



Universidade Federal do Rio de Janeiro  
Escola Politécnica & Escola de Química  
Programa de Engenharia Ambiental

Laura Benevides dos Santos

DENSIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE  
*SYNECHOCOCCUS SUBSALSUS* POR  
COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM QUITOSANA E  
CLORETO FÉRRICO

Rio de Janeiro  
2023



UFRJ

Laura Benevides dos Santos

DENSIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE  
*SYNECHOCOCCUS SUBSALSUS* POR  
COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM  
QUITOSANA E CLORETO FÉRRICO

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica & Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Orientador(es): Isabelli Dias Bassin  
Magali Christe Cammarota

Rio de Janeiro  
2023

S237d Santos, Laura Benevides dos  
Densificação da biomassa de *Synechococcus subsalsus* por coagulação/floculação com quitosana e cloreto férrico / Laura Benevides dos Santos. -- Rio de Janeiro, 2023.  
100 f.

Orientadora: Magali Christe Cammarota.  
Coorientadora: Isabelli Dias Bassin.  
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola Politécnica, Escola de Química, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, 2023.

1. quitosana. 2. coagulação/floculação. 3. *Synechococcus subsalsus*. 4. cianobactéria. I. Cammarota, Magali Christe, orient. II. Bassin, Isabelli Dias, coorient. III. Título.



UFRJ

DENSIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE *SYNECHOCOCCUS SUBSALSUS* POR  
COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO COM QUITOSANA E CLORETO FÉRRICO

Laura Benevides dos Santos

Orientador (es): Isabeli Dias Bassin  
Magali Christe Cammarota

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica & Escola de Química, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Engenharia Ambiental.

Aprovada pela Banca:

Presidente, Prof. Magali Christe Cammarota, D.SC., UFRJ

Prof. Ronei de Almeida, D.SC., UFRJ

Lidia Yokoyama  
Professora Titular - DPMEQUFRJ  
SIAPE: 1125205

Prof. Lidia Yokoyama, D.SC., PUC-Rio

Prof. Elen Beatriz Acordi Vasques Pacheco, D.SC., UFRJ



Documento assinado digitalmente  
ELEN BEATRIZ ACORDI VASQUES PACHECO  
Data: 04/11/2023 15:52:09-0300  
Verifique em <https://validar.it.gov.br>

Rio de Janeiro

2023

## **AGRADECIMENTOS**

Agradeço, primeiramente, a Deus por me conceder a vida e forças para trilhar o meu caminho.

A conclusão deste trabalho foi possível graças a ajuda de muitas pessoas, que me dedicaram palavras de apoio, seu tempo, sua atenção e cuidado. A todas essas pessoas, o meu profundo carinho.

Em especial, agradeço aos meus pais e ao meu irmão pelo apoio incondicional e pelo acolhimento.

Agradeço aos meus amigos, pelas risadas e momentos de descontração durante os nossos cafezinhos, e por sempre confiarem em mim.

As minhas orientadoras, agradeço a paciência e por não desistirem de mim. Aos colegas do Laboratório de Tecnologia Ambiental, agradeço por todo o suporte. Agradeço também aos colegas do laboratório E-113, que foram fundamentais no período da pandemia.

## RESUMO

SANTOS, Laura Benevides dos. **Densificação da biomassa de *Synechococcus subsalsus* por coagulação/floculação com quitosana e cloreto férrico.** Rio de Janeiro, 2023. Dissertação (Mestrado) – Programa de Engenharia Ambiental, Escola Politécnica e Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Ao longo dos anos, a exploração de combustíveis fósseis e suas consequências na sustentabilidade do planeta pautam, com recorrência, as discussões globais sobre as mudanças climáticas e seus impactos na qualidade de vida humana, e aos demais ecossistemas. Neste cenário, a adoção de fontes de energia mais limpas se torna crucial. A utilização de biomassa de microalgas e cianobactérias para a produção de biocombustíveis se apresenta como uma oportunidade interessante na conjuntura atual. Entretanto, a biomassa destes microrganismos apresenta concentrações diluídas, que variam entre 0,5 e 2,7 g/L, quando cultivadas em fotobiorreatores e lagoas de alta taxa. Para que a utilização desta biomassa seja viável, é fundamental que metodologias de cultivo e concentração de células sejam desenvolvidas. Neste estudo, a cianobactéria *Synechococcus subsalsus* foi cultivada e concentrada com a adição dos coagulantes cloreto férrico e quitosana de baixa massa molecular (50 – 190 kDa). Ao final dos ensaios, os resultados mostraram que o cloreto férrico, em concentração de 400 mg/L e pH igual a 6,0 foi capaz de concentrar a biomassa de *S. subsalsus* em cinco vezes, com eficiência de remoção de demanda química de oxigênio (DQO) de 86,6%; comparativamente, a quitosana, na proporção de 0,3 (g quitosana/g sólidos suspensos totais) e pH igual a 7,0 proporcionou uma biomassa 31,9 vezes mais concentrada, com eficiência de redução de densidade óptica (DO) de 94,5%. O sobrenadante proveniente dos ensaios com cloreto férrico foi utilizado, nas frações de 20% (v/v), 40% (v/v), 60% (v/v) e 80% (v/v), em novos cultivos da cianobactéria. Após os primeiros 15 dias de cultivo, foi constatado que a utilização de até 80% (v/v) de sobrenadante na composição do meio de cultivo não alterou negativamente o perfil de crescimento da biomassa. O estudo apontou que ambos os coagulantes são capazes de concentrar a biomassa de *S. subsalsus* com eficiências de remoção de DQO e redução de DO superiores a 85%. Os pHs obtidos nas condições ideais (6 - 7) são adequados à etapa posterior, de digestão anaeróbia para produção de biogás.

Palavras-chave: cianobactéria, *Synechococcus subsalsus*, coagulação/floculação, quitosana.

## ABSTRACT

SANTOS, Laura Benevides dos. ***Synechococcus subsalsus* biomass densification by coagulation/flocculation with chitosan and ferric chloride.** Rio de Janeiro, 2023. Dissertation (Master's degree) – Environmental Engineering Program, Polytechnic School and School of Chemistry, Federal University of Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2023.

Over the years, the exploitation of fossil fuels and its consequences on the sustainability of the planet have recurrently guided global discussions on climate change and its impacts on the quality of human life, and on other ecosystems. In this scenario, the adoption of cleaner energy sources becomes crucial. The use of microalgae and cyanobacteria biomass for biofuels production presents itself as an interesting opportunity in the current situation. However, the biomass of these microorganisms presents diluted concentrations, which vary between 0.5 and 2.7 g/L, when cultivated in photobioreactors and high rate algal ponds. For the use of this biomass to be viable, it is essential that a methodology for cultivation and concentration of optimized cells be developed. In this study, the cyanobacteria *Synechococcus subsalsus* was cultivated and concentrated with the addition of coagulants ferric chloride and low molecular weight chitosan. At the end of the tests, the results showed that ferric chloride, at a concentration of 400 mg/L and pH equal to 6.0, was able to concentrate the biomass of *S. subsalsus* five times, with an with chemical oxygen demand (COD) removal efficiency of 86.6%; comparatively, chitosan, in the proportion of 0.300 (g chitosan/g total suspended solids) and pH equal to 7.0 provided biomass 31.9 times more concentrated, with an optical density (OD) reduction efficiency of 94.5%. The supernatant from the tests with ferric chloride was used, in the fractions of 20% (v/v), 40% (v/v), 60% (v/v) and 80% (v/v), in new cultures of cyanobacteria. After the first 15 days of cultivation, it was verified that the use of up to 80% (v/v) of supernatant in the composition of the culture medium does not negatively alter the biomass growth profile. The study showed that both coagulants can concentrate the biomass of *S. subsalsus* with efficiencies of COD removal and DO reduction of over 85%. The pHs obtained under ideal conditions (6 - 7) are suitable for the subsequent step, of anaerobic digestion for biogas production.

Key-words: cyanobacteria, *Synechococcus subsalsus*, coagulation/flocculation, chitosan.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1: Imagens de microscópio de microalgas e cianobactérias: <i>Synechococcus</i> sp. PCC7942 (A), <i>Choricystis minor</i> (B), <i>Neochloris</i> sp. (C) e <i>Cylindrotheca fusiformis</i> (D). Fonte: YOKOO <i>et al.</i> , 2015; CHATSUNGNOEN e CHISTI, 2016. ....	17
Figura 2: Lagoa de alta taxa em Ingrepo, Países Baixos (A); Fotobiorreatores em Proviron, Bélgica (B). Fonte: VANDAMME <i>et al.</i> , 2013.....	20
Figura 3: Estrutura molecular da quitina e da quitosana. Fonte: CHEN <i>et al.</i> , 2014.....	32
Figura 4: Etapas de cultivo, crescimento e densificação de <i>S. subsalsus</i> .....	52
Figura 5: Curva de crescimento de <i>Synechococcus subsalsus</i> resultante da média de 4 frascos erlenmeyers de um grupo de cultivo, obtida em um período de 35 dias. ....	62
Figura 6: Aspecto visual do cultivo de <i>S. subsalsus</i> em <i>shaker</i> rotatório a 150 rpm e $26 \pm 2$ °C no início (A), aos 14 dias (B) e aos 35 dias (C) do cultivo. ....	63
Figura 7: Eficiência média de remoção de DQO das suspensões de <i>S. subsalsus</i> em <i>Jar Tests</i> conduzidos com 400 mg FeCl <sub>3</sub> /L e diferentes valores de pH inicial.....	64
Figura 8: Eficiência média de remoção de DQO das suspensões de <i>S. subsalsus</i> em <i>Jar Tests</i> conduzidos com pH 6 e diferentes concentrações de FeCl <sub>3</sub> . ....	65
Figura 9: Aspecto visual dos béqueres ao final da etapa de sedimentação da biomassa no <i>Jar Test</i> conduzido com pH 6 e diferentes concentrações de FeCl <sub>3</sub> (A = 80 mg/L; B = 160 mg/L; C = 240 mg/L; D = 320 mg/L; E = 400 mg/L; F = 480 mg/L). ....	67
Figura 10: Aspecto visual do béquer no início (A) e ao final da etapa de sedimentação (B) da biomassa no <i>Jar Test</i> conduzido com pH 6 e 400 mg FeCl <sub>3</sub> /L. ....	67
Figura 11: Fator de Concentração para a condição ótima de pH e concentração de FeCl <sub>3</sub> .....	68
Figura 12: Eficiência média de redução de DO (densidade óptica) das suspensões de <i>S. subsalsus</i> em <i>Jar Tests</i> conduzidos com 100 mg quitosana/L e diferentes valores de pH inicial. ....	70
Figura 13: Eficiência média de redução de DO das suspensões de <i>S. subsalsus</i> em <i>Jar Tests</i> conduzidos com pH 7 e diferentes concentrações de quitosana.....	71
Figura 14: Relação entre DO final e razão mássica entre quitosana de baixo peso molecular e sólidos suspensos totais (SST) adotada nos ensaios <i>Jar Test</i> a pH 7. No retângulo em vermelho estão destacados os ensaios com os melhores resultados de concentração da biomassa. ....	72
Figura 15: Eficiência média de redução de DO de diferentes cultivos de <i>S. subsalsus</i> em <i>Jar Tests</i> conduzidos com pH 7 e 0,3 g quitosana/ g SST.....	73



Figura 16: Aspecto visual do béquer no início (A) e ao final da etapa de sedimentação da biomassa no <i>Jar Test</i> conduzido com pH 7 e 0,3 g de quitosana de baixo peso molecular/ g SST (B – vista lateral e C – vista superior). .....	74
Figura 17: Fator de Concentração para a condição ideal de pH e concentração de quitosana de baixo peso molecular. ....	75
Figura 18: Crescimento de <i>S. subsalsus</i> nos grupos de cultivo com diferentes proporções de sobrenadante: meio BG-11 (% v/v) durante 15 dias.....	78
Figura 19: Curva de correlação entre Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg/L).....	100
Figura 20: Curva de correlação entre Densidade Óptica (DO) e Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg/L).....	100

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Produtividade de biomassa em fotobiorreatores e lagoas de alta taxa para diferentes espécies de cianobactérias e microalgas. ....	21
Tabela 2 - Eficiência de coleta de biomassa algal com sedimentação gravitacional como método de densificação. ....	24
Tabela 3 - Eficiência de coleta de biomassa algal com flotação como método de densificação. ....	26
Tabela 4 - Eficiência de coleta de biomassa algal com filtração como método de densificação. ....	28
Tabela 5 - Eficiência de coleta de biomassa algal com Centrifugação como método de densificação. ....	30
Tabela 6 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a coagulação/floculação química como método de densificação. ....	34
Tabela 7 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a autofloculação como método de densificação. ....	37
Tabela 8 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a biofloculação como método de densificação. ....	39
Tabela 9 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a eletrocoagulação como método de densificação. ....	40
Tabela 10 - Principais características dos métodos de concentração de biomassa de microalgas e cianobactérias. ....	42
Tabela 11 - Reutilização do meio de cultivo proveniente de diferentes métodos de densificação de biomassa. ....	49
Tabela 12 - Composição do meio BG-11 para cultivo da cianobactéria <i>S. subsalsus</i> . ....	53
Tabela 13 - Composição da mistura de metais traço para o preparo do meio BG-11. ....	53
Tabela 14 - Eficiências de concentração de diferentes biomassas de microalga por coagulação/floculação em comparação com o presente trabalho. ....	76

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO</b> .....	12
<b>2. OBJETIVOS</b> .....	15
<b>3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....	16
3.1. MICROALGAS E CIANOBACTÉRIAS .....	16
3.2. SISTEMAS DE CULTIVO PARA CIANOBACTÉRIAS E MICROALGAS .....	19
3.3. MÉTODOS DE DENSIFICAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS E CIANOBACTÉRIAS .....	22
<b>3.3.1. Sedimentação por Gravidade</b> .....	23
<b>3.3.2. Flotação</b> .....	25
<b>3.3.3. Filtração</b> .....	27
<b>3.3.4. Centrifugação</b> .....	29
<b>3.3.5. Coagulação/Floculação química</b> .....	30
<b>3.3.6. Autofloculação</b> .....	36
<b>3.3.7. Biofloculação</b> .....	37
<b>3.3.8. Eletrocoagulação</b> .....	39
<b>3.3.9. Comparação entre os métodos de densificação de biomassa de microalgas e cianobactérias</b> .....	41
3.4. REUTILIZAÇÃO DO SOBRENADANTE APÓS A DENSIFICAÇÃO DE MICROALGAS E CIANOBACTÉRIAS .....	47
<b>4. MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	51
4.1. ETAPAS DE TRABALHO .....	51
4.2. CULTIVO E CRESCIMENTO DE <i>Synechococcus subsalsus</i> .....	52
4.3. ENSAIOS DE COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO DA SUSPENSÃO DE <i>Synechococcus subsalsus</i> .....	54
<b>4.3.1. Ensaios com cloreto férrico</b> .....	54
<b>4.3.2. Ensaios com quitosana de baixa massa molecular</b> .....	55
<b>4.3.3. Avaliação da densificação de <i>S. subsalsus</i> por coagulação/floculação</b> .....	56
4.3.3.1. Eficiência de remoção .....	56
4.3.3.2. Fator de concentração.....	57
4.4. ENSAIOS DE APROVEITAMENTO DO SOBRENADANTE COMO MEIO DE CULTIVO .....	58
4.5. MÉTODOS ANALÍTICOS .....	59
<b>4.5.1. pH</b> .....	59
<b>4.5.2. Demanda Química de Oxigênio (DQO)</b> .....	59
<b>4.5.3. Densidade óptica (DO)</b> .....	60
<b>4.5.4. Sólidos suspensos totais (SST)</b> .....	60
<b>5. RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	62

5.1.	CULTIVO E CRESCIMENTO DE <i>Synechococcus subsalsus</i> .....	62
5.2.	ENSAIOS DE COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO DA SUSPENSÃO DE <i>S. subsalsus</i> .....	64
<b>5.2.1.</b>	<b>Ensaio com Cloreto Férrico</b> .....	64
<b>5.2.2.</b>	<b>Ensaio com quitosana de baixa massa molecular</b> .....	69
5.3.	ENSAIOS DE APROVEITAMENTO DO SOBRENADANTE COMO MEIO DE CULTIVO .....	77
<b>6.</b>	<b>CONCLUSÕES</b> .....	80
<b>7.</b>	<b>SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS</b> .....	81
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	82
	<b>ANEXO</b> .....	100

## 1. INTRODUÇÃO

Nas últimas décadas, a utilização de combustíveis fósseis tem sido tema central nos debates sobre a condição climática do planeta. É fato que a atividade antrópica de exploração de combustíveis fósseis está diretamente associada ao aumento do efeito estufa terrestre, na medida em que um volume cada vez maior de CO<sub>2</sub> é inserido na atmosfera o que, conseqüentemente, eleva a temperatura da Terra. De acordo com o IEA (do inglês, *International Energy Agency*), em seu reporte *World Energy Outlook 2022*, após a pandemia de COVID-19, a demanda global por energia aumentou em 5,4%. Esta demanda foi suprida parcialmente pela utilização de carvão mineral, o que resultou em um aumento de 1,9 Gt na emissão de CO<sub>2</sub> para a atmosfera, representando o maior aumento anual de emissões atmosféricas já registrado para o setor de energia (IEA, 2023).

O IPCC (do inglês, *Intergovernmental Panel on Climate Change*) aponta que um aumento da temperatura terrestre superior a 1,5 °C provocará uma sucessão de estágios preocupantes nos próximos anos, como: o derretimento de geleiras, que culminará no aumento do nível dos mares; a alteração de correntes atmosféricas, aumento da temperatura do solo e modificação da vazão dos rios, que proporcionarão uma maior recorrência de fenômenos climáticos intensos, enchentes, desertificação, escassez na produção de alimentos, aumento no movimento migratório de populações humanas, surgimento de novas endemias e perda da biodiversidade (IPCC, 2022).

Desta forma, visando à redução dos impactos causados pelas emissões atmosféricas provenientes da utilização de combustíveis fósseis, iniciativas globais passam a ser fundamentais. Uma destas iniciativas está contida nos Objetivos de Desenvolvimento Sustentável (ODS) da Organização das Nações Unidas (ONU). O ODS 7 visa à garantia ao acesso de energia fiável, sustentável e moderna para todos os cidadãos até 2030 (ONU, 2015).

O atual cenário evidencia a necessidade de adoção de energias mais limpas, para que possamos manter a sustentabilidade do planeta. E neste contexto, os biocombustíveis se tornam uma alternativa interessante e necessária. Os biocombustíveis como os conhecemos hoje são divididos em quatro diferentes gerações. Os biocombustíveis de primeira geração são aqueles derivados de biomassa de alimentos, como óleos vegetais, açúcar e milho; os de segunda geração são formados a partir de biomassa proveniente de resíduos da agricultura e da exploração da indústria florestal; os biocombustíveis de terceira geração são obtidos a partir da

biomassa de microalgas e cianobactérias; e os de quarta geração são obtidos a partir da biomassa de microrganismos e espécies vegetais geneticamente modificados (SHARMA *et al.*, 2020).

A utilização de biomassa de microalgas e cianobactérias para a produção de biocombustíveis é uma possibilidade a ser explorada. Quando comparada aos biocombustíveis de primeira geração, é uma oportunidade mais vantajosa, pois não competem por espaço na produção de alimentos. Ademais, a depender da via de conversão, a biomassa destes microrganismos é capaz de produzir biogás e biodiesel. Entretanto, para que a biomassa de microalgas e cianobactérias seja utilizada na produção de biocombustíveis, é crucial que sistemas de cultivo e concentração otimizados dessa biomassa sejam desenvolvidos (LEE e LAVOIE, 2013; AZADI *et al.*, 2017).

Microalgas são microrganismos eucariotos versáteis que podem ser cultivados para a extração de pigmentos e para o tratamento de águas residuárias (MULDERS *et al.*, 2014; ALTUNOZ *et al.*, 2020). As cianobactérias são organismos procariotos que também podem ser cultivados para a extração de pigmentos, como a clorofila e carotenoides, além de serem utilizados no sequestro de CO<sub>2</sub> e biorremediação de áreas degradadas (KIM *et al.*, 2014). Diferentes espécies de cianobactérias do gênero *Synechococcus* foram avaliadas na produção de biocombustíveis, com resultados positivos (AIKAWA *et al.*, 2014; SRIMONGKOL *et al.*, 2019). Alguns estudos avaliaram o cultivo da cianobactéria *Synechococcus subsalsus* para a produção de biocombustível; entretanto, os resultados não foram favoráveis (SETTA *et al.*, 2014) e novas metodologias de cultivo e concentração de biomassa necessitam ser avaliadas para essa espécie.

As microalgas e cianobactérias são organismos de tamanho pequeno, com células menores que 30 µm, habitando suspensões negativamente carregadas, com baixa concentração de biomassa (em média, 0,5 g peso seco/L de cultivo) (MOLINA GRIMA *et al.*, 2003; BARROS *et al.*, 2015). Para que a biomassa destes microrganismos possa ser utilizada na produção de biocombustíveis, é fundamental a implementação de um método de concentração ou densificação que seja eficiente, de baixo custo operacional, não contaminante para a biomassa e não inibitório às etapas seguintes de conversão (GUTIÉRREZ *et al.*, 2015).

Os métodos mais utilizados na densificação de microalgas e cianobactérias são: sedimentação gravitacional, filtração, flotação, centrifugação, coagulação/floculação química, biofloculação, autofloculação e eletrocoagulação (OGBONNA e NWOBA, 2021). A sedimentação gravitacional é um método que não necessita da adição de componentes

químicos, porém é um processo lento de densificação, sendo possível apenas para poucas espécies, que apresentam comportamento de precipitação espontânea (CHEN *et al.*, 2020). A filtração e a centrifugação são métodos eficientes, entretanto, também apresentam altos custos operacionais, sendo viáveis apenas na produção de produtos com alto valor agregado (AHMAD *et al.*, 2014). A biomassa de microalgas e cianobactérias pode ser rapidamente concentrada através da eletrocoagulação. Contudo, altas eficiências são obtidas através da utilização de eletrodos de alumínio e ferro, o que pode culminar na contaminação da biomassa (FIGUEIREDO *et al.*, 2022).

A coagulação/floculação é um método simples e rápido, que não necessita da utilização de equipamentos caros, e pode ser aplicada em grandes volumes de suspensões de microalgas e cianobactérias. É um método de densificação abrangente, podendo ser utilizado em espécies marinhas e de água doce, atingindo eficiências de concentração de biomassa superiores a 90% com coagulantes orgânicos e inorgânicos (CHATSUNGNOEN e CHISTI, 2016; LOGANATHAN *et al.*, 2018). Entre os principais coagulantes inorgânicos estão o cloreto férrico, o sulfato de alumínio e o sulfato de ferro (III) (PÉREZ *et al.*, 2016). Entre os coagulantes orgânicos, destacam-se a quitosana, os taninos vegetais e a espécie de planta *Moringa oleífera* (FUAD *et al.*, 2018; BEHERA e BALASUBRAMANIAN, 2019; CHUA *et al.*, 2019). A utilização de quitosana, um coagulante orgânico não-tóxico, não-corrosivo e biodegradável, pode proporcionar a concentração de biomassa de microalgas com eficiência superior a 95%, garantindo que a biomassa não seja contaminada e que as células permaneçam íntegras ao final do processo (CORRÊA *et al.*, 2019).

O presente estudo explorou o cultivo e produção de biomassa da cianobactéria *Synechococcus subsalsus*. A biomassa de *S. subsalsus* foi densificada através do método de coagulação/floculação, com a adição dos coagulantes cloreto férrico e quitosana de baixa massa molecular, para a identificação da condição ideal de concentração de coagulante e pH. Posteriormente, o sobrenadante dos experimentos com cloreto férrico foi reutilizado, em diferentes frações, em novos cultivos de *S. subsalsus*, para avaliação do perfil de crescimento da cianobactéria.

## 2. OBJETIVOS

### 2.1. OBJETIVO GERAL

Este estudo teve como objetivo avaliar a densificação da cianobactéria *Synechococcus subsalsus* através do método de coagulação/floculação com cloreto férrico e quitosana de baixa massa molecular.

### 2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Como objetivos específicos foram estabelecidos:

- Obter suspensões da cianobactéria com concentração celular similar à obtida em lagoas de alta taxa e fotobiorreatores para os ensaios de densificação;
- Levantar a melhor condição de densificação das suspensões da cianobactéria por coagulação/floculação com quitosana, comparativamente ao coagulante tradicional cloreto férrico;
- Avaliar a possibilidade de reutilização do sobrenadante da etapa de coagulação/floculação em novos cultivos da cianobactéria.



### 3. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

#### 3.1. MICROALGAS E CIANOBACTÉRIAS

As algas são organismos eucariotos, unicelulares ou multicelulares, que podem ser encontrados em águas doces, marinhas e em alguns ambientes terrestres. São reconhecidas em 3 grandes filos: Chlorophyta (algas verdes), Rhodophyta (algas vermelhas) e Phaeophyta (algas marrons/pardas). A classificação por tamanho divide estes organismos em macroalgas e microalgas. As microalgas são, majoritariamente, organismos autotróficos unicelulares, que utilizam a clorofila  $\alpha$  para a realização da fotossíntese (KHAN *et al.*, 2018; DANESHVAR *et al.*, 2021).

As microalgas também são microrganismos versáteis, cultivados para a extração de pigmentos como betacaroteno, astaxantina, luteína, fucoxantina, entre outros (MULDERS *et al.*, 2014). Quando cultivadas em águas residuárias, microalgas utilizam nutrientes disponíveis neste meio para o crescimento de suas células, proporcionando o tratamento da água residuária aliado à produção de biomassa (ALTUNOZ *et al.*, 2020).

Cianobactérias ou algas verde-azuladas são organismos procariotos, fotossintetizantes e Gram-negativos, que utilizam a luz solar para obtenção de energia, principalmente através da clorofila  $\alpha$ . Alguns destes microrganismos são capazes de fixar nitrogênio. Podem ser de vida livre ou viver em simbiose com outros tipos de microrganismos e plantas inferiores, sendo comumente encontrados em mares, rios, lagos, lagoas e pântanos (VINCENT, 2009; SHARMA *et al.*, 2011).

A classificação taxonômica destes microrganismos os divide em 8 ordens, denominadas: Chroococcales, Pleurocapsales, Oscillatoriales, Nostocales, Stigonematales, Spirulinales e Synechococcales (FARROKH *et al.*, 2019). As cianobactérias se adaptam a diferentes temperaturas, pHs e níveis de umidade e têm se tornado mais importantes ao longo dos anos, pois são capazes de fornecer diversos tipos de produtos com valor agregado, como pigmentos naturais (clorofila e carotenoides), além de serem utilizadas no sequestro de CO<sub>2</sub> e na biorremediação de áreas contaminadas (KIM *et al.*, 2014). Por conter alta percentagem de carboidratos e lipídeos, sua biomassa é considerada promissora na produção de biocombustíveis de terceira e quarta geração, como o biogás e o biodiesel (CUELLAR-BERMUDEZ *et al.*, 2019; VELMURUGAN e INCHAROENSAKDI, 2022). Na Figura 1 pode-se observar alguns exemplos de espécies de microalgas e cianobactérias.

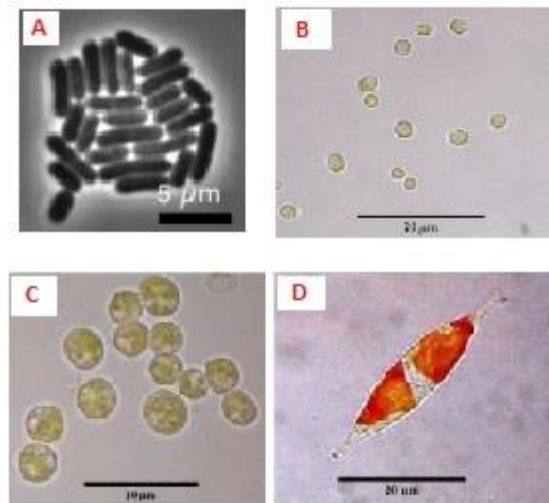


Figura 1: Imagens de microscópio de microalgas e cianobactérias: *Synechococcus* sp. PCC7942 (A), *Choricystis minor* (B), *Neochloris* sp. (C) e *Cylandrotheca fusiformis* (D).  
Fonte: YOKOO *et al.*, 2015; CHATSUNGNOEN e CHISTI, 2016.

A seleção da espécie microbiana adequada para geração de um produto de interesse é fundamental para a garantia de sucesso e sustentabilidade do processo. Por serem versáteis e altamente adaptáveis, a viabilidade de utilização de biomassa de cianobactérias é objeto de estudo frequente. Entre as espécies de cianobactérias, aquelas pertencentes ao gênero *Synechococcus* apresentam características interessantes. As cianobactérias deste gênero são universalmente encontradas em regiões oceânicas, de águas polares, temperadas e tropicais, sendo abundantemente presentes em águas ricas em nutrientes (SCANLAN e WEST, 2002). Apresentam altas taxas de crescimento em temperaturas elevadas (maiores ou iguais a 30 °C), acumulando lipídeos. Em contrapartida, podem formar *blooms* em ambientes eutrofizados, que cobrem rapidamente áreas de 100 km<sup>2</sup>, excretando toxinas prejudiciais à comunidade marinha (O'NEIL *et al.*, 2012).

Em se tratando de biocombustíveis, diversos estudos visam a determinação da condição ótima para cultivo de espécies do gênero *Synechococcus*. Aikawa *et al.* (2014) avaliaram o cultivo de *Synechococcus* sp. PCC 7002 na produção de glicogênio para a geração de etanol. Os autores reportaram produtividade máxima de glicogênio de 0,5 g/L.d, sob alta iluminação e alto fluxo de CO<sub>2</sub> e privação de nitrogênio. O estudo aponta que a espécie apresenta produtividade ideal para a geração de etanol, por meio dos processos de sacarificação e fermentação. Srimongkol *et al.* (2019) cultivaram *Synechococcus* sp. VDW em efluentes de produção de camarão para avaliar o potencial da biomassa para a produção de biocombustíveis

e remoção de amônia do efluente. Com pH de cultivo igual a 7,4 e concentração inicial de amônia de 10,5 mg/L, a espécie apresentou produtividade máxima de biomassa de 0,034 g/L.d, removendo 95% de amônia. Ademais, os autores atestaram que a composição celular de ácidos graxos (ácido palmítico, linoleico, oleico, palmitoleico) é favorável e desejável para a produção de biocombustíveis.

Setta *et al.* (2014) avaliaram o crescimento de *Synechococcus subsalsus* para a produção de biocombustível. O experimento foi montado com três grupos de cultivo: grupo controle, grupo com privação de nitrogênio, e grupo rico em suplementação de CO<sub>2</sub>. Os três grupos apresentaram curvas de crescimento similares, com taxa de crescimento acelerada, atingindo a fase estacionária no oitavo dia. Ao final da fase estacionária, a densidade celular variou entre  $5,23 \times 10^7$  cel/mL (controle) e  $6,08 \times 10^7$  cel/mL (baixo nitrogênio), e o percentual de proteínas variou entre 15,1 % (baixo nitrogênio) e 18,5 % (controle). Entretanto, ao final do experimento, a percentagem média de carboidrato nos grupos de cultivo foi de 44,78%, sugerindo que esta é a principal forma de acúmulo de energia das células. Neste cenário, os autores atestaram que esta cepa possui baixa capacidade para geração de biodiesel, visto que a percentagem média de lipídeos foi de apenas 12,23 %.

Outra cepa da mesma espécie da cianobactéria foi cultivada por Oliveira *et al.*, (2019). Os autores avaliaram o cocultivo de *Synechococcus subsalsus* com o fungo filamentosso *Aspergillus niger*. Os experimentos exploraram a capacidade de concentração de biomassa de *S. subsalsus*, em concentrações iniciais entre 0,345 e 0,738 g/L, na forma de *pellets* sob diferentes razões de fungo:cianobactéria. Os cultivos de *S. subsalsus* foram dispostos em *shaker* rotatório a 150 rpm, temperatura média de 26 °C e fotoperíodo 12h:12h durante 30 dias. Após este período, os frascos contendo a cianobactéria foram inoculados com *A. niger*, por períodos de 24h e 48h, e mantidos em *shaker* rotatório a 100 rpm. O estudo apontou que a maior eficiência de biofloculação foi de 98 %, com fator de concentração igual a 3,2. Entretanto, em eficiências de biofloculação mais baixas (59%), o fator de concentração foi de 62,8. O resultado foi atribuído ao menor diâmetro dos *pellets* (cerca de 2,5 mm), indicando que este tamanho favorece a densificação da biomassa.

O cultivo de microalgas e cianobactérias em larga escala para a produção de biocombustíveis ainda encontra empecilhos nos custos operacionais. Entretanto, diversos estudos, em escala de bancada, têm sido realizados visando à condição ótima para o cultivo e recuperação da biomassa destes microrganismos. As espécies mais cultivadas para a produção

de biodiesel e biogás são *Chlorella* sp. e *Scenedesmus* sp. (PERAZZOLI *et al.*, 2016; WANG *et al.*, 2019; ALHATTAB e BROOKS, 2020; WU *et al.*, 2020; ALI *et al.*, 2022).

### 3.2. SISTEMAS DE CULTIVO PARA CIANOBACTÉRIAS E MICROALGAS

Entre os sistemas mais utilizados para cultivo de microalgas e cianobactérias, destacam-se dois: os fotobiorreatores e as lagoas de alta taxa. Os fotobiorreatores são sistemas fechados, compostos por um reservatório, onde a suspensão de microrganismos é disposta para seu crescimento, podendo conter controle de aeração, agitação, pH, temperatura e iluminação. Os reservatórios podem ser de formato tubular, cilíndrico ou de painéis planos. Estes dispositivos operam em batelada ou em sistema contínuo, de acordo com o ciclo de crescimento da espécie de interesse (LIAO *et al.*, 2014; YAN *et al.*, 2016).

As Lagoas de Alta Taxa (do inglês *High Rate Algal Ponds*) são biorreatores abertos, utilizados para o tratamento de efluentes, aliado ao cultivo de microalgas. Nestes sistemas, as microalgas realizam fotossíntese e disponibilizam oxigênio no meio, que auxilia na degradação aeróbia bacteriana dos compostos orgânicos. Como consequência, a decomposição dos compostos orgânicos produz dióxido de carbono, utilizado na fotossíntese das microalgas e no seu crescimento. Os ciclos de iluminação ocorrem de acordo com a irradiação solar. As lagoas contam com hélices que permitem a circulação do efluente, evitando que as microalgas sedimentem. Estes sistemas podem operar em batelada ou de forma contínua, variando de acordo com os objetivos e necessidades do projeto (SUTHERLAND *et al.*, 2015; UGGETTI *et al.*, 2018; ALI *et al.*, 2022). A Figura 2 mostra exemplos de lagoas de alta taxa e de fotobiorreatores:



Figura 2: Lagoa de alta taxa em Ingrepo, Países Baixos (A); Fotobiorreatores em Proviron, Bélgica (B). Fonte: VANDAMME et al., 2013.

Em ambos os sistemas de cultivos, as suspensões de microalgas e cianobactérias podem atingir produtividade de biomassa entre 0,1 e 0,7 g/L.d (Tabela 1). Liao *et al.* (2014) avaliaram o crescimento da microalga *Chlorella pyrenoidosa* em um fotobiorreator tubular, com ciclos de iluminação claro/escuro artificialmente gerados em diferentes frequências. Sob a frequência de 100 Hz, a produtividade de biomassa foi de  $0,281 \pm 0,005$  g/L.d, representando um aumento de 21,6% quando comparado a fotobiorreatores convencionais. Bello *et al.* (2017) avaliaram um modelo dinâmico para o crescimento de uma mistura de microrganismos, contendo microalgas e bactérias, em lagoas de alta taxa de tratamento de águas residuárias. Com a adição de CO<sub>2</sub> no sistema, a produtividade máxima de biomassa foi de 0,693 g/L.d. A Tabela 1 a seguir apresenta outros estudos, com diferentes produtividades para cultivos em fotobiorreatores e lagoas de alta taxa.

Tabela 1 - Produtividade de biomassa em fotobiorreatores e lagoas de alta taxa para diferentes espécies de cianobactérias e microalgas.

Espécie	Modo de cultivo	Produtividade	Concentração de biomassa	Referência
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	Fotobiorreator tubular	0,281 ± 0,005 g/L.d	2,53 g/L	LIAO <i>et al.</i> (2014)
Mix de microalgas	Lagoa de Alta Taxa com Águas Residuárias	6,0 ± 3,2 g/m <sup>2</sup> .d	39 g/m <sup>2</sup>	MEHRABADI <i>et al.</i> (2016)
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	Fotobiorreator de painel plano	21,9 g/m <sup>2</sup> .d	2,20 g/L	YAN <i>et al.</i> (2016)
Mix de microalgas e bactérias	Lagoa de Alta Taxa com Águas Residuárias	0,693 g/L.d	2,77 g/L	BELLO <i>et al.</i> (2017)
<i>Picochlorum sp.</i> e <i>Halospirulina sp.</i>	Lagoa de Alta Taxa	0,129 ± 0,005 g/L.d	1,23 g/L	FRANCO-MORGADO <i>et al.</i> (2017)
Consórcio de microalgas e bactérias	Lagoa de Alta Taxa	13,5 g/m <sup>2</sup> .d	56,7 g/m <sup>2</sup>	SOLIMENO <i>et al.</i> (2017)
Mix de microalgas	Lagoa de Alta Taxa	6,16 ± 0,33 g/m <sup>2</sup> .d	24,64 g/m <sup>2</sup>	KIM <i>et al.</i> (2018)
<i>Acutodesmus obliquus</i>	Fotobiorreator de painel plano	0,21 ± 0,01 g/L.d	1,90 g/L	CARONE <i>et al.</i> (2022)
<i>Desmodesmus armatus</i>	Fotobiorreator com guia de circulação	0,091 ± 0,001 g/L.d	0,637 g/L	EZE <i>et al.</i> (2022)
<i>Desmodesmus subspicatus</i>		0,109 ± 0,001 g/L.d	0,763 g/L	
<i>Chlorella lewinii</i>		0,11 ± 0,002 g/L.d	0,770 g/L	
<i>Dictyosphaerium sp.</i>		0,075 ± 0,003 g/L.d	0,525 g/L	

### 3.3. MÉTODOS DE DENSIFICAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGAS E CIANOBACTÉRIAS

Em detrimento dos tradicionais combustíveis fósseis, a utilização de fontes renováveis de energia, como os biocombustíveis, apresenta-se como uma alternativa para garantir o bem-estar da humanidade e dos ecossistemas. Os biocombustíveis de terceira geração<sup>1</sup>, derivados de microalgas e cianobactérias, podem ser uma fonte potencial de energia para solucionar as desvantagens encontradas na produção de biocombustíveis de primeira e segunda geração (NAZARI *et al.*, 2021). Assim, vários estudos têm investigado o potencial de microalgas e cianobactérias para capturar CO<sub>2</sub> e produzir biocombustíveis.

No entanto, a produção de biocombustíveis de terceira geração depende diretamente da concentração de biomassa, baixa nas culturas de microalgas e cianobactérias (concentração final abaixo de 0,5 g/L, em massa seca). Além disso, o pequeno tamanho da célula complica significativamente o processo de recuperação, sendo necessário, em alguns casos, usar uma ou mais etapas de separação sólido-líquido para uma recuperação eficiente (BARROS *et al.*, 2015). Um método de colheita eficiente e de baixo custo é essencial para produzir biocombustíveis a partir de biomassa de microalgas e cianobactérias. Além da eficiência e baixo custo, para a utilização do concentrado resultante na produção de biogás, os produtos químicos utilizados na densificação da biomassa não devem ter efeitos tóxicos ou inibitórios sobre a população microbiana envolvida na digestão anaeróbia (GUTIÉRREZ *et al.*, 2015).

A maioria dos pesquisadores aponta que melhorias na etapa de produção de microalgas são essenciais para reduzir o custo da produção de biocombustíveis. No entanto, essa redução de custo pode ocorrer na própria etapa de densificação/concentração. É possível desenvolver métodos de densificação de biomassa algal com alta eficiência e baixo custo que não prejudiquem a produção de biocombustíveis.

As tecnologias de densificação são classificadas como métodos físicos (sedimentação gravitacional, flotação por ar dissolvido, centrifugação e filtração), químicos (floculação química, eletrocoagulação) e biológicos (biofloculação, autofloculação) (OGBONNA e NWOBA, 2021). A seguir, são apresentadas algumas características desses métodos.

---

<sup>1</sup> Biocombustíveis de terceira geração são aqueles obtidos a partir da biomassa de microalgas e cianobactérias (SHARMA *et al.*, 2020).

### 3.3.1. Sedimentação por Gravidade

A sedimentação por gravidade ocorre quando as células das microalgas formam flocos e sedimentam espontaneamente, usualmente devido à excreção de substâncias poliméricas extracelulares (EPS, do inglês *extracellular polymeric substances*) no meio de cultivo. As EPS são compostas principalmente por proteínas e carboidratos, disponíveis na suspensão de microalgas e cianobactérias, em condições de estresse causadas pela ausência ou excesso de nutrientes no meio e por variações de iluminação e temperatura (GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ e BALLESTEROS, 2013; SALIM *et al.*, 2014; CHEN *et al.*, 2020; LV *et al.*, 2020).

Poucas espécies de microalgas e cianobactérias apresentam alta eficiência de sedimentação espontânea, como *Arthrospira platensis*, *Ettlia texensis*, *Scenedesmus quadricauda* e *Desmodesmus* sp. (SALIM *et al.*, 2013; ALJUBOORI *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2020). Depraetere *et al.* (2015) avaliaram o comportamento da cianobactéria filamentosa *Arthrospira platensis* em cultivos com baixas concentrações de nitrogênio. Após o nono dia de cultivo sob estresse de nitrogênio, as células acumularam grande quantidade de glicogênio, aumentando a densidade específica dos filamentos, o que proporcionou a sedimentação espontânea a uma velocidade máxima de 0,64 m/h. Segundo os autores, com essa velocidade de sedimentação, um separador de lamelas com superfície de apenas 1 m<sup>2</sup> seria suficiente para coletar a biomassa de uma lagoa de alta taxa de 1 ha e remover 94% da água usando apenas a força gravitacional. Das *et al.* (2018) também reportaram altas eficiências de recuperação de biomassa em cultivos de cianobactérias. Em suspensões de *Chroococcidiopsis* sp., 97% da biomassa foi densificada, após um período de sedimentação de 60 minutos.

Cui *et al.* (2020) avaliaram a sedimentação gravitacional de *Heveochlorella* sp. No décimo dia de cultivo (fase estacionária), a microalga apresentou floculação espontânea devido à presença de EPS, atingindo eficiência de coleta de 85% após duas horas de repouso. Lv *et al.* (2016) também avaliaram a sedimentação gravitacional da microalga *Chlorococcum* sp. GD após dez dias de cultivo, obtendo eficiência de coleta de 84,4% após três horas de sedimentação. Com base em análises de espectroscopia de fluorescência de emissão e excitação, os autores relacionaram a capacidade de sedimentação a EPS hidrofóbicas.

Zhang *et al.* (2022) avaliaram a sedimentação espontânea da microalga *Desmodesmus* sp. CHX1. Após o oitavo dia de cultivo, a habilidade de sedimentação das microalgas foi testada. Após um tempo de repouso de 6 h cerca de 81% da biomassa foi densificada. Assim como os demais autores, a sedimentação por gravidade foi atribuída à liberação de substâncias



poliméricas extracelulares no meio. Os autores também afirmaram que esta espécie poderá atingir eficiência de floculação ótima de 94%, com o ajuste de temperatura para 12,37 °C, pH igual a 7,98 e tempo de sedimentação de 6,96 h.

A sedimentação gravitacional é frequentemente abordada nos estudos sobre métodos de densificação de biomassa como: sedimentação por gravidade, sedimentação espontânea e autofloculação. Neste estudo, o método de autofloculação será tratado como um método de floculação de microalgas e cianobactérias, que ocorre através da modulação do pH, por adição de ácidos e bases (ver item 3.3.6 - Autofloculação). Outros estudos realizados com o método de sedimentação gravitacional podem ser observados na Tabela 2.

Tabela 2 - Eficiência de coleta de biomassa algal com sedimentação gravitacional como método de densificação.

Espécie	Tempo de Sedimentação (h)	Eficiência (%)	Referências
<i>Chlorella vulgaris</i>	1	60,0	SALIM <i>et al.</i> (2012)
<i>Monoraphidium</i> sp. (heterotrófico)	24	97,9	YU <i>et al.</i> (2012)
(autotrófico)		85,0	
<i>Ettlia texensis</i>	3	90,0	SALIM <i>et al.</i> (2013)
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,5	76,3	ALAM <i>et al.</i> (2014)
<i>Scenedesmus</i> sp.	12	92,3	HE <i>et al.</i> (2014)
<i>Arthrospira platensis</i>	1	94,0	DEPRAETERE <i>et al.</i> (2015)
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	0,5	86,7	ALJUBOORI <i>et al.</i> (2016)
<i>Scenedesmus quadricauda</i>		26,5	
<i>Chlorococcum</i> sp.	3	84,4	LV <i>et al.</i> (2016)
<i>Parachlorella kessleri</i>		16,2	
<i>Chroococcidiopsis</i> sp.	1	97,0	DAS <i>et al.</i> (2018)
<i>Golenkinia</i> sp.	0,67	89,8	NIE <i>et al.</i> (2018)
<i>Neocystis mucosa</i>	3	93,6	LV <i>et al.</i> (2019)
<i>Desmodesmus</i> sp.	0,5 / 2,5	12,4 / 90,0	CHEN <i>et al.</i> (2020)
<i>Heveochlorella</i> sp.	2	85,2	CUI <i>et al.</i> (2020)
<i>Bracteacoccus pseudominor</i>	0,5	74	MALIK <i>et al.</i> (2022)
BERC09	1,5	92	
<i>Desmodesmus</i> sp. CHX1	6	80,98	ZHANG <i>et al.</i> (2022)

Embora os mecanismos envolvidos na sedimentação espontânea ainda não sejam totalmente compreendidos, espécies que apresentam alta eficiência de sedimentação em tempos reduzidos podem ser promissoras, pois nesse método a biomassa pode ser concentrada sem adição de produtos químicos e com equipamentos de baixo consumo de energia. A elucidação dos mecanismos de sedimentação espontânea de microalgas floculantes, bem como o estudo dos agentes floculantes produzidos por microalgas, pode beneficiar modificações genéticas de cepas não floculantes com fenótipo floculante para a concentração de biomassa por sedimentação (ALAM *et al.*, 2014).

### **3.3.2. Flotação**

A flotação é um método de separação sólido-líquido comumente utilizado no tratamento de águas residuárias e na concentração de biomassa de microalgas. Neste método de concentração, ar é inserido através de difusores (flotação por ar disperso) ou dissolvido e liberado sob redução de pressão (flotação por ar dissolvido) em uma coluna contendo a suspensão de biomassa. Neste sistema, surfactantes e floculantes podem ser adicionados. Os floculantes auxiliam na desestabilização das forças eletrostáticas na suspensão de microalgas; e os surfactantes promovem a formação de bolhas. Desta forma, as células aderem à superfície das bolhas e flutam até o topo da coluna (COWARD *et al.*, 2014; LEITE *et al.*, 2019; ALHATTAB e BROOKS, 2020).

A flotação é um método eficiente, com baixo custo de implantação e operação, e menor consumo energético, quando comparado à centrifugação. Por ser um método versátil, diversas espécies de microalgas de água doce e marinhas são concentradas por flotação, como pode ser observado na Tabela 3. Os estudos de flotação têm como foco a adequação de parâmetros de projeto como tamanho de bolha, pH, salinidade, desenho da coluna e taxa de fluxo de ar, bem como a dosagem de surfactantes e floculantes, para melhoria da recuperação de biomassa e aumento do fator de concentração (LAAMANEN *et al.*, 2016; ZHANG e ZHANG, 2019).

Tabela 3 - Eficiência de coleta de biomassa algal com flotação como método de densificação.

Espécie	Floculante/Surfactante/Dosagem	Eficiência (%)	Referências
<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Scenedesmus obliquus</i>	Quitosana 5 mg/L + Saponina 20 mg/L	> 93	KURNIAWATI <i>et al.</i> (2014)
<i>Chlorella zofingiensis</i>	Quitosana 70 mg/g	81	ZHANG <i>et al.</i> (2014)
	CTAB 500 mg/g	86	
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 180 mg/g	87	
	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 250 mg/g	91	
<i>Chlorella vulgaris</i> <i>Isochrysis galbana</i> <i>Tetraselmis suecica</i>	CTAB 35 mg/L	95 93 89	ALKARAWI <i>et al.</i> (2018)
<i>Nannochloropsis</i> sp.	MPOE 50 mL/L	86,5	KANDASAMY e SHALEH (2018)
<i>Chlorella vulgaris</i>	BCBD 10 mg/L	97,1	HUANG <i>et al.</i> (2019)
<i>Chlorella sorokiniana</i>	Zetag 8185 10 mg/L	98,4	LEITE <i>et al.</i> (2019)
	Tanfloc SG 75 mg/L	94,5	
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 500 mg/L	95,4	
	FeCl <sub>3</sub> 1000 mg/L	96,7	
<i>Chlorella saccharophila</i>	CTAB 100 mg/L	94,5	ALHATTAB e BROOKS (2020)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Óleo de cozinha 0.33% (v/v) e 6,7 mg/L CTAB emulsão	> 90	POTOCAR <i>et al.</i> (2020)

CTAB = *cetyltrimethylammonium bromide*; BCBD = *N,N'-bis(cetyldimethyl)-1,4-butane diammonium dibromide*; MPOE = *Moringa protein extract – oil emulsion*.

Algumas modificações do método de flotação se destacam como inovações na melhoria da concentração de biomassa, como a microflotação, na qual microbolhas (50 µm) são geradas por oscilação fluídica em uma coluna de flotação de ar disperso (HANOTU *et al.*, 2012). A flotação com lastro (*ballasted flotation*) também é um exemplo, no qual microesferas de borossilicato de sódio são utilizadas para agregar células de microalgas (XU *et al.*, 2018).

Os principais obstáculos nesse método estão relacionados ao desenvolvimento de sistemas em larga escala. A maioria dos estudos com microalgas ocorre em escala de laboratório e os parâmetros são ajustados para reduzir o consumo de energia. Outro obstáculo seria a dosagem de coagulantes e tensoativos. O processo pode apresentar custo elevado, se for necessário um grande volume desses produtos químicos. Além disso, os produtos químicos inseridos na suspensão de microalgas precisam ser controlados para que não contaminem a biomassa (NDIKUBWIMANA *et al.*, 2016).

### 3.3.3. Filtração

A filtração é uma operação unitária que visa a separação de células de microalgas da fração líquida do meio de cultivo utilizando membranas. Comparada aos métodos de separação tradicionais, a filtração por membrana tem a vantagem de não necessitar da adição de compostos químicos, o que evita a contaminação da biomassa. A técnica proporciona a separação das células do meio de cultivo com alta eficiência de concentração de biomassa sem danificar as células (RICKMAN *et al.*, 2012). A eficiência de concentração pode ser superior a 85%, conforme descrito na Tabela 4.

No entanto, uma das principais desvantagens do método é o entupimento da membrana, o que reduz o fluxo de permeado e, conseqüentemente, prejudica a concentração de biomassa. Portanto, muitos estudos sobre a filtração de microalgas se concentram, principalmente, na avaliação de melhores condições operacionais para reduzir a obstrução da membrana (RICKMAN *et al.*, 2012; AHMAD *et al.*, 2014; RAZAK *et al.*, 2020). Os pesquisadores também estudam modificações na superfície da membrana para reduzir a incrustação e melhorar seu desempenho. Alguns exemplos são o revestimento de superfície com um material funcional, como o polímero hidrofílico de álcool polivinílico (PVOH) (HWANG *et al.*, 2013) ou o uso de membranas com um padrão ondulatório em sua superfície (ZHAO *et al.*, 2020).

Tabela 4 - Eficiência de coleta de biomassa algal com filtração como método de densificação.

Espécie	Tipo de Sistema	Eficiência (%)	Referência
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Microfiltração dinâmica	95,0	RÍOS <i>et al.</i> (2012)
<i>Nannochloropsis gaditana</i>		98,1	
<i>Chaetoceros calcitrans</i>		97,6	
<i>Chlorella</i> sp.	Microfiltração	99,0	HWANG <i>et al.</i> (2013)
<i>Chlorella</i> sp.	Microfiltração	90,0	AHMAD <i>et al.</i> (2014)
<i>Aurantiochytrium</i> sp.	Microfiltração - Disco Rotativo	99,9	KIM <i>et al.</i> (2015)
<i>Arthrospira maxima</i>	Microfiltração - Disco Submerso	100,0	KANCHANATIP <i>et al.</i> (2016)
<i>Chlorella</i> sp.	Microfiltração	98,7	GIMÉNEZ <i>et al.</i> (2018)
<i>Tetraselmis</i> sp.	Filtração de fluxo cruzado	100,0	DAS <i>et al.</i> (2019)
<i>Euglena</i> sp.	Microfiltração	Nd	LAU <i>et al.</i> (2020)
<i>Desmodesmus</i> sp.	Microfiltração	>99,0	ZHAO <i>et al.</i> (2020)
<i>C. vulgaris</i>	Microfiltração + Polímero PSAP	>90	CHEN <i>et al.</i> (2021)
<i>C. raciborskii</i>	Filtração + Poliacrilamida	>78	CAI <i>et al.</i> (2022)
<i>C. vulgaris</i>	Catiônica	>90	

PSPA = *Porous Superabsorbent Polymer* (Polímero Superabsorvente Poroso); Nd = não disponível.

Outro obstáculo no uso da filtração por membrana é a quantidade de energia quando é necessário o bombeamento da suspensão. As membranas de microfiltração (MF) e ultrafiltração (UF) são capazes de separar as células de microalgas de suspensões; entretanto, a filtração por membrana é uma tecnologia que ainda precisa superar o obstáculo da incrustação da membrana e o alto custo de manutenção (SINGH e PATIDAR, 2018 ; LAU *et al.*, 2020). Das *et al.* (2019) avaliaram diferentes métodos de densificação de uma suspensão de *Tetraselmis* sp., verificando que a filtração por membrana resultou em maior eficiência de concentração de biomassa, mas com maior consumo de energia. Os autores concluíram que os tomadores de decisão devem preferir a filtração por membrana quando a biomassa apresenta muitos metabólitos de alto valor agregado.

### 3.3.4. Centrifugação

A centrifugação é um método de separação física baseado na força centrífuga gerada a partir de um movimento de aceleração rotacional, que atua sobre a diferença de densidade entre as partículas, separando as células da microalga do meio de cultivo. As principais centrífugas são as de pilhas de discos (*disc-stacks*), cestos perfurados e cestos não perfurados. Hidrociclones também são usados como um método de centrifugação. Entre as diversas técnicas de densificação de microalgas, a centrifugação é um dos métodos mais utilizados devido à velocidade do processo de separação e sua capacidade de processar grandes volumes com alta eficiência de concentração (ABU-SHAMLEH e NAJJAR, 2020).

No entanto, sistemas em escala real são potencialmente onerosos, devido aos custos operacionais e de manutenção do equipamento (AHMAD *et al.*, 2014). As variáveis que mais afetam o consumo de energia na densificação de microalgas em uma centrífuga de pilha de discos são temperatura, densidade da suspensão, velocidade de rotação, raios interno e externo dos discos, número e ângulo dos discos e espécies de microalgas (ABU-SHAMLEH e NAJJAR, 2020). Embora a centrifugação forneça altas eficiências de concentração de células de microalgas (conforme apresentado na Tabela 5), o produto deve ter alto valor agregado para tornar o método de densificação de microalgas economicamente atrativo (MOLINA-MIRAS *et al.*, 2019).

Tabela 5 - Eficiência de coleta de biomassa algal com Centrifugação como método de densificação.

Espécie	Velocidade Rotacional/ Tempo ou Fluxo	Eficiência (%)	Referência
<i>Nannochloropsis</i> sp.	3000 g/ 0,94 L/min	94,0	DASSEY e THEEGALA (2013)
	3000 g/ 23 L/min	17,0	
<i>Chlorella vulgaris</i>	5000 rpm/ 5 min	97,0	TRAN <i>et al.</i> (2013)
<i>Chlorella</i> sp.	4000 rpm/ 10 min	100,0	AHMAD <i>et al.</i> (2014)
<i>Chlorella vulgaris</i>	1000 rpm/ 10 min	80,0	MENNAA <i>et al.</i> (2015)
<i>Chlorella kessleri</i>	1000 rpm/ 7,7 min	90,0	
<i>Chlorella sorokiniana</i>	1000 rpm/ 8,7 min	90,0	
<i>Botryococcus braunii</i>	1000 rpm/ 7,7 min	90,0	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	1000 rpm/ 2,9 min	90,0	
<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	1000 rpm/ 10 min	78,0	
<i>Neochloris oleabundas</i>	1000 rpm/ 9,3 min	90,0	
Algal bloom	1000 rpm/ 7,25 min	90,0	
<i>Scenedesmus</i> sp.	2000 rpm/ 15 min	96,0	REYES e LABRA (2016)
	5500 rpm/ 14 L/min	82,1	
<i>Scenedesmus obliquus</i>	3000 g/ 10 min	99,3	WANG <i>et al.</i> (2019)
<i>Chlorococcum</i> sp.	3000 rpm/2,23 L/min	Nd	ABU-SHAMLEH e NAJJA (2020)
Consórcio de microalgas ( <i>Desmodesmus</i> spp., <i>Scenedesmus</i> spp., <i>Dictyosphaerium</i> spp. e <i>Klebsormidium</i> sp.)	7550 g/ 200 L/min	92,1	ARAMAKI <i>et al.</i> (2020)

Nd = não disponível.

### 3.3.5. Coagulação/Floculação química

A coagulação/floculação, induzida pela adição de agentes químicos na suspensão de microalgas, é convencionalmente utilizada por ser um método de fácil aplicação, não necessitar de equipamentos complexos e não possuir alto custo energético. As células de microalgas e cianobactérias se comportam como partículas negativamente carregadas, que permanecem estáveis em suspensão no cultivo. A adição de sais multivalentes, polímeros ou coloides reduz a tensão superficial na suspensão, proporcionando a aglomeração das células. Os mecanismos envolvidos na coagulação estão relacionados à redução ou eliminação da força eletrostática de repulsão por meio da interação entre os produtos químicos adicionados e os grupos carboxila e sulfato responsáveis pela carga negativa da superfície das células. Outro mecanismo, observado

na coagulação/floculação, ocorre quando um polímero catiônico é adicionado a uma suspensão de microalgas. Estas substâncias aprisionam as células em sua cadeia molecular, formando flocos grandes, que sedimentam, em um fenômeno denominado *bridging* (MOLINA GRIMA *et al.*, 2003; KUMAR *et al.*, 2019).

Diversos estudos comprovaram a alta eficiência de densificação por coagulação/floculação de uma ampla gama de microalgas marinhas ou de água doce e cianobactérias, utilizando diferentes tipos de coagulantes. Sais metálicos, como o cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ), sulfato de alumínio ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) e sulfato de ferro (III) ( $\text{Fe}_2(\text{SO}_4)_3$ ) são amplamente utilizados no tratamento de águas residuárias urbanas e provenientes de mineração, sendo igualmente reconhecidos por sua eficiência na floculação de suspensões de cianobactérias e microalgas (PÉREZ *et al.*, 2016). Chatsungnoen e Chisti (2016b) obtiveram eficiências de coleta de 95% para diferentes espécies de microalgas com os coagulantes sulfato de alumínio ( $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ) e cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ).

Polímeros catiônicos altamente carregados também neutralizam as cargas negativas nas células. Noh *et al.* (2018) avaliaram o polímero  $\alpha$ -poli-L-lisina ( $\alpha$ PLL) com diferentes massas moleculares como floculante catiônico para concentrar *Chlorella ellipsoidea*. Os autores observaram que quanto maior a massa molecular do polímero, menor a concentração de floculante necessária para se atingir uma alta densificação de biomassa. Neste estudo, o mecanismo predominante para polímeros de baixa massa molecular foi a neutralização de carga, uma vez que o potencial zeta<sup>2</sup> verificado estava próximo de zero na eficiência máxima obtida. Enquanto, para polímeros de maior massa molecular, o mecanismo de *bridging* ocorreu ao longo da cadeia polimérica. Vu *et al.* (2021) observaram um mecanismo semelhante, avaliando floculantes à base de poli(acrilamida) na floculação da microalga vermelha *Porphyridium purpureum*.

Os coagulantes orgânicos estão ganhando cada vez mais espaço e se tornando mais vantajosos por serem ambientalmente sustentáveis e não contaminarem a biomassa concentrada. Dentre eles, destacam-se: a quitosana, polímero derivado do processo de desacetilação da quitina de crustáceos (CHUA *et al.*, 2019); taninos vegetais extraídos de

---

<sup>2</sup> As partículas suspensas em solução aquosa geralmente carregam uma carga superficial positiva ou negativa. Para manter a neutralidade elétrica, essas partículas carregadas atraem íons com carga oposta à da solução. A nuvem de íons com cargas opostas que envolve as partículas carregadas em uma suspensão resulta em uma repulsão elétrica entre as partículas. O potencial zeta é a diferença de potencial entre o *bulk* fluido e a camada de íons com cargas opostas que permanece associada à partícula carregada quando a partícula se move através da solução (o plano de deslizamento) (VANDAMME *et al.*, 2013).



espécies como *Acacia mearnsii* (FUAD *et al.*, 2018); flocculantes catiônicos derivados de taninos - Ecotan e Tanfloc (GUTIÉRREZ *et al.*, 2015); e espécies de plantas como *Moringa oleífera* (BEHERA e BALASUBRAMANIAN, 2019). De acordo com a literatura, esses produtos possuem alta capacidade de coagulação em baixas concentrações, com a vantagem de não serem corrosivos ou tóxicos, garantindo que sua presença no concentrado não prejudique, por exemplo, a produção de biogás na etapa de digestão anaeróbia (CHEN *et al.*, 2014; SAJJAD *et al.*, 2017).

Entre os coagulantes orgânicos, a quitosana é o polímero mais estudado na literatura. A quitosana é um derivado da quitina, o segundo biopolímero com maior ocorrência na natureza, atrás apenas da celulose. A quitina pode ser encontrada em espécies de crustáceos, insetos e fungos, e possui a forma N-acetil-D-glucosamina. Quando submetida à ebulição em solução de hidróxido de potássio, um processo conhecido como desacetilação alcalina da quitina, o polímero ganha a forma  $\beta$ -1,4-D glucosamina, polímero conhecido como quitosana (KESHVARDOOSTCHOKAMI *et al.*, 2021; KOU *et al.*, 2021) (Figura 3). A quitosana contém três grupos polares funcionais diferentes: hidroxila (-OH), amina primária (-NH<sub>2</sub>) e éter (C-O-C). Por conta do grupo -NH<sub>2</sub>, que pode ser protonado com H<sup>+</sup> em solução aquosa tornando-se um polieletrólito catiônico, a molécula de quitosana possui capacidade de atração e adsorção. Este polímero é insolúvel em água e na maioria dos solventes orgânicos e alcalinos. Entretanto, é solúvel em formas diluídas de ácido acético, ácido fórmico e ácido láctico (ZENG *et al.*, 2008; MA E SAHAI, 2013; CHEN *et al.*, 2014).

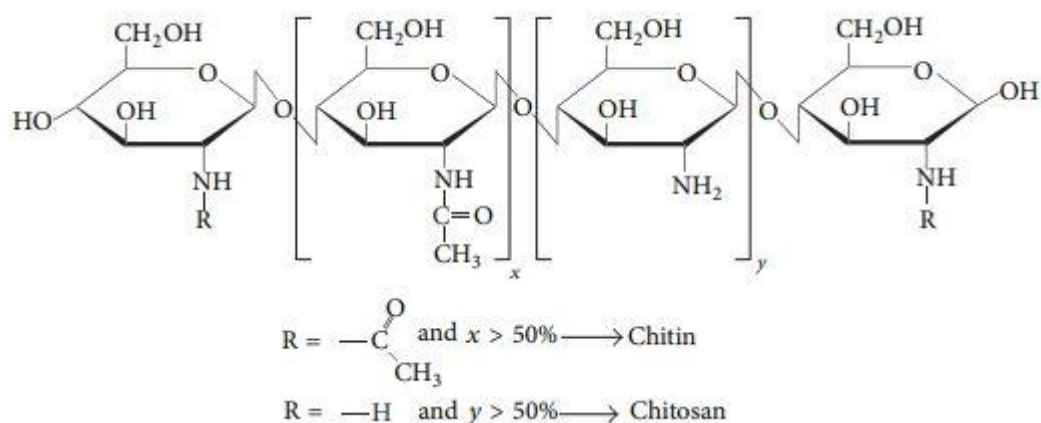


Figura 3: Estrutura molecular da quitina e da quitosana. Fonte: CHEN *et al.*, 2014.

Além de suas características intrínsecas, a saber, um polímero catiônico de cadeia longa, com capacidade de formação de aglomerados e precipitação em pH neutro e alcalino, a quitosana também se torna um composto interessante por ser não-tóxico, não-corrosivo e

biodegradável (YIN *et al.*, 2021). A quitosana é utilizada no tratamento de água para consumo humano, na remoção de tintas e metais pesados de efluentes e no tratamento de emulsões de óleo em água (VIDAL e MORAES, 2019).

Na concentração de biomassas de microalgas e cianobactérias, a quitosana apresenta resultados com alta eficiência. Corrêa *et al.* (2019) avaliaram a utilização da quitosana na concentração de biomassa da microalga de água doce *Desmodesmus subspicatus*. Para cultivos com pH 7, a maior eficiência de concentração obtida foi de 97,64 %, como dosagem de quitosana igual a 10 mg/L. Em cultivos com pH 8, a maior eficiência de remoção (~99 %) foi obtida com dosagem de 20 mg/L, enquanto que, em cultivos com pH 10, a maior eficiência de remoção foi de aproximadamente 95 %, com dosagem de quitosana igual a 40 mg/L. Os autores concluíram que a dosagem de quitosana necessária para a coagulação/floculação da biomassa está diretamente associada ao pH inicial das suspensões. De acordo com o estudo, a quitosana apresenta maiores densidades de cargas positivas em meio ácido. Portanto, quanto mais alcalino o pH inicial das suspensões, maior a quantidade de quitosana necessária para neutralizar as células negativamente carregadas da microalga.

Rokhati *et al.* (2021) também utilizaram quitosana na floculação da microalga *Spirulina* sp. Em experimentos de *Jar Test*, os autores atestaram que a condição ótima para a densificação da biomassa da microalga ocorreu com velocidade de rotação de 40 rpm, tempo de sedimentação de 2 h, pH 7 – 8 e concentração de quitosana de 100 mg/L. Com estes parâmetros, a eficiência de concentração de células foi de 99,57 %. Analogamente, Hadiyanto *et al.* (2021) compararam a eficiência de concentração dos floculantes quitosana e pó de casca de ovo em cultivos da microalga *Chlorella pyrenoidosa*. Neste estudo,  $ZnCl_2$  foi utilizado como indutor catiônico, em concentração de 20 mg/L. As melhores eficiências de concentração observadas foram de 93,33 % e 90,78 %, para quitosana e pó de casca de ovo, respectivamente, e pH 9 para ambos os casos. Nestas condições, a concentração de quitosana foi de 443,08 mg/L, e a concentração de pó de casca de ovo foi de 499,83 mg/L.

A Tabela 6 apresenta as eficiências de densificação de diferentes espécies de microalgas com coagulantes orgânicos e inorgânicos.

Tabela 6 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a coagulação/floculação química como método de densificação.

Espécie	Concentração de Floculante		Eficiência (%)	Referências
Cultivo misto de microalgas	Biopolímero Aflok	1.2	98,7	AINNA <i>et al.</i> (2015)
	mL/L		88,3	
Consórcio de bactérias e microalgas	FeCl <sub>3</sub>	200		GUTIÉRREZ <i>et al.</i> (2015)
	mg/L			
<i>Chaetoceros gracilis</i>	Ecotan	10 mg/L	91,8	PÉREZ <i>et al.</i> (2016)
	Tanfloc	50 mg/L	90,2	
Consórcio de <i>Chlorella sorokiniana</i> e <i>Scenedesmus</i> sp.	FeCl <sub>3</sub>	20-50 mg/L + quitosana 10-50 mg/L	95,1-100,0	WAGNER <i>et al.</i> (2016)
	Polímero catiônico	27 mg/g alga	92,0	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Biopolímero catiônico	30 mg/g alga	84,0	GERCHMAN <i>et al.</i> (2017)
	AlCl <sub>3</sub>	100 mg/g	97,0	
<i>Chlorella sp. KR-1</i>	Polímero catiônico	5 mg/L	97,0	KIM <i>et al.</i> (2017)
	Quitosana	10 mg/L	90,0	
<i>Nannochloropsis</i> sp	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	900 mg/L	98,0	FUAD <i>et al.</i> (2018)
	Biofloculante	160 mg/L	92,4	
Bloom de Algas	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	320 mg/L	94,1	LOGANATHAN <i>et al.</i> (2018)
	FeCl <sub>3</sub>	20 mg/L	98,6	
	Alúmen	30 mg/L	96,3	
	Quitosana	30 mg/L	87,3	
	Alúmen	10 mg/L + quitosana 1 mg/L	97,6	
<i>Chlorella ellipsoidea</i>	FeCl <sub>3</sub>	5 mg/L + quitosana 2,5 mg/L	97,2	NOH <i>et al.</i> (2018)
	Biopolímero	5 kDa 50 mg/L	80,2	
	Biopolímero	5 kDa 2 mg/L	88,2	
<i>Chlorella sorokiniana</i>	Biopolímero	5 kDa 0,5-1 mg/L	98,3	POLITAEVA <i>et al.</i> (2018)
	FeCl <sub>3</sub>	6 mg/L + quitosana 200 mg/L	53,0	
	FeCl <sub>3</sub>	6 mg/L + quitosana 200 mg/L + Poliacrilamida 100 mg/L	97,0	
	FeCl <sub>3</sub>	6 mg/L + Poliacrilamida 100 mg/L	79,0	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	2 500 mg/L	92,4	ZHU <i>et al.</i> (2018)
	Quitosana	250 mg/L	91,9	

Continuação - Tabela 6 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a coagulação/floculação química como método de densificação.

Espécie	Concentração de Floculante	de	Eficiência (%)	Referências
Consórcio de <i>Chlorella</i> sp., <i>Scenedesmus</i> sp., <i>Cynecocystis</i> sp., e <i>Spirulina</i> sp.	<i>Moringa oleífera</i>	8 g/L	75,5	BEHERA e BALASUBRAMANIAN (2019)
	<i>Moringa oleífera</i>	4 g/L	95,8	
	+			
	Quitosana	0,75 g/L		
<i>Nannochloropsis</i> sp. BR2	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	87,5 mg/L	95,2	CHUA <i>et al.</i> (2019)
	FeCl <sub>3</sub>	87,5 mg/L	95,6	
	Quitosana	22 mg/L	97,9	
<i>Tetraselmis</i> sp.	FeCl <sub>3</sub>	100 mg/L	95,8	DAS <i>et al.</i> (2019)
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	100 mg/L	95,4	
<i>Chlorella</i> sp. NCQ <i>Micractinium</i> sp. NCS2	Biopolímero catiônico	30-55 mg/L	96,9 –	KUMAR <i>et al.</i> (2019)
			97,4	
<i>Scenedesmus</i> sp. CBIIT(ISM)	CaCO <sub>3</sub>	100 mg/L	95,0	PANDEY <i>et al.</i> (2019)
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	100 mg/L	99,0	
	Biofloculante	100 mg/L	99,0	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Polímero catiônico	7 g/kg alga	94,2	SHURAIR <i>et al.</i> (2019)
	FeCl <sub>3</sub>	4,1 g/kg alga	81,0	
	Biopolímero	4,7 g/kg alga	94,6	
<i>Spirulina platensis</i>	Polímero catiônico	7 g/kg alga	95,2	SHURAIR <i>et al.</i> (2019)
	FeCl <sub>3</sub>	2.1 g/kg alga	87,9	
	Biopolímero	2.2 g/kg alga	94,9	
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	FeCl <sub>3</sub>	700 mg/L	85,0 – 95,8	DANESHVAR <i>et al.</i> (2020)
Cultivo misto de microalgas	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub>	40 mg/L	96,0	RAJESH BANU <i>et al.</i> (2020)
<i>Porphyridium purpureum</i>	Polímero catiônico	21,43 g/kg alga	> 99,0	VU <i>et al.</i> (2021)

### 3.3.6. Autofloculação

A autofloculação ocorre devido às alterações proporcionadas pela adição de sais ou bases e alterações no pH de cultivo da microalga. O fenômeno está intimamente relacionado à presença dos íons  $\text{Ca}^{+2}$  e  $\text{Mg}^{+2}$ , que neutralizam as cargas das células em suspensão e induzem adsorção e aglomeração, formando flocos que precipitam. A precipitação ocorre principalmente em valores de pH entre 9,5 e 11. É um método de baixo custo, pois não utiliza grandes volumes de coagulantes químicos e não requer equipamentos complexos (AKIŞ e ÖZÇİMEN, 2019; VU *et al.*, 2021).

Vandamme *et al.*,(2012) investigaram o papel da precipitação de cálcio e magnésio na floculação de *Chlorella vulgaris* na faixa de pH 9 a 12. Os autores observaram que em um meio com baixa concentração de fosfato (< 0,1 mM), o magnésio desempenha um papel mais relevante do que cálcio, porque o magnésio promove a formação de estruturas com carga positiva, enquanto o cálcio precipita como carbonato de cálcio, uma estrutura de carga neutra. O aumento do pH forma hidróxido de magnésio, em cuja estrutura cristalina os cátions bivalentes de magnésio são substituídos por cátions trivalentes de alumínio ou ferro. Essas estruturas carregadas positivamente neutralizam a carga negativa das microalgas, causando desestabilização e floculação da biomassa.

A salinidade também influencia a autofloculação. Pérez *et al.* (2017) avaliaram o efeito da salinidade na eficiência de floculação da espécie marinha *Skeletonema costatum* em uma faixa de pH de 10,5 a 12. Para tempos elevados (8,5 h), a salinidade não teve efeito significativo na eficiência de floculação em valores de pH de 11 a 12. Para tempos menores (1 h), o efeito da salinidade foi acentuado, obtendo-se maiores recuperações com o menor valor de salinidade nos mesmos valores de pH.

Embora a maioria das espécies estudadas forme flocos na presença de bases fortes, algumas espécies apresentam esse comportamento quando a suspensão apresenta valores de pH entre 3 e 4 (PEZZOLESI *et al.*, 2015; DAS *et al.*, 2016). A Tabela 7 apresenta mais resultados de concentração de biomassa por mudanças de pH com bases e ácidos.

Tabela 7 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a autofloculação como método de densificação.

Espécie	Composto químico/pH	Eficiência (%)	Referência
<i>Phaedactylum tricornutum</i>	NaOH 1 mol/L/pH 11	98	ŞIRIN <i>et al.</i> (2012)
<i>Chlorella vulgaris</i>	NaOH 0,5 mol/L/pH 10,5-12	< 20	VANDAMME <i>et al.</i> (2012)
	Sem Ca e Mg	< 20	
	+ Ca 0,025-2,5 mM/pH 10,5-12	< 20	
	+ Mg 0,015 mM/pH 10,5-12	< 20	
	+ Mg ≥ 0,15 mM/pH 10,5-12	90-100	
<i>Dunaliella salina</i>	NaOH 8,5 mmol/L/pH 11	80	BESSON e GUIRAUD (2013)
<i>Chlorella sp.</i>	NaOH 5 mol/L, pH 10,2	45,8	SANYANO <i>et al.</i> (2013)
	KOH 5 mol/L, pH 10,2	35,1	
<i>Chlorococcum nival</i>	HNO <sub>3</sub> 1 mol/L, pH 1,5-4,5	> 90	LIU <i>et al.</i> (2014)
<i>Chlorococcum ellipsoideum</i>			
<i>Scenedesmus sp.</i>			
<i>Desmodesmus communis</i>	HCl 2 mol/L, pH 4	> 95	PEZZOLESI <i>et al.</i> (2015)
	NaOH 1 mol/L, pH 11-12	> 90	
<i>Scenedesmus sp.</i>	H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub> 1 mol/L, 0,19 g/L, pH 3	99,5	DAS <i>et al.</i> (2016)
	NaOH 1 mol/L, 0,28 g/L, pH 11,5	70,6	
<i>Chlorococcum sp. R-AP13</i>	NaOH 0,04 g/L, pH 12	94	UMMALYMA <i>et al.</i> (2016)
<i>Skeletonema costatum</i>	HCl 2 mol/L ou NaOH 5 mol/L,	60 - 100	PÉREZ <i>et al.</i> (2017)
<i>Chaetoceros gracilis</i>	pH 2/ pH 11-12		
<i>Nannochloropsis oculata</i>	KOH ou NaOH 1 mol/L/pH 10,5	98	AKIŞ e ÖZÇİMEN (2019)
<i>Chlorella minutissima</i>		84-86	
<i>Tetraselmis sp.</i>	NaOH 250 mg/L, pH 9,5	93,2	DAS <i>et al.</i> (2019)
<i>Porphyridium purpureum</i>	NaOH, KOH or Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> , 1 mol/L, pH 10.5	91-98	VU <i>et al.</i> (2021)

### 3.3.7. Biofloculação

A biofloculação é um processo de densificação pela adição de microrganismos ou metabólitos a uma suspensão de microalgas. Quando adicionados à suspensão de microalgas, os microrganismos secretam substâncias que neutralizam as cargas celulares, desestabilizando

a suspensão e formando flocos que se depositam (CHO *et al.*, 2016). Entre os microrganismos avaliados estão espécies de bactérias (NDIKUBWIMANA *et al.*, 2016), fungos (ZHANG e HU, 2012), cianobactérias (IASIMONE *et al.*, 2021) e microalgas (SALIM *et al.*, 2012). Além dos microrganismos, também são utilizados metabólitos para a biofloculação, como o composto poli (ácido  $\gamma$ -glutâmico), produzido pela bactéria *Bacillus licheniformis* (NDIKUBWIMANA *et al.*, 2016).

Uma das técnicas de biofloculação mais eficientes é a inoculação de *pellets* fúngicos na suspensão de microalgas para formar aglomerados densos que se depositam rapidamente (ZHOU *et al.*, 2013; BHATTACHARYA *et al.*, 2019). Outra técnica estudada é o cocultivo de bactérias e fungos com as microalgas de interesse, que permitem a formação de agregados que sedimentam (JIANG *et al.*, 2021).

A floculação de microalgas pela adição de bactérias e fungos pode requerer a adição de fontes de carbono e energia para permitir seu crescimento, aumentando a contaminação nos cultivos de microalgas. Desta forma, a concentração de microalgas não floculantes pela adição de microalgas floculantes é uma alternativa promissora, que permite o reaproveitamento total do meio de cultivo, pois dispensa a adição de fontes de carbono, resultando em maior economia (BARROS *et al.*, 2015). A Tabela 8 apresenta alguns resultados da concentração de microalgas por biofloculação.

Tabela 8 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a biofloculação como método de densificação.

Espécie	Biofloculante	Eficiência (%)	Referências
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Ettlia texensis</i>	60	SALIM <i>et al.</i> (2012)
	<i>Ankistrodesmus falcatus</i>	50	
	<i>Scenedesmus obliquus</i>	31	
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Aspergillus niger</i> (Autotrófico)	60	ZHANG e HU (2012)
	<i>Aspergillus niger</i> (Heterotrófico)	25	
<i>Chlorella vulgaris</i>	poly ( $\gamma$ -ácido glutâmico - $\gamma$ -PGA)	82	ZHENG <i>et al.</i> (2012)
<i>Chlorella protothedoides</i>	poly ( $\gamma$ -ácido glutâmico - $\gamma$ -PGA)	90	
<i>Nannochloropsis oceanica</i>	<i>Solibacillus silvestris</i>	90	WAN <i>et al.</i> (2013)
<i>Chlorella vulgaris</i>	<i>Aspergillus oryzae</i> (Heterotrófico)	99,2	ZHOU <i>et al.</i> (2013)
	<i>Aspergillus oryzae</i> (Autotrófico)	93	
<i>Desmodesmus sp.</i>	<i>Bacillus licheniformis</i> $\gamma$ -PGA	99,5	NDIKUBWIMANA <i>et al.</i> (2014)
<i>Desmodesmus brasiliensis</i>	<i>Bacillus licheniformis</i> $\gamma$ -PGA	>99	NDIKUBWIMANA <i>et al.</i> (2016)
Consórcio composto por <i>Chlorella sorokiniana</i> e <i>Scenedesmus sp.</i>	Biomassa bacteriana	40	WÁGNER <i>et al.</i> (2016)
	Biomassa bacteriana + Polímero Catiônico	97	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	<i>Aspergillus fumigatus</i>	>90	BHATTACHARYA <i>et al.</i> (2019)
<i>Chlorella sp.</i>	<i>Pleurotus ostreatus</i>	64,9	LUO <i>et al.</i> (2019)
<i>Desmodesmus sp.</i>	<i>Monoraphidium sp.</i>	85,3	ZHAO <i>et al.</i> (2019)
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	<i>Citrobacter freundii</i> + <i>Mucor circinelloides</i>	97,5	JIANG <i>et al.</i> (2021)

### 3.3.8. Eletrocoagulação

A concentração de biomassa pode ser obtida através da desestabilização das forças repulsivas, naturalmente presentes na suspensão de microalgas, com auxílio de passagem de corrente elétrica. Esse método geralmente ocorre com a imersão de dois eletrodos, um catodo e um anodo de sacrifício, na suspensão contendo as células da microalga. Esses eletrodos podem ser feitos de alumínio, ferro, cobre ou zinco, mas também de carbono como eletrodo não sacrificado (RAHMANI *et al.*, 2017).



Ao utilizar eletrodos metálicos, dois fenômenos ocorrem: a eletrólise da água produz gás oxigênio no anodo e gás hidrogênio no catodo. As microbolhas (O<sub>2</sub> e H<sub>2</sub>) aderem à superfície das células ou flocos de microalgas e flutuam até o topo. Este fenômeno é chamado de eletroflotação. Simultaneamente, o anodo é oxidado e os cátions metálicos ficam disponíveis na suspensão da microalga, desestabilizando as forças eletrostáticas e culminando na formação de flocos que precipitam e sedimentam, fenômeno conhecido como eletrocoagulação (VISIGALLI *et al.*, 2021). A Tabela 9 apresenta alguns resultados da concentração de microalgas por eletrocoagulação.

Tabela 9 - Eficiência de coleta de biomassa algal com a eletrocoagulação como método de densificação.

Espécie	Eletrodo	Eficiência (%)	Referências
<i>Microcystis aeruginosa</i>	Fe	78,9	GAO <i>et al.</i> (2010)
<i>Scenedesmus obliquus</i>	Al	100,0	
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	C	83	MISRA <i>et al.</i> (2015)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Al	95,83	RAHMANI <i>et al.</i> (2017)
	C	79,16	
	Cu	93,75	
	Zn	83,33	
	Fe	70,83	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Al	98	SHI <i>et al.</i> (2017)
<i>Tetraselmis sp.</i>	Al	89,16	DAS <i>et al.</i> (2019)
<i>Spirulina platensis</i>	Al	99,9	SOSSELLA <i>et al.</i> (2020)
	C	86,9	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Fe	> 95	LUCAKOVA <i>et al.</i> (2021)
<i>Nannochloropsis oceanica</i>			FIGUEIREDO <i>et al.</i> (2022)
	Fe	97,2	
	Zn	98,5	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Mg	96,9	
<i>Chlorella vulgaris</i>	Fe	> 85	LUCAKOVA <i>et al.</i> (2022)

Os parâmetros mais relevantes para o método são o tipo de eletrodo utilizado, a distância entre os eletrodos, a densidade de corrente elétrica, o pH do meio, a temperatura, a salinidade e o tempo necessário para sedimentação ou flotação da biomassa concentrada. Alguns obstáculos a serem superados são sua aplicação em maior escala de produção, pois a maioria

dos estudos é realizado em escala de bancada; e a garantia de não contaminação da biomassa concentrada, pois os eletrodos são, em sua maioria, feitos de metais (PISHGAR *et al.*, 2020; MAHMOOD *et al.*, 2021).

### **3.3.9. Comparação entre os métodos de densificação de biomassa de microalgas e cianobactérias**

A Tabela 10 apresenta um resumo descrevendo as vantagens e desvantagens dos métodos de densificação de biomassa. A sedimentação espontânea é o método economicamente mais interessante para concentrar biomassa algal em larga escala, devido a sua baixa demanda por energia, operação simples, não necessitar de uso de floculante e ser não tóxico (VANDAMME *et al.*, 2013; BARROS *et al.*, 2015). No entanto, poucas espécies de microalgas (como *Ettlia texensis*, *Ankistrodesmus falcatus*, *Scenedesmus obliquus* AS-6-1, *Chlorococcum* sp. GD, *Tetraselmis suecica*, *Chlorella vulgaris* JSC-7, *Skeletonema marino*, *Bracteacoccus pseudominor* BERC09 e *Desmodesmus* sp. CHX1) sedimentam espontaneamente (CHEN *et al.*, 2020; MALIK *et al.*, 2022; ZHANG *et al.*, 2022).

Tabela 10 - Principais características dos métodos de concentração de biomassa de microalgas e cianobactérias.

Método	Prós	Contras	Referências
<b>Sedimentação Gravitacional</b>	Não requer investimento significativo de capital, o consumo de energia é insignificante, não tóxico (sem adição de produtos químicos).	Processo lento, poucas microalgas (unicelulares verdes e diatomáceas) e cianobactérias precipitam espontaneamente (são necessários tamanhos de floco > 100 µm), baixa concentração da torta de algas.	(UDUMAN <i>et al.</i> , 2010; SALIM <i>et al.</i> , 2012; ALAM <i>et al.</i> , 2014; BARROS <i>et al.</i> , 2015; DEPRAETERE <i>et al.</i> , 2015; CUI <i>et al.</i> , 2020; LUCKAKOVA <i>et al.</i> , 2022)
<b>Flotação</b>	Alta eficiência, adequado para grande escala, menos intensivo em energia, baixo requisito de espaço, curto tempo de operação, alta flexibilidade.	A alta eficiência depende da adição de floculante/surfactante, que pode ser cara, altas dosagens de floculantes podem contaminar a biomassa, o tempo de flotação varia de poucos minutos a mais de 2 horas, inviabilizando a colheita de microalgas marinhas.	(ALHATTAB e BROOKS, 2020; BARROS <i>et al.</i> , 2015; COWARD <i>et al.</i> , 2014; KANDASAMY e SHALEH, 2018; LEITE <i>et al.</i> , 2019)
<b>Filtração</b>	Menos intensivo em energia do que a centrifugação, a longa vida útil da membrana torna a recuperação relativamente mais econômica a longo prazo, reutilização de água, sem danos às células, adequado para grandes algas como <i>Spirulina</i> sp.	Requisitos de alta energia, problemas com incrustação de membrana e substituição de membranas entupidadas, ineficiente para pequenas algas como <i>Chlorella</i> sp., produto coletado muito diluído e pode precisar de concentração adicional, problemas potenciais com aumento de escala.	(AHMAD <i>et al.</i> , 2014; BILAD <i>et al.</i> , 2014; HARUN <i>et al.</i> , 2010; SINGH E PATIDAR, 2018)

Continuação - Tabela 10 - Principais características dos métodos de concentração de biomassa de microalgas e cianobactérias.

Método	Prós	Contras	Referências
<b>Centrifugação</b>	Alta eficiência, método rápido e confiável, a biomassa pode permanecer totalmente contida durante a recuperação.	Altos custos financeiros e de energia para aplicação de alta força g, baixa escalabilidade e efeito centrífugo danificam as células.	(AHMAD <i>et al.</i> , 2014; CHRISTENSON e SIMS, 2011; HARUN <i>et al.</i> , 2010; MOLINA GRIMA <i>et al.</i> , 2003)
<b>Coagulação/Floculação Química</b>	Processo de baixa energia em condições ótimas, método simples e rápido, alta eficiência, trata grandes volumes de cultivo, grande número de coagulantes orgânicos e inorgânicos.	Depende da concentração de algas, pH do meio e dosagem de coagulantes, o processo é oneroso a depender do tipo de coagulante, a contaminação da biomassa com metais restringe sua aplicação posterior, a remoção do excesso de coagulantes do meio leva a custos operacionais extras e energia, alguns coagulantes afetam adversamente os componentes bioquímicos (proteínas, amido e lipídios).	(BARROS <i>et al.</i> , 2015; UDUMAN <i>et al.</i> , 2010; UMMALYMA <i>et al.</i> , 2016; VANDAMME <i>et al.</i> , 2013; SCHENK <i>et al.</i> , 2008)
<b>Autofloculação</b>	Método fácil e de baixo custo, alta eficiência, permite a reciclagem do meio de cultivo, não tóxico para a biomassa algal, efeito negativo sobre microrganismos patogênicos.	Maior influência na recuperação de microalgas marinhas, alterações na composição celular.	(BARROS <i>et al.</i> , 2015; GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ e BALLESTEROS, 2013; SALIM <i>et al.</i> , 2013)

Continuação - Tabela 10 - Principais características dos métodos de concentração de biomassa de microalgas e cianobactérias.

Método	Prós	Contras	Referências
<b>Biofloculação</b>	A energia necessária é reduzida, sem produtos químicos extras, sem custos operacionais extras e energia para processamento a jusante ou reutilização do meio, microrganismos adicionados podem contribuir para o aumento dos rendimentos de metano e lipídios.	A produção de biofloculantes requer diferentes condições de cultivo (custos adicionais do meio e aumento do risco de contaminação microbiana), as recuperações alcançadas pela biofloculação são menores do que a autofloculação e a floculação química.	(BARROS <i>et al.</i> , 2015; SALIM <i>et al.</i> , 2012)
<b>Eletrocoagulação</b>	Alta eficiência, o processo costuma ser rápido, bons resultados com eletrodos de carbono, que não causam contaminação da biomassa, podendo ser aplicado em espécies marinhas e de água doce.	Intensivo em energia, melhores resultados com eletrodos de Al e Fe, possível contaminação da biomassa, substituição do eletrodo e incrustação dos cátodos, aumento da temperatura e mudanças no pH da suspensão de algas.	(FIGUEIREDO <i>et al.</i> , 2022; MISRA <i>et al.</i> , 2015; RAHMANI <i>et al.</i> , 2017; SOSSELLA <i>et al.</i> , 2020; VANDAMME <i>et al.</i> , 2011)

A coagulação/floculação química pode concentrar a biomassa algal em maior escala devido a sua relação custo-benefício e eficiência operacional. Este método pode aumentar significativamente a eficiência da concentração quando usado como uma técnica de pré-concentração, antes da centrifugação, flotação ou filtração por membrana (NOH *et al.*, 2018; LEITE *et al.*, 2019). A autofloculação e a biofloculação são métodos de baixo custo e consumo de energia, não tóxicos para as microalgas e não utilizam floculantes, permitindo o reaproveitamento do meio de cultivo. No entanto, esses métodos ainda não são utilizados em escala industrial, pois trabalham com cepas específicas, não são confiáveis para floculação controlada e podem causar alterações na composição celular (BARROS *et al.*, 2015).

A centrifugação é o método convencional, fornecendo concentrações de biomassa até um nível de desidratação de 20%. No entanto, o uso de energia é altamente intensivo, especialmente em um ambiente de grande escala, e é adequado apenas para produtos de alto valor (NAJJAR e ABU-SHAMLEH, 2020). A filtração por membrana é mais favorável quando comparada à centrifugação, devido ao seu menor consumo de energia e menor pegada de carbono para a concentração de microalgas. Além disso, a filtração por membrana possibilita a densificação de microalgas de maneira altamente eficiente, mantendo a qualidade da biomassa inalterada (LAU *et al.*, 2020).

A concentração por flotação e eletrocoagulação atinge eficiências semelhantes às obtidas por centrifugação com menor consumo de energia e custos totais. A flotação é um método estabelecido para remover as algas da suspensão, o que é mais vantajoso e eficaz do que a sedimentação. No entanto, é limitado em sua viabilidade técnica e econômica. Além disso, a flotação requer injeção de ar e etapa prévia de floculação química, o que aumenta o consumo de energia e os custos de densificação, em comparação com a sedimentação por gravidade (CHRISTENSON e SIMS, 2011; BARROS *et al.*, 2015).

A eletrocoagulação para densificação de microalgas possui diversos benefícios em termos de custos e segurança. Apesar de não requerer a adição de coagulante químico, é uma abordagem incomum devido ao esgotamento dos eletrodos metálicos e possível contaminação da biomassa de microalgas (MISRA *et al.*, 2015). Em comparação com a coagulação química, a eletrocoagulação também apresenta alta eficiência de densificação, mas oferece mais vantagens: não introduz sulfatos e cloretos no meio; os coagulantes produzidos são altamente eficientes em concentrações mais baixas e o ajuste de pH é desnecessário. Além disso, durante o processo, não ocorre consumo de alcalinidade e as microbolhas produzidas no anodo e catodo também podem contribuir para a separação de poluentes por flotação (GAO *et al.*, 2010).

Embora a filtração por membrana, a centrifugação e a floculação química mantenham altas eficiências em situações mais diversas, o método de sedimentação espontânea também atinge altas eficiências, mas é limitado a algumas espécies de microalgas. Em contrapartida, a autofloculação e a biofloculação são os métodos que promovem faixas mais extensas de eficiência de concentração. Porém, juntamente com a sedimentação espontânea, apresentam menor consumo de energia. Enquanto centrifugação, floculação química e filtração por membrana são os métodos com maior consumo de energia. Portanto, conclui-se que, em geral, os métodos de densificação que resultam em altas eficiências de concentração de biomassa para diferentes espécies e condições também levam ao aumento dos custos de operação e manutenção (LEE *et al.*, 2010; VANDAMME *et al.*, 2012; NDIKUBWIMANA *et al.*, 2016).

Praticamente todos os estudos de densificação de microalgas citam Molina Grima *et al.* (2003), que estimou que os custos associados à coleta de microalgas representam mais de 20 a 30% dos custos totais da produção de microalgas. Os custos para densificação de biomassa estão entre 0,2 e 18 US\$/kg de peso seco produzido, mostrando uma correlação com o consumo de energia, exceto para coagulação/floculação química.

Os custos de coagulação/floculação e flotação estão relacionados ao tipo de coagulante ou tensoativo utilizado (LEE *et al.*, 2010; VANDAMME *et al.*, 2012; NDIKUBWIMANA *et al.*, 2016). Por exemplo, Behera e Balasubramanian (2019) citam custos de US\$ 9,02, US\$ 0,28 e US\$ 0,037 para recuperar 1 Mt de algas úmidas sob condições ótimas com quitosana, alumen e um coagulante natural extraído de *Moringa oleifera*, respectivamente. Alkarawi *et al.* (2018) mencionam o custo de US\$ 0,179 para concentrar 1 m<sup>3</sup> de biomassa (*Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana* e *Tetraselmis suecica*) com surfactante brometo de cetiltrimetilamônio (CTAB - *cetyltrimethylammonium bromide*) (35 mg/L) e obter eficiência de concentração superior a 89%. Em relação ao custo do processo, vale ressaltar que um floculante com excelente relação custo-benefício para concentrar microalgas ou cianobactérias específicas pode apresentar baixo custo-benefício para outra espécie. Lama *et al.* (2016) calcularam os custos de coagulação/floculação com quitosana e NaOH para várias espécies e obtiveram razões custo/fator de concentração variando de 0,4 para *Nannochloropsis oculata* com 0,03 g FeCl<sub>3</sub>/g de biomassa a 103,7 para *Pseudanabaena* CY14-1 com 0,33 g quitosana/g biomassa.

Diversos pesquisadores relatam que a comercialização de biomassa de algas, concentrada com tecnologias de alto gasto energético, é viável apenas para produtos de alto valor agregado (DAS *et al.*, 2019; MOLINA-MIRAS *et al.*, 2019). Para produtos de baixo valor agregado, obtidos a partir de biomassa de microalgas densificada, como os biocombustíveis, a

energia para a concentração das suspensões não deve exceder 1,8 kWh/kg de peso seco (BOROWITZKA, 2008). Este limite corresponde a 0,5 kWh/m<sup>3</sup> para uma suspensão de microalgas com 0,3 kg de peso seco/m<sup>3</sup>, possibilitando apenas as tecnologias de sedimentação espontânea, autofloculação, biofloculação e casos muito específicos das demais tecnologias.

Uma alternativa para reduzir os custos de densificação seria um processo em várias etapas, combinando etapas de pré-concentração de baixo custo, com técnicas de alta eficiência e baixo custo. Ríos *et al.* (2012) propuseram reduzir os custos de densificação de microalgas de US\$ 750/kg (com filtração de fluxo cruzado) para US\$ 8,5/kg adicionando uma etapa de pré-concentração de sedimentação, após floculação induzida por ajuste de pH, antes da filtração por membrana. Wang *et al.* (2019) reduziram os custos de densificação de *Scenedesmus obliquus* em quase 50% (de 9,63 para US\$ 5,47/kg de peso seco) combinando uma pré-concentração por floculação com sulfato férrico e centrifugação. Lucakova *et al.* (2021) utilizaram uma etapa de pré-concentração de eletrocoagulação antes da centrifugação, reduzindo os custos totais de energia para 14% do custo da centrifugação sozinha.

Os estudos apontados demonstram que a escolha do método de densificação mais adequado deve estar intimamente associado às características da espécie de cianobactéria e/ou microalga de interesse, bem como aos produtos derivados, produzidos a partir da biomassa densificada.

### 3.4. REUTILIZAÇÃO DO SOBRENADANTE APÓS A DENSIFICAÇÃO DE MICROALGAS E CIANOBACTÉRIAS

Como visto nos tópicos anteriores, a escolha de um método de densificação eficiente é fundamental na produção de biomassa de microalgas e cianobactérias. Os métodos que apresentam maior concentração de biomassa são também os que produzem maior volume de sobrenadante como resíduo. Desta forma, a investigação da viabilidade de reutilização do sobrenadante representa uma estratégia importante na redução da pegada hídrica, amenização da necessidade de adição de nutrientes, aumento do custo-benefício no projeto e garantia da sustentabilidade do sistema (HE *et al.*, 2020; DZUMAN *et al.*, 2022).

Augustine *et al.* (2019) avaliaram a viabilidade da reutilização do meio de cultivo de *Parachlorella kessleri-I*, após floculação com diferentes coagulantes inorgânicos (FeCl<sub>3</sub>, MgCl<sub>2</sub>, ZnCl<sub>2</sub>, Al<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>3</sub>, MgSO<sub>4</sub> e ZnSO<sub>4</sub>) e com o coagulante orgânico quitosana. Neste



experimento, o grupo controle era formado por meio de cultivo reciclado, obtido após centrifugação de *P. kessleri*. Os resultados apontaram que os cultivos inoculados em meio reciclado de  $ZnCl_2$  e quitosana apresentaram maior produção de biomassa, quando comparados ao grupo controle. Para os cultivos com sobrenadante de ensaios com quitosana, os autores atribuíram a presença de quitosana residual a este aumento de produtividade, pois este biocoagulante pode inibir o crescimento de bactérias, aumentando a disponibilidade de nutrientes no meio. A maior produtividade nos cultivos em sobrenadante com  $ZnCl_2$  pode estar associada à maior concentração do micronutriente zinco no meio de cultivo.

Em contrapartida, Dasan *et al.* (2021) avaliaram a reutilização do meio de cultivo de *Chlorella vulgaris*. A microalga foi cultivada em um sistema composto por cinco fotobiorreatores de fluxo contínuo, conectados em série, feitos por frascos do tipo Duran com volume útil de 5 L cada. Os frascos possuíam iluminação contínua ( $60 - 70 \mu\text{mol}/\text{m}^2.\text{s}$ ) durante os 14 dias de cultivo. Após este período, *C. vulgaris* foi concentrada por sedimentação gravitacional. Este ciclo de cultivo foi repetido por mais três vezes, totalizando quatro grupos de cultivo (contando com o grupo controle, cultivado em meio BBM – *Bold's Basal Medium*). Ao avaliar o crescimento de *C. vulgaris*, os autores observaram que a reutilização do meio de cultivo alterou negativamente o crescimento da biomassa ao longo dos ciclos com reciclagem do meio. Ao final do período de crescimento *C. vulgaris* apresentou concentração de 1,42 g/L no grupo controle, e uma redução de 37,79 % na concentração de biomassa no primeiro ciclo de reutilização. O segundo e terceiro ciclos de reciclagem de meio também apresentaram concentrações mais baixas, de 0,68 g/L e 0,43 g/L, respectivamente. Os autores atribuíram a redução de concentração ao longo do experimento à presença de ácidos graxos e polissacarídeos excretados pela microalga, que são inibitórios ao crescimento celular. A presença de matéria orgânica no meio de cultivo pode ter afetado as propriedades reológicas do meio de cultivo, influenciando a troca gasosa entre a microalga e o meio e a absorção de nutrientes pelas células.

A Tabela 11 a seguir apresenta estudos com a reciclagem do meio de cultivo, provenientes de diferentes métodos de densificação de biomassa das mais diversas espécies de cianobactérias e microalgas.

Tabela 11 - Reutilização do meio de cultivo proveniente de diferentes métodos de densificação de biomassa.

Espécie	Método de densificação	Objetivo	Referência
<i>Chlorella vulgaris</i> , <i>Scenedesmus sp.</i> , <i>Chlorococcum sp.</i> , <i>Nannochloropsis oculata</i> e <i>Phaedactylum tricornutum</i>	Autofloculação	Biocombustível	WU <i>et al.</i> (2012)
<i>Chlorococcum nivale</i> , <i>Chlorococcum ellipsoideum</i> , <i>Scenedesmus sp.</i> , <i>Chlorella zofingiensis</i> e <i>Chlorella vulgaris</i>	Biofloculação	Biocombustível	LIU <i>et al.</i> (2014)
<i>Arthrospira platensis</i>	Filtração/Floculação	Tratamento do meio de cultivo/avaliação de crescimento da espécie	MOROCHO-JÁCOME <i>et al.</i> (2015)
<i>Scenedesmus sp.</i>	Coagulação/Floculação	Avaliação da viabilidade do meio reciclado	DAS <i>et al.</i> (2016)
<i>Nannochloropsis sp.</i>	Centrifugação/Filtração	Avaliação da viabilidade do meio reciclado	FRET <i>et al.</i> (2017)
<i>Parachlorella kessleri-I</i>	Floculação	Biocombustível	AUGUSTINE <i>et al.</i> (2019)

Continuação - Tabela 11 - Reutilização do meio de cultivo proveniente de diferentes métodos de densificação de biomassa.

Espécie	Método de densificação	Objetivo	Referência
<i>Scenedesmus acuminatus</i>	Filtração	Análise de mecanismos inibitórios	LU <i>et al.</i> (2019)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Sedimentação Gravitacional	Avaliação da viabilidade do meio reciclado	DASAN <i>et al.</i> (2021)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Centrifugação	Análise de mecanismos inibitórios	HE <i>et al.</i> (2020)
<i>Scenedesmus almeriensis</i>	Filtração	Produção de Luteína	MOLINO <i>et al.</i> (2020)
<i>Tetradasmus obliquus</i>	Sedimentação Gravitacional	Biocombustível	DZUMAN <i>et al.</i> (2022)
<i>Haematococcus pluvialis</i>	Floculação	Recuperação de astaxantina	MARINHO <i>et al.</i> (2022)
Consórcio de cianobactérias	Centrifugação	Avaliação de nutrientes no meio reciclado	PAQUETTE <i>et al.</i> (2022)
<i>Spirulina platenses</i> , <i>Scenedesmus obliquus</i> e <i>Chlorella sorokiniana</i>	Filtração	Avaliação da viabilidade do meio reciclado	RICCERI <i>et al.</i> (2022)

#### 4. MATERIAL E MÉTODOS

Neste estudo, a cianobactéria *Synechococcus subsalsus* foi cultivada em meio BG-11, previamente esterilizado, disposta em erlenmeyers, em *shaker* rotatório, com controle de iluminação e temperatura, por um período superior a 30 dias. O crescimento dos cultivos foi acompanhado através de leituras de Densidade Óptica (DO) para a determinação do desenvolvimento da biomassa (OLIVEIRA *et al.*, 2019).

Após o período de cultivo, as suspensões da cianobactéria foram submetidas a *Jar Tests* com a adição de dois coagulantes distintos: cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3$ ) e quitosana de baixa massa molecular (QBMM). A densificação da biomassa de *S. subsalsus* foi medida através da Eficiência de Remoção de Demanda Química de Oxigênio, Eficiência de Remoção de Densidade Óptica e Fator de Concentração.

Ademais, testes com o sobrenadante, proveniente dos experimentos com  $\text{FeCl}_3$ , foram realizados para avaliação da viabilidade de reutilização deste material como meio de cultivo para novas células de *S. subsalsus*.

##### 4.1. ETAPAS DE TRABALHO

Para atingir os objetivos anteriormente determinados, as etapas descritas a seguir, e apresentadas na Figura 4, foram desenvolvidas no estudo:

- Realizar cultivos de aproximadamente 35 dias da cianobactéria, em meio BG-11 em erlenmeyer sob condições controladas de iluminação em fotoperíodo (claro/escuro), agitação e temperatura;
- Realizar ensaios em *Jar Tests* para levantamento das melhores condições de densificação (pH, concentração do coagulante) das suspensões obtidas empregando-se o método de coagulação/floculação com adição de cloreto férrico.
- Realizar ensaios em *Jar Tests* para levantamento das melhores condições de densificação (pH, concentração do coagulante) das suspensões obtidas empregando-se o método de coagulação/floculação com adição de quitosana de baixa massa molecular.
- Conduzir novos cultivos de *S. subsalsus* com diferentes proporções do sobrenadante da etapa de coagulação/floculação no meio de cultivo BG-11, empregando as mesmas condições da primeira etapa.

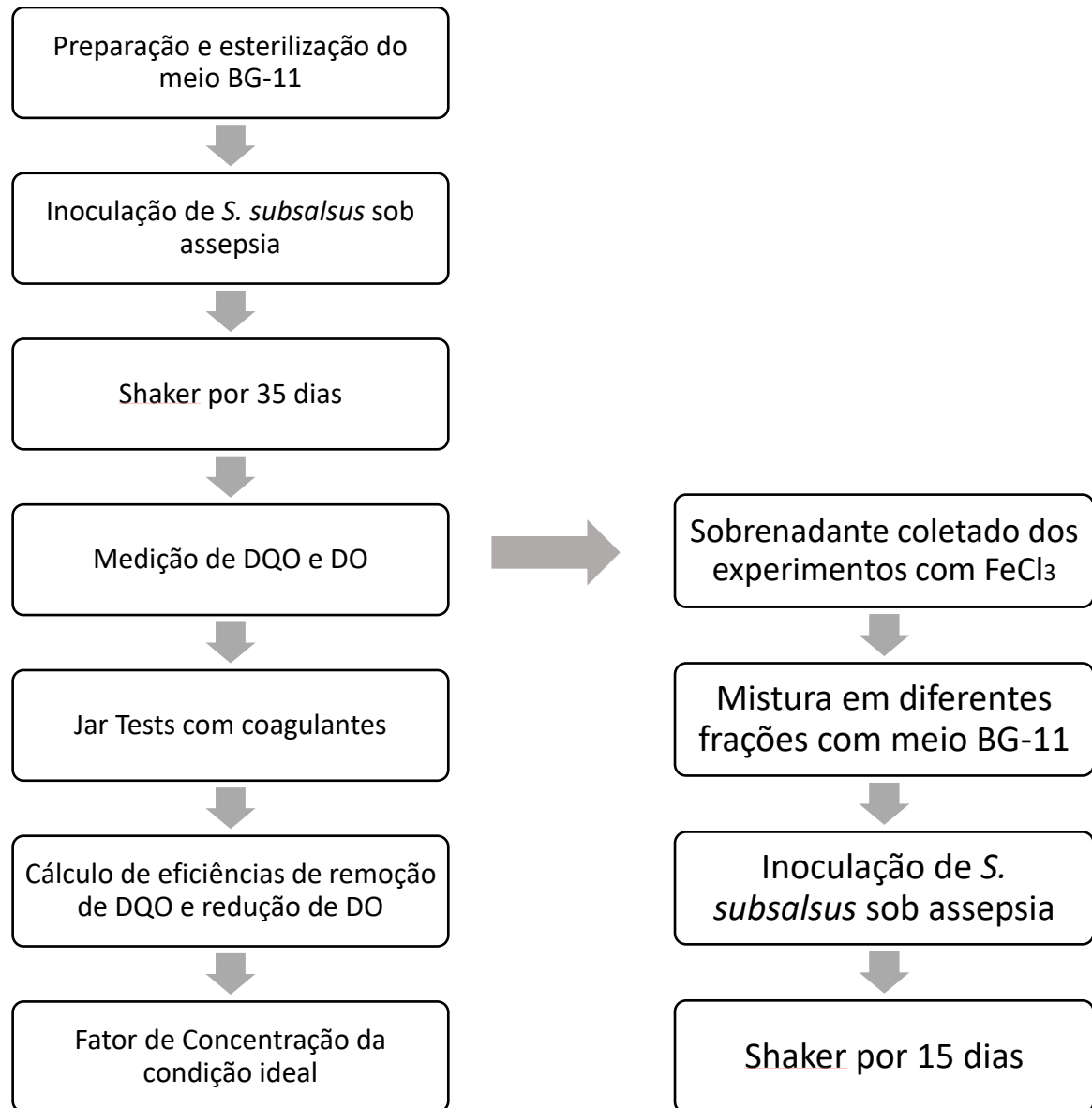


Figura 4: Etapas de cultivo, crescimento e densificação de *S. subsalsus*.

#### 4.2. CULTIVO E CRESCIMENTO DE *Synechococcus subsalsus*

A cepa de cianobactéria *Synechococcus subsalsus* utilizada no trabalho foi obtida do Banco de Microrganismos Aidar & Kutner – BMAK, do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (USP). A cianobactéria foi cultivada em frascos tipo Erlenmeyer de 250 e 500 mL, contendo 100 e 300 mL de meio BG-11 estéril, respectivamente. A composição do meio BG-11 está apresentada nas Tabelas 12 e 13.

As condições de inoculação e crescimento foram baseadas nas condições utilizadas por Oliveira *et al.* (2019). Para cada grupo de cultivo, foram preparados dois litros de meio BG-11, divididos em seis frascos Erlenmeyer de 500 mL e dois frascos de 250 mL. Os frascos foram

tampados com rolhas de algodão envolvido por gaze, para permitir a troca gasosa. A esterilização deste meio ocorreu em autoclave a 1 atm durante 15 minutos. Após o resfriamento, os frascos contendo o meio foram colocados em câmara de fluxo laminar com luz UV durante 25 minutos.

Tabela 12 - Composição do meio BG-11 para cultivo da cianobactéria *S. subsalsus*.

Composto	Fornecedor	Concentração (g/L)
Nitrato de sódio (NaNO <sub>3</sub> )	B. Herzog	1,500
Fosfato de potássio dibásico (K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub> )	Vetec	0,040
Sulfato de magnésio (MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	Proquimios	0,075
Cloreto de cálcio (CaCl <sub>2</sub> .2H <sub>2</sub> O)	Merck	0,036
Ácido cítrico (C <sub>6</sub> H <sub>8</sub> O <sub>7</sub> )	Synth	0,006
Citrato férrico amoniacal (NH <sub>4</sub> ) <sub>5</sub> [Fe(C <sub>6</sub> H <sub>4</sub> O <sub>7</sub> ) <sub>2</sub> ]	Vetec	0,006
EDTA	Synth	0,001
Carbonato de sódio (Na <sub>2</sub> CO <sub>3</sub> )	Vetec	0,020
Mistura de metais traço ( <i>Trace Metal Mix A5</i> )	-	1 mL/L
O pH deve ser igual a 7,1 após esterilização		

Fonte: CYANOSITE (2003)

Tabela 13 - Composição da mistura de metais traço para o preparo do meio BG-11

Composto	Fornecedor	Concentração (g/L)
Ácido Bórico (H <sub>3</sub> BO <sub>3</sub> )	Vetec	2,8600
Cloreto de manganês (MnCl <sub>2</sub> .4H <sub>2</sub> O)	Synth	1,8100
Sulfato de zinco (ZnSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O)	Limpatex	0,2220
Molibdato de sódio (NaMoO <sub>4</sub> .2H <sub>2</sub> O)	Synth	0,3900
Sulfato de cobre (CuSO <sub>4</sub> .5H <sub>2</sub> O)	Synth	0,0790
Nitrato de cobalto (Co(NO <sub>3</sub> ) <sub>2</sub> .6H <sub>2</sub> O)	Synth	0,0494

Fonte: CYANOSITE (2003)

Posteriormente, a inoculação foi feita dentro da câmara de fluxo, inserindo-se uma alíquota concentrada da cianobactéria, proveniente de um grupo de cultivo anterior, com tempo

de incubação superior a 30 dias. O volume de inóculo adicionado a cada frasco Erlenmeyer foi determinado em função da concentração da alíquota de *S. subsalsus* utilizada, para que a densidade óptica (DO) inicial fosse igual a 0,06 em comprimento de onda de 750 nm.

Após inoculação, o grupo de cultivo foi disposto em *shaker* rotatório a 150 rpm, com temperatura de 23 °C e fotoperíodo de 12h:12h (43  $\mu\text{mol}$  fótons/m<sup>2</sup>s). Cada grupo de cultivo permaneceu nesta condição por aproximadamente 35 dias.

O crescimento de *Synechococcus subsalsus* foi acompanhado por medições da DO da suspensão em comprimento de onda de 750 nm. Ao final do período de crescimento, a suspensão de cianobactéria obtida foi identificada quanto ao tempo de cultivo (dias), pH final e temperatura média do cultivo (°C), antes dos ensaios em *Jar Test*.

Para construção das curvas de crescimento da cianobactéria, foram retiradas alíquotas ao longo do tempo dos cultivos realizados. A DO inicial dos cultivos ( $0,060 \pm 0,006$ ) e de cada alíquota retirada foram convertidas em massa seca para determinação do perfil de crescimento das cianobactérias.

#### 4.3. ENSAIOS DE COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO DA SUSPENSÃO DE *Synechococcus subsalsus*

As condições de coagulação/floculação e sedimentação para a concentração da suspensão obtida após o crescimento dos grupos de cultivo foram avaliadas em *Jar Test* (NOVA ÉTICA, modelo 218/6) com dois coagulantes: cloreto férrico e quitosana. As condições de operação foram definidas baseadas nas condições apresentadas por Pinto (2017). A mistura de suspensão e coagulante foi mantida sob agitação rápida de 100 rpm durante um minuto, na etapa de coagulação; seguida de agitação lenta de 40 rpm por 15 minutos para a floculação. O tempo de repouso para a sedimentação dos flocos formados foi de 45 minutos.

##### 4.3.1. Ensaios com cloreto férrico

Os ensaios realizados com o coagulante cloreto férrico foram conduzidos em triplicata, em béqueres de 600 mL, contendo 300 mL de amostras da suspensão de *S. subsalsus*. Uma solução concentrada com 6 g/L de cloreto férrico ( $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ , VETEC) foi utilizada para a

dosagem do coagulante. Um determinado volume desta solução foi adicionado diretamente ao béquer e, em seguida, o pH ajustado para os valores iniciais desejados pela adição de ácido ( $\text{H}_2\text{SO}_4$  1 mol/L) ou álcalis (NaOH 1 mol/L).

Considerando o amplo intervalo de dosagem de cloreto férrico (20 – 700 mg/L) encontrado na literatura para experimentos de coagulação/floculação de microalgas e cianobactérias (PÉREZ *et al.*, 2016; DENESHVAR *et al.*, 2020), pré-testes foram realizados com a concentração de 100 mg/L e 200 mg/L para a observação da formação de flocos. O aspecto visual dos béqueres indicou baixa formação de flocos em concentração de 100 mg/L, aumentando na concentração de 200 mg/L. Entretanto, para a concentração de 200 mg/L, o sobrenadante não estava límpido. Portanto, a concentração foi dobrada para garantir a coagulação/floculação de *S. subsalsus* no início dos testes. A concentração de 400 mg/L de coagulante foi então fixada para avaliação da melhor condição de coagulação/floculação da suspensão dentro da faixa de pH 4 a 9. Fixando o pH no valor apontado na melhor condição do teste anterior, a concentração de coagulante foi avaliada entre 80 e 480 mg/L de cloreto férrico.

Para quantificação da concentração de cianobactérias nas suspensões dos grupos de cultivo e na biomassa concentrada após coagulação/floculação, empregou-se a análise de Demanda Química de Oxigênio (DQO). Este parâmetro foi empregado nos ensaios com cloreto férrico porque este coagulante confere coloração amarelada às amostras, interferindo nas leituras de densidade óptica (DO) do sobrenadante após os *Jar Tests*.

A DQO foi medida em alíquotas das suspensões antes dos *Jar Tests* e do sobrenadante após o período de sedimentação. A conversão de DQO em sólidos suspensos totais (SST) foi determinada por meio da Equação 8, apresentada na seção 4.5.4 deste trabalho. Essa equação corresponde à reta de melhor ajuste na curva de correlação apresentada na seção Anexo.

#### **4.3.2. Ensaios com quitosana de baixa massa molecular**

Uma quitosana de baixa massa molecular (*chitosan – low molecular weight*, SIGMA ALDRICH) foi utilizada para os experimentos de coagulação/floculação da suspensão da cianobactéria. Este composto possui massa molecular entre 50.000 e 190.000 Da, baseado na viscosidade, com grau de desacetilação entre 75% e 85%.

Como a quitosana é um polímero insolúvel em água, as soluções foram preparadas em Ácido Acético 1% ( $\text{CH}_3\text{COOH}$ , SYNTH), sob agitação constante de 300 rpm e aquecimento a



30 °C, até a completa solubilização do pó (GERCHMAN *et al.*, 2017; ZHU *et al.*, 2018). Todas as soluções utilizadas foram preparadas no mesmo dia dos ensaios de *Jar Test*. Uma solução concentrada foi preparada com 8,64 g/L de quitosana, considerando a pureza de 86,4%. Uma alíquota desta solução foi adicionada diretamente aos béqueres antes do ensaio e, posteriormente, o ajuste de pH foi feito com adição de ácido (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 1 mol/L) ou álcalis (NaOH 1 mol/L).

Os ensaios foram conduzidos em béqueres de 600 mL e 1 L, contendo 150 mL de suspensão de *S. subsalsus*. Analogamente ao observado nos experimentos com o cloreto férrico, os experimentos com quitosana para a coagulação/floculação de microalgas e cianobactérias apresentam um intervalo amplo de dosagem de coagulante (10 – 250 mg/L) (PÉREZ *et al.*, 2016; ZHU *et al.*, 2018). Para este trabalho, pré-testes foram realizados com as concentrações de 10 mg/L e 50 mg/L. Visualmente, poucos flocos foram formados nos testes com concentração de 10 mg/L. A quantidade de flocos formados aumentou na concentração de 50 mg/L; entretanto, o sobrenadante permaneceu esverdeado. Com isso, a dosagem foi dobrada para garantir a coagulação/floculação da biomassa. A concentração de quitosana de 100 mg/L foi então fixada para a determinação da melhor condição de pH dentro da faixa de 4 a 9. Com o pH fixado no valor que apresentou melhor resultado nos testes anteriores, a concentração de quitosana foi avaliada entre 20 e 120 mg/L.

Devido à natureza orgânica da quitosana, o dicromato de potássio empregado na análise de DQO oxidaria tanto a biomassa de *S. subsalsus* como a quitosana, interferindo nos resultados. Assim, a quantificação da concentração de cianobactérias nas suspensões dos grupos de cultivo e na biomassa concentrada após a coagulação/floculação com quitosana foi determinada pela leitura de densidade óptica (DO) no comprimento de onda de 750 nm. Nestes ensaios, a quantificação da biomassa concentrada foi avaliada com uma curva de correlação entre as leituras de DO e a massa seca da suspensão (g SST/L). A Equação 9, presente na seção 4.5.4, corresponde à reta de melhor ajuste na curva de correlação apresentada na seção Anexo.

### **4.3.3. Avaliação da densificação de *S. subsalsus* por coagulação/floculação**

#### **4.3.3.1. Eficiência de remoção**

A fim de se avaliar a concentração de biomassa após os *Jar Tests*, a eficiência de

remoção foi calculada para todas as condições de pH e concentração de coagulantes. Para os ensaios com cloreto férrico, utilizou-se a Eficiência de Remoção de Demanda Química de Oxigênio (ERDQO), conforme Equação 1:

$$ERDQO (\%) = \frac{(DQO_{ini} - DQO_{sobr})}{DQO_{ini}} \times 100 \quad (1)$$

Onde:

$DQO_{ini}$  (g O<sub>2</sub>/L) é a demanda química de oxigênio da suspensão de *S. subsalsus* antes do *Jar Test*, e  $DQO_{sobr}$  (g O<sub>2</sub>/L) é a demanda química de oxigênio do sobrenadante após o *Jar Test*.

Nos ensaios com a quitosana de baixo peso molecular, a Eficiência de Remoção de Densidade Óptica (ERDO) foi calculada através da Equação 2:

$$ERDO (\%) = \frac{(DO_{ini} - DO_{sobr})}{DO_{ini}} \times 100 \quad (2)$$

Onde:

$DO_{ini}$  corresponde à densidade óptica da suspensão de cianobactéria antes do *Jar Test*, e  $DO_{sobr}$  à densidade óptica do sobrenadante após o *Jar Test*, ambas em comprimento de onda de 750 nm.

#### 4.3.3.2. Fator de concentração

O Fator de Concentração (FC) também foi utilizado para avaliação da eficiência de concentração da suspensão de *S. subsalsus* após os ensaios de *Jar Test*. Para os testes com cloreto férrico, o fator de concentração ( $FCa$ ) foi calculado de acordo com a Equação 3 a seguir:

$$FCa = \left( \frac{(DQO_{ini} \times V_{ini}) - (DQO_{sobr} \times V_{sobr})}{V_{ini} - V_{sobr}} \right) / DQO_{ini} \quad (3)$$

Onde:

$DQO_{ini}$  (g O<sub>2</sub>/L) corresponde à demanda química de oxigênio da suspensão de cianobactérias antes do *Jar Test* e  $V_{ini}$  (L) corresponde ao volume inicial desta suspensão

contido no béquer. Analogamente,  $DQO_{sobr}$  (g O<sub>2</sub>/L) é o valor da demanda química de oxigênio do sobrenadante após o *Jar Test*, e  $V_{sobr}$  (L) o volume de sobrenadante após o processo de coagulação/floculação/sedimentação.

Medições de densidade óptica no comprimento de onda de 750 nm foram utilizadas para o cálculo de fator de concentração nos ensaios com a quitosana de baixa massa molecular (*FCb*), conforme apresentado na Equação 4.

$$FCb = \left( \frac{(DO_{ini} \times V_{ini}) - (DO_{sobr} \times V_{sobr})}{V_{ini} - V_{sobr}} \right) / DO_{ini} \quad (4)$$

Onde:

$DO_{ini}$  corresponde à densidade óptica da suspensão de *S. subsalsus* antes do *Jar Test* e  $V_{ini}$  (L) ao volume de suspensão contida no béquer antes da adição de coagulante.  $DO_{sobr}$  refere-se à densidade óptica do sobrenadante, bem como  $V_{sobr}$  (L) é o volume de sobrenadante ao final do *Jar Test*.

#### 4.4. ENSAIOS DE APROVEITAMENTO DO SOBRENADANTE COMO MEIO DE CULTIVO

Ensaios com a reutilização do sobrenadante, proveniente dos ensaios de coagulação/floculação, como meio de cultivo foram realizados para testar a viabilidade de utilização dessa fração líquida residual, através da análise do crescimento da cianobactéria *S. subsalsus* durante 15 dias. Após a identificação da melhor condição de concentração de biomassa com o coagulante FeCl<sub>3</sub>, *Jar Tests* foram realizados sob esta condição para que o sobrenadante fosse obtido e reservado. Um volume de 1,8 L de sobrenadante foi coletado e filtrado sob vácuo em membrana de acetato de celulose (0,45 µm) para a remoção de possíveis flocos existentes. Adicionalmente, 2,7 L de meio BG-11 foram preparados para compor as misturas de sobrenadante e meio de cultivo avaliadas no estudo.

O teste foi realizado em triplicata, com diferentes proporções da fração líquida sobrenadante filtrada na composição do meio de cultivo. Os grupos de cultivo foram divididos conforme discriminado a seguir:

- A) Meio de cultivo composto somente por meio BG-11;
- B) Meio de cultivo composto por mistura de 80% (v/v) de meio BG-11 e 20% (v/v) de sobrenadante filtrado;

- C) Meio de cultivo composto por mistura de 60% (v/v) de meio BG-11 e 40% (v/v) de sobrenadante filtrado;
- D) Meio de cultivo composto por mistura de 40% (v/v) de meio BG-11 e 60% (v/v) de sobrenadante filtrado;
- E) Meio de cultivo composto por mistura de 20% (v/v) de meio BG-11 e 80% (v/v) de sobrenadante filtrado.

Para cada grupo de cultivo (A, B, C, D e E), 300 mL de meio foram adicionados em frascos Erlenmeyer de 500 mL de volume útil. Conforme descrito no item 3.1, os frascos foram esterilizados em autoclave e câmara de fluxo laminar. E, em seguida, inoculados para uma DO inicial de 0,06 em comprimento de onda de 750 nm.

Um total de 15 frascos Erlenmeyer foram inoculados com *S. subsalsus*: três frascos com 300 mL de meio BG-11 em cada um, e 12 frascos com 300 mL das misturas de sobrenadante filtrado e meio BG-11. O grupo de cultivo A, composto por 100% de meio BG-11 foi utilizado como controle.

O crescimento dos grupos de cultivo foi acompanhado durante 15 dias, através da retirada de alíquotas de cada frasco para a medição da densidade óptica no comprimento de onda de 750 nm. Posteriormente, uma curva de correlação DO x SST foi utilizada para a determinação do peso seco das amostras neste período.

#### 4.5. MÉTODOS ANALÍTICOS

##### 4.5.1. pH

O pH foi medido em potenciômetro digital QUIMIS 400MT, previamente calibrado com soluções tampão 4,01 e 9,18.

##### 4.5.2. Demanda Química de Oxigênio (DQO)

A DQO determina a quantidade de oxigênio necessária para oxidação da fração orgânica dos cultivos de *S. subsalsus*, através da ação do dicromato de potássio ( $K_2Cr_2O_7$ ) (CETESB, 2018). A análise foi realizada pelo método padrão colorimétrico de refluxo fechado (APHA, 2017). As leituras foram feitas em triplicata para as amostras e em duplicata para o branco. Em cada tubo de DQO foram adicionados 2 mL da amostra de suspensão ou de sobrenadante (para

o branco, 2 mL de água destilada), 1,2 mL da solução digestora ( $K_2Cr_2O_7$  em meio ácido e  $HgSO_4$  para eliminar interferência de cloretos) e 2,8 mL da solução catalítica ( $H_2SO_4$  com  $Ag_2SO_4$  como catalisador). As amostras foram colocadas por 2h a  $150^\circ C$  em digestor (Hach) e, após resfriamento sob ausência de luz, realizou-se a leitura da absorbância em espectrofotômetro a 600 nm. A absorbância foi convertida em DQO por meio de curva-padrão previamente preparada com biftalato de potássio (APHA, 2017).

#### 4.5.3. Densidade óptica (DO)

A densidade óptica (DO) foi medida em espectrofotômetro HACH DR 3900 em tubo de vidro com 1 cm de caminho óptico e no comprimento de onda de 750 nm.

#### 4.5.4. Sólidos suspensos totais (SST)

A determinação da massa seca da biomassa foi feita através de curvas de correlação para a conversão das leituras de Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Densidade Óptica (DO) (750 nm) em Sólidos Suspensos Totais (SST) (g/L).

Para determinação da concentração de SST da suspensão, foi empregado o método gravimétrico (APHA, 2017). Cadinhos de porcelana foram levados à mufla (Fornos Lavoisier) por 1 h, a  $550^\circ C$ . Filtros de fibra de vidro lavados com água destilada foram também levados à mufla por 15 minutos. Após resfriamento em dessecador foi obtida a massa inicial ( $P_0$ ) do conjunto cadinho e filtro. Alíquotas de um volume (V) das amostras foram filtradas à vácuo e o material retido no filtro foi lavado com água destilada. Os cadinhos com os filtros utilizados foram levados à estufa (ÉTICA) a  $105^\circ C$  para evaporação da água e, após resfriamento em dessecador, foi obtida a massa do conjunto ( $P_1$ ). A concentração de sólidos suspensos totais (em g/L) foi calculada a partir da Equação 5:

$$SST (g/L) = \frac{(P_1 - P_0)}{V} \quad (5)$$

Onde:

$P_0$  = massa inicial do conjunto cadinho + filtro (g)

$P_1$  = massa após evaporação da água do conjunto cadinho + filtro + amostra (g)

V = volume da alíquota (L)

As curvas de correlação foram produzidas a partir de diluições sequenciais de suspensões da cianobactéria, e suas respectivas medidas iniciais de SST, DQO e DO. Com estes valores, o Fator de Diluição ( $FD$ ) foi calculado segundo a Equação 6:

$$FD = \frac{(F_{suspensão} + F_{água})}{F_{suspensão}} \quad (6)$$

Onde  $F_{suspensão}$  corresponde à fração de suspensão de *S. subsalsus* presente na diluição, e  $F_{água}$  representa a fração de água na diluição.

Portanto, para cada diluição, o valor do peso seco ( $SST_d$ ) foi determinado conforme a Equação 7:

$$SST_d (g/L) = \frac{SST}{FD} \quad (7)$$

Por fim, os valores de  $SST_d$  foram relacionados com as medidas de DQO e DO de cada diluição. As Equações 8 e 9 a seguir representam as curvas de correlação DQO x SST e DO x SST, empregadas para a obtenção dos valores de SST nos ensaios de densificação.

$$DQO = 1,3059SST + 0,9004 \quad (8)$$

$$DO = 0,002SST + 0,0042 \quad (9)$$

## 5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5.1. CULTIVO E CRESCIMENTO DE *Synechococcus subsalsus*

Ao longo do estudo foram realizados 23 grupos de cultivo da cianobactéria *Synechococcus subsalsus* em *shaker* rotatório a 150 rpm e temperatura média de  $26 \pm 2$  °C (cada grupo com 8 erlenmeyers, em média). Na Figura 5 é apresentada uma das curvas de crescimento obtida após cultivo por 35 dias. Observa-se que praticamente não há fase *lag* e que as células mantêm uma taxa de crescimento inicial elevada (em torno de 14 mg SST/L.d), que decai até atingir a fase estacionária, o que ocorre após o vigésimo dia de cultivo.

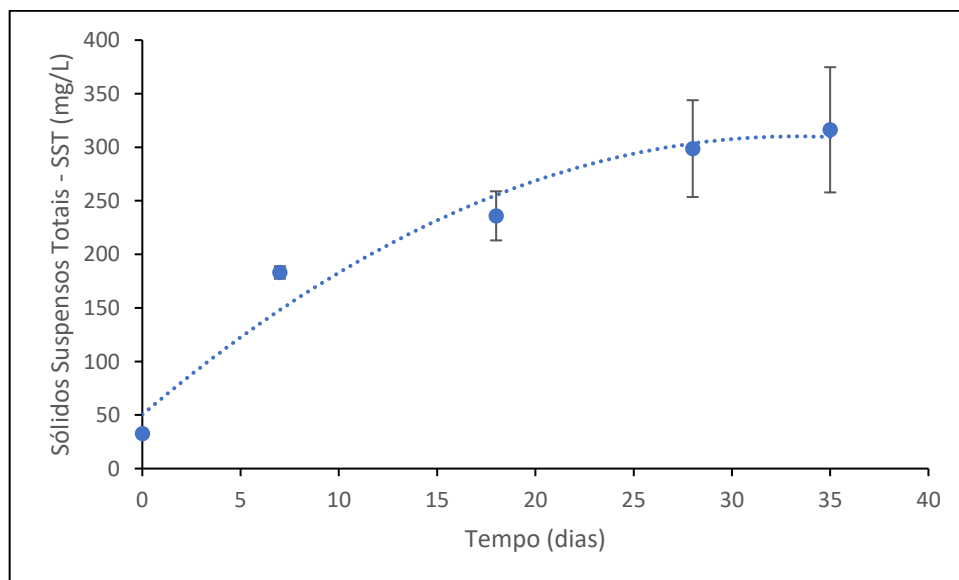


Figura 5: Curva de crescimento de *Synechococcus subsalsus* resultante da média de 4 frascos erlenmeyers de um grupo de cultivo, obtida em um período de 35 dias.

Observou-se que a densidade óptica (D.O.) média dos 23 cultivos realizados foi de  $0,710 \pm 0,175$ , o que corresponde a uma concentração média de Sólidos Suspensos Totais (SST) de  $427 \pm 177$  mg/L após 35 dias de cultivo. Ao final deste período, os cultivos apresentaram pH médio de  $9,5 \pm 0,5$ .

A Figura 6 mostra o aspecto de um dos cultivos de *S. subsalsus*. Ao longo dos 35 dias de cultivo, o crescimento da biomassa foi visualizado pelo aumento de turbidez e de uma coloração verde escura.



Figura 6: Aspecto visual do cultivo de *S. subsalsus* em *shaker* rotatório a 150 rpm e  $26 \pm 2$  °C no início (A), aos 14 dias (B) e aos 35 dias (C) do cultivo.

O crescimento de cianobactérias e microalgas é amplamente discutido na literatura, com a concentração final de biomassa variando de acordo com a espécie e condições de cultivo (NOH *et al.*, 2018; POLIVAETA *et al.*, 2018; DAS *et al.*, 2019). Seo *et al.* (2015) cultivaram a microalga *Chlorella* sp. KR-1 em um reator de coluna de bolhas de 6 L, equipado com lâmpadas fluorescentes, a 30 °C. Em 7 dias, o cultivo atingiu a fase estacionária, apresentando concentração final de 1,7 g/L. Pandey *et al.* (2019) cultivaram a microalga *Chlorella pyrenoidosa* em meio BG-11, em frascos Erlenmeyer de 1 L, sob iluminação fluorescente com fotoperíodo 12:12h. O cultivo atingiu alta concentração de biomassa (3,38 g/L) na fase estacionária, atingida no sétimo dia. Em contrapartida, Blockx *et al.* (2018) obtiveram concentração de biomassa de apenas 0,25 g/L quando o cultivo de *Nannochloropsis oculata* em meio Wright salino atingiu uma fase exponencial tardia. E Oliveira *et al.* (2019), em cultivo de *Synechococcus subsalsus* em meio BG-11, obtiveram concentração de biomassa entre 0,345 g/L e 0,738 g/L após 30 dias. Desta forma, a concentração de *S. subsalsus* obtida nos cultivos realizados neste estudo está dentro do intervalo de valores observados na literatura para diferentes espécies e condições de cultivo.



Analisando as diferentes formas de preparo dos cultivos, nota-se que dentre os fatores mais preponderantes para o crescimento das células estão os nutrientes presentes no meio de cultivo, a cepa e espécie adotadas, a intensidade luminosa, o pH, a temperatura, o tempo de cultivo e a salinidade do meio (LAURENS *et al.*, 2014). A concentração de nitrogênio e fósforo pode ser um fator limitante no crescimento e concentração de biomassa nas fases exponencial e estacionária (ZHU *et al.*, 2013). Portanto, o procedimento adotado para o cultivo, com a escolha adequada de parâmetros, é fundamental para a produção de biomassa de cianobactérias e microalgas.

## 5.2. ENSAIOS DE COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO DA SUSPENSÃO DE *S. subsalsus*

### 5.2.1. Ensaios com Cloreto Férrico

Nos primeiros ensaios, a concentração de coagulante de 400 mg FeCl<sub>3</sub>/L foi fixada para se avaliar a melhor condição de pH para a coagulação/ floculação. As eficiências médias de remoção de DQO obtidas nos ensaios (em triplicata) com valores iniciais de pH 4 a 9 são apresentadas na Figura 7.

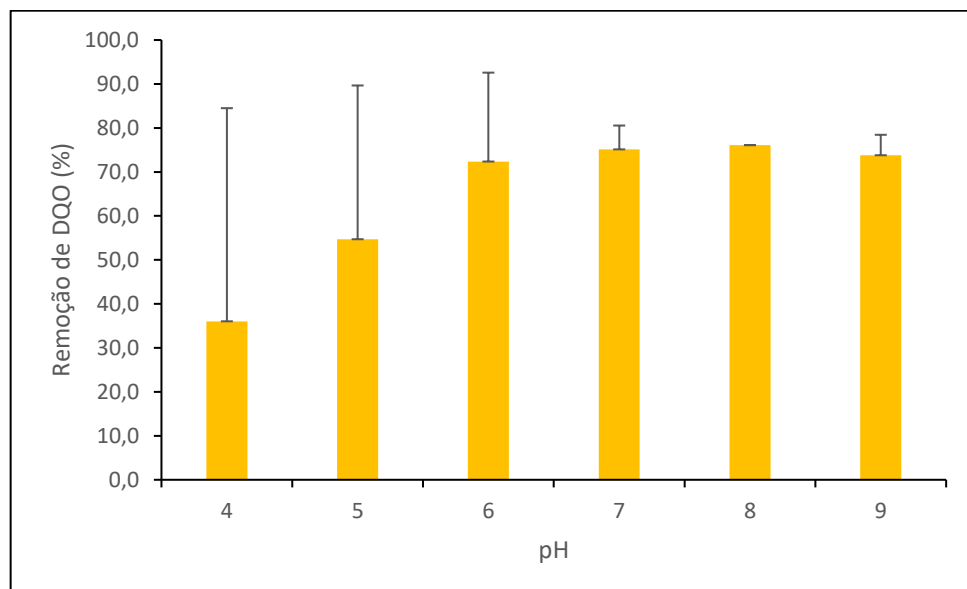


Figura 7: Eficiência média de remoção de DQO das suspensões de *S. subsalsus* em *Jar Tests* conduzidos com 400 mg FeCl<sub>3</sub>/L e diferentes valores de pH inicial.

Os ensaios conduzidos com pH 4 apresentaram a maior variabilidade de resultado (desvio-padrão elevado) e a menor média de eficiência de remoção de DQO da suspensão, com 36%. Em pH 5, a variabilidade diminuiu e a eficiência aumentou para 54,7%, mas ainda foi menor que as obtidas em  $\text{pH} \geq 6$ . Nos pHs mais altos não houve variação significativa de eficiência de remoção de DQO, visto que os desvios-padrão foram muito baixos e as médias de eficiências foram de 73,8%, 76,1%, 75,4% e 72,4% para valores de pH 9, 8, 7 e 6, respectivamente. Desta forma, o pH 6 foi selecionado para a etapa seguinte, por representar uma menor adição de químicos para o ajuste de pH.

Os ensaios seguintes tiveram como objetivo avaliar a melhor concentração de coagulante, a pH 6, valor determinado anteriormente. E, para isso, *Jar Tests* foram realizados nas concentrações de 80 a 480 mg  $\text{FeCl}_3/\text{L}$ . A eficiência de remoção de DQO aumentou de 20,7% com a menor concentração de  $\text{FeCl}_3$  (80 mg/L) até 86,6%, com a concentração de 400 mg  $\text{FeCl}_3/\text{L}$ . Na concentração de 480 mg/L, a média de remoção (86,2%) foi similar à máxima obtida com 400 mg/L (Figura 8). Ao final da etapa de sedimentação, o pH do sobrenadante apresentou valor similar ao pH inicial.

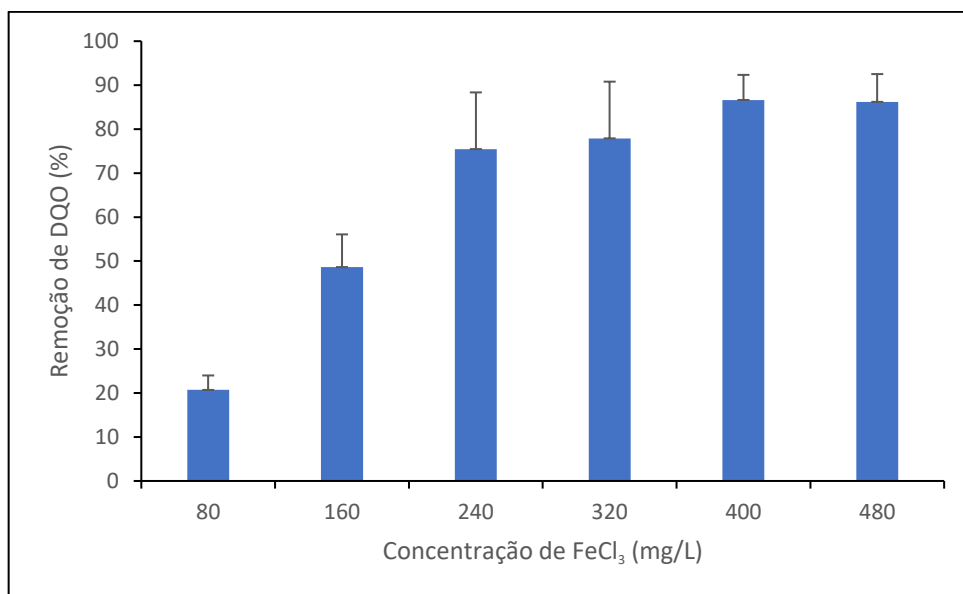


Figura 8: Eficiência média de remoção de DQO das suspensões de *S. subsalsus* em *Jar Tests* conduzidos com pH 6 e diferentes concentrações de  $\text{FeCl}_3$ .

O cloreto férrico é um coagulante tradicionalmente utilizado na coagulação/floculação de microalgas e cianobactérias, em diferentes concentrações, apresentando eficiências de remoção superiores a 80%. Das *et al.* (2016) obtiveram eficiência de remoção de 91,4% na floculação de *Scenedesmus* sp., a pH 6,47 e concentração de 96 mg FeCl<sub>3</sub>/L. Surendhiran e Vijay (2013) também utilizaram sais metálicos na coagulação/floculação da microalga marinha *Nannochloropsis oculata*. Com 400 mg FeCl<sub>3</sub>/L (os autores não mencionam o pH da coagulação/floculação, somente que o pH do meio de cultivo era ajustado para 8), a eficiência de remoção obtida foi de 93,8%; entretanto, a estrutura celular foi danificada. Para que a eficiência de 95,8% fosse alcançada com *Scenedesmus quadricauda*, Daneshvar *et al.* (2020) utilizaram 700 mg FeCl<sub>3</sub>/L, em pH 11. Seo *et al.* (2015) utilizaram FeCl<sub>3</sub> como coagulante para a concentração de *Chlorella* sp. KR-1. Neste estudo, a maior concentração de biomassa ocorreu sob pH 3 e concentração de 200 mg FeCl<sub>3</sub>/L.

Quando comparado aos demais estudos na literatura, para a coagulação/floculação de suspensões de microalgas e cianobactérias de água doce e marinha, este experimento apresentou pH e concentração ideal de coagulante compatível com os relatos, dentro do intervalo observado (pH 3,0 – 11,0 e 96 – 700 mg FeCl<sub>3</sub>/L). Entretanto, mesmo na condição ideal, a eficiência de remoção de DQO não atingiu 90% com a espécie *Synechococcus subsalsus* estudada.

A Figura 9 mostra o aspecto visual dos béqueres nos experimentos de *Jar Test* na condição ótima de pH 6, e diferentes concentrações do coagulante FeCl<sub>3</sub>, ao final da etapa de sedimentação da biomassa. É possível observar, na concentração de 400 mg FeCl<sub>3</sub>/L (béquer E na Figura 9), a formação de duas camadas distintas: ao fundo, uma camada compacta de pequenos flocos de células de *S. subsalsus* e, acima desta, uma camada de sobrenadante com coloração amarelada. Na Figura 10 encontra-se uma foto mais aproximada do béquer na condição de pH 6 e 400 mg FeCl<sub>3</sub>/L no início e ao final da etapa de sedimentação.



Figura 9: Aspecto visual dos béqueres ao final da etapa de sedimentação da biomassa no *Jar Test* conduzido com pH 6 e diferentes concentrações de  $\text{FeCl}_3$  (A = 80 mg/L; B = 160 mg/L; C = 240 mg/L; D = 320 mg/L; E = 400 mg/L; F = 480 mg/L).

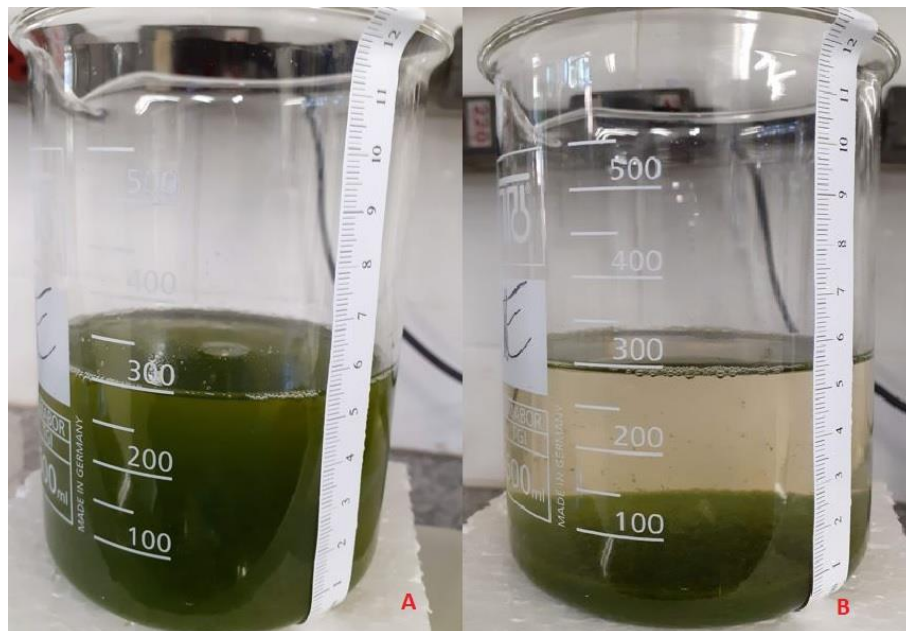


Figura 10: Aspecto visual do béquer no início (A) e ao final da etapa de sedimentação (B) da biomassa no *Jar Test* conduzido com pH 6 e 400 mg  $\text{FeCl}_3$ /L.

Além da eficiência de remoção de DQO, o Fator de Concentração (FC) também foi utilizado para a avaliação da densificação da biomassa de *S. subsalsus*, após os *Jar Tests*. O fator de concentração foi calculado nos ensaios com as condições ótimas de pH e concentração de  $\text{FeCl}_3$  (Figura 11). Para o cloreto férrico, o FC foi medido em 6 amostras na condição ótima de floculação, definida nos ensaios anteriores: pH 6 e 400 mg  $\text{FeCl}_3/\text{L}$ . O fator de concentração variou entre 2,03 e 7,71, apresentando média de  $5,0 \pm 2,3$ . Considerando que a concentração inicial de *S. subsalsus* média foi de 427 mg SST/L, após os *Jar Tests* na melhor condição a biomassa apresentou concentração de 2,1 g SST/L.

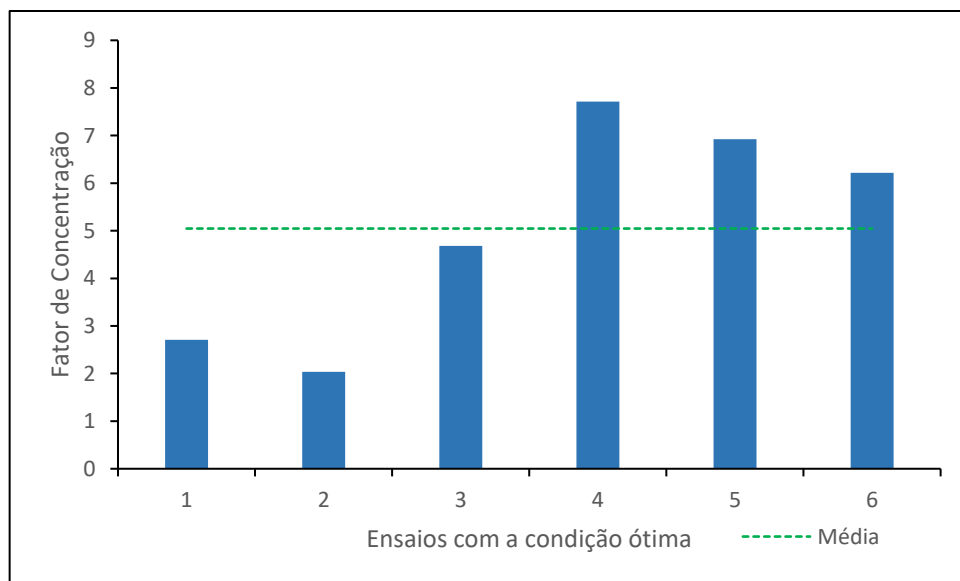


Figura 11: Fator de Concentração para a condição ótima de pH e concentração de  $\text{FeCl}_3$ .

É notável que os três primeiros ensaios (1, 2 e 3) conduzidos na condição ideal apresentaram menores fatores de concentração, quando comparados aos três últimos (4, 5, 6). Uma hipótese para este fato é a forma como os cultivos foram expostos à iluminação durante o período de crescimento nos *shakers*. Nos cultivos 1, 2 e 3, os erlenmeyers contendo as suspensões estavam posicionados mais próximos à lâmpada. Ao final do período de crescimento, estes cultivos apresentaram coloração verde clara e, em alguns casos, levemente amarelada. A proximidade com a fonte luminosa pode ter contribuído para uma alteração das características das células e da composição química das suspensões. Ao final dos *Jar Tests*, após o tempo de sedimentação, este grupo de cultivos resultou em uma biomassa menos compactada no fundo dos béqueres e, conseqüentemente, em menores fatores de concentração.

Ievina e Romagnoli (2020) avaliaram o crescimento das espécies de microalgas *Chlorella sorokiniana*, *Chlorella vulgaris* e *Chlorella reinhardtii*, sob diferentes intensidades luminosas, que variavam de 30 a 200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ . As microalgas foram cultivadas por 10 dias, em fotoperíodo de 16:8 h (claro/escuro). Os autores constataram que a concentração de biomassa aumentou com o aumento da intensidade luminosa. O aumento de 50 para 150  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  favoreceu o crescimento das células de *C. vulgaris* e *C. reinhardtii*, e o aumento para 200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$  favoreceu o desenvolvimento da microalga *C. sorokiniana*. A máxima concentração de biomassa foi de 1,13 g/L para *C. sorokiniana*, sob intensidade luminosa de 200  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ . *C. vulgaris* e *C. reinhardtii* apresentaram concentrações máximas de biomassa de 1,05 e 1,06 g/L, respectivamente, para 150  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ . As três espécies apresentaram concentrações mínimas de 0,82 (*C. vulgaris*) e 0,75 g/L (*C. sorokiniana* e *C. reinhardtii*), para a intensidade luminosa de 50  $\mu\text{mol}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ . O estudo apontou que a intensidade luminosa é um dos fatores preponderantes ao crescimento das células. Nzayisenga *et al.* (2020) também avaliaram o desenvolvimento de quatro espécies de microalgas: *Chlorella vulgaris*, *Desmodesmus* sp., *Ettlia pseudoalveolaris* e *Scenedesmus obliquus*. As espécies foram cultivadas em períodos de 8 a 15 dias, em faixas de intensidade luminosa de 50, 150 e 300  $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ . Assim como observado no estudo anterior, o aumento da intensidade luminosa também favoreceu o aumento da concentração de biomassa. Nas suspensões de *Desmodesmus* sp., cultivadas por 15 dias, o aumento de intensidade luminosa de 50 para 300  $\mu\text{E}/\text{m}^2\cdot\text{s}$ , representou um aumento na concentração de biomassa de 0,5 para 1,4 g/L. Analogamente, a concentração de *S. obliquus* aumentou de 0,7 para 1,2 g/L.

Como visto, a exposição às diferentes intensidades luminosas pode proporcionar modificações nas características das células das microalgas e na composição dos cultivos, como o aumento ou redução da taxa de crescimento. Entretanto, para a comprovação da hipótese de influência da iluminação nas características de *S. subsalsus*, novos estudos precisam ser realizados.

### 5.2.2. Ensaio com quitosana de baixa massa molecular

Nos ensaios de *Jar Test* iniciais, a concentração de 100 mg/L de coagulante foi fixada para se avaliar a melhor condição de pH dentro da faixa de 4 a 9. Neste cenário, a eficiência média de redução de DO das triplicatas realizadas apresentou valores muito reduzidos de 6,7%,

29,8%, 11,1% e 7,1% para pH 4, 5, 8 e 9, respectivamente. Melhores valores de redução de D.O. foram obtidos nos pHs 6 e 7, de 96,4% e 98,7%, respectivamente (Figura 12). Por apresentar menor necessidade de adição de ácido para ajuste de pH, o pH 7 foi selecionado como ideal para a etapa seguinte de verificação da melhor concentração de coagulante.

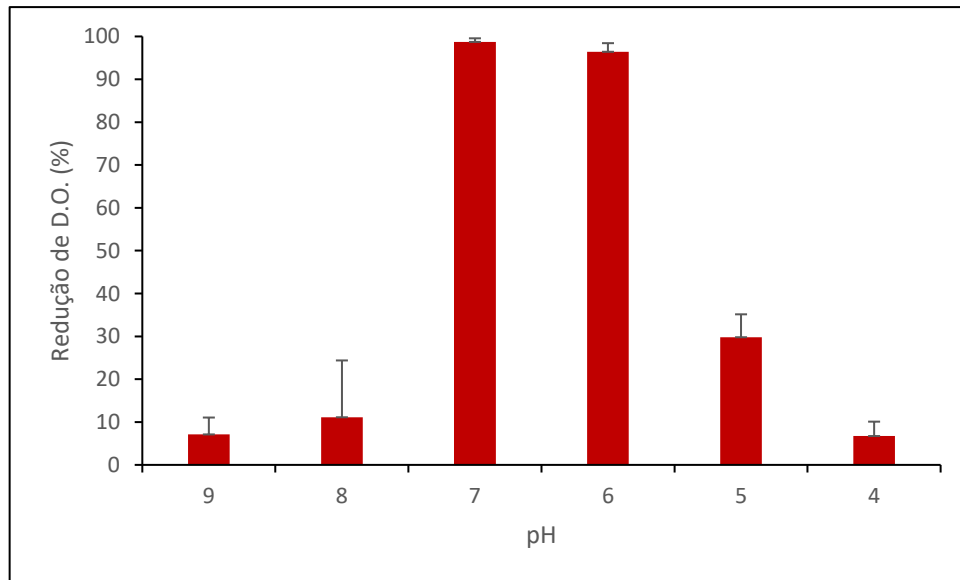


Figura 12: Eficiência média de redução de DO (densidade óptica) das suspensões de *S. subsalsus* em *Jar Tests* conduzidos com 100 mg quitosana/L e diferentes valores de pH inicial.

Posteriormente, os ensaios tiveram como objetivo determinar a melhor concentração de coagulante em pH 7. E, para isto, *Jar Tests* foram realizados com concentrações de quitosana de 20 a 120 mg/L. Como observado nos ensaios com  $\text{FeCl}_3$ , a eficiência média de redução de DO aumentou com a concentração de quitosana, de 11,5% com 20 mg/L, para 97,2% com 100 mg/L. Com 120 mg/L, a DO teve menor redução (67,4%), conforme observado na Figura 13.

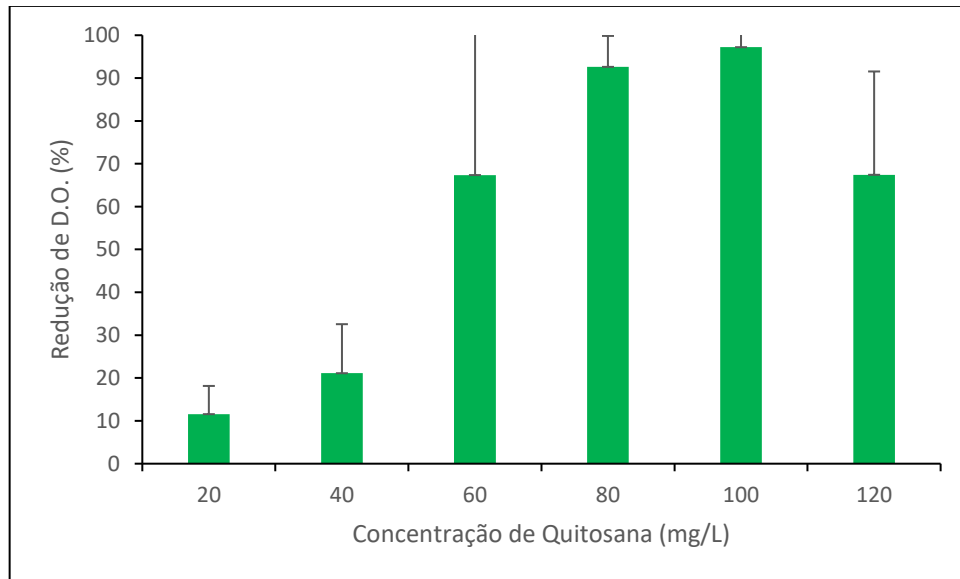


Figura 13: Eficiência média de redução de DO das suspensões de *S. subsalsus* em *Jar Tests* conduzidos com pH 7 e diferentes concentrações de quitosana.

Durante os experimentos com a quitosana de baixo peso molecular, a concentração de coagulante necessária para a formação de flocos consistentes e, conseqüentemente, obtenção de um sobrenadante límpido, variava de acordo com a concentração inicial de biomassa de *S. subsalsus*. Xu *et al.* (2013) observaram comportamento semelhante nos experimentos de floculação da microalga *Chlorella sorokiniana*, também utilizando quitosana em pó proveniente de casca de caranguejo (Sigma-Aldrich). A concentração de quitosana necessária para a melhor densificação ser atingida aumentou proporcionalmente com a concentração de células no cultivo no estudo apresentado pelos autores.

Ao avaliar os primeiros sete *Jar Tests* realizados com a quitosana de baixo peso molecular, observou-se que nos ensaios com pH 7 havia uma relação mais favorável entre a concentração de quitosana e a concentração inicial da suspensão de *S. subsalsus*. Na Figura 14 são apresentados resultados de DO final (no sobrenadante) de vários ensaios conduzidos a pH 7, com diferentes razões entre a concentração de quitosana de baixo peso molecular e a concentração do cultivo (medida como Sólidos Suspensos Totais). Quanto menor a DO final no sobrenadante, maior a redução de DO da suspensão e maior a densificação da biomassa.



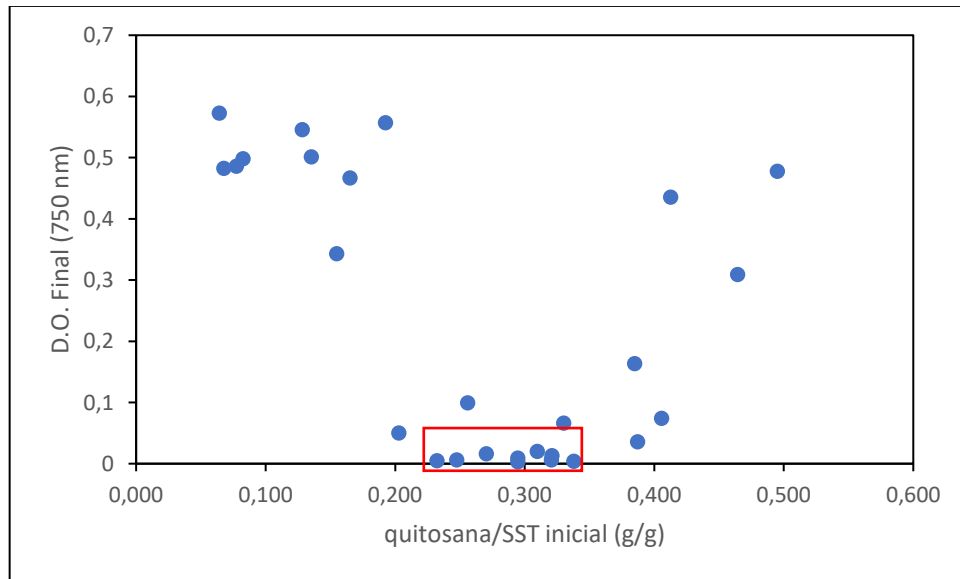


Figura 14: Relação entre DO final e razão mássica entre quitosana de baixo peso molecular e sólidos suspensos totais (SST) adotada nos ensaios *Jar Test* a pH 7. No retângulo em vermelho estão destacados os ensaios com os melhores resultados de concentração da biomassa.

Como pode ser observado na Figura 10, a DO do sobrenadante foi baixa para um grupo de ensaios (destacados no retângulo em vermelho na figura) nos quais a razão entre a concentração de quitosana e a concentração do cultivo se situava entre 0,232 e 0,338 (g quitosana/g SST). Nestes ensaios, não havia células suspensas no sobrenadante e a maior parte da biomassa era concentrada. Considerando que a menor razão (quitosana/SST) observada foi igual a 0,232 (g/g), novos ensaios foram realizados com a razão igual a 0,300 (adotando-se uma margem de segurança de 25 %).

A fim de confirmar a razão quitosana/SST de 0,3 g/g e pH 7 como condição ideal de concentração da biomassa, seis grupos de ensaios *Jar Test* foram executados nesta condição, com diferentes cultivos da biomassa. A eficiência média de redução de DO de cada *Jar Test* é apresentada na Figura 15. A redução média de DO variou entre 88,7% e 98%. A média de redução de DO, considerando todos os seis ensaios realizados, foi de  $94,5 \pm 3,2$  %.

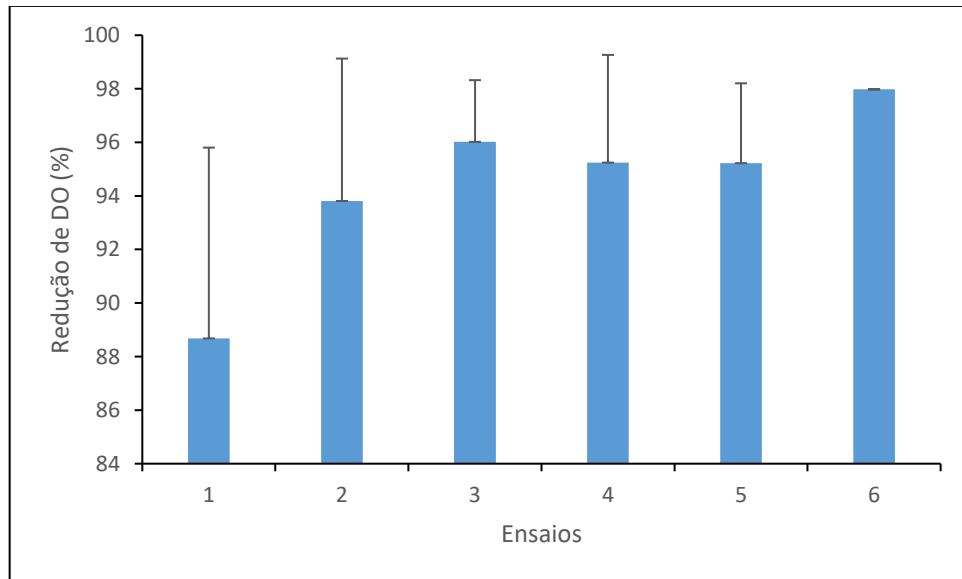


Figura 15: Eficiência média de redução de DO de diferentes cultivos de *S. subsalsus* em *Jar Tests* conduzidos com pH 7 e 0,3 g quitosana/ g SST.

Os *Jar Tests* para esta nova condição, a pH 7, apresentaram um sobrenadante mais límpido após a sedimentação, bem como valores de densidade óptica mais baixos. Diferentemente do observado nos ensaios com cloreto férrico, onde duas camadas distintas foram formadas após a sedimentação (uma camada de sobrenadante e outra camada com a biomassa floculada), os ensaios com a quitosana de baixo peso molecular apresentaram formação de aglomerados depositados no fundo do béquer, como apresentado na Figura 16 a seguir.

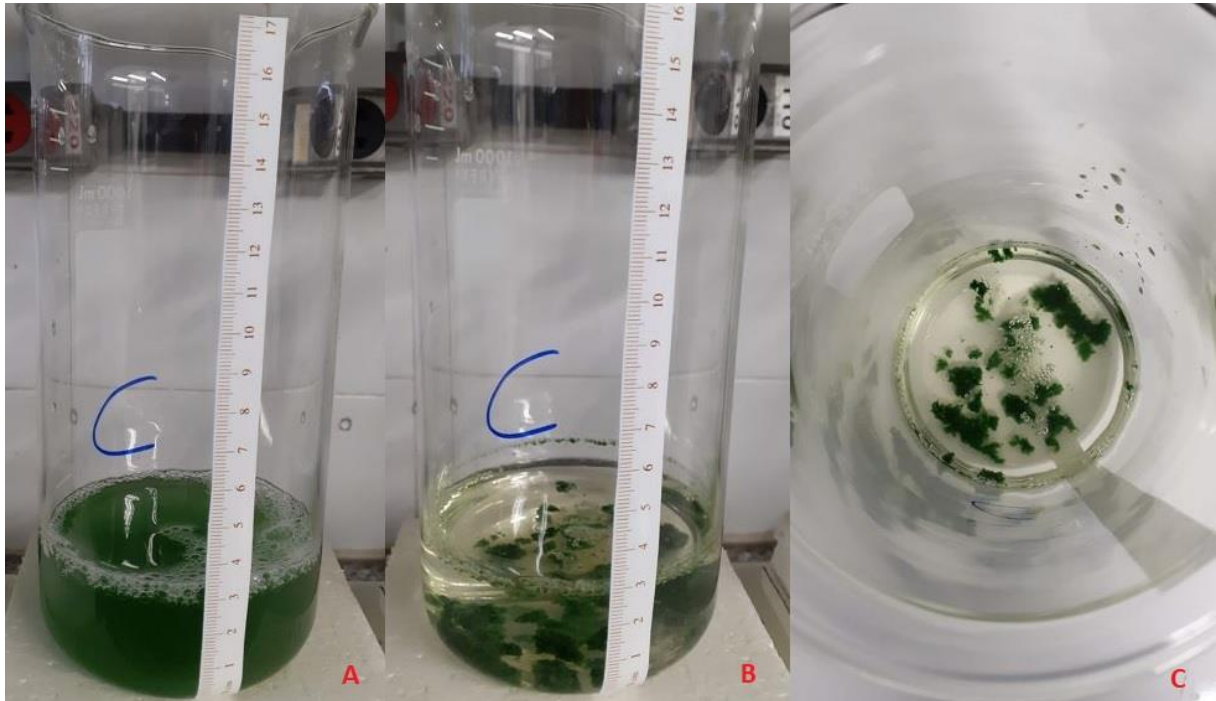


Figura 16: Aspecto visual do béquer no início (A) e ao final da etapa de sedimentação da biomassa no *Jar Test* conduzido com pH 7 e 0,3 g de quitosana de baixo peso molecular/ g SST (B – vista lateral e C – vista superior).

Chua *et al.* (2019) compararam a eficiência de concentração de cultivos de *Nannochloropsis* sp. com os flocculantes sulfato de alumínio, cloreto férrico e quitosana. Em concentrações de 87,5 mg  $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3/\text{L}$ , 87,5 mg  $\text{FeCl}_3/\text{L}$  e 22 mg Quitosana/L, as eficiências obtidas foram de 95,2 %, 95,6 % e 97 %, respectivamente. Zhu *et al.* (2018) observaram que a concentração inicial do cultivo de microalgas é determinante na quantidade de quitosana requerida para floculação. Para cultivos de *Chlorella vulgaris* com concentração inicial de 1,2 g/L, a concentração de quitosana utilizada para se alcançar a eficiência de 91,9 % foi de 250 mg/L. Entretanto, para um cultivo da mesma espécie, com concentração inicial de 0,5 g/L, a concentração de 50 mg quitosana/L foi suficiente para atingir a eficiência de 92,3%. No estudo de Loganathan *et al.* (2018), a eficiência de remoção de turbidez foi de 87,3%, sob pH 8,2, no tratamento de um *bloom* de algas marinhas com concentração de quitosana igual a 30 mg/L. O mesmo estudo apontou a mistura de  $\text{FeCl}_3$  (5 mg/L) e quitosana (2,5 mg/L) como uma possibilidade promissora, ao atingir a eficiência de remoção de turbidez de 97,2% para a mesma suspensão de algas marinhas.

Os resultados obtidos neste trabalho, com a espécie *S. subsalsus* e quitosana de baixo peso molecular, vão ao encontro dos resultados obtidos nos estudos supracitados com outras espécies e tipos de quitosana. A condição ótima se situou dentro do intervalo de valores

observados nesses mesmos estudos (pH 6,5 – 9,9 e 20 – 250 mg Quitosana/L) e levou a eficiências de redução de DO acima de 90%.

O fator de concentração foi calculado para a melhor condição de pH e concentração de quitosana de baixo peso molecular, nos ensaios de coagulação/floculação. Esta condição foi observada em pH 7 e com proporção de coagulante para sólidos suspensos totais de *S. subsalsus* de 0,3 (g/g). O fator de concentração, calculado em 4 amostras, variou entre 29,51 e 32,72, com média de  $31,9 \pm 1,6$  (Figura 17). Ou seja, ao final da etapa de sedimentação dos *Jar Tests*, a biomassa apresentou concentração de 13,6 g SST/L.

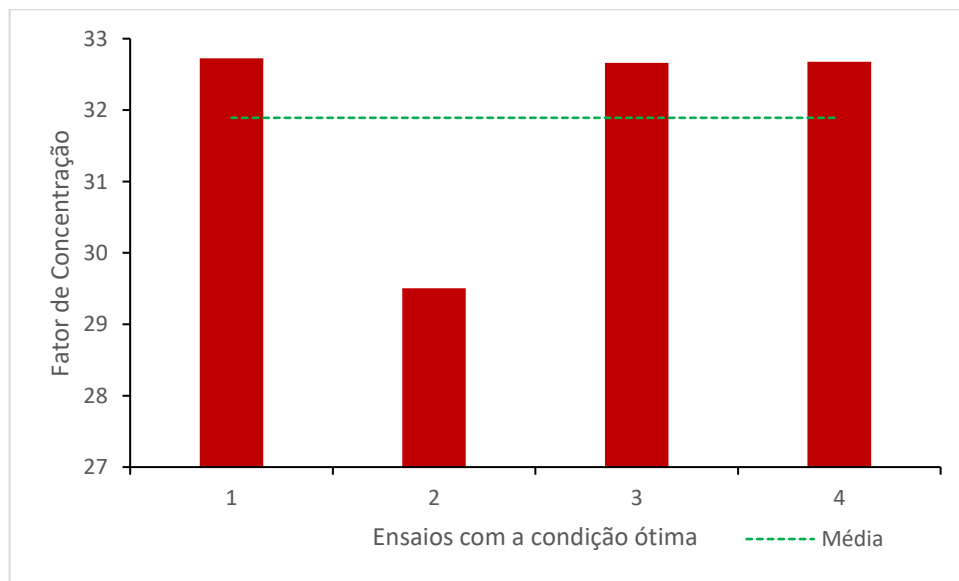


Figura 17: Fator de Concentração para a condição ideal de pH e concentração de quitosana de baixo peso molecular.

Comparando o fator de concentração médio, nas condições ideais de pH e concentração de coagulante, dos experimentos com cloreto férrico e quitosana de baixo peso molecular, fica evidente que a quitosana apresenta fator de concentração de biomassa 6 vezes maior que o cloreto férrico. Apesar da necessidade de alta concentração de quitosana (~ 100 mg/L), quando comparada aos valores reportados na literatura com outras espécies de microalgas (Tabela 14), este estudo apresentou eficiências de redução de DO elevadas, e, conseqüentemente, alta concentração de biomassa. Ademais, é possível observar que a concentração de quitosana de baixo peso molecular utilizada para se atingir a condição ideal de coagulação/floculação foi, aproximadamente, quatro vezes menor do que a concentração ideal observada nos ensaios com  $\text{FeCl}_3$ . Esta menor concentração para a quitosana, em comparação ao  $\text{FeCl}_3$ , também foi observada em outros estudos apresentados na Tabela 14.

Tabela 14 - Eficiências de concentração de diferentes biomassas de microalga por coagulação/floculação em comparação com o presente trabalho.

Espécie	Tipo/Concentração de Floculante	pH	Eficiência (%)	Referência
	PAC 40 mg/L	7,5	66,6	
<i>Phaedactylum tricorutum</i>	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 30 mg/L	5,9	82,6	ŞIRIN <i>et al.</i> (2012)
	Quitosana 20 mg/L	9,9	91,8	
	FeCl <sub>3</sub> 400 mg/L	-	93,8	
	Fe <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 600 mg/L	-	87,3	
<i>Nannochloropsis oculata</i>	ZnCl <sub>2</sub> 600 mg/L	-	89,1	SURENTHIRAN e VIJAY (2013)
	ZnSO <sub>4</sub> 600 mg/L	-	84,2	
	AlCl <sub>3</sub> 600 mg/L	-	85,5	
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 800 mg/L	-	82,3	
<i>Chlorella sp.</i>	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 152 mg/L	6 - 8,1	100	SANYANO <i>et al.</i> (2013)
	FeCl <sub>3</sub> 143 mg/L		100	
<i>Chlorella sp.</i> KR-1	FeCl <sub>3</sub> 200 mg/L	3	90	SEO <i>et al.</i> (2015)
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 180 mg/L	-	87	
<i>Chlorococcum sp.</i> R-AP13	FeCl <sub>3</sub> 114-130 mg/L	-	92	UMMALYMA <i>et al.</i> (2016)
	Quitosana 40 mg/L	-	84	
<i>Chaetoceros gracilis</i>	FeCl <sub>3</sub> 20-50 mg/L + Quitosana 10-50 mg/L	5 - 9	95,1 - 100	PÉREZ <i>et al.</i> (2016)
	Polímero Catiônico 5 mg/L	6,5	97	GERCHMAN <i>et al.</i> (2017)
<i>Chlorella vulgaris</i>	Quitosana 20 mg/L		90	
	Al <sub>2</sub> (SO <sub>4</sub> ) <sub>3</sub> 87,5 mg/L		95,2	
<i>Nannochloropsis sp.</i> BR2	FeCl <sub>3</sub> 87,5 mg/L	10	95,6	CHUA <i>et al.</i> (2019)
	Quitosana 22 mg/L		97,9	
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	FeCl <sub>3</sub> 700 mg/L	11	95,8	DANESHVAR <i>et al.</i> (2020)
		7	85	
<i>Synechococcus subsalsus</i>	FeCl <sub>3</sub> 400 mg/L	6	86,6	
	Quitosana 0,300 g/g biomassa (~100 mg/L)	7	94,5	Este estudo

O pH 7, obtido na condição ótima dos experimentos com a quitosana, também é um ponto importante e positivo. Para que a biomassa concentrada seja utilizada posteriormente na etapa de digestão anaeróbia, é crucial que o pH selecionado esteja dentro de um intervalo adequado (6,0 – 8,3) e não inibitório à produção de biogás (GUTIÉRREZ *et al.*, 2015). Enquanto floculante, a quitosana apresenta vantagens intrínsecas: trata-se de um polímero catiônico, biodegradável e não-tóxico, resultante da acetilação da quitina, presente nas cascas de crustáceos (CHEN *et al.*, 2014; SAJJAD *et al.*, 2017). Ademais, como demonstrado neste

estudo, apresentou resultados promissores em dosagens inferiores às aquelas apresentadas pelos coagulantes tradicionais, como o cloreto férrico.

### 5.3. ENSAIOS DE APROVEITAMENTO DO SOBRENADANTE COMO MEIO DE CULTIVO

Após os ensaios de *Jar Tests* com a adição de coagulantes às suspensões de *S. subsalsus*, os flocos formados pelas células da cianobactéria se depositaram no fundo do béquer. Com isso, a fração líquida restante, o sobrenadante, foi vertido para que a biomassa concentrada ficasse disponível para utilização em outros estudos.

Este sobrenadante representa a maior fração em um cultivo, como observado durante os ensaios, e seria descartado como um resíduo líquido ao final de todo o processo. Desta forma, a reutilização do sobrenadante para a produção de novos cultivos se torna uma alternativa mais sustentável, reduzindo a necessidade de adição de água potável na produção de novos cultivos. Além disso, os nutrientes disponíveis no sobrenadante podem influenciar positivamente o crescimento das células de microalgas e cianobactérias (ZHU *et al.*, 2018).

Cinco grupos de cultivo foram preparados, em triplicata, com diferentes proporções de misturas do sobrenadante filtrado e meio BG-11. Os cultivos foram inoculados com a cianobactéria *Synechococcus subsalsus* e a densidade óptica de cada grupo foi medida em comprimento de onda de 750 nm por 15 dias. As curvas de SST (mg/L) x tempo (dias) obtidas para cada proporção sobrenadante: meio BG-11 (% v/v) são apresentadas na Figura 18.

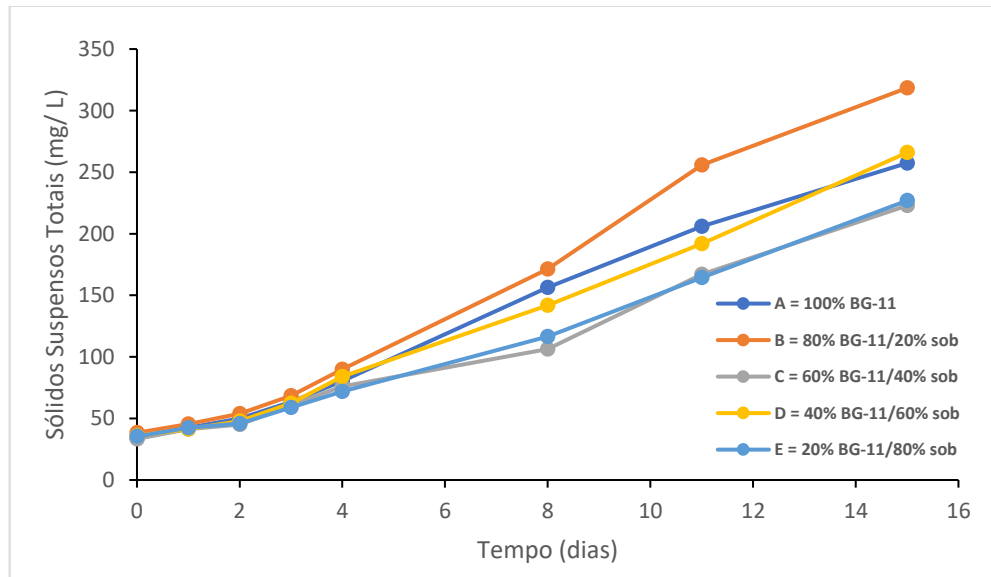


Figura 18: Crescimento de *S. subsalsus* nos grupos de cultivo com diferentes proporções de sobrenadante: meio BG-11 (% v/v) durante 15 dias.

No período de acompanhamento do crescimento dos grupos de cultivo, observou-se que as células de *S. subsalsus* apresentaram comportamento similar nos cinco grupos. Na fase de crescimento exponencial, os cultivos apresentavam coloração verde clara, com leituras de D.O. estatisticamente iguais ao grupo controle (100% meio BG-11), o que sugere que a presença do sobrenadante filtrado até a proporção de 80% (v/v) no meio de cultivo não comprometeu o desenvolvimento das células. Akış e Özçimen (2019) também analisaram a reutilização do meio de cultivo, após a floculação das espécies *Nannochloropsis oculata* e *Chlorella minutissima*. Os autores observaram que os cultivos inoculados em sobrenadante apresentaram curva de crescimento similar à curva de cultivos inoculados em meio preparado com água potável. Gerchman *et al.* (2017) chegaram à mesma conclusão ao comparar cultivos de *Chlorella vulgaris* inoculados em meio Bristol e em meio composto por sobrenadante. Tal qual o estudo anterior, as curvas de crescimento também apresentaram resultados semelhantes.

Dzuman *et al.* (2022) avaliaram o reuso do meio de cultivo em 3 ciclos sucessivos de reciclagem do sobrenadante para a inoculação da espécie *Tetrademus obliquus*. Nesse estudo, cada ciclo de reciclagem contou com 50 % do meio de cultivo Chu e 50 % do sobrenadante proveniente do ciclo anterior. As curvas de crescimento dos 4 ciclos, controle (100 % meio Chu) e 3 ciclos de reciclagem do meio de cultivo foram similares. Tanto no ciclo controle quanto nos ciclos de reciclagem de meio, apenas o nitrato foi totalmente consumido por *T. obliquus*, enquanto os nutrientes ferro, fosfato e potássio foram parcialmente consumidos. Os

autores também ponderaram que a condição de estresse causada pela redução de disponibilidade de nutrientes no meio nos ciclos de reciclagem pode ter favorecido a produção de lipídios nas células, impactando positivamente a produção de biodiesel.

Em contrapartida, He *et al.* (2020) apresentaram resultados divergentes ao inocular a microalga *Chlorella vulgaris* em meio de cultivo sucessivamente reciclado. Neste caso, a microalga foi inoculada em meio BG-11, utilizado como grupo controle. Após o vigésimo dia de cultivo, a suspensão foi centrifugada e o sobrenadante foi vertido e filtrado para ser novamente inoculado com *C. vulgaris*. Desta forma, três ciclos de reciclagem de meio de cultivo foram realizados e suas curvas de crescimento foram comparadas ao grupo controle. Os autores notaram que a cada reutilização do meio de cultivo, a concentração de biomassa máxima era reduzida, de modo que, na terceira reciclagem, esta concentração chegou a apenas metade da observada no grupo controle. Ainda de acordo com o estudo, esta redução na concentração de biomassa está associada ao aumento da presença de ácidos graxos ao longo dos ciclos de reutilização do meio de cultivo.

A reutilização do meio pode ser uma alternativa sustentável para o cultivo de espécies de microalgas e cianobactérias, atenuando os custos operacionais, ao reduzir a necessidade de adição de nutrientes no meio de cultivo, e a necessidade de adição de água ao sistema. Para isto, é fundamental que os possíveis mecanismos inibitórios presentes na reciclagem do sobrenadante da espécie de interesse sejam investigados, a fim de se assegurar a viabilidade de reúso do meio de cultivo (LECINA *et al.*, 2016; PAQUETTE *et al.*, 2022).

Os resultados apresentados neste estudo estão compatíveis com as informações obtidas na literatura, no que diz respeito à coagulação/floculação de microalgas e cianobactérias. A seleção do floculante adequado, bem como a determinação de uma condição ideal de pH e concentração de floculante, são etapas essenciais na densificação da biomassa, que será destinada à digestão anaeróbia para produção de biogás. A otimização destes parâmetros contribui para o sucesso do projeto, na medida em que explicita as características da biomassa que será submetida à digestão anaeróbia. A reutilização do sobrenadante também é uma alternativa interessante para a redução de custos do projeto, pois reduz a pegada hídrica e o consumo de nutrientes. Adicionalmente, o estudo em si contribui para o desenvolvimento de experimentos com a cianobactéria *Synechococcus subsalsus*, elucidando o seu comportamento de crescimento e características visuais.



## 6. CONCLUSÕES

Ambos os flocculantes estudados (cloreto férrico e quitosana de baixo peso molecular) apresentaram eficiências de remoção de DQO e redução de DO superiores a 85% em suas respectivas condições ideais. Os pHs obtidos para a condição ótima (6 – 7) também estão adequados à etapa posterior de digestão anaeróbia. Entretanto, ao comparar as condições ótimas, a concentração de quitosana (0,3 g/g biomassa ou cerca de 100 mg/L) utilizada foi cerca de quatro vezes menor do que a concentração de cloreto férrico. Além disso, a capacidade de concentração de biomassa de *S. subsalsus* com a quitosana foi seis vezes maior do que a observada com o cloreto férrico. A estes resultados, soma-se o fato de que a quitosana é um polímero catiônico, biodegradável e não tóxico e, portanto, não contaminará a biomassa floculada.

A reutilização do sobrenadante dos experimentos com cloreto férrico apresentaram resultados promissores. Durante os primeiros 15 dias de cultivo de *S. subsalsus*, todos os grupos de cultivo apresentaram medições de sólidos suspensos totais (mg) semelhantes àsquelas observadas no grupo controle, apresentando curvas de crescimento similares. Os resultados sugerem que a utilização de 80 % (v/v) de sobrenadante na composição da mistura para inoculação da cianobactéria é uma alternativa viável.

## 7. SUGESTÕES PARA ESTUDOS FUTUROS

A partir do estudo e dos resultados encontrados neste trabalho, a seguir são listadas algumas sugestões para os próximos pesquisadores que trabalharão com a cianobactéria *Synechococcus subsalsus*.

- Utilizar as suspensões dos cultivos para experimentos no vigésimo dia, no início da fase estacionária;
- Avaliar a influência da intensidade luminosa nas características das células de *S. subsalsus* e no crescimento dos cultivos;
- Medir o Potencial Zeta das suspensões e avaliar a sua influência nas condições ótimas de floculação de biomassa, com os floclulantes cloreto férrico e quitosana de baixo peso molecular;
- Explorar a sedimentação gravitacional e a autofloculação, enquanto métodos para a sedimentação de *S. subsalsus*;
- Submeter a biomassa densificada de *S. subsalsus* à digestão anaeróbia e avaliar a produção de biogás;
- Estimar os custos operacionais do processo de coagulação/floculação nas condições ideais definidas.
- Avaliar os limites da reutilização dos sobrenadantes, provenientes de experimentos com cloreto férrico e quitosana, no crescimento de *S. subsalsus*, em diferentes ciclos de reciclagem de meio.

## REFERÊNCIAS

- ABU-SHAMLEH, A.; NAJJAR, Y. S. H. Optimization of mechanical harvesting of microalgae by centrifugation for biofuels production. **Biomass and Bioenergy**, v. 143, p. 105877, 2020.
- AHMAD, A. L.; YASIN, N. H. M.; DEREK, C. J. C.; LIM, J. K. Comparison of harvesting methods for microalgae *Chlorella* sp. and its potential use as a biodiesel feedstock. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 35, n. 17, p. 2244–2253, 2014.
- AIKAWA, S.; NISHIDA, A.; HO, S. H.; CHANG, J. S.; HASUNUMA, T.; KONDO, A. Glycogen production for biofuels by the euryhaline cyanobacteria *Synechococcus* sp. strain PCC 7002 from an oceanic environment. **Biotechnology for Biofuels**, v. 7, n. 1, p. 3–5, 2014.
- AINNA, T.; AMAR, M.; OMAR, H.; ISMAIL, A. Flocculation of mixed microalgae using ferric (iii) chloride and *Aspergillus*-based flocculant. **Seminario de Ecología de Malasia**, 2015.
- AKIŞ, S.; ÖZÇİMEN, D. Optimization of pH induced flocculation of marine and freshwater microalgae via central composite design. **Biotechnology Progress**, v. 35, n. 3, p. 4–9, 2019.
- ALAM, M. A.; WAN, C.; GUO, S. L.; ZHAO, X. Q.; HUANG, Z. Y.; YANG, Y. L.; CHANG, J. S.; BAI, F. W. Characterization of the flocculating agent from the spontaneously flocculating microalga *Chlorella vulgaris* JSC-7. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 118, n. 1, p. 29–33, 2014.
- ALHATTAB, M.; BROOKS, M. S. L. Optimization of *Chlorella saccharophila* harvesting by surfactant-aided dispersed air flotation for biodiesel production processes. **Biomass and Bioenergy**, v. 134, n. February, p. 105472, 2020.
- ALI, S. S.; MASTROPETROS, S. G.; SCHAGERL, M.; SAKARIKA, M.; ELSAMAHY, T.; EL-SHEEKH, M.; SUN, J.; KORNAROS, M. Recent advances in wastewater microalgae-based biofuels production: A state-of-the-art review. **Energy Reports**, v. 8, p. 13253–13280, 2022.
- ALJUBOORI, A. H. R.; UEMURA, Y.; THANH, N. T. Flocculation and mechanism of self-flocculating lipid producer microalga *Scenedesmus quadricauda* for biomass harvesting. **Biomass and Bioenergy**, v. 93, p. 38–42, 2016.
- ALKARAWI, M. A. S.; CALDWELL, G. S.; LEE, J. G. M. Continuous harvesting of microalgae biomass using foam flotation. **Algal Research**, v. 36, p. 125–138, 2018.
- ALTUNOZ, M.; ALLESINA, G.; PEDRAZZI, S.; GUIDETTI, E. Integration of biological waste conversion and wastewater treatment plants by microalgae cultivation. **Process**

**Biochemistry**, v. 91, n. October 2019, p. 158–164, 2020.

APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. **American Public Health Association – APHA**, 23<sup>o</sup> ed., Washington, DC, 2017.

ARAMAKI, T.; WATANABE, M. M.; NAKAJIMA, M.; ICHIKAWA, S. Bench-scale dehydration of a native microalgae culture by centrifugation, flocculation and filtration in Minamisoma city, Fukushima, Japan. **Bioresource Technology Reports**, v. 10, n. March, p. 100414, 2020.

AUGUSTINE, A.; TANWAR, A.; TREMBLAY, R.; KUMAR, S. Flocculation processes optimization for reuse of culture medium without pH neutralization. **Algal Research**, v. 39, n. February, p. 101437, 2019.

AZADI, P.; MALINA, R.; BARRETT, S. R. H.; KRAFT, M. The evolution of the biofuel science. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 1479–1484, 2017.

BARROS, A. I.; GONÇALVES, A. L.; SIMÕES, M.; PIRES, J. C. M. Harvesting techniques applied to microalgae: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 41, p. 1489–1500, 2015.

BEHERA, B.; BALASUBRAMANIAN, P. Natural plant extracts as an economical and ecofriendly alternative for harvesting microalgae. **Bioresource Technology**, v. 283, p. 45–52, 2019.

BELLO, M.; RANGANATHAN, P.; BRENNAN, F. Dynamic modelling of microalgae cultivation process in high rate algal wastewater pond. **Algal Research**, v. 24, p. 457–466, 2017.

BESSON, A.; GUIRAUD, P. High-pH-induced flocculation–flotation of the hypersaline microalga *Dunaliella salina*. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 464–470, 2013.

BHATTACHARYA, A.; MATHUR, M.; KUMAR, P.; MALIK, A. Potential role of N-acetyl glucosamine in *Aspergillus fumigatus*-assisted *Chlorella pyrenoidosa* harvesting. **Biotechnology for Biofuels**, v. 12, n. 1, p. 1–17, 2019.

BILAD, M. R.; ARAFAT, H. A.; VANKELECOM, I. F. J. Membrane technology in microalgae cultivation and harvesting: A review. **Biotechnology Advances**, v. 32, n. 7, p. 1283–1300, 2014.

BLOCKX, J.; VERFAILLIE, A.; THIELEMANS, W.; MUYLAERT, K. Unravelling the Mechanism of Chitosan-Driven Flocculation of Microalgae in Seawater as a Function of pH. **ACS Sustainable Chemistry and Engineering**, v. 6, n. 9, p. 11273–11279, 2018.

BOROWITZKA, M. A. Marine and halophilic algae for the production of biofuels. **Journal of**

**Biotechnology**, v. 136 (Suplemento), S7, 2008.

CAI, Q.; SONG, K.; CAI, P.; TIAN, C.; WANG, C.; XIAO, B. Harvesting of different microalgae through 100- $\mu$ m-pore-sized screen filtration assisted by cationic polyacrylamide and specific extracellular organic matter. **Separation and Purification Technology**, v. 280, p. 119918, 2022.

CARONE, M.; ALPE, D.; COSTANTINO, V.; DEROSI, C.; OCCHIPINTI, A.; ZANETTI, M.; RIGGIO, V. A. Design and characterization of a new pressurized flat panel photobioreactor for microalgae cultivation and CO<sub>2</sub> bio-fixation. **Chemosphere**, v. 307, n. P2, p. 135755, 2022.

CETESB. Apêndice E. **Significado Ambiental e Sanitário das Variáveis de Qualidade**. São Paulo, 2018. Disponível em: < <https://cetesb.sp.gov.br/aguas-interiores/wp-content/uploads/sites/12/2018/06/Ap%C3%AAndice-E-Significado-Ambiental-das-Vari%C3%A1veis-de-Qualidade.pdf> >. Acessado em: 12 nov. 2022.

CHATSUNGNOEN, T.; CHISTI, Y. Harvesting microalgae by flocculation-sedimentation. **Algal Research**, v. 13, p. 271–283, 2016a.

\_\_\_\_\_. Continuous flocculation-sedimentation for harvesting *Nannochloropsis salina* biomass. **Journal of Biotechnology**, v. 222, p. 94–103, 2016b.

CHEN, G.; ZHAO, L.; QI, Y.; CUI, Y. L. Chitosan and its derivatives applied in harvesting microalgae for biodiesel production: An outlook. **Journal of Nanomaterials**, v. 2014, n. 1, 2014.

CHEN, W.; WANG, T.; DOU, Z.; XIE, X. Microalgae Harvesting by Self-Driven 3D Microfiltration with Rationally Designed Porous Superabsorbent Polymer (PSAP) Beads. **Environmental Science and Technology**, v. 55, n. 22, p. 15446–15455, 2021.

CHEN, Z.; SHAO, S.; HE, Y.; LUO, Q.; ZHENG, MINGMIN; ZHENG, MEIQING; CHEN, B.; WANG, M. Nutrients removal from piggery wastewater coupled to lipid production by a newly isolated self-flocculating microalga *Desmodesmus* sp. PW1. **Bioresource Technology**, v. 302, p. 122806, 2020.

CHO, K.; HUR, S. P.; LEE, C. H.; KO, K.; LEE, Y. J.; KIM, K. N.; KIM, M. S.; CHUNG, Y. H.; KIM, D.; ODA, T. Bioflocculation of the oceanic microalga *Dunaliella salina* by the bloom-forming dinoflagellate *Heterocapsa circularisquama*, and its effect on biodiesel properties of the biomass. **Bioresource Technology**, v. 202, p. 257–261, 2016.

CHRISTENSON, L.; SIMS, R. Production and harvesting of microalgae for wastewater treatment, biofuels, and bioproducts. **Biotechnology Advances**, v. 29, n. 6, p. 686–702, 2011.

CHUA, E. T.; ELTANAHY, E.; JUNG, H.; UY, M.; THOMAS-HALL, S. R.; SCHENK, P. M.

- Efficient Harvesting of *Nannochloropsis* Microalgae via Optimized Chitosan-Mediated Flocculation. **Global Challenges**, v. 3, n. 1, p. 1800038, 2019.
- CORRÊA, D. DE O.; DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, M. D. Biomass production and harvesting of *Desmodesmus subspicatus* cultivated in flat plate photobioreactor using chitosan as flocculant agent. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, n. 2, p. 857–866, 2019.
- COWARD, T.; LEE, J. G. M.; CALDWELL, G. S. Harvesting microalgae by CTAB-aided foam flotation increases lipid recovery and improves fatty acid methyl ester characteristics. **Biomass and Bioenergy**, v. 67, n. 0, p. 354–362, 2014.
- CUELLAR-BERMUDEZ, S. P.; MAGDALENA, J. A.; MUYLAERT, K.; GONZALEZ-FERNANDEZ, C. High methane yields in anaerobic digestion of the cyanobacterium *Pseudanabaena* sp. **Algal Research**, v. 44, p. 101689, 2019.
- CUI, N.; FENG, Y.; XIAO, J.; DING, W.; ZHAO, Y.; YU, X.; XU, J. W.; LI, T.; ZHAO, P. Isolation and identification of a novel strain of *Heveochlorella* sp. and presentation of its capacity as biodiesel feedstock. **Algal Research**, v. 51, p. 102029, 2020.
- CYANOSITE. **BG-11 Medium for Blue Green Algae**. Disponível em: <<https://www-cyanosite.bio.purdue.edu/media/table/BG11.html>>. Acessado em 15 fev. 2019.
- DANESHVAR, E.; SIK OK, Y.; TAVAKOLI, S.; SARKAR, B.; SHAHEEN, S. M.; HONG, H.; LUO, Y.; RINKLEBE, J.; SONG, H.; BHATNAGAR, A. Insights into upstream processing of microalgae: A review. **Bioresource Technology**, v. 329, 2021.
- DANESHVAR, E.; ZARRINMEHR, M. J.; KOUSHA, M.; BHATNAGAR, A. Performance evaluation of different harvesting methods and cultivation media on the harvesting efficiency of microalga and their fatty acids profile. **Fuel**, v. 280, p. 118592, 2020.
- DAS, P.; KHAN, S.; THAHER, M.; ABDULQUADIR, M.; HOEKMAN, S. K.; AL-JABRI, H. Effect of harvesting methods on the energy requirement of *Tetraselmis* sp. biomass production and biocrude yield and quality. **Bioresource Technology**, v. 284, p. 9–15, 2019.
- DAS, P.; QUADIR, M. A.; CHAUDHARY, A. K.; THAHER, M. I.; KHAN, S.; ALGHAZAL, G.; AL-JABRI, H. Outdoor continuous cultivation of self-settling marine cyanobacterium *Chroococcidiopsis* sp. **Industrial Biotechnology**, v. 14, n. 1, p. 45–53, 2018.
- DAS, P.; THAHER, M. I.; ABDUL HAKIM, M. A. Q. M.; AL-JABRI, H. M. S. J.; ALGHAZAL, G. S. H. S. Microalgae harvesting by pH adjusted coagulation-flocculation, recycling of the coagulant and the growth media. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 824–829, 2016.
- DASAN, Y. K.; LAM, M. K.; YUSUP, S.; LIM, J. W.; LEE, K. T.; SHOW, P. L.; TAN, I. S.;

- YEW FOO, H. C. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in Sequential Flow Photobioreactor System: Influence of Recycled Culture Medium on Growth, Lipid and Protein Content. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 721, n. 1, 2021.
- DASSEY, A. J.; THEEGALA, C. S. Harvesting economics and strategies using centrifugation for cost effective separation of microalgae cells for biodiesel applications. **Bioresource Technology**, v. 128, p. 241–245, 2013.
- DEPRAETERE, O.; PIERRE, G.; DESCHOENMAEKER, F.; BADRI, H.; FOUBERT, I.; LEYS, N.; MARKOU, G.; WATTIEZ, R.; MICHAUD, P.; MUYLAERT, K. Harvesting carbohydrate-rich *Arthrospira platensis* by spontaneous settling. **Bioresource Technology**, v. 180, p. 16–21, 2015.
- DZUMAN, M. J.; SEVERO, I. A.; MOREIRA, M. A. C.; LIMA LUZ JUNIOR, L. F. DE; MITCHELL, D. A.; VARGAS, J. V. C.; MARIANO, A. B. Microalgae Culture Medium Recycling: Improved Production of Biomass and Lipids, Biodiesel Properties and Cost Reduction. **Bioenergy Research**, p. 2076–2089, 2022.
- EZE, C. N.; OGBONNA, I. O.; AOYAGI, H.; OGBONNA, J. C. Comparison of growth, protein and carotenoid contents of some freshwater microalgae and the effects of urea and cultivation in a photobioreactor with reflective broth circulation guide on *Desmodesmus subspicatus* LC172266. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 39, n. 1, p. 23–33, 2022.
- FARROHK, P.; SHEIKPOUR, M.; KASAEIAN, A.; ASADI, H. Cyanobacteria as an eco-friendly resource for biofuel production: A critical review. **Biotechnology Progress**, v. 35:e2835, 2019.
- FIGUEIREDO, D.; FERREIRA, A.; GAMA, F.; GOUVEIA, L. *Nannochloropsis oceanica* biomass enriched by electrocoagulation harvesting with promising agricultural applications. **Bioresource Technology Reports**, v. 17, n. February, p. 100979, 2022.
- FRANCO-MORGADO, M.; ALCÁNTARA, C.; NOYOLA, A.; MUÑOZ, R.; GONZÁLEZ-SÁNCHEZ, A. A study of photosynthetic biogas upgrading based on a high rate algal pond under alkaline conditions: Influence of the illumination regime. **Science of the Total Environment**, v. 592, p. 419–425, 2017.
- FRET, J.; ROEF, L.; BLUST, R.; DIELS, L.; TAVERNIER, S.; VYVERMAN, W.; MICHIELS, M. Reuse of rejuvenated media during laboratory and pilot scale cultivation of *Nannochloropsis* sp. **Algal Research**, v. 27, n. June 2017, p. 265–273, 2017.
- FUAD, N.; OMAR, R.; KAMARUDIN, S.; HARUN, R.; IDRIS, A.; WAN AZLINA, W. A.

- K. G. Effective use of tannin based natural biopolymer, AFlok-BP1 to harvest marine microalgae *Nannochloropsis* sp. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, v. 6, n. 4, p. 4318–4328, 2018.
- GAO, S.; YANG, J.; TIAN, J.; MA, F.; TU, G.; DU, M. Electro-coagulation-flotation process for algae removal. **Journal of Hazardous Materials**, v. 177, n. 1–3, p. 336–343, 2010.
- GERCHMAN, Y.; VASKER, B.; TAVASI, M.; MISHAEL, Y.; KINEL-TAHAN, Y.; YEHOOSHUA, Y. Effective harvesting of microalgae: Comparison of different polymeric flocculants. **Bioresource Technology**, v. 228, p. 141–146, 2017.
- GIMÉNEZ, J. B.; BOUZAS, A.; CARRERE, H.; STEYER, J. P.; FERRER, J.; SECO, A. Assessment of cross-flow filtration as microalgae harvesting technique prior to anaerobic digestion: Evaluation of biomass integrity and energy demand. **Bioresource Technology**, v. 269, n. June, p. 188–194, 2018.
- GONZÁLEZ-FERNÁNDEZ, C.; BALLESTEROS, M. Microalgae autoflocculation: An alternative to high-energy consuming harvesting methods. **Journal of Applied Phycology**, v. 25, n. 4, p. 991–999, 2013.
- GUTIÉRREZ, R.; PASSOS, F.; FERRER, I.; UGGETTI, E.; GARCÍA, J. Harvesting microalgae from wastewater treatment systems with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogas production. **Algal Research**, v. 9, p. 204–211, 2015.
- HADIYANTO, H.; CHRISTWARDANA, M.; WIDAYAT, W.; JATI, A. K.; LAES, S. I. Optimization of flocculation efficiency and settling time using chitosan and eggshell as bio-flocculant in *Chlorella pyrenoidosa* harvesting process. **Environmental Technology and Innovation**, v. 24, p. 101959, 2021.
- HANOTU, J.; BANDULASENA, H. C. H.; ZIMMERMAN, W. B. Microflotation performance for algal separation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 109, n. 7, p. 1663–1673, 2012.
- HARUN, R.; SINGH, M.; FORDE, G. M.; DANQUAH, M. K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 3, p. 1037–1047, 2010.
- HE, X.; YU, Y.; ZHU, Z.; XUE, M.; LI, P.; YU, R. Aging forming process of *Chlorella vulgaris* growing medium and its cultivation inhibition mechanism. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 43, n. 10, p. 1921–1929, 2020.
- HE, Y.; ZHOU, L.; XU, X.; WANG, S.; WANG, C.; DAI, B. Uniform design for optimizing biomass and intracellular polysaccharide production from self-flocculating *Scenedesmus* sp.-BH. **Annals of Microbiology**, v. 64, n. 4, p. 1779–1787, 2014.
- HUANG, Z.; CHENG, C.; LIU, Z.; LUO, W.; ZHONG, H.; HE, G.; LIANG, C.; LI, L.; DENG,



- L.; FU, W. Gemini surfactant: A novel flotation collector for harvesting of microalgae by froth flotation. **Bioresource Technology**, v. 275, n. December 2018, p. 421–424, 2019.
- HWANG, T.; PARK, S. J.; OH, Y. K.; RASHID, N.; HAN, J. I. Harvesting of *Chlorella* sp. KR-1 using a cross-flow membrane filtration system equipped with an anti-fouling membrane. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 379–382, 2013.
- IASIMONE, F.; SEIRA, J.; PANICO, A.; FELICE, V. DE; PIROZZI, F.; STEYER, J. P. Insights into bioflocculation of filamentous cyanobacteria, microalgae and their mixture for a low-cost biomass harvesting system. **Environmental Research**, v. 199, n. April, p. 111359, 2021.
- IEA. World Energy Outlook 2022. **CO2 emissions in 2022**. Disponível em: < <https://www.iea.org/reports/co2-emissions-in-2022>>. Acessado em 30 jan. 2023.
- IEVINA, B.; ROMAGNOLI, F. Effect of light intensity on the growth of three microalgae in laboratory batch cultures. **European Biomass Conference and Exhibition Proceedings**, n. July, p. 169–174, 2020.
- IPCC. Climate Change 2022: Mitigation of Climate Change. Contribution of Working Group III to the Sixth **Assessment Report of the Intergovernmental Panel on Climate Change**. Disponível em: < <https://www.ipcc.ch/report/ar6/wg3/about/how-to-cite-this-report/>>. Acessado em: 30 jan. 2023.
- JIANG, J.; JIN, W.; TU, R.; HAN, S.; JI, Y.; ZHOU, X. Harvesting of Microalgae *Chlorella pyrenoidosa* by Bio-flocculation with Bacteria and Filamentous Fungi. **Waste and Biomass Valorization**, v. 12, n. 1, p. 145–154, 2021.
- KANCHANATIP, E.; SU, B. R.; TULAPHOL, S.; DEN, W.; GRISDANURAK, N.; KUO, C. C. Fouling characterization and control for harvesting microalgae *Arthrospira* (*Spirulina*) *maxima* using a submerged, disc-type ultrafiltration membrane. **Bioresource Technology**, v. 209, p. 23–30, 2016.
- KANDASAMY, G.; SHALEH, S. R. M. Flotation removal of the microalga *Nannochloropsis* sp. using Moringa protein–oil emulsion: A novel green approach. **Bioresource Technology**, v. 247, p. 327–331, 2018.
- KESHVARDOOSTCHOKAMI, M.; MAJIDI, M.; ZAMANI, A.; LIU, B. A review on the use of chitosan and chitosan derivatives as the bio-adsorbents for the water treatment: Removal of nitrogen-containing pollutants. **Carbohydrate Polymers**, v. 273, n. September, p. 118625, 2021.
- KHAN, M. I.; SHIN, J. H.; KIM, J. D. The promising future of microalgae: Current status, challenges, and optimization of a sustainable and renewable industry for biofuels, feed, and

- other products. **Microbial Cell Factories**, v. 17, n. 1, p. 1–21, 2018.
- KIM, B. H.; CHOI, J. E.; CHO, K.; KANG, Z.; RAMANAN, R.; MOON, D. G.; KIM, H. S. Influence of water depth on microalgal production, biomass harvest, and energy consumption in high rate algal pond using municipal wastewater. **Journal of Microbiology and Biotechnology**, v. 28, n. 4, p. 630–637, 2018.
- KIM, D. Y.; LEE, K.; LEE, J.; LEE, Y. H.; HAN, J. I.; PARK, J. Y.; OH, Y. K. Acidified-flocculation process for harvesting of microalgae: Coagulant reutilization and metal-free-microalgae recovery. **Bioresource Technology**, v. 239, p. 190–196, 2017.
- KIM, K.; SHIN, H.; MOON, M.; RYU, B. G.; HAN, J. I.; YANG, J. W.; CHANG, Y. K. Evaluation of various harvesting methods for high-density microalgae, *Aurantiochytrium* sp. KRS101. **Bioresource Technology**, v. 198, p. 828–835, 2015.
- KIM, N. N.; SHIN, H. S.; PARK, H. G.; LEE, J.; KIL, G. S.; CHOI, C. Y. Profiles of photosynthetic pigment accumulation and expression of photosynthesis-related genes in the marine cyanobacteria *Synechococcus* sp.: Effects of LED wavelengths. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 19, n. 2, p. 250–256, 2014.
- KOU, S. (GABRIEL); PETERS, L. M.; MUCALO, M. R. Chitosan: A review of sources and preparation methods. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 169, p. 85–94, 2021.
- KUMAR, NIWAS; BANERJEE, C.; KUMAR, NIRAJ; JAGADEVAN, S. A novel non-starch based cationic polymer as flocculant for harvesting microalgae. **Bioresource Technology**, v. 271, n. July 2018, p. 383–390, 2019.
- KURNIAWATI, H. A.; ISMADJI, S.; LIU, J. C. Microalgae harvesting by flotation using natural saponin and chitosan. **Bioresource Technology**, v. 166, p. 429–434, 2014.
- LAAMANEN, C. A.; ROSS, G. M.; SCOTT, J. A. Flotation harvesting of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 75–86, 2016.
- LAMA, S.; MUYLEAERT, K.; KARKI, T. B.; FOUBERT, I.; HENDERSON, R. K.; VANDAMME, D. Flocculation properties of several microalgae and a cyanobacterium species during ferric chloride, chitosan and alkaline flocculation. **Bioresource Technology**, v. 220, p. 464–470, 2016.
- LAU, A. K. S.; BILAD, M. R.; NORDIN, N. A. H. M.; FAUNGNAWAKIJ, K.; NARKKUN, T.; WANG, D. K.; MAHLIA, T. M. I.; JAAFAR, J. Effect of membrane properties on tilted panel performance of microalgae biomass filtration for biofuel feedstock. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 120, n. March 2019, p. 109666, 2020.
- LAURENS, L. M. L.; WYCHEN, S. VAN; MCALLISTER, J. P.; ARROWSMITH, S.;

- DEMPSTER, T. A.; MCGOWEN, J.; PIENKOS, P. T. Strain, biochemistry, and cultivation-dependent measurement variability of algal biomass composition. **Analytical Biochemistry**, v. 452, n. 1, p. 86–95, 2014.
- LECINA, M.; NADAL, G.; SOLÀ, C.; PRAT, J.; CAIRÓ, J. J. Optimization of ferric chloride concentration and pH to improve both cell growth and flocculation in *Chlorella vulgaris* cultures. Application to medium reuse in an integrated continuous culture bioprocess. **Bioresource Technology**, v. 216, p. 211–218, 2016.
- LEE, A. K.; LEWIS, D. M.; ASHMAN, P. J. Energy requirements and economic analysis of a full-scale microbial flocculation system for microalgal harvesting. **Chemical Engineering Research and Design**, v. 88, n. 8, p. 988–996, 2010.
- LEE, R. A.; LAVOIE, J. M. From first- to third-generation biofuels: Challenges of producing a commodity from a biomass of increasing complexity. **Animal Frontiers**, v. 3, n. 2, 2013.
- LEITE, L. DE S.; HOFFMANN, M. T.; DANIEL, L. A. Coagulation and dissolved air flotation as a harvesting method for microalgae cultivated in wastewater. **Journal of Water Process Engineering**, v. 32, p. 100947, 2019.
- LIAO, Q.; LI, L.; CHEN, R.; ZHU, X. A novel photobioreactor generating the light/dark cycle to improve microalgae cultivation. **Bioresource Technology**, v. 161, p. 186–191, 2014.
- LIU, J.; TAO, Y.; WU, J.; ZHU, Y.; GAO, B.; TANG, Y.; LI, A.; ZHANG, C.; ZHANG, Y. Effective flocculation of target microalgae with self-flocculating microalgae induced by pH decrease. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 367–375, 2014.
- LOGANATHAN, K.; SATHTHASIVAM, J.; SARP, S. Removal of microalgae from seawater using chitosan-alum/ferric chloride dual coagulations. **Desalination**, v. 433, p. 25–32, 2018.
- LU, Z.; SHA, J.; WANG, W.; LI, Y.; WANG, G.; CHEN, Y.; HU, Q.; ZHANG, X. Identification of auto-inhibitors in the reused culture media of the Chlorophyta *Scenedesmus acuminatus*. **Algal Research**, v. 44, p. 101665, 2019.
- LUCAKOVA, S.; BRANYIKOVA, I.; KOVACIKOVA, S.; MASOJIDEK, J.; RANGLOVA, K.; BRANYIK, T.; RUZICKA, M. C. Continuous electrocoagulation of *Chlorella vulgaris* in a novel channel-flow reactor: A pilot-scale harvesting study. **Bioresource Technology**, v. 351, n. March, p. 126996, 2022.
- LUCAKOVA, S.; BRANYIKOVA, I.; KOVACIKOVA, S.; PIVOKONSKY, M.; FILIPENSKA, M.; BRANYIK, T.; RUZICKA, M. C. Electrocoagulation reduces harvesting costs for microalgae. **Bioresource Technology**, v. 323, p. 124606, 2021.
- LUO, S.; WU, X.; JIANG, H.; YU, M.; LIU, Y.; MIN, A.; LI, W.; RUAN, R. Edible fungi-

- assisted harvesting system for efficient microalgae bio-flocculation. **Bioresource Technology**, v. 282, n. March, p. 325–330, 2019.
- LV, J.; GUO, J.; FENG, J.; LIU, Q.; XIE, S. A comparative study on flocculating ability and growth potential of two microalgae in simulated secondary effluent. **Bioresource Technology**, v. 205, p. 111–117, 2016.
- LV, J.; ZHAO, F.; FENG, J.; LIU, Q.; NAN, F.; LIU, X.; XIE, S. The impact of particulate and soluble organic matter on physicochemical properties of extracellular polymeric substances in a microalga *Neocystis mucosa* SX. **Algal Research**, v. 51, n. August, p. 102064, 2020.
- LV, J.; ZHAO, F.; FENG, J.; LIU, Q.; NAN, F.; XIE, S. Extraction of extracellular polymeric substances (EPS) from a newly isolated self-flocculating microalga *Neocystis mucosa* SX with different methods. **Algal Research**, v. 40, n. March, p. 101479, 2019.
- MA, J.; SAHAI, Y. Chitosan biopolymer for fuel cell applications. **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 2, p. 955–975, 2013.
- MAHMOOD, A.; HWAN KIM, J.; PARK, J. W. Application of metal-air fuel cell electrocoagulation for the harvesting of *Nannochloropsis salina* marine microalgae. **Renewable Energy**, v. 171, p. 1224–1235, 2021.
- MALIK, S.; ASHRAF, M. U. F.; SHAHID, A.; JAVED, M. R.; KHAN, A. Z.; USMAN, M.; MANIVANNAN, A.; MEHMOOD, M. A.; ASHRAF, G. A. Characterization of a newly isolated self-flocculating microalga *Bracteacoccus pseudominor* BERC09 and its evaluation as a candidate for a multiproduct algal biorefinery. **Chemosphere**, v. 304, n. June, p. 135346, 2022.
- MARINHO, Y. F.; OLIVEIRA, C. Y. B.; MALAFAIA, C. B.; CAHÚ, T. B.; OLIVEIRA, A. P. S.; NAPOLEÃO, T. H.; BEZERRA, R. S.; PAIVA, P. G.; GÁLVEZ, A. O. A circular approach for the efficient recovery of astaxanthin from *Haematococcus pluvialis* biomass harvested by flocculation and water reusability. **Science of the Total Environment**, v. 841, n. June, 2022.
- MEHRABADI, A.; FARID, M. M.; CRAGGS, R. Variation of biomass energy yield in wastewater treatment high rate algal ponds. **Algal Research**, v. 15, p. 143–151, 2016.
- MENNAA, F. Z.; ARBIB, Z.; PERALES, J. A. Urban wastewater treatment by seven species of microalgae and analgal bloom: Biomass production, N and P removal kinetics and harvestability. **Water Research**, v. 83, p. 42–51, 2015.
- MISRA, R.; GULDHE, A.; SINGH, P.; RAWAT, I.; STENSTRÖM, T. A.; BUX, F. Evaluation of operating conditions for sustainable harvesting of microalgal biomass applying electrochemical method using non sacrificial electrodes. **Bioresource Technology**, v. 176, p.

1–7, 2015.

MOLINA-MIRAS, A.; LÓPEZ-ROSALES, L.; CERÓN-GARCÍA, M. C.; SÁNCHEZ-MIRÓN, A.; GARCÍA-CAMACHO, F.; CONTRERAS-GÓMEZ, A.; MOLINA-GRIMA, E. A new approach to finding optimal centrifugation conditions for shear-sensitive microalgae. **Algal Research**, v. 44, n. November, p. 101677, 2019.

MOLINA GRIMA, E.; BELARBI, E. H.; ACIÉN FERNÁNDEZ, F. G.; ROBLES MEDINA, A.; CHISTI, Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. **Biotechnology Advances**, v. 20, n. 7–8, p. 491–515, 2003.

MOLINO, A.; MEHARIYA, S.; IOVINE, A.; CASELLA, P.; MARINO, T.; KARATZA, D.; CHIANESE, S.; MUSMARRA, D. Enhancing Biomass and Lutein Production From *Scenedesmus almeriensis*: Effect of Carbon Dioxide Concentration and Culture Medium Reuse. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, n. April, p. 1–12, 2020.

MOROICHO-JACOMÉ, A. L.; SATO, S.; CARVALHO, J. C. M. Ferric sulfate coagulation and powdered activated carbon adsorption as simultaneous treatment to reuse the medium in *Arthrospira platensis* cultivation. **Journal of Chemical Technology & Biotechnology**, v. 91, p. 901-910, 2016.

MULDERS, K. J. M.; LAMERS, P. P.; MARTENS, D. E.; WIJFFELS, R. H. Phototrophic pigment production with microalgae: Biological constraints and opportunities. **Journal of Phycology**, v. 50, n. 2, p. 229–242, 2014.

NAJJAR, Y. S. H.; ABU-SHAMLEH, A. Harvesting of microalgae by centrifugation for biodiesel production: A review. **Algal Research**, v. 51, n. March, p. 102046, 2020.

NAZARI, M. T.; MAZUTTI, J.; BASSO, L. G.; COLLA, L. M.; BRANDLI, L. Biofuels and their connections with the sustainable development goals: a bibliometric and systematic review. **Environment, Development and Sustainability**, v. 23, n. 8, p. 11139–11156, 2021.

NDIKUBWIMANA, T.; ZENG, X.; LIU, Y.; CHANG, J. S.; LU, Y. Harvesting of microalgae *Desmodesmus* sp. F51 by bioflocculation with bacterial bioflocculant. **Algal Research**, v. 6, n. PB, p. 186–193, 2014.

NDIKUBWIMANA, T.; ZENG, X.; MURWANASHYAKA, T.; MANIRAFASHA, E.; HE, N.; SHAO, W.; LU, Y. Harvesting of freshwater microalgae with microbial bioflocculant: A pilot-scale study. **Biotechnology for Biofuels**, v. 9, n. 1, p. 1–11, 2016.

NIE, C.; PEI, H.; JIANG, L.; CHENG, J.; HAN, F. Growth of large-cell and easily-sedimentation microalgae *Golenkinia* SDEC-16 for biofuel production and campus sewage treatment. **Renewable Energy**, v. 122, p. 517–525, 2018.

NOH, W.; KIM, J.; LEE, S. JUN; RYU, B. G.; KANG, C. MIN. Harvesting and contamination

- control of microalgae *Chlorella ellipsoidea* using the bio-polymeric flocculant A-poly-L-lysine. **Bioresource Technology**, v. 249, n. August 2017, p. 206–211, 2018.
- NZAYISENGA, J. C.; FARGE, X.; GROLL, S. L.; SELLSTEDT, A. Effects of light intensity on growth and lipid production in microalgae grown in wastewater. **Biotechnology for Biofuels**, v. 13, n. 1, p. 1–8, 2020.
- O'NEIL, J. M.; DAVIS, T. W.; BURFORD, M. A.; GOBLER, C. J. The rise of harmful cyanobacteria blooms: The potential roles of eutrophication and climate change. **Harmful Algae**, v. 14, p. 313–334, 2012.
- OGBONNA, C. N.; NWOBA, E. G. Bio-based flocculants for sustainable harvesting of microalgae for biofuel production. A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 139, n. January, p. 110690, 2021.
- OLIVEIRA, H. R.; BASSIN, I. D.; CAMMAROTA, M. C. Bioflocculation of cyanobacteria with pellets of *Aspergillus niger*: Effects of carbon supplementation, pellet diameter, and other factors in biomass densification. **Bioresource Technology**, v. 294, n. July, p. 122167, 2019.
- ONU. Objetivos de Desenvolvimento Sustentável. **Objetivo 7**. Assegurar o acesso confiável, sustentável, moderno e a preço acessível à energia para todas e todos. Disponível em: <<https://brasil.un.org/pt-br/sdgs/7>>. Acessado em: 30 jan. 2023.
- PANDEY, A.; PATHAK, V. V.; KOTHARI, R.; BLACK, P. N.; TYAGI, V. V. Experimental studies on zeta potential of flocculants for harvesting of algae. **Journal of Environmental Management**, v. 231, n. February 2018, p. 562–569, 2019.
- PAQUETTE, A. J.; VADLAMANI, A.; DEMIRKAYA, C.; STROUS, M.; LA HOZ SIEGLER, H. DE. Nutrient management and medium reuse for cultivation of a cyanobacterial consortium at high pH and alkalinity. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 10, n. August, p. 1–15, 2022.
- PERAZZOLI, S.; BRUCHEZ, B. M.; MICHELON, W.; STEINMETZ, R. L. R.; MEZZARI, M. P.; NUNES, E. O.; SILVA, M. L. B. DA. Optimizing biomethane production from anaerobic degradation of *Scenedesmus* spp. biomass harvested from algae-based swine digestate treatment. **International Biodeterioration and Biodegradation**, v. 109, p. 23–28, 2016.
- PÉREZ, L.; SALGUEIRO, J. L.; MACEIRAS, R.; CANCELA, Á.; SÁNCHEZ, Á. Study of influence of pH and salinity on combined flocculation of *Chaetoceros gracilis* microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v. 286, p. 106–113, 2016.
- \_\_\_\_\_. An effective method for harvesting of marine microalgae: pH induced flocculation. **Biomass and Bioenergy**, v. 97, p. 20–26, 2017.

- PEZZOLESI, L.; SAMORÌ, C.; PISTOCCHI, R. Flocculation induced by homogeneous and heterogeneous acid treatments in *Desmodesmus communis*. **Algal Research**, v. 10, p. 145–151, 2015.
- PINTO, F. P. Avaliação de métodos de concentração de biomassa de microalgas visando à digestão anaeróbia. 2017. Trabalho de Conclusão de Curso. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2017.
- PISHGAR, Z.; SAMIMI, A.; MOHEBBI-KALHORI, D.; SHOKROLLAHZADEH, S. Comparative Study on the Harvesting of Marine *Chlorella vulgaris* Microalgae from a Dilute Slurry Using Autoflocculation-Sedimentation and Electrocoagulation-Flotation Methods. **International Journal of Environmental Research**, v. 14, n. 6, p. 615–628, 2020.
- POLITAEVA, N.; SMYATSKAYA, Y.; TOUMI, A.; OPARINA, A. Concentration of *Chlorella sorokiniana* microalga biomass at combined usage of coagulants and flocculants. **Eurasian Chemico-Technological Journal**, v. 20, n. 3, p. 243–247, 2018.
- POTOCAR, T.; LEITE, L. DE S.; DANIEL, L. A.; PIVOKONSKY, M.; MATOULKOVA, D.; BRANYIK, T. Cooking oil-surfactant emulsion in water for harvesting *Chlorella vulgaris* by sedimentation or flotation. **Bioresource Technology**, v. 311, n. May, p. 123508, 2020.
- RAHMANI, A.; ZERROUKI, D.; DJAFER, L.; AYRAL, A. Hydrogen recovery from the photovoltaic electroflocculation-flotation process for harvesting *Chlorella pyrenoidosa* microalgae. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 31, p. 19591–19596, 2017.
- RAJESH BANU, J.; YUKESH KANNAH, R.; KAVITHA, S.; ASHIKVIVEK, A.; BHOSALE, R. R.; KUMAR, G. Cost effective biomethanation via surfactant coupled ultrasonic liquefaction of mixed microalgal biomass harvested from open raceway pond. **Bioresource Technology**, v. 304, n. February, p. 123021, 2020.
- RAZAK, N. N. A. N.; RAHMAWATI, R.; BILAD, M. R.; PRATIWI, A. E.; ELMA, M.; NAWI, N. I. M.; JAAFAR, J.; LAM, M. K. Finned spacer for enhancing the impact of air bubbles for membrane fouling control in *Chlorella vulgaris* filtration. **Bioresource Technology Reports**, v. 11, n. April, p. 100429, 2020.
- REYES, J. F.; LABRA, C. Biomass harvesting and concentration of microalgae *scenedesmus* sp. cultivated in a pilot photobioreactor. **Biomass and Bioenergy**, v. 87, p. 78–83, 2016.
- RICCERI, F.; MALAGUTI, M.; DEROSI, C.; ZANETTI, M.; RIGGIO, V.; TIRAFERRI, A. Microalgae biomass concentration and reuse of water as new cultivation medium using ceramic membrane filtration. **Chemosphere**, v. 307, n. P1, p. 135724, 2022.
- RICKMAN, M.; PELLEGRINO, J.; DAVIS, R. Fouling phenomena during membrane filtration of microalgae. **Journal of Membrane Science**, v. 423–424, p. 33–42, 2012.

- RÍOS, S. D.; SALVADÓ, J.; FARRIOL, X.; TORRAS, C. Antifouling microfiltration strategies to harvest microalgae for biofuel. **Bioresource Technology**, v. 119, p. 406–418, 2012.
- ROKHATI, N.; PRASETYANINGRUM, A.; AJI, R. W.; HAMADA, N. The use of chitosan as non-toxic flocculant for harvesting microalgae spirulina sp. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, v. 828, n. 1, 2021.
- SAJJAD, A.; RIZWAN, M.; MUJTABA, G.; RASHID, N. Chitosan as a flocculant: An approach to improve its solubility for efficient harvesting of microalgae. **Korean Chemical Engineering Research**, v. 55, n. 4, p. 530–534, 2017.
- SALIM, S.; KOSTERINK, N. R.; TCHETKOUA WACKA, N. D.; VERMUË, M. H.; WIJFFELS, R. H. Mechanism behind autoflocculation of unicellular green microalgae *Ettlia texensis*. **Journal of Biotechnology**, v. 174, n. 1, p. 34–38, 2014.
- SALIM, S.; SHI, Z.; VERMUË, M. H.; WIJFFELS, R. H. Effect of growth phase on harvesting characteristics, autoflocculation and lipid content of *Ettlia texensis* for microalgal biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 138, p. 214–221, 2013.
- SALIM, S.; VERMUË, M. H.; WIJFFELS, R. H. Ratio between autoflocculating and target microalgae affects the energy-efficient harvesting by bio-flocculation. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 49–55, 2012.
- SANYANO, N.; CHETPATTANANONNDH, P.; CHONGKHONG, S. Coagulation-flocculation of marine *Chlorella* sp. for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 471–476, 2013.
- SCANLAN, D. J.; WEST, N. J. Molecular ecology of the marine cyanobacterial genera *Prochlorococcus* and *Synechococcus*. **FEMS Microbiology Ecology**, v. 40, n. 1, p. 1–12, 2002.
- SEO, Y. H.; SUNG, M.; KIM, B.; OH, Y. K.; KIM, D. Y.; HAN, J. I. Ferric chloride based downstream process for microalgae based biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 181, p. 143–147, 2015.
- SETTA, B. R. S.; BARBARINO, E.; PASSOS, F. B.; LOURENÇO, S. O. Evaluación de la utilidad de la cianobacteria marina *Synechococcus subsalsus* como fuente de biomasa para la producción de biocombustibles. **Latin American Journal of Aquatic Research**, v. 42, n. 2, p. 364–375, 2014.
- SHARMA, N. K.; TIWARI, S. P.; TRIPATHI, K.; RAI, A. K. Sustainability and cyanobacteria (blue-green algae): Facts and challenges. **Journal of Applied Phycology**, v. 23, n. 6, p. 1059–1081, 2011.
- SHARMA, S.; KUNDU, A.; BASU, S.; SHETTI, N. P.; AMINABHAVI, T. M. Sustainable environmental management and related biofuel technologies. **Journal of Environmental**



**Management**, v. 273, n. July, p. 111096, 2020.

SHI, W.; ZHU, L.; CHEN, Q.; LU, J.; PAN, G.; HU, L.; YI, Q. Synergy of flocculation and flotation for microalgae harvesting using aluminium electrolysis. **Bioresource Technology**, v. 233, p. 127–133, 2017.

SHURAIR, M.; ALMOMANI, F.; BHOSALE, R.; KHRAISHEH, M.; QIBLAWAY, H. Harvesting of intact microalgae in single and sequential conditioning steps by chemical and biological based – flocculants: Effect on harvesting efficiency, water recovery and algal cell morphology. **Bioresource Technology**, v. 281, n. December 2018, p. 250–259, 2019.

SINGH, G.; PATIDAR, S. K. Microalgae harvesting techniques: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 217, p. 499–508, 2018.

ŞIRIN, S.; TROBAJO, R.; IBANEZ, C.; SALVADÓ, J. Harvesting the microalgae *Phaeodactylum tricornutum* with polyaluminum chloride, aluminium sulphate, chitosan and alkalinity-induced flocculation. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 5, p. 1067–1080, 2012.

SOLIMENO, A.; PARKER, L.; LUNDQUIST, T.; GARCÍA, J. Integral microalgae-bacteria model (BIO\_ALGAE): Application to wastewater high rate algal ponds. **Science of the Total Environment**, v. 601–602, p. 646–657, 2017.

SOSSELLA, F. S.; REMPEL, A.; MONROE ARAÚJO NUNES, J.; BIOLCHI, G.; MIGLIAVACA, R.; FAREZIN ANTUNES, A. C.; VIEIRA COSTA, J. A.; HEMKEMEIER, M.; COLLA, L. M. Effects of harvesting *Spirulina platensis* biomass using coagulants and electrocoagulation–flotation on enzymatic hydrolysis. **Bioresource Technology**, v. 311, n. May, p. 123526, 2020.

SRIMONGKOL, P.; THONGCHUL, N.; PHUNPRUCH, S.; KARNCHANATAT, A. Optimization of *synechococcus* sp. VDW cultivation with artificially prepared shrimp wastewater for ammonium removal and its potential for use as a biofuel feedstock. **Journal of Oleo Science**, v. 68, n. 3, p. 233–243, 2019.

SURENDHIRAN, D.; VIJAY, M. Study on flocculation efficiency for harvesting *Nannochloropsis oculata* for biodiesel production. **International Journal of ChemTech Research**, v. 5, n. 4, p. 1761–1769, 2013.

SUTHERLAND, D. L.; HOWARD-WILLIAMS, C.; TURNBULL, M. H.; BROADY, P. A.; CRAGGS, R. J. Enhancing microalgal photosynthesis and productivity in wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 184, p. 222–229, 2015.

TRAN, D. T.; LE, B. H.; LEE, D. J.; CHEN, C. L.; WANG, H. Y.; CHANG, J. S. Microalgae

- harvesting and subsequent biodiesel conversion. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 179–186, 2013.
- UDUMAN, N.; QI, Y.; DANQUAH, M. K.; HOADLEY, A. F. A. Marine microalgae flocculation and focused beam reflectance measurement. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, n. 3, p. 935–940, 2010.
- UGGETTI, E.; SIALVE, B.; HAMELIN, J.; BONNAFOUS, A.; STEYER, J. P. CO<sub>2</sub> addition to increase biomass production and control microalgae species in high rate algal ponds treating wastewater. **Journal of CO<sub>2</sub> Utilization**, v. 28, n. October, p. 292–298, 2018.
- UMMALYMA, S. B.; MATHEW, A. K.; PANDEY, A.; SUKUMARAN, R. K. Harvesting of microalgal biomass: Efficient method for flocculation through pH modulation. **Bioresource Technology**, v. 213, p. 216–221, 2016.
- VANDAMME, D.; PONTES, S. C. V.; GOIRIS, K.; FOUBERT, I.; PINOY, L. J. J.; MUYLAERT, K. Evaluation of electro-coagulation–flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 108, p. 2320–2329, 2011.
- VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; FRAEYE, I.; MEESCHAERT, B.; MUYLAERT, K. Flocculation of *Chlorella vulgaris* induced by high pH: Role of magnesium and calcium and practical implications. **Bioresource Technology**, v. 105, p. 114–119, 2012.
- VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K. Flocculation as a low-cost method for harvesting microalgae for bulk biomass production. **Trends in Biotechnology**, v. 31, n. 4, p. 233–239, 2013.
- VELMURUGAN, R.; INCHAROENSAKDI, A. Metabolic transformation of cyanobacteria for biofuel production. **Chemosphere**, v. 299, n. March, p. 134342, 2022.
- VIDAL, R. R. L.; MORAES, J. S. Removal of organic pollutants from wastewater using chitosan: a literature review. **International Journal of Environmental Science and Technology**, v. 16, n. 3, p. 1741–1754, 2019.
- VINCENT, W. F. *Cyanobacteria. Protists, Bacteria and Fungi: Planktonic and Attached*, Elsevier, 2009. Disponível em: <<https://www.cen.ulaval.ca/warwickvincent/PDFfiles/228.pdf>>. Acessado em 15 fev. 2023.
- VISIGALLI, S.; BARBERIS, M. G.; TUROLLA, A.; CANZIANI, R.; BERDEN ZRIMEC, M.; REINHARDT, R.; FICARA, E. Electrocoagulation–flotation (ECF) for microalgae harvesting – A review. **Separation and Purification Technology**, v. 271, p. 118684, 2021.
- VU, H. P.; NGUYEN, L. N.; VU, M. T.; LABEEUW, L.; EMMERTON, B.; COMMAULT, A. S.; RALPH, P. J.; MAHLIA, T. M. I.; NGHIEM, L. D. Harvesting *Porphyridium purpureum*

using polyacrylamide polymers and alkaline bases and their impact on biomass quality. **Science of the Total Environment**, v. 755, p. 142412, 2021.

WÁGNER, D. S.; RADOVICI, M.; SMETS, B. F.; ANGELIDAKI, I.; VALVERDE-PÉREZ, B.; PLÓSZ, B. G. Harvesting microalgae using activated sludge can decrease polymer dosing and enhance methane production via co-digestion in a bacterial-microalgal process. **Algal Research**, v. 20, p. 197–204, 2016.

WAN, C.; ZHAO, X. Q.; GUO, S. L.; ASRAFUL ALAM, M.; BAI, F. W. Biofloculant production from *Solibacillus silvestris* W01 and its application in cost-effective harvest of marine microalga *Nannochloropsis oceanica* by flocculation. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 207–212, 2013.

WANG, S.; YERKEBULAN, M.; ABOMOHRAN, A. E. F.; EL-KHODARY, S.; WANG, Q. Microalgae harvest influences the energy recovery: A case study on chemical flocculation of *Scenedesmus obliquus* for biodiesel and crude bio-oil production. **Bioresource Technology**, v. 286, n. March, p. 121371, 2019.

WU, H.; LI, J.; LIAO, Q.; FU, Q.; LIU, Z. Enhanced biohydrogen and biomethane production from *Chlorella* sp. with hydrothermal treatment. **Energy Conversion and Management**, v. 205, n. November 2019, p. 112373, 2020.

WU, Z.; ZHU, Y.; HUANG, W.; ZHANG, C.; LI, T.; ZHANG, Y.; LI, A. Evaluation of flocculation induced by pH increase for harvesting microalgae and reuse of flocculated medium. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 496–502, 2012.

XU, K.; LI, Y.; ZOU, X.; WEN, H.; SHEN, Z.; REN, X. Investigating microalgae cell-microsphere interactions during microalgae harvesting by ballasted dissolved air flotation through XDLVO theory. **Biochemical Engineering Journal**, v. 137, p. 294–304, 2018.

XU, Y.; PURTON, S.; BAGANZ, F. Chitosan flocculation to aid the harvesting of the microalga *Chlorella sorokiniana*. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 296–301, 2013.

YAN, C.; ZHANG, Q.; XUE, S.; SUN, Z.; WU, X.; WANG, Z.; LU, Y.; CONG, W. A novel low-cost thin-film flat plate photobioreactor for microalgae cultivation. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 21, n. 1, p. 103–109, 2016.

YIN, Z.; CHU, R.; ZHU, L.; LI, S.; MO, F.; HU, D.; LIU, C. Application of chitosan-based flocculants to harvest microalgal biomass for biofuel production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 145, n. August 2020, p. 111159, 2021.

YOKOO, R.; HOOD, R. D.; SAVAGE, D. F. Live-cell imaging of cyanobacteria. **Photosynthesis Research**, v. 126, n. 1, p. 33–46, 2015.

YU, X.; ZHAO, P.; HE, C.; LI, J.; TANG, X.; ZHOU, J.; HUANG, Z. Isolation of a novel strain

- of *Monoraphidium* sp. and characterization of its potential application as biodiesel feedstock. **Bioresource Technology**, v. 121, p. 256–262, 2012.
- ZENG, D.; WU, J.; KENNEDY, J. F. Application of a chitosan flocculant to water treatment. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 1, p. 135–139, 2008.
- ZHANG, B.; LIU, L.; LIN, X.; XU, Z.; LUO, W.; LUO, L. Response surface methodology to optimize self-flocculation harvesting of microalgae *Desmodesmus* sp.CHX1. **Environmental Technology (United Kingdom)**, v. 43, n. 17, p. 2647–2655, 2022.
- ZHANG, H.; ZHANG, X. Microalgal harvesting using foam flotation: A critical review. **Biomass and Bioenergy**, v. 120, n. April 2018, p. 176–188, 2019.
- ZHANG, J.; HU, B. A novel method to harvest microalgae via co-culture of filamentous fungi to form cell pellets. **Bioresource Technology**, v. 114, p. 529–535, 2012.
- ZHANG, X.; HEWSON, J. C.; AMENDOLA, P.; REYNOSO, M.; SOMMERFELD, M.; CHEN, Y.; HU, Q. Critical evaluation and modeling of algal harvesting using dissolved air flotation. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 111, n. 12, p. 2477–2485, 2014.
- ZHAO, F.; XIAO, J.; DING, W.; CUI, N.; YU, X.; XU, J. W.; LI, T.; ZHAO, P. An effective method for harvesting of microalga: Coculture-induced self-flocculation. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 100, p. 117–126, 2019.
- ZHAO, Z.; ILYAS, A.; MUYLEAERT, K.; VANKELECOM, I. F. J. Optimization of patterned polysulfone membranes for microalgae harvesting. **Bioresource Technology**, v. 309, n. March, p. 123367, 2020.
- ZHENG, H.; GAO, Z.; YIN, J.; TANG, X.; JI, X.; HUANG, H. Harvesting of microalgae by flocculation with poly ( $\gamma$ -glutamic acid). **Bioresource Technology**, v. 112, p. 212–220, 2012.
- ZHOU, W.; MIN, M.; HU, B.; MA, X.; LIU, Y.; WANG, Q.; SHI, J.; CHEN, P.; RUAN, R. Filamentous fungi assisted bio-flocculation: A novel alternative technique for harvesting heterotrophic and autotrophic microalgal cells. **Separation and Purification Technology**, v. 107, p. 158–165, 2013.
- ZHU, J.; RONG, J.; ZONG, B. Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. **Cuihua Xuebao/Chinese Journal of Catalysis**, v. 34, n. 1, p. 80–100, 2013.
- ZHU, L.; LI, Z.; HILTUNEN, E. Microalgae *Chlorella vulgaris* biomass harvesting by natural flocculant: Effects on biomass sedimentation, spent medium recycling and lipid extraction. **Biotechnology for Biofuels**, v. 11, n. 1, p. 1–10, 2018.

## ANEXO

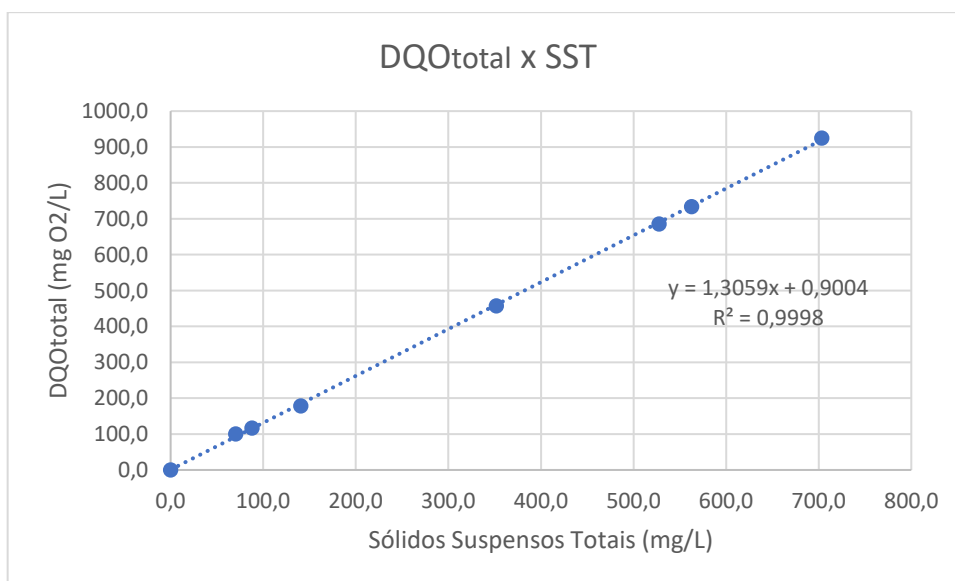


Figura 19: Curva de correlação entre Demanda Química de Oxigênio (DQO) e Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg/L).

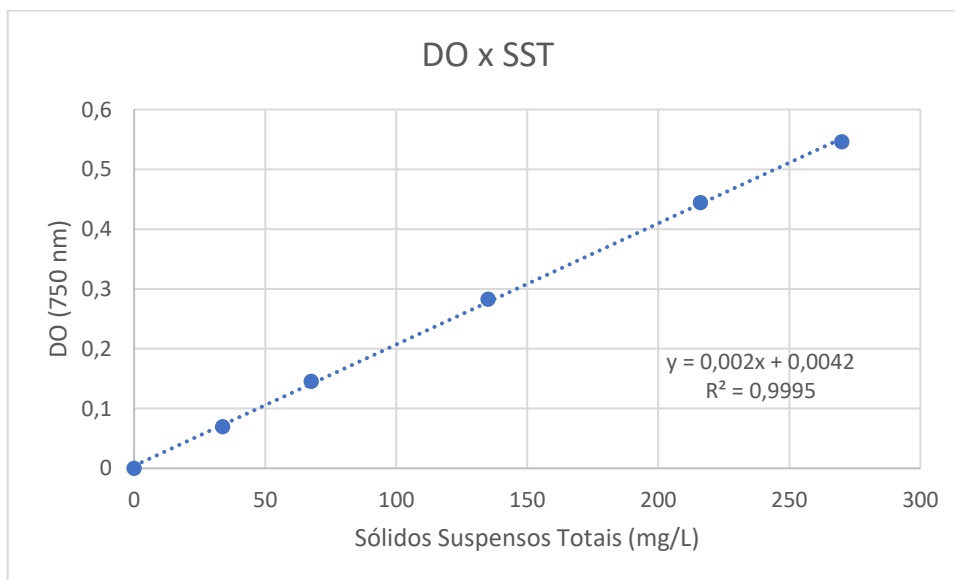


Figura 20: Curva de correlação entre Densidade Óptica (DO) e Sólidos Suspensos Totais (SST) (mg/L).