ANDRÉA CRISTINA MORALES

**ESTUDO DA INFLUÊNCIA DE MEMBRANAS DE
MICROFILTRAÇÃO NO MECANISMO DE
CONCENTRAÇÃO DA BIOMASSA DE MICROALGAS
EM FOTOBIORREATOR**

Dissertação apresentada à Escola de Engenharia de São Carlos da Universidade de São Paulo, como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Engenharia Mecânica.

Área de Concentração: **Térmica e Fluidos**

Orientador: **Prof. Dr. Sérgio Rodrigues Fontes**

São Carlos
2012

ESTE EXEMPLAR TRATA-SE DE
UMA VERSÃO CORRIGIDA. A
VERSÃO ORIGINAL ENCONTRA-SE
DISPONÍVEL JUNTO AO
DEPARTAMENTO DE
ENGENHARIA MECÂNICA DA
EESC-USP.

AUTORIZO A REPRODUÇÃO E DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES
TRABALHOS, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA
FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Tratamento
da Informação do Serviço de Biblioteca – EESC/USP

M828e Moralez, Andréa Cristina.
 Estudo da influência de membranas de microfiltração no
 mecanismo de concentração da biomassa de microalgas em
 fotobiorreator. / Andréa Cristina Moralez ; orientador
 Sérgio Rodrigues Fontes, 2012.

 Dissertação (Mestrado - Programa de Pós-Graduação em
 Engenharia Mecânica e Área de Concentração em Térmica e
 Fluidos)-- Escola de Engenharia de São Carlos da
 Universidade de São Paulo, 2012.

 1. Microfiltração. 2. Membrana polimérica. 3. Foto
 biorreator. 4. Biomassa. 5. *Chlorella sorokiniana*. I.
 Título.

*Dedico este trabalho aos meus pais, João André
Moralez e Maria Aparecida Conceição Moralez, e a
minha irmã Alessandra Cristina Moralez.*

Agradecimentos

Agradeço primeiramente a Deus, que no Seu devido tempo me proporcionou a oportunidade realizar este trabalho e pelo privilégio de conhecer cada pessoa que de uma maneira especial, contribuiu para isso.

Agradeço imensamente ao meu orientador, Prof^o. Dr. Sergio R. Fontes, pela oportunidade de me aceitar no programa, pela orientação, pelo apoio em todos os diferentes momentos ao longo deste trabalho, pela compreensão e por ter contribuído de maneira significativa na minha formação profissional.

Agradeço imensamente a minha Co orientadora Prof^a. Dr^a. Ana Teresa Lombardi por ter me recebido com toda atenção e carinho no Laboratório de Biotecnologia de Microalgas da UFSCar que além da orientação e solidariedade, disponibilizou de todo suporte físico, material e financeiro necessários para a realização deste trabalho.

Ao Técnico do Departamento de Ecologia da UFSCar – Carlos Casali minha enorme gratidão por ter me acompanhado o tempo todo durante a fase experimental deste trabalho com toda paciência, atenção, orientação e generosidade natos de um ser humano incrível como ele.

Agradeço imensamente a Prof^a. Dr^a Paula Manoel Crnkovic por toda atenção, orientação, disponibilidade na realização das análises térmicas, pela disposição em discutir os dados que trouxeram imensa contribuição neste trabalho.

Agradeço ao Prof. Dr. Geraldo Lombardi pela elaboração do projeto do fotobiorreator, pela presença durante todo trabalho, pelo carinho, cuidado, pela referência de vida e de ser humano que levarei sempre comigo.

À Pall Corporation que por ter gentilmente cedido às membranas utilizadas neste trabalho de pesquisa.

À Dr^a. Juliana Maria da Silva pelo incentivo, pelo apoio, pela orientação e solidariedade vinda de uma verdadeira amiga.

À Dr^a. Renata Natsume Haneda meus sinceros agradecimentos pela amizade, pelo apoio, pela orientação e por dispor solidariamente de sua experiência na contribuição para deste trabalho.

À Dr^a. Rita Margarete Donato Machado, meus sinceros agradecimentos pela companhia, pelo apoio e orientação.

À Dr^a. Ivonete Ávila meus sinceros agradecimentos pela orientação.

Aos meus queridos amigos Antonio Trevisoli, Bruno Trevisan, Daniela Mortari, Fran Motta, pela paciência, pelo apoio e por ter me auxiliado tanto nos grupos de estudo.

Ao Hélio José Donisete Trebi, técnico do Laboratório de Engenharia Térmica e Fluidos do Núcleo de Engenharia Mecânica da EESC - USP.

Ao Djalma Ap. Lingnari Durici, técnico do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da UFSCar.

Às secretárias da pós-graduação da Engenharia Mecânica pela disponibilidade e atenção nos momentos necessários.

Aos meus familiares pelo apoio, compreensão e amor.

A todos que de alguma maneira participaram da minha trajetória durante a execução deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Resumo

Moralez, A.C.(2011) **Estudo da influência de membranas de microfiltração no mecanismo de concentração da biomassa de microalgas em fotobiorreator**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica) – Escola de Engenharia de São Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

Neste trabalho de mestrado, investigou-se o desempenho de membranas poliméricas de microfiltração para retenção de microalgas (*Chlorella sorokiniana*) em um fotobiorreator com capacidade volumétrica de 3,5 L, alimentado por um fluxo contínuo de nutrientes com pH 7,0 em condições controladas de temperatura (21°C no meio de cultura e 24°C no meio), borbulhamento de ar e luminosidade (2500 lux, em fotoperíodo de 12/12 horas claro/escuro). Membranas comerciais de tamanho médio de poros 0,8, 1,2, 3,0 e 5,0 µm foram testadas pelo tempo suficiente para esgotamento do limite da permeação da membrana. A concentração das microalgas no fotobiorreator foi analisada através de densidade óptica (espectrofotometria) ao número de células (contagem de unidades de células em lâminas do tipo Fuchs Rosenthal - Microscopia Óptica) das amostras de concentrado e permeado. O fenômeno físico de polarização sobre a superfície da membrana está diretamente relacionado ao desempenho da mesma na retenção de microalgas, portanto, fotomicrografias (MEV) da membrana antes e após a microfiltração foram analisadas e comparadas. Para analisar a composição química das microalgas, bem como sua afinidade com as membranas, foram investigadas a composição e a caracterização do fenômeno químico sobre a superfície da membrana, por análise de Energia

Dispersiva de Raio-X (EDX). Análises das diferentes fases de crescimento das algas e seus componentes foram feitas em amostras secas a 40°C, através de análise elementar e análises térmicas (TG–Análise Termogravimétrica e DTA- Análise Térmica Diferencial). Os resultados experimentais obtidos neste trabalho permitiram concluir que o uso de membranas de microfiltração em fotobiorreator proporciona a retenção das microalgas, o que contribui para o aumento da concentração da biomassa algal, permitindo a manipulação da sua composição de acordo com as condições pelas quais estes microrganismos são submetidos.

Palavras-chave: microfiltração, membrana polimérica, fotobiorreator, biomassa, *Chlorella sorokiniana*.

Abstract

Moralez, A.C. (2011) **The influence of microfiltration membranes on the mechanism of concentration of microalgae biomass in photobioreactor.** Dissertation (Master in Mechanical Engineering) - School of Engineering of Sao Carlos, Universidade de São Paulo, São Carlos, 2011.

This dissertation investigates the performance of polymeric microfiltration membranes for microalgae retention (*Chlorella sorokiniana*) in photobioreactor with a volumetric capacity of 3.5 L. The reactor is fed by a continuous flow of nutrients under controlled conditions of pH (7,0) and the temperature (21 ° C in culture medium and 24 ° C in the environment), bubbling air and light (2500 lux, with a photoperiod of 12/12 hour light / dark). Commercial membranes of the average pore sizes of 0.8, 1.2, 3.0 and 5.0 µm were tested by depletion of time sufficient to limit the permeation of the membranes. The microalgae concentration in the photobioreactor was analyzed by optical density (spectrophotometry) and number of cells (cell units count on Fuchs Rosenthal type plates-Optical Microscopy). The physical phenomenon of polarization on the surface of the membrane is directly related to its performance in the retention of microalgae therefore micrographs (SEM) of the membrane before and after the microfiltration were compared to identify the chemical affinity between the membranes' composition and the microalgae. The chemical phenomenon on the membrane surface was characterized by Energy Dispersive Analysis of X-ray (EDX). The different

phases of the growth of algae and their components were measured in samples dried at 40 ° C, by elemental analysis and thermal analysis (TG-DTA-Thermogravimetric analysis and differential thermal analysis). The experimental results indicate that the use of microfiltration membranes provides the retention of microalgae, contributing to the increase in the concentration of algal biomass and allowing the manipulation of the composition according to the conditions under which these microorganisms are subjected.

Keywords: microfiltration, polymeric membrane, fotobioreactor, biomass, *Chlorella sorokiniana*.

Lista de Figuras

Figura 1: Imagem da cultura da microalga <i>Chlorella sorokiniana</i>	6
Figura 2: Gráfico dos Efeitos da Temperatura no crescimento da células (Adaptado de MATSUKAEAA, 1998).....	10
Figura 3: Gráfico dos Efeitos da Concentração de CO ₂ para crescimento das células (Adaptado de MATSUKAWAA, 1998).....	12
Figura 4: Representação do diagrama esquemático dos parâmetros para projetos de biorreatores (Adaptado de POSTEN, 2009).....	13
Figura 5: Formatos geométricos dos fotobiorreatores fechados mais utilizados: A) Placa Plana B) Cilíndrica C) Tubular. Outros projetos são deduzidos a partir desses modelos básicos. (Adaptado de POSTEN, 2009)	17
Figura 6: Espectro de filtração segundo o tamanho das partículas (Adaptado de HABERT et.al., 2006)	20
Figura 7: Esquema da microfiltração perpendicular.....	22
Figura 8:Esquema da microfiltração tangencial	22
Figura 9: Comportamento da espessura da camada de polarização e do fluxo específico do filtrado ao longo do tempo de operação na filtração tangencial.....	24
Figura 10: Ilustração do comportamento hidrofílico e hidrofóbico com gotícula de água e óleo.	27
Figura 11: Filtro Satrius Stedim Biotech utilizado para filtrar meio de cultura.....	31
Figura 12: Imagem do Fotobiorreator no momento do inóculo	32
Figura 13: Imagem das microalgas aderidas na parede do fotobiorreator após 30 dias de início da cultura.	33

Figura 14: Gráfico do Monitoramento do crescimento das algas (número de algas x 10 ⁴) num período de trinta dias consecutivos de fluxo contínuo de cultura.	34
Figura 15: Células da microalga <i>Chlorella sorokiniana</i> coletadas do fotobiorreator.....	35
Figura 16: Esquema do sentido do fluxo de nutrientes (A) e passagem do meio de cultura através da membrana (B) dentro do fotobiorreator.....	36
Figura 17: Imagem do fotobiorreator ilustrando o sistema de fluxo de entrada de nutrientes (A) e o fluxo de saída de permeado (B).	37
Figura 18: Imagem do Sistema de Iluminação do Fotobiorreator.	38
Figura 19: Imagem das membranas comerciais do tipo Versapor e Supor (A).....	40
Figura 19: Imagem do posicionamento da membrana no fotobiorreator (B).	41
Figura 20: Imagem da Membrana após o esgotamento da sua capacidade de microfiltração.	42
Figura 21: Imagem da concentração da biomassa algal inicial no momento do inóculo (A); Imagem da concentração da biomassa algal no final do experimento (B).....	43
Figura 22: Imagem da biomassa algal recolhida no fotobiorreator (A); Imagem da biomassa algal concentrada (B).	44
Figura 23: Gráfico da Transferência de massa através da membrana.....	47
Figura 24: Esquema da formação da camada de polarização sobre a membrana	48
Figura 25: Esquema da passagem da radiação através da amostra	50
Figura 26: Gráfico de absorbância (684nm- A.u.) das amostras do meio de cultura e do permeado.....	51
Figura 27: Imagens das concentrações de algas das amostras do fotobiorreator (A) e do permeado (B) em microscópio óptico com magnitude de 20x	52
Figura 28: Gráfico a concentração de algas no permeado.	52
Figura 29: Imagem da camada de polarização sobre a membrana	56
Figura 30: MEV da mesma membrana antes do processo de microfiltração.....	56
Figura 31: MEV da membrana com a camada de polarização	56

Figura 32: Imagem da camada de polarização sobre a membrana	57
Figura 33: MEV da membrana antes do processo de microfiltração.	57
Figura 34: MEV da membrana com a camada de polarização.	57
Figura 35: Imagem da camada de polarização sobre a membrana	58
Figura 36: MEV da membrana antes do processo de microfiltração.	58
Figura 37: MEV da membrana com a camada de polarização.	58
Figura 38: Imagem da camada de polarização sobre a membrana.	59
Figura 39: MEV da membrana antes do processo de microfiltração.	59
Figura 40: MEV da membrana com a camada de polarização	59
Figura 41: Imagem da camada de polarização sobre a membrana	60
Figura 42: MEV da membrana antes do processo de microfiltração	60
Figura 43: MEV da membrana com a camada de polarização.....	60
Figura 44: Imagem da camada de polarização sobre a membrana.....	61
Figura 45: MEV da membrana antes do processo de microfiltração.....	61
Figura 46: MEV da membrana com a camada de polarização.....	61
Figura 47: Imagem da camada de polarização sobre a membrana.....	62
Figura 48: MEV da membrana antes do processo de microfiltração.....	62
Figura 49: MEV da membrana com a camada de polarização.....	62
Figura 50: Resultados de análise EDX da alga <i>Chlorella sorokiniana</i>	65
Figura 51: Gráfico característico da análise DTA da amostra de <i>Chlorella sorokiniana</i>	67
Figura 52: Curvas TG e DTG da <i>Chlorella sorokiniana</i> nas condições de massa da amostra: 9,8 mg, razão de aquecimento: 20° C min ⁻¹ , gás de arraste: ar sintético (100 mL min ⁻¹).....	68
Figura 53: Resultados de análise EDX das cinzas provenientes das análises térmicas da alga <i>Chlorella sorokiniana</i>	71

Lista de Tabelas

Tabela 1: Composição do Meio de Cultura L.C. Oligo Modificado.....	30
Tabela 2: Especificações da membrana do tipo Supor (Pall Corporation).	39
Tabela 3: Especificações da membrana do tipo Versapor (Pall Corporation)	40
Tabela 4: Representação da análise elementar da microalga <i>Chlorella sorokiniana</i>	63
Tabela 5: Faixa de temperatura para cada evento de degradação térmica da alga <i>Chlorella sorokiniana</i>	69

Sumário

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS.....	1
1.1. INTRODUÇÃO.....	1
1.2. OBJETIVOS.....	4
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	5
2.1. MICROALGAS.....	5
2.1.1. SISTEMA DE BATELADA.....	7
2.1.2. CULTURAS CONTÍNUAS.....	8
2.1.3. FATORES AMBIENTAIS.....	9
2.1.3.1. LUZ.....	9
2.1.3.2. TEMPERATURA.....	9
2.1.3.3. NUTRIENTES.....	10
2.1.3.4. CONCENTRAÇÃO DE GÁS CARBÔNICO (CO ₂).....	11
2.2. FOTOBIORREATORES	13
2.2.1. INTERAÇÕES ENTRE FISIOLOGIA E DESIGN DOS FOTOBIORREATORES.....	14
2.2.1.1. LUZ DE SATURAÇÃO E LUZ DE DILUIÇÃO	14
2.2.1.2. FORNECIMENTO DE CO ₂ E AERAÇÃO.....	15
2.2.1.3. UTILIZAÇÃO DE ENERGIA MECÂNICA	15
2.2.1.4. FORMATO DE PLACAS PLANAS	16
2.2.1.5. FORMATO CILÍNDRICO.....	16
2.2.1.6. FORMATO TUBULAR	17

2.3. PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO.....	19
2.3.1. CONCEITUAÇÃO	19
2.3.2. TIPOS DE MICROFILTRAÇÃO.....	21
2.3.3. MEMBRANAS.....	25
3. MATERIAIS E MÉTODOS	29
3.1. CULTURA DE MICROALGAS	29
3.2. FOTOBIORREATOR.....	35
3.3. MEMBRANAS	38
3.4. ANÁLISE DA BIOMASSA ALGAL.....	43
4. RESULTADOS E DISCUSSÕES.....	46
4.1. DESEMPENHO DAS MEMBRANAS	47
4.1.1. ANÁLISE DO FLUXO DE PERMEADO.....	47
4.1.1.1. ANÁLISE DA ABSORBÂNCIA.....	49
4.1.1.2. ANÁLISE DA CONCENTRAÇÃO DAS MICROALGAS.....	51
4.1.1.3. ANÁLISE DO DESEMPENHO DAS MEMBRANAS.....	53
4.2. CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MICROALGAS E DAS MEMBRANAS	63
4.2.1. ANÁLISE ELEMENTAR, ANÁLISES TÉRMICAS (DTA e TG) E EDX.....	63
5. CONCLUSÕES	73
6. TRABALHOS FUTUROS	75
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

1. Introdução e Objetivos

1.1. INTRODUÇÃO

As emissões antrópicas de dióxido de carbono (CO_2) e outros gases do efeito estufa são considerados as principais causas das alterações climáticas. Sabe-se que as concentrações de tais gases tendem a aumentar em proporção direta ao uso de combustíveis fósseis (HUNTLEY & REDALJE 2007) apresentando consequências negativas para o clima global e para a biodiversidade. Diante desse cenário, estratégias mitigadoras para a redução da concentração e da emissão de gases do efeito estufa é o foco de intensa investigação, além de principal objetivo da política ambiental internacional.

Pesquisas voltadas à aplicação de tecnologias para o sequestro do CO_2 são de fundamental importância para minimizar os impactos das alterações do clima global, o que torna evidente a necessidade de pesquisas voltadas à captação e armazenamento do dióxido de carbono emitido para a atmosfera. Para tanto, através de reações fotossintéticas, as microalgas podem converter o CO_2 em compostos de carbono orgânico e oxigênio na presença de água tendo a irradiação solar como fonte energética. Esses organismos formam a base de cadeias alimentares em ambientes aquáticos, além de responderem pela produção da maior parte do oxigênio disponível no planeta e absorção do CO_2 atmosférico. De acordo com estudos

realizados por LIHUA CHENG et al. (2005), foi comprovado que a fixação fotossintética de CO₂ está fortemente relacionada à sua concentração fornecida durante o crescimento das algas.

A biotecnologia das microalgas ganhou considerável importância, pois as algas apresentam em sua composição celular, moléculas biológicas como proteínas, lipídios, carboidratos e pigmentos que tendem a sofrer variações de acordo com as condições ambientais pelas quais são submetidas (RICHMOND, 2004). De acordo com Lombardi e Wangersky (1991) a produção de moléculas orgânicas nas microalgas é resultado da versatilidade de seu metabolismo, que varia de acordo com as condições ambientais e o estado nutricional das células, podendo ser manipulada em condições de cultivo específicas.

Com isso esses microrganismos são potencialmente aplicados nas indústrias farmacêuticas, na produção de antioxidantes, antibióticos, cosmética, de suplementos alimentares, na indústria de biocombustíveis, na aquicultura e na remoção de metais traço (WICAKSANA et al., 2011). Suas vantagens estão também na facilidade de cultivo, na maior eficiência fotossintética, nas maiores produtividades de biomassa e na maior fixação de CO₂ em relação às plantas terrestres (XU et al., 2009).

As microalgas podem ser cultivadas em sistemas fechados de produção denominados fotobiorreatores, que apresentam volumes variados e vantagens de prevenção contra evaporação da água e agentes contaminantes, além de controle sobre as condições de cultivo e maior produção em menor tempo (POSTEN, 2009).

Ao contrário dos sistemas abertos, os fotobiorreatores são destinados principalmente à cultura unialgal e têm sido utilizados para produção de biomassa em larga escala. (XU et al., 2009). No entanto, esses sistemas fechados apresentam como desvantagem o alto custo, o que

torna necessário o desenvolvimento de pesquisas que viabilizem seu uso, como a aplicação de membranas de microfiltração para concentração da biomassa algal.

O processo de microfiltração pode ser associado ao fotobiorreator visando melhorar seu desempenho, utilizando membranas poliméricas ou cerâmicas que atuam como barreira física, impedindo a saída das algas e promovendo sua concentração dentro do biorreator. Além disso, as membranas são muito bem adaptadas aos processos moleculares biológicos, uma vez que operam em temperaturas e pressões relativamente baixas, desempenham suas funções sem precisar de aditivos químicos ou causar mudanças de fases, o que impede a desativação ou degradação das células (CHARCOSSET, 2006).

Seu processo de separação interfere no desempenho em função do tamanho dos poros da membrana, com a vantagem da seletividade em função da alta superfície porosa - área por unidade de volume - e seu potencial para controlar o nível de contato da mistura entre as duas fases (HUNG & LIU, 2006).

Field (2011) indicou haver atualmente um grande interesse na pesquisa das interações entre microalgas e membranas tanto na sua aplicação para concentração da biomassa, como também no seu uso como um método alternativo para colheita das microalgas. Este processo apresenta como vantagens a facilidade das condições de operação por serem potencialmente leves e como já mencionados, de não necessitarem de adição de produtos químicos a serem aplicados na separação da biomassa de microalgas.

Neste contexto, o uso das membranas de microfiltração associadas ao fotobiorreator em processos de meio de cultura de microalgas é uma alternativa promissora, já que promove maior concentração da sua biomassa, aumentando desta forma seu desempenho.

1.2. OBJETIVOS

O objetivo geral desta pesquisa foi investigar o mecanismo de concentração de algas com interferência de membranas poliméricas estruturadas em geometria “dead-end”, com fluxo contínuo de entrada de nutrientes e saída do permeado.

Os objetivos específicos da pesquisa foram:

- i) Investigar o desempenho de membranas poliméricas na faixa nominal de tamanho de poro entre 0,8, 1,2, 3,0 e 5,0 μm visando promover a concentração e crescimento de biomassa algal;
- ii) Acompanhar o crescimento das microalgas dentro do fotobiorreator;
- iii) Analisar por EDX a biomassa algal seca para verificar sua composição quanto aos metais aderidos em suas células e por análise térmica para verificar o teor de compostos orgânicos (proteínas, carboidratos e lipídios).

2. Revisão Bibliográfica

2.1. MICROALGAS

As microalgas são seres antigos do planeta, sendo representados por todos os microrganismos fotossintetizantes unicelulares, tanto procarióticos (cianobactérias) quanto eucarióticos. São caracterizados pelas altas taxas de crescimento e eficiência fotossintética devido à simples estrutura de suas células. Apresentam diferentes tipos de organização celular: unicelulares, coloniais ou filamentosas.

De acordo com RAVEN et al. (2002), as microalgas são classificadas considerando o tipo de pigmentação, sendo representadas pelos Filos Euglenophyta (euglenóides), Cryptophyta (criptomônadas), Rhodophyta (algas vermelhas), Dinophyta (dinoflagelados), Haptophyta (haptofias), Bacillariophyta (diatomáceas), Chrysophyta (crisófitas), Phaeophyta (algas pardas) e Chlorophyta (algas verdes). As microalgas verdes do Filo Chlorophyta compreendem vários gêneros, dentre eles a *Chlorella*. Este gênero de microalgas é caracterizado por apresentar células pequenas, unicelulares, ovoidais e sem mobilidade.

Quanto ao tipo de nutrição, podem ser autotróficas, heterotróficas e mixotróficas. De acordo com RICHAMOND (2004), **autotróficos** são organismos que obtêm energia através

da absorção da energia luminosa, promovendo a redução de CO_2 pela oxidação de substratos e liberação de O_2 . Já os **heterotróficos** são organismos que obtêm energia de compostos orgânicos produzidos por outros organismos e os **mixotróficos** são organismos tanto autotróficos como heterotróficos nos quais os compostos orgânicos de CO_2 são necessários para o crescimento. No processo de crescimento de microalgas, esta diferença vai prevalecer apenas na escuridão total. LEE et al. (1996) relatou o crescimento heterotrófico de microalgas *Chlorella sorokiniana* à noite, na presença de glicose, enquanto durante o dia elas foram mixotróficas utilizando glicose e CO_2 .

Durante a reprodução, suas células se dividem em duas células-filhas idênticas, das quais aumentam de tamanho posteriormente, como apresenta destacado na Figura 1, numa cultura de *Chlorella sorokiniana*, espécie de microalga utilizada neste trabalho de pesquisa.

Figura 1. Imagem da cultura da microalga *Chlorella sorokiniana*.

Estes microrganismos merecem atenção devido ao potencial para várias aplicações. De acordo com FIELD (2011), podem ser utilizadas para produzir uma variedade de produtos farmacêuticos industriais como antioxidantes, antibióticos, cosméticos e suplementos alimentares, além do seu uso como biocombustível e na aquicultura. Para isso as microalgas utilizam a fotossíntese como processo de conversão de luz solar e compostos inorgânicos em diferentes compostos celulares orgânicos como carboidratos, proteínas, lipídios e ácidos nucléicos (SPOLAORE, 2010).

Além das vantagens biotecnológicas, as microalgas promovem a redução dos gases de efeito estufa pela mitigação biológica do CO₂. Estima-se que enquanto as plantas, por meio da agricultura promovem o sequestro de 3% a 6% das emissões de CO₂ provenientes da queima dos combustíveis fósseis, as microalgas podem fixar CO₂ com eficiência de 10 a 50 vezes maior que as plantas terrestres (WANG et al., 2008).

Para a cultura de microalgas, há vários sistemas de cultivo, dentre eles, o tipo batelada e culturas contínuas:

2.1.1. Sistema de Batelada

O sistema de cultura do tipo batelada é o método mais comum de cultivo devido ao baixo custo e a simples manutenção, porém conforme a cultura se desenvolve, às condições internas como o estado nutricional varia, resultando em diferentes fases de crescimento das células. Neste caso, de acordo com RICHMOND (2004), as microalgas apresentam três fases de crescimento:

Fase Lag: Fase de latência inicial que ocorre quando a taxa de crescimento está no nível sub-máximo de ser observado. O atraso de crescimento pode ser devido ao período de adaptação fisiológica devido às mudanças no nutriente ou nas condições da cultura.

Fase Estacionária: Fase de latência final que ocorre quando as células já estão diminuindo sua taxa de crescimento. Após adaptadas à situação inicial e ao novo ambiente, começam a crescer e se multiplicar (fase de crescimento acelerado). Entram em crescimento exponencial (ou logarítmico). Na última fase, as células crescem e se dividem numa função exponencial do tempo, enquanto que os nutrientes e a energia estão sendo saturados.

A quantidade de energia luminosa absorvida pela cultura fotossintética é determinada pela concentração de células e não pelo fluxo de densidade de luz. Isto é, mais luz de baixa densidade pode passar através da cultura de baixa concentração de células, mas todos os fótons do fluxo de alta densidade podem ser capturados pela cultura de alta concentração celular. Assim, concentrações celulares continuarão a aumentar exponencialmente até que todos os fótons de luz sejam absorvidos pelas algas.

2.1.2. Culturas contínuas

Já as culturas contínuas são caracterizadas por um fluxo contínuo de meio nutritivo fresco por um sistema que proporciona concomitantemente a remoção de cultura. Este é um sistema automatizado representado pelos fotobiorreatores, possibilitando maior controle dos parâmetros de cultura, mantendo desta forma, as células saudáveis em fase exponencial de crescimento por um período prolongado, resultando maior produção de biomassa. Neste sistema, o meio nutritivo fresco é fornecido ao frasco de cultura a uma taxa idêntica ao volume que é removido. A velocidade do seu fluxo deve ser necessariamente proporcional à taxa de crescimento algal para que a densidade populacional seja mantida.

Durante o processo de cultura, as microalgas desenvolvem mecanismos de adaptação, sendo que a composição celular da *Chlorella sp*: 30-50% de proteínas, 20-40% carboidratos e

8-15% de lipídios em condições saudáveis, tendem a sofrer modificações de acordo com os fatores ambientais pelas quais são submetidas, como: luz, temperatura, nutriente e concentração de CO₂.

2.1.3. Fatores Ambientais

2.1.3.1. Luz

Os efeitos da composição bioquímica de microalgas são controlados por processos chamados fotoadaptação. Neste processo, as células sofrem mudanças na sua composição juntamente com as alterações nas propriedades estruturais, biofísicas e fisiológicas para aumentar a fotossíntese e crescimento das algas. De acordo com RICHMOND (2004), uma tendência comum de resposta celular para a diminuição da intensidade da luz é aumentar clorofila e outros pigmentos. Por outro lado, altas intensidades luminosas tendem a aumentar a produção de polissacarídeos nas células, além disso, a produção de lipídios no conteúdo celular é inversamente proporcional à intensidade luminosa.

2.1.3.2. Temperatura

A temperatura também exerce grandes influências nas reações bioquímicas das microalgas, principalmente na sua composição lipídica. A temperatura ótima para crescimento pode resultar em células de tamanho pequeno, interferindo no conteúdo celular de carbono e nitrogênio resultando em células de tamanho menor. Por outro lado, a temperatura abaixo ou acima do nível ótimo, pode levar ao aumento do volume do conteúdo bioquímico da célula.

Em pesquisas realizadas por MATSUKAWAA (1998) com crescimento de microalgas *Chlorella sorokiniana*, foi observado uma tolerância para altas temperaturas. A Figura 2 representa o gráfico dos efeitos da temperatura no crescimento das células. É possível

observar que a maior taxa de crescimento ocorre a uma temperatura de 40°C, mas seu crescimento diminui significativamente em 30°C e acima de 45°C. Em temperaturas superiores a 50°C não houve o crescimento das células.

Figura 2. Gráfico dos Efeitos da Temperatura no Crescimento das Células
(Adaptado de MATSUKAWAA, 1998).

2.1.3.3. Nutrientes

Os nutrientes necessários para o crescimento da biomassa algal são provenientes do meio de cultura. De acordo com SCOPARO (2010), os elementos Carbono, Nitrogênio, Fósforo e Enxofre são os principais componentes celulares. O Nitrogênio é utilizado na forma de Nitrato ou Amônio, já o Fósforo, o Enxofre e o Ferro são elementos de grande relevância

para o crescimento e metabolismo celular. Outros elementos traços como o Magnésio e o Cálcio são fundamentais nas reações fotossintéticas.

2.1.3.4. Concentração de Gás Carbônico (CO₂)

De acordo com LIHUA CHENG (2005), como um dos parâmetros mais importantes para o crescimento das microalgas, a concentração de CO₂ não só deve ser inferior a um determinado valor de modo que não pode satisfazer as necessidades das células para o Carbono, mas também não deve exceder um limite superior para evitar suas perdas.

De acordo com MATSUKAWAA (1998), o crescimento da *Chlorella sp.* foi examinado em diferentes concentrações de CO₂. De acordo com o gráfico da Figura 3, as células cresceram bem em concentrações ente 5% a 40%. Em concentrações acima de 60%, as células foram capazes de crescer, mas o ótimo de crescimento foi em concentrações de 20% de CO₂. Esses dados sugerem que as microalgas podem obter fixação biológica de fontes artificiais de gás Carbônico.

Figura 3. Gráfico dos Efeitos da Concentração de CO₂ para o crescimento de células

(Adaptado de MATSUKAWAA, 1998).

Desta forma, o mecanismo de adaptação das microalgas é uma característica que pode ser aplicada à biotecnologia de seu cultivo, já que é possível pelas alterações das condições ambientais, manipular sua composição celular, além de aumentar a concentração da sua biomassa.

De acordo com CUARESMA et.al. (2011), a concentração da biomassa depende do equilíbrio entre a taxa de crescimento específico de microalgas e a taxa de diluição. A taxa de crescimento específico depende da exposição à luz e a eficiência fotossintética, fator que se altera ao longo do dia. Estas dependências tornariam difícil prever o aumento da produtividade de microalgas em sistemas abertos sujeitos as mudanças ambientais. Para isso o

uso de fotobiorreatores como sistemas fechados, viabiliza o controle das condições de crescimento e o aumento da concentração da biomassa algal.

2.2. FOTOBIORREADORES

Os fotobiorreatores são equipamentos utilizados para cultura de microalgas, ou seja, são sistemas fechados que promovem o controle das condições de cultivo, como: luz, temperatura, fluxo de nutriente e concentração de CO_2 . Além disso, apresenta as vantagens de prevenção de contaminações e da evaporação da água, tornando possível o aumento da concentração da biomassa algal e de sua produção em escala industrial.

De acordo com POSTEN (2009), um sistema típico apresenta três fases: a fase líquida que é o meio de cultura, a fase sólida representada pelas células e a fase de gás. A luz é uma característica única nos fotobiorreatores, sendo um campo de radiação sobreposta, mas não é considerado como uma quarta fase. A Figura 4 representa o diagrama esquemático dos parâmetros para projetos de biorreatores.

Figura 4. Representação do diagrama esquemático dos parâmetros para projetos de biorreatores (Adaptado de POSTEN, 2009).

V_R : Representa o volume total do trabalho do reator, incluindo as fases de líquido e gás;

A_R : Representa o total da superfície da área da parte transparente do reator que determina a quantidade de luz que incide no reator;

A_G : Representa a área de abertura do reator, ou seja, é a área em que a energia luminosa é coletada.

P_R : Representa a produtividade volumétrica, medidas na formação do produto por volume do reator no intervalo de tempo.

P_G : A produtividade na área é o mais importante parâmetro para avaliar fotobiorreatores maiores. Ela permite a compensação em termos da eficiência energética entre a luz incidente e formação de biomassa em uma base horizontal na determinação do critério de desempenho.

2.2.1. Interações entre fisiologia e design dos fotobiorreatores

As interações entre a fisiologia e o design dos fotobiorreatores podem interferir no seu desempenho. Algumas dessas interações são descritas a seguir:

2.2.1.1. Luz de saturação e luz diluição

Com relação à luz, as microalgas são adaptadas a baixas intensidades. A distribuição espacial da intensidade de luz no interior do fotobiorreator é além da geometria, principalmente influenciada pela atenuação da luz provocada pelo sombreamento mútuo das células através da adsorção de pigmentos ou via espalhamento das células. Após o aumento da concentração da biomassa, seu crescimento não será apenas linear. Isso não significa que o processo é

automaticamente menos eficiente, mas que o aumento linear da biomassa é proporcional à luz incidente (POSTEN, 2009).

Para sua iluminação, o equipamento dispõe de luz natural, artificial (por lâmpadas fluorescentes) ou ambos. De acordo com UGWU et. al (2007), o uso de fonte artificial de luz é associado à energia solar, porém sua intensidade diminui abaixo de um valor definido (dias nublados ou à noite). Existem ainda aplicações de fibras ópticas para coletar e distribuir a luz solar em fotobiorreatores cilíndricos.

2.2.1.2. Fornecimento de CO₂ e Aeração

As células das microalgas precisam do Dióxido de Carbono no processo de fotossíntese. Sua demanda na cultura pode ser calculada em base estequiométrica pelo teor de Carbono da biomassa. De acordo com POSTEN (2009), a fração de Carbono varia entre 0,45 para algas com alto conteúdo de carboidratos, até 0,8 para células ricas em lipídios. Dessa forma, a exigência de CO₂ estequiométrica encontra-se em 1,85 g CO₂ por grama de biomassa. Esta quantidade deve estar constantemente disponível no fotobiorreator, sendo obtida pelo borbulhamento de ar enriquecido com CO₂, além das fontes de Carbono inseridas no meio nutritivo fornecido constantemente em fluxo contínuo.

2.2.1.3. Utilização de energia mecânica

A sedimentação das microalgas é um problema que se torna ainda mais desfavorável em algumas posições do fotobiorreator. No entanto, a entrada da energia mecânica pelo borbulhamento é limitada por duas razões: i) as células podem ser danificadas; ii) a energia de abastecimento demanda custo de produção. Desta forma, a hidrodinâmica está associada à

atividade fotossintética, e consequentemente à produção de biomassa. Por isso, a dinâmica de fluidos deve ser empregada num projeto de construção de fotobiorreatores.

Os fotobiorreatores são encontrados em formatos diferentes e experimentalmente avaliados, cada qual para determinada função. De acordo com POSTEN (2009), inicialmente foram desenvolvidos três formatos padrões, que posteriormente foram sendo adaptados para suas finalidades e condições específicas.

2.2.1.4. Formato de Placas Planas

Um tipo de reator patenteado denominado Placa Plana (Figura 4-A) são duas placas coladas em intervalos de até 70 milímetros. É utilizado para o aumento da transferência de massa longitudinal, misturando em direção normal para a placa, por um regime de energia puramente pneumático, ou seja, utiliza o ar como meio de transmissão de potência para sistema de agitação. De acordo com UGWU et. al. (2007), este tipo de fotobiorreator apresenta vantagens para cultivo de microalgas devido à sua grande área de superfície de iluminação, proporciona baixas concentrações de Oxigênio dissolvido comparada com o formato horizontal, apresenta alta eficiência fotossintética, porém possui algumas limitações como dificuldade de controle da temperatura da cultura e possibilidade de estresse hidrodinâmico para algumas cepas de microalgas.

2.2.1.5. Formato Cilíndrico

Consiste em dois cilindros de acrílico com 2 metros de altura e 40 e 50 cm de diâmetro (Figura 4-B), inseridos um dentro do outro de modo a formar uma câmara em anel. Ao contrário dos fotobiorreatores de placas planas, a superfície interna do fotobiorreator de formato cilíndrico, não contribui de forma considerável para a radiação luminosa geral do

equipamento. De acordo com UGWU et. al. (2007), este formato apresenta algumas limitações como pequena área de superfície de iluminação, a necessidade de materiais mais sofisticados para sua construção e ocorrência de tensão de cisalhamento entre as microalgas.

2.2.1.6. Formato tubular

Consiste em tubos transparentes dispostos em linhas paralelas em retas ou em curso sinuoso (Figura 4-C). Podem ser dispostos no chão, em painéis ou de forma helicoidal. Os tubos apresentam 10 a 60 milímetros de diâmetro e até centenas de metros. A luz incidente é diluída ao longo da circunferência e focada na direção radial no eixo do tubo. Desta forma ocorre a diminuição exponencial da luz por sombreamento mútuo das células, que é compensando pela sua geometria. Entre os formatos propostos, o tubular é um dos mais adequados para cultura de biomassa, devido a alta produtividade de biomassa que proporciona e o baixo custo, porém apresenta algumas limitações como incrustações de células na parede do equipamento, requer maior área para instalação e gradientes de pH, Oxigênio dissolvido e CO_2 ao longo dos tubos.

Figura 5. Formatos geométricos dos fotobiorreatores fechados mais utilizados: A) Placa Plana B) Cilíndrico C) Tubular. Outros projetos são deduzidos a partir desses modelos básicos.

(Adaptado de POSTEN, 2009).

De acordo com POSTEN (2010), o projeto para fotobiorreatores em escala comercial, teve um grande progresso ao longo das últimas décadas. Os princípios básicos têm sido extensivamente desenvolvidos em projetos com eficiências relativamente altas. Os processos de engenharia e os métodos calculados foram publicados para a compreensão da transferência de luz e de massa, mas ainda em nenhum dos projetos pilotos comprovaram a viabilidade de seu uso em grande escala.

Além destes tipos de fotobiorreatores citados, há um vasto número de formatos que podem ser utilizados na produção de microalgas, porém enquanto alguns tipos podem ser facilmente operados em escala laboratorial, apenas alguns deles podem ser operados em escala piloto.

De acordo com UGWU et al. (2007), existem vários trabalhos de pesquisa no desenvolvimento de fotobiorreatores para aumentar a produção da sua biomassa. Para isso, eles devem ter superfícies transparentes com alta superfície de iluminação, transferência de massa e seu formato devem depender do tipo de tensão, do produto alvo e da localização geográfica, sendo mais adequado em países tropicais devido a elevada incidência de energia luminosa, porém ainda se faz necessário à melhoria de sua tecnologia para cultura de microalgas com maior eficiência.

Para isso, o uso da microfiltração associada ao fotobiorreator vem sendo apresentada como uma proposta de aperfeiçoar o sistema, promovido pelo uso de membranas poliméricas, que atuam como barreira física impedindo a saída das algas e promovendo sua concentração dentro do biorreator. Além disso, as membranas são muito bem adaptadas aos processos moleculares biológicos, uma vez que operam em temperaturas e pressões relativamente

baixas, desempenha suas funções sem precisar de aditivos químicos ou causar mudanças de fases, o que impede a desativação ou degradação das células (CHARCOSSET, 2006).

2.3. PROCESSO DE MICROFILTRAÇÃO

2.3.1. Conceituação

Microfiltração (MF) é um dos processos usados para separação/retenção de componentes em misturas sólido-líquido, líquido-líquido e gás-sólido em que se utiliza de gradiente de pressão como força motriz. As partículas são separadas através de uma superfície porosa (também chamada de seletiva) com poros que apresentam diâmetro médio na escala micro (10^{-6}m), contudo, a microfiltração é mais indicada para reter misturas em suspensão e emulsão. Neste processo, a própria natureza físico-química da membrana controla quais componentes da mistura serão filtrados e quais serão retidos (DELL COLLE, 2005). A Figura 5 observa-se o espectro dos diferentes tipos de filtração com membranas segundo o tamanho médio das partículas e do tamanho dos poros da membrana.

Figura 6. Espectro de filtração segundo o tamanho das partículas

(Adaptado de HABERT; BORGES e NOBREGA, 2006).

No mecanismo de filtração realizado por exclusão física de partículas com o tamanho maior do que a porosidade das membranas, não ocorre passagem de partículas com tamanho maior do que os poros. Na prática, entretanto, partículas com tamanho muito menor do que os poros são retidas nas membranas com grande eficiência devido à torta de filtro (*cake layer*) (PELEGRIN, 2004).

A utilização do processo de separação por membranas, na qual está incluída a microfiltração cresce a cada ano por se tratar de um processo isento de produtos químicos que podem ser nocivos à natureza, por não necessitar de alto consumo energético (calor) uma vez que, basicamente, apenas a bomba hidráulica (energia elétrica) é necessária para a operação do processo, e por ser um processo rápido quando comparado a outros métodos como decantação, centrifugação e destilação. A aplicabilidade e o uso de tais membranas são

observados nas indústrias, alimentícias e de bebidas, química, petroquímica, farmacêutica e de biotecnologia, tratamento de águas e na medicina.

Segundo HABERT et. al. (2006), a microfiltração é um processo de separação que utiliza membranas micro porosas com poros na faixa entre 0,1 e 10 μ m (100 e 10.000 nm), sendo, portanto, indicado para a retenção de materiais em suspensão e emulsão. Desta forma, os maiores mercados da microfiltração são: esterilização de líquidos e gases; aplicações na medicina; aplicações na biotecnologia e na purificação de fluidos.

2.3.2. Tipos de Microfiltração

Uma das características dos processos de separação com membranas e que eles podem ser operados do modo convencional (filtração perpendicular) ou do modo tangencial. No modo convencional, também chamada *dead end* ou *filtração estática*, uma solução ou suspensão é pressionada contra a membrana (Figura 7). O permeado atravessa a membrana e o soluto ou materiais em suspensão são retidos, acumulando-se na interface membrana/solução, no fenômeno chamado polarização de concentração (ALICIEO et. al. 2008). No modo tangencial, que também pode ser chamada de *cross flow* ou *filtração dinâmica*, a solução escoia paralelamente a superfície da membrana, enquanto o permeado é transportado transversalmente como ilustrado na Figura 8.

Figura 7. Esquema da microfiltração perpendicular.

Figura 8. Esquema da microfiltração tangencial.

O escoamento paralelo à membrana limita o acúmulo do material retido sobre a mesma, tornando possível uma operação do sistema em condições de regime estabelecido de transferência de massa. Isto significa dizer que o fluxo de permeado pode permanecer constante com o tempo, mas em um valor menor do que o obtido com o solvente puro, na mesma pressão de operação, uma vez que o aumento da concentração das espécies retidas próximo à superfície da membrana provoca uma resistência adicional à transferência de massa do solvente.

Para HUNT et. al. (1987), RIPPERGER (1988) e PILLAY & BUCKLEY (1992), na MFT, o fluxo tangencial gera forças de cisalhamento e ou turbulências ao longo do meio filtrante limitando a espessura da camada de substâncias retidas na superfície da membrana. Segundo estes autores, no fluxo de filtrado em regime permanente, a espessura desta camada permanece constante.

No processo de microfiltração tangencial (Figura 8) a vazão do permeado é influenciada por um grande número de parâmetros como, por exemplo, velocidade tangencial, pressão transmembrana, resistência hidráulica da membrana, resistência da camada gel-polarizada, distribuição das partículas em suspensão, forma das partículas, comportamento químico da aglutinação das partículas na superfície, dentre outros (FERREIRA, 2003). No entanto, na microfiltração perpendicular (Figura 7) a vazão da alimentação ocorre perpendicularmente à superfície da membrana e as partículas concentradas se acumulam nesta, formando uma camada de filtrado sólido. A espessura desta camada aumenta com o tempo e a taxa de permeabilidade decresce. Eventualmente, o filtro da membrana com esta camada causa uma baixa taxa de filtração, promovendo tanto a limpeza deste quanto sua troca, tornando o método pouco econômico.

Este tipo de incrustação pode ser reduzido na microfiltração tangencial (SCOTT, 1995; QUEIROZ, 2004). Portanto, recomenda-se a microfiltração tangencial para líquido com alta concentração de sólidos, enquanto a microfiltração perpendicular é indicada para líquidos com pequeno volume de concentrado. Esta diferença ocorre, uma vez que na microfiltração perpendicular, o fluxo chega diretamente na membrana, facilitando a geração de incrustações (QUEIROZ, 2004).

Quanto ao comportamento da espessura da camada de polarização e do fluxo de permeado ao longo das filtrações do tipo convencional e tangencial estão apresentadas na

Figura 9-A. Na microfiltração tangencial (MTF) as forças de cisalhamento e turbulências geradas pelo próprio fluxo tangencial limitam a espessura da camada de substâncias retida na superfície da membrana (HUNT et. al., 1987; RIPPERGER, 1988; PILLAY; BUCKCLEY, 1992). Segundo estes autores, a espessura desta camada permanece constante no fluxo de filtrado em regime permanente.

No entanto o valor do fluxo transmembrana se reduz gradualmente em longo prazo devido, não somente a um fator isolado, mas a combinação de outros tipos de resistências oferecidas tais como resistência da própria membrana porosa, *fouling* reversível e não reversível na formação da polarização de concentração e camada de polarização.

Figura 9. Comportamento da espessura da camada de polarização e do fluxo específico do filtrado ao longo do tempo de operação na filtração tangencial (A) e convencional (B) (Extraído de TREVISOLI, 2010).

2.3.3. Membranas

As membranas estão presentes em todos os sistemas biológicos para transporte de nutrientes, estocar e converter energia. Para isso, é preciso distinguir compostos, transportando-os de maneira seletiva e em taxas controladas. As membranas sintéticas surgem como uma tentativa de imitar as membranas naturais pelas características de seletividade e baixo consumo energético.

De acordo com Anadão (2010) membrana é uma barreira seletiva entre duas fases, que, sob a ação de uma força motriz, permite a passagem de uma ou mais espécies selecionadas da fase de alimentação, a qual é uma mistura de caráter líquido, gasoso ou solução. As espécies retidas pela membrana constituem o concentrado, enquanto aquelas que passam por ela são chamadas de permeado.

Podem ser classificadas de acordo com os parâmetros a seguir:

- Tipo de material;
- Estrutura;
- Configuração;
- Método de produção;
- Regime de separação;
- Aplicação.

Os materiais empregados são:

- Orgânicos (polímeros ou substâncias orgânicas),
- Inorgânicos (metais ou materiais cerâmicos).

As vantagens do uso das membranas orgânicas estão relacionadas com a facilidade de formação de um filme fino, facilitando a permeabilidade, além do baixo custo. Por outro lado apresentam limitações como a instabilidade a altas temperaturas, a decomposição em solventes, o que pode limitar sua aplicação. Já as membranas inorgânicas apresentam maior resistência química e térmica, o que resulta em maior vida útil.

Em relação à estrutura, as membranas podem ser:

- Simétricas ou isotrópicas: possuem estrutura uniforme ao longo de toda espessura, podendo ser porosas, de poros cilíndricos, ou não porosas. Neste caso, o fluxo do fluido é baixo já que sua espessura contribui para a resistência ao transporte de massa;
- Assimétricas ou anisotrópicas: apresentam uma fina camada seletiva em sua superfície e logo abaixo um substrato altamente poroso.

Quando há atração, a superfície é dita hidrofílica, senão, hidrofóbica. Segundo Del Colle (2005) a hidrofilicidade é a medida de quanto o líquido pode molhar a superfície em contato. Quando uma gota de água é colocada sobre um material completamente hidrofílico, ela se espalha resultando em um ângulo de contato zero ou baixo. Por outro lado, sobre um material hidrofóbico a água é repelida, causando um alto valor no ângulo de contato.

Figura 10 – Ilustração do comportamento hidrofílico e hidrofóbico com gotícula de água e óleo. (Extraído de TREVISOLI, 2010).

Por outro lado, de acordo com Lee e Wu (2008), nos sistemas de microfiltração, a deposição de partículas e o *fouling* (impregnação irreversível) são fatores críticos que influenciam a eficiência de separação. Van Der Horst e Hanemaaijer (1990) afirmaram que a aplicação bem sucedida da microfiltração tangencial tem ficado limitada à substituição da filtração convencional. Porém, para outras aplicações, o sucesso está sendo adiado por problemas como *fouling* e complexas propriedades de separação. Para estes autores, o *fouling* é responsável pela variação do fluxo, comparando-o ao fluxo de água, uma vez que ele causa a retro-difusão de solutos em direção ao fluxo de alimentação. A concentração de soluto aumenta na interface até uma camada de partículas depositadas ser construída na superfície da membrana e assim, sendo conhecida como camada gel polarizada ou camada polarizada ou ainda, *cake layer*.

Segundo Habert et al. (2006), o *fouling* inicia com a adsorção ou adesão de macromoléculas, colóides e/ou bactérias na superfície da membrana. Este fenômeno ocorre principalmente quando sólidos aderem-se nos poros da membrana ou eles são adsorvidos na superfície da mesma. Ele está relacionado com as características da membrana, com as interações soluto-soluto e soluto-membrana e é irreversível, ou seja, a recuperação do valor de

fluxo prévio é possível somente com limpeza química (CHERYAN, 1998) ou térmica da membrana (HANEDA, 2006).

O desenvolvimento de membranas hidrofílicas não-interativas deveria reduzir os problemas em uma grande proporção. Entretanto, membranas poliméricas hidrofílicas comerciais de microfiltração não fornecem um melhor perfil de *fouling* se comparadas aos tipos de membranas hidrofóbicas. Isto também sugere que o material da membrana não é o fator mais importante envolvido no processo de *fouling* de membranas de microfiltração. O material da membrana pode contar com o efeito da hidrofobicidade para ter maior importância para membranas de ultrafiltração do que para membranas de microfiltração. A adsorção de uma monocamada de proteínas, por exemplo, terá um menor efeito no tamanho de poro de membranas de microfiltração do que ela terá no tamanho de poro de membranas de ultrafiltração (HANEMAAIJER; ROBBERTSEN, 1989).

3. Materiais e Métodos

3.1. CULTURA DE MICROALGAS

Para a realização deste trabalho de pesquisa, inicialmente foram realizados testes de crescimento com cultura da microalga da espécie *Chlorella vulgaris*, porém por apresentar uma acentuada aderência nas paredes do fotobiorreator (confeccionado em acrílico), foram realizados experimentos com culturas de *Chlorella sorokiniana*, que por sua vez, apresentou aderência menos acentuada na superfície do equipamento. Tal seleção ocorreu principalmente devido à facilidade de reprodução, ao tamanho da célula que apresenta o diâmetro médio de 4,42 μm (TAKIZAWA, 2010) possibilitando sua retenção pelos poros das membranas testadas, além de suas potenciais aplicações tanto industriais, como também para o sequestro de gás carbônico.

As microalgas do gênero *Chlorella* (Grego: Chloros: verde; ella: diminutivo), são caracterizadas pelo formato esférico, apresentam pigmentação verde e não possuem mobilidade, sendo encontradas em ambientes marinhos, de água doce, solos úmidos, em potes de água e até mesmo em superfície de tronco das árvores (KATAKI, 2011). São organismos de metabolismo fotoautotrófico para obtenção do alimento, ou seja, na presença da luz, a água e os minerais são convertidos em energia química pelo processo de fotossíntese. Sendo assim, o fornecimento de nutriente inorgânico é de grande importância para o crescimento celular,

sendo que os elementos Carbono, Nitrogênio, Fósforo e Enxofre são os principais componentes celulares (SCOPARO, 2010).

Neste caso, o meio nutritivo utilizado nos experimentos deste trabalho foi do Oligo L.C. modificado, com adição de NH_4NO_3 e substituição do KNO_3 por NaNO_3 . A Tabela 1 apresenta a composição do meio nutritivo de cultura, preparado na proporção de 1,0 mL de cada solução estoque dissolvida em 1L de água destilada.

Tabela 1. Composição do Meio de Cultura L.C. Oligo Modificado.

Soluções	Composto	Peso Molecular	Stock (g/L)	[final] Oligo (mol.L ⁻¹)
1	NaNO_3	85	40	4.7×10^{-4}
2	NH_4NO_3	80	40	5.0×10^{-4}
3	$\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	236.15	40	1.7×10^{-4}
4	$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	246.48	30	1.2×10^{-4}
5	K_2HPO_4	174.18	40	2.3×10^{-4}
6	$\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	249.68	0.015	6.0×10^{-4}
	$(\text{NH}_4)_6\text{Mo}_7\text{O}_{24} \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	1235.86	0.03	2.4×10^{-4}
	$\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	287.56	0.03	1.0×10^{-4}
	$\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	237.93	0.03	1.26×10^{-4}
	$\text{Mn}(\text{SO}_4) \cdot \text{H}_2\text{O}$	169.01	0.02	1.2×10^{-4}
	H_3BO_3	61.83	0.03	4.9×10^{-4}
7	$\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$	270.20	0.62	1.57×10^{-4}
	$\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	277.91	0.62	1.12×10^{-4}
	$\text{C}_6\text{H}_5\text{FeO}_7 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$	334.85	1.62	1.45×10^{-4}
8	NaHCO_3	84	15	1.79×10^{-4}

Para quantificação do pH do meio de cultura, foi utilizado o pHmetro digital (Qualxtron, Modelo 8010) calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0, sendo que quando necessário, foi acrescentado no meio de cultura, uma solução de Ácido Clorídrico para regular o valor do pH (7,0) ideal para o crescimento das microalgas.

O meio de cultura descrito na Tabela 1 foi filtrado em filtro a vácuo (Nalgene), com o auxílio de um compressor (Modelo 089 – FANEM) dentro de Cabine de Fluxo Laminar (ambiente estéril) para prevenir possíveis contaminações. Os filtros utilizados foram de material Acetato de Celulose com 50 mm de diâmetro, numa porosidade de 0,2 μm (Satorius Stedim Biotech - Germany), como pode ser observado na Figura 11 a seguir.

Figura 11. Filtro Satorius Stedim Biotech utilizado para filtrar meio de cultura.

Para o procedimento de inoculação das microalgas foi utilizado 300 ml de inóculo de *Chlorella sorokiniana* em fase exponencial de crescimento em concentração de $1,8 \times 10^6$ cels/mL em 3L de meio de cultura, resultando numa concentração inicial de $1,8 \times 10^5$ cels/mL, cultivados em um recipiente fechado denominado fotobiorreator, como pode ser observado na Figura 12 a seguir.

Figura 12. Imagem do Fotobiorreator no momento do inóculo

Após o inóculo, a cultura foi mantida em condições controladas de cultivo, como fluxo contínuo de nutrientes, pH 7, luminosidade de 2500 lux (fotoperíodo de 12/12 horas, claro/escuro), borbulhamento de ar e temperatura (21°C no meio nutritivo e 24°C no ambiente), as microalgas foram monitoradas durante um período de trinta dias, sempre no mesmo horário, para verificar sua taxa de crescimento. Para isso, as amostras da biomassa algal foram retiradas do fotobiorreator e fixadas em solução de Lugol ácido para contagem das suas células em lâminas do tipo Fuchs Rosenthal, com o auxílio do microscópio óptico (Zeiss, modelo Axiostar plus).

Durante este período de trinta dias do monitoramento do crescimento da cultura, foi possível observar que enquanto as células inoculadas estavam em fase exponencial de crescimento, as microalgas se encontravam em suspensão no meio de cultura. Após este período, essas mesmas células começaram a aumentar de tamanho, passando a ficar aderidas nas paredes do fotobiorreator, se concentrando no fundo do equipamento, como pode ser observado na imagem da Figura 13.

Figura 13. Imagem das microalgas aderidas na parede do fotobiorreator após 30 dias de início da cultura.

Diante disso, apesar de apresentar um visível aumento da sua biomassa, não foi possível obter precisão para identificar sua real curva de crescimento, já que o sistema de borbulhamento de ar dentro do equipamento foi insuficiente para promover a agitação da solução com as microalgas, sendo necessário num determinado momento, promover a agitação manual do equipamento. Neste momento, foi possível identificar a quantidade células/mL, apresentada no pico do gráfico na Figura 14, no qual o número de microalgas passou de aproximadamente $200 \times 10^4 \text{ cel/mL}$ para $1.000 \times 10^4 \text{ cel/mL}$.

Figura 14. Gráfico do Monitoramento do Crescimento das algas (número de algas x 10⁴) num período de trinta dias consecutivos em sistema de fluxo contínuo de cultura

Após trinta dias de acompanhamento do crescimento das microalgas, além das investigações sobre a concentração da biomassa dentro do biorreator, o desempenho das membranas passou a ser investigado. Para isso foram coletadas amostras da biomassa algal do fotobiorreator e do fluxo do permeado, após a passagem pela membrana, para verificar o bloqueio das células durante o processo de microfiltração, utilizando como parâmetros a análise da densidade do meio de cultura e contagem das unidades de células das amostras.

Para a análise da densidade ótica das amostras, foi utilizado o espectrofotômetro digital (B-341II – Micronal), instrumento que permite a passagem de um feixe de luz monocromática através da amostra e mede a quantidade de luz que foi absorvida com a utilização de um comprimento de onda específico, sendo utilizado como padrão, o valor de 684 nm para a microalga *Chorella sorokiniana*. O equipamento foi calibrado utilizando-se água destilada como branco e em seguida a amostra com o meio de cultura foi analisada. Após lavar a cubeta

do equipamento com água destilada, o fluxo do permeado foi analisado com o intuito de comparar suas densidades.

Para verificar a taxa de crescimento da alga no sistema, as amostras coletadas foram fixadas em solução de Lugol ácido para contagem das suas células em lâminas do tipo Fuchs Rosenthal, com o auxílio do microscópio óptico (Zeiss, modelo Axiostar plus) como ilustra a Figura 15 a seguir.

Figura 15. Células da microalga *Chlorella sorokiniana* coletadas do fotobiorreator

3.2. FOTOBIORREATOR

As microalgas foram cultivadas em um recipiente fechado denominado fotobiorreator, de material acrílico, com capacidade de 3,5 L, acoplado a um sistema de fluxo contínuo, controlado por uma bomba peristáltica (Tecnow – Diluidor 7000). Esta bomba exercia uma força de pressão que retirava o meio nutritivo filtrado contido num recipiente e conduzia até o fotobiorreator, para alimentar as microalgas (Figura 16-A). Da mesma forma, esta força de pressão, na mesma intensidade e ao mesmo tempo, puxava o meio de cultura contendo

microalgas do interior do fotobiorreator, para fora do sistema, passando pela membrana de microfiltração (Figura 16-B). Dessa forma, as microalgas ficaram bloqueadas pelas membranas, se concentrando no fotobiorreator, sendo transportado apenas o fluxo de saída de permeado, ou seja, o líquido filtrado.

Figura 16. Esquema do sentido do fluxo de entrada de nutrientes (A) e passagem do meio de cultura através da membrana (B) dentro do fotobiorreator.

Em relação à vazão do sistema, para atingir um fluxo final de 1.500 mL de permeado por dia, a bomba de pressão peristáltica foi regulada para atingir um fluxo de entrada de nutrientes de 1,05 mL/min (Figura 17-A) sem causar alteração com o tempo. A mesma pressão promovia um fluxo de saída inicial de 1,14 mL/min (Figura 17-B) que se alterava com o tempo devido à obstrução dos poros das membranas pelas microalgas. Com o tempo do experimento, a pressão exercida pelo equipamento promovia o acúmulo de microalgas na superfície da membrana, até provocar o esgotamento da sua capacidade.

Figura 17. Imagem do fotobiorreator ilustrando o sistema de fluxo de entrada de nutrientes (A) e o fluxo de saída de permeado(B).

Para o sistema de borbulhamento de ar foi utilizado um compressor de ar, comumente usado em aquários domésticos (Regent 8500) que capturava o ar do ambiente e o conduzia ao interior do fotobiorreator. Este transporte foi feito por meio de uma mangueira de silicone, ligada a um tubo de material Teflon® com três aberturas para saída de bolhas de ar.

A iluminação foi controlada a uma intensidade de 2.500 lux por lâmpadas fluorescentes dispostas na posição horizontal, como mostra a Figura 18, a uma distância de 20 cm do fotobiorreator, num fotoperíodo de 12/12 horas no ciclo claro/escuro que se iniciava às 6 horas da manhã e finalizava às 18 horas, controlado por um Timer.

Figura 18. Imagem do Sistema de Iluminação do Fotobiorreator.

3. 3. MEMBRANAS

As membranas selecionadas e usadas no experimento são comerciais, de origem polimérica, dos tipos Versapor e Supor, ilustradas na Figura 19-A, gentilmente cedidas pela Pall Corporation nas porosidades de 0,8, 1,2, 3,0 e 5,0 μm .

As membranas Supor testadas neste experimento são hidrofílicas e apresentam polietersulfona na sua composição. Suas especificações provenientes do catálogo do fornecedor (Pall Corporation) estão descritas na Tabela 2 a seguir.

Membrana Supor Polietersulfona Hifrofílica

Tabela 2. Especificações da Membrana do tipo Supor (Pall Corporation)

Base do Material	Lote	Tamanho do Poro (μm)	Espessura (μm)
Polietersulfona	T 90537	0,8	114,3 – 165,1
Polietersulfona	T 90052	1,2	101,6 – 152,4
Polietersulfona	T 90527	5,0	88,9 – 177,8

De acordo com MENDES (1999), os *polímeros* são *moléculas* caracterizadas por seu *tamanho*, *estrutura química* e *interações intra- e intermoleculares*. Possuem *unidades químicas* ligadas por *covalências* repetidas regularmente ao longo da *cadeia*, denominadas *meros*. O *número de meros* da *cadeia polimérica* é denominado *grau de polarização*. Quando há mais de um tipo de mero num *polímero*, este é designado *copolímero*.

A membrana Versapor (Pall Corporation) tem sua composição na forma de um copolímero, ou seja, uma combinação entre nylon e acrílico. A Figura 42 ilustra a membrana com um suporte na forma de fibras compostas de nylon com depósito de acrílico.

Membrana Versapor Hidrofílica

Tabela 3. Especificações da Membrana do tipo Versapor (Pall Corporation)

Base do Material	Lote	Tamanho do Poro (μm)	Espessura (μm)
Copolímero Acrílico	T82009	0,8	94
Copolímero Acrílico	72285	1,2	94
Copolímero Acrílico	Não especificado	3,0	Não especificado
Copolímero Acrílico	782013	5,0	94

Estas foram recortadas na dimensão de 3,0 cm de diâmetro e acopladas individualmente a cada experimento, entre duas grades de material aço inoxidável, sendo vedadas com anéis de Oring de material Teflon® em recipiente fechado ligado a uma mangueira de silicone, como pode ser observado na Figura 19-B.

Fig. 19.(A) Imagens das membranas comerciais do tipo Versapor e Supor; (B) Imagem do posicionamento da membrana no fotobiorreator

Para analisar o desempenho das membranas primeiramente foi necessário promover a remoção das microalgas contidas nas mangueiras de silicone, a cada troca de membrana, para que os resultados sobre a retenção das microalgas pelas membranas pudessem ser fidedignos. Para efetuar tal remoção, a mangueira acoplada ao fluxo de entrada, foi retirada do recipiente contendo meio nutritivo que conduzia ao fotobiorreator e introduzida num Becker contendo água destilada, bem como a mangueira ligada ao fluxo de saída, em outro recipiente de forma que a água destilada pudesse circular pelo sistema de fluxo de permeado. O sistema foi acionado à pressão máxima da bomba peristáltica num período de 1 hora para que as células em suspensão nas mangueiras de fluxo do permeado, pudessem ser removidas.

Em seguida, as mangueiras foram inseridas novamente ao fotobiorreator, juntamente com a membrana a ser testada, para o monitoramento do fluxo do permeado até o esgotamento da capacidade de permeação da membrana, o que resultou num fluxo final nulo. Para isso, a bomba peristáltica foi acionada e, a cada vinte minutos, o fluxo de permeado foi acondicionado num Becker para acompanhamento da redução do fluxo.

As amostras do permeado foram analisadas para verificar o desempenho das membranas, tanto na capacidade de bloquear as células, como em manter o fluxo de permeado. Para isso, as amostras do permeado foram pesadas utilizando uma balança de precisão (Sartorius). Em

seguida as mesmas amostras foram utilizadas para análise espectrofotométrica para verificar a densidade óptica e após serem fixadas em Lugol ácido foram feitas contagens das unidades de células. Este procedimento foi realizado a cada vinte minutos até o esgotamento do fluxo do equipamento, mantendo sempre a mesma pressão.

Após o esgotamento da sua capacidade, a membrana foi retirada do fotobiorreator, seca em temperatura ambiente e conduzida ao Instituto de Química da USP/São Carlos para serem submetidas à observação em Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV). Para isso, foi investigada a composição e caracterização dos fenômenos físico-químicos que atuam sobre a superfície da membrana, por meio de imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) e análise de Energia Dispersiva de Raio-X (EDX). A Figura 20 ilustra uma imagem da aderência das algas na superfície da membrana.

Figura 20. Imagem da membrana após o esgotamento da sua capacidade de microfiltração.

3.4. ANÁLISES DA BIOMASSA ALGAL

Após o cultivo por três meses, a biomassa algal que no momento do inóculo apresentava uma concentração inicial de $1,8 \times 10^5$ cels/mL (Figura 21-A) passou a ter uma concentração de $7,0 \times 10^8$ cels/mL no final do experimento como pode ser observado na imagem da Figura 21-B abaixo.

Figura 21 (A) Imagem da concentração da biomassa algal inicial no momento do inóculo; (B) Imagem da concentração da biomassa algal no final do experimento.

Após o período experimental de crescimento das microalgas e desempenho das membranas, o volume cultivado no fotobiorreator durante este período, foi retirado do equipamento e armazenado em provetas plásticas (Figura 22-A). Para promover a concentração da biomassa algal, acrescentou-se uma solução contendo Hidróxido de Alumínio, capaz de promover a floculação e posterior decantação das microalgas. Após a decantação, o líquido excedente foi removido com o auxílio de mangueiras de silicone e seringa para sucção, restando apenas à biomassa concentrada, como pode ser observado na Figura 22-B.

Figura 22. (A) Imagem da biomassa algal recolhida do fotobiorreator; (B) Imagem da biomassa algal concentrada.

A biomassa recolhida foi encaminhada para uma estufa em temperatura de 40°C e, num período de dois dias, resultou em 0,4968 gramas de material seco. Nesta etapa, parte da amostra foi conduzida até o Instituto de Química da USP/São Carlos para investigar o percentual dos elementos Nitrogênio (N), Carbono (C) e Enxofre (S) na sua composição através de análise elementar da amostra.

Para investigar o comportamento dos seus componentes, as microalgas cultivadas no fotobiorreator, no Laboratório de Biotecnologia de Algas no Departamento de Botânica da Universidade Federal de São Carlos – UFSCar foram submetidas às análises térmicas TG (Análise Termogravimétrica) e DTA (Análise Térmica Diferencial) no Laboratório de Engenharia Térmica e Fluidos do Departamento de Engenharia Mecânica da EESC/USP.

De acordo com GIOLITO (1988), análises térmicas são técnicas pelas quais uma propriedade física de uma substância e/ou seus produtos de reação é medida em função da temperatura, enquanto a substância é submetida a uma programação controlada de

temperatura. Segundo o autor, a Análise Térmica Diferencial (DTA) é uma técnica no qual o material de referência é medido em função da temperatura, enquanto são submetidos a uma programação controlada de temperatura. Já a Termogravimetria (TG) é a técnica na qual a massa de uma substância é medida em função da temperatura, enquanto a substância é submetida a uma programação controlada de temperatura. Para isso, a Termogravimetria Derivada (DTG) é uma técnica que fornece a primeira derivada da curva termogravimétrica em função do tempo ou da temperatura.

Para as análises de Termogravimetria (TG) foi utilizada a balança de termogravimetria (Shimadzu 51H) a uma razão de aquecimento de $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$ entre a temperatura ambiente (25°C) e 950°C . A massa utilizada foi de $10 \pm 0,5\text{mg}$, em suporte de amostra de alumina e gás de arraste composto por ar sintético (80% N_2 e 20% O_2) com vazão de 100mL min^{-1} .

Em relação à Análise Térmica Diferencial (DTA) utilizou-se um analisador Shimadzu 50 nas mesmas condições, ou seja, a uma razão de aquecimento de $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$, massa da amostra de $10 \pm 0,5\text{mg}$, em suporte de amostra de alumina e gás de arraste ar composto por gás sintético (80% N_2 e 20% O_2) com vazão de 100mL min^{-1} . De acordo com Zhao (2001), as análises termogravimétricas são essencialmente utilizadas para entender as características pirolíticas das microalgas.

4. Resultados e Discussões

Neste capítulo observa-se o desempenho das membranas poliméricas comerciais dos tipos Supor e Versapor da Pall Corporation, no processo de microfiltração para retenção das microalgas dentro do fotobiorreator. Para isso, o fluxo do permeado das membranas testadas é analisado, além da concentração da biomassa algal e do bloqueio das células pelas membranas, utilizando como parâmetros, a densidade espectrofotométrica e contagem das unidades de células das amostras coletadas.

As interações entre as membranas e as microalgas ocorridas durante este processo, são discutidas pelas análises de suas composições, pela caracterização do fenômeno físico-químico que atuam sobre a superfície da membrana, apresentadas por meio de imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), análise Elementar e Energia Dispersiva de Raio-X (EDX).

4.1. DESEMPENHO DAS MEMBRANAS

4.1.1. Análise do Fluxo do Permeado

Neste item observa-se o fluxo do permeado pelas membranas poliméricas de microfiltração do tipo Supor, nas porosidades de 0,8, 1,2 e 3,0 μm , além das membranas do tipo Versapor analisadas nas porosidades de 0,8, 1,2, 3,0 e 5,0 μm respectivamente, conforme a figura 23 representada pelo gráfico do fluxo das membranas em relação ao período do experim

Figura 23. Transferência de massa através das membranas

O fluxo de permeado está diretamente relacionado à camada de polarização que se forma sobre a membrana (Figura 24), ou seja, neste caso a camada de acúmulo de microalgas que reveste sua superfície devido às interações químicas e físicas entre a membrana e suas células. De acordo com ULBRICHT (2006), as membranas podem interagir quimicamente com as amostras por ligações eletrostáticas, iônicas, covalentes ou por pontes de hidrogênio.

Essas ligações podem ser desejáveis ou indesejáveis de acordo com as características entre as amostras e as membranas. Além disso, os fatores físicos como: tamanho de poros, morfologia da membrana, pressão, temperatura e tempo de exposição, também interferem na compatibilidade com a membrana.

De acordo com ZYDNEY (1996), tais interações podem causar também um dos maiores fatores limitantes para o processo de microfiltração conhecido como “fouling”, ou seja, uma alteração irreversível da membrana que eventualmente ocorre nos processos de microfiltração e requer extensa limpeza ou até mesmo a substituição da membrana. Segundo o autor, os efeitos do “fouling” no fluxo do permeado, podem ser similares aos efeitos associados à concentração da camada de polarização. Por outro lado, a polarização é um fenômeno reversível da camada limite decorrente da limitação da transferência de massa na membrana. Sua redução ou provável eliminação pode ser controlada ajustando as condições de operações com a membrana.

Figura 24. Esquema da formação da camada de polarização sobre a membrana

De acordo com MADAENI (2007), em sistemas de microfiltração a formação do “fouling” é um sério problema para as aplicações práticas. Neste contexto, para reduzir a tendência de formação durante o fluxo do permeado, muitas pesquisas estão focadas na hidrofilição das membranas, visto que a hidrofilição aumenta a propriedade de redução da formação do fouling nas membranas. De acordo com MATSUURA (2009), as membranas

com superfície hidrofílica são menos suscetíveis ao entupimento em relação às membranas hidrofóbicas.

Diante disso, MADAENI (2007) sugere a modificação da superfície da membrana por um método conhecido como polietersulfona (PES), que consiste num polímero formado por cadeias de éter e sulfona alternados entre anéis aromáticos que proporciona alto grau de mobilidade molecular, criando resistência e rigidez, reduzindo as interações entre as membranas e as amostras, sendo uma alternativa promissora para diminuir a formação do fouling e camada de polarização sobre a membrana.

4.1.1.1. Análise da Absorbância

A densidade das amostras do meio de cultura de microalgas e do permeado pelas membranas foram investigadas com o auxílio de um espectofotômetro, instrumento utilizado para comparar a radiação absorvida ou transmitida. A amostra é inserida em uma cubeta e sua densidade óptica quantificada (Figura 25). O equipamento (espectofotômetro) permite a passagem de um feixe de luz monocromática através da amostra e mede a quantidade de luz que foi absorvida.

Figura 25. Esquema da passagem da radiação através da amostra

Neste caso, o comprimento de onda utilizado para a alga *Chlorella sorokiniana* é de 684 nanômetros e os resultados das medições das amostras são dados em absorbância, ou seja, na capacidade das amostras absorverem a radiação do equipamento.

Pela análise do gráfico da Figura 26 é possível observar que o meio de cultura apresenta a absorbância no valor de 0,15 (A.u.) devido à alta concentração da sua biomassa. Ao passar pelas membranas, o fluxo de permeado apresenta um valor reduzido de absorbância, chegando ao máximo de 0,03 (A.u.) devido ao bloqueio das microalgas pelas membranas testadas.

Figura 26. Gráfico de absorbância (684nm- A.u.) das amostras do meio de cultura e do permeado

4.1.1.2. Análise da Concentração de Microalgas

Neste item é possível analisar a quantidade de unidades de células contidas na biomassa algal do fotobiorreator e no permeado. A Figura 27 representa as imagens das amostras coletadas do meio de cultura de dentro do fotobiorreator (a) e do permeado (b) após a passagem pela membrana de microfiltração, sendo possível visualizar o bloqueio das microalgas pelas membranas. A eficiência das membranas na retenção de microalgas é confirmada pela análise do gráfico sobre concentração de células na Figura 28, na qual é possível verificar que a concentração de aproximadamente 450×10^4 células/mL do meio de cultura, reduziu consideravelmente, chegando ao máximo de $0,5 \times 10^4$ células/ mL após a passagem pela membrana.

Figura 27. Imagens das concentrações de algas das amostras do fotobiorreator (A) e do permeado (B) em microscópio óptico com magnitude de 20x

Figura 28. Gráfico de concentração de algas no permeado

4.1.1.3. Análise do desempenho das Membranas

Pela análise do gráfico da Figura 22, é possível observar que as membranas do tipo Versapor nas porosidades de 0,8, 1,2 e 3,0 μm ilustradas nas Figuras 29, 35 e 42, respectivamente resultaram em redução significativa do permeado ao longo do período do experimento. Isso se deve à composição da membrana, um copolímero acrílico que apresenta alto grau de polarização, permitindo maior interação entre as microalgas e a membrana, como pode ser observado nas imagens de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) nas Figuras 30, 36 e 43 respectivamente, nos quais os poros das membranas estão internamente bloqueados.

A morfologia da membrana associada à sua interação com as células das microalgas interfere de maneira significativa para seu desempenho. De acordo com SCHEPER (2006), as estruturas assimétricas das membranas, proporcionam maior permeabilidade devido à resistência do fluxo, promovendo uma filtração mais eficiente, como pode ser observado no gráfico de concentração de microalgas na Figura 28, nas quais as membranas do tipo Versapor apresentam maior capacidade de retenção das microalgas.

As membranas dos tipos Supor nas porosidades de 1,2 e 5,0 μm , representadas nas Figuras 39 e 48, apresentam baixo desempenho no processo de microfiltração, com um fluxo de permeado reduzindo consideravelmente ao longo do tempo do experimento (Figura 22). Neste caso, a composição polietersulfona da membrana dificulta a passagem das células através dos poros, promovendo a formação de uma camada de polarização de microalgas na superfície da membrana, já que sua morfologia apresenta sobreposição de camadas de membranas, promovendo um rápido bloqueio dos poros (Figuras 40 e 49).

Por outro lado, as membranas de melhor desempenho são capazes de manter o fluxo de permeado por mais tempo, além de promover o bloqueio das células ao longo do processo de microfiltração. Tais características foram encontradas na membrana do tipo Supor de tamanho nominal de poro de 0,8 μm (Figura 32) e na membrana do tipo Versapor no tamanho nominal de poro de 5,0 μm (Figura 44).

De acordo com a análise do gráfico da Figura 22, a membrana Supor apresenta o melhor desempenho, pois seu fluxo de permeado não varia consideravelmente em relação ao tempo. Após metade do período do experimento, a membrana ainda apresenta um desempenho de 92% da capacidade do seu fluxo inicial. Vale ressaltar que após o final do experimento, a membrana ainda possui 52% da capacidade do desempenho em relação ao início do fluxo, com o término do desempenho após 6 horas do início do experimento. Seu excelente desempenho é comprovado pelo bloqueio das células observado no gráfico de densidade óptica (Figura 26) no qual o permeado analisado apresenta apenas 0,004 de absorbância na membrana Supor de 0,8 μm e aproximadamente 0.009 de absorbância na membrana Versapor de 5,0 μm , sendo valores baixos, comparados com o meio de cultura que apresenta 0,15 de absorbância. Pelo gráfico de concentração de células (Figura 28), verifica-se também a retenção das microalgas pelas membranas, no qual a membrana Supor de porosidade 0,8 μm e a membrana Versapor na porosidade de 5,0 μm apresentam uma concentração de $5,0 \times 10^4$ células/mL, enquanto que o meio de cultura apresenta uma concentração de 450×10^4 células/mL.

Pela imagem da Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da membrana observada na Figura 32 verifica-se que a diferente morfologia da membrana Supor de 0,8 μm em relação às demais, fator determinante no seu desempenho, pois pela imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV) da Figura 33 é possível observar que polarização na membrana é mais superficial. Isso se deve à composição de polietersulfona na membrana,

capaz de reduzir a interação entre a superfície da membrana com as células das microalgas, porém a estrutura assimétrica da membrana impede o bloqueio dos poros.

A membrana do tipo Versapor na porosidade de 5,0 μm (Figura 44) apresenta o segundo melhor desempenho, pois seu fluxo se mantém em 92% da sua capacidade inicial na metade do período do experimento e ainda se mantém a 36% da sua capacidade no final do experimento. Apesar de apresentar fatores anteriormente citados que dificultam o desempenho da membrana, como sua morfologia, composição que promove maior afinidade entre microalga com a membrana, permitindo a formação de uma extensa camada de polarização (Figura 45), a maior porosidade facilitou a entrada das microalgas nos poros, sem comprometer o fluxo de permeado. Pela imagem de Microscopia Eletrônica de Varredura da camada de polarização da membrana, é possível verificar que as células estão impregnadas no interior da membrana, sendo possível comprovar a eficiência do seu desempenho, comprovados pela análise de densidade espectrofotométrica observada no gráfico da Figura 26 e pela análise do gráfico de concentração de células observado na Figura 28.

Membrana Versapor na porosidade de 0,8 μm

Figura 29. Imagem da camada de polarização sobre a membrana

Figura 30. MEV da mesma membrana antes do processo de microfiltração

Figura 31. MEV da membrana com a camada de polarização

Membrana Supor na porosidade de 0,8 μm

Figura 32. Imagem da camada de polarização sobre a membrana

Figura 33. MEV da Membrana antes do processo de microfiltração

Figura 34. MEV da Membrana com a camada de polarização

Membrana Versapor na porosidade de 1.2 μm

Figura 35. Imagem da camada de polarização sobre a membrana

Figura 36. MEV da Membrana antes do processo de microfiltração

Figura 37. MEV da Membrana com a camada de polarização

Membrana Supor na porosidade de 1.2 μm

Figura 38. Imagem da camada de polarização sobre a membrana

Figura 39. MEV da Membrana antes do processo de microfiltração

Figura 40. MEV da Membrana com a camada de polarização

Membrana Versapor na porosidade de 3,0 μm

Figura 41. Imagem da camada de polarização sobre a membrana

Figura 42. MEV da Membrana antes do processo de microfiltração

Figura 43. MEV da Membrana com a camada de polarização

Membrana Versapor na porosidade de 5,0 μm

Figura 44. Imagem da camada de polarização sobre a membrana

Figura 45. MEV da Membrana antes do processo de microfiltração

Figura 46. MEV da Membrana com a camada de polarização

Membrana Supor na porosidade de 5,0 μm

Figura 47. Imagem da camada de polarização sobre a membrana

Figura 48. MEV da Membrana antes do processo de microfiltração

Figura 49. MEV da Membrana com a camada de polarização

4.2.CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DAS MICROALGAS E DAS MEMBRANAS

Para investigar a composição quantitativa e qualitativa das microalgas e suas interações físico-químicas que ocorrem com as membranas, são apresentados a seguir os resultados da análise elementar da biomassa algal e a análise Energia Dispersiva de Raio-X (EDX) da camada de polarização de microalgas na membrana e das cinzas provenientes das análises térmicas das amostras. Os resultados da investigação dos componentes das microalgas cultivadas no fotobiorreator são apresentados pelas análises térmicas do tipo TG (Análise Termogravimétrica) e DTA (Análise Térmica Diferencial).

4.2.1. Análise Elementar, Análises Térmicas (DTA e TG) e EDX

A análise elementar representa a proporção dos elementos que compõem a molécula da microalga *Chlorella sorokiniana*. Pela pirólise da amostra, é possível identificar a composição percentual da amostra descrita na Tabela 4.

Tabela 4. Representação da análise elementar da microalga *Chlorella sorokiniana*.

Chorella sorokiniana	Massa (g)	N%	C%	H%	S%	O%
	2,06	6,92	41,35	6,37	2,69	40,61

O predomínio de Carbono (41,35%) deve-se à presença deste elemento em todas as classes de moléculas orgânicas produzidas pelas algas: carboidratos, lipídios e proteínas. Isso ocorre porque para que haja altas taxas de produção fotossintética há o suprimento de CO₂ e

HCO_3^- . De acordo com RICHMOND (2004), ao contrário das plantas terrestres, o CO_2 atmosférico não é suficiente para suprir as necessidades de Carbono no sistema de cultura de microalgas. Para isso, o bicarbonato utilizado no meio de cultura em fluxo contínuo, fornece CO_2 para a fotossíntese, tendo suas reações representadas a seguir:

Depois do Carbono, o Nitrogênio é o nutriente mais importante para produção de biomassa. Seu conteúdo pode variar de 1% a 10% e sua limitação provoca diminuição da clorofila, consequentemente a descoloração das células e o acúmulo de compostos de carbono orgânico, como polissacarídeos e lipídios. O Nitrogênio é principalmente fornecido como Nitrato (NO_3^-), mas muitas vezes a forma de Amônio (NH_4^+) também pode ser utilizada.

Além do Carbono e Nitrogênio, vários outros elementos são de grande importância para a nutrição das microalgas, como Fósforo (P), Enxofre (S), Potássio (K), Ferro (Fe), Magnésio (Mg), Cálcio (Ca). Estes elementos são muito importantes nas reações enzimáticas e na biossíntese de seus componentes.

Para verificar seus componentes, o uso do EDX (Energia Dispersiva de Raio-X ou EDS) é um recurso detector do MEV (microscopia eletrônica) que mede a energia associada ao elétron devido à emissão de energia em comprimento no espectro de Raios-X. Como o elétron de um átomo específico possui uma energia característica, torna-se possível determinar elementos químicos presentes na amostra; assim o EDX permite uma imediata identificação de composição da amostra.

A Figura 50 apresenta um típico resultado da análise EDX. Os resultados são decorrentes de uma amostra da alga *Chlorella sorokiniana* das quais as maiores concentrações percentuais dos elementos químicos encontrados são respectivamente: C – Carbono, 48,52%; O – Oxigênio, 39,03%; Ca – Cálcio, 4,68% e P – Fósforo, 4,18.

Figura 50: Resultados de análise EDX da alga *Chlorella sorokiniana*.

Análise térmica:

Dentre as técnicas de análise térmica, as que utilizadas neste trabalho são: DTA (análise térmica diferencial) e a TGA (análise térmica diferencial). Em ambas as técnicas, a amostra é submetida a um aquecimento e, por meio de uma interface, as curvas DTA e TG são registradas. A curva DTA é a resultante de eventos endotérmicos e/ou exotérmicos que as amostras apresentam durante o processo de aquecimento enquanto que a curva TG refere-se à

perda de massa e, portanto possibilitando a quantificação de cada um dos eventos que a amostra apresenta (WENDLAND, 1986).

Em alguns casos, somente por meio da curva TG torna-se difícil visualizar claramente os eventos de perda de massa, assim, a curva DTG (Derivada da curva termogravimétrica), por apresentar o início, pico e final de cada evento é utilizada para apresentar mais detalhadamente as etapas da degradação térmica da amostra. Contudo, as técnicas TG e DTA são complementares e, portanto, quando apresentadas conjuntamente fornecem informações mais detalhadas sobre o comportamento térmico da amostra em questão (WENDLAND et. al, 1986).

A Figura 51 apresenta o gráfico do potencial elétrico (μV) em função da temperatura (característico do DTA) de uma amostra de alga *Chlorella sorokiniana*. Observa-se que o primeiro pico endotérmico (largo) em 100°C (largo) representa uma mudança física proveniente do mecanismo inicial de desidratação da amostra. Já nos demais picos exotérmicos, respectivamente nos valores de 360°C (largo) e 550°C (agudo) e 800°C (largo), evidencia uma mudança química de natureza oxidativa decorrente da combustão da amostra.

Figura 51. Gráfico característico da análise DTA da amostra de *Chlorella sorokiniana*

Por meio das curvas TG e DTG apresentadas na Figura 52, observam-se as diferentes etapas de perda de massa. Neste trabalho, as fases são denominadas F1, F2, F3 e F4, cada uma corresponde a um evento de degradação térmica e ocorre em diferentes faixas de temperatura.

Figura 52. Curvas TG e DTG da *Clorella sorokiniana* nas condições de Massa da amostra: 9,8 mg, razão de aquecimento: $20^{\circ}\text{C min}^{-1}$, gás de arraste: ar sintético (100 mL min^{-1}).

Com base nas curvas TG e DTG, a Tabela 5 apresenta as temperaturas de início, pico e final de cada fase e também seus respectivos valores de porcentagem de perda de massa. Nota-se na curva DTG que a terceira (F3) apresenta uma série de picos e, portanto, para esta fase não foi indicada temperatura de pico.

Tabela 5: Faixa de temperatura para cada evento de degradação térmica da alga *Chlorella sorokiniana*.

Etapa	Temperatura ^o C			Perda de massa (%)
	TG			
	Início	Pico	Final	
F1	18	84	141	6,6
F2	141	308	414	41,9
F3	414		510	16,0
F4	510	550	717	24,3

Comparando-se as Figuras 51 e 52 nota-se que cada uma das fases apresentadas nas curvas TG\DTG corresponde a um evento apresentado na curva DTA, ou seja, com exceção da F1, as demais fases referem-se a eventos predominantemente exotérmicos. Ressalta-se que, para cada fase, os picos apresentados na curva DTA estão discretamente deslocados em relação aos picos correspondentes da curva DTG, mas a faixa de temperatura do evento da decomposição é a mesma. Para as fases F1, F2, F3 e F4 as temperaturas de pico nas curvas DTA são: 103°C; 322°C, 357°C e 557°C, respectivamente.

Esta discreta diferença ocorre devido ao fato de que as análises não foram feitas simultaneamente e sim feitas em equipamentos diferentes. Contudo, mesmo com esta diferença, os eventos são os mesmos, pois as condições de análise, tais como a massa de amostra, a atmosfera dentro dos fornos e a razão de aquecimento, foram as mesmas.

Pela análise Termogravimétrica (TG) (Figura 52) nota-se também que após 717°C, ou seja, após a última fase de decomposição térmica, há um resíduo da amostra de 11%. Este fato merece destaque, uma vez que se trata de amostra biológica e esperava-se um percentual

menor de resíduo como em trabalhos realizados por WEIMIN (2001) com as microalgas *Spirulina plantensis*, produzindo um resíduo de 4,34% de cinzas, além da *Chlorella protothecoides*, produzindo um resíduo de 7,38% de cinzas a 800°C em cultura de batelada. Porém, para o caso do presente trabalho, as amostras foram cultivadas em fotobiorreatores fechados com fluxo contínuo de nutrientes contendo altos teores de sais, que por sua vez, ficam aderidos às paredes das algas, resultando, portanto neste alto índice de cinzas presentes nas células.

Segundo PHUKAN et al. (2011), em experimentos TGA de microalgas, a região de temperatura entre 130°C e 390°C, refere-se à zona de pirólise ativa, enquanto que acima de 400°C, à zona de pirólise passiva, ou seja, a perda de massa nesta região é devida à reação de combustão com o material produzido após a pirólise. Os autores afirmam que a etapa de decomposição entre 130°C e 390°C corresponde à decomposição de proteínas e estes são os maiores constituintes das algas.

Resultados semelhantes foram descritos por TANG et al.(2010). Os autores avaliaram microalga por TGA e observaram que a maior porcentagem de perda de massa ocorre até 550°C. Por meio das curvas DTG observaram uma sequência de picos e os autores atribuíram este fenômeno à degradação de proteína, carboidrato e lipídios. Após esta temperatura ocorre, portanto a combustão do resíduo da degradação destes componentes.

CHEN et al. (2011) também estudaram microalgas por termogravimetria em atmosferas contendo diferentes teores de oxigênio. Os autores observaram três regiões de perda de massa, e destacaram a segunda (entre 179°C e 657,3°C) como sendo a região principal por ser a que apresenta maior perda de massa, correspondendo, portanto aos processos de de-volatilização e combustão.

Em relação aos resultados apresentados neste trabalho, observando-se a Tabela 5, pode-se notar que as etapas entre as temperaturas de 141°C e 510°C juntas correspondem a

mais de 57,9% de perda de massa, portanto, em concordância com outros trabalhos apresentados na literatura e podendo-se então caracterizar as microalgas termicamente.

A Figura 53 apresenta-se um típico resultado da análise EDX. Os resultados são decorrentes de uma amostra das cinzas provenientes das análises térmicas da alga *Chlorella sorokiniana* e as maiores concentrações percentuais dos elementos químicos encontrados são respectivamente: O – Oxigênio, 38,76%; Fe – Ferro, 22,21%; Ca – Calcio, 8,12% e P – Fósforo.

Figura 53. Resultados de análise EDX das cinzas provenientes das análises térmicas da alga *Chlorella sorokiniana*

Estes resultados estão parcialmente concordantes com outros encontrados por CHEN et al.(2011). Os autores analisaram os metais e outros componentes inorgânicos em microalgas por ICPES (Induced coupled plasma emission spectrometer – espectrômetro de emissão por plasma acoplado induzido) e notaram que enxofre, potássio, cloro, magnésio e cálcio são os elementos que estão em maiores quantidades nestas microalgas, enquanto que os elementos sódio, ferro, zinco e selênio estão presentes em quantidades traço. Assim, a presença destes metais é o que justifica o alto teor de cinzas (11%) das algas apresentados nas curvas TG acima de 700°C em processo térmico em atmosfera oxidante (AR).

5. Conclusões

A partir da investigação experimental nesta dissertação de mestrado é possível concluir que:

- i) A membrana de melhor desempenho no processo de microfiltração foi a Supor no tamanho nominal de poro de 0,8 μm , pois promoveu o bloqueio das células dentro do fotobiorreator sem variar o fluxo de permeado. Devido às suas características morfológicas assimétricas e sua composição predominante de polietersulfona, a membrana reduz a interação entre sua base polimérica e as microalgas;
- ii) A segunda membrana de melhor desempenho para bloqueio das microalgas foi a Versapor no tamanho nominal de poro de 5,0 μm . Apesar de apresentar uma composição de copolímero (acrílico com fibras de nylon) com alto grau de polarização, permitindo maior interação com as microalgas, o valor elevado de seu tamanho de poro, promoveu melhor desempenho da membrana já que a camada de polarização não comprometeu o fluxo de permeado;
- iii) As condições controladas de cultura de microalgas promovidas pelo fotobiorreator associado ao uso de membranas de microfiltração para bloqueio das microalgas, proporcionou alta taxa de produção de biomassa algal em reduzido intervalo de

tempo experimental, com aumento de $1,8 \times 10^5$ cels/mL para $7,0 \times 10^8$ cels/mL. O fotobioreator acoplado com membrana também pode impedir a contaminação por outras espécies de microalgas com possibilidade de produção em escalas maiores.

- iv) A biomassa produzida pelas microalgas possui potencial bioenergético pela vantagem de rápido crescimento e seu grande teor de componentes com capacidades pirolíticas, comprovado na análise térmica. Por outro lado, observar também um alto teor de cinza nas microalgas cultivadas em fotobiorreator, o que deve ser mais bem avaliado quando se propõe o material como fonte energética.
- v) A técnica de microscopia (MEV) acoplada ao EDX foi satisfatória para comprovar o fenômeno de polarização e ilustrar a complexidade das interações físico-químicas entre membrana/microalga.

6. Trabalhos Futuros

Como trabalhos futuros são sugeridos:

- i) Estudar o processo deste trabalho em escala piloto;
- ii) Investigar interações químicas microalga/membrana visando melhorar seu desempenho;
- iii) Utilizar de outros tipos de membranas;
- iv) Estudar o comportamento do processo com outras espécies de microalgas;
- v) Investigar o uso da microfiltração na separação dos componentes das microalgas.

7. Referências Bibliográficas

ANADÃO, P. (2010). **Ciência e tecnologia de membranas**. São Paulo. Arliber Editora.

CHANG, I. S. (2010). **Limitations of resistance-in-series model for fouling analysis in membrane bioreactors: A cautionary note**. Desalination and Water Treatment, v. 8 p. 31–36.

CHARCOSSET, C.(2006). **Membrane processes in biotechnology: An overview**. Biotechnology Advances, v. 24 , p. 482–492.

CHENG, L. (2005). **Carbon dioxide removal from air by microalgae cultured in a membrane-photobioreactor**. Separation and Purification Technology , v.50 p. 324–329 1 July 2005.

CHERYAN, M. (1998). **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook**. New York. Technomic Publishing.

CUARESMA, M.(2011). **Horizontal or vertical photobioreactors? How to improve microalgae photosynthetic efficiency**. Bioresource Technology, v. 102 , p. 5129–51.

ELDRIDGE, R. B. (2010). **Photobioreactor Design for Commercial Biofuel Production from Microalgae**. Process Science and Technology Center, v.7871, p. 3516–3526.

FIELD, R.W. (2011). **Critical, sustainable and threshold fluxes for membrane filtration with water industry applications**. Advances in Colloid and Interface Science, v. 164 p.38–44.

GRIMA, E. M.(2002). **Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics**.Biotechnology Advances ,v.20, p. 491–515.

HABERT, A.C. et.al. (2006). **Processos de separação com membranas**. Rio de Janeiro, 180p.

HANEDA, R.N. (2010). **Estudo do desempenho do processo de microfiltração tangencial com membranas cerâmicas aplicado à retenção de bactérias e redução de sólidos suspensos de uma bebida à base de açaí**. Tese (doutorado). Universidade de São Paulo.

KUMAR. K et.al. (2011). **Development of suitable photobioreactors for CO₂ sequestration addressin global warming using green algae and cyanobacteria**. Bioresource Technology v. 102, p. 4945–4953

L´OPEZ M.C. et. Al. (2005). **Comparative analysis of the outdoor culture of Haematococcus pluvialis in tubular and bubble column photobioreactors**.

LADNER, D. (2010). **Effects of shear on microfiltration and ultrafiltration fouling by marine bloom-forming algae.** Journal of Membrane Science, v. 356, p.33–43.

LIU, J.C. (2006). **Microfiltration for separation of green algae from water.** Colloids and Surfaces B: Biointerfaces, v. 51, p.157–164.

MADAENI, S.S.et. al. (2007). **Polyethersulfone (PES)/cellulose acetate phthalate (CAP) blend ultrafiltration membranes: Preparation, morphology, performance and antifouling properties.** Journal of Membrane Science, v 305 , p. 299–312.

MARK E. HUNTLEY, M. E. ;REDALJE, D.G.(2006).**CO₂ Mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal.** Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change, v.12, p.573–608.

MATSUURA, T. et.al. (2009). **The Art of Surface Modification of Synthetic Polymeric Membranes.** Wiley InterScience (www.interscience.wiley.com).

MENDES, L.C; MANO, E.B. (1999). **Introdução a Polímeros.** 2^a ed. Ver. E ampl. São Paulo, ed. Blucher.

OFFEMAN, R. D.; LUDVIK, C.N. (2011). **A novel method to fabricate high permeance high selectivity thin-film composite membranes.** Journal of Membrane Science v.380, p. 163– 170.

PHUKAN, M.M. et. al.(2011). **Microalgae Chlorella as a potential bio-energy feedstock.** Applied Energy, v. 88, p. 3307–3312 .

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

RICHMOND, A. (2004).**Handbook of Microalgal Culture Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology.** Edited by Blackwell Science Ltda Blackwell Publishing company.

RISHIRAM, R. et. Al. (2010).**Enhanced algal CO₂ sequestration through calcite deposition by Chlorella sp. And Spirulina platensis in a mini-raceway pond.** Bioresource Technology v. 101 p.2616–2622.

SÁNCHEZ, S.et.al. (2000). **Biomass production and biochemical variability of the marine microalgac *Isochrysis galbana* in relation to culture medium.** Biochemical Engineering Journal, v.1 6, p. 13–18

SATO, T. et.al. (2010). **Development of virtual photobioreactor for microalgae culture considering turbulent flow and flashing light effect.** Energy Conversion and Management. v. 51, p. 1196–1201

SCOPARO, C.H.G.(2010). **Remoção de CO₂ em fotobiorreatores utilizando efluentes petroquímicos.** Dissertação (Mestrado) Universidade Estadual De Campinas.

TAKIZAWA, S. (2010). **Microfiltration membrane fouling and cake behavior during algal filtration.** *Desalination*, v. 261 p. 46–51

TANG, Y.T. ; Lai, Z. (2010). **Thermogravimetric analysis of the combustion of microalgae and microalgae blended with waste in N₂/O₂ and CO₂/O₂ atmospheres.** *Bioresource Technology*.

TREVISOLI, A.M. (2010). **Estudo experimental da microfiltração tangencial com membrana cerâmica aplicada na clarificação da vinhaça.** Dissertação (Mestrado). Universidade de Sao Paulo.

UGWU, C.U.et.al.(2008). **Photobioreactors for mass cultivation of algae.** *Bioresource Technology*, v. 99, p. 4021–4028.

ULBRICHT, M. (2006). **Performance of surface modified polyethersulfone membranes for ultrafiltration of aquatic humic substances.** *Desalination*, v. 199, p.384–386

VOGEL. **Análise Química Quantitativa.** Sexta Edição. Universidade de Greenwich, Londres.

WICAKSANA, F. et.al.(2011). **Microfiltration of ALGAE (*Chlorella sorokiniana*): critical flux, fouling and transmission.** *Journal of Membrane Science*.

WU, W.P.Q.; ZHAO, P.T.N. (2001). **Pyrolytic characteristics of microalgae as renewable energy source determined by thermogravimetric analysis.** Bioresource Technology, v. 80, p. 1-7.

ZHANG, X. et.al. (2010). **Harvesting algal biomass for biofuels using ultrafiltration membranes.** Bioresource Technology, v. 101, p. 5297–5304.

ZHONG. W., et.al.(2011). **Aerobic degradation of methyl tert-butyl ether in a closed symbiotic system containing a mixed culture of Chlorella ellipsoidea and Methylobium petroleiphilum.** Journal of Hazardous Materials, v.185, p.1249–1255

ZYDNEY, A.L.; ZEMAN, L.J. (1996). **Microfiltration and Ultrafiltration: principles and applications.** New York. Library of Congress Cataloging in Publication Data.