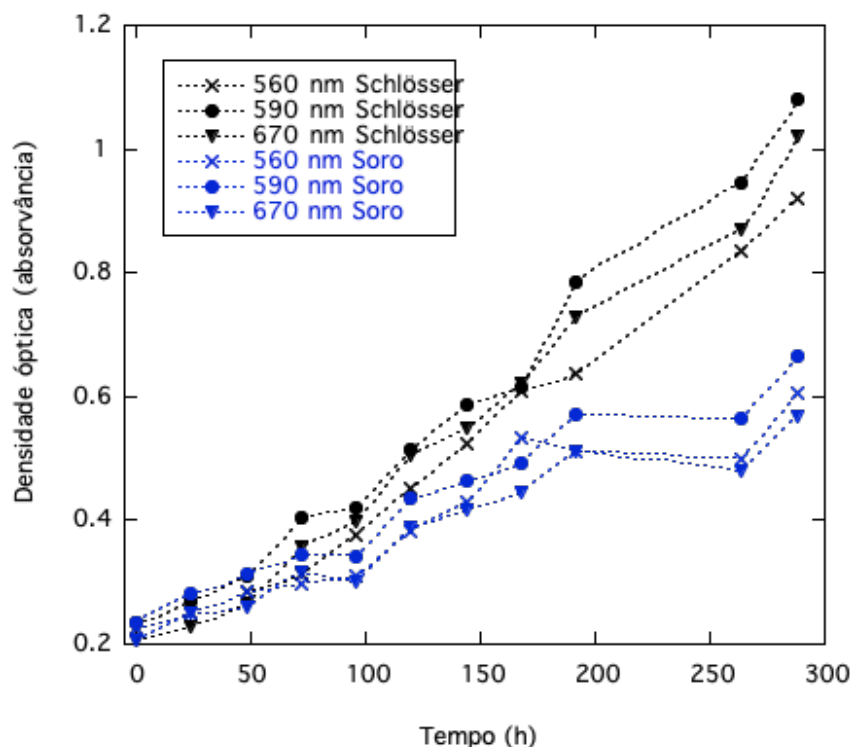


5.1.1 Comparação entre o crescimento de *Spirulina* em meio padrão e em soro de queijo

Ainda visando a validação do melhor comprimento de onda e do melhor meio, foi feita uma corrida experimental simultaneamente com a solução padrão Schlösser e com o soro de queijo em pó, monitorando a DO e a massa seca obtida durante 12 dias. De acordo com a Figura 16, pode-se observar que, nos comprimentos de onda utilizados, o meio Schlösser teve um crescimento maior quando comparado ao soro de queijo, que apresenta uma fase estacionária a partir das 168 horas, enquanto que o meio Schlösser continua crescendo até o final da batelada.

Decidiu-se comparar o comprimento de onda de 560 com 590 e 670 nm, já que esse comprimento de onda também é usado por alguns autores (BAO et al., 2012; MARQUEZ et al., 1995; MATSUDO, 2006).

Figura 16. Comparação do crescimento do meio Schlösser e soro de queijo nos comprimentos de onda de ^a560, ^b590 e ^c670 nm

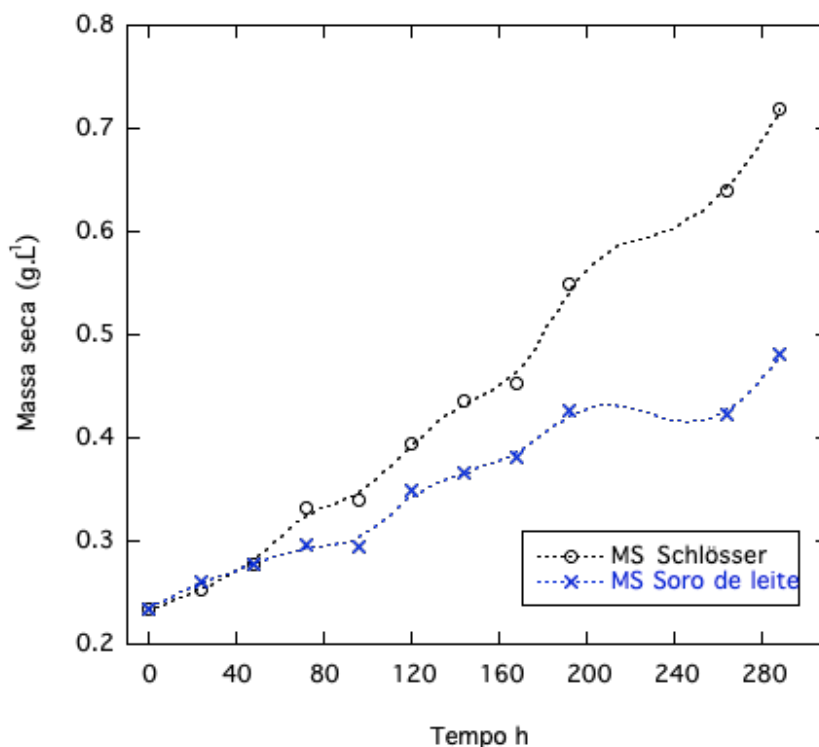


A 590 nm, a absorção da *Spirulina platensis* é maior do que os outros comprimentos de onda usados por outros pesquisadores.

Mourthé (2010) obteve resultados de 1,22 g.L⁻¹ de biomassa em 8 dias, mostrando melhores taxas de crescimento com solução padrão de minerais (Zarrouk) e com 3 % de soro de queijo em pó, sendo as condições de pH de 9,3 e inóculo inicial de 0,1 g.L⁻¹. Comparado, o sistema estudado obteve valores mais baixos de biomassa (0,49 g.L⁻¹), porém foi utilizado somente como fonte carbono o soro de queijo (1 g.L⁻¹) (Figura 17).

A Figura 17 mostra a comparação do crescimento da biomassa, em massa seca, entre soro de queijo e solução padrão Schlösser, nas primeiras 48 h o crescimento é similar, mas depois desse ponto a biomassa em solução Schlösser mostra um coeficiente angular maior do que em soro de queijo, o que resulta em um maior crescimento em solução padrão.

Figura 17. Comparação do crescimento, em massa seca, em solução Schlösser e em soro de queijo



A solução Schlösser tem uma produtividade de $2,5 \text{ mg.L}^{-1}\text{h}^{-1}$ e o soro de queijo de $1,667 \text{ mg.L}^{-1}\text{h}^{-1}$. O crescimento em soro é de 66,7 % do produzido em solução Schlösser. Embora menor, o uso de soro de queijo pode representar uma vantagem para diminuir os custos de produção da *Spirulina platensis*.

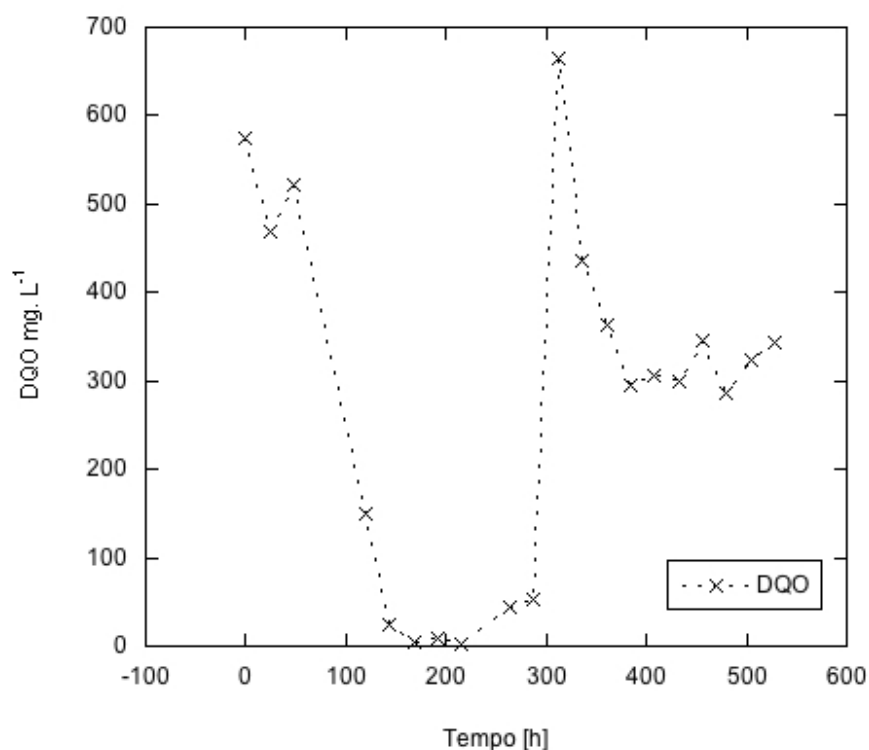
5.2 Cultivo da microalga em reator tipo “Raceway”

5.2.1 Raceway com iluminação lateral

Os resultados do reator “raceway” (Figura 18) mostram o consumo total de aproximadamente 600 mgDQO.L^{-1} com uma remoção de DQO de 99,83 % e uma produtividade de $4,05 \text{ mgDQO.L}^{-1}\text{h}^{-1}$ em 216 horas. Posteriormente, o reator foi alimentado com uma nova carga de 690 mgDQO.L^{-1} , no qual o consumo chegou aproximadamente a 300 mgDQO.L^{-1} e manteve-se até finalizar o processo com uma remoção de DQO de 43,48 % e uma produtividade de $5,42 \text{ mgDQO.L}^{-1}\text{h}^{-1}$ em 72

horas (384 horas). Por outro lado, MURARI et al. (2013), utilizando a levedura *Kluyveromyces marxianus*, obtiveram uma redução da DQO em processo aeróbio de 69 % em 48 h, o que equivale a 34.5 % DQO removida por dia. Os resultados obtidos tem uma boa redução uma vez que, na primeira carga de soro a redução é de aproximadamente 11 % DQO por dia, e na segunda carga de soro se tem uma redução de 14 % DQO por dia, porém o processo com o micro-organismo *Kluyveromyces marxianus* é usado para a redução de elevados valores de DQO. Assim, o processo com a microalga *Spirulina platensis* é uma boa alternativa para um processo sequencial de tratamento. Na configuração na direita, foi possível crescer biomassa algal, assim como observar o processo de remoção da DQO, mesmo atingindo valores baixos de redução na segunda alimentação.

Figura 18. Redução da DQO do soro de queijo: iluminação lateral



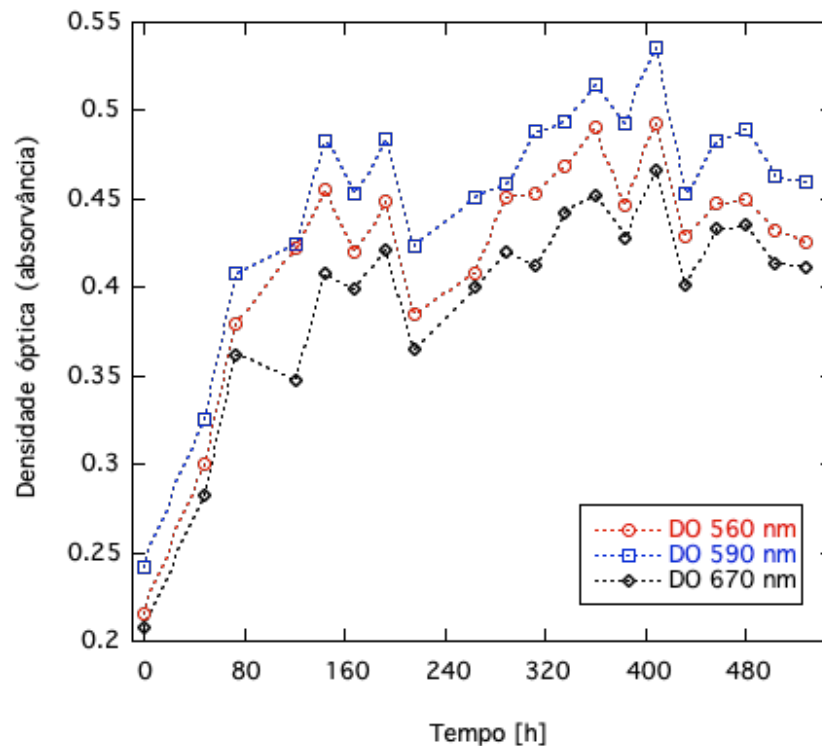
Nota-se que os últimos valores de biomassa, obtidos nesta configuração, se mantiveram estáveis, pois dentro do tipo de reator “raceway” existem zonas de baixa velocidade, o que ocasiona formação de sedimentos e incrustação nas paredes do reator e os quais poderiam ter interferido nas análises (Figura 18).

A Figura 19 mostra a comparação das DO de 560, 590 e 670 nm com a configuração na direita, em que observa-se que a tendência de crescimento nos três comprimentos de onda é semelhante, comprovando-se que a maior absorção da microalga é no comprimento de onda de 590 nm, seguindo 560 e 670 nm.

Pode-se observar também que, até 144 horas, há um crescimento de aproximadamente 0,49 na densidade óptica. Posteriormente, há uma queda de biomassa nas 240 h, devido ao consumo quase total da DQO. No momento em que há a alimentação do sistema e a DQO aumenta, a densidade óptica volta a aumentar atingindo valores de 0,54 em 384 h.

Com a iluminação lateral, a batelada sequencial apresenta bons resultados para remoção da DQO, porém para produção de biomassa não se justifica.

Figura 19. Comparação das densidades ópticas de 560, 590 e 670 nm, com a configuração na direita



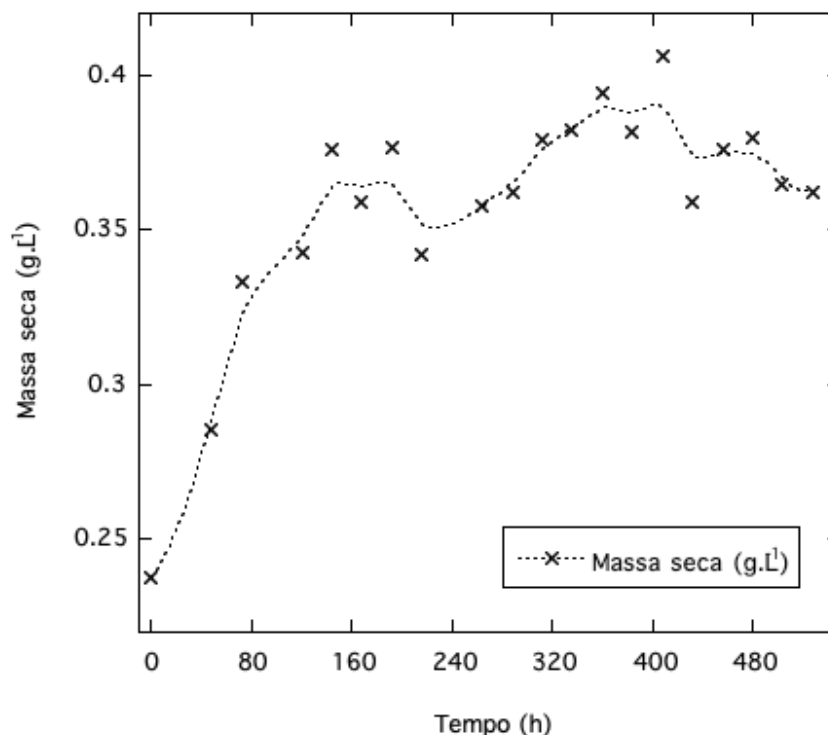
Realizando um teste ANOVA com 5 % de confiança no pontos com maior DO, resulta que a DO média tem diferencia significativa entre os comprimentos de onda (Tabela 6). Pelo teste de Tukey foi determinado que existe diferencia significativa na maioria dos pontos analisados entre os comprimentos de onda de 590 e 670 nm, pelo que foi decidido trabalhar no comprimento de onda que apresenta maior absorção.

Tabela 6. Análise de variância dos três comprimentos de onda durante o tempo de crescimento de biomassa.

Tempo (h)	560 nm	590 nm	670 nm	Valor P (ANOVA)
144	0,4555±0,0148	0,4830±0,0028	0,4085±0,0092	0,0119
192	0,4485±0,0092	0,4835±0,0191	0,4215±0,0092	0,0422
360	0,4905±0,0092	0,5150±0,0141	0,4525±0,0007	0,0174
408	0,4930±0,0042	0,5355±0,0106	0,4660±0,0028	0,0045
480	0,4495±0,0007	0,4900±0,0035	0,4353±0,0011	0,0823
528	0,4255±0,0106	0,4593±0,0053	0,4118±0,0110	0,0309

De acordo com a Figura 20, pode-se observar que o máximo de biomassa produzida foi até o momento em que a DQO chegou em valores próximos a zero (144 h). Posteriormente, pode-se observar uma queda de biomassa, o que indica que esgotou o substrato. Logo depois, com o aumento da DQO no tempo de 312 h, observa-se um aumento na quantidade de biomassa. Ao final, no tempo de 456 h começa a haver uma queda nos valores de massa seca, devido à respiração endógena da microalga.

Figura 20. Comportamento da massa seca durante o tempo de tratamento do soro de queijo, com iluminação lateral



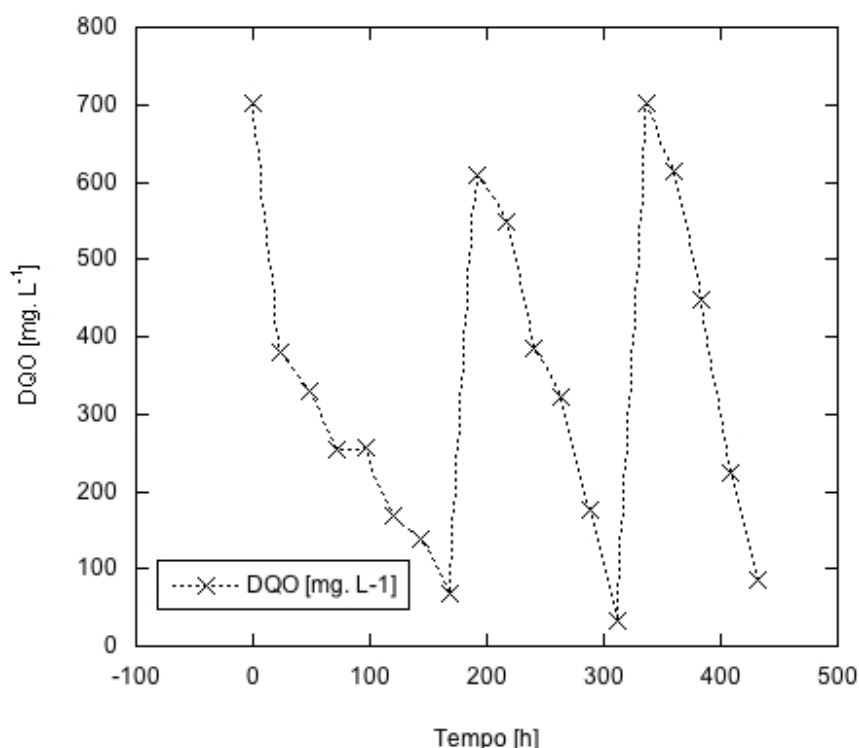
Visando o tratamento do efluente da indústria de laticínios, se obteve uma remoção média de 71.65 % da DQO e produziu-se 0.4 g.L^{-1} de biomassa algal a partir de um resíduo industrial, o que poderá diminuir os custos de produção da microalga. Obteve-se uma quantidade baixa de massa seca, mas tem muitas variáveis que influenciam o crescimento da mesma que não foram abordadas nesse estudo.

5.2.2 “Raceway” iluminação central

De acordo com a Figura 21, pode-se observar uma diminuição da DQO em 168 h com uma eficiência de remoção de 90,43 %, e velocidade de consumo de substrato de $3,77 \text{ mgDQOL}^{-1}\text{h}^{-1}$. Após a adição da solução de soro de queijo concentrada, chegou-se a valores de $608,5 \text{ mgDQOL}^{-1}$, diminuindo, após 120 h, para $33,5 \text{ mgDQOL}^{-1}$ com uma eficiência de remoção de 94.49 % e velocidade de consumo de substrato de $4,79 \text{ mgDQOL}^{-1}\text{h}^{-1}$. Logo depois, com uma adição de nova solução de soro de queijo concentrada, chegou-se a valores de $702,25 \text{ mgDQOL}^{-1}$

e em 96 h obteve-se $86,5 \text{ mgDQOL}^{-1}$, com uma remoção de 87,68 % e velocidade de consumo de substrato de $6,41 \text{ mgDQOL}^{-1}\text{h}^{-1}$.

Figura 21. Redução da DQO com três picos de alimentação, iluminação central



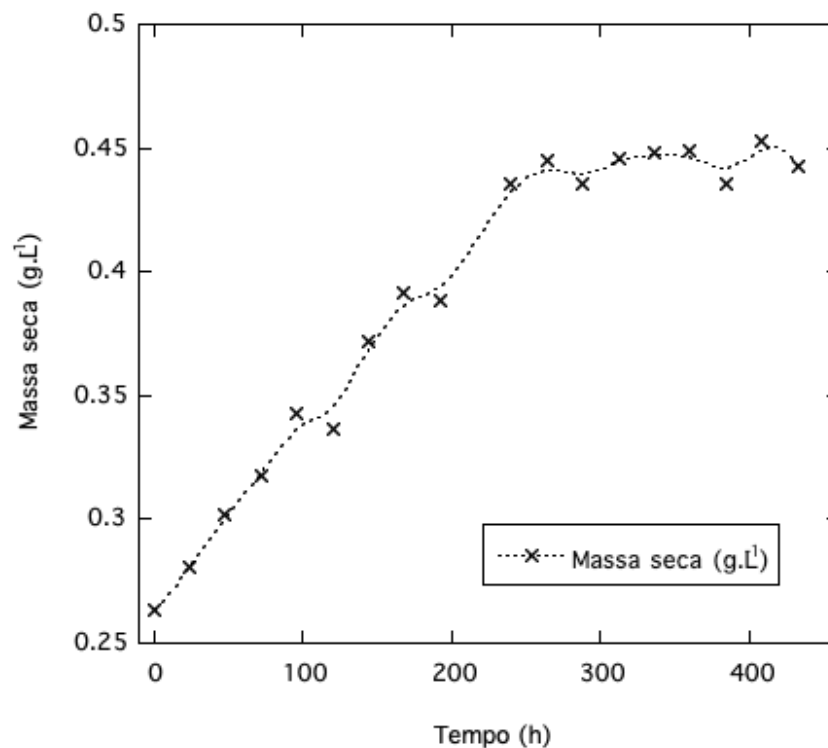
Pode-se observar que, a cada nova alimentação (picos mais altos), o micro-organismo encontra-se mais adaptado ao meio, pelo que o tempo de consumo é menor e, conseqüentemente, a velocidade de consumo aumenta.

Na Figura 22, pode-se observar o aumento da massa seca no reator “raceway” com iluminação central, no qual a biomassa manteve-se crescendo até 264 h, chegando no máximo de produção de $0,45 \text{ gL}^{-1}$, a partir do qual a biomassa entra em uma fase estacionária, o que indica que pode-se alimentar um número maior de vezes, mas com uma produção limitada de biomassa. Se o foco for a produção de biomassa pode-se parar o processo ao final da segunda alimentação.

MATSUDO (2006) obteve resultados de 2280 mg.L^{-1} em 16 dias. Posteriormente, com uma fração de corte de 20 %, de 1824 mg.L^{-1} atinge valores de 2337 mg.L^{-1} em 3 dias. As condições de cultivo são diferentes já que o autor não

utiliza o meio padrão Schlösser (realiza substituição do nitrato de sódio por ureia). No entanto, as velocidades de remoção do autor mencionado são de $5,938 \text{ g.L}^{-1}\text{h}^{-1}$ e à medida que se realiza o corte a velocidade decresce para $0,099 \text{ g.L}^{-1}\text{h}^{-1}$. Neste trabalho a produtividade é de $1,705 \text{ g.L}^{-1}\text{h}^{-1}$, utilizando o meio alternativo, que não apresenta custos.

Figura 22. Aumento da massa seca e DO no reator “raceway”, iluminação central



2.2.3 “Raceway” Luz LED

2.2.3.1 Ensaio 1; sem controle de pH

Colocou-se uma alta intensidade de luz, fornecida por luz tubular LED, onde se observou uma mudança de cor, produzida pelo aumento de carotenoides, pois os carotenoides aparecem para realizar a função de manter a estrutura celular da microalga e dissipar o excesso de energia (DEL CAMPO; GARCÍA-GONZÁLEZ; GUERRERO, 2007).

A Figura 23 apresenta o aumento na quantidade de carotenoides em ^a72, ^b96 e ^c120 h. A partir do terceiro dia^b, colocou-se uma bomba de ar, o que aumentou a viragem da cor.

Figura 23. Aumento na quantidade de carotenoides pelos níveis de irradiação.

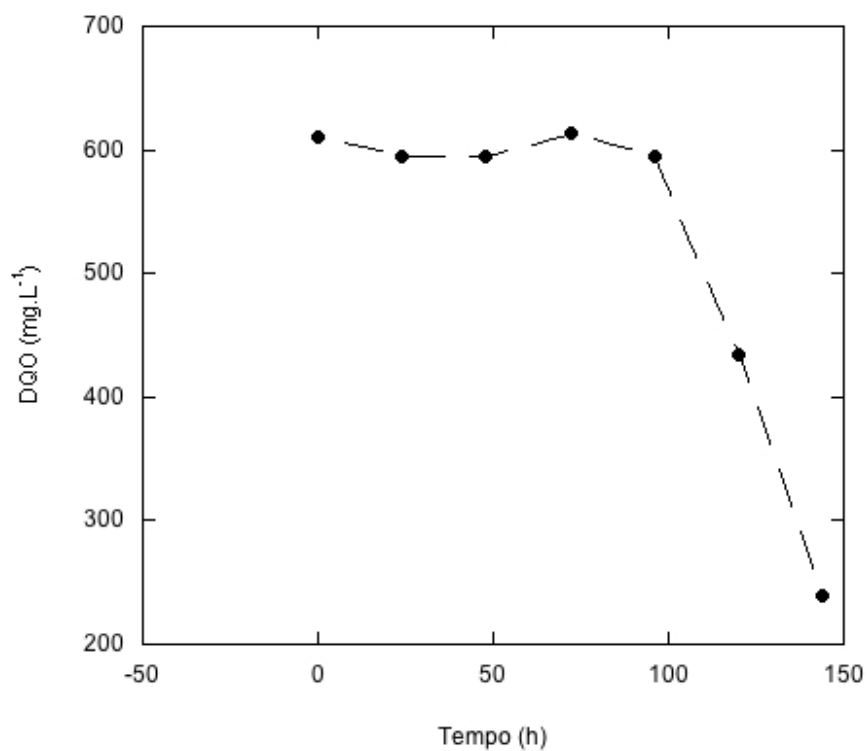


O aumento do teor de carotenoides contidos (biomassa e clorofila a) em altos níveis de radiação resulta de uma adaptação necessária para foto-proteger as moléculas de clorofila (HUARACHI-OLIVERA et al., 2015), porém o conteúdo de clorofila e carotenoides pode variar durante o crescimento (OLAIZOLA; DUERR, 1990) o que explica a viragem de cor na Figura 23.

Foi realizado um teste de produção de carotenoides, mesmo não sendo o foco deste trabalho, mas para ter certeza da presença deste composto, resultando em 259.63 $\mu\text{g.g}^{-1}$, valor muito próximo ao obtido por MENDONÇA (2014) de 272,26 $\mu\text{g.g}^{-1}$ e superior aos DE ALENCAR et al. (2011) de 202,68 e 148,75 $\mu\text{g.g}^{-1}$, com o primeiro valor obtido em condições de foto-período de 16 h luz e 8 h escuridão 24 °C, e o segundo valor com 24 h de luz e 28 °C.

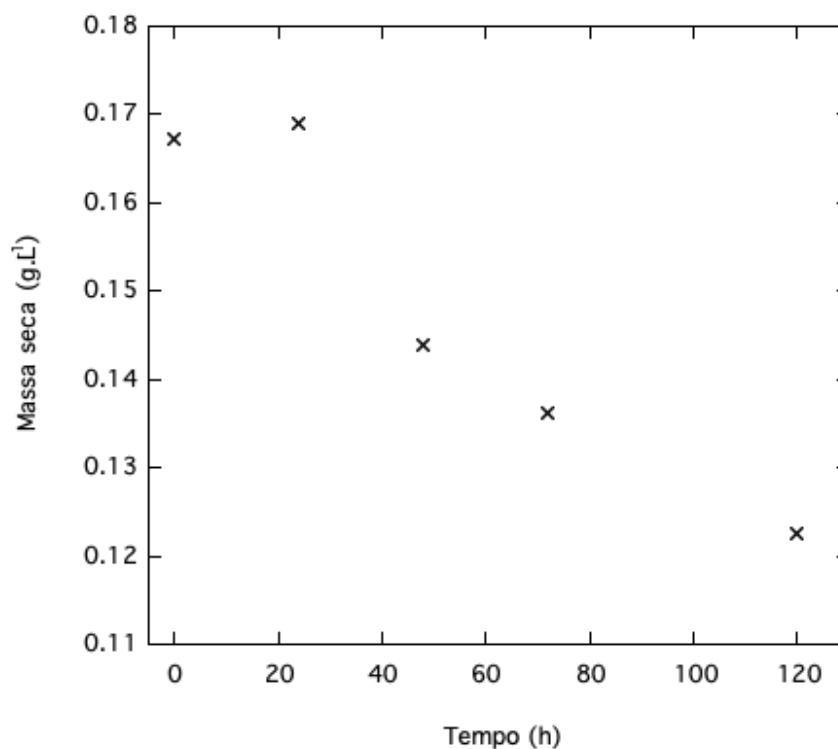
Durante 96 h, observa-se uma fase lag ou de adaptação, lembrando que em 96 h a cor apresentou-se laranja (produção de carotenoides), podendo ser em virtude dos altos níveis de irradiação fornecidos pelas lâmpadas tubulares LED. Portanto, até ter produzido uma alta quantidade de carotenoides o processo de consumo de DQO fica estacionário, e em 48 h posteriores o consumo decresce até 240 mgDQOL^{-1} , o que representa um consumo de 60 % e uma velocidade de consumo de substrato de 7,5 $\text{mgDQOL}^{-1}\text{h}^{-1}$, (Figura 24).

Figura 24. Redução da DQO no “raceway” LED



O reator foi operado inicialmente com inóculo com densidade óptica de 0,1, havendo um decréscimo até 0,165 g.L⁻¹. No entanto, na Figura 25, observa-se que a massa seca analisada no líquido diminui, o que pode ser causado por zonas de baixa agitação usualmente encontradas nos reatores “raceway”, no qual a biomassa pode ter sedimentado e grudado nas paredes, causando interferência nas leituras, mesmo agitando o meio manualmente, pois a *Spirulina* tende a formar grumos.

Figura 25. Massa seca no “raceway” com luz LED

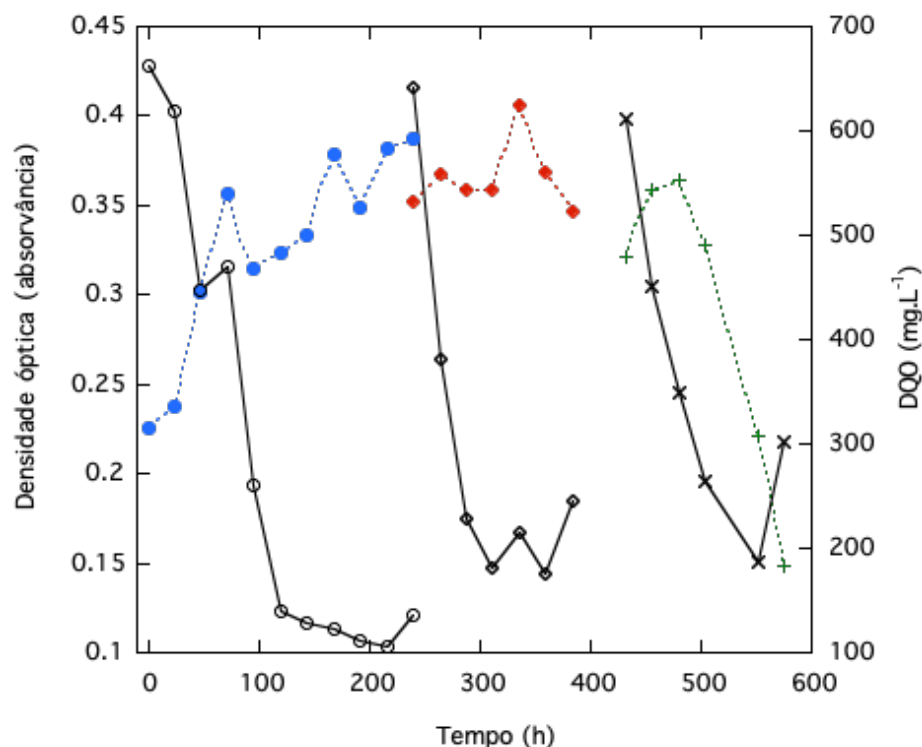


2.2.3.2 Ensaio 2; com controle de pH

Na segunda corrida experimental com densidade óptica inicial de 0,2 (

Figura 26), pode-se observar que a microalga cresce até o tempo de 216 h, que é quando a DQO aproxima-se de zero, mostrando um consumo de 84,16 % e uma velocidade de consumo de substrato de 2,58 mgDQOL⁻¹h⁻¹. Mesmo depois de uma nova alimentação, com uma solução concentrada de soro de queijo, a microalga manteve-se em fase estacionária, porém, a diminuição da DQO foi realizada em tempo menor (144 h), com um consumo de 72,54 % e velocidade de consumo de substrato de 3,23 mgDQOL⁻¹h⁻¹. Na última alimentação, a densidade óptica começou a decrescer possivelmente devido à sedimentação e incrustação nas paredes do reator. A DQO foi reduzida em um período ainda menor que os anteriores (120 h) com um consumo de 69,61 % e velocidade de consumo de substrato de 3,55 mgDQOL⁻¹h⁻¹.

Figura 26. Consumo de DQO e DO no “raceway” LED (três alimentações)



Pode-se reiterar o obtido no teste anterior, concluindo que o “raceway” em batelada alimentada é um processo excelente para a redução da DQO, enquanto que, para a produção de biomassa algal de *Spirulina platensis*, não é recomendado.

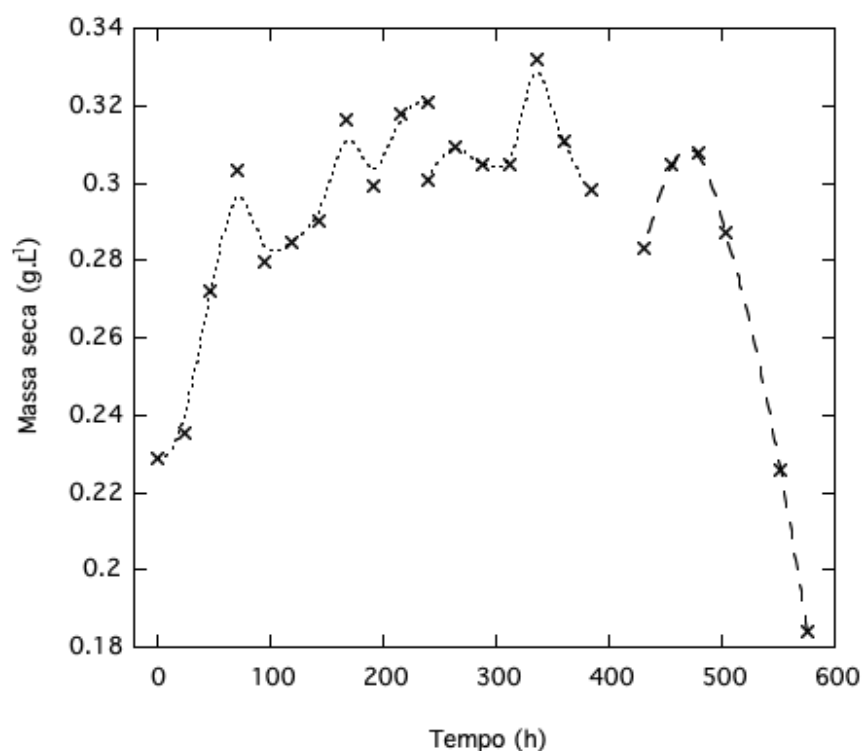
Na Figura 27, pode-se observar um aumento de $0,32 \text{ g.L}^{-1}$ na massa seca produzida até as 192 h, que representa o ponto em que a carga orgânica esgotou. Logo depois, com a segunda alimentação, a biomassa apresenta uma estabilidade mesmo com a diminuição da DQO, mas no ponto que a DQO esgota (384 h) a biomassa começa a decrescer. Analisando a

Figura 26, pode-se realizar a retirada da biomassa nas 168 h, já que é onde se apresenta o ponto de maior produção de biomassa e onde finaliza a redução da DQO.

Este padrão repete-se nos testes no reator “raceway”, levando a retirada da biomassa produzida no final da segunda alimentação do sistema.

MATSUDO et al. (2009) conseguiram acrescentar o número de etapas de crescimento da microalga *Spirulina platensis*, partindo da substituição da fonte de nitrogênio de uma solução padrão (Schlösser) por ureia, no qual mantêm-se as fontes de micro e macro nutrientes, realizando frações de corte da biomassa e variando o tempo de alimentação. Nesses estudos, a microalga não apresenta fase de adaptação (lag) ao meio com ureia, assim como os resultados mostrados no presente trabalho com meio soro de queijo, que podem ser observados na Figura 27.

Figura 27. Aumento da massa seca no “raceway” com luz LED tubular



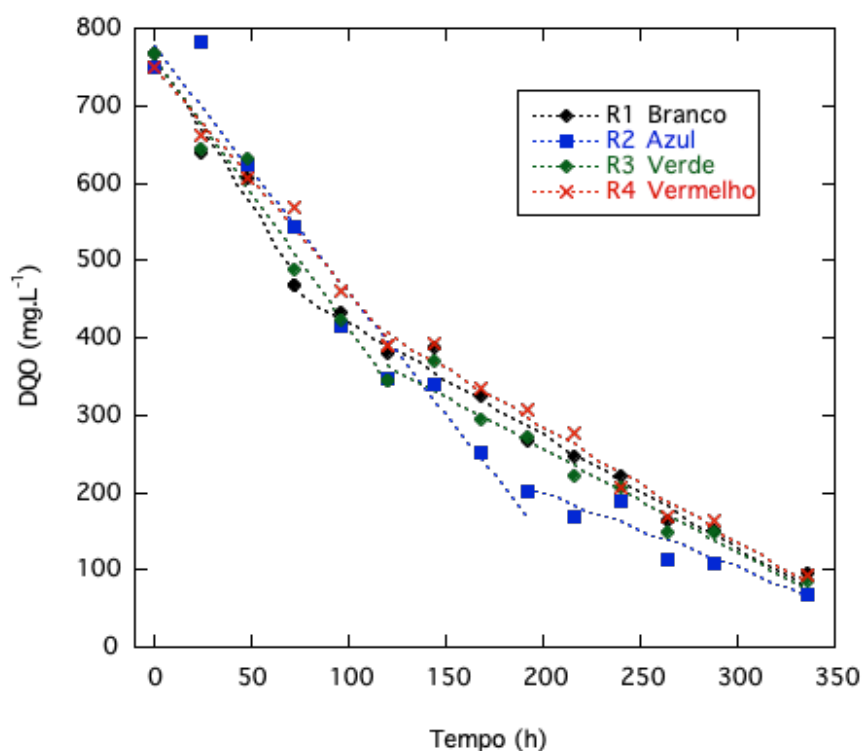
5.3 Reatores cilíndricos verticais

5.3.1 Cultivo em soro de queijo

Foi avaliada a redução da DQO no processo de crescimento da *Spirulina platensis* durante 15 dias com diferentes cores de luz, os resultados se mostram na Figura 28.

Durante os 15 dias de operação do reator, a redução final da DQO foi de 83, 86, 85, 84 % nos reatores R1 (branco), R2 (azul), R3 (verde) e R4 (vermelho) respectivamente, embora não se tenha observado efeito significativo pelo teste de ANOVA ($P=0,12528$). Todos os reatores tiveram quase o mesmo comportamento com ajuste linear R^2 de aproximadamente 0,90.

Figura 28. Redução da DQO do soro de queijo no crescimento da *Spirulina platensis* nos reatores agitados verticais em diferentes cores de luz (R1 branco, R2 azul, R3 verde e R4 vermelho)



A Tabela 7 mostra as velocidades de consumo do substrato para diferentes tempos, nos quatro reatores verticais agitados com sua respectiva cor de luz.

Tabela 7. Valores da redução da velocidade de consumo do substrato de *Spirulina platensis* em diferentes períodos de tempo.

Luz	Reator	Velocidade de consumo de substrato (mg DQO L ⁻¹ h ⁻¹)			
Branco	R1	t=(0-72)h	4,149±0,1522	t=(72-336)h	1,411±0,0027
Azul	R2	t=(0-192)h	2,849±0,0700	t=(192-336)h	0,941±0,0042
Verde	R3	t=(0-120)h	3,531±0,0383	t=(120-336)h	1,195±0,0417
Vermelho	R4	t=(0-120)h	2,985±0,1090	t=(120-336)h	1,375±0,0737

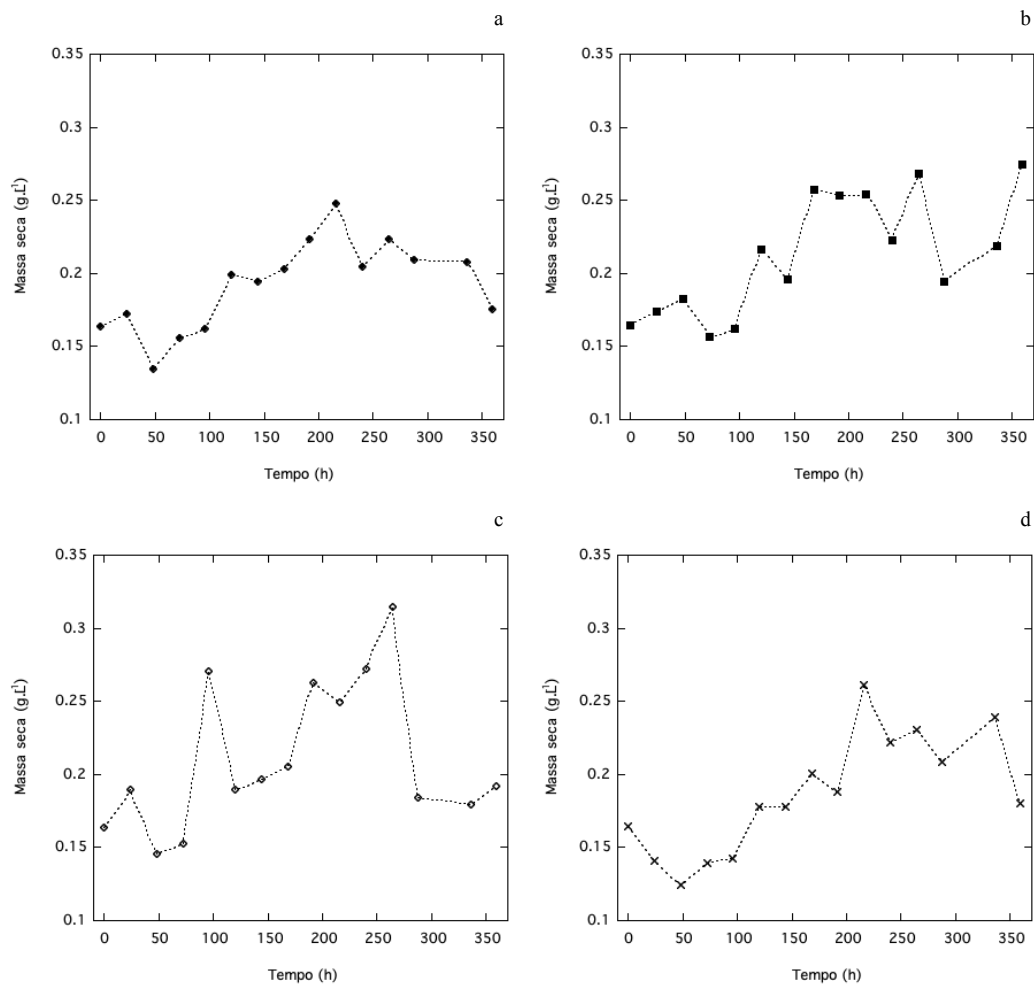
A luz tem influência sobre a velocidade de consumo do substrato. O melhor resultado foi observado no reator R1 em 72 h. No entanto, o reator R2 permaneceu em alta redução até 192 h, realizando o teste ANOVA no ponto final de remoção de DQO (336 h), e encontrou-se que não existe diferença significativa (Tabela 8).

Tabela 8. Dados analisados de eficiência de remoção de DQO pelo teste ANOVA

Tempo (h)	Cor de luz				Valor P ANOVA
	branca	azul	verde	vermelha	
336	83,5±0,7071	86,5±0,7071	85±1,4142	84,5±0,7071	0,12528

Na Figura 29, mostra-se o comportamento da massa seca ao longo do tempo, onde o R1 obteve 0,2479 g.L⁻¹, R2 0,2545 g.L⁻¹, R4 0,2611 g.L⁻¹ em 216 h, enquanto que o reator R3 obteve 0,3147 g.L⁻¹ em 264 h.

Figura 29. Comparação do aumento da biomassa seca de *Spirulina platensis* nos reatores com quatro sistemas diferentes de cores de luz (^aR1-Branca, ^bR2-Azul, ^cR3-Verde e ^dR4-Vermelho



Os reatores mostram velocidades de crescimento de biomassa de R1 $1,15 \pm 0,0019$, R2 $1,18 \pm 0,0075$, R3 $1,19 \pm 0,0123$ e R4 $1,21 \pm 0,0056$ mg.L⁻¹.h⁻¹. Realizando as análises de variância (ANOVA), nos valores anteriores, observa-se que existe diferença significativa com $P=0,00593$ (Tabela 9). Após realizar o teste Tukey, nota-se que a diferença se apresenta entre o R4 e R3 com o Reator R1, pelo que podemos mencionar que a cor de luz tem influência no crescimento da microalga *Spirulina platensis*, com melhores resultados na luz vermelha.

Tabela 9. Análise de variância e teste de Tukey dos sistemas iluminados com diferente cor de luz.

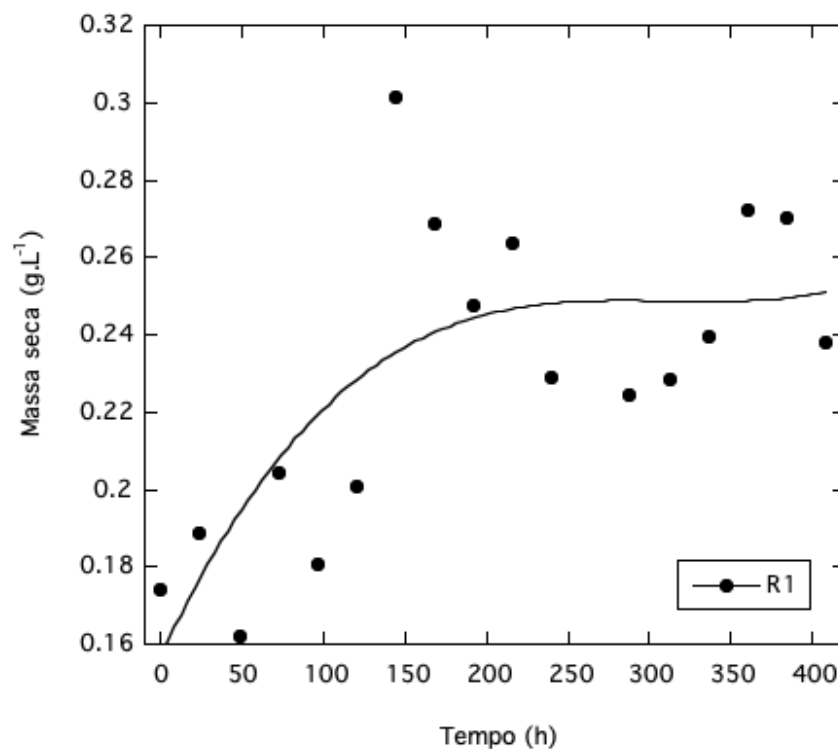
ANOVA					
Fonte de variação	Graus de liberdade	Desvio padrão	Cuadrado medio	Valor F	Valor P
Total	7	0,0042653	0,00060933		
A	3	0,00402303	0,00134101	22,140701	0,00593
Erro	4	0,00024227	6,06E-05		
TESTE TUKEY					
Comparação		Diferença média	95 %	Valor P	Teste q
			Intervalo de confiança		
R4 vs R1		0,0611	0,029419 a 0,092782	0,0049	11,1029
R4 vs R2		0,0305499	-0,0011316 a 0,062231	0,0561	5,5514
R4 vs R3		0,01665	-0,015032 a 0,048331	0,2814	3,0256
R3 vs R1		0,04445	0,012769 a 0,076132	0,0158	8,0773
R3 vs R2		0,0139	-0,017782 a 0,045581	0,3948	2,5259
R2 vs R1		0,0305501	-0,0011314 a 0,062232	0,0561	5,5515

WANG; FU; LIU (2007) encontraram que a melhor fonte de luz para crescer as microalgas é a luz vermelha emitida por diodos LED, com valores de produção de biomassa de 0,28 g.L⁻¹ em 5 dias com 1500 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$, 0,4 g.L⁻¹ em 5 dias com 2250 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ e 0,44 g.L⁻¹ em 4 dias com 3000 $\mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$.

5.3.2 Cultivo de *Spirulina platensis* em soro de queijo com pré-tratamento

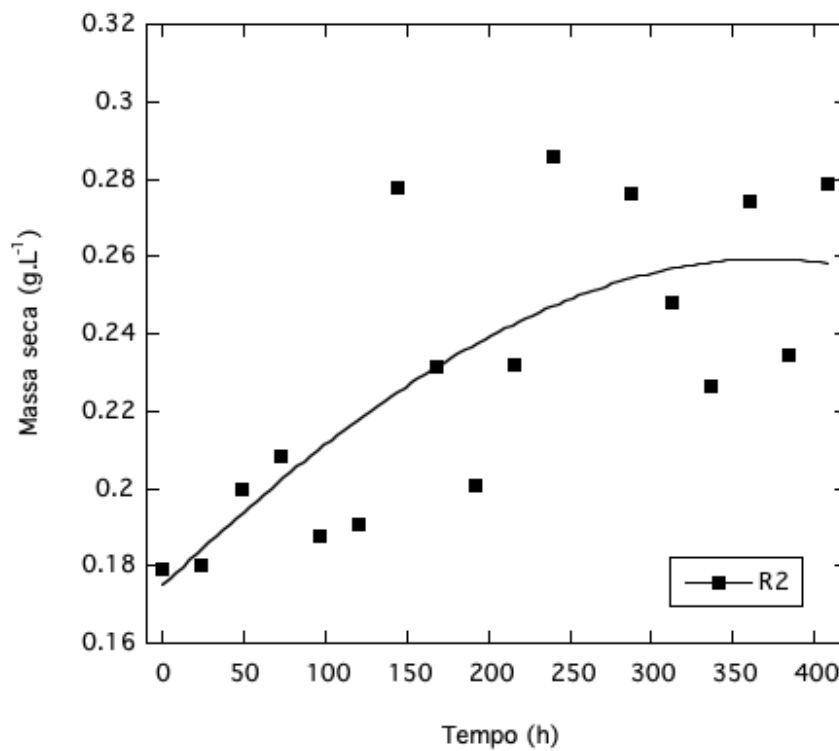
No reator R1 com luz branca, foi observado um crescimento máximo de 0,3528 de DO equivalente a 0,3014 g.L⁻¹ de biomassa em 144 h (Figura 30). Os resultados mostram muita variação, que pode ter acontecido por heterogeneidade do sistema.

Figura 30. Crescimento de biomassa seca de *Spirulina platensis* no R1 (luz branca) com meio soro de queijo com pré-tratamento



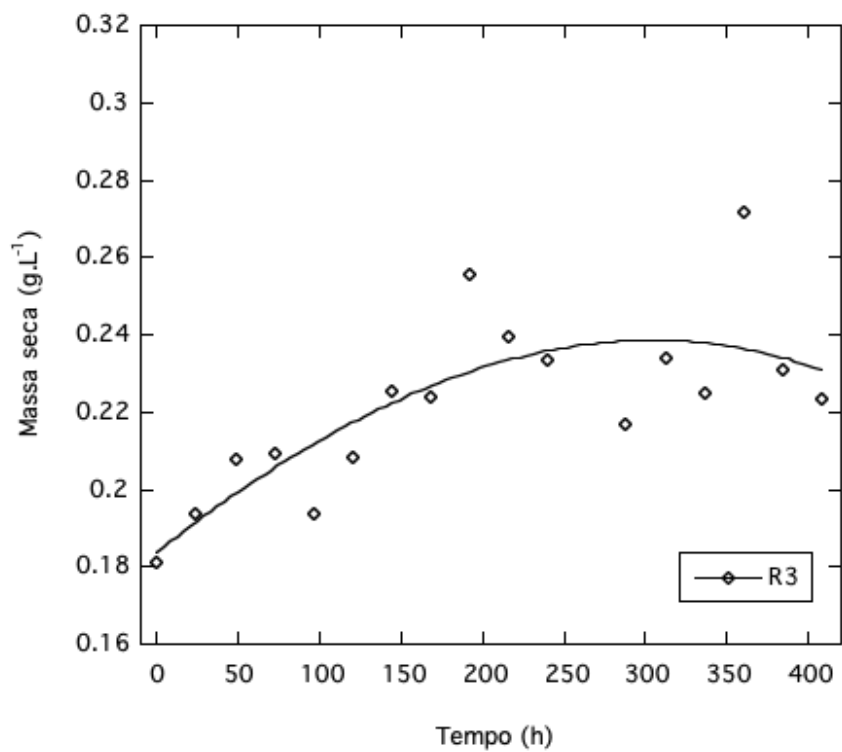
Na Figura 31, observa-se a quantidade de biomassa no R2 (luz azul), onde há o aumento e queda na produção de biomassa. O resultado máximo de DO é de 0,3115 em 144 h, enquanto o resultado máximo de biomassa seca é de 0,2777 g.L⁻¹.

Figura 31. Crescimento de biomassa seca de *Spirulina platensis* no R2 (luz azul) com meio soro de queijo com pre-tratamento



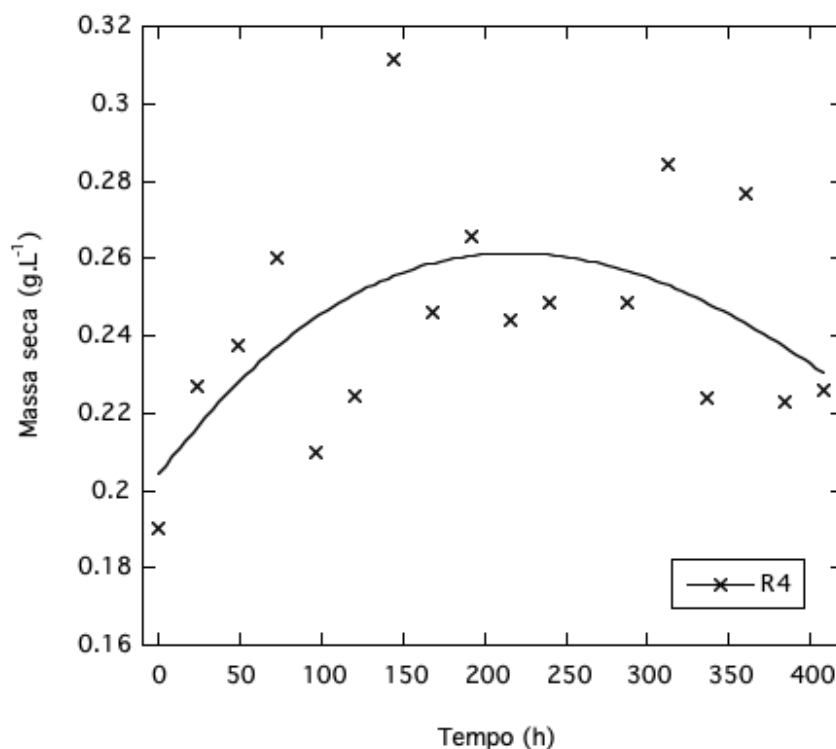
No reator R3 com luz verde, foi observado um crescimento máximo de 0,2207 de DO equivalente a 0,2555 g.L⁻¹ de biomassa em 192 h Figura 32.

Figura 32. Crescimento de biomassa seca de *Spirulina platensis* no R3 (luz verde) com meio soro de queijo com pre-tratamento



Na Figura 33, pode-se observar alta variação nos resultados, podendo ser ocasionados pela heterogeneidade do sistema. Os valores máximos de DO foram observados em 144 h com 0,3707, equivalente em biomassa seca a 0,3136 gL⁻¹.

Figura 33. Crescimento de biomassa seca de *Spirulina platensis* no R4 (luz vermelha) com meio soro de queijo com pre-tratamento



Analisando os dados e realizando os cálculos para determinar as velocidades de produção de biomassa, tem-se que os reatores obtiveram valores muito próximos, 2,09306, 1,92847 e 2,16389 mg.L⁻¹h⁻¹ para os reatores R1, R2 e R4 respectivamente e o R3 com velocidade de produção baixa com 1,33073 mg.L⁻¹h⁻¹. Pode-se observar o mesmo resultado que o teste anterior onde a luz vermelha proporciona a maior velocidade de produção de biomassa de *Spirulina platensis*, diferenciando que a luz branca em este teste obteve resultados próximos aos da luz vermelha, similar aos resultados obtidos por (WANG; FU; LIU, 2007).

Na Tabela 10, mostram-se os valores máximos de produção, comparados com o teste ANOVA, com não diferença significativa para a DO, biomassa seca e significativo para a velocidade de produção da microalga.

Tabela 10. Dados do cultivo em soro de queijo com pré-tratamento, analisados pelo teste de ANOVA.

Reator/Cor	Crecimento (DO)	Biomassa de <i>Spirulina platensis</i> (g.L ⁻¹)	Velocidade de produção de biomassa (mg.L ⁻¹ h ⁻¹)
R1 (branca)	0,3528±0,0767	0,3014±0,0440	2,0930±0,3055
R2 (azul)	0,3115±0,0912	0,2777±0,0523	1,9284±0,3631
R3 (verde)	0,2728±0,0324	0,2555±0,0186	1,3308±0,0966
R4 (vermelho)	0,3707±0,0425	0,3116±0,0243	2,1640±0,1691
Valores P ANOVA	0,07324	0,0731	<0,0001*

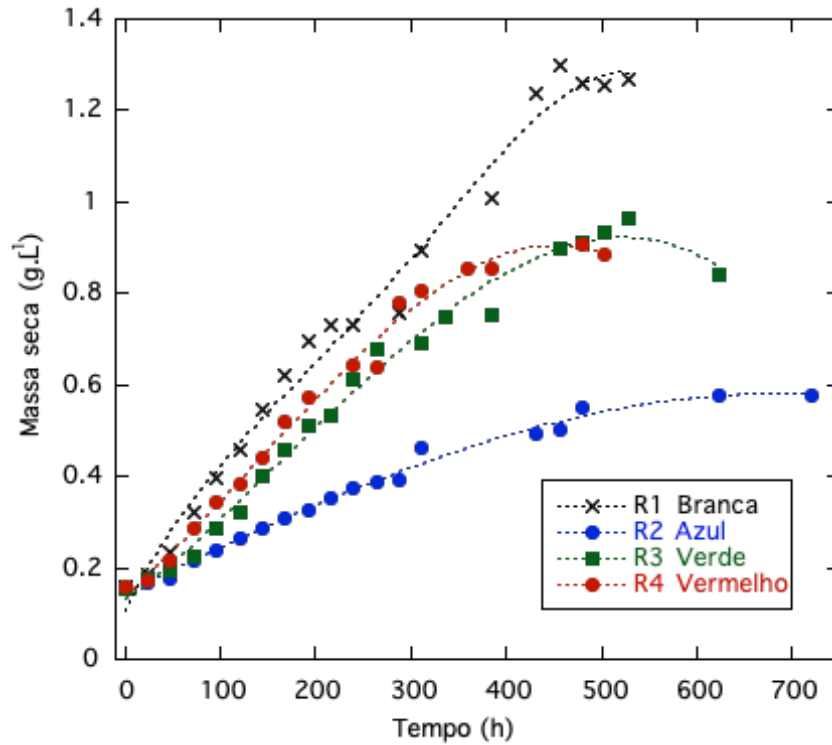
*Pelo teste de Tukey encontra-se diferença significativa entre os reatores R1, R2 e R4 com o reator R3, comprovando que no R3 obtém-se valores menores de velocidade de produção de biomassa de *Spirulina platensis*.

5.3.3 Cultivo em solução padrão Schlösser

5.3.3.1 Verificação colorimétrica

O crescimento nos reatores com diferentes cores de luz (R1-branca, R2-azul, R3-verde, R4-vermelha) mostra-se na Figura 34. Nestas condições, observou-se que em luz branca atingiram-se resultados de biomassa seca de 1.3 g.L⁻¹ em 456 h, seguidos de resultados similares de biomassa seca em luz vermelha de 0.9 g.L⁻¹ em 480 h, e em luz verde de 0.93 g.L⁻¹ em 528 h. O reator com luz azul obteve valor máximo de biomassa seca de 0.55 g.L⁻¹ em 480 h. Ravelonandro *et al.* (2008) trabalharam com um sistema fechado, obtendo uma produção de 2.6 g.L⁻¹ em luz branca e 1.7 g.L⁻¹ em luz azul ambos resultados em 384 h (16 dias), com agitação por fluxo de ar. Wang *et al.* (2007) obtiveram 0.44 g.L⁻¹ de biomassa em luz vermelha e em luz azul 0.1 g.L⁻¹, em 120 h (5 dias) em um sistema fechado.

Figura 34. Comparação do crescimento de *Spirulina platensis* com diferentes cores de luz (R1 branca, R2 azul, R3 verde e R4 vermelho).



Na Figura 34, ocorre uma fase lag de 48 horas para as luzes branca, verde e vermelha, no entanto, a luz azul manteve essa fase até às 72 horas, continuando com um crescimento lento, sendo a luz branca na qual se obtiveram os melhores resultados de biomassa. Os dados foram ajustados a equações de terceiro e quarto grau que explicam seu comportamento (Eqs. 6 a 9) nas condições estipuladas para estes ensaios.

$$Db = 0.10656 + 0.0042547 \cdot t - 1.4357e^{-5} \cdot t^2 + 34.123e^{-8} \cdot t^3 - 4.035e^{-11} \cdot t^4 \quad R^2 = 0.99422 - \mathbf{R1} \quad \text{Eq (6)}$$

$$Db = 0.14501 + 0.0010062 \cdot t - 1.2859e^{-7} \cdot t^2 - 6.0105e^{-10}t^3 \quad R^2 = 0.99204 - \mathbf{R2} \quad \text{Eq (7)}$$

$$Db = 0.13078 + 0.0015233 \cdot t + 2.855e^{-6} \cdot t^2 - 5.491e^{-9} \cdot t^3 \quad R^2 = 0.99003 - \mathbf{R3} \quad \text{Eq (8)}$$

$$Db = 0.14071 + 0.0018049 \cdot t + 3.2021e^{-6} \cdot t^2 - 7.6377e^{-9} \cdot t^3$$

$$R^2 = 0.9932 - R4$$

Eq (9)

Na Tabela 11 se mostram os valores analisados estatisticamente com o teste ANOVA e o teste de Tukey, onde no tempo 0 não existe diferença significativa, já nos pontos de 72, 144 e 312 existe diferença nos quatro reatores analisados, posteriormente no ponto 312 existe diferença nos reatores R1 e R2 o que explica o R1 ter os melhores valores e o R2 os piores, por ultimo no valor de 312 existe diferença significativa no R1 já que é onde se obtiveram os maiores valores de biomassa seca.

Tabela 11. Dados analisados da comparativa do crescimento com diferentes cores de luz com o teste de ANOVA

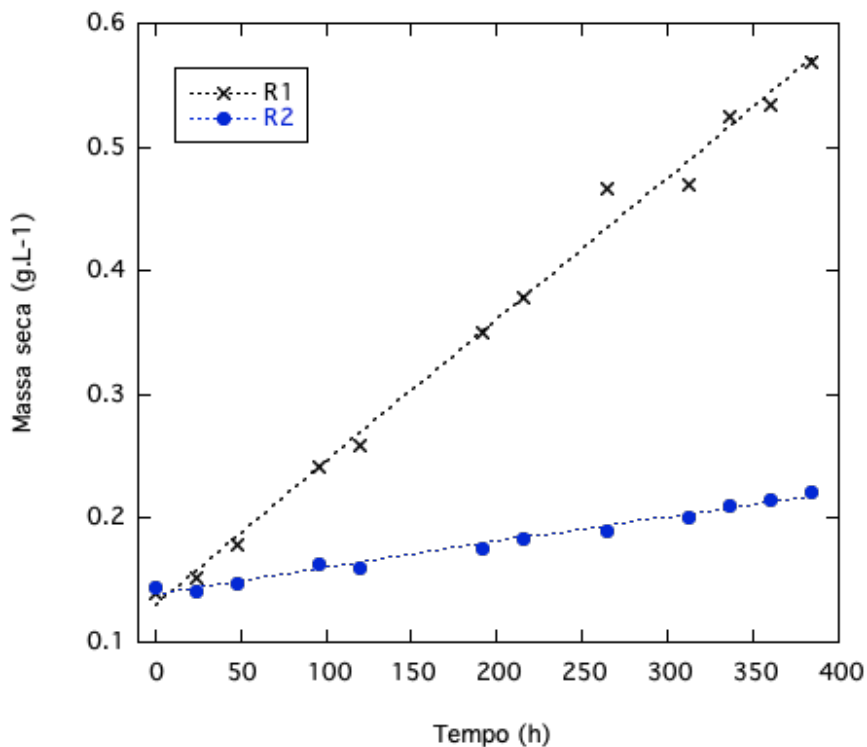
Tempo (h)	R1	R2	R3	R4	Valor P ANOVA	Tukey
0	0,1575± 0,0049	0,1561± 0,0012	0,1544± 0,0012	0,1590± 0,0004	0,42472	-
72	0,3198± 0,0000	0,2152± 0,0045	0,2264± 0,0008	0,2886± 0,0028	<0,0001	Todos
144	0,5467± 0,0069	0,2894± 0,0000	0,4010± 0,0085	0,4397± 0,0057	<0,0001	Todos
192	0,6952± 0,0158	0,3273± 0,0024	0,5100± 0,0028	0,5705± 0,0122	<0,0001	Todos
312	0,8916± 0,0373	0,4626± 0,0300	0,6923± 0,0053	0,8050± 0,0454	0,0008	R1 e R2
480	0,6788± 0,0397	0,5504± 0,0300	0,5054± 0,0134	0,5028± 0,0000	0,00682	R1 e R2

-Não aplica, já que não existe diferença significativa

5.3.3.2 Variação da intensidade de luz

Realizaram testes em que a intensidade de luz foi variável. Definiu-se em intensidade alta e intensidade baixa, correspondente ao máximo e mínimo de luz que podem fornecer as fitas LED. Na Figura 35, mostram-se os valores obtidos de biomassa em solução Schlösser, onde o R1 é a intensidade alta (3000 Lx) e R2 é a intensidade baixa (650 Lx).

Figura 35. Biomassa de *Spirulina platensis* obtida nos reatores com intensidades alta e baixa para solução Schlösser.

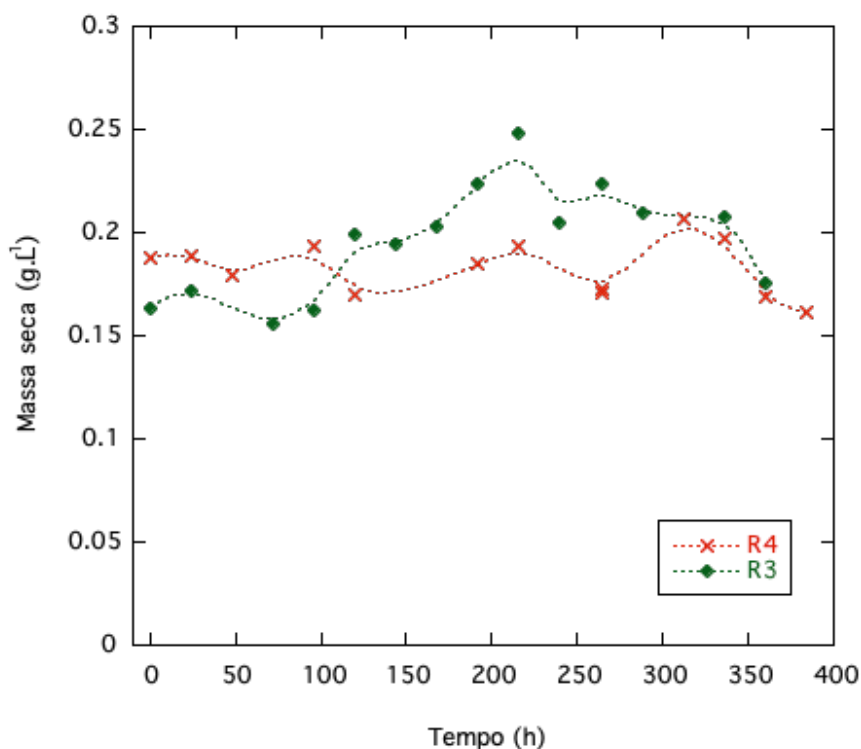


Observa-se que a intensidade de luz fornecida é um fator que afeta o crescimento da microalga, já que na maior intensidade se atinge maiores valores de biomassa em solução Schlösser.

As curvas da Figura 36 mostram o crescimento da biomassa em soro de queijo em intensidade alta R3 e baixa R4. Pode-se observar que em baixa

intensidade a microalga não cresce, o que pode ser explicado pois o soro de queijo é um meio turvo e quando a intensidade de luz é baixa não atinge a microalga. Os valores de biomassa na intensidade máxima são baixos, aproximadamente $0,25 \text{ g.L}^{-1}$ em 216 h.

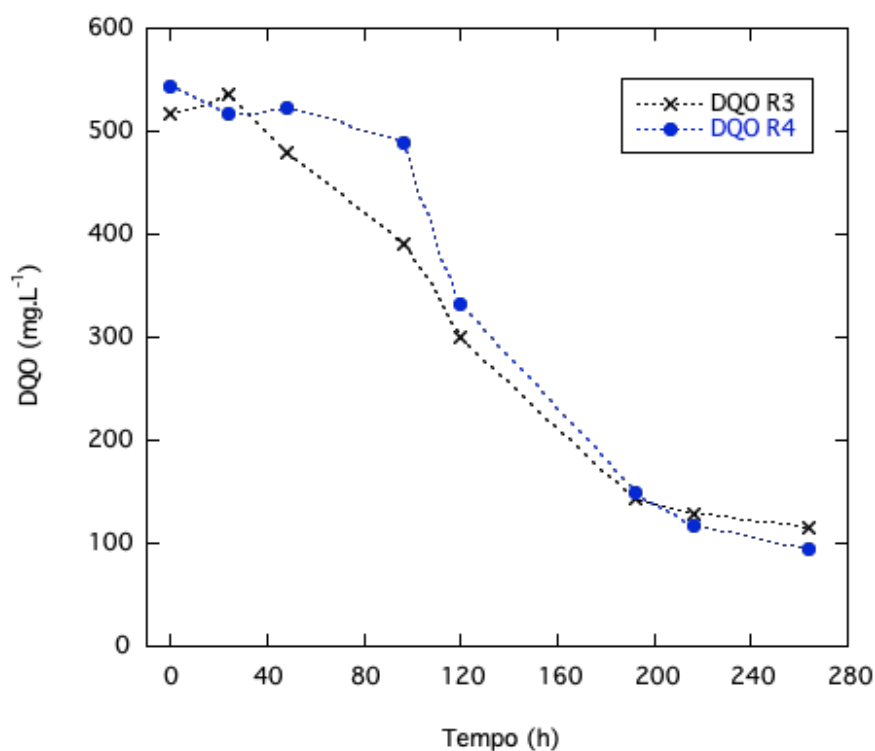
Figura 36. Biomassa de *Spirulina platensis* obtida nos reatores com intensidades alta e baixa para solução soro de queijo.



WANG; FU; LIU (2007) determinaram que quanto maior a intensidade de luz é maior a quantidade de biomassa produzida.

Na Figura 37, apresenta-se a remoção da DQO nas intensidades alta e baixa de luz. O reator R3 com intensidade maior mostra uma velocidade maior de consumo nas primeiras 120 h, mas no final da batelada o valor é muito próximo com o do reator R4 com intensidade baixa. Ou seja, a partir de 120 h, a intensidade de luz pouco interfere no consumo de substrato.

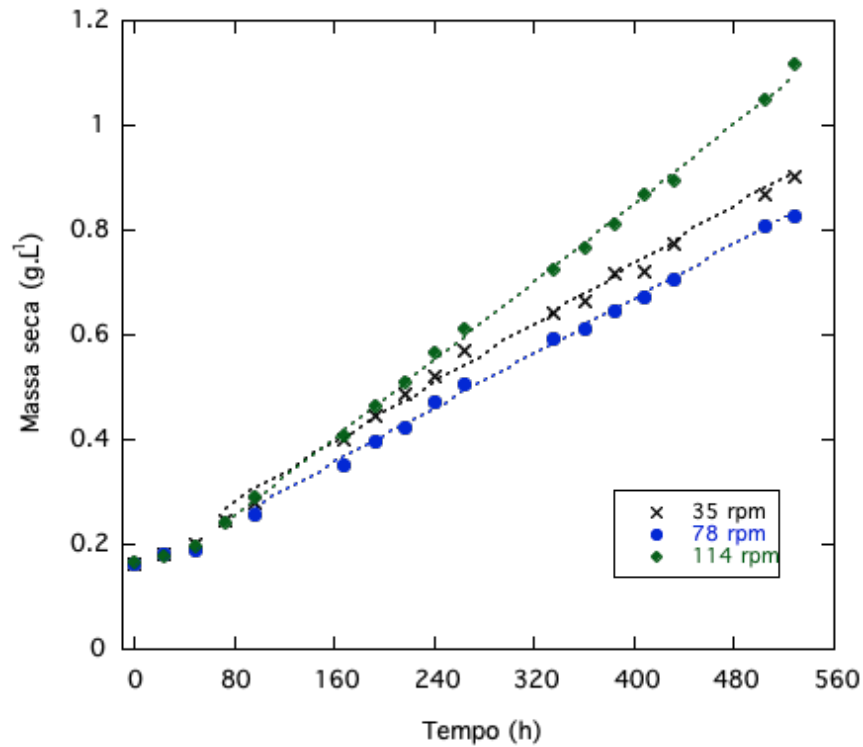
Figura 37. DQO removida nas intensidades alta R3 e baixa R4.



5.3.3.3 Variação da velocidade de agitação

O crescimento nos reatores foi realizado com luz branca e três diferentes velocidades de agitação (35, 78 e 114 rpm). Pode-se observar, na Figura 38, que os melhores resultados se encontram na velocidade de 114 rpm, com valores $1,1 \text{ g.L}^{-1}$, posteriormente encontram-se a velocidade de 35 rpm com valores de $0,9 \text{ g.L}^{-1}$ e por último a velocidade de 78 rpm com $0,82 \text{ g.L}^{-1}$ todos em um tempo de 528 h (22 dias). Ravelonandro *et al.* (2011) suportaram resultados de produção de biomassa de $1,8 \text{ g.L}^{-1}$ em 16 dias, com um sistema de injeção de borbulhas de ar em meio Zarrouk modificado e luzes fluorescentes brancas com intensidade de 600 Lx. Cabe ressaltar que os valores de produtividade obtidos pelos autores anteriormente mencionados são maiores. No entanto, as condições utilizadas foram diferentes.

Figura 38. Comparação do crescimento de *Spirulina platensis* em diferentes velocidades de agitação.



Na Figura 38, pode-se observar que até as 72 horas os três ensaios mantiveram-se numa fase lag ou de adaptação. No entanto, o ensaio a 78 rpm se manteve em fase lag até as 48 horas. Posteriormente a estes períodos, realizou-se um ajuste do crescimento da biomassa obtendo-se um comportamento linear (Eqs. 10 a 12).

$$Db = 0.16627 + 0.0014082 \cdot t \quad R^2 = 0.99392 - 35 \text{ rpm} \quad \text{Eq (10)}$$

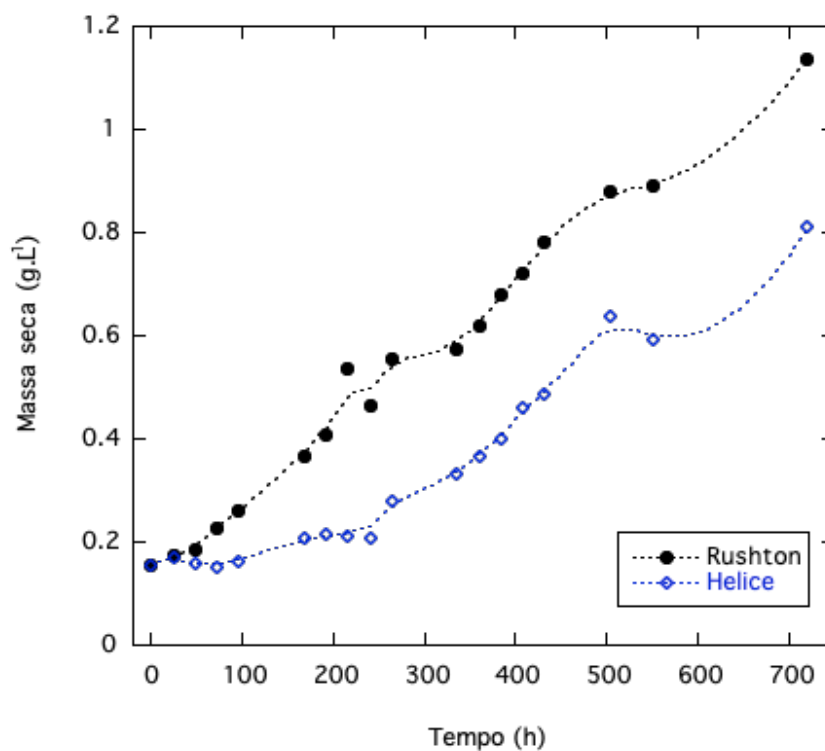
$$Db = 0.14363 + 0.0013089 \cdot t \quad R^2 = 0.99675 - 78 \text{ rpm} \quad \text{Eq (11)}$$

$$Db = 0.10536 + 0.0018698 \cdot t \quad R^2 = 0.99808 - 114 \text{ rpm} \quad \text{Eq (12)}$$

5.3.3.4 Variação do tipo de geometria (agitador)

Na Figura 39, pode-se observar o crescimento celular com dois tipos de agitadores (Rushton e hélice). Os dois tipos de agitadores mostram uma fase lag de aproximadamente 48 h. Posterior a esse ponto, o agitador tipo Rushton segue um comportamento quase linear até o final da batelada. Por outra parte, o agitador tipo hélice tem uma fase de adaptação até 240 h. Posterior a este período, apresenta-se o mesmo comportamento que o agitador Rushton, porém com um coeficiente angular menor, resultando em uma quantidade menor de biomassa.

Figura 39. Comparação da biomassa de *Spirulina platensis* obtida com agitador tipo Rushton e hélice.



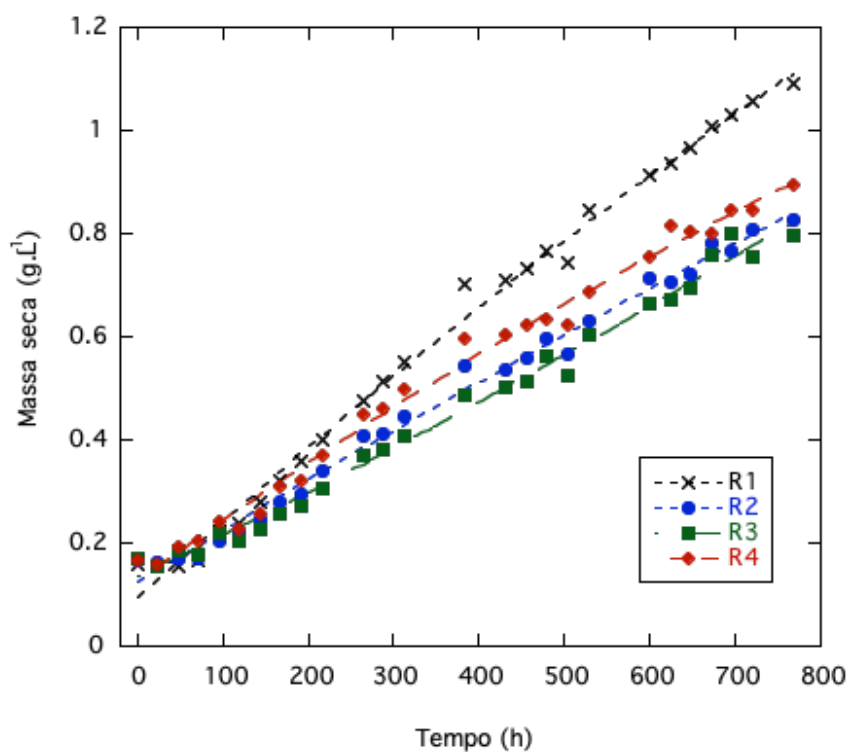
Observa-se valores de biomassa produzidos de 1,1375 e 0,8116 g.L⁻¹ em 720 h para cada agitador (Rushton e hélice) respectivamente, com velocidade de crescimento de biomassa de: Rushton 1,5799 mg.L⁻¹h⁻¹ e hélice 1,1272 mg.L⁻¹h⁻¹.

Os agitadores tipo Rushton atuam efetivamente para empurrar o líquido (fluxo radialmente) ao longo das lâminas e assim produzir um padrão circular predominante de fluxo ao redor do eixo da pá. Por outra parte, os agitadores de hélice são projetados para produzir principalmente um fluxo axial com redemoinho nele devido à rotação da hélice (HYMAN, 1962). Portanto, devido a que os agitadores de hélice produzem uma maior turbulência, pode existir ruptura celular e menor tempo de incidência de luz, resultando o agitador Rushton ideal para a agitação da microalga *Spirulina platensis*.

5.3.7 Análises do stress luminoso

A Figura 40 mostra uma tendência de crescimento de forma linear a partir das 48 h até as 720 h analisadas, pelo que não foi possível observar uma fase decrescente da microalga.

Figura 40. Comparação do crescimento de *Spirulina platensis* com stress luminoso.



Na Figura 40, pode-se observar uma fase lag de 72 horas na luz branca, “smooth” e “strobe” (reator R1, R2 e R3 respectivamente). Já a luz com função “flash” mostrou uma fase lag de 48 horas. Foi realizado o ajuste dos dados em equações de grau 2 que permitem prever o comportamento destes resultados sob as condições deste ensaio.

$$Db = 0.093309 + 0.0015031 \cdot t - 2.3227e^{-7} \cdot t^2 \quad R^2 = 0.9935 - R1 \quad \text{Eq (13)}$$

$$Db = 0.12283 + 0.0010161 \cdot t - 1.0804e^{-7} \cdot t^2 \quad R^2 = 0.99122 - R2 \quad \text{Eq (14)}$$

$$Db = 0.13466 + 0.00079055 \cdot t + 1.404e^{-7} \cdot t^2 \quad R^2 = 0.99013 - R3 \quad \text{Eq (15)}$$

$$Db = 0.12583 + 0.0011999 \cdot t - 2.5162e^{-7} \cdot t^2 \quad R^2 = 0.99125 - R4 \quad \text{Eq (16)}$$

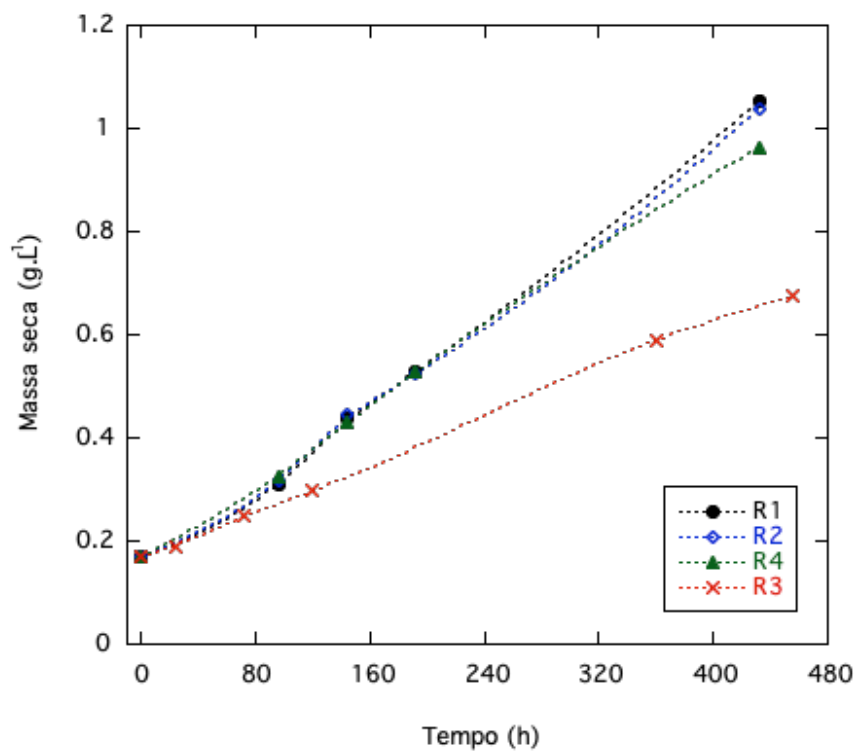
O crescimento máximo nos reatores com luzes intermitentes foi de: R1 1,1 g.L⁻¹, R2 0.83 g.L⁻¹, R3 0.78 g.L⁻¹ e R4 0.9 g.L⁻¹ todos em 768 h.

As velocidades de produção de biomassa para cada reator foram: R1 1.432 mg.L⁻¹h⁻¹, R2 1.081 mg.L⁻¹h⁻¹, R3 1.017 mg.L⁻¹h⁻¹, R4 1.028 mg.L⁻¹h⁻¹, onde o reator R1 apresentou uma maior velocidade.

5.3.8 Cultivo de *Spirulina platensis* em solução padrão Schlösser: variável Área superficial com incidência de luz

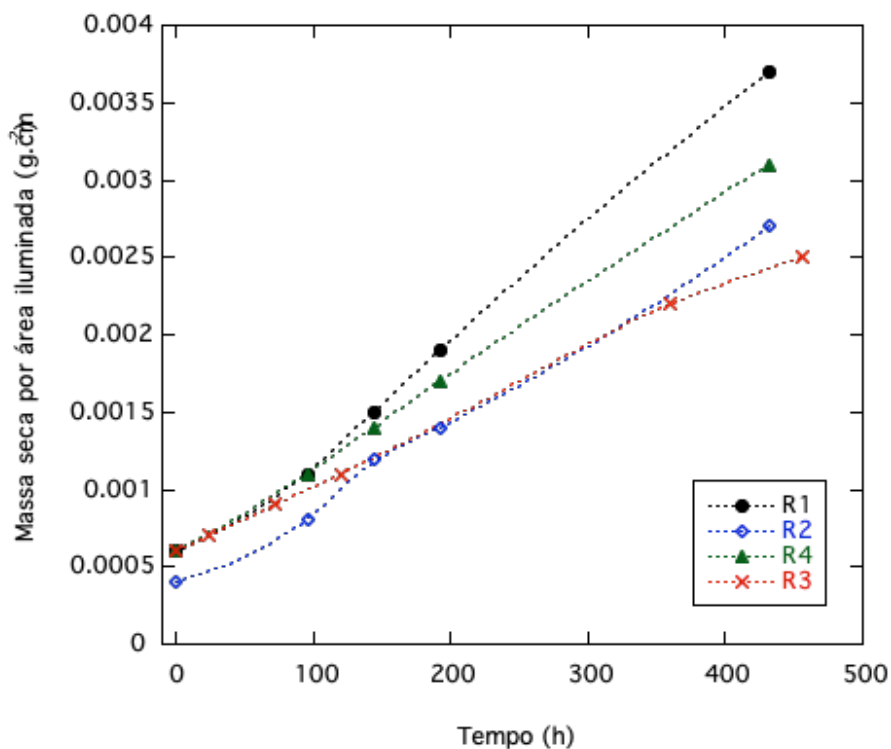
Na Figura 41, pode-se observar que o R3 teve uma menor produção de biomassa, enquanto que nos outros reatores os valores de biomassa assim como o comportamento são muito similares, onde as velocidades de crescimento de biomassa são de 2,43657, 2,40556, 1,48421 e 2,2294 mg.L⁻¹h⁻¹ respectivamente para cada reator R1, R2, R3 e R4.

Figura 41. Biomassa seca de *Spirulina platensis* produzida nos reatores com diferentes áreas superficiais.



Na Figura 42, mostram-se os dados de biomassa por área iluminada ao longo da batelada.

Figura 42. Biomassa seca de *Spirulina platensis* por área iluminada nos reatores com diferentes áreas superficiais.



Para uma melhor análise dos dados, foram tabelados os resultados de biomassa e algumas características de operação de cada reator na Tabela 12, na qual observa-se que conforme aumenta a área de reator a quantidade de biomassa em g.L⁻¹ aumenta, porém o reator R1 não segue esse comportamento, já que ele obteve uma quantidade maior de luz fornecida. Na coluna 5 mostra-se a biomassa em gramas de *Spirulina platensis* por cm⁻² iluminado, onde o reator R1 tem o maior valor obtido, mesmo ele não sendo o reator com maior área, mas sim com maior intensidade.

Tabela 12. Comparação da biomassa de *Spirulina platensis* obtida em cada reator e características de operação.

Reator	Tempo (h)	Volume de operação (L)	Biomassa (g.L ⁻¹)	Área do reator (cm ²)	Biomassa (g.cm ⁻²)	Intensidade fornecida (Lx)
R3	456	2	0,6768	540,00	0,0025	7250
R1	432	2	1,0526	570,00	0,0037	8150
R4	432	2	0,9631	615,00	0,0031	7550
R2	432	2	1,0392	769,69	0,0027	6300

TAKACHE et al. (2009) utilizaram dois tipos de fotobioreactores e agitação (geometria) diferentes com a mesma quantidade de luz fornecida e mesma área específica, e concluem que se atingem os mesmos níveis de biomassa máxima volumétrica para a microalga *C. reinhardtii*.

5.3.9 Análise geral

Na Tabela 13, observam-se os resultados de biomassa seca e produtividade para os diferentes testes realizados ao longo desta pesquisa com os meios usados. Os melhores resultados foram em meio Schlösser nos reatores verticais agitados com 2.85 mg.L⁻¹h⁻¹ (luz branca).

Tabela 13. Valores máximos obtidos de biomassa seca nos diferentes reatores e nas diferentes condições usadas.

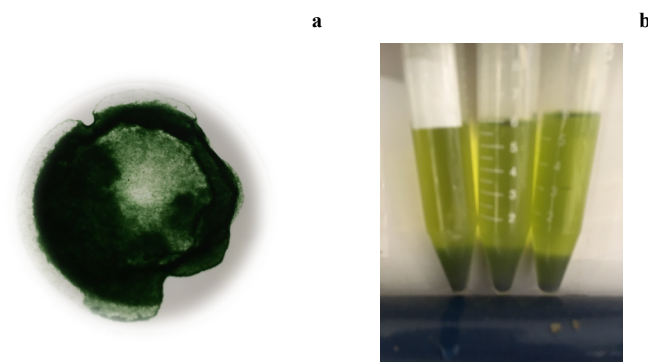
Reator	Meio	Velocidade/luz /Intensidade /geometria/stress/Área	Biomassa seca (g.L ⁻¹)	Tempo (h)	Produtividade (mg.L ⁻¹ h ⁻¹)
Erlenmeyer	Schlösser	Incandescente	0,71	288	2,5
	Soro de queijo		0,49	288	1,67
Raceway	Soro de queijo	Direita	0,4	372	1,07
		Centro	0,45	264	1,07
		LED	0,32	192	1,67
Reatores verticais agitados	Soro de queijo	Branco	0,25	216	1,15
		Azul	0,25	216	1,18
		Verde	0,31	264	1,19
		Vermelho	0,26	216	1,21
	Soro com Pré-tratamento	Branco	0,30	144	2,10
		Azul	0,28	144	1,93
		Verde	0,25	192	1,33
		Vermelho	0,31	144	2,16
	Schlösser	Branco	1.3	456	2.85
		Azul	0.55	480	1.14
		Verde	0.93	528	1.76
		Vermelho	0.9	480	1.87
	Schlösser	Alta	0,57	384	1,48
		Baixa	0,22	384	0,57
	Soro de queijo	Alta	0,25	216	1,15
		Baixa	0,21	312	0,66
	Schlösser	35 rpm	0.9	528	1.70
		78 rpm	0.82	528	1.55
		114 rpm	1.1	528	2.08
	Schlösser	Rushton	1,14	720	1,58
		Hélice	0,81	720	1,13
	Schlösser	Branco	1.1	768	1.43
		Smooth	0.83	768	1.08
		Gradiente intensidade	0.78	768	1.02
		Flash	0.9	768	1.17
	Schlösser	R1 570 cm ²	1,05	432	2,44
		R2 769,69 cm ²	1,04	432	2,40
		R3 540 cm ²	0,68	456	1,48
		R4 615 cm ²	0,96	432	2,23

Danesi et al. (2011) realizaram testes de influência da temperatura sob o crescimento da microalga, mostrando que em valores entre 30 e 33 °C obtém-se as maiores produções de biomassa de *Spirulina platensis*, enquanto que em valores próximos a 25 e 35 °C existe uma diminuição da biomassa, os dados assemelham-se com os resultados obtidos no presente trabalho, os ensaios realizados a 25 e 35 °C mostram menor produtividade comparados com os ensaios realizados a 30 °C. Nos ensaios realizados a 25 e 35 °C a fase lag é de aproximadamente 72 horas, enquanto que os ensaios realizados a 30 °C são só de 48 horas.

5.4 Clorofila a e Feofitina a

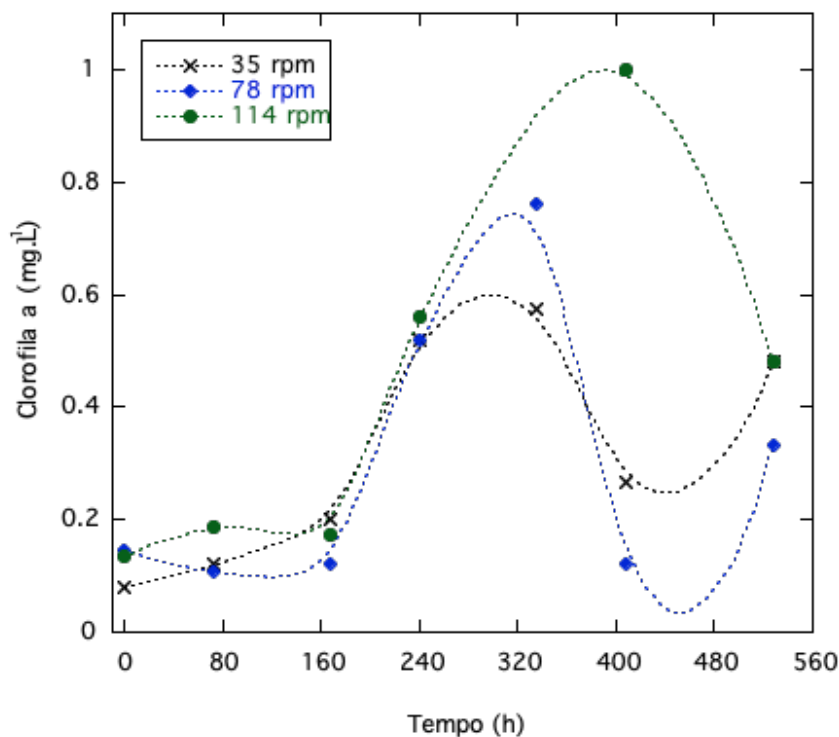
A biomassa filtrada^(a) para a extração da clorofila a se mostra na Figura 43, assim como também se mostram tubos com a mistura extraída com acetona 90 % de clorofila a^(b).

Figura 43. Biomassa de *Spirulina platensis* filtrada e Clorofila a extraída em acetona 90 %.



Durante o processo de crescimento da microalga (Figura 44) o conteúdo de clorofila a mantém-se estável (estacionária) durante 168 horas, porém, em maior velocidade de agitação, são obtidos valores maiores.

Figura 44. Clorofila a durante o crescimento da *Spirulina platensis* com velocidade de agitação variável.



Na Tabela 14, mostram-se as eficiências, velocidades de produção de Clorofila a e clorofila específica nas diferentes velocidades. Na velocidade de 114 rpm se alcança o maior valor de produção de Clorofila a e maior velocidade de produção. Onde a Clorofila específica é calculada dividindo a clorofila a pela biomassa em determinado tempo de crescimento durante a batelada.

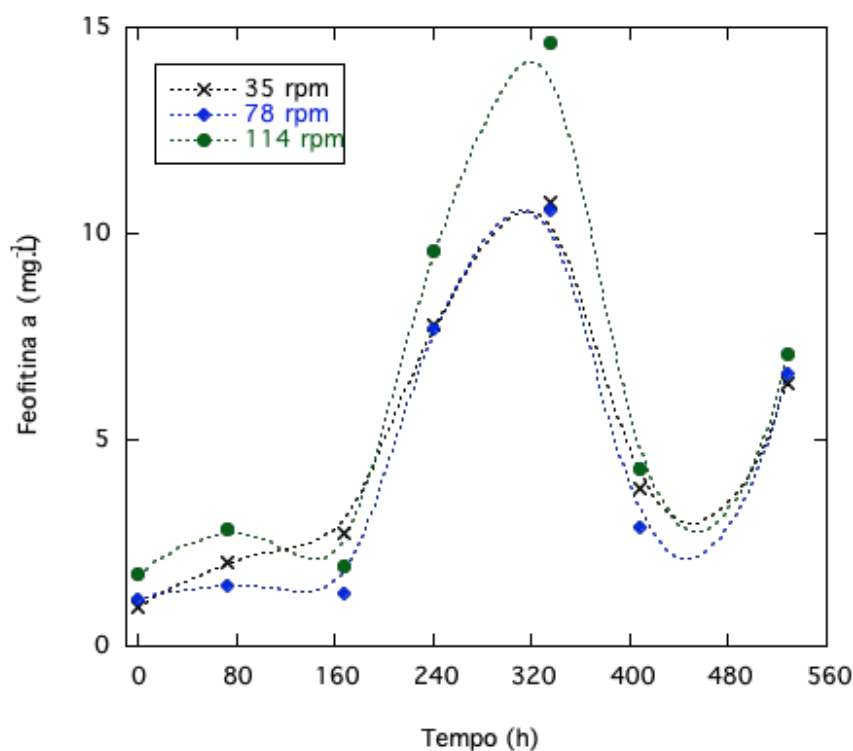
Tabela 14. Produção de Clorofila a, velocidade de produção e clorofila específica obtidos da biomassa de *Spirulina platensis* em diferentes velocidades de agitação.

Velocidade de agitação	Tempo de batelada	Clorofila a	Velocidade de produção	Clorofila específica
(rpm)	(h)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹ h ⁻¹)	
35	336	0,4940	0,00147	0,000771
78	336	0,6141	0,00183	0,001034
114	408	0,8678	0,00213	0,001001

CHEN et al. (2010) obtiveram 2 mg.L^{-1} de Clorofila a em 3 dias a $700 \mu\text{mol.m}^{-2}\text{s}^{-1}$ com díodos LED de luz branca. Abaixo dessa intensidade, a produção de Clorofila é baixa.

O conteúdo de Feofitina a, durante a batelada, é mostrado na Figura 45, onde observa-se claramente o mesmo comportamento, do tempo 0 até as 168 h, sem produção do pigmento. Depois desse ponto, o aumento é considerável atingindo valores de $14,637 \text{ mg.L}^{-1}$ em 336 h, e, posteriormente, há uma queda na produção.

Figura 45. Feofitina a durante o crescimento da *Spirulina platensis* com velocidade de agitação variável.



Na Tabela 15, mostram-se as eficiências, velocidades de produção de feofitina a e a feofitina específica nas diferentes velocidades. Onde a Feofitina específica é calculada dividindo a feofitina a pela biomassa em determinado tempo de crescimento durante a batelada. Na velocidade de 114 rpm se alcança o maior valor de produção de feofitina a e maior velocidade de produção.

Tabela 15. Produção de Feofitina a, velocidade de produção e feofitina específica obtidos da biomassa de *Spirulina platensis* em diferentes velocidades de agitação.

Velocidade de agitação	Tempo de batelada	Feofitina a	Velocidade de produção	Feofitina específica
(rpm)	(h)	(mg.L ⁻¹)	(mg.L ⁻¹ h ⁻¹)	
35	336	9,77	0,0291	0,015247
78	336	9,43	0,0281	0,015871
114	336	12,91	0,0384	0,017772

6. CONCLUSÕES

Dentre os três comprimentos de onda estudados (560, 590 e 670 nm), o melhor resultado de absorção, para avaliar o crescimento da microalga, foi em 590 nm. Mesmo apresentando menor crescimento da biomassa, o soro de queijo tem potencial para substituir o meio padrão Schlösser devido aos custos entre ambos;

A *Spirulina platensis* demonstrou ser um bom micro-organismo para tratar o resíduo soro de queijo, pois pode atingir valores de remoção de 90 %;

O processo de batelada alimentada é uma boa alternativa para a remoção da DQO, enquanto que para a produção de biomassa algal não é recomendado tal processo e sim um processo de batelada tradicional;

O reator “raceway”, por ser um sistema aberto, precisa de maior controle de pH. Uma alta luminosidade (5000-6000 Lx) produziu foto-inibição do crescimento da microalga em meio soro de queijo, originando uma biomassa de coloração laranja (carotenoides);

A agitação dos reatores verticais mostrou-se mais eficiente utilizando-se três agitadores tipo rushton de 4 cm e um, rente à base do biorreator, de 6 cm de diâmetro, que impediu a sedimentação da biomassa;

A cor de luz não faz diferença na remoção da DQO do soro de queijo, mas no crescimento da biomassa a diferença é significativa na luz vermelha e na luz azul não é recomendada para a obtenção de biomassa de *Spirulina platensis*;

O soro com pré-tratamento permite obter maior concentração de biomassa;

Na solução Schlösser a luz teve influência no crescimento da microalga. A luz branca foi a melhor opção para promover o maior crescimento da microalga, enquanto que a luz azul não é recomendada para o crescimento da microalga *Spirulina platensis*;

No reator vertical; a maior intensidade de iluminação se obtiveram melhores resultados de produção de biomassa em meio Schlösser, enquanto que para o meio soro de queijo não se observou variação significativa. A remoção da DQO não foi influenciada pela intensidade de luz;

A velocidade de agitação, mostrou que, à maior velocidade, foram produzidos maiores valores de biomassa;

O agitador Rushton (agitação radial) mostrou ser o mais eficiente para o crescimento da microalga, pois o processo apresentou menor tempo de fase lag e maior quantidade de biomassa produzida;

A variável stress de luz representa um efeito negativo para o crescimento da microalga;

Na variável área superficial, quanto maior área iluminada, maior o crescimento da microalga, porém a intensidade da luz foi um fator muito importante;

A temperatura influenciou o crescimento da *Spirulina platensis*, pois foram obtidos maiores valores de produtividade a 30 °C;

O melhor reator para o crescimento da microalga foi o vertical agitado com fitas LED (luz branca) com meio Schlösser;

Na maior velocidade de agitação se obteve maior concentração de Clorofila a, assim como de Feofitina a.

7. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Efetuar estudos mais amplos sobre a velocidade de agitação (maior faixa de velocidades);
- Avaliar o efeito de chicanas, em conjunto com a agitação do sistema;
- Determinar o efeito da oxigenação do sistema on-line (introdução de eletrodos);
- Avaliar a produtividade do sistema em batelada sequencial (%vol. no reator - %vol. de alimentação)
 - 80-20; 60-40; 40-60; 20-80
- Realizar estudos de sedimentação da microalga;
- Efetuar a ampliação de escala do sistema vertical;
- Estudar a produção de carotenoides.

REFERÊNCIAS

- ALLINGER, N. L. et al. **Química orgánica**. 2 ed. Barcelona, Espanha: Reverté, 1978.
- ALMEIDA, K. E. DE; BONASSI, I. A.; ROÇA, R. D. O. Características Físicas E Químicas De Bebidas Lácteas Fermentadas E Preparadas Com Soro De Queijo Minas Frescal. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 187–192, 2001.
- ANDERSEN, R. A. Diversity of eukaryotic algae. **Biodiversity and Conservation**, v. 1, n. 4, p. 267–292, 1992.
- ANDRADE-LINARES, D. R.; LEHMANN, A.; RILLIG, M. C. Microbial stress priming: a meta-analysis. **Environmental Microbiology**, v. 18, n. 4, p. 1277–1288, abr. 2016.
- AVILA-LEON, I. et al. *Arthrospira platensis* biomass with high protein content cultivated in continuous process using urea as nitrogen source. **Journal of Applied Microbiology**, v. 112, n. 6, p. 1086–1094, 2012.
- BAO, Y. et al. An optical-density-based feedback feeding method for ammonium concentration control in *Spirulina platensis* cultivation. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 22, n. 7, p. 967–974, 2012.
- BEZERRA, R. P. et al. Influence of ammonium chloride feeding time and light intensity on the cultivation of *Spirulina (Arthrospira) platensis*. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 100, n. 2, p. 297–305, 2008.
- BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. **Journal of Biotechnology**, v. 70, n. 1–3, p. 313–321, abr. 1999.
- CARVALHO, F.; PRAZERES, A. R.; RIVAS, J. **Cheese whey wastewater: Characterization and treatment Science of the Total Environment**, 2013.
- CHAKDAR, H.; PABBI, S. Algal Pigments for Human Health and Cosmeceuticals. In: **Algal Green Chemistry**. Elsevier, 2017. p. 171–188.
- CHAUMONT, D. Biotechnology of algal biomass production: a review of systems for outdoor mass culture. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 6, p. 593–604, 1993.
- CHEN, H.-B. et al. Modeling on chlorophyll a and phycocyanin production by *Spirulina platensis* under various light-emitting diodes. **Biochemical Engineering Journal**, v. 53, n. 1, p. 52–56, dez. 2010.

CLESCERI, L. S. et al. **Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. American Public Health Association, 1998.

COLLA, L. M. et al. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 7, p. 1489–1493, 2007.

CORDI, L. et al. Intumescimento filamentoso no processo de lodos ativados aplicado ao tratamento de soro de queijo : caracterização e uso de flocculantes para melhorar a sedimentabilidade bulking on the activated sludge process applied to the cheese whey. **Engenharia Ambiental - Espiritu Santo do Pinhal**, v. 4, n. 2, p. 26–37, 2007.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. F. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 237–241, 2004.

COSTA, J. A V; COLLA, L. M.; FILHO, P. D. *Spirulina platensis* growth in open raceway ponds using fresh water supplemented with carbon, nitrogen and metal ions. **Zeitschrift fur Naturforschung - Section C Journal of Biosciences**, v. 58, n. 1–2, p. 76–80, 2003.

DA RÓS, P. Avaliação de óleos de cianobactérias como matéria-prima lipídica para síntese de biodiesel pela rota etílica. Universidade de São Paulo, 2012.

DANESI, E. D. G. et al. Effect of reducing the light intensity on the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. **Biomass and Bioenergy**, v. 26, n. 4, p. 329–335, 2004.

DANESI, E. D. G. et al. Growth and content of *spirulina platensis* biomass chlorophyll cultivated at different values of light intensity and temperature using different nitrogen sources. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 42, p. 362–373, 2011.

DE ALENCAR, D. B. et al. Teores de β -caroteno em suplementos e biomassa de *Spirulina*. **Ciencia e Agrotecnologia**, v. 35, n. 2, p. 386–391, 2011.

DE CAIRE, G. et al. Effect of *Spirulina platensis* biomass on the growth of lactic acid bacteria in milk. **World J Microbiol Biotechnol**, v. 16, p. 563–5, 2000.

DEL CAMPO, J. A.; GARCÍA-GONZÁLEZ, M.; GUERRERO, M. G. Outdoor cultivation of microalgae for carotenoid production: Current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 74, n. 6, p. 1163–1174, 2007.

FERREIRA, L. S. et al. *Arthrospira (Spirulina) platensis* cultivation in tubular

photobioreactor: Use of no-cost CO₂ from ethanol fermentation. **Applied Energy**, v. 92, p. 379–385, 2012.

FOLCH-MALLOL, J. L. et al. La respuesta a estrés en la levadura *Saccharomyces cerevisiae*. **Revista Latinoamericana de Microbiología**, v. 46, n. 1–2, p. 24–46, 2004.

HUARACHI-OLIVERA, R. et al. Adaptabilidad de *Spirulina (Arthrospira) platensis (Cyanophyta)* en fotobiorreactor tubular cónico bajo condiciones ambientales. **Idesia (Arica)**, v. 33, n. 1, p. 103–112, fev. 2015.

HYMAN, D. Mixing and Agitation. In: **Chemical Process Equipment**. p. 119–202.

KAGEYAMA, H. et al. Osmoprotectant and Sunscreen Molecules From Halophilic Algae and Cyanobacteria. In: **Algal Green Chemistry**. Elsevier, 2017. p. 1–16.

KETHEESAN, B.; NIRMALAKHANDAN, N. Development of a new airlift-driven raceway reactor for algal cultivation. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3370–3376, 2011.

KLEIN, B. C. **Cultivo de microalgas para produção de bioetanol de terceira geração**. Universidade Estadual de Campinas, 2013.

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

MACEDO, R. V. T.; ALEGRE, R. M. Influência do teor de nitrogênio no cultivo de *spirulina maxima* em dois níveis de temperatura - parte II: produção de lipídios. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 21, n. 2, p. 183–186, 2001.

MALASPINA, F. et al. Cheese whey and cheese factory wastewater treatment with a biological anaerobic-aerobic process. **Water Science and Technology**, v. 32, n. 12, p. 59–72, 1995.

MARQUEZ, F. J. et al. Inhibitory effect of oxygen accumulation on the growth of *Spirulina platensis*. **Biotechnology Letters**, v. 17, n. 2, p. 225–228, 1995.

MATSUDO, M. C. Cultivo de *Spirulina platensis* por processo descontínuo alimentado repetitivo utilizando uréia como fonte de nitrogênio. Universidade de Sao Paulo, 2006.

MATSUDO, M. C. et al. Repeated fed-batch cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* using urea as nitrogen source. **Biochemical Engineering Journal**, v. 43, n. 1, p. 52–57, 2009.

MENDONÇA, T. A. Carotenoides da microalga *Spirulina platensis*: obtenção e avaliação da atividade antioxidante. Universidade Federal da Bahia, 2014.

MOLINA, E. et al. Tubular photobioreactor design for algal cultures. **Journal of Biotechnology**, v. 92, p. 113–131, 2001.

MOLINA GRIMA, E. et al. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. **Journal of Biotechnology**, v. 70, n. 1–3, p. 231–247, abr. 1999.

MOLINA GRIMA, E. et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, n. 7–8, p. 491–515, 2003a.

MOLINA GRIMA, E. et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, n. 7–8, p. 491–515, 2003b.

LOURTHÉ, K. Obtenção de biomassa de *arthrospira platensis* (*spirulina*) utilizando do soro de leite. [s.l.] Universidade Federal de Minas Gerais, 2010.

MURARI, C. S. et al. Evaluation of the reduction in pollution of dairy products from whey fermentation in ethanol by yeast *Kluyveromyces marxianus* 229. **Rev. Inst. Laticínios Cândido Tostes**, v. 68, n. 393, p. 42–50, 2013.

OLAIZOLA, M.; DUERR, E. O. Effects of light intensity and quality on the growth rate and photosynthetic pigment content of *spirulina-platensis*. **J Appl Phycol**, v. 2, p. 97–104, 1990.

PADÍN, G. C.; DÍAS, F. M. Fermentacion alcoholica del lactosuero por *Kluyveromyces marxianus* y solventes organicos como extractantes. **Revista de la Sociedad Venezolana de Microbiologia**, v. 29, n. 2, p. 110–116, 2009.

PAOLETTI, C; PUSHPARAJ, B.; TOMASELLI, L. Ricerche sulla nutrizione minerale di *Spirulina platensis*. In: CONGRESSO NAZIONALE DELLA

PONSANO, E. H. G.; PINTO, M. F.; GOMEZ, R. J. H. C. Soro de leite- Obtenção, Características e Aproveitamento: Revisao. **Semina: Ciências Agrárias**, v. 13, n. 1, p. 92–96, 1992.

RAHMAN, A.; MILLER, C. D. Microalgae as a Source of Bioplastics. In: **Algal Green Chemistry**. Elsevier, 2017. p. 121–138.

RAJESH, K.; ROHIT, M. V.; VENKATA MOHAN, S. Microalgae-Based Carotenoids Production. In: **Algal Green Chemistry**. Elsevier, 2017. p. 139–147.

RAVELONANDRO, P. H. et al. Influence of light quality and intensity in the

cultivation of *Spirulina platensis* from Toliara (Madagascar) in a closed system. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 83, n. 6, p. 842–848, jun. 2008.

RAVELONANDRO, P. H. et al. Improvement of the growth of *Arthrospira* (*Spirulina*) *platensis* from Toliara (Madagascar): Effect of agitation, salinity and CO₂ addition. **Food and Bioproducts Processing**, v. 89, n. 3, p. 209–216, jul. 2011.

RICHMOND, A. **Handbook of Microalgal Culture**. Oxford, UK: Blackwell Publishing Ltd, 2003.

RICHMOND, A.; GROBBELAAR, J. U. Factors affecting the output rate of *Spirulina platensis* with reference to mass cultivation. **Biomass**, v. 10, n. 4, p. 253–264, 1986.

SÁNCHEZ, M. et al. *Spirulina* (*arthrospira*): an edible microorganism: a review. **Universitas Scientiarum**, v. 8, n. 1, p. 7–24, 2003.

SCHLOSSER, U. G. Sammlung von Algenkulturen. **Ber. Deutsm. Bot. Ges. Bd.**, v. 95, n. 1, p. 181–276, 1982.

SONANI, R. R.; RASTOGI, R. P.; MADAMWAR, D. Natural Antioxidants From Algae. In: **Algal Green Chemistry**. Elsevier, 2017. p. 91–120.

TAKACHE, H. et al. Experimental and theoretical assessment of maximum productivities for the microalgae *Chlamydomonas reinhardtii* in two different geometries of photobioreactors. **Biotechnology Progress**, v. 26, n. 2, 2009.

UDAYAN, A.; ARUMUGAM, M.; PANDEY, A. Nutraceuticals From Algae and Cyanobacteria. In: **Algal Green Chemistry**. Elsevier, 2017. p. 65–89.

VIEIRA COSTA, J. A. et al. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 18, n. 7, p. 603–607, 2002.

VIEIRA COSTA, J. A.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P. F. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, n. 3, p. 237–241, 2004.

VONSHAK, A. Microalgae: laboratory growth techniques and the biotechnology of biomass production. In: **Photosynthesis and Production in a Changing Environment**. Dordrecht: Springer Netherlands, 1993. p. 337–355.

VONSHAK, A. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*): Physiology, Cell-biology and Biotechnology. Taylor & Francis, 2002.

WALTER, A. et al. Study of phycocyanin production from spirulina platensis under different light spectra. **Brazilian Archives of Biology and Technology**, v. 54, n. 4, p. 675–682, 2011.

WANG, C. Y.; FU, C. C.; LIU, Y. C. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. **Biochemical Engineering Journal**, v. 37, n. 1, p. 21–25, 2007.

ZARROUK, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* (Setch. Et. Gardner) Geitler. Paris. Tese de Doutorado –Universidade de Paris, 1966.