

TOBIAS LOMBARDI GARCIA TIBURCIO BUENO

Método de Taguchi aplicado ao cultivo de *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *Raceway*

Tobias Lombardi Garcia Tiburcio Bueno

Método de Taguchi aplicado ao cultivo de *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *Raceway*

Trabalho de Graduação apresentado ao Conselho de Curso de Graduação em Engenharia Civil da Faculdade de Engenharia e Ciências do Campus de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, como parte dos requisitos para obtenção do diploma de Graduação em Engenharia Civil

Orientador: Prof. Dr. Messias Borges Silva

Coorientadora: Profa. Dra. Isabel Cristina de Barros Trannin

Guaratinguetá
2024

B928m Bueno, Tobias Lombardi Garcia Tiburcio
Método de Taguchi aplicado ao cultivo de *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *Raceway* / Tobias Lombardi Garcia Tiburcio Bueno - Guaratinguetá, 2024.
57 f : il.
Bibliografia: f. 49-56

Trabalho de Graduação em Engenharia Civil –
Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Engenharia e
Ciências de Guaratinguetá, 2024.

Orientador: Prof. Dr. Messias Borges Silva
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina de B. Trannin


1. Biocombustíveis. 2. Microalgas. 3. Desenvolvimento sustentável. I. Título.

CDU 620.91


TOBIAS LOMBARDI GARCIA TIBÚRCIO BUENO

ESTE TRABALHO DE GRADUAÇÃO FOI JULGADO ADEQUADO COMO PARTE
DO REQUISITO PARA OBTENÇÃO DO DIPLOMA DE
"GRADUADO EM ENGENHARIA CIVIL"

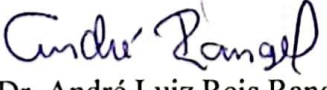
APROVADO EM SUA FORMA FINAL PELO CONSELHO DE CURSO DE
GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA CIVIL


Profa. Dra. Isabel Cristina de Barros Trannin
Coordenadora

BANCA EXAMINADORA:


Prof. Dr. Messias Borges Silva
Orientador/UNESP-FEG


Profa. Dra. Thaís Santos Castro
UNESP-FEG


Prof. Dr. André Luiz Reis Rangel
Pós-Doutorando/UNESP-FEG

Janeiro de 2024

*Dedico esse trabalho aos meus pais e a qualquer
pessoa que, num futuro não tão distante,
utilize um veículo movido a combustível
produzido com base em microalgas.*

AGRADECIMENTOS

A Deus, que proveu vida, inteligência, discernimento e tudo o mais de essencial para o desenvolvimento desse trabalho e da minha vida acadêmica.

Aos meus pais, João Bosco e Patrícia, que transmitiram os valores que possuo, os conselhos que pude seguir, os ensinamentos através do exemplo e todo o suporte emocional ao longo dos últimos 22 anos.

Aos meus familiares, em especial à vó Dita, cujas orações constantes têm sido importantíssimas na minha vida, ao Vô Paulo, que me inspirou com suas habilidades de relações públicas e me fez colocar uma bicicleta num ônibus pela primeira vez, e à Vó Letícia, que foi um suporte essencial e imprescindível no início da faculdade, em especial na primeira semana de aulas.

A todo o pessoal do laboratório: Mayara, Vitão, Julinha, Bryan, Julia, Nycolas, Laís, Denis, Iara, Vitinho e Bryan, que foram mãos, braços, olhos e, por diversas vezes, cérebro no dia a dia da pesquisa. Esse trabalho, definitivamente, não seria possível sem cada um de vocês.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Messias Borges Silva e Profa. Dra. Isabel Cristina de Barros Trannin, que balizaram por diversas vezes os trabalhos realizados em prol da presente monografia e serviram de guia nos momentos de incerteza.

À República 6 de Paus, camisa que vesti e sempre vou vestir com orgulho, onde fiz irmãos que nunca tive, com os quais almocei, jantei, bebi, estudei, comemorei e chorei, passei raiva e euforia, fui a festas, joguei no interrep, fiz contas, comprões, caixinhas, manutenções na casa, separações com o hino nacional e todas as coisas pequenas das quais a gente mais sente falta quando o ciclo se encerra.

Ao Arthur, Akemi e Igor, da Melão Engenharia, com quem tenho passado manhãs e tardes dos últimos meses trabalhando e aprendendo, e que forneceram a flexibilidade e compreensão necessárias para a realização dessa monografia.

Ao Davi, André, Vitor e ao restante da Panelinha, amigos que a faculdade me deu de presente durante a pandemia com os quais fiz a maior parte dos trabalhos antes de fazer Esse Aqui, além de compartilhar muitas risadas e emoções fora da sala de aula.

Ao Pedro, Arthur, Emoji, Gabriel, Camila e Júlia, bando que tem feito os finais de semana únicos ao longo dos últimos anos.

À Carol, que não lembro como ou quando conheci, mas que tem sido amiga, conselheira, ombro, abraço e tudo o mais que não caberia escrito aqui.

Aos amigos Mateus, Thesary, PG, Ricardo, Caio, Lorrán, Giovanni, Bruno, Daniel e Dudinha, que fizeram parte da época da escola e cujo contato se mantém até hoje como se nunca tivéssemos avançado além daquela idade.

À Andréa e à Beatriz, que me ajudaram a desenvolver autoconhecimento e maturidade.

Aos professores do Colégio Mestre, que embasaram todo o conhecimento necessário para ingressar na faculdade.

Às iniciativas estudantis Jovens Projetistas, Grupo PET e, em especial, ao CAEC, que possibilitaram o desenvolvimento de inúmeras *softskills* ao longo da minha graduação, além das amizades que surgiram decorrentes de cada uma delas.

À Agência Nacional do Petróleo, que financiou a presente pesquisa.

À empresa Gesco e à Escola de Engenharia de Lorena, que colaboraram na realização dessa pesquisa cedendo *know-how* e infraestrutura.

E a mim mesmo, que tive a disciplina, o foco e a gestão do tempo, e que permaneci na briga, quando tudo o que eu mais queria era fugir.

“A melhor coisa que um ser humano pode fazer é ajudar outro ser humano a saber mais.”

Charlie Munger

RESUMO

Com a intensificação do aquecimento global nas últimas décadas e o aumento conjunto da população mundial e da geração de resíduos orgânicos, a comunidade científica vem buscando desenvolver tecnologias capazes de reduzir a dependência de combustíveis fósseis, aumentar a captura de CO₂ atmosférico e auxiliar no tratamento de efluentes. As microalgas são seres unicelulares fotossintetizantes, que podem contribuir para solucionar cada uma destas questões ambientais, servindo como catalisadores no processo de tratamento de esgoto sanitário e, ao mesmo tempo, como matéria-prima para a produção de biocombustíveis de 3^a e 4^a geração. Como esses biocombustíveis não são competitivos no mercado atual, este trabalho teve como objetivo aplicar o Método de Taguchi no planejamento experimental do cultivo da microalga *Chlorella Vulgaris* em fotobiorreator *Raceway* utilizando o efluente gerado no tratamento de esgoto da USP, câmpus de Lorena-SP, como fonte de nutrientes, visando identificar a combinação ótima de variáveis controladas para concentração de lipídeos e de produção de biomassa para a geração de biocombustíveis, bem como a eficácia desta microalga na remoção da DQO do efluente. Os ensaios conduzidos até o momento indicam que a condição ótima de produção de biomassa deve possuir maior luminosidade, uma fonte de carbono, menor proporção de efluente de ETE e nível mais baixo da lâmina de cultivo e que há tendência de aumento do valor de Demanda Química de Oxigênio (DQO) nos cultivos em que ocorre maior crescimento celular. Os resultados obtidos nas condições experimentais aplicadas até o momento não permitem inferir conclusões acerca do acúmulo de lipídeos, sendo necessária a execução das demais condições de cultivo para a obtenção de dados consistentes e conclusivos.

PALAVRAS-CHAVE: Microalgas; Bioenergia; Combustíveis Alternativos; Demanda Química de Oxigênio; Desenvolvimento sustentável; Tratamento de Efluentes.

ABSTRACT

With the intensification of global warming in recent decades and the simultaneous increase in the world population and organic waste generation, the scientific community has been striving to develop technologies capable of reducing reliance on fossil fuels, increasing atmospheric CO₂ capture, and aiding in effluent treatment. Microalgae are unicellular photosynthetic organisms that can contribute to addressing each of these environmental issues, serving as catalysts in the process of sanitary sewage treatment and simultaneously as raw material for the production of 3rd and 4th generation biofuels. As these biofuels are not competitive in the current market, this study aimed to apply the Taguchi Method in the experimental planning of the cultivation of *Chlorella Vulgaris* microalgae in a Raceway photobioreactor using the effluent generated in the sewage treatment at USP Lorena campus as a source of nutrients. The goal was to identify the optimal combination of controlled variables for lipid concentration and biomass production for the generation of biofuels, as well as the efficacy of this microalgae in removing COD from the effluent. So far, the tests carried out indicate that the optimal condition for biomass production must have greater luminosity, presence of a carbon source, lower effluent content and lower level of the cultivation layer and that there is a tendency for the COD value to increase in crops in which greater cell growth occurs. The results obtained under the experimental conditions applied so far do not allow conclusions to be drawn about the accumulation of lipids, making it necessary to carry out other cultivation conditions to obtain consistent and conclusive data.

KEYWORDS: Microalgae; Bioenergy; Alternative fuels; Chemical Oxygen Demand; Sustainable development; Wastewater Treatment

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Trabalhos científicos sobre microalgas, biocombustíveis e efluentes realizados no período do final da década de 1970 a 2023.....	18
Figura 2 - Produtos derivados de microalgas	25
Figura 3 - Fotobiorreator <i>Raceway</i> de escala comercial	27
Figura 4 - Fotobiorreator <i>Raceway</i> de escala laboratorial	33
Figura 5 - a) Cepário com microalgas em erlenmeyers de 250 ml; b) Recipientes intermediários de 1 a 5 litros; c) Coluna de bolhas de 20 litros; d) Fotobiorreator <i>raceway</i>	35
Figura 6 – Bomba e Kitassato para filtragem a vácuo	36
Figura 7 – Tanque de Floculação.....	37
Figura 8 – Evolução diária do crescimento da <i>Chlorella vulgaris</i> em fotobiorreator <i>Raceway</i>	41
Figura 9 – Produtividade de biomassa da <i>Chlorella vulgaris</i> em fotobiorreator <i>Raceway</i>	42
Figura 10 – Teor lipídico da <i>Chlorella vulgaris</i> ao final do cultivo em fotobiorreator <i>Raceway</i>	44

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Codificação das variáveis de entrada	32
Tabela 2 – Condições Experimentais do Arranjo Ortogonal	32
Tabela 3 – Síntese de pesquisas para discussão de resultados	40
Tabela 4 – Valores de DQO no início e no final dos cultivos de <i>Chlorella vulgaris</i>	45

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

ANOVA	Análise de Variância
ANP	Agência Nacional do Petróleo
BBM	Bold's Basal Medium
DoE	Design of Experiments
DBO	Demanda Bioquímica de Oxigênio
DQO	Demanda Química de Oxigênio
EEL	Escola de Engenharia de Lorena
ETE	Estação de Tratamento de Esgoto
GEE	Gases de Efeito Estufa
LED	Light-Emitting Diode
MDL	Mecanismos do Desenvolvimento Limpo
NBR	Norma Brasileira Registrada
ODM	Objetivos do Desenvolvimento do Milênio
ODS	Objetivos do Desenvolvimento Sustentável
ONU	Organização das Nações Unidas
PVC	Policloreto de Vinilo
UV	Ultravioleta
USP	Universidade de São Paulo
WMO	World Meteorological Organization

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	13
2	OBJETIVOS	15
2.1	OBJETIVOS GERAIS	15
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	15
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	16
3.1	PANORAMA ATUAL DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS E OBJETIVOS DO DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL	16
3.2	HISTÓRICO ACADÊMICO RECENTE SOBRE MICROALGAS	18
3.3	BIOCOMBUSTÍVEIS	20
3.3.1	Biocombustíveis à base de microalgas	20
3.4	TRATAMENTO DE ESGOTO SANITÁRIO	21
3.5	CULTIVO DE MICROALGAS EM FOTOBIOREATOR	24
3.5.1	<i>Chlorella vulgaris</i>	25
3.5.2	Fotobiorreatores	26
3.5.2.1	Fotobiorreator <i>Raceway</i>	26
3.6	PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS	27
3.6.1	Fundamentação Estatística do Método de Taguchi	28
4	MATERIAIS E MÉTODOS	31
4.1	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	31
4.2	ESPÉCIE DE MICROALGAS	31
4.3	PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	31
4.4	FOTOBIOREATOR <i>RACEWAY</i>	32
4.5	MEIO DE CULTIVO BBM	33
4.6	PREPARO DOS INÓCULOS	34
4.7	EQUIPAMENTOS LABORATORIAIS	35
4.8	COLHEITA E AVALIAÇÃO DA BIOMASSA	35
4.8.1	Confecção da Curva de Calibração	37
4.9	EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS E AVALIAÇÃO DO TEOR LIPÍDICO	38
4.10	MEDIÇÃO DA REMOÇÃO DE DQO	38
5	RESULTADOS E DISCUSSÃO	39
5.1	PRODUÇÃO DE BIOMASSA	41
5.2	TEOR LIPÍDICO	43

5.3	ANÁLISE DA REMOÇÃO DA DQO DO EFLUENTE	44
6	CONSIDERAÇÕES	46
7	CONCLUSÕES	47
	REFERÊNCIAS	48
	APÊNDICE A	56

1 INTRODUÇÃO

Desde a primeira revolução industrial, o uso de combustíveis fósseis, como carvão mineral e petróleo aumentou ao longo do tempo, com consequente aumento na emissão de gases de efeito estufa (GEE), principalmente de dióxido de carbono (SARAVANAN *et al.*, 2023). O aumento da concentração desses gases na atmosfera tem causado alterações climáticas e impactos ambientais, percebidos em todo o mundo.

No Brasil, são perceptíveis as movimentações políticas nos últimos anos, envolvendo incentivos à produção de biocombustíveis, como o Projeto de Lei do Combustível do Futuro, acompanhado de um discurso voltado à transição da matriz energética, descarbonização e industrialização da bioeconomia. Encaminhado em setembro de 2023 para o Congresso Nacional, o projeto prevê diversas iniciativas, que colaboram para a redução de emissão dos GEE, como a integração entre diversas políticas de mobilidade e biocombustíveis e a instituição do Programa Nacional de Combustível Sustentável de Aviação, além de elevar os limites máximos e mínimos do teor de etanol anidro na gasolina. A medida propõe também a regulamentação de combustíveis sintéticos e da atividade de captura e estocagem de carbono, que seria atribuída à ANP - Agência Nacional do Petróleo (BRASIL, 2023).

No entanto, é preciso considerar que graças ao aumento da taxa de natalidade e da redução da mortalidade, aliadas às melhores condições de vida, a população mundial aumentou em aproximadamente 8 vezes, no período que compreende o final do século XVIII até a atualidade (HOBSBAWM, 2007). Conseqüentemente, ocorreu um crescimento significativo dos setores industrial, residencial e agrícola, assim como da geração de resíduos orgânicos e recicláveis, que não tinham, em sua maioria, a destinação adequada. Os efluentes domésticos, por exemplo, possuíam como destino os corpos d'água, que serviriam ou poderiam servir como fonte de água potável para a sociedade (HAZAN *et al.* 2023).

Apesar dos benefícios obtidos com a implantação das estações de tratamento de esgoto (ETE), estas possuem custos elevados de manutenção e operação. O aumento da geração de esgotos sanitários e da necessidade de tratamento para o lançamento dos efluentes gerados nos corpos d'água em padrões de qualidade que não causem impacto nos recursos hídricos, tem despertado o interesse de instituições públicas e privadas em desenvolver processos tecnicamente eficazes, ambientalmente sustentáveis e de baixos custos (HAZAN *et al.* 2023).

Em 2012, foi realizada no Rio de Janeiro, a Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente, denominada Rio+20, que entre outras ações importantes, deu origem à Agenda 2030, firmada em 2015 pelos países que participaram desta conferência, reunindo 17 Objetivos de

Desenvolvimento Sustentável (ODS). Orientada pelos ODS e buscando solucionar de maneira simultânea os impasses contemporâneos, a comunidade científica, de diversas áreas do conhecimento, tem concentrado seus esforços para o desenvolvimento de alternativas sustentáveis para as áreas de energia e meio ambiente.

Neste cenário, destaca-se a utilização de efluentes de Estação de Tratamento de esgoto (ETE) como meio de cultivo de microalgas, reduzindo assim, os custos dos dois processos que ocorrem paralelamente, a reprodução das microalgas e o tratamento de esgoto. Esta prática permite que as microalgas atuem como agentes biológicos, auxiliando na biodegradação da matéria orgânica presente nos efluentes. Por outro lado, esses resíduos gerados no tratamento de esgoto, que normalmente são descartados em corpos d'água, podem substituir parcialmente, e de maneira natural, os nutrientes e minerais que são fornecidos ao cultivo de microalgas na forma de fertilizantes químicos, resultando na maior sustentabilidade destes processos (ARIAS *et al.*, 2018).

Com base nos estudos realizados até o momento, visando o aproveitamento de efluentes no cultivo de microalgas, este trabalho de graduação se propôs a identificar as condições necessárias para a otimização do cultivo das microalgas utilizando efluente da ETE do campus da Universidade de São Paulo, em Lorena, analisando a produtividade de biomassa, o teor lipídico e a remoção de DQO da mistura que envolve nutrientes, água de torneira e efluentes da estação de tratamento onde as microalgas serão cultivadas. Para o planejamento experimental foi utilizado o Método de Taguchi, desenvolvido pelo japonês Genichi Taguchi, na década de 1950, possibilitando que o estudo fosse o mais sustentável possível (TAGUCHI, 1986).

Espera-se com este trabalho, gerar informações que possam contribuir para a redução dos custos de produção de biodiesel à base de microalgas, como resultado da economia de recursos em larga escala, fundamentada nos melhores ajustes das variáveis do processo, obtidos nos ensaios laboratoriais.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Analisar diferentes condições de cultivo da microalga *Chlorella Vulgaris* em fotobiorreator *Raceway* para identificar o ponto ótimo de produção de biomassa e acúmulo de lipídios visando a geração de biocombustíveis, assim como a capacidade desta microalga reduzir a Demanda Química de Oxigênio (DQO), do efluente do tratamento de esgoto da USP, câmpus de Lorena, aplicando o Método de Taguchi no planejamento experimental.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Fundamentar este trabalho, por meio da revisão da literatura nacional e internacional, sobre o cultivo de microalgas em biorreatores, visando a produção de biomassa para a geração de biocombustíveis, priorizando os estudos que utilizaram a microalga *Chlorella vulgaris* e efluentes de ETEs como fonte de nutrientes, com a finalidade de reduzir a DQO destes resíduos;
- Aplicar o Método de Taguchi no planejamento experimental para verificar quais fatores possuem maior relevância na produção de biomassa, concentração de lipídeos e remoção de DQO e quais os melhores níveis de cada fator de entrada para maximização das variáveis de saída;
- Analisar a produção de biomassa da microalga *Chlorella Vulgaris* cultivada em fotobiorreator *Raceway* a partir de medições diárias do crescimento, bem como determinar a concentração final de lipídeos;
- Analisar a eficácia da microalga *Chlorella Vulgaris* como auxiliar no processo de tratamento de esgoto por meio da determinação da DQO de diferentes lotes de efluentes gerados na ETE da USP de Lorena, antes e após o cultivo da microalga.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 PANORAMA DAS MUDANÇAS CLIMÁTICAS E OBJETIVOS DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL

A Organização Meteorológica Mundial (WMO) emitiu, em maio de 2023, o *Global Annual to Decadal Climate Update*, um relatório sobre o panorama climático global para os próximos anos. No documento, foi relatado que a temperatura média do planeta de 2023 até 2027 deverá ser 1,5 °C mais elevada do que os níveis pré-industrial, que compreende o período de 1850 a 1900 (WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION, 2023). Estas mudanças têm sido associadas a diversos eventos climáticos extremos, como furacões, tsunamis, tempestades e secas, causando prejuízos significativos para a humanidade. Os impactos causados por estes extremos permeiam tanto aspectos sociais quanto econômicos, como migração em massa, interrupção no funcionamento de empresas e destruição de infraestruturas básicas de saúde, educação, segurança e geração de energia elétrica (HADIYANTO *et al.*, 2023).

Neste aspecto, uma das primeiras ações de alerta sobre os problemas da degradação ambiental ocorreu na Suécia, com a realização da Conferência de Estocolmo, realizada em 16 de junho de 1972, considerada a primeira conferência mundial sobre o meio ambiente e que tratou do tema “desenvolvimento sustentável” (BULL e AGUILAR-STØEN, 2023);

No Brasil, vinte anos após a realização deste evento, ocorreu em junho de 1992, na cidade do Rio de Janeiro, a Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e Desenvolvimento, que reuniu chefes de estado, ministros e outras personalidades de diferentes países, com o mesmo propósito da Conferência de Estocolmo, tratando novamente de temas, como desenvolvimento sustentável, efeito estufa, desmatamento, contaminação das águas, dentre outros, culminando com a criação do Protocolo de Kyoto, um tratado internacional, assinado posteriormente, em 1997 por diversos países do mundo e que entrou em vigor somente no ano de 2005. O Protocolo de Kyoto estabeleceu medidas e metas para diminuir a produção de gases do efeito estufa e, conseqüentemente, controlar o aquecimento global do planeta, como os mecanismos de desenvolvimento limpo (MDL) (MAAMOUN, 2019).

Em junho de 2012, foi realizada a Conferência das Nações Unidas para o Meio Ambiente, denominada Rio+20, cujos temas principais foram sustentabilidade, economia verde e governança global do ambiente. A principal meta da Rio+20 foi estimular a ação sobre o desenvolvimento sustentável. Como resultados, destaca-se a elaboração de um plano, firmado

em 2015 pelos 193 Estados membros da Organização das Nações Unidas – ONU, com o compromisso de seguir as medidas recomendadas para a cooperação internacional de desenvolvimento sustentável. Além disso, governos, empreendedores e outros parceiros da sociedade civil registraram mais de 700 compromissos com ações concretas para responder a necessidades específicas, como energia sustentável e transporte. Dentre esses compromissos destaca-se a destinação de 50 bilhões de dólares para auxiliar um bilhão de pessoas a ter acesso à energia sustentável (NAÇÕES UNIDAS, 2012).

Inspirados nos Objetivos de Desenvolvimento do Milênio (ODM) para promover ações de desenvolvimento humano e combate à pobreza, os países que participaram da Rio+20, concordaram com a necessidade de estabelecer a Agenda 2030, um plano de ação global que reúne 17 Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS), com 169 metas a serem atingidas até 2030, visando erradicar a pobreza e promover vida digna a todos, dentro das condições que o nosso planeta oferece e sem comprometer a qualidade de vida das próximas gerações (NAÇÕES UNIDAS, 2012).

Como exposto por Ganesan *et al.* (2020), o cenário global atual indica um crescimento acelerado nos últimos anos pela demanda de energia, principalmente pelos países em desenvolvimento em vias de industrialização. Os autores reforçam a questão do aumento de emissões de CO₂ na atmosfera se o consumo de combustíveis fósseis se mantiver na atual projeção, concluindo que os biocombustíveis de 3ª geração (aqueles com base em microalgas ou em seu óleo) são a alternativa mais adequada para essa conjuntura, visto que os de 1ª e 2ª gerações apresentam desvantagens em termos de insegurança econômica, social e alimentar.

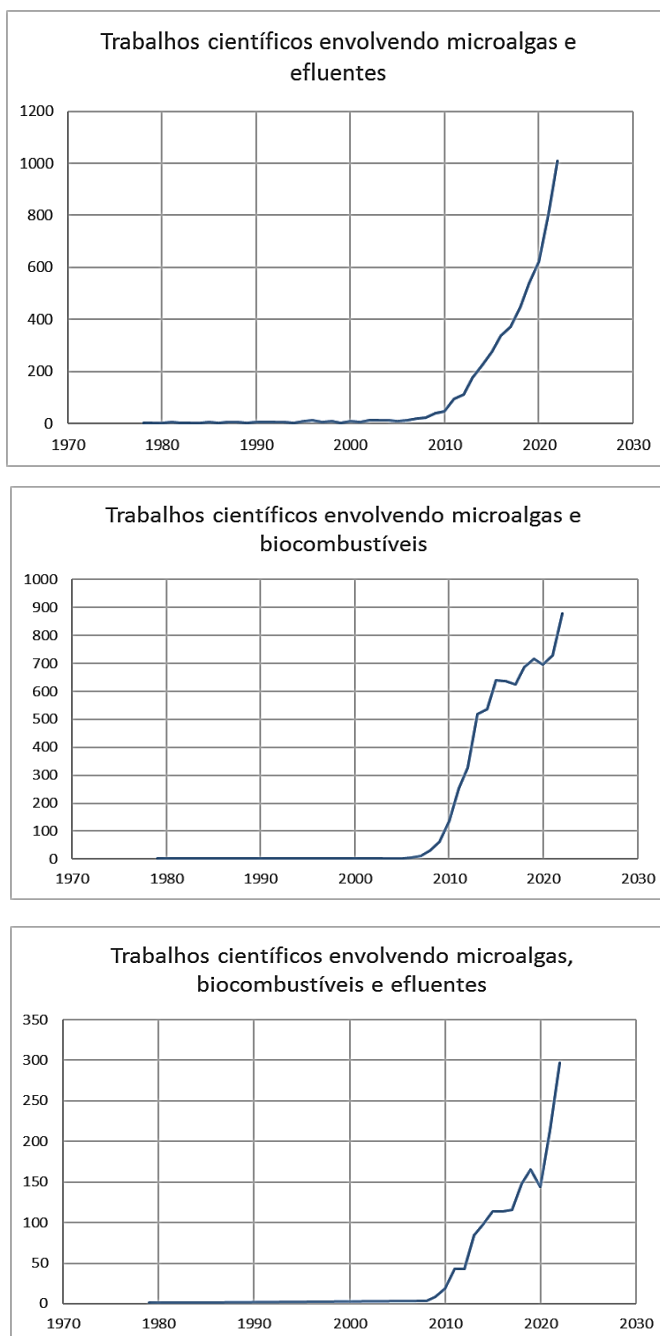
Concomitantemente, Bórawski *et al.* (2019) apresentaram a evolução do mercado de energias renováveis da União Europeia ao longo das últimas duas décadas, envolvendo não só biocombustíveis, como também energias eólica, solar, geotérmica e hidrelétrica. Os autores expuseram um aumento maior do que 100% na parcela de uso de energia a partir de fontes renováveis para diversos fins em países como Malta, Chipre e Finlândia, além de constatarem que Alemanha, França e Polônia foram os maiores produtores de biodiesel nesse meio tempo.

É possível conferir também o trabalho desenvolvido por Saravanan *et al.* (2023) que detalham diferentes técnicas de colheita de microalgas, processos de transesterificação e produção de biocombustíveis. Os autores problematizam a exploração e combustão massivas de combustíveis fósseis em países em desenvolvimento ao mesmo tempo em que há instabilidade na disponibilidade de energia, rápida industrialização e a contribuição dada por isso ao efeito estufa.

3.2 HISTÓRICO RECENTE DE PESQUISAS COM MICROALGAS

Nos gráficos apresentados na Figura 1, é possível observar aumento do número de pesquisas relacionadas a microalgas, biocombustíveis e efluentes a partir de meados de 2010.

Figura 1 - Trabalhos científicos sobre microalgas, biocombustíveis e efluentes realizados no período do final da década de 1970 a 2023



Fonte: Autor.

Muitos destes estudos apontam para o elevado potencial de produção de biocombustíveis a partir de microalgas, no entanto, sem apresentar competitividade econômica no mercado atual (DEBOWSKI *et al.*, 2020; KHOO *et al.*, 2020; YIN *et al.*, 2020). Neste contexto, torna-se necessário o desenvolvimento de tecnologias de produção de biocombustíveis que viabilizem o comércio deste produto, considerando sua importância para a sustentabilidade ambiental, por ser uma estratégia para reduzir a dependência do consumo de petróleo pela humanidade.

Como principais alternativas para isso, existem os conceitos de biorrefinarias e da otimização do processo produtivo como um todo (BRANCO-VIEIRA *et al.*, 2020; SHEKH *et al.*, 2021; YIN *et al.*, 2020). Tanto de um modo como de outro, há maior eficiência energética no processo produtivo, maximizando a margem de lucro.

As biorrefinarias de microalgas se assemelham a refinarias de petróleo convencionais, que nas quais são extraídos em diversos processos sequenciais diversos subprodutos do petróleo com diferentes valores agregados. No caso das microalgas, além dos biocombustíveis produzidos com o lipídio microalgal, também é possível extrair pigmentos naturais, ácidos graxos, proteínas e antioxidantes, por exemplo (SIDDIK *et al.*, 2022). Desse modo, apesar dos biocombustíveis serem um dos subprodutos com menor valor agregado, sua comercialização pode se tornar palpável graças a uma lucratividade maior fornecida pelos demais produtos citados, sendo necessários ainda estudos em larga escala para explorar as alternativas dessa proposta (SHAHID *et al.*, 2020).

A otimização de etapas do processo de produção consiste em utilizar condições ótimas em cada um dos subprocessos a fim de se obter uma maior quantidade e qualidade do biocombustível produzido, ou ainda outras características específicas desejadas do mesmo. Pode-se citar estudos exploratórios dessa categoria, como Gouic *et al.* (2021), que investigaram diferentes níveis de intensidade luminosa e concentração de CO₂ para obter a máxima taxa de fixação de CO₂ durante o cultivo, Hernández *et al.* (2022), que variaram o nível da lâmina de cultivo em estudo com a temperatura do mesmo como variável de resposta, e La Torre *et al.* (2023), que buscaram a otimização do acúmulo de lipídeos e perfil de ácidos graxos variando concentrações de fósforo e enxofre.

Concomitantemente, o tratamento de efluentes com microalgas também foi objeto de estudo de pesquisas recentes (ARIAS *et al.*, 2018; FAZAL *et al.*, 2018; MAGALHÃES *et al.*, 2022). Além do potencial de atuação como substitutas de substâncias químicas e auxiliares ou catalisadores no processo de tratamento, as microalgas ainda podem ter seu cultivo favorecido

num ambiente contendo efluentes, considerando que elas usariam parte da matéria orgânica como nutrientes.

Na revisão elaborada por Kadir *et al.* (2018), são condensados resultados de pesquisas que avaliaram diversas espécies de microalgas no tratamento de efluentes em concomitância com a produção de biocombustíveis, indicando a seleção de cepas adequadas como ponto crucial para o tratamento eficiente e o pré-tratamento de ozonização para favorecer a colheita de biomassa e melhorar a extração de lipídios. Li *et al.* (2021) também investigaram dois tipos de efluentes de suínos, obtendo concentrações de biomassa maiores no efluente original e teor lipídico maior no efluente digerido anaerobicamente.

3.3 BIOCOMBUSTÍVEIS

De acordo com Goh *et al.* (2019), um biocombustível pode ser definido como “um combustível produzido direta ou indiretamente a partir de fontes de biomassa”. Essa biomassa pode ser proveniente de diversas matérias primas distintas, definindo à qual geração de biodiesel o combustível pertence.

Os biocombustíveis produzidos a partir de óleos vegetais comestíveis, como os provenientes de cana-de-açúcar, milho, soja e outros grãos, se encaixam na primeira geração. Aqueles produzidos com óleos não comestíveis, derivados de resíduos agrícolas e de materiais lignocelulósicos e gorduras animais estão classificados como biocombustíveis de segunda geração. Por fim, nas terceira e quarta gerações, podem ser citados os biocombustíveis provenientes de microalgas, de modo que a terceira geração abranja a conversão propriamente dita delas em combustíveis e a quarta envolva engenharia genética e metabólica, alterando genomas dos seres vivos em questão a fim de obter cepas geneticamente otimizadas (RAHEEM *et al.*, 2018; ENAMALA *et al.*, 2018; GOH *et al.*, 2019; GANESAN *et al.*, 2020).

3.3.1 Biocombustíveis à base de microalgas

O processo de produção de combustíveis à base de microalgas inicia-se na escolha da linhagem de microalgas, tendo como base características como produtividade e teor lipídico e resistência a particularidades adversas do meio de cultivo (ANDERSEN *et al.*, 2005). Alguns estudos atuais analisam alternativas para modificar cepas de modo a otimizar tais características por meio de engenharia genética (ARATBONI *et al.*, 2019)

Após essa seleção, é realizado o cultivo das microalgas, que pode ocorrer tanto em lagoas abertas quanto em fotobiorreatores de diversos modelos, como *airlifts* e *raceways*. Nesse momento, há o controle de fatores como fornecimento de nutrientes, iluminação e aeração, com foco inicialmente na produção de biomassa e, posteriormente, no acúmulo de lipídios (PENG *et al.*, 2019; YIN *et al.*, 2020). A etapa de cultivo é o principal escopo dessa pesquisa, que visa otimizar esse subprocesso da cadeia global.

Com o meio de cultivo possuindo uma alta densidade celular e com escassez de nutrientes, deve ocorrer a colheita. Essa etapa consiste na separação da biomassa de microalgas do meio de cultivo e pode ser realizada por meio de processos como centrifugação, filtração, flotação e coagulação (MATHIMANI e MALLICK, 2018; PENG *et al.*, 2019; SUPARMANIAM *et al.*, 2019; YIN *et al.*, 2020; MUHAMMAD *et al.*, 2021).

Com as microalgas colhidas, o processo segue com a extração do óleo microalgal. Através de prensagem ou do uso de ultrassom, as células são rompidas e os lipídios, separados da biomassa, para que sejam posteriormente convertidos no biocombustível em questão (ZORN *et al.*, 2017).

O óleo extraído das microalgas é então transesterificado, quebrando as moléculas do material inicial em ésteres. O produto resultante dessa etapa é purificado, quando são removidas impurezas, resultando no biocombustível próprio para armazenamento, transporte e comercialização (KADIR *et al.*, 2018).

3.4 TRATAMENTO DE ESGOTO E REMOÇÃO DE DQO DO EFLUENTE

O processo de tratamento de esgoto inicia-se na rede coletora, que coleta o esgoto produzido nas residências, indústrias e comércios de cada cidade. Em seguida, o esgoto é conduzido por galerias subterrâneas até as Estações de Tratamento de Esgoto, as chamadas ETEs (ABNT, 2011). Na ETE, o esgoto tem seu tratamento iniciado com a etapa de remoção de sólidos grosseiros, feito com o uso de gradeamentos com dimensões distintas de aberturas. Após isso, é feita a remoção de areia e materiais pulverulentos em desarenadores e a decantação primária em decantadores primários (ABNT, 2011). Em sequência, a matéria orgânica presente será degradada por meio de tratamento biológico com bactérias anaeróbias, em tanques fechados, e com bactérias aeróbias, em filtros aerados podendo ser feitos com brita ou material percolável. No final do processo de tratamento do esgoto é realizada a separação da parte líquida, denominada de efluente, do componente sólido, denominado de lodo ativado ou biossólido, que

ocorre em reatores biológicos, onde ocorre a decantação secundária. De acordo com o tipo de esgoto que está sendo tratado, pode ser necessário a remoção de poluentes que não foram extintos nas etapas anteriores, como alguns compostos químicos. Ao final de todas as etapas de tratamento, deve ser realizada a desinfecção do efluente, com uso de cloro ou radiação UV, e a disposição final do efluente e do lodo de esgoto (ABNT, 2011).

O lodo de esgoto tem sido destinado para uso agrícola, incineração, confecção de tijolos ecológicos ou disposto em aterros sanitários (ABNT, 2011). O efluente pode ser destinado ao reuso, em processos industriais ou irrigação, ou lançado nas diferentes classes de corpos d'água.

No Brasil, os padrões de lançamento de efluentes em corpos hídricos são regulamentados por diferentes legislações e resoluções que visam proteger os recursos hídricos e garantir a qualidade da água. Uma das principais leis nesse sentido é a Lei Federal nº 9.433/1997, conhecida como Lei das Águas, que estabelece a Política Nacional de Recursos Hídricos (PNRH).

No âmbito dessa política, para ser lançado nos corpos d'água, o efluente gerado do processo de tratamento de esgoto deve atender aos padrões de qualidade estabelecidos pelo Conselho Nacional do Meio Ambiente – Conama, especificamente pelas Resoluções do Conama nº 357/2005 (BRASIL, 2005) e nº 430/2011 (BRASIL, 2011).

A Resolução Conama nº 357/2005 estabelece padrões de qualidade da água para as diferentes classes de corpos hídricos, desde a classe especial, em que os usos preponderantes são mais exigentes em qualidade, classe 1, classe 2, classe 3 e classe 4, que são águas destinadas a usos menos restritivos quanto à qualidade.

A Resolução CONAMA nº 430/2011 dispõe sobre “as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução CONAMA nº 357/2005”. Esta Resolução destaca que “os efluentes não poderão conferir ao corpo receptor características de qualidade em desacordo com as metas obrigatórias progressivas, intermediárias e final, do seu enquadramento”. Para o lançamento direto nos corpos receptores, os efluentes de qualquer fonte poluidora deverão possuir pH entre 5 e 9, temperatura inferior a 40 °C, materiais sedimentáveis até 1 mL L⁻¹, óleos minerais até 20 mg L⁻¹, óleos vegetais e gorduras animais até 50 mg L⁻¹, ausência de materiais flutuantes e remoção mínima de 60% da Demanda Bioquímica de Oxigênio (DBO) inicial, grandeza que descreve o a quantidade de oxigênio consumida por microrganismos numa determinada amostra de efluente. Adicionalmente, há 21 parâmetros inorgânicos, destes 14 são metais; e ainda 10 parâmetros orgânicos, sendo 5 destes compostos aromáticos (BRASIL, 2011). Para os efluentes de sistemas de tratamento de esgoto sanitário, é mantida a mesma condição para pH, temperatura, materiais sedimentáveis e flutuantes. No

entanto, é estabelecido o limite de 120 mg L⁻¹ para a DBO, ou tratamento com eficiência de remoção mínima de 60%. Adicionalmente, as substâncias solúveis em hexano como óleos e graxas podem atingir o limite de 100 mg L⁻¹. Também poderão ser exigidos, a critério do órgão ambiental, 21 parâmetros inorgânicos, exceto nitrogênio amoniacal total e os 10 orgânicos. “Os efluentes de sistemas de tratamento de esgotos sanitários poderão ser objeto de teste de ecotoxicidade no caso de interferência de efluentes com características potencialmente tóxicas ao corpo receptor”. Para os efluentes oriundos de serviços de saúde, além da mesma exigência do esgotamento sanitário, ainda estão sujeitas às normas sanitárias específicas (BRASIL, 2011).

Por outro lado, é preciso destacar que existem parâmetros solicitados pelos órgãos de fiscalização e controle de lançamento de efluentes de ETEs, que não constam nestas Resoluções. Girardi, Pinheiro e Venzon (2019) destacaram dentre esses parâmetros, a demanda química de oxigênio (DQO), os sólidos sedimentáveis, a cor aparente, o nitrogênio *Kjedahl*, coliformes totais e ferro total. Entre estes, a DQO indica a quantidade total de oxigênio consumido durante a oxidação química de substâncias orgânicas presentes no efluente, sendo considerada uma análise indispensável em ETEs que utilizam sistemas de tratamento biológico anaeróbio. Segundo Von Sperling (2011), as concentrações usuais de DQO nos esgotos domésticos brutos variam de 400 a 800 mg L⁻¹, com valores típicos de 700 mg L⁻¹, conforme a condição do esgoto.

Embora existam métodos eficazes para remover a DQO ou degradar compostos orgânicos persistentes nos efluentes, como oxidação avançada, adsorção, separação por membranas e tratamento bioquímico aeróbico, esses tratamentos apresentam desafios, como alto consumo de energia, emissões de carbono, altos custos de investimento e operação, além da geração de resíduos perigosos (KOPPLIN, 2023).

Estudos recentes têm explorado o uso de microalgas em diversas etapas do processo de tratamento de esgotos. Elas podem atuar nas lagoas de estabilização nos processos primários, em biofiltros, aderidas ao material filtrante, ou ainda auxiliar no processo de lodo ativado (ARIAS *et al.*, 2018). O ponto chave está na fotossíntese realizada pelas microalgas, que remove nutrientes como nitrogênio e fósforo do esgoto, ao mesmo tempo em que fornece oxigênio para acelerar a ação de outros microrganismos presentes (HAZAN *et al.* 2023).

No estudo de Sayed *et al.* (2023) foi avaliada a remoção de DQO ao utilizar microalgas numa célula de combustível microbiana para captação de energia, variando concentrações de levedura e efluentes numa célula de combustível microbiana para captação de energia. Estes autores verificaram que a concentração ótima de leveduras e a concentração ótima de efluentes eram de 10,35% e 66,21% respectivamente. Huang *et al.* (2024) também estudaram a influência da adição de acetato de sódio num cultivo de *Chlorella pyrenoidosa* em águas residuais de

aquicultura, onde ocorreu forte crescimento das microalgas ao mesmo tempo em que houve remoção de cerca de 90% do nitrogênio e de 80% do fósforo presentes no meio de cultivo utilizado.

Portanto, manter os padrões de qualidade dos efluentes dentro de limites que garantam a saúde dos corpos d'água é de extrema importância, uma vez que altos níveis de DQO podem levar a uma demanda excessiva de oxigênio, o que pode resultar em condições de baixo teor de oxigênio dissolvido, impactando negativamente a vida do ecossistema aquático. Desta forma, o monitoramento e o tratamento adequado dos efluentes para atender aos padrões de qualidade estabelecidos pela Resolução Conama nº 357/2005, para as diferentes classes de corpos d'água e seus usos preponderantes são essenciais para a gestão ambiental sustentável.

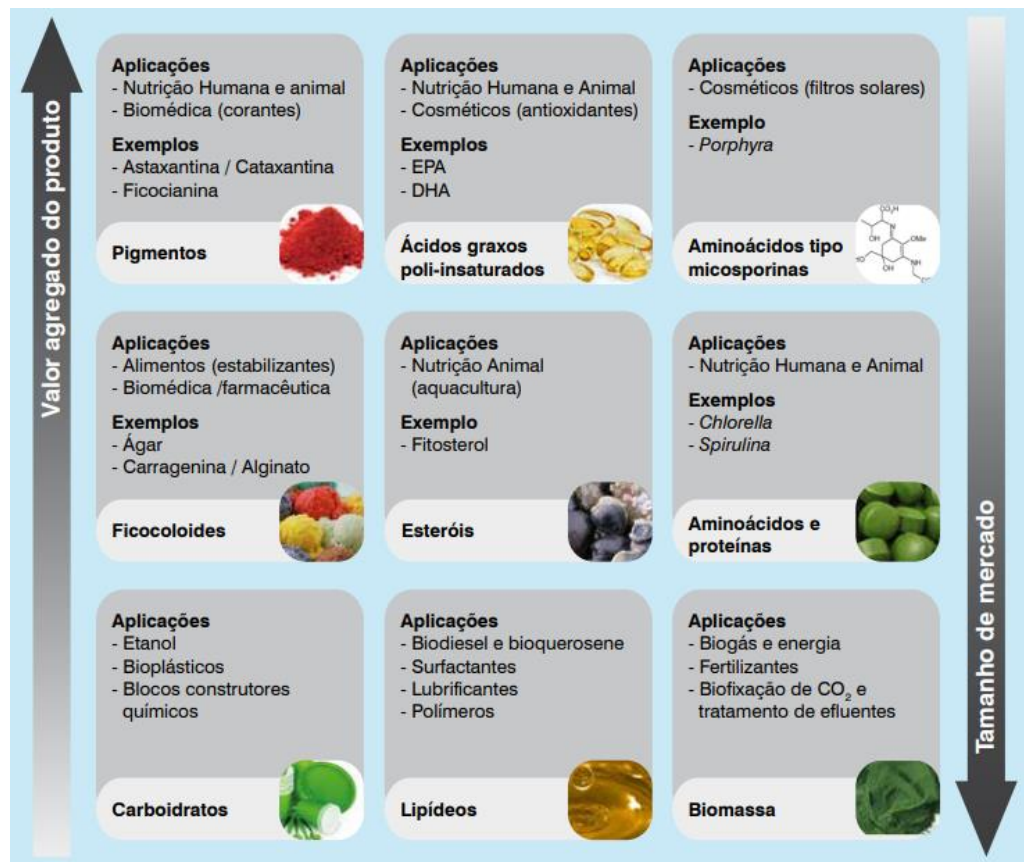
3.5 CULTIVO DE MICROALGAS EM FOTOBIOREATOR

As microalgas são seres unicelulares e fotossintetizantes pertencentes ao reino protista, que habitam hegemonicamente ambientes aquáticos doces, salgados e salobres. Elas também desempenham papel fundamental tanto no ciclo energético no qual estão inseridas, visto que são produtoras primárias e, portanto, base das suas cadeias alimentares, quanto no equilíbrio da atmosfera do planeta, uma vez que são responsáveis por mais de 50% da atividade fotossintética global (SIMÕES *et al.*, 2016).

Esses microrganismos possuem ainda maior eficiência fotossintética, maiores taxas de fixação de carbono e curvas de crescimento acentuadas em termos de biomassa, além de um balanço energético mais favorável e requisitos nutricionais básicos quando comparados com as plantas (SIMÕES *et al.*, 2016). Também servem como matéria prima para diversos produtos, como biogás, biocombustíveis, lubrificantes, biofixação de CO₂, nutrição humana e animal, cosméticos e pigmentos, como pode ser conferido na Figura 2.

Nos últimos anos, temas envolvendo cultivo de microalgas ganharam relevância na comunidade científica, se mostrando como uma alternativa em potencial para as fontes tradicionais de combustíveis. Além de se opor à produção de combustíveis fósseis, o uso de microalgas para a produção de biocombustíveis de quarta geração mostra vantagens inclusive quando contrastado com biocombustíveis de outras matérias primas (GANESAN *et al.*, 2020).

Figura 2 - Produtos derivados de microalgas



Fonte: Embrapa (2016).

As microalgas não demandam terra fértil para seu cultivo, com o possível uso de chorume, águas residuais e água do mar como meio de cultivo total ou parcial, evitando ainda possíveis desmatamentos que ocorreriam para culturas terrestres. A título de comparação, pode-se citar a cana-de açúcar e a soja, que, além de ocuparem grandes áreas de terra cultivável, possuem competição entre suas demandas, sendo tanto fontes de alimento humano quanto matérias primas para biocombustíveis (GANESAN *et al.*, 2020).

3.5.1 *Chlorella vulgaris*

A espécie *Chlorella vulgaris* pertence à classe *Chlorophyceae*, ordem *Chlorococcales* e família *Oocystaceae*, que possui alta produtividade e forma de vida tanto celular quanto colonial. Espécies do mesmo gênero alcançam crescimento satisfatório em faixas de temperatura que variam entre 15 a 40 °C e têm células globulares com diâmetro entre 3 e 8 µm de diâmetro. Essa espécie é comumente utilizada em culturas com foco em biomassa, além de estar inserida

nas indústrias de cosméticos, farmacêutica, de suplementos alimentares e de alimentação saudável (SIMÕES *et al.*, 2016).

Dentre estudos recentes com a espécie de microalga em questão, pode-se citar Sangeetha *et al.* (2022), que analisaram o biocombustível com base em *Chlorella vulgaris* contando com nanotubos de carbono e alumina como aditivos, avaliando a combustão, emissão de gases, ruído e vibração durante os testes. Também é possível citar Hadiyanto *et al.* (2023), que avaliaram o fungo *Aspergillus niger* como biofloculante no processo de colheita, obtendo resultados promissores e com possibilidade de maior otimização de alguns fatores do processo.

3.5.2 Fotobiorreatores

De acordo com Andersen (2005), um fotobiorreator pode ser definido como “um recipiente [...] para produção fototrófica, no qual a energia é fornecida por meio de luz elétrica.”. Existem diversos tipos de fotobiorreatores, como tubular, cilíndrico, cônico, planar e *raceway*, com a construção de cada um deles levando em consideração fatores como o modo de fornecer luz, como fazer circular o cultivo, os materiais para confecção, como prover CO₂ e remover O₂ (ANDERSEN *et al.*, 2005). No atual estudo, o design de fotobiorreator utilizado para os cultivos foi o *raceway*, descrito a seguir.

3.5.2.1 Fotobiorreator *Raceway*

De acordo com Rosa e Ordóñez (2022), os fotobiorreatores do tipo *raceway* são grandes lagoas abertas expostas à luz do sol providas de mecanismos que promovem tanto a mistura entre nutrientes, água e microalgas quanto o fluxo do cultivo. Na Figura 3 pode-se conferir um exemplo do sistema de cultivo em questão.

Figura 3 - Fotobiorreator *Raceway* de escala comercial



Fonte: Kanemoto (2012)

Em pesquisas recentes, esse sistema de cultivo foi apontado como o mais barato entre os existentes para larga escala, ao mesmo tempo em que sofrem com as condições climáticas, que tem um efeito profundo na produtividade de microalgas (SUPARMANIAM *et al.*, 2019; BHATT *et al.*, 2022). Essa sensibilidade foi incorporada no modelo de previsão proposto por Devadiga *et al.* (2023), que indicaram principalmente a intensidade solar e temperatura como as que mais impactam na previsão de crescimento de biomassa.

Sathinathan *et al.* (2023) indicam que o formato desse tipo de fotobiorreator ainda não está bem definido para maximizar a produtividade de biomassa, mas que a inoculação inicial de microalgas, o material do fotobiorreator e o excesso de nutrientes são essenciais para garantir o crescimento microalgal. Apesar de mais barato, Silva *et al.* (2023) dizem que os fotobiorreatores *raceway* não são o melhor tipo para produção de biomassa.

3.6 PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS

A metodologia *Design of Experiments* (DoE) consiste numa técnica de condução de experimentos que possibilita, através de mecanismos estatísticos, obter uma quantidade maior de informações com a realização de um menor número de experimentos. Desse modo, é possível economizar tempo e outros recursos, tornando a experimentação mais eficiente.

Mais especificamente, o Método de Taguchi foi desenvolvido e popularizado pelo engenheiro japonês Genichi Taguchi, consistindo num delineamento experimental de fatorial fracionado. Apesar de não executar todas as combinações possíveis de níveis de fatores, esse tipo de fatorial permite identificar os fatores que mais influenciam no processo estudado.

A aplicação do Método de Taguchi tem sua importância pautada no fato de que os recursos utilizados na exploração são reduzidos drasticamente, pois permite a identificação de quais variáveis de processo têm maior relevância com a realização de um número menor de experimentos. Esses experimentos, por sua vez, têm como principal finalidade fornecer os ajustes ótimos dos fatores controlados e quais desses fatores são mais relevantes para o processo de acordo com os resultados obtidos nas medições das variáveis de resposta (TAGUCHI, 1986).

Para investigar 6 fatores com 2 níveis cada através do Método de Taguchi, por exemplo, são demandados apenas 8 experimentos. Em comparação com a metodologia tradicional de 2^n experimentos para um número n de fatores a serem investigados, esse número sobe para 64 experimentos, demonstrando como a metodologia adotada na presente pesquisa poupa recursos como hora-homem, produtos químicos, água e tempo para realização da mesma.

Esse método tem sido amplamente usado na iniciativa privada no desenvolvimento de produtos e processos. Além disso, é possível encontrar aplicações do mesmo em pesquisas recentes envolvendo cultivo de microalgas, como as realizadas por Amaral *et al.* (2020) e Santos *et al.* (2021).

No processo global de produção de biocombustíveis com base em microalgas, podemos aplicar arranjos ortogonais de Taguchi nas etapas de cultivo, colheita, secagem, conversão e refino para o óleo final (BOBDE *et al.*, 2019; KIM e JEONG, 2017). Nessa monografia, o foco será a aplicação na etapa de cultivo inicial, tomando como fatores de entrada a Quantidade de lâmpadas, Porcentagem de Água de ETE, Nível de água no fotobiorreator e a Concentração de carbono (acetato de sódio), e como fatores de saída a produtividade de biomassa e remoção de DQO da água de ETE.

3.6.1 Fundamentação Estatística do Método de Taguchi

O Método de Taguchi se baseia em recursos matemáticos e estatísticos combinados com recursos de engenharia, que possibilitam a reprodutibilidade de experimentos robustos em condições controladas. Tais condições são chamadas de condições experimentais, envolvendo cada uma uma combinação única de níveis pré-definidos para cada fator, isto é, cada variável de entrada (TAGUCHI, 1986).

Dependendo da quantidade de fatores a serem analisados, dos recursos disponíveis para os estudos e da complexidade do problema, escolhe-se um dos arranjos ortogonais (L4, L8, L9, L12, L16, L18, L27 e L64) para compor a matriz de combinações. É importante salientar que o número indicado em cada um dos arranjos indica a quantidade de condições possíveis de serem experimentadas, com cada condição possuindo, no mínimo, uma réplica para posterior análise de variância (TAGUCHI, 1986).

A análise de variância (ANOVA) envolve analisar a consistência e a variabilidade dos resultados obtidos. Com base nos resultados obtidos nas variáveis respostas e nos graus de liberdade, é possível verificar quais variáveis de entrada possuem significância estatística para impactar o processo global, através do chamado teste F e qual seu nível ótimo, levando em conta inclusive o efeito de dois ou mais fatores (TAGUCHI, 1986).

Além disso, é possível levar em conta fatores de entrada que estão fora de controle do experimentador, como condições climáticas para processos ao ar livre, mas que podem ser medidas. Esses fatores são chamados de ruídos e impactam o resultado final sem, entretanto, poderem ter seu nível escolhido arbitrariamente ou otimizado a qualquer momento (TAGUCHI, 1986).

Graças ao Método de Taguchi, é possível avaliar as condições experimentais levando em conta a vulnerabilidade de cada uma aos ruídos, permitindo a escolha de combinações de fatores que seja mais robusta e menos afetada por eles. Para tal, é utilizada a razão sinal-ruído (S/N), que é a medida da interferência de determinado ruído sobre um determinado sinal, isto é, uma resposta ou valor desejado (TAGUCHI, 1986).

Para cada contexto, é sempre desejável maximizar a razão sinal-ruído, pois quanto maior o valor, maior a robustez e menor a variabilidade da resposta em relação à variável indesejada em questão. Para seu cálculo, existem as equações 1, 2 e 3 (MONTGOMERY, 2017), devendo cada uma ser usada em função do que se busca da variável resposta (maximizar, minimizar ou convergir para determinado valor).

$$\frac{S}{N} = -10 \log \frac{\sum_{i=0}^n y_i^2}{n} \quad (1)$$

$$\frac{S}{N} = -10 \log \frac{\sum_{i=0}^n \left(\frac{1}{y_i}\right)^2}{n} \quad (2)$$

$$\frac{S}{N} = -10 \log \frac{\bar{y}^2}{s^2} \quad (3)$$

Em que:

- y = respostas para uma determinada condição experimental
- n = número de respostas para cada condição experimental
- \bar{y} = média das respostas para uma determinada condição experimental
- s^2 = variância das respostas para uma determinada condição experimental
- Equação 1 = cálculo do sinal-ruído no caso “menor é melhor”
- Equação 2 = cálculo do sinal-ruído no caso “maior é melhor”
- Equação 3 = cálculo do sinal-ruído no caso “nominal é melhor”

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

O embasamento técnico e científico deste estudo foi realizado por meio da revisão bibliográfica, utilizando artigos, livros e teses encontrados em busca na *web* aplicando palavras-chave (*microalgae*, *biofuel*, *wastewater*, *optimization*, *Chlorella vulgaris*) nas bases científicas como *Scopus* e *Web of Science*.

4.2 ESPÉCIE DE MICROALGA ESTUDADA

As microalgas utilizadas em todos os experimentos pertencem à espécie *Chlorella vulgaris*, de linhagem cedida pelo Laboratório de Engenharia de Microalgas do Departamento de Engenharia Química da Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo (EEL-USP). A caracterização biológica da espécie pode ser conferida na seção 3.5.1.

4.3 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL

Neste trabalho foram avaliados os efeitos dos seguintes fatores: presença da fonte de carbono, no caso acetato de sódio usado no cultivo; nível de iluminância (nº de lâmpadas), proporção de efluente de ETE (%); tipo de efluente da ETE (retirado em um dia útil e em um fim de semana na EEL-USP), nível da lâmina no *raceway* (cm) e vazão de aeração injetada (vvm), cujos códigos e respectivos níveis utilizados no estudo podem ser conferidos na Tabela 1. O fator Ghost preencheu a sétima variável de entrada que o arranjo L8 suporta, sem afetar em nada nenhum dos cultivos, representando apenas que essa variável está vazia e pode fornecer 1 grau de liberdade a mais na ANOVA ao final da análise estatística dos dados obtidos. As variáveis de resposta avaliadas foram: crescimento microalgal, redução de DQO e teor de lipídeos.

Tabela 1 - Codificação das variáveis de entrada para cultivo de *Chlorella vulgaris* no fotobiorreator *Raceway*

Código	Fatores	Nível Baixo (1)	Nível Alto (2)
A	Fonte de Carbono (g/L)	0	2
B	Quantidade de Lâmpadas	1	2
C	Proporção da Efluente de ETE (%)	1	5
D	Tipo de Efluente de ETE	Fim de semana	Dia útil
E	Nível da Lâmina (cm)	15	25
F	Vazão de Aeração (vvm)	0,05	0,15
G	Ghost		

Fonte: Autor.

O arranjo ortogonal selecionado para embasar o planejamento experimental foi o L_8 de Taguchi, que suporta até 7 fatores de entrada variando em 2 níveis em 8 experimentos. No presente estudo, foram adotados apenas 6, de modo que houvesse uma maior quantidade de graus de liberdade para a ANOVA, como pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 - Condições Experimentais do Arranjo Ortogonal

Condição Experimental	A (Fonte de Carbono)	B (Iluminância)	C (Proporção de Efluente)	D (Tipo de Efluente)	E (Nível da Lâmina)	F (Vazão de Aeração)	G (Ghost)
1	1	1	1	1	1	1	1
2	1	1	1	2	2	2	2
3	1	2	2	1	1	2	2
4	1	2	2	2	2	1	1
5	2	1	2	1	2	1	2
6	2	1	2	2	1	2	1
7	2	2	1	1	2	2	1
8	2	2	1	2	1	1	2

* 1 = nível baixo; 2 = nível alto; Fonte de C (acetato de sódio em $g L^{-1}$) = 0 e $2 g L^{-1}$; Iluminância (n^o de lâmpadas) = 1 e 2; Proporção de efluente de ETE (%) = 1 e 5%; Tipo de efluente de ETE = 1 (fim de semana) e 2 (dia útil); nível da lâmina em cm = 15 e 25 cm; Vazão de aeração em vvm = 0,05 e 0,15 e Ghost = indiferente

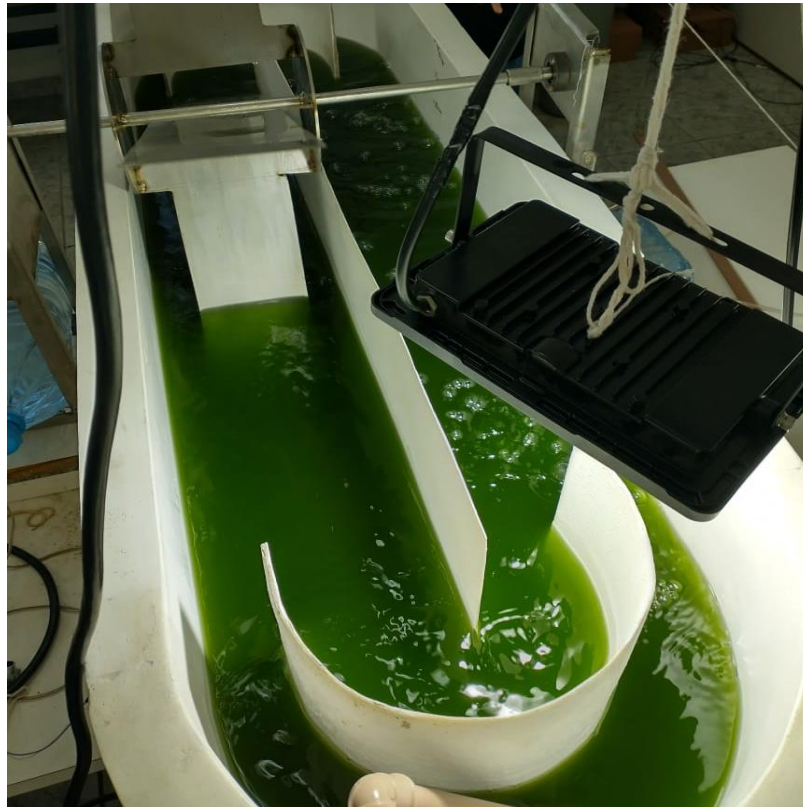
Fonte: Autor.

4.4 FOTOBIORREATOR RACEWAY

O fotobiorreator utilizado no experimento em questão é do tipo *Raceway*, feito em fibra de vidro de 3 mm de espessura, medindo 150 cm de comprimento, 40 cm de altura e 40 cm de

largura, com uma parede divisória central, contando ainda com um sistema de pás giratórias movido a motor de corrente contínua, que promoverá agitação constante do cultivo, um sistema de aeração feito com tubos PVC de 2,5 cm de diâmetro e lâmpadas LED de $150 \mu\text{mol}/\text{m}^2.\text{s}$, de acordo com o planejamento experimental, como pode ser conferido na Figura 4.

Figura 4 - Fotobiorreator *raceway* em escala laboratorial



Fonte: Autor.

Um motor de limpador de para-brisa Bosch, 12 V, F 006 B20 035, compõe o sistema de agitação contínua do cultivo através de uma *paddlewheel*, com frequência de rotação contínua de 6 rpm.

4.5 MEIO DE CULTIVO BBM

O meio de cultivo utilizado no fotobiorreator *Raceway* foi o meio *Bold's Basal Medium* (BBM), que possui a seguinte composição para 1 L de meio (ANDERSEN *et al.*, 2005):

- 5 mL de solução NaNO_3 150 g L^{-1} ;
- 10 mL de solução K_2HPO_4 $7,5 \text{ g L}^{-1}$;
- 10 mL de solução KH_2PO_4 $17,5 \text{ g L}^{-1}$;

- 10 mL de solução NaHCO_3 7,5 g L^{-1} ;
- 5 mL de solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 2,5 g L^{-1} ;
- 5 ml de solução de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 10 g L^{-1} ;
- 2 ml de solução de Na_2EDTA 25 g L^{-1} ;
- 2 ml de solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 2 g L^{-1} ;
- 2 ml de solução de H_3BO_3 2 g L^{-1} ;
- 2 ml de solução de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,75 g L^{-1} ;
- 2 ml de solução de $\text{Cl}_2\text{Mn} \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0,12 g L^{-1} ;
- 2 ml de solução de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ 0,12 g L^{-1} ;
- 2 ml de solução de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 0,03 g L^{-1} ;
- 2 ml de solução de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ g L^{-1} ;

Estes reagentes nos respectivos volumes foram colocados em balão volumétrico de 1 L, e o menisco era atingido completando o balão com água destilada.

4.6 PREPARO DOS INÓCULOS

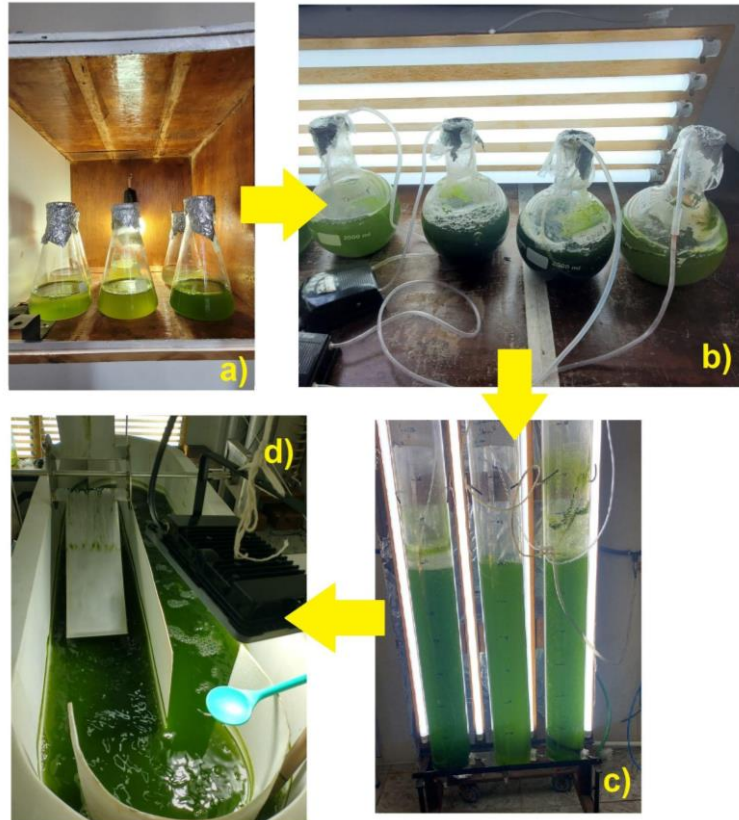
Para cada experimento, foi necessário obter uma quantidade de meio de cultivo com microalgas suficiente para testar uma condição experimental, seja numa lâmina de 15 ou de 25 cm. O preparo de cada um desses inóculos consistiu em realizar sucessivamente o processo de repicagem de cultivos menores para volumes maiores sempre que alcançar valor de absorvância próximo a 2 em comprimento de onda de 680 nm, de modo que haja maior volume de fluído e maior quantidade de nutrientes para aumento do número de células no cultivo.

Inicialmente, o cultivo foi mantido no cepário em meio artificial BBM iluminado constantemente por lâmpada de 15 W em erlenmeyers de 100 mL. Em seguida, o cultivo foi mantido em erlenmeyers de 1 L, galões de 5 L e fotobiorreatores de coluna de bolhas de 20 L. Ao alcançar a absorvância de valor 2, o meio de cultivo já possuía volume e concentração de microalgas suficientes para passagem para o fotobiorreator *Raceway*, que terá volume total de cultivo entre 75 e 125 litros, dependendo do nível da lâmina de cada condição experimental. Todo o processo de aumento dos inóculos pode ser conferido na Figura 5.

Todos os recipientes e fotobiorreatores utilizados na cadeia de cultivo foram desinfetados para evitar contaminação do cultivo. Para isso, os fotobiorreatores serão lavados com água sanitária, detergente e água corrente, com as vidrarias sendo colocadas também na

autoclave por, aproximadamente, uma hora. Os demais materiais serão lavados com água corrente, detergente e álcool etílico 70% v/v.

Figura 5 - a) Cepário com microalgas em erlenmeyers de 250 mL; b) Recipientes intermediários de 1 a 5 litros; c) Coluna de bolhas de 20 litros; d) Fotobiorreator *raceway*



Fonte: Autor.

4.7 EQUIPAMENTOS LABORATORIAIS

Dentre os equipamentos laboratoriais utilizados no dia a dia da pesquisa, pode-se citar o espectrofotômetro (Modelo Q898DPT, Fabricante QUIMIS), ultrassom (Modelo Q3.0/40A, Fabricante: Ultronique), autoclave vertical de 30 litros (Fabricante: Phoenix), estufa (Modelo MA 033, Fabricante: Marconi), bomba de vácuo (Modelo: 131, Fabricante: Primatec), compressor de ar (Modelo: ACQ-009, Fabricante: Boyu) e balança analítica (Modelo DC-1210D, Fabricante YMC).

4.8 COLETA E AVALIAÇÃO DA BIOMASSA

A avaliação da produção de biomassa foi feita por meio de medições diárias da absorbância em espectrofotômetro ao longo dos 10 dias de cultivo, gerando uma curva de

crescimento em cada condição de cultivo. O tempo de cultivo foi estabelecido de acordo com o utilizado por Metsoviti *et al.* (2019) e Oscanoa *et al.* (2021).

A colheita da biomassa foi feita pelo processo de floculação em tanque, usando sulfato de alumínio como agente floculante na concentração de 3 mL.L⁻¹ (PRAGYA; PANDEY; SAHOO, 2013). Após um dia de floculação, a biomassa havia decantado e podia ser extraída pela parte de baixo do tanque para ser filtrada a vácuo e seca em estufa, tendo seus lipídios extraídos posteriormente, conforme pode ser conferido nas Figuras 6 e 7. O sobrenadante resultante após a decantação foi descartado.

Figura 6 - Bomba e Kitassato para filtragem a vácuo



Fonte: Autor.

A produtividade de biomassa será calculada de acordo com a equação (4), adaptada de Andersen (2005):

$$P_b = \frac{B_f - B_i}{\Delta t} \quad (4)$$

Em que:

P_b: Produtividade em biomassa (mg L⁻¹ dia⁻¹);

B_f: Concentração de biomassa final (mg L⁻¹);

B_i: Concentração de biomassa inicial (mg L⁻¹);

Δt: variação de tempo (dias);

Figura 7 – Tanque de Floculação



Fonte: Autor.

A concentração de biomassa inicial e final foram obtidas através da curva de calibração, que pode ser conferida no Apêndice A. Nela, é possível estimar a concentração de biomassa com base na absorbância medida através do espectrofotômetro.

4.8.1 Confeção da Curva de Calibração

Para elaboração da curva de calibração, foram retiradas amostras de volumes e absorbâncias conhecidos de cultivos intermediários em andamento e misturadas com efluentes de ETE na proporção de 5% em volume, de modo a simular amostras de uma condição experimental. Como agente floculante, foi utilizado o sulfato de alumínio adicionado às amostras devidamente rotuladas, que em seguida foram filtradas. A biomassa filtrada foi seca em estufa por 24h e posteriormente pesada. A curva foi plotada cruzando valores de concentração de biomassa e absorbância com auxílio do *software* MS Excel, do mesmo modo que a obtenção da equação da linha de tendência e do coeficiente de correlação R^2 .

4.9 EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS E AVALIAÇÃO DO TEOR LIPÍDICO

A extração de lipídeos será realizada de acordo com o passo a passo descrito por Zorn *et al.* (2017). O teor de lipídeos final em relação será calculado com a equação (5), enquanto a produtividade de lipídeos, de acordo com Griffiths e Harrison (2009).

$$\text{Teor de lipídios (\%)} = \frac{\text{Massa de lipídios obtida (g)}}{\text{Massa de biomassa obtida (g)}} \cdot 100 \quad (5)$$

4.10 MEDIÇÃO DA REMOÇÃO DE DQO

Para avaliar a remoção de DQO pela microalga, foram utilizados diferentes lotes de efluentes da ETE da EEL-USP inseridos em diferentes proporções no meio de cultivo a cada condição experimental, tendo sua DQO medida pelo método de Lipps, Braun-Howland e Baxter (2023). Foram realizados experimentos preliminares em menor volume para garantir que a proporção de efluente não seja tão alta a ponto de as microalgas morrerem durante os cultivos de grande volume por contaminação.

Foram retiradas 4 amostras de cada cultivo: duas no primeiro dia (uma com água da torneira, efluente da ETE e nutrientes do meio de cultivo antes de serem adicionadas as microalgas no cultivo e outra depois delas serem inseridas com as devidas proporções de acordo com cada condição experimental) e duas ao final do cultivo (uma ainda com a biomassa de microalgas no meio e outra do sobrenadante resultante do processo de floculação e decantação após a colheita da biomassa).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados obtidos correspondem aos cultivos de *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *Raceway* nas seguintes condições experimentais, aplicadas sem duplicata:

- ✓ Condição de Cultivo 8: (fonte de C = 2 g L⁻¹ de acetato de sódio; iluminância = 2 lâmpadas; proporção de efluente de ETE = 1%; tipo de efluente = coletado em dia útil; nível da lâmina = 15 cm; vazão de aeração = 0,05 vvm e Ghost = 2);
- ✓ Condição de Cultivo 2: (fonte de C = 0 g L⁻¹ de acetato de sódio; iluminância = 1 lâmpada; proporção de efluente de ETE = 1%; tipo de efluente = coletado em dia útil; nível da lâmina = 25 cm; vazão de aeração = 0,15 vvm e Ghost = 2); e
- ✓ Condição de Cultivo 6: (fonte de C = 2 g L⁻¹ de acetato de sódio; iluminância = 1 lâmpada; proporção de efluente de ETE = 5%; tipo de efluente = coletado em dia útil; nível da lâmina = 15 cm; vazão de aeração = 0,15 vvm e Ghost = 1).

As discussões dos resultados obtidos para a produção de biomassa, teor de lipídios e taxa de remoção da DQO do efluente da ETE da USP de Lorena, nas condições de cultivo aplicadas até o momento, foram fundamentadas em pesquisas com objetivos semelhantes aos da presente monografia. Tais pesquisas podem ser conferidas na Tabela 3, com as respectivas considerações relacionadas à temática dessa monografia.

Tabela 3 – Síntese de pesquisas para discussão de resultados

Autores	Consideração / Resultados
Bisheh e Rad (2023)	Melhor crescimento na menor intensidade entre as testadas 2000, 3000 e 4000 μ mol de fótons/m ² s ¹
Maltsev et al. (2021)	Faixa ideal de intensidade luminosa para maximizar concentração de biomassa: 26 a 400 μ mol de fótons/m ² s ¹
Nzayisenga et al. (2020)	Intensidade luminosa ideal para <i>Chlorella vulgaris</i> : 150 μ mol de fótons/m ² s ¹
Magdaong et al. (2019)	Melhor combinação de fotoperíodo e vazão de aeração pra crescimento de <i>Chlorella sorokiniana</i> : iluminação contínua e 0,10 vvm (2° maior)
Ricardi (2020)	Pouca relevância da vazão de aeração em relação às demais variáveis estudadas
Huang et al. (2024)	Maior concentração de biomassa obtida com a maior concentração de acetato de sódio dentre as testadas
Parashar et al. (2023)	Aumento de 30% na concentração de biomassa de <i>Chlorella vulgaris</i> adicionando fonte de carbono no cultivo
Sonkar et al. (2023).	Maior concentração de biomassa obtida em lâminas mais rasas de cultivo
Fazal et al. (2018)	Hipótese de competição entre microalgas e bactérias do efluente testado
Peng et al. (2019)	Revisão que cita estratégias ganha-ganha para obter acúmulo de lipídeos concomitante a concentração de biomassa
Yin et al. (2020)	Indica contradição entre teor lipídico e crescimento de biomassa
Zorn et al. (2017)	Teor lipídico em <i>Chlorella minutissima</i> : próximo a 20%
Metsoviti et al. (2019)	Teor lipídico em <i>Chlorella vulgaris</i> : acima de 22%
Santos et al. (2021)	Teor lipídico em <i>Chlorella minutissima</i> : próximo a 15%
Blanco et al. (2022)	Teor lipídico em <i>Chlorella vulgaris</i> : próximo a 16,4%
Zhuang et al. (2023)	Remoção de DQO na ordem de 40%
Lee et al. (2019)	Após redução inicial da DQO, há um aumento durante a fase estacionária do cultivo

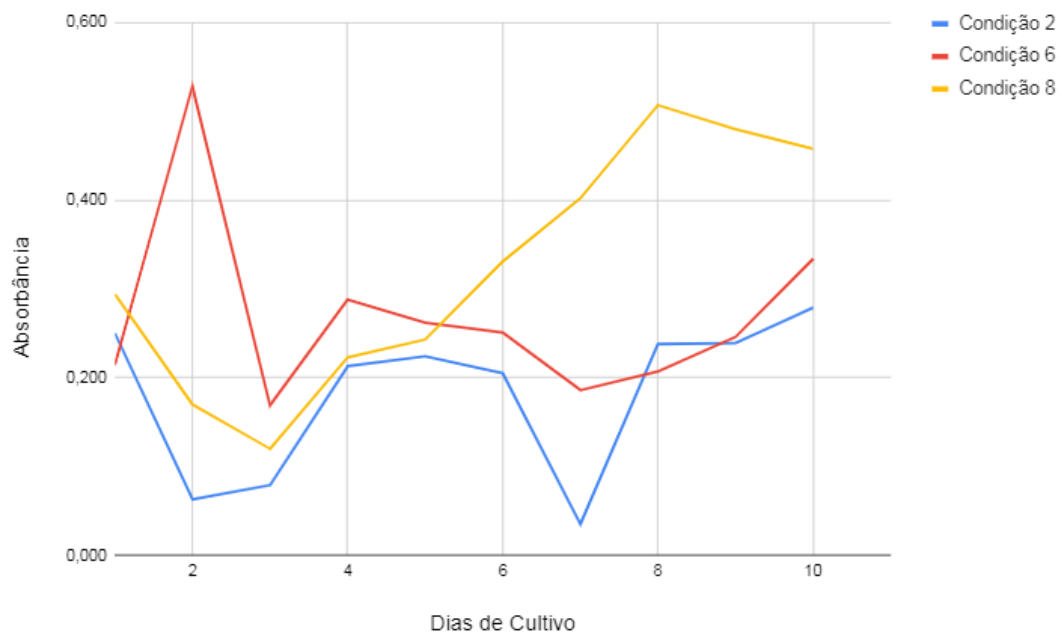
Fonte: Autor.

5.1 PRODUÇÃO DE BIOMASSA

Na Figura 8, podem ser observadas as curvas de evolução da absorbância das diferentes condições de cultivo. A produtividade da biomassa diária média para cada condição de cultivo da *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *Raceway*, por sua vez, foi estimada utilizando a curva de calibração (Apêndice A). Com as absorbâncias inicial e final (dia 1 e dia 10) de cada uma das condições de cultivo convertidas em valores de concentração de biomassa, esses, por sua vez, foram aplicados na equação (4), resultando nas respectivas produtividades, que podem ser observadas na Figura 9.

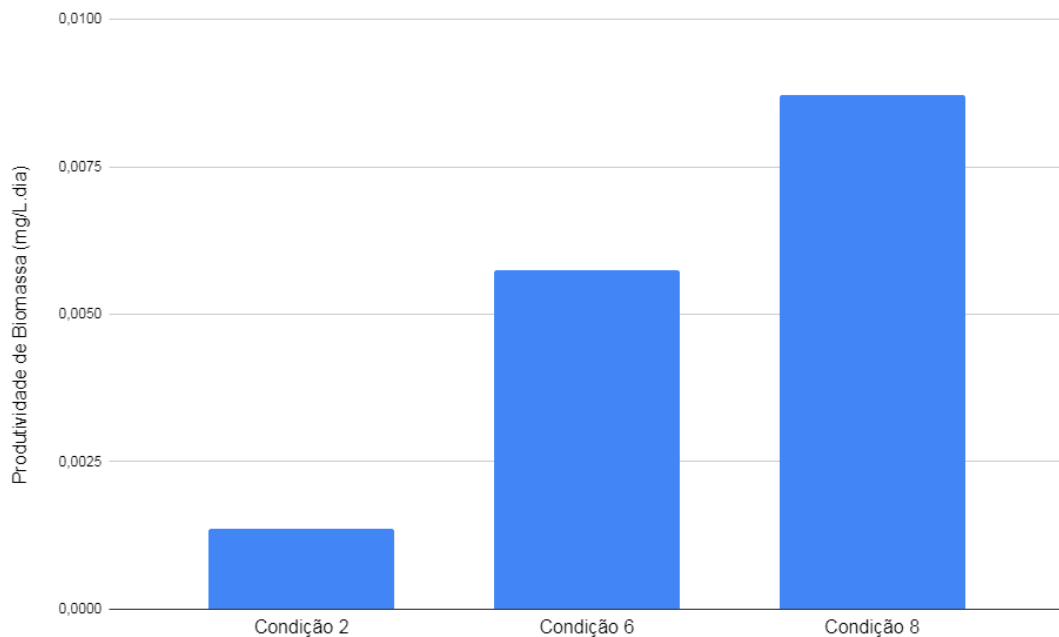
Verificou-se que o crescimento da *Chlorella vulgaris* foi muito superior na condição de cultivo 8, que diferiu das demais, principalmente quanto à maior iluminância, proporcionada pelo uso de 2 lâmpadas, e à menor vazão de aeração, de 0,05 vvm, enquanto para as demais foi de 0,15 vvm. Além disso, houve proporção de efluente de ETE de 1%, com uma profundidade de 15 cm e presença de acetato de sódio na condição 8, combinação de níveis entre esses 3 fatores que não foi utilizada nas condições 2 e 6.

Figura 8 – Crescimento da *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *Raceway* medido por absorbância do meio de cultivo



Fonte: Autor.

Figura 9 – Produtividade de biomassa da *Chlorella vulgaris* em diferentes condições de cultivo em fotobiorreator *Raceway*



Fonte: Autor.

A condição de cultivo 8 promoveu maior crescimento e, conseqüentemente, promoveu maior produção de biomassa da *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *Raceway*.

Este resultado difere, de certo modo, do obtido por Bisheh e Rad (2023), que encontraram como condição ótima para o cultivo de *Chlorella sorokiniana* a intensidade luminosa mais baixa dentre as três testadas, que foram 2000, 3000 e 4000 μ mol de fótons $m^{-2} s^{-1}$. A faixa ideal de iluminação para maximizar concentração de biomassa microalgal é de 26 a 400 μ mol de fótons $m^{-2} s^{-1}$ (MALTSEV *et al.*, 2021), com o valor de 150 μ mol de fótons $m^{-2} s^{-1}$ indicado por Nzayisenga *et al.* (2020) como ótimo para a *Chlorella vulgaris*, tendo esse valor ordem de grandeza semelhante ao utilizado no presente estudo.

Magdaong *et al.* (2019) compararam combinações de fotoperíodos e vazões de aeração em cultivos de *Chlorella sorokiniana*, concluindo que o valor de 0,10 vvm (2º maior valor dentre 5 avaliados) com iluminação contínua proporcionaram as melhores características de crescimento. Ricardi (2020), por outro lado, concluiu que a vazão de aeração não possui forte relevância, quando comparada com as demais do presente estudo, para o crescimento microalgal. Portanto, pode-se inferir que a combinação, principalmente, da presença de acetato de sódio com a profundidade menor do cultivo e uma proporção menor de efluente de ETE contribuíram para uma maior produtividade de biomassa.

A influência da adição de acetato de sódio como fonte de carbono está de acordo com os resultados obtidos por Huang et al. (2024). Os autores analisaram cultivos de *Chlorella pyrenoidosa* com 0, 0,2, 0,5 e 1 g.L⁻¹ de acetato de sódio em fotobiorreator de membrana, obtendo mais do que o dobro de biomassa seca com a maior concentração de fonte de carbono em comparação com o cultivo de controle sem o acetato. Os resultados de Parashar et al. (2023) também apontam para o mesmo caminho, aumentando em 30% a concentração de *Chlorella vulgaris* em cultivos em fotobiorreator *raceway* que possuíam biogás bruto aspergido como fonte de carbono quando comparados com cultivos sem a aspersão.

No que diz respeito à profundidade de cultivo, está de acordo com os resultados obtidos por Sonkar et al. (2023). Os autores cultivaram *Chlorella minutissima* em lâminas de 20, 30, 40 e 50 cm de profundidade de cultivo, com maior concentração de biomassa na lâmina de 30 cm, seguida de perto pela concentração obtida com 20 cm de lâmina. As lâminas mais profundas forneceram aproximadamente a metade da concentração média obtida nas duas já citadas.

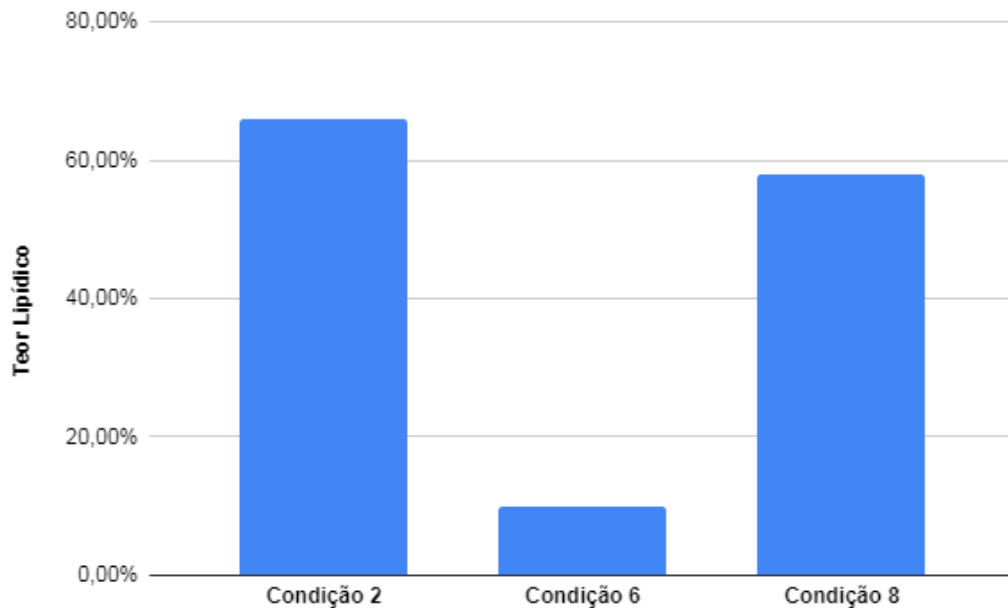
O maior crescimento da *Chlorella vulgaris* no meio de cultivo com menor teor de efluente de ETE foi semelhante ao resultado obtido por Fazal et al. (2018). Estes autores utilizaram efluente da indústria têxtil e sugeriram que o menor crescimento das microalgas pode ser devido à ocorrência de competição entre as bactérias presentes no efluente e as microalgas por nutrientes e oxigênio do meio de cultivo.

É possível observar, ainda, um pico de crescimento no segundo dia de cultivo da condição 6, assim como um ponto com baixa absorvância no sétimo dia da condição 2. Esses pontos destoam do comportamento esperado de crescimento (RICARDI, 2020).

5.2 TEOR LIPÍDICO

O teor lipídico obtido em cada uma das nas diferentes condições de cultivo da *Chlorella vulgaris* é apresentado na Figura 10, sendo possível observar teores próximos a 80% nas condições de cultivo 2 e 8, enquanto a condição 6 apresentou valores em torno de 10%.

Figura 10 – Teor lipídico da *Chlorella vulgaris* ao final do cultivo em fotobiorreator *Raceway*



Fonte: Autor.

A condição 8, que possui alto teor lipídico (próximo a 60%), é a mesma que possuiu maior desenvolvimento de biomassa, o que, de acordo com a literatura, não é esperado, visto que é apontada contradição entre crescimento celular e acúmulo de lipídeos (PENG et al., 2019; YIN et al., 2020). Além disso, os valores comuns de teor lipídico para microalgas do gênero *Chlorella* variam entre 5 e 30% (ZORN et al., 2017; METSOVITI et al., 2019; SANTOS et al., 2021; BLANCO et al., 2022), de modo que se faz necessário realizar duplicatas para confrontar e validar os resultados obtidos nas condições 2 e 8 para essa variável de saída, assim como rastrear possíveis fontes de distorção desses dados. Por outro lado, a condição de cultivo 6 apresentou valores condizentes ao esperado quando contrastado com a literatura.

5.3 REMOÇÃO DA DQO DO EFLUENTE

Na Tabela 4, são apresentados os valores de DQO inicial (DQO_i) e final (DQO_f) em cada uma das nas diferentes condições de cultivo da *Chlorella vulgaris*, bem como no meio de cultivo sem microalgas (tratamento controle) contendo água de torneira, efluente de ETE e nutrientes.

Verificou-se que nas condições de cultivo 2 e 8 a DQO foi aumentada com o crescimento da microalga, sendo este comportamento ainda mais acentuado na condição de cultivo 2 da *Chlorella vulgaris*. Esse aumento acentuado ocorreu com a menor iluminância, utilizando

apenas 1 lâmpada, maior profundidade de cultivo e com o aumento da vazão de aeração (0,15 vvm), níveis esses todos distintos àqueles encontrados na condição 8.

Tabela 4 – Valores de DQO no início e no final dos cultivos de *Chlorella vulgaris*

	Condição 2	Condição 6	Condição 8
DQOi com microalgas [mg/L]	220	34845	110
DQOi sem microalgas [mg/L]	52	15	63
DQOf com microalgas [mg/L]	8698	1107	250
DQOf sem microalgas [mg/L]	330	112	101

Fonte: Autor.

Em contrapartida, na condição 6, houve uma significativa redução da DQO promovida pelo crescimento da microalga. Essa condição de cultivo difere das duas outras citadas, principalmente, na proporção de efluente, que foi de 5% contra 1% das condições 2 e 8, o que indica ser a principal causa da diminuição da DQO.

A remoção da DQO verificada na condição 6, foi muito superior à obtida por Zhuang et al. (2023), que foi de 39,33%, sendo necessários mais experimentos para verificar esta discrepância. Por outro lado, o aumento de DQO nas condições 2 e 8 pode ser explicado por Lee et al. (2019), que esclareceram que, embora as microalgas diminuam a DQO solúvel nos efluentes durante a fase inicial de crescimento, elas liberam compostos orgânicos durante a fase estacionária, aumentando novamente a DQO do meio de cultivo, compostos esses que podem atuar como inibidores de crescimento ou causar a morte celular. É possível sugerir, ainda, que condições que dificultem a presença de luz no meio de cultivo, como menor número de lâmpadas e maiores profundidades da lâmina de cultivo, podem promover a intensificação do aumento da DQO.

6. CONSIDERAÇÕES

Entre as considerações a serem feitas, é importante salientar alguns impasses e desafios enfrentados para o desenvolvimento dos ensaios experimentais no laboratório, que afetaram o cronograma da pesquisa e podem ter influenciado os resultados obtidos até o momento. Dentre eles, podem ser citados:

- Queima do motor da pá giratória;
- Queima do motor da bomba de ar comprimido principal;
- Quedas de energia na edificação;
- Contaminação dos cultivos;
- Experimentos realizados concomitantes ao desenvolvimento de *know-how* de cada procedimento por parte dos envolvidos;
- Atraso na chegada de reagentes.

Para a realização de estudos de natureza semelhante, recomenda-se a presença de motor e aeradores sobressalentes semelhantes aos usados, de modo que, no caso de queimas ou quebras, que podem vir a ocorrer, o cronograma da pesquisa não seja afetado de maneira muito prejudicial. Além disso, é interessante a realização de experimento piloto que englobe toda a cadeia de processos para familiarização dos pesquisadores e auxiliares dos experimentos, evitando assim possíveis erros humanos durante os experimentos.

Durante a execução de todo o processo de pesquisa bibliográfica e condução dos experimentos do presente estudo, destacaram-se alguns aprendizados que vão além da metodologia científica, planejamento experimental e conceitos específicos do conteúdo abordado. Dentre eles, pode-se citar a melhoria nas habilidades de gestão de pessoas, gestão de tempo, inteligência emocional e de planejamento de longo prazo, além de práticas de higiene e segurança do trabalho, *networking*, relacionamentos interpessoais, trabalho colaborativo e comunicação não-violenta.

7. CONCLUSÕES

Para que haja maior embasamento para conclusões contundentes sobre quais variáveis dentre as avaliadas são mais relevantes e quais seus níveis ótimos para a maximização de produção de biomassa, acúmulo de lipídeos e remoção de DQO pela microalga *Chlorella vulgaris* cultivada em fotobiorreator *raceway*, faz-se necessário a execução das 8 condições experimentais por completo em duplicada.

No entanto, com base nos resultados obtidos até o momento, pode-se inferir que para o maior acúmulo de biomassa da microalga *Chlorella vulgaris* cultivada em fotobiorreator *raceway*, a condição de cultivo ótima deve conter uma fonte de carbono, como o acetato de sódio, boa iluminância, com no mínimo duas lâmpadas e a lâmina de cultivo mais baixa (15 cm), com menores aeração e proporção de efluente de ETE.

As condições de cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *raceway*, contendo baixo teor de efluente de ETE tendem a não promover a remoção de DQO, podendo até aumentá-la, considerando tanto a possível competição entre as microalgas e as bactérias presentes no efluente quanto o fato das microalgas diminuírem a DQO solúvel dos efluentes durante a fase inicial de crescimento e liberam compostos orgânicos durante a fase estacionária, aumentando novamente a DQO do meio de cultivo.

Quanto ao teor lipídico, os resultados obtidos ainda não permitem a comparação entre as condições de cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *raceway* testadas até o momento.

De acordo com a revisão de literatura realizada e os experimentos desenvolvidos até então, as condições 1, 3, 5 e 7 podem apresentar melhor crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* em fotobiorreator *raceway*, dado que o efluente de ETE dessas condições será retirado em fim de semana (nível baixo no fator de entrada D), contando com menos bactérias para competir com as microalgas. Mas isso só será possível afirmar com certeza após a conclusão de todos os experimentos previstos no planejamento apresentado inicialmente.

Como linhas de pesquisa futuras, sugere-se analisar o sobrenadante que sobra após a coleta da biomassa da microalga e investigar as condições de esgoto sanitário ou efluentes industriais que favoreçam o desenvolvimento das microalgas, caracterizando de maneira detalhada sua composição. Além disso, é possível também estudar a influência de fotoperíodos distintos no cultivo e substâncias mais sustentáveis para utilização como fonte de carbono e agente floculante.

REFERÊNCIAS

AGROENERGIA em revista. Brasília: Embrapa Agroenergia, n. 10, dez. 2016.

AMARAL, M. D.; LOURES, C. C. A.; SILVA, M. B.; PRATA, A. M. R. Adjustment of the operational parameters of an unconventional integrated and illuminated internally photobioreactor (ili-pbr) for the batch autotrophic cultivation of the *Chlorella minutissima*, using the taguchi method. **Appl Biochemistry and Biotechnol**, Clifton, v. 191, p. 245–257, 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s12010-020-03259-0>. Acesso em: 22 maio 2023.

ANDERSEN R. A. **Algal culturing techniques**. Cambridge: Elsevier, 2005. ARATBONI, H. A.; RAFIEI, N.; GARCIA-GRANADOS, R.; ALEMZADEH, A.; MORONES-RAMÍREZ, J. R. Biomass and lipid induction strategies in microalgae for biofuel production and other applications. **Microbial Cell Factories**, Porto, v. 18, n. 1, p. 1416-1429, 21 out. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1186/s12934-019-1228-4>. Acesso em: 19 mar. 2023.

ARIAS, D. M.; SOLÉ-BUNDÓ, M.; GARFÍ, M.; FERRER, I.; GARCÍA, J.; UGGETTI, E. Integrating microalgae tertiary treatment into activated sludge systems for energy and nutrients recovery from wastewater. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 247, p. 513-519, jan. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2017.09.123>. Acesso em: 03 ago. 2023.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DE NORMAS TÉCNICAS. **NBR 12209**: elaboração de projetos hidráulico-sanitários de estações de tratamento de esgotos sanitários. 2 ed. Rio de Janeiro: ABNT, 2011. 53 p.

BHATT, A.; KHANCHANDANI, M.; RANA, M. S.; PRAJAPATI, S. K. Techno-economic analysis of microalgae cultivation for commercial sustainability: a state-of-the-art review. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 370, p. 133456, out. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2022.133456>. Acesso em: 10 jul. 2023.

BISHEH, M. P.; RAD, H. A. Optimization of the culture of *Chlorella sorokiniana* PA.91 by RSM: effect of temperature, light intensity, and mgac-nps. **Environmental Science and Pollution Research**, [S.l.], v. 30, n. 17, p. 50896-50919, 18 fev. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s11356-023-25779-y>. Acesso em: 20 abr. 2023.

BLANCO, G. C.; MARINO, V. F.; GONÇALVES, B. C. M.; TAGLIAFERRO, G. V.; SANTOS, L. F.; SILVA, M. B.; GUIMARÃES, D. H. P. Sustainable integration of biofuel generation and domestic wastewater treatment by *Chlorella vulgaris*. **Brazilian Journal of Development**, São José dos Pinhais, p. 55537-55554, 4 ago. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.34117/bjdv8n8-056>. Acesso em: 15 jul. 2023.

BLIGH, E.G.; DYER W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification, *Can. J. Biochem*, [S.l.], 37, 1959, p. 911-917.

BOBDE, K.; MOMIN, H.; BHATTACHARJEE, A.; AIKAT, K.. Energy assessment and enhancement of the lipid yield of indigenous *Chlorella* sp. KA-24NITD using Taguchi approach. **Renewable Energy**, [S.l.], v. 131, p. 1226-1235, fev. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2018.07.128>. Acesso em: 19 mar. 2023.

BÓRAWSKI, P.; BEŁDYCKA-BÓRAWSKA, A.; SZYMAŃSKA, E. J.; JANKOWSKI, K. J.; DUBIS, B.; DUNN, J. W. Development of renewable energy sources market and biofuels in The European Union. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 228, p. 467-484, ago. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.04.242>. Acesso em: 15 jul. 2023.

BRANCO-VIEIRA, M.; MATA, T.M.; MARTINS, A.A.; FREITAS, M.A.V.; CAETANO, N.s. Economic analysis of microalgae biodiesel production in a small-scale facility. **Energy Reports**, [S.l.], v. 6, p. 325-332, dez. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.egy.2020.11.156>. Acesso em: 09 jul. 2023.

BRASIL. ASSESSORIA ESPECIAL DE COMUNICAÇÃO SOCIAL. **Governo entrega Projeto de Lei do Combustível do Futuro**. Brasília, DF: Ministério de Minas e Energia, 2023. Disponível em: <https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/noticias/governo-entrega-projeto-de-lei-do-combustivel-do-futuro>. Acesso em: 21 set. 2023.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução nº 357 de 18/03/2005 (Federal)**: Dispõe sobre a classificação dos corpos de água e diretrizes ambientais para o seu enquadramento, bem como estabelece as condições e padrões de lançamento de efluentes. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 58, 18 mar. 2005. Disponível em: <http://www.siam.mg.gov.br/sla/download.pdf?idNorma=2747> Acesso em: 02 dez. 2023.

BRASIL. Ministério do Meio Ambiente. Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. **Resolução nº 430 de 13/05/2011 (Federal)**: Dispõe sobre as condições e padrões de lançamento de efluentes, complementa e altera a Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, do Conselho Nacional do Meio Ambiente - CONAMA. Diário Oficial da União: seção 1, Brasília, DF, p. 89, 16 maio 2011. Disponível em: <https://www.legisweb.com.br/legislacao/?id=114770> Acesso em: 02 dez. 2023.

BULL, B.; AGUILAR-STØEN, M. **Handbook on international development and the environment**. Cheltenham, Reino Unido: Edward Elgar Publishing, 2023. 350 p.

DEBOWSKI, M.; ZIELINSKI, M.; KAZIMIEROWICZ, J.; KUJAWSKA, N.; TALBIERZ, S. Microalgae cultivation technologies as an opportunity for bioenergetic system development—advantages and limitations. **Sustainability**, [S.l.], v. 12, n. 23, p. 9980, 29 nov. 2020. MDPI AG. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/su12239980>. Acesso em: 01 dez. 2022.

DEVADIGA, S.; TIWARI, R.; SONKAR, S.; MALLICK, N. Kinetic modelling for prediction of biomass concentration of *Chlorella minutissima* in open raceway pond cultivation: A pilot-scale study. **Biomass and Bioenergy**, Oxford, v.173, 2023. 106797. DOI: Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biombioe.2023.106797>. Acesso em: 11 set. 2023.

ENAMALA, M. K.; ENAMALA, S.; CHAVALI, M.; DONEPUDI, J.; YADAVALLI, R.; KOLAPALLI, B.; ARADHYULA, T. V.; VELPURI, J.; KUPPAM, C. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 94, p. 49-68, out. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2018.05.012>. Acesso em: 15 jul. 2023.

FAZAL, T.; MUSHTAQ, A.; REHMAN, F.; KHAN, A. U.; RASHID, N.; FAROOQ, W.; REHMAN, M. S. U.; XU, J. Bioremediation of textile wastewater and successive biodiesel production using microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 82, p. 3107-3126, fev. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2017.10.029>. Acesso em: 20 mar. 2023.

GANESAN, R.; MANIGANDAN, S.; SAMUEL, M. S.; SHANMUGANATHAN, R.; BRINDHADEVI, K.; CHI, N. T. L.; DUC, P.; PUGAZHENDHI, A. A review on prospective production of biofuel from microalgae. **Biotechnology Reports**, Amsterdam, v. 27, p. 00509, set. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.btre.2020.e00509>. Acesso em 26 ago. 2023.

GIRARDI, R.; PINHEIRO, A.; VENZON, P. T. Parâmetros de qualidade de água de rios e efluentes presentes em monitoramentos não sistemáticos. **Revista de Gestão de Água da América Latina**, Porto Alegre, v. 16, e. 2, 2019.

GOH, B. H. H.; ONG, H. C.; CHEAH, M. Y.; CHEN, W.; YU, K. L.; MAHLIA, T. M. I. Sustainability of direct biodiesel synthesis from microalgae biomass: a critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 107, p. 59-74, jun. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2019.02.012>. Acesso em: 20 jul. 2023.

GOUIC, B.; MAREC, H.; PRUVOST, J.; CORNET, J.F. Investigation of growth limitation by CO₂ mass transfer and inorganic carbon source for the microalga *Chlorella vulgaris* in a dedicated photobioreactor. **Chemical Engineering Science**, Oxford, v. 233, p. 116388, abr. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ces.2020.116388>. Acesso em: 13 mar. 2023.

GRIFFITHS, M. J.; HARRISON, S. T. L. Lipid productivity as a key characteristic for choosing algal species for biodiesel production. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 21, n. 5, p. 493-507, 6 jan. 2009. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10811-008-9392-7>. Acesso em: 12 maio 2023.

GÜNDOĞDU, T. K.; DENİZ, İ.; ÇALĐŞKAN, G.; ŞAHİN, E. S.; AZBAR, N. Experimental design methods for bioengineering applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, Oxford, v. 36, n. 2, p. 368-388, 6 nov. 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3109/07388551.2014.973014>. Acesso em: 14 mar. 2023.

HADIYANTO, H.; ISAROYATI, L.; CHRISTWARDANA, M.; SUHERMAN, S.; SUSILANINGSIH, D. Respond surface optimization of bioflocculation of *Chlorella vulgaris* using filamentous fungus *Aspergillus niger* pellets to improve harvesting efficiency. **Bioresource Technology Reports**, [S.l.], v. 21, p. 101378, fev. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biteb.2023.101378>. Acesso em: 18 mar. 2023.

HASAN, H. A.; MUHAMAD, M. H.; JI, B.; NAZAIRI, N. A.; JIAT, K. W.; SIM, S. I. S. W.A.; POH, A. M. S. Revolutionizing wastewater treatment with microalgae: unveiling resource recovery, mechanisms, challenges, and future possibilities. **Ecological Engineering**, Oxford, v. 197, p. 107117, dez. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ecoleng.2023.107117>. Acesso em: 10 jul. 2023.

HERNÁNDEZ, J.; MIRANDA, E. R.; SÁNCHEZ, J. L. G.; FERNÁNDEZ, F. G. A.; VISIOLI, A. Optimización de temperatura en reactores raceway para la producción de microalgas mediante regulación de nivel. **Revista Iberoamericana de Automática e Informática Industrial**, Valencia, v. 19, n. 2, p. 164-173, 4 fev. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4995/riai.2022.16586>. Acesso em: 19 out. 2023.

HOBBSAWM, E. J. E. **A Era das revoluções**: Europa 1789 - 1848. 25. ed. Rio de Janeiro: Paz e Terra, 1961. 229 p. Disponível em: https://edisciplinas.usp.br/pluginfile.php/7738045/mod_resource/content/1/A%20Era%20das%20Revolu%C3%A7%C3%B5es-%20Eric%20Hobsbawm.pdf. Acesso em: 11 dez. 2023.

HUANG, K.; MAO, B.; LU, M.; CHEN, D.; QIU, J.; GAO, F. Effect of external acetate added in aquaculture wastewater on mixotrophic cultivation of microalgae, nutrient removal, and membrane contamination in a membrane photobioreactor. **Journal of Environmental Management**, London, v. 349, p. 119391, jan. 2024. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2023.119391>. Acesso em: 11 mar. 2023.

KADIR, W. N. A.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; LEE, K. Harvesting and pre-treatment of microalgae cultivated in wastewater for biodiesel production: a review. **Energy Conversion and Management**, Oxford, v. 171, p. 1416-1429, set. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.enconman.2018.06.074>. Acesso em: 07 jun. 2023.

KANEMOTO, F. T. **Otimização de sistema de cultivo de baixo custo de Nannochloropsis gaditana Lubián 1982 para produção de biodiesel**. 2012. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Instituto Oceanográfico, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2012.

KHOO, K. S.; CHEW, K. W.; YEW, G. Y.; LEONG, W. H.; CHAI, Y. H.; SHOW, P. L.; CHEN, W. Recent advances in downstream processing of microalgae lipid recovery for biofuel production. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 304, p. 122996, maio de 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122996>. Acesso em: 25 mar. 2023.

KIM, J. H.; JEONG, S. H. A study on the automatic harvest by on-off control for a combined system of continuous culture of microalgae and ultrasonic separation devices. **Journal of Mechanical Science and Technology**, Seoul, v. 31, n. 4, p. 1581-1586, abr. 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12206-017-0305-z>. Acesso em: 14 mar. 2023.

KOPPLIN, B. W. **Redução da DQO via tratamento oxidativo avançado em efluente industrial oriundo da síntese de Picoxystrobin**. 2023 46f. Trabalho de Conclusão de Curso (Curso de Engenharia Ambiental e Sanitária) - Universidade Federal da Fronteira Sul, Cerro Largo, 2023.

LA TORRE, A. E. G.; OCHOA-ALFARO, A. E.; ROCHA-URIBE, A.; SORIA-GUERRA, R. E. Effects of sulfur and phosphorus concentration on the lipid accumulation and fatty acid profile in *Chlorella vulgaris* (Chlorophyta). **Folia Microbiologica**, Praga, v. 68, n. 3, p. 453-463, 6 jan. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12223-022-01029-5>. Acesso em: 16 jul. 2023.

LEE, S.; LEE, N.; OH, H.; AHN, C. Enhanced and Balanced Microalgal Wastewater Treatment (COD, N, and P) by Interval Inoculation of Activated Sludge. **Journal of**

Microbiology and Biotechnology, Oxford, v. 29, n. 9, p. 1434-1443, 28 set. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.4014/jmb.1905.05034>. Acesso em: 20 ago. 2023.

LI, G.; ZHANG, J.; LI, H.; HU, R.; YAO, X.; LIU, Y.; ZHOU, Y.; LYU, T. Towards high-quality biodiesel production from microalgae using original and anaerobically-digested livestock wastewater. **Chemosphere**, [S.l.], v. 273, jun. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128578>. Acesso em: 05 fev. 2023.

LIPPS, W. C.; BRAUN-HOWLAND, E. B.; BAXTER, T. E. **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 24. ed. Washington: American Public Health Association, 2023. 1624 p.

MAAMOUN, N. The Kyoto protocol: empirical evidence of a hidden success. **Journal of Environmental Economics and Management**, New York, v. 95, p. 227-256, maio 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jeem.2019.04.001>. Acesso em: 15 abr. 2023.

MAGALHÃES, I. B.; FERREIRA, J.; CASTRO, J. S.; ASSIS, L. R.; CALIJURI, M. L. Agro-industrial wastewater-grown microalgae: a techno-environmental assessment of open and closed systems. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 834, p. 155282, ago. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.155282>. Acesso em: 27 jul. 2023.

MAGDAONG, J. B.; UBANDO, A. T.; CULABA, A. B.; CHANG, J. S.; CHEN, W. H. Effect of aeration rate and light cycle on the growth characteristics of *Chlorella sorokiniana* in a photobioreactor. **Iop Conference Series: Earth and Environmental Science**, Bristol, v. 268, n. 1, p. 012112, 1 jun. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/268/1/012112>. Acesso em: 03 jun. 2023.

MALTSEV, Y.; MALTSEVA, K.; KULIKOVSKIY, M.; MALTSEVA, S. Influence of light conditions on microalgae growth and content of lipids, carotenoids, and fatty acid composition. **Biology**, Basel, v. 10, n. 10, 1060. 2021.

MATHIMANI, T.; MALLICK, N. A comprehensive review on harvesting of microalgae for biodiesel – Key challenges and future directions. **Renewable and Sustainable Energy reviews**, Belfast, v. 91, p. 1103-1120, ago. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2018.04.083>. Acesso em: 15 abr. 2023.

METSOVITI, M. N.; PAPAPOLYMEROU, G.; KARAPANAGIOTIDIS, I. T.; KATSOULAS, N. Effect of light intensity and quality on growth rate and composition of *Chlorella vulgaris*. **Plants**, [S.l.], v. 9, n. 1, p. 31, 24 dez. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.3390/plants9010031>. Acesso em: 19 out. 2023.

MONTGOMERY, D. C. (2017). **Design and analysis of experiment**. 9 ed. New York: John Wiley

MUHAMMAD, G.; ALAM, M. A.; MOFIJUR, M.; JAHIRUL, M.I.; LV, Y.; XIONG, W.; ONG, H. C.; XU, J. Modern developmental aspects in the field of economical harvesting and biodiesel production from microalgae biomass. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v. 135, p. 110209, jan. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2020.110209>. Acesso em: 10 ago. 2023.

NAÇÕES UNIDAS. **The future we want**. Rio de Janeiro: Nações Unidas, 2012. 55 p.

NZAYISENGA, J.C.; FARGE, X.; GROLL, S.L.; SELLSTEDT, A. Effects of light intensity on growth and lipid production in microalgae grown in wastewater. **Biotechnology for Biofuels**, [S.l.], v. 13, n. 4. 2020. Disponível em: <https://doi.org/10.1186/s13068-019-1646-x>. Acesso em: 19 out. 2023.

OSCANOA, A. I.; GALLEGOS, M. A. C.; RAMOS, L. F.; SOTO, A. R. Evaluación del potencial de *Desmodesmus asymmetricus* y *Chlorella vulgaris* para la remoción de nitratos y fosfatos de aguas residuales. **Revista Peruana de Biología**, Lima, v. 28, n. 1, p. 1-2, 24 fev. 2021. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Vicerectorado de Investigación. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.15381/rpb.v28i1.18082>. Acesso em: 15 abr. 2023.

PARASHAR, A.; SHAH, N.; RANE, M.; SHASTRI, Y. Biogas-Assisted Growth of *Chlorella vulgaris* in an Open Raceway Pond: Proof of Concept and Economic Assessment. **Chemical Engineering and Technology**, [S.l.], v. 46, n. 7, p. 1455-1463, 3 abr. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/ceat.202200206>. Acesso em: 27 jul. 2023.

PENG, L.; FU, D.; CHU, H.; WANG, Z.; QI, H. Biofuel production from microalgae: a review. **Environmental Chemistry Letters**, [S.l.], v. 18, n. 2, p. 285-297, 18 out. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s10311-019-00939-0>. Acesso em: 19 out. 2023.

PRAGYA, N.; PANDEY, K.K.; SAHOO, P.K. A Review on harvesting, oil extraction and biofuels production technologies from microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, 24, 159-171. 2013. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2013.03.034>. Acesso em: 01 nov. 2023.

RAHEEM, A.; PRINSEN, P.; VUPPALADADIYAM, A. K.; ZHAO, M.; LUQUE, R. A review on sustainable microalgae based biofuel and bioenergy production: recent developments. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 181, p. 42-59, abr. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jclepro.2018.01.125>. Acesso em: 21 out. 2023.

RICARDI, A. M. **Análise dos efeitos das variáveis de processo na produção de biomassa e nos parâmetros reológicos da microalga *Chlorella minutissima* cultivada em reator Raceway para produção de biocombustíveis**. 2020. 138 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia Química, Universidade de São Paulo, Lorena, 2020.

ROSA, A. V.; ORDÓÑEZ, J. C. Biomass. In: ROSA, A. V.; ORDÓÑEZ, J. C. **Fundamentals of Renewable Energy Processes**. 4. ed. Wisconsin: Textbook and Academic Authors Association, 2021. p. 577-628.

SANGEETHA, M.; BOOMADEVI, P.; KHALIFA, A. S.; BRINDHADEVI, K.; SEKAR, M. Vibration, acoustic and emission characteristics of the *Chlorella vulgaris* microalgae oil in compression ignition engine to mitigate environmental pollution. **Chemosphere**, Oxford, v. 293, p. 133475, abr. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.133475>. Acesso em: 14 out. 2023.

SANTOS, W. R.; TAGLIAFERRO, G. V.; SANTOS, J. C.; PEREIRA, P.; ROMA, C.; SILVA, M. B.; GUIMARÃES, D. H. P. Semi-continuous cultivation of *Chlorella minutissima*

in landfill leachate: effect of process variables on biomass composition. **Waste and Biomass Valorization**, [S.l.], v. 13, n. 3, p. 1627-1638, 26 out. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1007/s12649-021-01614-8>. Acesso em: 27 jul. 2023.

SARAVANAN, A.; KUMAR, P. S.; BADAWI, M.; MOHANAKRISHNA, G.; AMINABHAVI, T. M. Valorization of micro-algae biomass for the development of green biorefinery: perspectives on techno-economic analysis and the way towards sustainability. **Chemical Engineering Journal**, Lausanne, v. 453, p. 139754, fev. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.cej.2022.139754>. Acesso em: 15 abr. 2023.

SATHINATHAN, P.; PARAB, H. M.; YUSOFF, R.; IBRAHIM, S.; VELLO, V.; NGOH, G. C. Photobioreactor design and parameters essential for algal cultivation using industrial wastewater: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Belfast, v.173, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.rser.2022.113096>. Acesso em: 19 out. 2023.

SAYED, E. T.; REZK, H.; ABDELKAREEM, M. A.; OLABI, A. G. Artificial neural network based modelling and optimization of microalgae microbial fuel cell. **International Journal of Hydrogen Energy**, Oxford, v. 32, n. 48, p. 11875-12138, jan. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijhydene.2022.12.081>. Acesso em: 17 jul. 2023.

SHAHID, A.; MALIK, S.; ZHU, H.; XU, J.; NAWAZ, M. Z.; NAWAZ, S.; ALAM, M. D. A.; MEHMOOD, M. A. Cultivating microalgae in wastewater for biomass production, pollutant removal, and atmospheric carbon mitigation; a review. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 704, p. 135303, fev. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.scitotenv.2019.135303>. Acesso em: 27 jul. 2023.

SHEKH, A.; SHARMA, A.; SCHENK, P. M; KUMAR, G.; MUDLIAR, S. Microalgae cultivation: photobioreactors, co2 utilization, and value added products of industrial importance. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, London, v. 97, n. 5, p. 1064-1085, 19 set. 2021. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1002/jctb.6902>. Acesso em: 14 out. 2023.

SIDDIKI, S. Y. A.; MOFIJUR, M.; KUMAR, P. S.; AHMED, S. F.; INAYAT, A.; KUSUMO, F.; BADRUDDIN, I. A.; KHAN, T.M. Y.; NGHIEM, L.D.; ONG, H. C. Microalgae biomass as a sustainable source for biofuel, biochemical and biobased value-added products: an integrated biorefinery concept. **Fuel**, [S.l.], v. 307, p. 121782, jan. 2022. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.fuel.2021.121782>. Acesso em: 17 jul. 2023.

SILVA, J. C.; QUIRÓS, S. E.; LOMBARDI, A. T.; FIGUEROA, F. L. Biomass, photosynthetic activity, and biomolecule composition in *Chlorella fusca* (Chlorophyta) cultured in a raceway pond operated under greenhouse conditions. **Journal of Biotechnology**, Amsterdam, v. 367, p. 98–105, 2023. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jbiotec.2023.04.005>. Acesso em: 15 abr. 2023.

SIMÕES, M. A.; SANTOS, S. D.; DANTAS, D. de M. de M.; GÁLVEZ, A. O. **Algas cultiváveis e sua aplicação biotecnológica**. Aracaju: Edifs, 2016. 98 p.

SINGH, G.; PATIDAR, S.K. Microalgae harvesting techniques: a review. **Journal of Environmental Management**, London, v. 217, p. 499-508, jul. 2018. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jenvman.2018.04.010>. Acesso em: 17 jul. 2023.

SONKAR, S.; TIWARI, R.; DEVADIGA, S.; KOLEY, S.; MALLICK, N. Cultivation of *Chlorella minutissima* under a novel phosphate application strategy for biodiesel production: a pilot scale study. **Renewable Energy**, Oxford, v. 217, p. 119141, nov. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.renene.2023.119141>. Acesso em: 06 mar. 2023.

SUPARMANIAM, U.; LAM, M. K.; UEMURA, Y.; LIM, J. W.; LEE, K. T.; SHUIT, S. H. Insights into the microalgae cultivation technology and harvesting process for biofuel production: a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [S.l.], v. 115, p. 109361, nov. 2019. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.rser.2019.109361>. Acesso em: 27 jul. 2023.

TAGUCHI, G. **Introduction to quality engineering: Designing Quality into Products and Process**. Tokyo, Japan: Asian Productivity Organization, 1986.

VALENTE, J. P. S; PADILHA, P. M.; SILVA, A. M. M. **Dissolved oxygen (DO), biochemical oxygen demand (BOD) and chemical oxygen demand (COD) as pollution parameters in the Lavapés/Botucatu - SP**. São Paulo: Editora da Unesp, v. 22, p. 49-66, 1997.

VON SPERLING, M. **Introdução à qualidade de água e ao tratamento de esgotos**. 4. ed. Belo Horizonte: Editora UFMG, 2011, 452 p. WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION. Global annual to decadal climate update 2023. **Met Office**, Aberdeen, 2023. Disponível em: hadleyserver.metoffice.gov.uk/wmolc/WMO_GADCU_2023-2027.pdf. Acesso em: 19 set, 2023.

YIN, Z.; ZHU, L.; LI, S.; HU, T.; CHU, R.; MO, F.; HU, D.; LIU, C.; LI, B. A comprehensive review on cultivation and harvesting of microalgae for biodiesel production: environmental pollution control and future directions. **Bioresource Technology**, [S.l.], v. 301, p. 122804, abr. 2020. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2020.122804>. Acesso em: 20 abr. 2023.

ZHUANG, L.; YANG, P.; LIANG, S. YU, T.; LIU, C.; ZHAO, T.; TAN, G.; NIU, Y.; ZHANG, J. Comparison of microalgae cultivation modes for advanced wastewater purification and pollutant-resource conversion: a pilot study. **Journal of Water Process Engineering**, [S.l.], v. 56, p. 104374, dez. 2023. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jwpe.2023.104374>. Acesso em: 15 abr. 2023.

ZORN, S. M. F. E.; PEDRO, G. A.; AMARAL, M. S.; LOURES, C. C. A.; SILVA, M. B. **Avaliação dos fatores envolvidos na extração de lipídios da biomassa da microalga *Chlorella minutissima* via solventes**. Holos, v. 33, n. 2, Natal, 2017.

APÊNDICE A

Curva de Calibração

