

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Avaliação do Processo Combinado de Coagulação e Osmose
Direta para a Concentração de Biomassa Algal**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Gabriela Leticia de Jesus

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**Avaliação do Processo Combinado de Coagulação e Osmose
Direta para a Concentração de Biomassa Algal**

DISSERTAÇÃO DE MESTRADO

Gabriela Leticia de Jesus

Dissertação de mestrado apresentada como
requisito parcial para obtenção do título de
Mestre em Engenharia

Área de concentração: Fenômenos de Transporte
e Operações Unitárias

Orientadores: Prof^a. Dr^a. Isabel Cristina Tessaro
Prof. Dr. Nilson Romeu Marcílio

Co-orientadora: Prof^a. Dr^a. Rosane Rech

Porto Alegre

2014

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

ESCOLA DE ENGENHARIA

DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

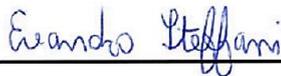
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação *Avaliação do Processo Combinado de Coagulação e Osmose Direta para a Concentração de Biomassa Algal*, elaborada por Gabriela Leticia de Jesus como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:



Prof^a. Dr^a. Camila Baldasso



Prof. Dr. Evandro Steffani



Prof. Dr. Paulo Fernando Marques Duarte Filho

Agradecimentos

Aos meus orientadores, Professora Isabel Cristina Tessaro e Professor Nilson Romeu Marcílio, e minha co-orientadora, Professora Rosane Rech, pela orientação, paciência, compreensão, ensinamentos, carinho e principalmente a amizade desenvolvida durante esses vinte meses de mestrado.

À oportunidade concedida pelo Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química da Universidade do Rio Grande do Sul.

À Capes e ao CNPq pela oportunidade de aprimoramento científico e apoio financeiro.

Aos funcionários, técnicos e professores do Departamento de Engenharia Química da UFRGS pela cooperação e apoio.

Aos bolsistas de Iniciação Científica que, além de colaborarem e estarem sempre disponíveis, me ensinaram muito: Taynara Fogaça e Lucas Schindel.

Aos meus colegas e amigos de mestrado: Ana Cardinale, Andrea, Carolina, Dirléia, Gabriela, Henrique, Janice, Juliano, Luis Fernando, Natasha, Neumara e Renata, agradeço a amizade, o apoio, o incentivo, o carinho, as risadas. Que nossa amizade perdure para sempre.

Um agradecimento especial a Ana Cardinale, que além de se tornar uma grande amiga, inúmeras vezes me ensinou e me auxiliou na execução dos experimentos e análises.

Ao meu namorado, Mateus, e aos meus amigos de Caxias pelo apoio, amizade, carinho e principalmente compreensão pela minha ausência.

E finalmente, agradeço a minha família, Luiz, Elisabete e Gregory, pelo apoio e amor incondicionais. Meu maior sacrifício foi ficar longe de vocês, mas valeu a pena!

Resumo

As microalgas vêm despertando interesse no meio acadêmico e industrial, uma vez que apresentam elevado potencial biológico. A filtração e a coagulação são os métodos de concentração de biomassa que apresentam menor consumo energético. Como uma tecnologia emergente, a osmose direta tem mostrado grandes avanços e atraído crescente interesse na geração de energia, processamento de alimentos, entre outros. Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho é buscar alternativas de colheita de microalgas para a extração de carotenoides e lipídeos que associem baixo consumo energético, biodegradabilidade e garantia de integridade das células algais. Na primeira etapa foi realizada a pré-concentração da biomassa por coagulação, onde se analisou a eficiência de seis biopolímeros catiônicos diferentes: quitosana, nano-quitosana, três espécies de tanino e amido de batata. O amido catiônico, apesar de apresentar um grau de substituição de 0,00167, foi considerado ineficaz. Para a quitosana, as melhores condições foram: dosagem de 30 mg L^{-1} , pH 7,5, tempo de 40 min de mistura e velocidade de 30 rpm. Para a nano-quitosana, dosagem de 20 mg L^{-1} , pH 8,0, tempo de 20 min de mistura, velocidade de 30 rpm e tempo de sedimentação de 5 min. O extrato de tanino puro foi considerado ineficaz. Para o tanino catiônico, foi considerada ideal a dosagem de 110 mg L^{-1} , não sendo necessário o ajuste de pH, tempo de 5 min de mistura e velocidade de 30 rpm. E o tanino sulfitado com uma dosagem de 80 mg L^{-1} , sem necessidade de ajuste de pH, 5 min de mistura, velocidade de 30 rpm e sedimentação de 60 min. Na segunda etapa foi avaliada a filtração por osmose direta. A avaliação dos fluxos obtidos antes e após os experimentos de filtração mostrou que os mesmos não causaram modificações na membrana e a ocorrência de *fouling* não interferiu no processo. A quitosana obteve um aumento de fluxo de aproximadamente $2,8 \times$, o tanino catiônico de $1,35 \times$ e o tanino sulfitado de $1,31 \times$. A nano-quitosana não apresentou aumento de fluxo. O processo combinado não apresentou alterações no teor de carotenoides totais nem no teor de lipídeos totais. As pré-concentrações com nano-quitosana e com tanino catiônico mostraram maior redução na energia de ligação, apresentando assim menor energia necessária para secagem nas etapas subsequentes.

Abstract

Microalgae have attracted interest in academic community and industry, since they have great biological potential. Filtration and coagulation are the methods of biomass concentration that have the lowest energy consumption. As an emerging technology, forward osmosis has shown great progress and attracted growing interest in power generation, food processing, among others. Within this context, the main objective of this work is to seek alternatives for microalgae harvesting to carotenoid and lipids extraction that combine low energy consumption, biodegradability and integrity assurance of algal cells. In the first step, pre-concentration of biomass was performed by coagulation, where the effectiveness of six different cationic biopolymers was analyzed: chitosan, nano-chitosan, three species of tannin and potato starch. The cationic starch, despite having a degree of substitution of 0.00167 was considered ineffective. For chitosan, the best conditions were: dosage of 30 mg L^{-1} , pH 7.5, mixing time of 40 min and stirrer speed of 30 rpm. For nano-chitosan, dosage of 20 mg L^{-1} , pH 8.0, mixing time of 20 min, stirrer speed of 30 rpm and sedimentation time of 5 min. The extract of pure tannin was deemed ineffective. For cationic tannin, the dosage of 110 mg L^{-1} was considered ideal, pH adjustment is not necessary, mixing time of 5 min and stirrer speed of 30 rpm. And for sulfited tannin, dosage of 80 mg L^{-1} , without pH adjustment, mixing time of 20 min, stirrer speed of 30 rpm and sedimentation time of 60 min. The evaluation of flows before and after the filtration tests showed that they didn't cause changes in membrane and the occurrence of fouling didn't interfere in the process. Chitosan obtained an increase of approximately $2.8 \times$, cationic tannin of $1.35 \times$ and sulfited tannin of $1.31 \times$. Nano-chitosan didn't show flow increase. The combined process showed no changes in carotenoid and lipid content. The pre-concentration with nano-chitosan e cationic tannin showed greater reduction in binding energy, thus presenting less energy for drying in subsequent steps.

Sumário

Lista de Figuras	x
Lista de Tabelas	xvii
Lista de Abreviaturas, Símbolos e Notações	xx
Capítulo 1	1
Introdução	1
Capítulo 2	4
Fundamentação Teórica e Revisão Bibliográfica	4
2.1 Microalgas	4
2.1.1 Morfologia das microalgas	4
2.1.2 Classificação	6
2.1.3 Carotenoides	8
2.1.4 Cultivo	10
2.1.5 Colheita.....	13
2.1.6 Aplicações.....	17
2.2 Pré-concentração.....	18
2.2.1 Coagulação/Floculação	20
2.2.2 Coagulantes naturais	22
2.3 Processos de separação com membranas	27
2.3.1 Osmose direta	33
2.3.2 Aplicação dos PSM na colheita de microalgas	41
Capítulo 3	43
Materiais e Métodos	43
3.1 Microalga e meio de cultivo	43
3.2 Pré-inóculos	44
3.3 Cultivo em fotobiorreator	44
3.4 Crescimento	45
3.5 Coagulantes.....	46
3.5.1 Amido catiônico.....	46
3.5.2 Quitosana	48
3.5.3 Nano-quitosana	48

3.5.4	Tanino	48
3.6	Ensaio de coagulação	48
3.7	Osmose Direta.....	49
3.7.1	Equipamento	49
3.7.2	Membranas de OD e solução osmótica.....	51
3.7.3	Metodologia	51
3.8	Análise estatística.....	53
3.9	Métodos analíticos	53
3.9.1	Análise granulométrica	56
3.9.2	Atividade da água	56
3.9.3	Calorimetria diferencial de varredura (DSC).....	56
3.9.4	Determinação de carotenoides totais	56
3.9.5	Determinação de lipídeos totais	57
3.9.6	Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	58
3.9.7	Medida do ângulo de contato	58
3.9.8	Microscopia eletrônica de transmissão (MET)	58
3.9.9	Microscopia eletrônica de varredura (MEV)	59
3.9.10	Microscopia ótica.....	59
3.10	Reagentes analíticos.....	59
Capítulo 4	61
Resultados e Discussão	61
4.1	Caracterização da microalga e crescimento	61
4.2	Caracterização dos coagulantes	63
4.2.1	Amido catiônico.....	63
4.2.2	Quitosana	64
4.2.3	Nano-quitosana	65
4.2.4	Tanino	68
4.3	Ensaio de coagulação	69
4.3.1	Amido catiônico.....	69
4.3.2	Quitosana	70
4.3.3	Nano-quitosana	79
4.3.4	Tanino	85
4.4	Caracterização da membrana	93

4.5	Osiose direta	96
4.5.1	Caracterização dos fluxos para a membrana.....	96
4.5.2	Experimentos de filtração de biomassa algal por OD.....	98
Capítulo 5	108
Conclusões e Sugestões	108
Referências Bibliográficas	111
Apêndice A – Análise Estatística dos Dados	120
Apêndice B – Curvas de Calibração	127
Apêndice C – Duplicatas dos Experimentos de Filtração por OD	129

Lista de Figuras

Figura 2.1 Micrografia eletrônica de um cloroplasto da folha da poácea <i>Phleum pratense</i> (18.000 ×), com indicação dos componentes estruturais da organela (a). A mesma preparação em uma magnificação maior (52.000 ×) (b)..	5
Figura 2.2 Exemplos da estrutura molecular de alguns carotenoides encontrados em algas: (a) β-caroteno; (b) luteína; (c) zeaxantina; (d) equinenona; (e) cantaxantina; (f) astaxantina; (g) violaxantina; (h) fucoxantina; (i) peridina..	9
Figura 2.3 Distribuição, funções biológicas e aplicações de carotenoides naturais derivados de algas..	9
Figura 2.4 Representação esquemática do perfil de desenvolvimento de micro-organismos exibindo cinco fases distintas de crescimento: 1. fase de indução ao crescimento; 2. fase de crescimento exponencial; 3. fase de desaceleração do crescimento; 4. fase estacionária; 5. fase de declínio.	11
Figura 2.5 Diagrama esquemático da biotecnologia de microalgas..	17
Figura 2.6 Estrutura química da quitina e da quitosana..	24
Figura 2.7 Estrutura química de D-glicosamina e N-acetil-D-glicosamina..	24
Figura 2.8 Desenho esquemático da fabricação de nano partículas de quitosana.	26
Figura 2.9 Classificação das membranas quanto à morfologia. (a) membranas simétricas; (b) membranas assimétricas..	28
Figura 2.10 Representação esquemática do sentido dos fluxos de solvente em OD, PRO e OI. Para OD, Δp é aproximadamente zero e a água (solvente) difunde-se para o lado da solução osmótica. Para PRO, a água difunde-se para a solução osmótica que está sob pressão positiva ($\Delta\pi > \Delta p$). Para OI, a água difunde-se para a alimentação, devido à pressão hidráulica ($\Delta p > \Delta\pi$)..	35
Figura 2.11 Pressão osmótica em função da concentração de diferentes soluções osmóticas a 25 °C..	36
Figura 2.12 Ilustração do fenômeno de polarização por concentração interna (PCI) e externa (PCE), através de uma membrana assimétrica de OD. PCI ocorre no interior da camada suporte da membrana e PCE na superfície da camada ativa da membrana. C_{alm} , C_{osm} , $\Delta\pi_{ef}$ e J_w representam a concentração da solução de alimentação, a concentração da solução osmótica, a força motriz efetiva e fluxo de soluto, respectivamente..	37
Figura 2.13 Ilustração do PCI dilutiva e PCI concentrativa através de uma membrana OD assimétrica.	39
Figura 3.1 Imagem ilustrativa dos fotobiorreatores confeccionados em acrílico, com volume útil de 2,4 L, providos de camisa de aquecimento/resfriamento interno conectados a banhos térmicos. Ao fundo está apresentado o painel das lâmpadas eletrônicas..	45
Figura 3.2 Esquema geral da reação de síntese do amido catiônico.	47
Figura 3.3 Representação esquemática do sistema de osmose direta utilizado..	50

Figura 3.4 Fotografia da unidade de bancada de osmose direta. Legenda: (1) banho termostático, (2) condutivímetro, (3) agitador magnético, (4) béquer encamisado, (5) bomba diafragma, (6) válvula agulha, (7) módulo de OD, (8) balança semianalítica e (9) recipiente da solução osmótica contendo a serpentina.	50
Figura 3.5 Esquema geral da coleta de amostras.....	54
Figura 3.6 Fluxograma geral das análises realizadas.	55
Figura 4.1 Curva de crescimento médio da microalga <i>Chlorella</i> sp. cultivada em fotobiorreator nas seguintes condições: meio Guillard – “f1/2” com adição de 300 mg de nitrato de sódio, temperatura de 28 ± 1 °C, taxa de aeração de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ e intensidade luminosa de 17,5 klx.	61
Figura 4.2 Curva de crescimento médio (colheita antecipada) da microalga <i>Chlorella</i> sp. nas seguintes condições: meio Guillard – “f1/2” com adição de 300 mg de nitrato de sódio, temperatura de 28 ± 1 °C, taxa de aeração de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ e intensidade luminosa de 17,5 klx.	62
Figura 4.3 Micrografias da microalga <i>Chlorella</i> sp. (A) Microscopia ótica com aumento de $40 \times$ e (B) MET com aumento de $30.000 \times$	63
Figura 4.4 Micrografia (MET) do amido catiônico em solução com aumento de (A) $100.000 \times$ e (B) $200.000 \times$	64
Figura 4.5 Micrografia (MET) da quitosana em solução com aumento de (A) $100.000 \times$ e (B) $200.000 \times$	65
Figura 4.6 Micrografia (MET) da nano-quitosana em solução com aumento de (A) $100.000 \times$ e (B) $200.000 \times$	66
Figura 4.7 Espectros FT-IR (A) quitosana e (B) nano-quitosana.....	68
Figura 4.8 Micrografias (MET) do tanino em solução com magnitude de (a) $400.000 \times$ e (b) $500.000 \times$	68
Figura 4.9 Efeito da dosagem de amido catiônico sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou as concentrações de amido catiônico de 10 mg L^{-1} a 150 mg L^{-1} , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,69 \pm 0,17 \text{ g L}^{-1}$	69
Figura 4.10 Cultura de microalgas coaguladas com amido catiônico (A) durante agitação e (B) após 60 min de sedimentação, nas concentrações de amido catiônico de 10 mg L^{-1} a 150 mg L^{-1} , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,69 \pm 0,17 \text{ g L}^{-1}$	70
Figura 4.11 Efeito da dosagem de quitosana sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou a concentração de quitosana de 10 mg L^{-1} a 150 mg L^{-1} , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,24 \pm 0,42 \text{ g L}^{-1}$	71

Figura 4.12 Efeito da dosagem de quitosana sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou a concentração de quitosana de 30 mg L ⁻¹ a 55 mg L ⁻¹ , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,24 ± 0,42 g L ⁻¹	72
Figura 4.13 Efeito do pH sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com quitosana, onde se variou o pH de 6,0 a 9,0, com concentração de quitosana de 30 mg L ⁻¹ , 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,24 ± 0,42 g L ⁻¹	73
Figura 4.14 Efeito do tempo de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com quitosana, onde se variou o tempo de mistura de 5 min a 120 min, com concentração de quitosana de 30 mg L ⁻¹ , pH 7,5, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,24 ± 0,42 g L ⁻¹	75
Figura 4.15 Efeito da velocidade de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com quitosana, onde se variou a velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm, com concentração de quitosana de 30 mg L ⁻¹ , pH 7,5, 40 min de mistura, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,24 ± 0,42 g L ⁻¹	76
Figura 4.16 Efeito do tempo de sedimentação sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com quitosana, onde se variou o tempo de sedimentação de 5 min a 100 min, com concentração de quitosana de 30 mg L ⁻¹ , pH 7,5, 40 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de 1,24 ± 0,42 g L ⁻¹	77
Figura 4.17 Micrografia ótica com aumento de 40x da microalga <i>Chlorella</i> sp. (A) microalga <i>in natura</i> e (B) microalga coagulada com quitosana, com concentração de quitosana de 30 mg L ⁻¹ , pH 7,5, 40 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de 1,24 ± 0,42 g L ⁻¹	78
Figura 4.18 Efeito da dosagem de nano-quitosana sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou concentração de nano-quitosana de 10 mg L ⁻¹ a 150 mg L ⁻¹ , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L ⁻¹	80
Figura 4.19 Efeito da dosagem de nano-quitosana sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou concentração de nano-quitosana de 20 mg L ⁻¹ a 50 mg L ⁻¹ , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L ⁻¹	80
Figura 4.20 Efeito do pH sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com nano-quitosana, onde se variou o pH de 5,0 a 9,0, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L ⁻¹ , 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L ⁻¹	81

Figura 4.21 Efeito do tempo de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com nano-quitosana, onde se variou o tempo de mistura de 5 min a 120 min, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L ⁻¹ , pH 8,0, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L ⁻¹	82
Figura 4.22 Efeito da velocidade de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com nano-quitosana, onde se variou a velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L ⁻¹ , pH 8,0, 5 min de mistura, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L ⁻¹	82
Figura 4.23 Efeito do tempo de sedimentação sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com nano-quitosana, onde se variou o tempo de sedimentação de 5 min a 100 min, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L ⁻¹ , pH 8,0, 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L ⁻¹	83
Figura 4.24 Micrografias óticas com magnitude de 40x da microalga <i>Chlorella</i> sp. coagulada com nano-quitosana. (A) microalga <i>in natura</i> e (B) microalga coagulada com nano-quitosana, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L ⁻¹ , pH 8,0, 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L ⁻¹	84
Figura 4.25 Efeito da dosagem de tanino sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou concentração de tanino de 10 a 150 mg L ⁻¹ , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm e 60 min de sedimentação. (A) Extrato de tanino puro, com concentração inicial de biomassa de 1,31 ± 0,08 g L ⁻¹ , (B) tanino catiônico, com concentração inicial de biomassa de 1,26 ± 0,15 g L ⁻¹ e (C) tanino sulfitado, com concentração inicial de biomassa de 2,60 ± 0,34 g L ⁻¹	86
Figura 4.26 Efeito da dosagem de tanino sobre a recuperação de células de microalgas, com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm e 60 min de sedimentação, onde se variou a concentração de (a) tanino catiônico, de 110 mg L ⁻¹ a 135 mg L ⁻¹ e concentração inicial de biomassa de 1,26 ± 0,15 g L ⁻¹ e (b) tanino sulfitado, de 80 mg L ⁻¹ a 110 mg L ⁻¹ e concentração inicial de biomassa de 2,60 ± 0,34 g L ⁻¹	88
Figura 4.27 Efeito do ph sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com tanino, com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm e 60 min de sedimentação, onde se variou o pH de 6,0 a 9,0. (A) Tanino catiônico, com concentração de tanino de 110 mg L ⁻¹ e concentração inicial de biomassa de 1,26 ± 0,15 g L ⁻¹ e (B) tanino sulfitado, com concentração de tanino de 80 mg L ⁻¹ e concentração inicial de biomassa de 2,60 ± 0,34 g L ⁻¹	88
Figura 4.28 Efeito do tempo de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com tanino, com velocidade de mistura de 100 rpm e 60 min de sedimentação, onde se variou o tempo de mistura de 5 min a 120 min. (A) Tanino catiônico, com concentração de tanino de 110 mg L ⁻¹ e concentração inicial de biomassa de 1,26 ± 0,15 g L ⁻¹ e (B) tanino sulfitado, com concentração de tanino de 80 mg L ⁻¹ e concentração inicial de biomassa de 2,60 ± 0,34 g L ⁻¹	89

Figura 4.29 Efeito da velocidade de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com tanino, com 60 min de sedimentação, onde se variou a velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm. (A) Tanino catiônico, com concentração de tanino de 110 mg L ⁻¹ , 5 min de mistura e concentração inicial de biomassa de 1,26 ± 0,15 g L ⁻¹ e (B) tanino sulfitado, com concentração de tanino de 80 mg L ⁻¹ , 5 min de mistura e concentração inicial de biomassa de 2,60 ± 0,34 g L ⁻¹	90
Figura 4.30 Efeito do tempo de sedimentação sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com tanino, onde se variou o tempo de sedimentação de 5 a 100 min. (A) Tanino catiônico, com concentração de tanino de 110 mg L ⁻¹ , 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de 1,26 ± 0,15 g L ⁻¹ e (B) tanino sulfitado, com concentração de tanino de 80 mg L ⁻¹ , 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de 2,60 ± 0,34 g L ⁻¹	91
Figura 4.31 Micrografia ótica com aumento de 40x da microalga <i>Chlorella</i> sp. coagulada com tanino catiônico com rompimento de parede celular, com concentração de tanino de 110 mg L ⁻¹ , 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm, 5 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,26 ± 0,15 g L ⁻¹	92
Figura 4.32 Micrografias da membrana TAC obtidas em 10 kV. (A) Superfície da membrana com magnificação de 100 ×, (B) superfície da membrana com magnificação de 330 ×, (C) superfície do suporte com magnificação de 100 ×, (D) superfície do suporte com magnificação de 330 ×, (E) seção transversal da membrana quebrada com nitrogênio líquido com magnificação de 230 ×, (F) seção transversal da membrana quebrada com magnificação de 500 ×, (G) seção transversal da membrana cortada com magnificação de 330 × e (H) seção transversal da membrana cortada com magnificação de 330 ×.....	94
Figura 4.33 Espectros FT-IR do topo (camada ativa) e do fundo (suporte) da membrana TAC.	95
Figura 4.34 Fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do fator de concentração. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de 3,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,78 m s ⁻¹) e vazão da solução osmótica de 4,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,98 m s ⁻¹).	100
Figura 4.35 Fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de 3,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,78 m s ⁻¹) e vazão da solução osmótica de 4,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,98 m s ⁻¹).	100
Figura 4.36 Fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a segunda filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do fator de concentração. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de 3,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,78 m s ⁻¹) e vazão da solução osmótica de 4,6 L.min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,98 m s ⁻¹).	101

Figura 4.37 Fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a segunda filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$)......	101
Figura 4.38 Fluxo inverso de soluto para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).	102
Figura 4.39 Fluxo inverso de soluto para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a segunda filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).	102
Figura 4.40 Fotografias da membrana TAC antes (A) e após 180 min de operação: (B) microalga <i>in natura</i> , (C) microalga coagulada com quitosana, (D) microalga coagulada com nano-quitosana, (E) microalga coagulada com tanino catiônico e (F) microalga coagulada com tanino sulfitado. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).	103
Figura 4.41 Energia de ligação estimada com base no DSC após o processo de OD em função dos coagulantes utilizados na etapa de pré-concentração (nas melhores condições) e da microalga não coagulada.....	106
Figura 4.42 Teor de sólidos após o processo de OD em função dos coagulantes utilizados na etapa de pré-concentração (nas melhores condições) e da suspensão de microalgas não coagulada.	106
Figura B.43 Curva de calibração do fluxo inverso de soluto, da solução osmótica para a solução de alimentação. Curva constituída por quatorze pontos com concentrações de NaCl entre 0 g L^{-1} e $1,0 \text{ g L}^{-1}$, medidos em triplicata.....	127
Figura B.44 Curva de calibração do fluxo inverso de soluto, da solução osmótica para a solução de alimentação. Curva constituída por trinta e três pontos com concentrações de sal marinho (Red Sea) entre $8,5 \text{ g L}^{-1}$ e $68,0 \text{ g L}^{-1}$, medidos em duplicata.	128
Figura C.45 Duplicata do fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do fator de concentração. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).....	129
Figura C.46 Duplicata do fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de	

operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$). 129

Figura C.47 Duplicata do fluxo inverso de soluto para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$). 130

Lista de Tabelas

Tabela 2.1. Os quatro grupos de algas mais importantes em termos de abundância.....	6
Tabela 2.2. Características e propriedades da microalga do gênero <i>Chlorella</i> sp.....	7
Tabela 2.3. Taxas de produção em todo o mundo para várias algas.	8
Tabela 2.4 Principais PSM relacionados pela força motriz, material que permeia e aplicações típicas.	33
Tabela 3.1 Pressão osmótica das diferentes soluções de alimentação (medidas através da atividade de água – Equações 2.15 a 2.17) e pressão osmótica do cloreto de sódio 5 M (solução osmótica).....	53
Tabela 3.2 Reagentes utilizados, fórmula molecular, grau de pureza e fornecedor.....	60
Tabela 4.1 Análise granulométrica por difração a <i>laser</i> da quitosana.	65
Tabela 4.2 Análise granulométrica por difração a <i>laser</i> do tanino catiônico e do tanino sulfitado.	69
Tabela 4.3 Teor de clorofila a (C_a), de clorofila b (C_b) e de carotenoides totais (C_{x+c}) da microalga <i>in natura</i> e da microalga coagulada com quitosana.	78
Tabela 4.4 Teor de lipídeos totais na suspensão de microalga <i>in natura</i> e da suspensão coagulada com quitosana.	79
Tabela 4.5 Teor de clorofila a (C_a), de clorofila b (C_b) e de carotenoides totais (C_{x+c}) da microalga <i>in natura</i> e da microalga coagulada com nano-quitosana.	84
Tabela 4.6 Teor de lipídeos totais da microalga <i>in natura</i> e da microalga coagulada com nano-quitosana.	85
Tabela 4.7 Teor de clorofila a (C_a), de clorofila b (C_b) e de carotenoides totais (C_{x+c}) da microalga <i>in natura</i> e da microalga coagulada com diferentes tipos de tanino.	93
Tabela 4.8 Teor de lipídeos totais da microalga <i>in natura</i> e da microalga coagulada com diferentes tipos de tanino.	93
Tabela 4.9 Fluxo médio de água (J_w) e fluxo inverso médio de soluto (J_s) obtidos durante a caracterização da membrana TAC com cloreto de sódio 1,0 mol L ⁻¹ , antes e após o processo de filtração de biomassa algal por OD. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de 3,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,78 m s ⁻¹) e vazão da solução osmótica de 4,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,98 m s ⁻¹).	97
Tabela 4.10 Fluxo médio de água (J_w) e fluxo médio de soluto (J_s) obtidos durante a primeira e a segunda filtração de biomassa algal através de OD. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de 3,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,78 m s ⁻¹) e vazão da solução osmótica de 4,6 L min ⁻¹ (velocidade tangencial de 0,98 m s ⁻¹).	99
Tabela 4.11 Teor de clorofila a (C_a), de clorofila b (C_b) e de carotenoides totais (C_{x+c}) da suspensão de microalgas <i>in natura</i> , após o processo de OD e após processo combinado de coagulação e OD.....	104

Tabela 4.12 Teor de lipídeos totais da microalga <i>in natura</i> e da microalga após o processo de OD e processo combinado, onde lipídeos real está relacionado a redução ocasionada pelo processo combinado (considerando a massa de coagulante na biomassa liofilizada pesada).	105
Tabela A.1 Análise estatística dos dados experimentais do amido catiônico, concentração de 10 mg L ⁻¹ a 150 mg L ⁻¹	120
Tabela A.2 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, concentração de 10 mg L ⁻¹ a 150 mg L ⁻¹	120
Tabela A.3 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, concentração de 30 mg L ⁻¹ a 55 mg L ⁻¹	120
Tabela A.4 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, pH de 6,0 a 9,0.	120
Tabela A.5 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, tempo de mistura de 5 min a 120 min.	121
Tabela A.6 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm.	121
Tabela A.7 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, tempo de sedimentação de 5 min a 100 min.	121
Tabela A.8 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, concentração de 10 mg L ⁻¹ a 150 mg L ⁻¹	121
Tabela A.9 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, concentração de 20 mg L ⁻¹ a 50 mg L ⁻¹	122
Tabela A.10 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, pH de 6,0 a 9,0.	122
Tabela A.11 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, tempo de mistura de 5 min a 120 min.	122
Tabela A.12 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm.	122
Tabela A.13 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, tempo de sedimentação de 5 min a 100 min.	122
Tabela A.14 Análise estatística dos dados experimentais do extrato de tanino puro, concentração de 10 mg L ⁻¹ a 150 mg L ⁻¹	123
Tabela A.15 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, concentração de 10 mg L ⁻¹ a 150 mg L ⁻¹	123
Tabela A.16 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, concentração de 110 mg L ⁻¹ a 135 mg L ⁻¹	123
Tabela A.17 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, pH de 6,0 a 9,0.	123
Tabela A.18 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, tempo de mistura de 5 min a 120 min.	124

Tabela A.19 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm.	124
Tabela A.20 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, tempo de sedimentação de 5 min a 100 min.	124
Tabela A.21 Análise estatística dos dados experimentais do tanino sulfitado, concentração de 10 mg L ⁻¹ a 150 mg L ⁻¹	124
Tabela A.22 Análise estatística dos dados experimentais do tanino sulfitado, concentração de 100 mg L ⁻¹ a 135 mg L ⁻¹	124
Tabela A.23 Análise estatística dos dados experimentais do tanino sulfitado, pH de 6,0 a 9,0.	125
Tabela A.24 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, tempo de mistura de 5 min a 120 min.	125
Tabela A.25 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm.	125
Tabela A.26 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, tempo de sedimentação de 5 min a 100 min.	125
Tabela A.27 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga <i>in natura</i>	126
Tabela A.28 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga coagulada com quitosana.	126
Tabela A.29 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga coagulada com nano-quitosana.	126
Tabela A.30 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga coagulada com tanino catiônico.	126
Tabela A.31 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga coagulada com tanino sulfitado.	126

Lista de Abreviaturas, Símbolos e Notações

PSM	processos de separação com membranas
CINB	Código Internacional de Nomenclatura Botânica
DCE	dupla camada elétrica
DDM	membrana dinâmica diatomita
DS	grau de substituição
FA	fração molar
FC	fator de concentração
FDA	Food and Drug Administration
FCV	fator de concentração volumétrico
GD	grau de desacetilação
GRAS	Generally Recognized As Safe
ICTA	Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos
MOE	matéria orgânica extracelular
NF	nanofiltração
OD	osmose direta
OI	osmose inversa
PACI	hidrato de cloro-alumínio
PC	polarização por concentração
PCE	polarização por concentração externa
PCI	polarização por concentração interna
PRO	osmose retardada por pressão
PVA	álcool polivinílico
SA	solução de alimentação
SO	solução osmótica
TAC	triacetato de celulose
UF	ultrafiltração

UFRGS	Universidade Federal do Rio Grande do Sul
VOC	compostos orgânicos voláteis
A	coeficiente de permeabilidade do solvente (unidade SI)
A_m	área da membrana (m)
a_w	atividade da água
B	coeficiente de permeabilidade do soluto
C_a	concentração de clorofila a (unidade SI)
C_b	concentração de clorofila b
C_{x+c}	concentração de carotenoides
$C_{inicial\ biomassa}$	concentração inicial da biomassa
C_m	concentração da solução de alimentação
C_o	concentração da espécie na alimentação
C_{SO}	concentração da solução osmótica
C_p	concentração no permeado
dV/dt	volume de permeado recolhido em função do tempo de permeação
D	coeficiente de difusão soluto
d_h	diâmetro hidráulico
$DO_{750\ zona\ clarificada}$	densidade ótica da amostra após o processo de coagulação
$DO_{750\ zona\ inicial}$	densidade ótica da cultura de referência (controle)
e	espessura da membrana
i	fator de Van't Hoff
J	fluxo através da membrana
J_p	fluxo do permeado
J_s	fluxo de soluto
J_w	fluxo de solvente
k	resistência do soluto à difusão no suporte da membrana
K	coeficiente de transferência de massa

K_{alm}	coeficiente de transferência de massa na alimentação
K_{osm}	coeficiente de transferência de massa na solução osmótica
L_p	constante de permeabilidade hidráulica
M	peso molecular da histamina
n	número de átomos de nitrogênio na histamina
$N\%$	percentual em peso nitrogênio
p_l	massa de lipídeos em 5 mL de amostra
p_s	massa da amostra
R	coeficiente de rejeição
R_g	constante universal dos gases
R_m	resistência da membrana
S	parâmetro estrutural
t	espessura
T	temperatura absoluta
V	volume molar do soluto
V_F	volume de permeado
V_0	volume inicial da solução
V_R	volume do retido
x_w	fração molar do soluto
X_A	fração molar de líquidos da substância A
X_B	fração molar de líquidos da substância B
y	concentração da biomassa algal
Y_A	fração molar de gás da substância A
Y_B	fração molar de gás da substância B

Números adimensionais

Sh	número de Sherwood
------	--------------------

Símbolos Gregos

α	fator de seletividade
β_A	fator de enriquecimento
γ	coeficiente de atividade
ΔC	gradiente de concentração
ΔE	gradiente de potencial elétrico
$\Delta\mu$	gradiente de potencial químico
Δp	gradiente de pressão
$\Delta\pi$	pressão osmótica
ε	porosidade da membrana
Θ	ângulo de contato
μ	viscosidade dinâmica do fluido
π_{alm}	pressão osmótica da solução de alimentação
π_{b-alm}	pressão osmóticas da solução da alimentação no bulk
π_{b-osm}	pressão osmótica da solução osmótica no bulk
π_{m-alm}	pressão osmótica da solução de alimentação na superfície da membrana
π_{m-osm}	pressão osmótica da solução osmótica na superfície da membrana
π_{osm}	pressões osmótica da solução osmótica
σ	coeficiente de reflexão
τ	tortuosidade
\mathcal{P}	permeância hidráulica

Capítulo 1

Introdução

Devido ao elevado potencial biológico, as microalgas vêm despertando interesse no meio acadêmico e industrial. Estudos envolvendo estes micro-organismos simples, que apresentam características morfológicas, bioquímicas e nutricionais extremamente diversificadas, vêm aumentando de forma expressiva. Esse incremento deve-se ao fato de que estes micro-organismos podem ser utilizados como matéria-prima para uma variedade de bioprodutos, como biogás, bioetanol e biobutanol. Podem, também, ser aproveitados como fonte nutricional complementar na alimentação humana e animal por conterem lipídeos, proteínas e carboidratos. Outros, por sua vez, possuem pigmentos fotossintetizantes denominados carotenoides (sendo o mais conhecido o β -caroteno). Essa gama de aplicações, juntamente com altas taxas de crescimento, mesmo em água salobra, faz com que a microalga seja uma excelente matéria-prima para a produção de bioprodutos sustentáveis.

Um dos principais obstáculos no processamento de microalgas é a etapa de colheita. Esta envolve a separação da biomassa do meio de cultura e contribui com cerca de 20-30 % do custo total de produção. É especialmente crítica quando o produto de interesse possui baixo valor agregado. Os desafios são decorrentes do pequeno tamanho das células e sua baixa concentração no meio de cultura ($0,5 \text{ g L}^{-1}$ a 2 g L^{-1}). A diversidade de bioprodutos derivados de microalgas sugere que o método de colheita deva ser escolhido em função do valor final e sem ter qualquer efeito indesejável sobre o bioproduto ou biomassa.

As técnicas mais empregadas na colheita de microalgas e de recuperação da biomassa incluem a centrifugação, a filtração e a coagulação/floculação. A centrifugação apresenta eficácia e rapidez, porém possui elevado consumo energético e o processo pode danificar as células algais. A filtração e a coagulação/floculação são os métodos que apresentam menor consumo energético. A pré-concentração antes da desidratação final, por centrifugação ou filtração, pode reduzir as necessidades de energia em processos posteriores de secagem. Essa etapa de pré-concentração pode ser realizada por diversos processos. Destacam-se a adição de

biopolímeros catiônicos, tais como a quitosana, amido catiônico e tanino. Ambos os métodos são alternativas sustentáveis, pois além de não contaminar a biomassa, são biodegradáveis.

Devido ao pequeno tamanho das células algais, a filtração pode ser conduzida por membranas. A área de membranas separadoras se desdobra hoje numa multiplicidade de aplicações e requer abordagem multidisciplinar (envolve engenheiros, físicos, químicos, bioquímicos e cientistas de materiais, entre outros). Destacam-se os processos de microfiltração, ultrafiltração, nanofiltração, diálise, eletrodialise, permeação de gases, pervaporação, osmose inversa e osmose direta.

Como uma tecnologia emergente, a osmose direta (OD) tem mostrado grandes avanços e atraído crescente interesse no tratamento de efluentes, dessalinização de água do mar, geração de energia, processamento de alimentos, enriquecimento de produtos médicos, entre outros. A OD oferece diversas vantagens, como menor consumo energético, menor tendência e remoção facilitada do *fouling* e maiores recuperações em relação a processos onde a força motriz é o gradiente de potencial químico expresso por diferença de pressão, como a osmose inversa (OI), nanofiltração (NF) e ultrafiltração (UF).

Busca-se alternativas de colheita de microalgas para a extração de carotenoides e lipídeos que associem baixo consumo energético, biodegradabilidade e garantia de integridade das células algais. O objetivo geral deste trabalho é avaliar o processo combinado de coagulação/floculação e osmose direta na colheita de *Chlorella sp.* Os objetivos específicos são: verificar a eficácia dos coagulantes sintetizados, definir os mecanismos de coagulação na etapa de pré-concentração, estabelecer as melhores condições de operação dos coagulantes, avaliar o efeito dos coagulantes e do processo combinado no teor de carotenoides e lipídeos totais, caracterizar os coagulantes e a membrana de osmose direta, investigar a ocorrência de *fouling* e modificações na membrana de osmose direta na etapa de filtração de biomassa algal e analisar a umidade e força de ligação da biomassa final.

Na primeira etapa deste trabalho foi realizada a pré-concentração da biomassa por coagulação, onde se analisou a eficiência de seis biopolímeros catiônicos diferentes: quitosana, nano-quitosana, três espécies de tanino e amido de batata. Para isso, definiram-se as condições ótimas de cada biopolímero e avaliou-se a recuperação obtida para cada um. Em seguida foi utilizado o processo de osmose direta para a filtração de biomassa. A biomassa foi então liofilizada e o teor de carotenoides e lipídeos foi avaliado. Tanto a biomassa algal *in*

natura como as pré-concentradas pelos biopolímeros e concentradas por osmose direta foram avaliadas em relação aos seguintes parâmetros: concentração, recuperação, teor de carotenoides, teor de lipídeos, viabilidade celular e água ligada.

No Capítulo 2 está apresentada uma revisão da literatura abrangendo a importância das microalgas, bem como informações referentes ao seu cultivo e colheita. Dados relacionados aos biopolímeros utilizados são apresentados. Os fundamentos teóricos dos processos de separação com membranas, incluindo maiores detalhes sobre a osmose direta, além da aplicação desta tecnologia com micro-organismos, também estão contidos neste capítulo. No Capítulo 3, apresenta-se a metodologia adotada, as análises realizadas e os equipamentos e reagentes utilizados no desenvolvimento experimental do trabalho. No Capítulo 4 estão apresentados e discutidos os resultados obtidos na parte experimental de pré-concentração da biomassa e colheita das microalgas pelo processo de OD e a avaliação do teor de carotenoides e lipídeos. E, finalmente, no Capítulo 5, estão expostas as conclusões, de acordo com os resultados obtidos na parte experimental, além de algumas sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2

Fundamentação Teórica e Revisão Bibliográfica

O presente capítulo tem por premissa básica expor a relevância das microalgas, bem como informações pertinentes ao cultivo e colheita, baseados na revisão de literatura. Particularidades relacionadas aos biopolímeros também são contempladas. E, por fim, são evidenciados fundamentos teóricos que tangem a separação com membranas, osmose direta e a aplicação desta tecnologia com micro-organismos.

2.1 Microalgas

Microalgas consistem em uma ampla gama de organismos eucarióticos ubíquos que crescem através da fotossíntese como as plantas terrestres; são reconhecidas como uma das mais antigas formas de vida. Na natureza, a principal importância refere-se à elevada participação no balanço global da fotossíntese, pois contribuem com grande parcela na produção primária do planeta. Em ambiente marinho, a fotossíntese realizada pelas microalgas que constituem o fitoplâncton corresponde a mais de 90 %. Em função disso, são considerados os principais produtores primários marinhos e, portanto, fundamentais para a estruturação de quase todos os ecossistemas costeiros e oceânicos. O termo fitoplâncton se refere ao conjunto de algas microscópicas que vivem em suspensão na água (BRENNAN & OWENDE, 2010; HARUN et al., 2010; LOURENÇO, 2006).

2.1.1 Morfologia das microalgas

As microalgas são plantas primitivas (*thallophytes*), ou seja, não possuem raízes, caules e folhas, não tendo cobertura estéril em torno das células reprodutivas e possuem clorofila *a* como pigmento fotossintetizante primário. As paredes celulares são constituídas por estrutura fibrilar de celulose (como nas plantas terrestres) inserida numa matriz fibrilar (geralmente hemicelulose). Consistem em espécies dotadas de diversas organelas celulares, dentre as quais os plastos (BRENNAN & OWENDE, 2010; LOURENÇO, 2006).

Plastos são estruturas verdes pardas, alaranjadas ou vermelhas (de acordo com os pigmentos predominantes que apresentam), delimitados por duas, três ou quatro membranas. Internamente, os plastos são constituídos por camadas de membranas internas, os tilacóides, em que ocorrem as principais reações bioquímicas da fotossíntese, e por uma matriz amorfa, o estroma (LOURENÇO, 2006, p. 40).

A Figura 2.1 apresenta uma micrografia eletrônica de um cloroplasto com indicação dos componentes estruturais da organela.

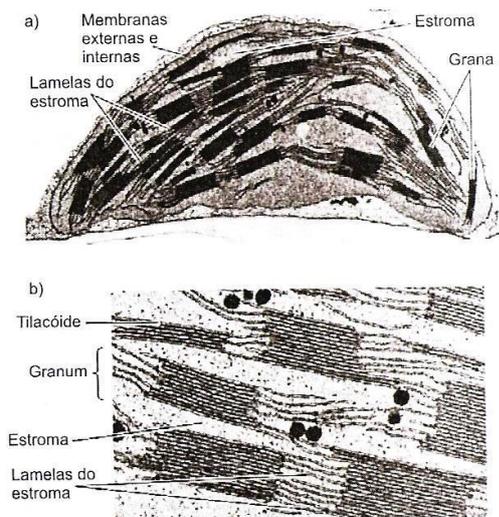


Figura 2.1 Micrografia eletrônica de um cloroplasto da folha da poácea *Phleum pratense* (18.000 ×), com indicação dos componentes estruturais da organela (a). A mesma preparação em uma magnificação maior (52.000 ×) (b). Fonte: LOURENÇO (2006).

As algas podem ser autotróficas, necessitando apenas de compostos orgânicos tais como CO₂, sais e fonte de luz como energia para o crescimento (fotossintetizante), ou heterotróficas, requerem uma fonte externa de compostos orgânicos, bem como nutrientes como fonte de energia (não fotossintetizante). Algumas algas fotossintéticas são mixotróficas, ou seja, têm tanto a capacidade de realizar fotossíntese quanto a de adquirir nutrientes orgânicos exógenos (BRENNAN & OWENDE, 2010).

A estrutura unicelular das microalgas fotossintetizantes facilita a conversão da energia solar em energia química, pois é simples e apresenta uma grande superfície em relação ao volume, o que garante uma elevada capacidade de absorção de nutrientes e maior eficiência na realização da fotossíntese. Além disso, as células crescem em suspensão aquosa, na qual há um acesso mais efetivo de água, CO₂ e outros nutrientes. O desenvolvimento elementar das microalgas permite que elas se adaptem às condições ambientais prevalentes e prosperem em longo prazo. Devido a estes fatores, as microalgas são capazes de produzir até 30 vezes a

quantidade de óleo por unidade de área de terra, em comparação com as culturas de oleaginosas terrestres (BRENNAN & OWENDE, 2010; HARUN et al., 2010; KHAN et al., 2009; LOURENÇO, 2006).

2.1.2 Classificação

Esse grupo de organismos exibe mais diferenças do que semelhanças entre si. Biólogos classificam as microalgas em uma variedade de classes, que se distinguem principalmente pela sua pigmentação, ciclo de vida e estrutura celular básica. Os quatro grupos mais importantes (pelo menos, em termos de abundância) são as diatomáceas, as algas verdes, as algas verde-azuladas e as algas douradas; as espécies conhecidas e o habitat de cada grupo estão mostrados na Tabela 2.1 (BRENNAN & OWENDE, 2010; KHAN et al., 2009; LOURENÇO, 2006).

Tabela 2.1. Os quatro grupos de algas mais importantes em termos de abundância.

Posição	Divisão	Espécies conhecidas (aprox.)	Habitat
1	Diatomáceas (Bacillariophyceae)	100.000	Oceanos, água doce e salobra
2	Algas verdes (Chlorophyta)	8.000	Água doce
3	Algas verde-azuladas (Cyanophyta)	2.000	Diferentes habitats
4	Algas douradas (Chrysophyceae)	1.000	Água doce

Fonte: adaptado de KHAN et al. (2009).

A nomenclatura dos grupos advém da classificação utilizada pelo Código Internacional de Nomenclatura Botânica (CINB). Por se tratar de um código extenso e que contempla todos os procedimentos para atribuição de nomes a plantas e algas, o entendimento dos sufixos empregados facilita o entendimento da nomenclatura adotada, conforme exemplos a seguir.

- a) Divisão (=filo): *-phyta*. Ex.: divisão Chlorophyta.
- b) Classe: *-phyceae*. Ex.: classe Chrysophyceae.
- c) Subclasse: *-phycidae*. Ex.: subclasse Florideophycidae.
- d) Ordem: *-ales*. Ex.: ordem Pavlovales.
- e) Subordem: *-ineae*. Ex.: subordem Chromulineaes.
- f) Família: *-aceae*. Ex.: família Zygnemataceae.

- g) Subfamília: *-oideae*. Ex.: subfamília *Corallinoideae* (adaptado de LOURENÇO, 2006).
- h) Termo sp.: refere-se à subespécie, ou seja, a espécie não foi identificada.

Chlorella

A *Chlorella* é uma microalga unicelular pertencente ao grupo das algas verdes ou clorófitas, da divisão Chlorophyta. Pode ser encontrada tanto em água doce quanto em marinha, possuindo grande habilidade de realizar fotossíntese. São geralmente encontradas em água doce de lagoas e valas, em solo ou outros locais úmidos, como a superfície de troncos de árvores e paredes (LOURENÇO, 2006; PULZ & GROSS, 2004).

Henderson et al. (2008) relacionaram algumas características e propriedades do gênero *Chlorella* sp., de acordo com a Tabela 2.2.

Tabela 2.2. Características e propriedades da microalga do gênero *Chlorella* sp..

Propriedade	
Tamanho médio (μm)	3,5
Formato	esférico
Massa específica (kg m^{-3})	1070
Potencial zeta, ζ (mV)	-14,9 a -19,8
Condições (pH; água de teste)	5,41-7,08; água de teste sintética

Fonte: adaptado de HENDERSON (2008).

As células dessa microalga são muito pequenas (2,0 μm a 10,0 μm), de formato esférico, globular ou elipsoidal. São rodeadas por uma fina parede de celulose, na qual se encontram o cloroplasto e o pirenoide, sendo que em algumas espécies o pirenoide não é encontrado. Quando seca, sua composição é de 20 % de gordura, 45 % de proteína, 20 % de carboidratos, 10 % de minerais e 5 % de vitaminas. Contudo, o perfil de nutrientes é sujeito a grandes variações entre habitats e procedimentos de colheita. A reprodução vegetativa ocorre através da divisão celular simples (BEDIRLI, 2009; LOURENÇO, 2006; PHUKAN, 2011).

A *Chlorella* foi descoberta pelos japoneses, tradicionais consumidores de algas, sendo cultivada pela primeira vez em 1965 e processada em 1975. Apresenta crescimento rápido e alta tolerância às condições de cultivo, sendo produzida para alimentar organismos aquáticos e cultivada para extração de carotenoides, utilizados como corantes naturais. Esta microalga é estudada há mais tempo quanto à produção em massa para alimentação humana, sendo nos últimos anos a segunda microalga mais processada a nível mundial e produzida por mais de

70 empresas no mundo. Na Tabela 2.3 estão apresentadas as taxas de produção global para diferentes microalgas para o ano de 2004 (LOURENÇO, 2006; PHUKAN, 2011).

Tabela 2.3. Taxas de produção em todo o mundo para várias algas.

Alga	Produção (t/ano)
<i>Spirulina</i>	3.000
<i>Chlorella</i>	2.000
<i>Dunaliella</i>	1.200
<i>Nostoc</i>	600
<i>Aphanizomenon</i>	500

Fonte: adaptado de PULZ & GROSS (2004).

2.1.3 Carotenoides

Carotenoides são pigmentos solúveis em solventes orgânicos e dotados de coloração amarela, laranja, vermelha, marrom ou variações dessas cores. Nas algas, são acumulados no interior dos plastos. A produção de carotenoides vem se tornando uma das atividades de maior sucesso em biotecnologia de algas, em decorrência da demanda por produtos naturais em substituição aos produtos sintetizados, apesar destes possuírem um custo de produção menor.

Os carotenoides são compostos lipofílicos, que podem ser divididos em dois grupos: os carotenos e as xantofilas. No primeiro deles, as moléculas são dotadas apenas de carbono e hidrogênio, tal como α -caroteno e β -caroteno; no segundo, as moléculas, além de carbono e hidrogênio, apresentam oxigênio em sua estrutura, como a luteína. Mais de 750 carotenoides são encontrados em plantas terrestres, fungos, bactérias e algas, e cerca de 250 em ambiente marinho. A Figura 2.2 apresenta exemplos da estrutura molecular de alguns carotenoides encontrados em algas (CHRISTAKI et al., 2012; LOURENÇO, 2006).

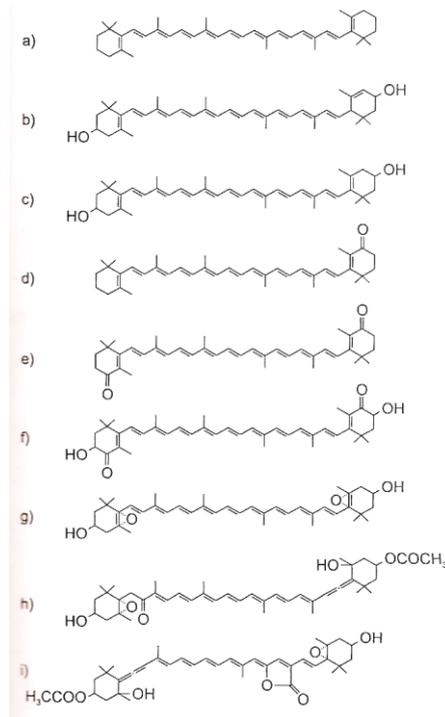


Figura 2.2 Exemplos da estrutura molecular de alguns carotenoides encontrados em algas: (a) β-caroteno; (b) luteína; (c) zeaxantina; (d) equinenona; (e) cantaxantina; (f) astaxantina; (g) violaxantina; (h) fucoxantina; (i) peridinina. Fonte: LOURENÇO (2006).

De acordo com Lourenço (2006), os carotenoides têm duas funções principais: aumentar a captação de luz dos fotossistemas (clorofilas *b*, *c* e *d*) e os proteger quando há luz em excesso, funcionando como uma espécie de filtro. Desta forma, algumas microalgas são capazes de ativar vias metabólicas e acumular carotenoides em resposta a altas tensões de iluminância, temperatura, disponibilidade de nitrogênio, e outras mudanças nas condições ambientais. A Figura 2.3 apresenta algumas aplicações e usos dos carotenoides.

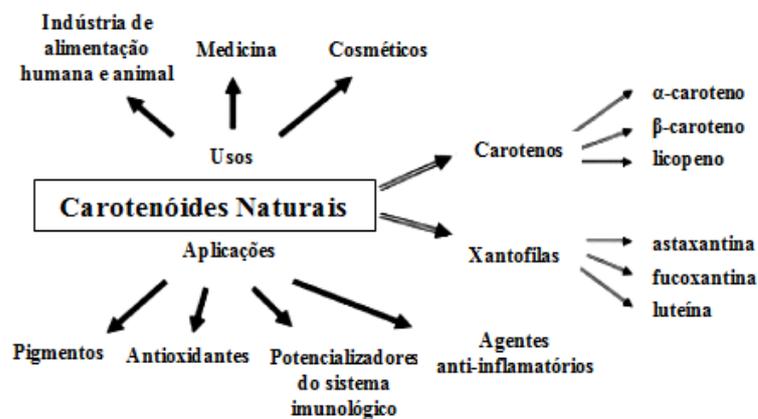


Figura 2.3 Distribuição, funções biológicas e aplicações de carotenoides naturais derivados de algas. Fonte: adaptado de CHRISTAKI (2012).

Na literatura são encontrados diversos estudos referentes à extração de carotenoides do gênero *Chlorella*, alguns recentes estão apresentados a seguir.

Campenini et al. (2013) estudaram a produção de carotenoides do gênero *Chlorella protothecoides* para produção de biodiesel, em condições de limitações na alimentação, de luminosidade e de salinidade. A produção total de carotenoides foi de 0,8 % w/w (23,3 % de cantaxantina, 14,7 % de equinenona, 7,1 % de astaxantina livre e 4,1 % de luteína/zeaxantina), apresentando um teor de lipídeos total de 43,3 % em massa.

Cordero et al. (2012) isolaram o gene ϵ -ciclase licopeno da microalga *Chlorella zofingiensis*. Este gene está relacionado à formação dos carotenoides α -caroteno e luteína, e foi encontrado no gênero estudado. Também foi avaliado o comportamento em condições de alta iluminância e privação de nitrogênio, resultando em um aumento significativo na acumulação de carotenoides.

Deenu et al. (2013) otimizaram o processo de extração de luteína, principal carotenoide do gênero *Chlorella vulgaris*. A luteína é um componente essencial da pigmentação macular da retina do olho, onde a sua baixa ingestão gera riscos de degeneração macular relacionada à idade (DMRI) e catarata. Neste estudo concluíram que o método mais econômico é a extração por ultrassom.

2.1.4 Cultivo

O cultivo de microalgas é praticado há cerca de 140 anos, sendo que as primeiras pesquisas sobre o assunto foram marcadas pela descoberta das relações das algas com o meio físico e químico. Em virtude das microalgas apresentarem elevada sensibilidade, o meio de cultivo requer a disponibilidade de instalações físicas especiais, bem como uma série de materiais para viabilizar sua realização, como equipamentos, vidrarias adequadas, água de boa qualidade, reagentes para a preparação de meios de cultura, entre outros. Os meios de cultura devem proporcionar todos os elementos essenciais ao desenvolvimento dos micro-organismos cultivados (LOURENÇO, 2006). A Figura 2.4 apresenta o perfil de crescimento padrão de micro-organismos em meio de cultivo adequado ao seu desenvolvimento.

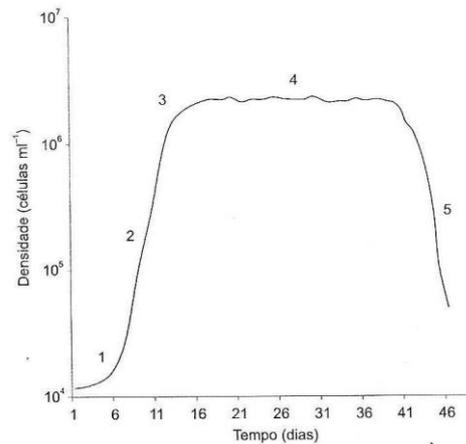


Figura 2.4 Representação esquemática do perfil de desenvolvimento de micro-organismos exibindo cinco fases distintas de crescimento: 1. fase de indução ao crescimento; 2. fase de crescimento exponencial; 3. fase de desaceleração do crescimento; 4. fase estacionária; 5. fase de declínio. Fonte: LOURENÇO (2006).

As fases distintas de crescimento das microalgas estão brevemente descritas a seguir.

1 - Fase de adaptação ou de indução ao crescimento: também chamada de fase lag, esta fase ocorre quando as células recém transferidas (inóculo) para o meio de cultura sofrem defasagem para iniciar o crescimento, ou seja, é um período de adaptação das células. Normalmente há aumento de concentração celular.

2 - Fase de crescimento exponencial ou logarítmico: a taxa de crescimento torna-se maior e aproximadamente constante por curto período de tempo, podendo variar de acordo com a espécie e as condições de crescimento.

3 - Fase de desaceleração do crescimento ou de transição: é marcada pelo decréscimo relativo da taxa de crescimento e pela redução das concentrações dos nutrientes dissolvidos.

4 - Fase estacionária de crescimento: o cultivo atinge rendimento final máximo, expresso como o maior número possível de células por mililitro de cultivo para as condições experimentais aplicadas.

5 - Fase de declínio, senescente ou de morte: marcada pela morte e/ou lise de muitas células, além da presença de substâncias autoinibidoras de crescimento.

Microalgas podem ser cultivadas de diversas formas, dependendo das finalidades da atividade; podem crescer de forma fotoautotrófica (obtem seus nutrientes a partir da luz),

mixotrófica (podem ou não produzir seus nutrientes) ou heterotrófica (os nutrientes devem ser adicionados). O crescimento fotoautotrófico é considerado como o método mais desejável para o cultivo de microalgas e pode ser realizado de três formas distintas: sistema de lagoa aberta, sistema fechado (fotobiorreator) e sistema híbrido (GIORDIANO et al., 2014).

Sistema de lagoa aberta

Cultivos de algas em sistemas de produção de lagoa aberta têm sido usados desde 1950. Estes sistemas podem ser classificados em águas naturais (lagos e lagoas) e artificiais (lagoas artificiais). A região em que a lagoa está situada é um fator crítico, pois devido à falta de controle envolvido em sistemas abertos, o cultivo torna-se uma função do clima local, e assim a localização contribui significativamente para o sucesso da cultura. O cultivo é limitado por parâmetros de crescimento, incluindo a intensidade luminosa, temperatura, pH e concentração de oxigênio dissolvido. Além disso, há um grande risco de contaminação. Desta forma, apenas um pequeno número de espécies de algas se adapta a condições tão variáveis (BRENNAN & OWENDE, 2010; HARUN, et al., 2010).

Em comparação com o sistema fechado ou de fotobiorreator, o sistema de lagoa aberta é um método mais barato para a produção em grande escala de biomassa algal, além de apresentar menor consumo energético e facilidade de manutenção e limpeza. Os custos de construção, operação e manutenção são mais baixos, porém apresentam menor controle de variáveis. No que diz respeito à produtividade de biomassa, são menos eficientes, fato que pode estar relacionado a perdas por evaporação, flutuações de temperatura, deficiências de CO₂, mistura ineficiente e limitação de luz (BRENNAN & OWENDE, 2010; HARUN et al., 2010; KHAN et al., 2009).

Sistema fechado (fotobiorreator)

O sistema fechado é concebido para contornar alguns dos principais problemas associados aos sistemas de lagoa aberta, pois apresentam um controle rigoroso do processo. Por exemplo, os riscos de poluição e contaminação em sistemas de lagoas abertas, na maioria das vezes, impedem o seu uso para a preparação de produtos de alto valor agregado. Além disso, com o sistema fechado é possível o cultivo de uma única espécie de microalga para durações prolongadas, com menor risco de contaminação. Ainda, apresentam elevada produtividade, ocupam uma área consideravelmente menor e os custos de colheita podem ser significativamente reduzidos (BRENNAN & OWENDE, 2010; KHAN et al., 2009).

Os fotobiorreatores são feitos de materiais transparentes (vidro ou plástico) para melhor captação luminosa. A geometria é um ponto importante, podendo ser configurado em plano vertical, horizontal ou inclinado. As principais diferenças entre as configurações é que na forma vertical há maior transferência de massa, menor consumo energético e alta eficiência fotossintética, enquanto que no plano horizontal apresentam maior facilidade de escalonamento, porém requerem maior área de instalação (BRENNAN & OWENDE, 2010; HARUN et al., 2010).

Sistema híbrido

Um terceiro sistema de cultivo é o denominado sistema híbrido. Esse sistema consiste em duas etapas de cultivo, que combina duas fases distintas de crescimento: sistema fechado e sistema de lagoa aberta. A primeira fase consiste em um fotobiorreator, onde as condições são controladas a fim de minimizar a contaminação de outros organismos, favorecendo assim a contínua divisão celular. A segunda fase consiste na exposição das células a variações ambientais, o que aumenta a síntese do produto desejado. Esta fase é ideal para sistemas de lagoas abertas, pois as alterações ambientais podem ocorrer naturalmente (BRENNAN & OWENDE, 2010; KHAN et al., 2009).

2.1.5 Colheita

A concentração da biomassa de microalgas geralmente exige uma ou mais etapas de separação sólido-líquido. É uma das etapas mais importantes e mais dispendiosas do processo de produção de biomassa algal, sendo responsável por 20 % a 30 % dos custos totais de produção. Desta forma, a escolha da tecnologia de colheita é crucial do ponto de vista econômico e a redução dos custos é considerada como um grande desafio para a produção em larga escala (BRENNAN & OWENDE, 2010; BARRUT et al., 2013).

A dificuldade e o alto custo envolvidos no processo deve-se principalmente ao pequeno tamanho das células (menor do que 20 μm), a baixa densidade celular (tipicamente no intervalo de 0,3 g L⁻¹ a 5 g L⁻¹) e a semelhança da massa específica com a da água. Além disso, as microalgas possuem suas superfícies negativamente carregadas, o que dificulta a sedimentação por gravidade (BRENNAN & OWENDE, 2010; BARRUT et al., 2013; KIM et al., 2013).

Os seguintes pontos devem ser considerados no projeto de uma colheita eficiente:

1. a escolha da técnica depende das características das espécies de microalgas e do tipo do produto desejado;
2. a combinação de diferentes técnicas pode compensar as deficiências das técnicas individuais, e muitas vezes resultam em um efeito sinérgico sobre o processo de colheita;
3. é necessário o desenvolvimento de um processo que proporcione uma separação completa das células do meio de cultura, possibilitando a recuperação do mesmo;
4. o efeito da técnica escolhida nos processos subsequentes, tais como a extração de lipídeos, carotenoides e conversão de biodiesel (KIM et al., 2013).

Métodos tais como centrifugação, coagulação e filtração são os mais utilizados na recuperação de biomassa algal. Uma técnica adequada de colheita deve ser aplicável a uma ampla gama de estirpes de microalgas, obter uma elevada recuperação e também apresentar custo eficaz. Desta forma, é importante compreender diversas tecnologias de cultivo de microalgas, a fim de maximizar a produção a baixo custo (HARUN et al., 2010). A seguir as principais técnicas de colheita serão apresentadas brevemente, o processo de coagulação e os processos de separação com membranas serão apresentados de forma mais detalhada.

Centrifugação

A centrifugação envolve a aplicação de aceleração centrípeta para separar o meio de cultivo de microalgas em regiões de maior e de menor densidade. Após a separação, a biomassa algal pode ser removida por simples drenagem do meio de cultivo. Filtros podem ser aplicados durante a centrifugação com a finalidade de separar o sobrenadante do meio. Apesar de ser um método bastante utilizado, as forças de cisalhamento podem romper as células, o que pode interferir na integridade destas e na qualidade do produto final (HARUN et al., 2010).

O processo de centrifugação é rápido e de energia intensiva, a recuperação da biomassa depende das características de sedimentação das células e do tempo de permanência da suspensão no centrifugador. As desvantagens do método incluem altos custos de energia, requisitos de manutenção potencialmente elevados e possibilidade de danos celulares. Contudo, apresenta eficiência superior a 95 %, evita a contaminação do meio e é recomendado para a obtenção de produtos de alto valor agregado e/ou que devam ser

rapidamente processados (BRENNAN & OWENDE, 2010; BARRUT et al., 2013; KIM et al., 2013).

Coagulação/floculação

A coagulação/floculação é um dos métodos que apresentam menor consumo energético comparado a outros processos de concentração de biomassa. Muitas vezes é utilizado como uma etapa de secagem inicial ou de pré-concentração, visando facilitar e reduzir o consumo energético das etapas seguintes. As microalgas podem ser facilmente floculadas através da adição de coagulantes, tais como metais polivalentes e polieletrólitos. A colheita de biomassa algal por este método é adequada, uma vez que permite o tratamento de grandes quantidades de cultura e pode ser aplicado a uma ampla gama de espécies (LEE et al., 2013; VANDAMME et al., 2012).

As células algais possuem uma superfície carregada negativamente, o que as impede de se auto agregarem, devido à repulsão, além de conferir estabilidade em suspensões diluídas. A carga da superfície das microalgas pode ser neutralizada e desestabilizada pela adição de coagulantes carregados positivamente, que podem ser tanto orgânicos quanto inorgânicos (KIM et al., 2013; LEE et al., 2013).

O uso de coagulantes inorgânicos, como sulfato de alumínio (alúmen) e cloreto férrico, embora eficaz, requer altas dosagens, resultando na contaminação da biomassa. Além disso, esses coagulantes podem acarretar lise celular e, por questões ambientais, o efluente do processo deve receber tratamento, o que muitas vezes pode ser oneroso. Estas desvantagens podem ser contornadas através da utilização de coagulantes orgânicos, tais como amido catiônico, quitosana e tanino. Coagulantes orgânicos apresentam alta recuperação aliada à baixa dosagem e reduzido impacto sobre o meio ambiente, visto que são biodegradáveis (ANTHONY et al., 2013; KIM et al., 2013).

Filtração

A filtração é um método de concentração de biomassa que tem se mostrado o mais competitivo em comparação com outras técnicas de colheita. É geralmente mais barato do que a aplicação de centrífugas e apresenta baixo consumo energético. Para a recuperação de células com dimensões maiores a filtração convencional é adequada. Já para as menores

(inferior a 30 μm), a filtração por membranas é uma alternativa tecnicamente viável (BILAD et al., 2012; BRENNAN & OWENDE, 2010; HARUN et al., 2010).

A filtração através de membranas oferece vantagens como retenção quase total da biomassa, baixo consumo energético, operação simples e contínua, além de facilitar a reciclagem do meio de cultura, posto que possui a capacidade de remoção de protozoários e vírus. A eficiência do processo é, contudo, comprometida pela diminuição significativa no fluxo de permeado, acarretado por polarização por concentração, por formação de torta e/ou por obstrução dos poros da membrana por microalgas e resíduos (fenômeno denominado *biofouling*), e muitas vezes exige uma etapa de pré-concentração. Além disso, em função da dificuldade de trabalhar com culturas de microalgas puras, a formação de biofilme pode se tornar um problema a longo prazo (AHMAD et al., 2012; BILAD et al., 2012; DISCART et al., 2013; HARUN et al., 2010; KIM et al., 2013).

Entre os vários métodos de filtração por membranas, a microfiltração (MF) e a ultrafiltração (UF) são as formas mais utilizadas para a concentração de biomassa algal, por oferecerem grande produtividade em função do elevado fluxo permeado. No entanto, estes processos apresentam consumo energético considerável e o bombeamento em altas pressões pode danificar as células de microalgas, fato que pode levar à perda de produtos de interesse ou promover a liberação de substâncias poliméricas extracelulares (EPS), que são responsáveis pelo *fouling* (BILAD et al., 2012).

A busca por uma tecnologia de separação de algas ideal com alta eficiência e baixo consumo energético é um tema de pesquisa atual. Recentemente, a osmose direta (OD) tem emergido como uma alternativa promissora. Esse processo é conduzido pelo gradiente de potencial químico expresso pela diferença de concentração através de uma membrana densa semipermeável que permite a passagem apenas do solvente, e não dos solutos, não requerendo assim a aplicação de pressão externa. A transferência ocorre até o momento em que os potenciais químicos nos lados da membrana se igualem. Comparado com a MF e a UF, processos conduzidos pelo gradiente de potencial químico expresso pela diferença de pressão, a OD oferece muitas vantagens, das quais se podem destacar: melhor eficiência de separação, graças à sua camada de topo não porosa; não consome energia; não utiliza pressão hidráulica; menor tendência ao *fouling* (LEE et al., 2012; ZOU et al., 2011).

2.1.6 Aplicações

Existem diversas espécies de microalgas, mas apenas algumas estão sendo cultivadas comercialmente, principalmente para produtos de alto valor, tais como nutracêuticos e pigmentos. Os organismos fotossintéticos, que contêm clorofila, podem ser usados para fins alimentares e cosméticos, e na indústria farmacêutica, para produzir compostos bioativos, tais como antioxidantes, antibióticos e toxinas. Também podem ser utilizadas como suplementos nutricionais para o consumo humano, em decorrência de possuírem em sua composição elevados teores de proteínas, vitaminas e polissacarídeos. Os gêneros *Spirulina* e *Chlorella* possuem certificado GRAS (Generally Recognized As Safe) emitido pelo FDA (Food and Drug Administration), o que certifica sua utilização como alimento sem oferecer risco à saúde humana. Algumas espécies contêm altos teores de lipídeos, matéria-prima de biocombustíveis (HARUN et al., 2010; SPOLAORE et al., 2006).

Microalgas também possuem um papel importante na mitigação de problemas ambientais emergentes, como a poluição das águas. Esses micro-organismos podem fixar o dióxido de carbono liberado pelas indústrias e por veículos automotores. Algumas espécies têm a capacidade de fixar nitrogênio e absorver metais pesados e fósforo. A Figura 2.5 apresenta um diagrama esquemático para o desenvolvimento de produtos a partir de microalgas através da reciclagem de carbono (HARUN et al., 2010; LOURENÇO, 2006), onde é possível visualizar que as microalgas possuem uma gama de aplicações e todos os resíduos de processo podem ser reaproveitados.

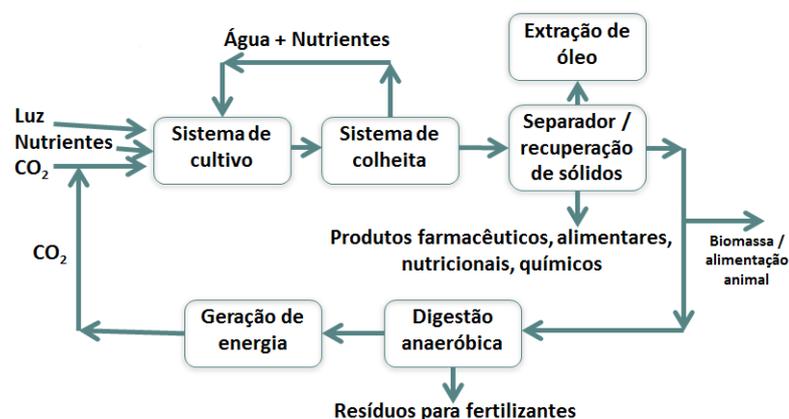


Figura 2.5 Diagrama esquemático da biotecnologia de microalgas. Fonte: adaptado de HARUN (2010).

A substância mais importante no gênero *Chlorella*, no âmbito de saúde humana, é o β -1,3-glucano, que atua como imuno estimulador ativo, eliminador de radicais livres e redutor

de lipídeos no sangue. Contudo, vários outros efeitos promotores de saúde têm sido apontados (eficácia sobre úlceras, feridas e constipações gástricas; ação preventiva contra a arteriosclerose e hipercolesterolemia; ação antitumoral). Estima-se que a digestibilidade de *Chlorella* em pó por humanos é próxima a 80 % (LOURENÇO, 2006; SPOLAORE et al., 2006).

Brennan & Owende (2010) ressaltam que a *Chlorella* também possui valor medicinal, apresentando proteção contra falência renal e promoção de crescimento de *Lactobacillus* intestinal. Espécies como a *Chlorella*, *Scenedesmus* e *Spirulina* têm aspectos benéficos incluindo melhorias na resposta imunológica, na fertilidade e no controle de peso.

Bedirli et al. (2009) investigaram o efeito de diferentes microalgas (*Chlorella* sp. e *Spirulina* sp.) no combate à icterícia obstrutiva. A complementação da dieta com *Chlorella* sp. apresentou efeitos protetores significativos na mucosa intestinal, o que diminui a intensidade da icterícia obstrutiva.

Sanyano et al. (2013) avaliaram a colheita da microalga *Chlorella* sp. por autofloculação através de ajuste de pH e floculação por adição de coagulante, para a produção de biodiesel. O teor de lipídeos obtido é adequado à produção de biodiesel, cujo rendimento da extração total com hexano foi de 6 % e com metanol foi de 20 %. A extração com hexano apresentou elevado teor de triglicerídeos (55 %) em comparação com a extração com metanol (11 %).

Utomo et al. (2013) cultivaram *Chlorella* sp. em fotobiorreatores para a extração de luteína. Utilizaram a coagulação (coagulantes hidrato de cloro-alumínio (PACl) e quitosana) para a concentração da biomassa e concluíram que a presença de coagulantes reduz o rendimento de luteína. A cultura inicial continha 0,00126 mg de luteína por mg de biomassa e as amostras de cultura coaguladas demonstraram uma faixa de 0,00032 mg a 0,00112 mg de luteína por mg de biomassa.

2.2 Pré-concentração

Em partículas em suspensão, as propriedades físicas da água adjacente à superfície das partículas diferem da água livre. Desta forma, essa água recebe a denominação de “água ligada” de uma partícula e está relacionada ao teor de água residual da biomassa desidratada, que é uma medida da eficácia dos processos de remoção de água. O processo de pré-

concentração das microalgas antes da desidratação final, por centrifugação ou filtração, pode reduzir as necessidades de energia na etapa de secagem em um décimo em relação à colheita tradicional. Isto é decorrente do efeito de enfraquecimento das ligações água-partícula que os coagulantes ocasionam, o que resulta na diminuição da umidade da torta formada e aumento do fluxo no estágio de filtração (LEE et al., 2012; VANDAMME et al., 2012)

O processo de pré-concentração foi estudado por Lee et al. (2012), onde foi avaliada a umidade da torta produzida na filtração através de membranas da *Chlorella vulgaris* pré-concentrada por coagulante comercial PACl. O fluxo através da membrana aumentava com o aumento da dose de PACl e, através de testes de calorimetria exploratória diferencial (DSC), foi observado que a torta obtida após a etapa de pré-concentração apresentava menor umidade. Os autores concluíram que a pré-concentração por coagulação seguida de filtração por membranas mostrou ser um processo eficaz para a colheita da microalga *Chlorella vulgaris*.

Gerde et al. (2014) utilizaram sulfato de alumínio (Al_2SO_3) e dois amidos catiônicos (diferentes graus de substituição) para coagular células de três diferentes espécies de microalgas. A quantidade de células coaguladas por miligrama de coagulante utilizado foi de 4 a 28 vezes maior para os amidos modificados em relação ao sulfato de alumínio e os coágulos produzidos pelos amidos eram menos propensos à ruptura.

Ahmad et al. (2011) otimizaram o processo de colheita da microalga *Chlorella* sp. por coagulação utilizando a quitosana como agente coagulante. As melhores condições da coagulação com quitosana foram identificados (dosagem, tempo de mistura, velocidade de mistura e tempo de sedimentação). A recuperação obtida foi de $99,0 \pm 0,4$ % para os seguintes parâmetros: concentração de quitosana de 10 mg L^{-1} , tempo de 20 min de mistura, velocidade de 150 rpm e tempo de sedimentação de 20 min. Os autores observaram que um aumento na concentração de quitosana acarretou reestabilização das microalgas, reduzindo a eficiência do processo.

Na pesquisa realizada por Farid et al. (2013), nano-quitosana e quitosana foram utilizados como agentes coagulantes na colheita de microalga *Nannochloropsis* sp., onde os efeitos do tipo e da dosagem do coagulante e o pH da cultura foram investigados na recuperação da biomassa. A nano-quitosana apresentou melhor recuperação em comparação

com a quitosana e a análise de custos do processo mostrou a viabilidade do uso de nano-quitosana.

A seguir serão apresentados brevemente alguns aspectos relevantes do processo de coagulação/floculação, e as características dos coagulantes naturais restringindo-se aos que foram utilizados neste trabalho.

2.2.1 Coagulação/Floculação

O processo de coagulação tem por finalidade a remoção de substâncias coloidais, ou seja, material sólido em suspensão (responsável pela cor) e/ou dissolvido (responsável pela turbidez). Os coloides são partículas com uma faixa de tamanho de 0,1 nm a 1 nm, que não sedimentam e não podem ser removidas por processos de tratamento físicos convencionais. Isso é decorrente de propriedades elétricas presentes na sua superfície (camada difusa), que criam uma força de repulsão, impedindo a aglomeração e a sedimentação dessas partículas.

Os agentes coagulantes anulam as forças de repulsão entre as partículas coloidais, fenômeno denominado coagulação, sendo este um processo muito rápido, variando desde décimos de segundo a cerca de minutos, dependendo das características do processo, tais como pH, temperatura, concentração, entre outras.

Em sistemas bifásicos (como por exemplo, sólido-líquido) onde existe uma grande concentração de partículas coloidais, umas se aproximam das outras e/ou chocam-se entre si devido ao movimento contínuo e desordenado, conhecido como movimento browniano, o que permite uma interação entre as camadas difusas, fazendo com que ocorra atração devido às forças de van der Waals (interações de dipolos elétricos atômicos e moleculares) e repulsão devido às forças eletrostáticas ou da camada difusa. A velocidade de formação de flocos depende do movimento browniano e da agitação mecânica do meio.

Partículas coloidais carregadas negativamente atraem grande quantidade de íons de carga positiva da solução, porém em decorrência da dimensão da superfície das partículas, apenas um número limitado de íons positivos são adsorvidos rigidamente, dando origem à uma camada compacta conhecida como camada de Stern. Já a camada difusa surge quando íons negativos aproximam-se da camada compacta, atraindo consigo alguns íons positivos que formam a camada compacta, resultando na atração de íons positivos, repulsão eletrostática de

íons negativos e difusão térmica. O conjunto das camadas compacta e difusa resulta na dupla camada elétrica (DCE) (DI BERNARDO, 1993; DI BERNARDO & DANTAS, 2005).

Mecanismos de coagulação

Segundo Di Bernardo & Dantas (2005), os principais mecanismos que atuam na coagulação são: compressão da camada difusa, adsorção e neutralização, varredura e adsorção e formação de pontes.

Compressão da camada difusa

A introdução de um eletrólito em um sistema coloidal causará aumento na densidade de cargas na camada difusa, diminuindo assim a esfera de influência das partículas. Concentrações elevadas de íons (alta força iônica) acarretam acréscimo do número de íons na camada difusa, que, para se manter eletricamente neutra, necessariamente tem seu volume reduzido (diminuição da espessura), de modo tal que as forças de van der Waals sejam dominantes, resultando na estabilização eletrostática.

Os principais aspectos relacionados à compressão da camada difusa são: 1) a quantidade de eletrólitos necessários para conseguir a coagulação é praticamente independente da concentração de coloides; 2) não é possível causar a reversão de carga dos coloides para quaisquer quantidades de eletrólitos adicionados.

Adsorção e neutralização

Na desestabilização dos coloides ocorrem interações coagulante-coloide, coagulante-solvente e coloide-solvente. Existem três diferenças principais relacionadas com os mecanismos de compressão da camada difusa e de adsorção e neutralização de cargas:

- a desestabilização dos coloides ocorre com dosagens bem inferiores;
- existe uma relação estequiométrica entre a concentração dos coloides e a quantidade necessária de espécies desestabilizantes por adsorção;
- é possível a reversão de carga superficial das partículas coloidais através de super dosagem de espécies adsorvíveis.

Varredura

Dependendo da dose de coagulante adicionado, do pH da mistura e da concentração de alguns tipos de íons, poderá ocorrer a formação de precipitados. Os flocos obtidos são geralmente maiores e sedimentam mais facilmente do que os obtidos na adsorção e neutralização de cargas.

Adsorção e formação de pontes

Segundo Mendes (1989), o mecanismo de adsorção e formação de pontes envolve a utilização de compostos orgânicos (polímeros) sintéticos ou naturais, os quais apresentam sítios ionizáveis ao longo de sua cadeia, servindo de ponte entre a superfície à qual estão aderidos e outras partículas, podendo ser classificados como catiônicos, aniônicos ou anfóteros. Este comportamento dos polímeros como coagulantes pode ser explicado pela sua adsorção à superfície das partículas coloidais, seguida pela redução de carga ou pelo entrelaçamento das partículas na cadeia do polímero. Desta forma, para ocorrer uma ligação eficaz, o comprimento das cadeias de polímeros deve ser suficiente para se prolongar a partir da superfície de uma partícula para outra. Assim, um polímero com cadeia mais longa deve ser mais eficaz na formação de pontes (RENAULT et al., 2009).

2.2.2 Coagulantes naturais

Amido catiônico

O amido é um dos polímeros naturais mais abundantes no mundo e, devido à sua flexibilidade, tem sido explorado para inúmeras aplicações industriais. Na sua forma bruta, o amido é uma mistura de dois polímeros, a amilose e a amilopectina. A amilose constitui 20 % a 40 % em massa de amido e a amilopectina 60 % a 80 %. Na sua forma nativa, é muitas vezes inadequado para a maioria das aplicações e, portanto, precisa ser modificado quimicamente e/ou fisicamente para melhorar suas propriedades. Vários métodos de modificação têm sido empregados, como a eterificação, a esterificação, a oxidação, formação de ligações cruzadas e a copolimerização de enxerto dos grupos hidroxila disponíveis na glicose anidra do amido, com a finalidade de adicionar grupos funcionais desejados (ANTONHY & SIMS, 2013; WANG et al., 2013; WEI et al., 2008).

Para a concentração de biomassa de microalgas, as porções positivas sobre o amido catiônico facilitam a neutralização da carga das algas e a estrutura do polímero permite a

formação de pontes entre as partículas, gerando flocos, o que os torna coagulantes eficazes sobre uma ampla gama de pH. Além disso, não são tóxicos e são facilmente biodegradados. O uso de amido catiônico para a colheita de algas pode ajudar a reduzir os impactos negativos sobre os processos a jusante que usam algas como matéria-prima e auxiliar na maior produção de bioprodutos, devido à natureza de polissacarídeo do amido. A principal desvantagem dos amidos catiônicos é que convencionalmente são preparados em base aquosa ou em solventes orgânicos. Como este processo utiliza uma grande quantidade de solvente, resulta na geração de elevado volume de efluente e como consequência podem ocorrer danos severos ao meio ambiente (ANTHONY & SIMS, 2013; YOU et al., 2009).

A cationização é um processo conhecido para a incorporação de grupos catiônicos, tais como grupos amino, amônio, sulfônio, imina ou fosfônio com a molécula de amido. Tradicionalmente, os amidos catiônicos são preparados pela reação de amônio quaternário na estrutura do amido, o que proporciona a carga catiônica adequada. Embora eficaz, o uso de amido catiônico sintetizado a partir de amônio, sulfônio e fosfônio na colheita de microalgas tem impacto negativo sobre o ambiente e os processos consecutivos, incluindo a toxicidade e propriedades antibacterianas, o que pode inibir etapas como a digestão anaeróbia ou de fermentação. Além disso, os reagentes contendo tais grupos funcionais são obtidos a partir de fontes não renováveis. Para contornar esta situação, a utilização de aminas biogênicas é uma alternativa, devido à sua abundância e por ser uma fonte renovável (ANTHONY et al., 2013; YOU et al., 2009).

As aminas biogênicas, também conhecidas como aminas biologicamente ativas, são substâncias de baixa massa molar azotadas de origem biológica, produzidas pela descarboxilação microbiana de aminoácidos e formadas durante a fermentação (por exemplo, a maturação do queijo e da fermentação do vinho) e decomposição de proteínas. Elas são encontradas em uma variedade de alimentos, tais como peixes, carnes, queijos, legumes, ou qualquer produto que contenha proteínas e/ou aminoácidos e são indicadores de toxicidade em alimentos. Incluem histamina, tiramina, cadaverina, putrecina e metabólitos relacionados. O azoto destas aminas é o grupo catiônico que desempenha o papel mais importante em proporcionar a cationicidade requerida para o amido catiônico (ANTHONY & SIMS, 2013; MOTARJEMI et al., 2014).

Quitosana

A quitina é o segundo biopolímero mais abundante do mundo, depois da celulose, sendo a sua principal fonte o exoesqueleto de crustáceos, como caranguejo e camarão. Apresenta estrutura cristalina ou amorfa, insolúvel em água, em solventes orgânicos e em alguns ácidos e bases diluídas. Em ácidos minerais concentrados ocorre degradação da sua cadeia polimérica (RENAULT, 2009).

A quitosana é um polissacarídeo linear, composto pelos monômeros N-acetil-D-glicosamina e D-glicosamina, e é produzida pela desacetilação da quitina. Nas Figuras 2.6 e 2.7 estão apresentadas as estruturas químicas da quitina e da quitosana e dos monômeros N-acetil-D-glicosamina e D-glicosamina, respectivamente.

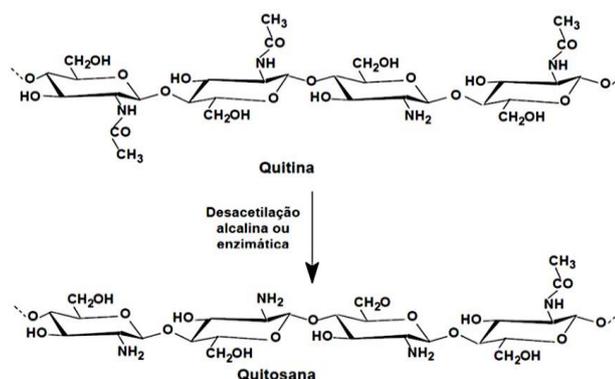


Figura 2.6 Estrutura química da quitina e da quitosana. Fonte: OLIVEIRA JUNIOR (2006).

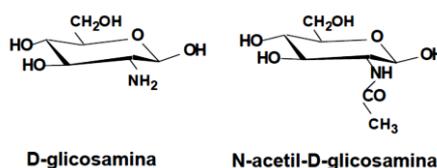


Figura 2.7 Estrutura química de D-glicosamina e N-acetil-D-glicosamina. Fonte: OLIVEIRA JUNIOR (2006).

A quitosana tem propriedades únicas entre os biopolímeros, especialmente devido à presença de grupos amino primários e ser um composto de interesse comercial devido ao seu alto teor de nitrogênio. Quitina e quitosana diferem quanto à proporção relativa das unidades monoméricas e podem ser distinguidas por suas solubilidades em solução aquosa de ácido acético 1 % (v/v). A quitina possui uma fração molar (FA) dos grupos N-acetil-D-glicosamina de 0,75 e a quitosana possui FA de 0,25. A quitina, contendo um número maior ou igual a

40 % de grupos N-acetil-D-glicosamina ($FA \geq 0.4$), é insolúvel e os polímeros solúveis são chamados de quitosana (OLIVEIRA JUNIOR, 2006; RASHID et al., 2013a; RENAULT, 2009).

A quitosana é utilizada em engenharia biomédica, farmácia, odontologia, oftalmologia, biotecnologia, química, cosméticos, têxtil, papel e celulose, enologia, indústria de alimentos, agricultura e fotografia. A quitosana tem sido recomendada para uso como coagulante, pois não é tóxica nem corrosiva, é segura de manusear, é biodegradável e biocompatível; tem propriedades de adsorção e coagulação atraentes. Sua elevada densidade de carga catiônica permite adsorver fortemente as regiões negativas de outras partículas e desestabilizá-las eficazmente. Este mecanismo pode agir através de ponte de polímero ou neutralização de cargas (efeitos de correção eletrostática). Apesar das vantagens, no entanto, o custo ainda é elevado, especialmente quando há necessidade de altas dosagens. Uma maneira eficaz de contornar a situação é realizar a otimização do processo e minimizar as dosagens (AHMAD et al., 2011; RASHID et al., 2013a; RENAULT, 2009).

Os principais parâmetros que influenciam as características e as propriedades da quitosana são a massa molar, a solubilidade e o grau de desacetilação (GD). A medida do GD auxilia na definição do polímero como quitina ou quitosana. Quando o grau de desacetilação da quitina atinge cerca de 50 %, torna-se solúvel em solução aquosa ácida e é chamada de quitosana. Quitosanas comerciais possuem, geralmente, grau de desacetilação variando de 66 a 95 % e a escolha depende da aplicação (OLIVEIRA JUNIOR, 2006; RENAULT, 2009).

Nano-quitosana

O estudo do uso de nano partículas poliméricas foi estimulado pelo desenvolvimento de sistemas de controle de drogas, em função da necessidade das empresas farmacêuticas em desenvolver transportadores de fármacos em organismos animal e humano. As nano partículas de quitosana, também conhecidas como nano-quitosana, apresentam algumas vantagens, tais como biodegradabilidade, biocompatibilidade, não toxicidade, seletividade, além de apresentar capacidade de adsorver metais pesados e atravessar barreiras biológicas, protegendo desta forma macromoléculas como peptídeos, proteínas e genes da degradação em meios biológicos e controlando a liberação destes fármacos (KOCAK et al., 2012; LÓPEZ-LEÓN et al., 2005).

O processo difusivo da quitosana durante a coagulação exige longos tempos de contato para que o equilíbrio seja atingido, porque devido à baixa porosidade da quitosana, o processo de sorção é controlado pela resistência à transferência de massa. Com a finalidade de reduzir essa resistência, a nano-quitosana é utilizada como coagulante, uma vez que apresenta maior área de contato superficial (HU et al., 2006; TANG et al., 2007).

O método mais utilizado para a fabricação de nano partículas de quitosana baseia-se no processo de gelificação iônica, que consiste na reação entre os grupos amino da quitosana carregados positivamente e os contra íons carregados negativamente do tripolifosfato de sódio (STTP), sendo este considerado um processo simples e rápido (CALVO et al., 1997; HU et al., 2006). Um desenho esquemático simplificado deste processo está apresentado na Figura 2.8.

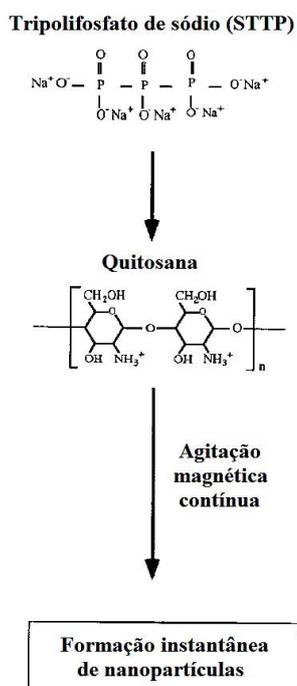


Figura 2.8 Desenho esquemático da fabricação de nano partículas de quitosana. Fonte: adaptado de CALVO (1997).

Tanino

Taninos são na sua maioria compostos poli fenólicos hidrossolúveis, sua massa molar varia entre 500 a alguns milhares de Daltons. Do ponto de vista químico, há três tipos de taninos: hidrolisáveis, condensados e os combinados. Estes produtos são quimicamente complexos e normalmente são obtidos a partir de metabólitos secundários vegetais, tais como cascas, frutos, folhas, entre outros, sem purificação exaustiva, sendo, por isso, difícil saber

com exatidão a sua estrutura química. Árvores como *Schinopsis balansae* (Quebracho), *Castanea sativa* (Chestnut) ou *Acacia mearnsii* de Wild (acácia-negra) são fontes tradicionais de tanino (BELTRÁN-HEREDIA & SÁNCHEZ-MARTÍN, 2009; BELTRÁN-HEREDIA et al., 2010; GRAHAM et al., 2008).

Tradicionalmente, sua utilização é para o curtimento de peles de animais, mas é possível encontrar vários produtos que são distribuídos como coagulantes, considerados uma alternativa ambientalmente favorável. Taninos catiônicos têm despertado interesse no campo de coagulantes, pois além de apresentarem vantagens ambientais, apresentam fácil manuseio e baixo custo. A cationização de taninos é um procedimento químico que confere caráter catiônico à matriz do tanino orgânico, de modo que as suas principais características (solubilidade, estabilidade a diferentes níveis de pH ou atividade quelante de metais pesados) são mantidas (BELTRÁN-HEREDIA & SÁNCHEZ-MARTÍN, 2009; BELTRÁN-HEREDIA et al., 2010).

2.3 Processos de separação com membranas

Os fundamentos teóricos relacionados aos processos de separação com membranas estão baseados em: Mulder (1996), Habert et al. (2006) e Cheryan (1998).

Os processos de separação com membrana são caracterizados pelo uso de uma membrana para realizar uma determinada separação. Os PSM têm sido utilizados nos mais diferentes setores de atividade na indústria química, na área médica, passando pela biotecnologia, indústria alimentícia e farmacêutica e tratamentos de água.

O desenvolvimento dos processos de separação por membranas e suas aplicações industriais são considerados relativamente recentes, principalmente levando-se em conta que fenômenos envolvendo membranas vêm sendo estudados há cerca de um século. A partir do início da década de 1970, em adição aos processos clássicos de separação como destilação, filtração, absorção, troca iônica, centrifugação, extração por solvente, cristalização e outros, os PSM surgem como uma nova classe de processos que utilizam membranas sintéticas como barreira seletiva. As membranas sintéticas surgem como uma tentativa de se imitar as membranas naturais, em particular quanto às suas características únicas de seletividade e permeabilidade.

Definição de membrana

A procura de uma definição sucinta, mas compreensiva, para o termo membrana é de extrema dificuldade, devido à imensa e sempre crescente diversidade de membranas disponíveis, pela grande variedade de mecanismos de obtenção, devido à multiplicidade de aplicações para as quais elas são utilizadas (NOBLE & STERN, 1995). As membranas são consideradas como meios filtrantes aplicados na separação de partículas de diferentes tamanhos, são barreiras seletivas que atuam como uma espécie de filtro, capazes de promover separações eficientes (DIAS, 2006).

Morfologia de membranas

Do ponto de vista morfológico as membranas podem ser divididas em duas grandes categorias: densas e porosas. Essa divisão é de acordo com as aplicações a que se destinam. A definição da utilização de uma membrana densa ou porosa vai depender de suas características superficiais que estarão em contato com a solução a ser permeada. As membranas são consideradas densas quando o transporte dos componentes envolve uma etapa de dissolução e difusão através do material que constitui a membrana. A membrana é denominada porosa quando o transporte dos permeantes ocorre preferencialmente em uma fase fluida contínua, que preenche os poros da membrana.

A classificação das membranas também deve distinguir o material que constitui as diferentes regiões na seção transversal da membrana, ou seja, o filme superficial denso e a parte porosa. Sendo o mesmo material a membrana é dita integral, caso contrário denomina-se composta. Na Figura 2.9, as regiões escuras representam a matriz sólida da membrana e as regiões claras representam espaços livres, ou os poros presentes na membrana.

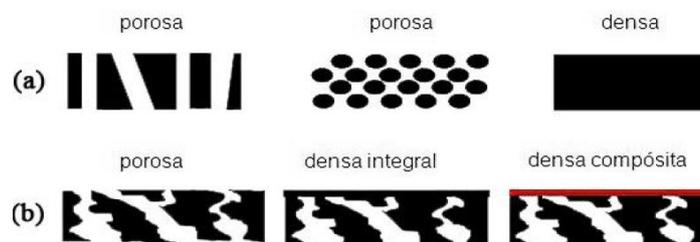


Figura 2.9 Classificação das membranas quanto à morfologia. (a) membranas simétricas; (b) membranas assimétricas. Fonte: adaptado de NUNES (2001).

As membranas podem ser classificadas de acordo com sua ultraestrutura bem como sua microporosidade ou assimetria. Os microporos da membrana podem ser classificados

como isotrópicos (os poros possuem tamanhos uniformes em toda extensão da membrana) ou anisotrópicos (onde o tamanho dos poros sofre alteração de uma superfície da membrana para a outra). Tanto as membranas densas como as porosas podem ser isotrópicas ou anisotrópicas.

As membranas normalmente utilizadas industrialmente apresentam a espessura basicamente subdivida em três regiões, que são: pele filtrante, subcamada e o suporte macroporoso. A pele filtrante ou camada seletiva é a camada superficial da membrana onde ocorre a maior resistência ao fluxo de massa, também conhecida como *toplayer*; a subcamada é a camada intermediária cuja resistência vai depender de sua estrutura mais ou menos fechada e de sua espessura. Normalmente para membranas com características morfológicas semelhantes, quanto maior a espessura da subcamada, maior será a resistência ao fluxo permeado. O suporte macroporoso tem a função de conferir resistência mecânica maior, oferecendo também uma resistência à filtração, mas sempre inferior à da subcamada. A pele filtrante, a subcamada e o suporte macroporoso, funcionam como resistências decrescentes em série ao fluxo permeado.

A seletividade de uma membrana para uma mistura é geralmente expressa por dois parâmetros: coeficiente de retenção (R) ou fator de seletividade (α). Para soluções aquosas diluídas, constituídas por um solvente (na maioria das vezes água) e um soluto, é mais conveniente expressar a seletividade em termos da rejeição ou retenção do soluto. O coeficiente de retenção (R) é obtido pela Equação 2.1.

$$R = \left(1 - \frac{C_p}{C_o}\right) \cdot 100 \quad (2.1)$$

onde C_o é a concentração da espécie na alimentação e C_p é sua concentração no permeado.

Assim, quando R é igual a zero a concentração da espécie em questão é igual a sua concentração na alimentação, não havendo nenhuma capacidade seletiva para esta espécie. Se R é igual a um, a espécie em questão não se encontra no permeado, ou seja, a membrana foi capaz de rejeitá-la completamente.

A seletividade da membrana para as misturas de gases e misturas de líquidos orgânicos é normalmente expressa em termos do fator de seletividade (α). No caso de processos que utilizam membranas densas, a capacidade seletiva da membrana é medida através do fator de seletividade (α) definido pela Equação 2.2 ou através do fator de enriquecimento (β_A), Equação 2.3.

$$\alpha_{A/B} = \frac{Y_A/Y_B}{X_A/X_B} \quad (2.2)$$

$$\beta_{A/B} = Y_A/X_A \quad (2.3)$$

onde Y_A e Y_B são as frações molares das substâncias A e B na corrente de permeado, respectivamente, e X_A e X_B são as frações molares das substâncias A e B, na corrente de alimentação, respectivamente.

O fator de seletividade, no caso de misturas binárias, é definido através do quociente entre a relação da composição dos componentes no permeado e sua relação na corrente de alimentação. Já o fator de enriquecimento é definido pela relação entre a concentração da espécie mais permeável no permeado e na alimentação.

Força motriz

Uma molécula ou partícula é transportada de uma fase para outra através de uma membrana devido a uma força que atua nesta molécula ou partícula. Exemplos dessas forças podem ser: diferença de potencial químico, diferença de potencial elétrico. Essa força que atua no transporte da molécula ou partícula é também conhecida como força motriz. O potencial químico por sua vez é uma função da pressão, da composição e da temperatura, desta forma quando o termo de pressão predomina sobre os demais diz-se que a força motriz do processo é o gradiente de pressão, quando o termo de concentração predomina diz-se que a força motriz é o gradiente de concentração ou de pressão parcial.

Em função da morfologia da membrana e do tipo de força motriz empregada, o transporte das diferentes espécies através da membrana pode ocorrer tanto pelo mecanismo de convecção, como pelo mecanismo de difusão, ou através de ambos simultaneamente. A morfologia da membrana define, também, os princípios em que se baseiam sua capacidade seletiva.

Fluxo permeado

O volume de solução que permeia através das membranas pode ser descrito pela Lei de Darcy, sendo o fluxo através da membrana (J) diretamente proporcional à diferença de pressão aplicada (Δp) através da espessura da membrana (e), como mostrado na Equação 2.4:

$$J = P \frac{\Delta P}{e} \quad (2.4)$$

onde a constante de permeabilidade (P) engloba fatores estruturais, tais como a porosidade da membrana, o diâmetro de poro e a distribuição destes; além disso, esta constante inclui, também, a viscosidade do líquido que permeia.

O fluxo volumétrico através da membrana pode ser definido como o volume de permeado que flui através da membrana por unidade de área e tempo, conforme Equação 2.5:

$$J_p = \frac{1}{A_m} \frac{dV}{dt} \quad (2.5)$$

onde J_p é o fluxo do permeado (m s^{-1}); A_m é a área da membrana (m^2); dV/dt é a variação do volume de permeado recolhido (m^3) com o tempo de permeação (s).

O fluxo permeado representa a vazão (volumétrica, mássica ou molar) de permeado por unidade de área da membrana e é determinado pela força motriz aplicada e pela permeabilidade da membrana, muitas vezes sendo proporcionais. Depende das propriedades da membrana, do produto a ser separado e das condições de operação, tais como a pressão transmembrana, velocidade de escoamento tangencial e fator de concentração. Também é fortemente influenciado pela temperatura da solução de alimentação, pois o fluxo é função da viscosidade dinâmica da solução que, por sua vez, é função da temperatura.

Utilizando o modelo das resistências, a Lei de Darcy pode ser adaptada para membranas, sendo esta uma descrição fenomenológica que pode ser utilizada para descrever o fluxo através da membrana (J_p), conforme Equação 2.6:

$$J_p = \frac{\Delta P}{\mu R_m} \quad (2.6)$$

onde J_p é o fluxo permeado (m.s^{-1}), ΔP é a pressão transmembrana (Pa), μ é a viscosidade dinâmica do fluido (Pa s) e R_m é a resistência da membrana (m^{-1}).

Em algumas situações, a equação de Darcy é simplificada conforme a Eq. 2.7:

$$J_p = \mathcal{P} \Delta P \quad (2.7)$$

onde \mathcal{P} representa a permeância hidráulica ($\text{L m}^{-2} \text{h}^{-1} \text{bar}^{-1}$).

Fator de concentração

O fator de concentração (FC), também conhecido como fator de concentração volumétrico (FCV), é uma variável limitante do processo porque está diretamente ligado ao fluxo permeado, isto é, à medida que a solução é concentrada o fluxo permeado diminui. O FC é definido conforme a Equação 2.8:

$$FC = \frac{V_0}{V_R} = \frac{V_0}{(V_0 - V_F)} \quad (2.8)$$

onde V_0 é o volume inicial da solução (L), V_R é o volume retido (L) e V_F é o volume de permeado (L).

No processo de concentração de um dado componente através da membrana a concentração de um soluto durante o processo varia em função tanto da redução de volume, como da retenção (R) do soluto pela membrana.

Principais processos de separação com membranas

Em processos que utilizam membranas porosas a capacidade seletiva está diretamente relacionada ao tamanho das espécies presentes e ao tamanho dos poros da membrana. Este é o caso de processos como microfiltração (MF), ultrafiltração (UF), nanofiltração (NF) e diálise. No caso de membranas de MF e UF, o fluxo é essencialmente convectivo, uma vez que estas membranas utilizam como força motriz o gradiente de pressão através da membrana. Já em processos que empregam membranas densas, compostas ou não, a capacidade seletiva depende da afinidade de diferentes espécies com o material da membrana e da difusão das mesmas através da camada seletiva, como é o caso da osmose direta (OD), osmose inversa (OI), osmose retardada por pressão (PRO), pervaporação (PV) e permeação de gases (PG). O fluxo permeado é sempre de natureza difusiva, independente do tipo de força motriz aplicada.

Na Tabela 2.4 estão apresentados resumidamente os principais processos caracterizados pela força motriz e pelo material que permeia as membranas, e algumas aplicações típicas.

Tabela 2.4 Principais PSM relacionados pela força motriz, material que permeia e aplicações típicas.

Processo	Força Motriz	Material que Permeia	Aplicações
Microfiltração	Δp (0,5 – 2 atm)	Material em suspensão, bactérias. Massa molar > 500k Da (0,01 μm).	Esterilização bacteriana; clarificação de vinhos e cervejas; concentração de células; oxigenação de sangue.
Ultrafiltração	Δp (1 – 7 atm)	Coloides, Macromoléculas, Massa molar > 5.000 Da.	Fracionamento/concentração de proteínas, recuperação de pigmentos/óleos.
Nanofiltração	Δp (5 – 25 atm)	Moléculas de massa molar. Média 500 Da < MM < 2.000 Da.	Purificação de enzimas; biorreatores a membrana.
Osmose Inversa	Δp (15 – 80 atm)	Todo material solúvel ou em suspensão.	Dessalinização de águas; concentração de suco de frutas; desmineralização de águas.
Osmose Direta	ΔC	Permite a passagem apenas do solvente	Desalcoolização de cerveja; dessalinização de águas; purificação de águas; concentração de sucos.
Osmose Retardada por Pressão	ΔC e Δp	Permite a passagem apenas do solvente	Geração de energia elétrica.
Diálise	ΔC	Moléculas de massa molar > 5.000 Da.	Hemodiálise; rim artificial; recuperação de NaOH.
Eletrodiálise	ΔE	Macromoléculas e compostos não iônicos.	Concentração de soluções salinas; purificação de águas.
Permeação de Gases	$\Delta p \rightarrow \Delta C$	Gás menos permeável.	Recuperação de hidrogênio; separação CO_2/CH_4 ; fracionamento do ar.
Pervaporação	Pressão de vapor	Líquido menos permeável.	Desidratação de álcoois; eliminação de VOC da água.

Legenda: Δp – gradiente de pressão; ΔC – gradiente de concentração, ΔE – gradiente de potencial elétrico e VOC – compostos orgânicos voláteis.

Fonte: adaptado de Habert et al. (2006).

A seguir será apresentado com maiores detalhes o processo de osmose direta, que foi o PSM utilizado no desenvolvimento deste trabalho.

2.3.1 Osmose direta

A osmose é um fenômeno físico conhecido há muitos anos; sua primeira aplicação foi na preservação de alimentos em longo prazo, onde os mesmos eram desidratados com sal. Convencionalmente, a osmose ocorre quando duas soluções com concentrações diferentes estão separadas por uma membrana semipermeável que permite a passagem apenas do solvente, e restringe a passagem dos solutos. A transferência ocorre até o momento em que os potenciais químicos em ambos os lados da membrana se igualam. Atualmente, este fenômeno é aplicado em diversos processos e áreas, desde o tratamento de água até geração de energia (CATH et al., 2006).

A OD é considerada uma tecnologia emergente. As vantagens deste processo em relação aos outros PSM incluem: não há uso de pressão hidráulica, menor tendência ao *fouling*, menor consumo de energia para processamento do produto de interesse, possibilidade de tratar soluções com maior quantidade de sólidos suspensos, obtenção de maior teor de

sólidos solúveis (concentração) final, possibilidade de trabalhar em temperaturas mais próximas da ambiente, separação de compostos termolábeis e facilidade de escalonamento (GE et al., 2013).

O processo de OD utiliza a diferença de pressão osmótica ($\Delta\pi$) através da membrana como força motriz para o transporte de água através da membrana, diferentemente do processo de OI que utiliza a diferença de pressão hidráulica. O processo resulta na concentração da corrente de alimentação e diluição de uma corrente altamente concentrada (solução osmótica). O fluxo de solvente, J_w ($L\ m^{-2}\ h^{-1}$ ou LMH), e do soluto, J_s , podem ser descritos pelas equações 2.9 e 2.10, respectivamente:

$$J_w = A\sigma(\Delta\pi - \Delta p) \quad (2.9)$$

$$-J_s = -B\sigma(\Delta\pi - \Delta p) \quad (2.10)$$

onde J_w é o fluxo de solvente, J_s é o fluxo inverso de soluto, σ é o coeficiente de reflexão, A é o coeficiente de permeabilidade do solvente e B é o coeficiente de permeabilidade do soluto. Em processos de osmose direta, Δp é próximo de zero, uma vez que as pressões em ambos os lados da membrana são mantidas iguais. Os termos A e B podem ser obtidos a partir das seguintes equações:

$$A = \frac{\Delta p}{J_w} \quad (2.11)$$

$$B = J_w \left(\frac{1-R}{R} \right) \exp\left(-\frac{J_w}{K}\right) \quad (2.12)$$

onde R é coeficiente de retenção e k é a resistência do soluto à difusão no suporte da membrana.

O parâmetro k pode ser obtido conforme a Eq. 2.13:

$$k = \frac{S}{D} \quad (2.13)$$

onde D é o coeficiente de difusão do soluto e S é o parâmetro estrutural. O parâmetro estrutural (S) pode ser determinado por

$$S = \frac{\tau t}{\varepsilon} \quad (2.14)$$

onde t , τ e ε são a espessura, tortuosidade e porosidade da membrana, respectivamente.

A osmose retardada por pressão (PRO) é um processo intermediário entre a OD e a OI, onde a pressão hidráulica é aplicada na direção oposta ao gradiente de pressão osmótica (semelhante à OI). No entanto, o fluxo de água é direcionado à solução osmótica (semelhante à OD). Uma representação esquemática da diferença dos processos é apresentada na Figura 2.10. Para OD, ΔP é zero; para OI, $\Delta P > \Delta \pi$; e para PRO, $\Delta \pi > \Delta P$ (CATH et al., 2006; GE et al., 2013).

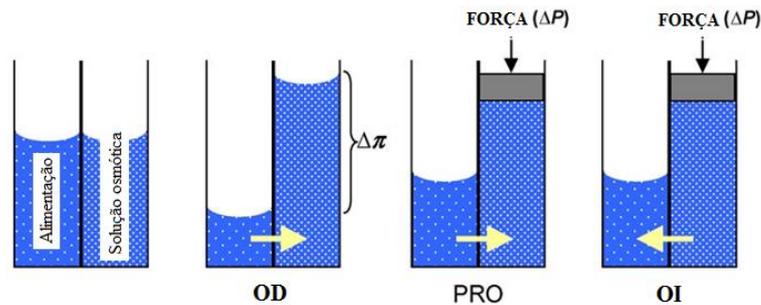


Figura 2.10 Representação esquemática do sentido dos fluxos de solvente em OD, PRO e OI. Para OD, Δp é aproximadamente zero e a água (solvente) difunde-se para o lado da solução osmótica. Para PRO, a água difunde-se para a solução osmótica que está sob pressão positiva ($\Delta \pi > \Delta p$). Para OI, a água difunde-se para a alimentação, devido à pressão hidráulica ($\Delta p > \Delta \pi$). Fonte: CATH et al. (2006).

Solução osmótica

A solução concentrada no lado permeado da membrana recebe diferentes denominações, mas o mais empregado é solução osmótica. O principal critério para sua seleção é possuir pressão osmótica superior ao da solução de alimentação. Outros aspectos que devem ser observados durante a escolha da solução osmótica é que a solução diluída do processo deve ser facilmente reconcentrada e/ou recuperada e deve minimizar efeitos de polarização por concentração interna. Além disso, outros fatores como baixo custo, baixa permeabilidade de soluto para a solução de alimentação (difusão inversa), não apresentar toxicidade, não causar danos à membrana, boa resistência ao *fouling* e boa estabilidade em pH neutro ou próximo ao neutro (CATH et al., 2006; GE et al., 2013; ZHAO et al., 2012).

De acordo com a equação de Morse, derivada da equação de van't Hoff considerando soluções iônicas diluídas, a pressão osmótica de uma solução (π) pode ser expressa da seguinte forma:

$$\pi = i x_w R_g T = -\frac{R_g T}{v} \ln(x_w \gamma) \quad (2.15)$$

onde i é o fator de Van't Hoff, x_w é a fração molar do soluto (ou concentração molar do soluto), R_g é a constante universal dos gases ($8,3145 \text{ J K}^{-1} \text{ mol}^{-1}$), T é a temperatura absoluta, V é o volume molar do soluto e γ é o coeficiente de atividade. Para soluções ideais (diluídas):

$$\gamma = 1 \quad (2.16)$$

$$a_w = x_w \quad (2.17)$$

onde a_w é a atividade da água.

A atividade da água é definida como a relação que existe entre a pressão de vapor de uma substância em relação à pressão de vapor de água pura à mesma temperatura. Desta forma, para atingir uma pressão osmótica elevada, a solução osmótica deve apresentar boa solubilidade em água que resulte em um alto valor de x_w . Na Figura 2.11 está apresentado um gráfico que apresenta as pressões osmóticas de diferentes solutos em função da concentração. Além disso, compostos iônicos que se dissociam totalmente são preferíveis, uma vez que resultam num alto valor de i , o que sugere que compostos iônicos polivalentes são mais adequados. Sendo assim, compostos com elevada solubilidade em água e elevado grau de dissociação iônica são os mais indicados (GE et al., 2013; TOLEDO, 2007).

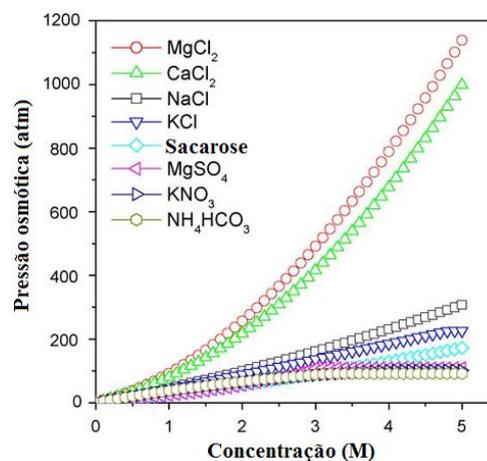


Figura 2.11 Pressão osmótica em função da concentração de diferentes soluções osmóticas a 25°C.

Fonte: adaptado de CATH et al. (2006).

Problemas que afetam o processo de OD

Na osmose direta a força motriz é a diferença de pressão osmótica entre os dois lados da membrana. O declínio do fluxo de permeado é atribuído a diversos fenômenos de transporte associados à membrana e às condições de operação do processo. Esses fenômenos

podem ser a polarização por concentração (interna ou externa), o *fouling* e a difusão inversa de soluto (CATH et al., 2006).

A polarização por concentração (PC) é um fenômeno de camada limite, caracterizado pelo acúmulo de soluto próximo à superfície da camada ativa da membrana; é um fenômeno comum e inevitável, e pode ocorrer tanto externa quanto internamente, conforme ilustrado na Figura 2.12 (CATH et al., 2006; ZHAO et al., 2012).

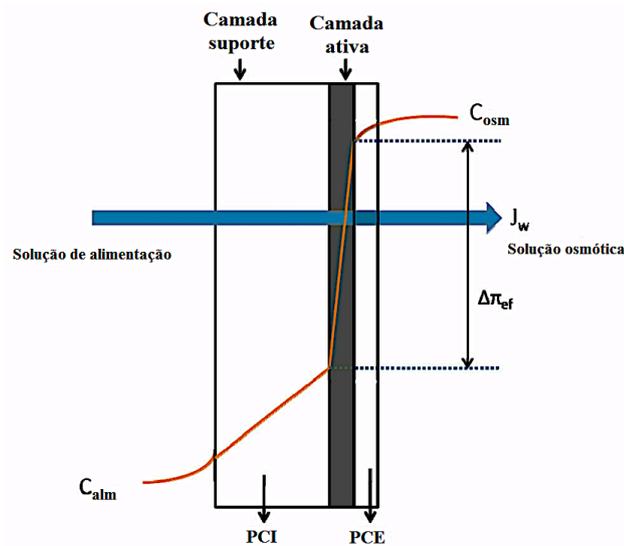


Figura 2.12 Ilustração do fenômeno de polarização por concentração interna (PCI) e externa (PCE), através de uma membrana assimétrica de OD. PCI ocorre no interior da camada suporte da membrana e PCE na superfície da camada ativa da membrana. C_{alm} , C_{osm} , $\Delta\pi_{ef}$ e J_w representam a concentração da solução de alimentação, a concentração da solução osmótica, a força motriz efetiva e fluxo de soluto, respectivamente. Fonte: adaptado ZHAO et al. (2012).

A PC externa (PCE) pode ocorrer de duas formas: PCE concentrativo ocorre quando o suporte da membrana está direcionado para a solução osmótica, enquanto que no PCE dilutivo o suporte da membrana está direcionado para a solução de alimentação. A PCE reduz a força motriz do processo, uma vez que há um aumento da pressão osmótica na interface da camada ativa da membrana no lado da alimentação ou diminuição da pressão osmótica no lado da solução osmótica. Aumentando-se a velocidade ou a turbulência das correntes de alimentação e osmótica pode-se mitigar esses efeitos (GE et al., 2013; ZHAO et al., 2012).

A equação geral para o módulo de PCE, utilizando a teoria de camada limite, pode ser expressa conforme Eq. 2.16:

$$\frac{C_m}{C_b} = e^{\left(\frac{J_w}{K}\right)} \quad (2.16)$$

onde K é o coeficiente de transferência de massa e C_m e C_b são as concentrações das soluções na camada limite de concentração (próximo à superfície da membrana) e no seio da solução, respectivamente.

O coeficiente de transferência de massa (K) está relacionado ao número de Sherwood (Sh) pela seguinte equação:

$$K = \frac{ShD}{d_h} \quad (2.17)$$

onde D é o coeficiente de difusão do soluto e d_h é o diâmetro hidráulico. Em OD, quando a concentração da alimentação é relativamente baixa, pode-se substituir as concentrações da Equação 2.11 pela pressão osmótica, resultando em:

$$\frac{\pi_{m-alm}}{\pi_{b-alm}} = e^{\left(\frac{J_w}{K_{alm}}\right)} \quad (2.18)$$

onde K_{alm} é o coeficiente de transferência de massa na alimentação, π_{m-alm} e π_{b-alm} são as pressões osmóticas da solução de alimentação próximo à superfície da membrana e no seio da solução, respectivamente.

Da mesma forma, o módulo de PCE dilutivo em OD pode ser expresso como:

$$\frac{\pi_{m-osm}}{\pi_{b-osm}} = e^{\left(\frac{-J_w}{K_{osm}}\right)} \quad (2.19)$$

onde K_{osm} é o coeficiente de transferência de massa na solução osmótica, π_{m-osm} e π_{b-osm} são as pressões osmóticas da solução osmótica próximo à superfície da membrana e no seio da solução osmótica, respectivamente.

Considerando que na OD a força motriz é a diferença da pressão osmótica entre a alimentação e a solução osmótica, a Equação 2.9 pode ser reescrita da seguinte forma:

$$J_w = A(\pi_{osm} - \pi_{alm}) \quad (2.20)$$

onde π_{osm} e π_{alm} são as pressões osmóticas da solução osmótica e da solução de alimentação, respectivamente. Mais especificamente, as duas pressões (π_{osm} e π_{alm}) devem ser as pressões osmóticas efetivas na superfície da membrana, ou seja,

$$J_w = A(\pi_{m-osm} - \pi_{m-alm}) \quad (2.21)$$

Substituindo as Equações 2.18 e 2.19 na Equação 2.21 obtém-se:

$$J_w = A \left[\pi_{b-osm} e^{\left(\frac{-J_w}{K_{osm}}\right)} - \pi_{b-alm} e^{\left(\frac{J_w}{K_{alm}}\right)} \right] \quad (2.22)$$

A Equação 2.22 considera ambos PCE (concentrativa e diluitiva). Porém, os coeficientes de transferência de massa da alimentação e da solução osmótica variam em função do gradiente de concentração. Além disso, o modelo é baseado na suposição de que o coeficiente de permeabilidade do soluto é zero (ou seja, o coeficiente de reflexão, σ , é igual a 1) e que as concentrações da solução de alimentação e da solução osmótica são relativamente baixas, com a finalidade de relacionar as concentrações com a pressão osmótica correspondente. Em adição, o modelo só é adequado para um filme denso simétrico e não para membrana assimétrica (GE et al., 2013; ZHAO et al., 2012).

Quando a camada suporte da membrana é direcionada para a solução de alimentação, a PC é estabelecida no interior da camada ativa, fenômeno conhecido como PC interno (PCI). Dependendo da orientação da membrana, dois tipos de PCI podem ser observados: diluitiva e concentrativa, conforme ilustra a Figura 2.13.

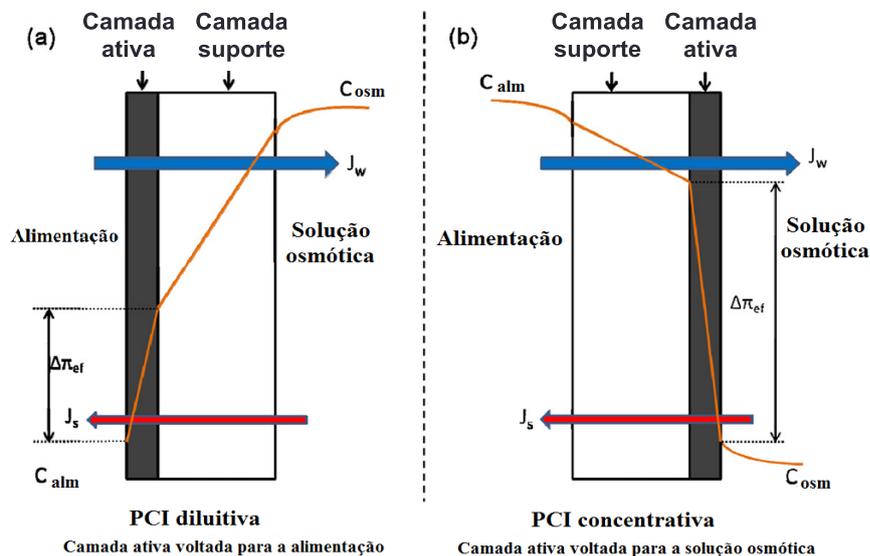


Figura 2.13 Ilustração do PCI diluitiva e PCI concentrativa através de uma membrana OD assimétrica. Fonte: adaptado de ZHAO et al. (2012).

Quando a solução osmótica está posicionada em contato com o suporte da membrana, ocorre a PCI diluitiva no interior do suporte da membrana. Já o fenômeno PCI concentrativa ocorre quando a solução osmótica está em contato com a camada ativa da membrana.

Para a PCI dilutiva, o fluxo de solvente (J_w) é dado pela Eq. 2.23:

$$J_w = \frac{1}{k} \ln \left(\frac{A\pi_{osm} + B}{A\pi_{alm} + B + J_w} \right) \quad (2.23)$$

E para a PCI concentrativa pela Eq. 2.24:

$$J_w = \frac{1}{k} \ln \left(\frac{A\pi_{osm} + B - J_w}{A\pi_{alm} + B} \right) \quad (2.24)$$

No entanto, dependendo da orientação da membrana, PCE e PCI podem ocorrer simultaneamente. Para tanto, o fluxo de solvente na OD pode ser expresso como:

$$J_w = A \left[\pi_{osm} \exp(-J_w k) - \pi_{alm} \exp\left(\frac{J_w}{K}\right) \right] \quad (2.25)$$

No modo PRO, o modelo correspondente para os efeitos de PCI e PCE é expresso por:

$$J_w = A \left[\pi_{osm} - \pi_{alm} \exp\left(-\frac{J_w}{K}\right) - \pi_{alm} \exp(J_w k) \right] \quad (2.26)$$

Outro fenômeno inerente a OD é o *fouling*, que pode ser tanto orgânico quanto inorgânico. O *fouling* é caracterizado por um declínio do fluxo permeado, devido à adsorção de espécies/solutos na superfície da membrana, promovida pelas interações entre o soluto e a membrana e/ou agregação destas nos poros, provocando um bloqueio parcial ou mesmo total. Sua extensão depende da natureza da solução e também das condições operacionais do sistema. Para a prevenção do *fouling* há diversas estratégias, das quais as mais conhecidas está a remoção dos componentes da superfície da membrana através de lavagem química, o aumento da turbulência, entre outros.

Em processos de membrana onde a força motriz é a pressão osmótica, a difusão inversa de soluto, no sentido da solução osmótica para a solução de alimentação, também é inevitável devido às diferenças de concentração e pode comprometer o desempenho do processo. A razão entre o fluxo inverso do soluto e fluxo de soluto é denominada fluxo inverso de soluto específico e é uma medida da seletividade da membrana. Uma maior razão acarreta uma diminuição da seletividade da membrana e da eficiência do processo. Este parâmetro é independente da concentração da solução osmótica e da estrutura do suporte da membrana, e pode ser contornado por uma alta seletividade da camada ativa da membrana (CATH et al., 2006; ZHAO et al., 2012).

2.3.2 Aplicação dos PSM na colheita de microalgas

De acordo com Wei et al. (2014), a colheita de microalgas através dos PSM oferece vantagens tais como retenção quase total da biomassa e desinfecção da corrente de retido, já que as membranas permitem a passagem de protozoários e vírus para a corrente de permeado. A filtração por membranas aplicada na colheita de microalgas foi relatada pela primeira vez em 1995.

Ahmad et al. (2012) investigaram o uso da microfiltração tangencial para a colheita da microalga *Chlorella* sp., utilizando membranas de acetato de celulose e avaliaram os efeitos das condições hidrodinâmicas sobre o fluxo de permeação. Como resultado, foi verificado que o aumento da velocidade de escoamento e da pressão transmembrana acarretam aumento no fluxo de permeado. Para as condições analisadas, a resistência oferecida pela torta formada apresenta maior interferência do que a resistência promovida por polarização por concentração e bloqueio de poros.

A colheita de microalgas através de OD, como uma alternativa de baixo consumo energético para a produção de biocombustíveis, foi estudada por Buckwalter et al. (2013). Os autores realizaram a desidratação parcial de microalgas cultivadas em águas residuais em ambiente marinho. Água do mar artificial foi utilizada como solução osmótica e o processo ocorreu a um fluxo permeado médio de 2 LMH (intervalo 1,8 LMH a 2,4 LMH), com uma recuperação entre 65 % e 85 %. O comportamento da membrana em ambiente marinho foi analisado e os resultados comprovaram a ocorrência de *biofouling*. Os autores concluíram que a colheita de microalga por OD é uma etapa que apresenta economia de energia e é um processo viável.

Hwang et al. (2013) aplicaram um revestimento polimérico hidrofílico de álcool polivinílico (PVA) em membranas de microfiltração, a fim de reduzir a ocorrência de *fouling*, durante a colheita da microalga *Chlorella* sp. KR-1. A aplicação do revestimento garantiu à membrana caráter hidrofílico, o que ocasionou uma diminuição dos ângulos de contato em até 64 % em comparação com as membranas não modificadas. Com isso, houve aumento do fluxo em 36 % e de recuperação de aproximadamente 100 %. A modificação da hidrofiliabilidade da membrana apresentou ótimo desempenho e viabilidade econômica.

A concentração de microalgas em discos de microfiltração para a produção de biodiesel foi desenvolvida por Hwang et al. (2013). Os efeitos das condições operacionais,

como velocidade de rotação do disco, taxa de alimentação da suspensão e pressão transmembrana, sobre o fluxo de permeado e formação de torta foram analisados. Como a rejeição de microalgas foi total houve a formação de torta altamente compressível (fator de compressibilidade de 0,66), que foi considerada a principal responsável pela resistência à filtração obtida. Aumentando-se a velocidade de rotação do disco há uma redução na formação de torta (em até 80 %) devido à tensão de cisalhamento na superfície da membrana, independente da pressão transmembrana aplicada.

Nurra et al. (2014) avaliaram o desempenho técnico e a melhoria da filtração por membranas através de processo vibratório em comparação com a filtração tangencial para a concentração de microalgas. Foram testadas diferentes membranas de microfiltração e ultrafiltração em ambos os processos. A permeabilidade do processo vibratório no estado estacionário foi superior à filtração tangencial num fator de três ou mais.

Em estudo realizado por Zhang et al. (2014), uma membrana dinâmica, diatomita (DDM), foi utilizada na colheita da microalga *Chlorella pyrenoidosa* em fluxo contínuo (no reator). Os autores avaliaram a influência da matéria orgânica extracelular (MOE) sobre a filtração e a ocorrência de *fouling*. Para a investigação do *fouling*, a torta formada foi dividida em três sub-camadas: lodo, algas e terra de diatomáceas, a partir do exterior para o interior. A MOE acumulou-se nas camadas de lodo e algas, sendo que as proteínas foram as principais responsáveis pela formação de torta. O processo proposto pode ser aplicado na concentração de microalgas para a produção de biocombustíveis.

Zou et al. (2013) averiguaram a ocorrência de *fouling* na concentração da microalga *Chlorella sorokiniana* por OD e PRO por observação direta. O fluxo crítico foi determinado pela variação da concentração de alimentação. Uma maior tendência ao *fouling* ocorreu na presença de íons Mg^{2+} na solução de alimentação e/ou na solução osmótica, devido à ocorrência de difusão inversa. O aumento do fluxo inicial pelo uso de espaçador na solução de alimentação reduziu a tendência ao *fouling*.

Capítulo 3

Materiais e Métodos

Neste capítulo estão descritos os equipamentos e as membranas utilizados na realização dos experimentos. Também, estão apresentadas a metodologia empregada para a realização dos experimentos de concentração de biomassa algal através de processo combinado de coagulação e filtração por osmose direta e os métodos analíticos utilizados para caracterizar as amostras. Ao final é apresentada uma tabela com todos os reagentes utilizados indicando a etapa, a fórmula molecular, o grau de pureza e o fabricante.

3.1 Microalga e meio de cultivo

Cepas da microalga marinha *Chlorella* sp. foram gentilmente cedidas pelo professor Sérgio Lourenço da Universidade Federal Fluminense e mantidas no banco de algas do Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos (ICTA) da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

O meio de cultivo utilizado foi o meio Guillard – “f1/2” (GUILLARD, 1975) modificado (JARENKOW, 2014), contendo (por litro): 34 g de sal marinho (Red Sea), 300 mg de nitrato de sódio (NaNO_3), 30 mg de silicato de sódio ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), 1 mL de solução de vitaminas e 1 mL de solução-tampão de pH. Diariamente foram adicionados (por litro) 1 mL de solução de metais-traço (Cu, Zn, Co, Mn e Mo) e 1 mL de solução de fosfato de sódio ($5,0 \text{ g L}^{-1} \text{ NaH}_2\text{PO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$). A solução de metais-traço contém (por litro): 9,8 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 22 mg de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 180 mg de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 6,3 mg de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4,36 g de Na_2EDTA e 3,15 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. A solução de vitaminas contém (por litro): 100 mg de tiamina, 0,5 mg de cianocobalamina e 0,5 mg de biotina. A solução tampão de pH serve para manter o pH entre 7,5 e 8,5 e foi feita com 50 g de TRIS ($\text{C}_4\text{H}_{11}\text{NO}_3$), aproximadamente 30 mL de ácido clorídrico para ajustar o pH em valor de 7,1 a 7,3 e água destilada, sendo o volume total da solução de 200 mL. Soluções-estoque foram preparadas para fazer o meio de cultivo, de acordo com Lourenço (2006).

O meio de cultivo e as vidrarias utilizadas foram esterilizados em autoclave a 121 °C durante 15 min. A solução de vitaminas foi esterilizada por microfiltração. As vitaminas e os demais nutrientes foram adicionados após o resfriamento do meio de cultivo.

3.2 Pré-inóculos

Para inocular cada cultivo em reator, uma alíquota de 10 mL de algas da cultura-mãe do banco de cultivo foi inoculada em 100 mL de meio de cultivo estéril em Erlenmeyer de 500 mL. Em seguida, foram colocados em incubadora com agitação orbital com temperatura controlada de 30 °C e iluminação permanente através de lâmpadas eletrônicas com intensidade luminosa de aproximadamente 7.0 klx. Após sete dias, 100 mL de meio de cultivo estéril foram adicionados a este meio de cultura. Após mais uma semana, os pré-inóculos foram considerados prontos para serem cultivados em reatores.

3.3 Cultivo em fotobiorreator

Os cultivos foram realizados em fotobiorreatores, confeccionados em acrílico, com volume útil de 2,4 L, providos de camisa de aquecimento/resfriamento interno conectados a banhos térmicos (KOCHEM et al., 2014).

A aeração foi realizada com vazão de 0,5 L min⁻¹ de ar comprimido filtrado com membrana de 0,22 µm Midisart®2000 (Sartorius Stedim Biotech) conectados a mangueiras do topo até o fundo dos reatores. Na parte inferior das mangueiras, foram conectadas duas pedras porosas, pelas quais ocorre a saída de ar. As vazões de ar foram controladas por rotâmetros (Dwyer) e a temperatura foi controlada pelas camisas de aquecimento/resfriamento. Os cultivos foram iluminados continuamente por um painel de lâmpadas eletrônicas (12 x 13 Watts, luz branca, Tachibra), intensidade luminosa de 17,5 klx. A Figura 3.1 apresenta uma imagem ilustrativa do fotobiorreator utilizado no cultivo da microalga.

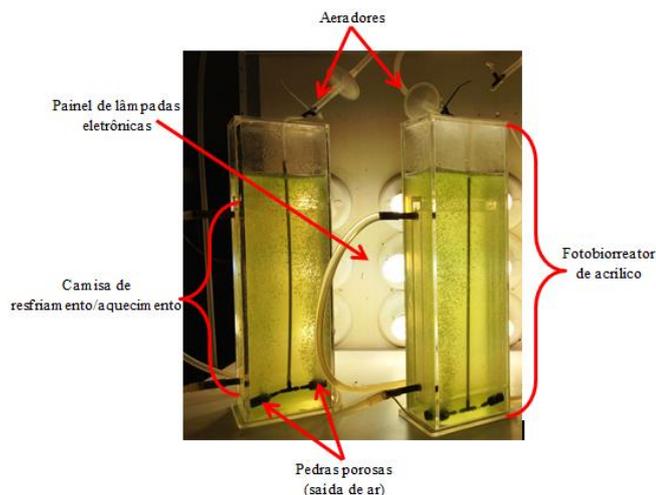


Figura 3.1 Imagem ilustrativa dos fotobiorreatores confeccionados em acrílico, com volume útil de 2,4 L, providos de camisa de aquecimento/resfriamento interno conectados a banhos térmicos. Ao fundo está apresentado o painel das lâmpadas eletrônicas.

A sanitização dos reatores foi realizada através da adição de água destilada (até quase completar o volume do reator) e 10 mL de solução comercial de hipoclorito de sódio (2,5 %), sob aeração constante. Depois de 15 min foram adicionados 2,5 mL de solução de tiosulfato de sódio 250 g L^{-1} , para neutralização do cloro. Após 1 h, a solução foi descartada, os reatores foram lavados com água destilada para remoção de resíduos, preenchidos com 2 L de meio de cultivo “f1/2” estéril modificado e os pré-inóculos foram adicionados.

3.4 Crescimento

O crescimento das microalgas foi monitorado diariamente através da medida da densidade ótica da cultura a 750 nm com espectrofotômetro UV/visível Ultrospec 3100 pro (Amersham Biosciences).

Segundo Lourenço (2006),

o uso da densidade ótica (DO) para avaliar o crescimento de microalgas baseia-se na obstrução física da luz pelas células. Quanto mais células estiverem presentes na amostra, maior será a absorção de luz (absorbância) e menor será a passagem de luz pela amostra (transmitância). Utiliza-se espectrofotômetro para realizar as medições.

Feng et al. (2005) estabeleceram uma relação entre a densidade ótica (a 750 nm) e a densidade celular da microalga *Chlorella* sp. Para isso, as células foram cultivadas até atingirem a fase estacionária e foram então concentradas três vezes. Com os resultados obtidos, foi verificado que a densidade ótica a 750 nm no intervalo de 0,028 a 1,384 foi

correlacionada linearmente com a densidade celular. A curva de calibração utilizada foi baseada na curva construída por Jarenkow (2014), conforme Equação 3.1.

$$y = 0,7596 \times DO_{750} \quad (3.1)$$

onde y é a concentração de biomassa algal em g L^{-1} e DO_{750} é a densidade ótica a 750 nm.

3.5 Coagulantes

Para os ensaios de coagulação, foram utilizados seis coagulantes distintos: amido catiônico, quitosana, nano-quitosana e três espécies de tanino. Detalhes a respeito da síntese e/ou modificação dos referidos coagulantes são apresentados a seguir.

3.5.1 Amido catiônico

A preparação do amido catiônico consiste na modificação de amido de batata em um processo de duas etapas, conforme esquema geral das reações de síntese apresentado na Figura 3.2. O primeiro passo baseia-se na halogenação do amido através da reação de 1,0 g de amido de batata com 1,8 mL de epicloridrina e 50 μL de ácido clorídrico (1 M) durante 1 h a 110 °C, sob agitação magnética constante. O amido foi então alquilado por adição de histamina (razão de histamina para amido de 1:2) em solução de hidróxido de sódio (0,16 M) por 4 h a 60 °C, sob agitação magnética constante. A solução foi então precipitada por etanol e lavada com etanol através de filtração por membrana de ester de celulose de 0,45 micra (Milipore) durante 16 h. Em seguida o material foi seco em estufa por 2 h a 60 °C (ANTHONY & SIMS, 2013).

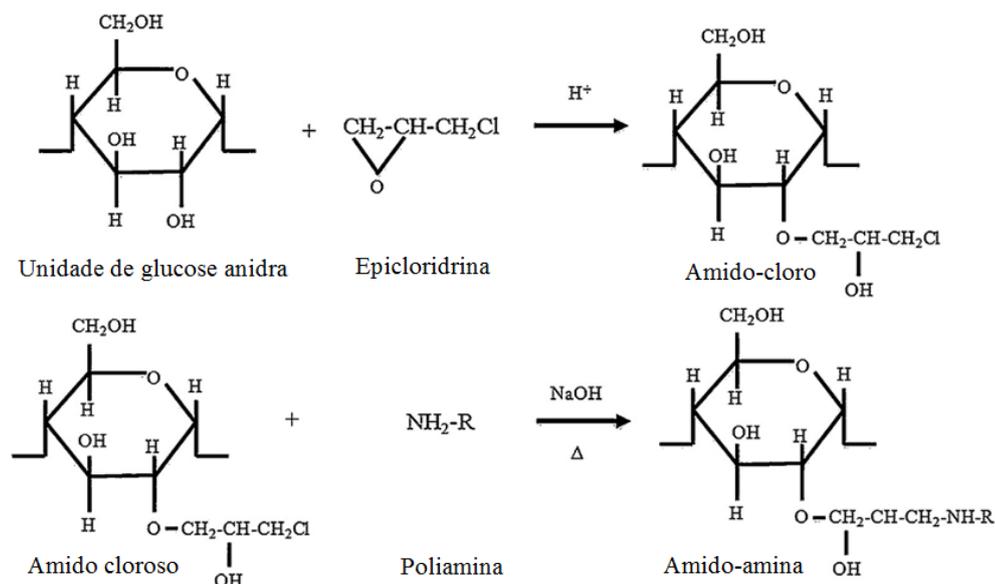


Figura 3.2 Esquema geral da reação de síntese do amido catiônico.

Grau de substituição

O grau de substituição (DS) é o número médio de grupos hidroxila que foram substituídos em uma unidade de glicose anidra de amido. Os grupos típicos de carga positiva em amidos catiônicos são aminas quaternárias. O grau de substituição foi calculado usando a Equação 3.2 e o teor de nitrogênio total foi obtido através de análise CHNS, conforme a norma ASTM D5373-02 (ANTHONY e SIMS, 2013).

$$DS = \frac{162 \times N\%}{1400 \times n - (M \times N\%)} \quad (3.2)$$

onde, 162 g mol^{-1} é a massa molar de uma unidade de glicose anidra de amido, M é massa molar da histamina ($111,145 \text{ g mol}^{-1}$), $N\%$ é o percentual em massa de nitrogênio e n é o número de átomos de nitrogênio na histamina ($n = 3$). O DS pode variar entre 0 e 3.

A análise CHNS é uma forma de análise elementar que determina a quantidade de carbono (C), de hidrogênio (H), de nitrogênio (N) e de enxofre (S) em uma amostra. Nesta técnica, a amostra é completamente queimada e, em seguida, os produtos de sua combustão são analisados. A combustão completa é geralmente obtida através de fornecimento de oxigênio abundante durante o processo de combustão. Nesta configuração os produtos analisados carbono, hidrogênio e nitrogênio oxidam e formam dióxido de carbono (CO₂), água (H₂O) e monóxido de nitrogênio (NO), que são analisados por cromatografia.

3.5.2 Quitosana

A quitosana utilizada possui baixa viscosidade e grau de desacetilação de 85 %. Uma suspensão de 1 % foi preparada pela adição de 1 g de quitosana em 50 mL de água destilada e 50 mL de ácido acético 2 %. A solução ficou sob agitação contínua de 100 rpm em agitador magnético durante 3 h (AHMAD et al., 2011).

3.5.3 Nano-quitosana

As nano partículas de quitosana (nano-quitosana) foram obtidas através do processo de gelificação iônica (CALVO et al., 1997), que consiste na interação entre a quitosana carregada positivamente e o tripolifosfato de sódio (STTP) carregado negativamente (KOCAK et al., 2012). A nano-quitosana foi obtida através da adição de solução de STTP diluído em água destilada em suspensão de quitosana 1 %, na proporção (em massa) de quitosana para STTP de 5:1 sob agitação magnética constante (100 rpm) e em temperatura ambiente (25 ± 2 °C) (BAO et al., 2008).

3.5.4 Tanino

Foram utilizados três espécies de tanino: extrato de tanino puro, tanino sulfitado e tanino catiônico.

O extrato de tanino puro e o tanino sulfitado utilizados neste estudo foram cedidos pela empresa Seta S/A. O tanino catiônico foi cedido pela empresa TANAC (Brasil), comercializado pelo nome de TANFLOC SG. Este é um produto à base de tanino modificado por processo físico, obtido a partir da casca de *Acacia mearnsii*, árvore muito comum no Brasil e de alta concentração de taninos. É um extrato aquoso vegetal, principalmente constituído de flavonoides, com massa molar média de 1,7 kDa. Outros grupos, tais como gomas hidrocoloides e outros sais solúveis estão incluídos na sua estrutura (BELTRÁN-HEREDIA & SÁNCHEZ-MARTÍN, 2009). A diluição dos coagulantes foi realizada sob agitação magnética constante e aquecimento.

3.6 Ensaios de coagulação

Para analisar a eficiência dos diferentes coagulantes testados (amido catiônico, quitosana, nano-quitosana e tanino) foi utilizado o equipamento Jarrest modelo JL2001 (Alfa Tecnoquímica). O equipamento consiste em seis copos béquer de 1000 mL, com diâmetro de

base de aproximadamente 14,5 cm, e seis pás de aço inoxidável de formato retangular (7,50 cm × 0,16 cm × 3,00 cm), com um impelidor de diâmetro de 0,63 cm. Para cada teste, os copos foram preenchidos com 250 mL de cultura de microalgas, correspondendo a uma altura de líquido de 3,5 cm. As amostras foram coaguladas na velocidade de 100 rpm durante 60 min, com diferentes concentrações de coagulante (10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹), à temperatura ambiente (25 ± 2 °C), onde foi determinada a concentração ótima para cada coagulante testado. Após a coagulação, as amostras foram deixadas sedimentar por 60 min. Em seguida, foram recolhidas 3 mL da amostra a 2/3 da altura da suspensão e a recuperação percentual foi determinada através da Equação 3.3.

$$\% \text{ de recuperação} = \left(1 - \frac{DO_{750\text{zona clarificada}}}{DO_{750\text{cultura inicial}}} \right) \times 100 \quad (3.3)$$

onde $DO_{750\text{zona clarificada}}$ é a densidade ótica da amostra após o processo de coagulação e $DO_{750\text{cultura inicial}}$ é a densidade ótica da cultura de referência (controle).

A absorvância a 750 nm foi determinada em Espectrofotômetro UV-VIS modelo T 80 (PG Instruments Ltd). Com a concentração ótima obtida, ajustou-se o pH de cada frasco na faixa de 6 a 9 por meio de soluções de NaOH 1 M e HCl 1 M. As medidas de pH foram determinadas em pHmetro Digimed, realizando-se as leituras diretamente na amostra, a uma temperatura de 25 °C. O teste foi repetido diversas vezes, sendo variado o tempo de mistura (5 min a 120 min), a velocidade de mistura (30 rpm a 150 rpm) e o tempo de sedimentação (5 min a 100 min). Todos os testes foram realizados em triplicata e os resultados foram analisados com base no percentual de recuperação obtido pela Equação 3.3 (AHMAD et al., 2011; GRANADOS et al., 2012).

3.7 Osmose Direta

Nesta seção são apresentados os materiais e a metodologia experimental para a realização dos experimentos de osmose direta. O objetivo desta etapa é realizar a filtração da biomassa algal pré-concentrada por coagulação a fim de se obter um produto final com menor umidade para posterior secagem e/ou extração de substâncias desejadas.

3.7.1 Equipamento

Os experimentos de OD foram realizados em uma unidade de bancada de OD, no Laboratório de Processos de Separação por Membranas do Departamento de Engenharia

Química da UFRGS. A Figura 3.3 mostra uma representação esquemática do sistema de osmose direta utilizado e a Figura 3.4 apresenta uma fotografia da unidade de bancada.

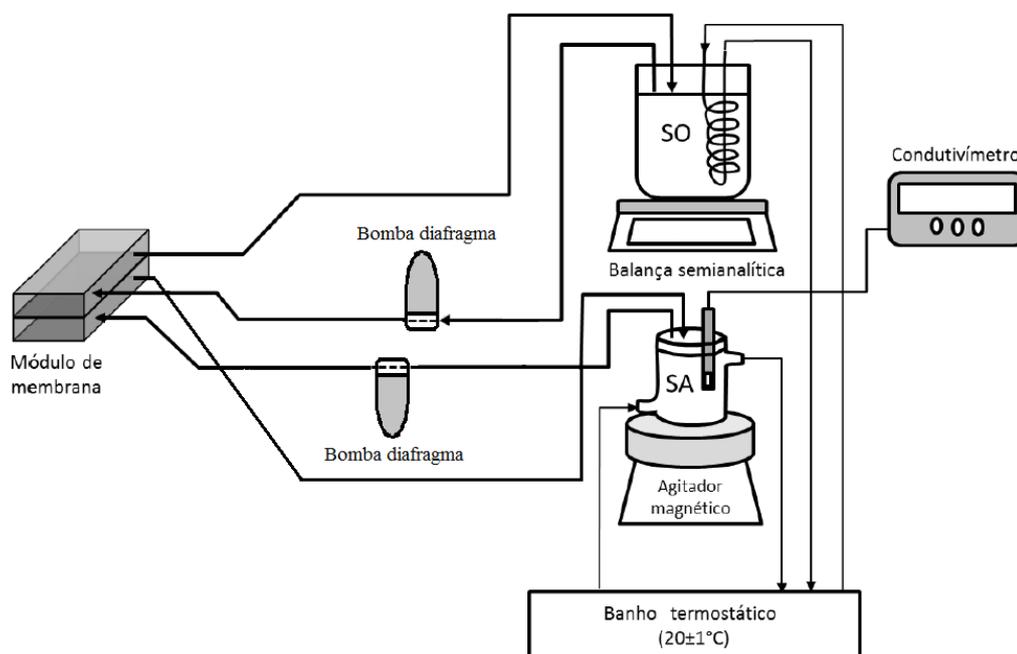


Figura 3.3 Representação esquemática do sistema de osmose direta utilizado.

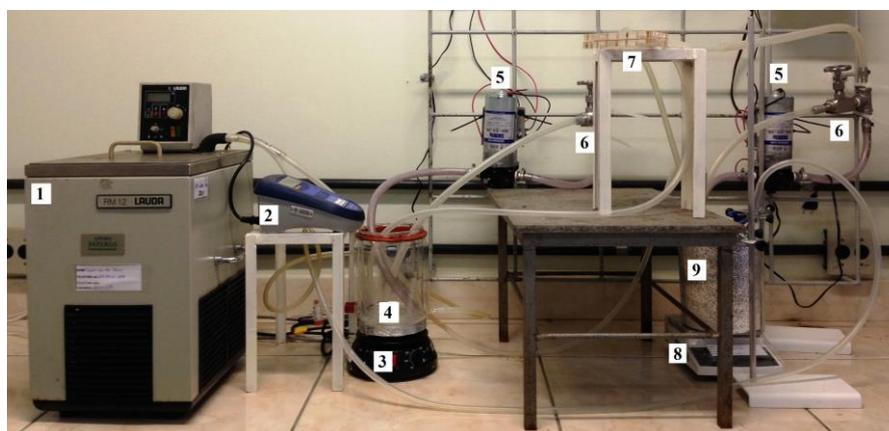


Figura 3.4 Fotografia da unidade de bancada de osmose direta. Legenda: (1) banho termostático, (2) condutivímetro, (3) agitador magnético, (4) béquer encamisado, (5) bomba diafragma, (6) válvula agulha, (7) módulo de OD, (8) balança semianalítica e (9) recipiente da solução osmótica contendo a serpentina.

Utilizou-se um módulo de osmose direta com área de membrana de 20 cm². A solução osmótica (SO) e a solução de alimentação (SA) foram bombeadas por bombas diafragma modelo número 8030-813-239 (SHURflo). A SA foi mantida em um béquer de 2,0 L, encamisado, conectado a um banho termostático RM 12 (Lauda). O béquer da SA foi posicionado sobre um agitador magnético TMA10CF (Thelga). Um condutivímetro modelo DM-32 (Digimed) foi utilizado para medir a condutividade elétrica da SA. A SO foi mantida

em um recipiente de 2,0 L, posicionado sobre uma balança semianalítica com precisão de 0,01g modelo BL3200H (Shimadzu). Uma serpentina de aço inoxidável, ligada ao banho termostático RM 12 (Lauda) foi posicionada dentro do recipiente da SO.

3.7.2 Membranas de OD e solução osmótica

Membranas de osmose direta de triacetato de celulose (TAC) foram adquiridas da HTI (Hydration Technology Innovations, USA). Cloreto de sódio P.A. (99 %) foi adquirido da empresa Química Nova e utilizado como solução osmótica (1 M para a caracterização dos fluxos da membrana e 5 M para os experimentos de filtração de biomassa algal).

3.7.3 Metodologia

As condições operacionais para realização dos experimentos de filtração da biomassa algal por OD foram adaptadas de Zou et al. (2011). A camada seletiva da membrana foi direcionada para a solução de alimentação, com a finalidade de reduzir a polarização por concentração interna e a tendência ao *fouling*. Vale ressaltar que para cada experimento utilizou-se uma amostra de membrana nova. As soluções de alimentação e osmótica foram mantidas a 20 ± 1 °C através do banho termostático. As correntes de alimentação e da solução osmótica foram configuradas em paralelo para facilitar a transferência de massa. A vazão da alimentação foi mantida a $3,6 \text{ L min}^{-1}$, que foi a mínima vazão obtida com a máxima abertura da válvula agulha, correspondendo a uma velocidade de escoamento tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$. Para a solução osmótica utilizou-se a vazão de aproximadamente $4,6 \text{ L min}^{-1}$, que foi a mínima vazão obtida com a abertura total da válvula agulha, resultando em uma velocidade de escoamento tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$. A vazão da solução osmótica foi superior a da solução de alimentação a fim de reduzir o fluxo inverso de soluto. Os experimentos de primeira filtração de biomassa algal foram realizados em duplicata e de segunda filtração em um único experimento, por limitação de biomassa.

Os experimentos foram realizados em três etapas: acondicionamento e enxágue, caracterização da membrana e filtração da biomassa algal, que serão detalhados a seguir.

Condicionamento e enxágue

As membranas utilizadas são comercializadas embebidas em glicerol. Para a remoção do glicerol, as mesmas foram condicionadas em água deionizada durante 24 h, sob refrigeração, antes da realização dos experimentos. A membrana foi então instalada no

módulo e foi realizado um enxágue do sistema, que consistiu na circulação de água deionizada para a limpeza tanto da membrana quanto das tubulações. O enxágue foi realizado após cada etapa dos experimentos.

Caracterização da membrana

A caracterização da membrana em relação ao fluxo de água e ao fluxo inverso de sal foi realizada conforme proposto por Cath et al. (2013). Água deionizada foi utilizada como SA e solução 1 M de cloreto de sódio como SO, sob condições de temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$). Foi utilizado um volume de SO (2,0 L) quatro vezes maior que o da SA (0,5 L), de maneira a minimizar a diluição da solução osmótica ao longo do experimento e manter a diferença de pressão osmótica entre as soluções constante.

O tempo de experimento durante a caracterização foi de 45 min. O fluxo de solvente foi determinado através do ganho de massa da solução osmótica registrado pela balança semi-analítica. O fluxo inverso de soluto, da SO para a SA, foi determinado a partir da condutividade elétrica da SA, medida através do condutivímetro, associando esta medida a uma curva de calibração construída previamente. A curva foi constituída com quatorze pontos em concentrações de NaCl entre 0 g L^{-1} e $1,0 \text{ g L}^{-1}$, medidos em triplicata (vide Apêndice B).

O procedimento de caracterização da membrana foi realizado antes e após os experimentos de filtração da biomassa algal. A caracterização foi realizada com a finalidade de verificar as interações membrana-solução e as modificações na estrutura e desempenho da membrana, bem como permitir a comparação entre as diferentes amostras de membranas e soluções utilizadas.

Filtração da biomassa algal

Os experimentos de filtração de biomassa algal foram realizados utilizando 1,5 L de suspensão de microalgas *in natura*, pré-concentrada por coagulação, como solução de alimentação e 1 L de cloreto de sódio 5 M como solução osmótica. A concentração da SO foi selecionada de maneira a garantir que a pressão osmótica fosse superior à pressão osmótica da SA; os valores da pressão osmótica inicial de cada solução de alimentação utilizada e da

solução osmótica estão apresentados na Tabela 3.1. Para cada membrana, foram realizados dois experimentos de filtração.

Tabela 3.1 Pressão osmótica das diferentes soluções de alimentação (medidas através da atividade de água – Equações 2.15 a 2.17) e pressão osmótica do cloreto de sódio 5 M (solução osmótica).

Soluções de alimentação		
Suspensão de microalgas	a_w	π_{alm} (MPa)
<i>In natura</i>	0,978	4,85
Coagulado com quitosana	0,979	4,85
Coagulado com nano-quitosana	0,982	4,87
Coagulado com tanino catiônico	0,978	4,85
Coagulado com tanino sulfitado	0,989	4,9
Solução osmótica		
Agente osmótico	C_{SO} (M)	π_{osm} (MPa)
Cloreto de sódio	5	24,8

As condições de temperatura de $20 \pm 1^\circ\text{C}$, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$) foram mantidas durante os experimentos de filtração de biomassa algal. Assim como na caracterização das membranas, o fluxo de solvente foi determinado através do ganho de massa da solução osmótica registrado pela balança. O fluxo inverso de soluto, da SO para a SA, foi determinado a partir do aumento da condutividade elétrica da SA, medida através do condutivímetro, associando-o a uma curva de calibração construída previamente. A curva foi constituída com trinta e três pontos em concentrações de sal marinho (Red Sea) entre $8,5 \text{ g L}^{-1}$ e $68,0 \text{ g L}^{-1}$, medidos em duplicata (vide Apêndice B).

3.8 Análise estatística

As recuperações obtidas com os diferentes coagulantes nos experimentos de coagulação, bem como os fluxos obtidos durante a caracterização da membrana e os experimentos de OD foram submetidos a uma análise de variância ANOVA fator único a um nível de significância de 5 %. Também foi aplicado, para as recuperações obtidas nos experimentos de coagulação, o teste de Tukey para diferença de médias (vide Apêndice A). Nos gráficos, barras de erro representam o desvio padrão obtido.

3.9 Métodos analíticos

As características das amostras de microalgas no meio de cultivo, pré-concentradas por coagulação e concentradas por osmose direta, bem como a membrana utilizada durante o processo de osmose direta foram analisadas conforme descrito nos procedimentos a seguir.

Na Figura 3.5 está apresentado um fluxograma geral de todas as etapas dos experimentos onde são coletadas amostras.

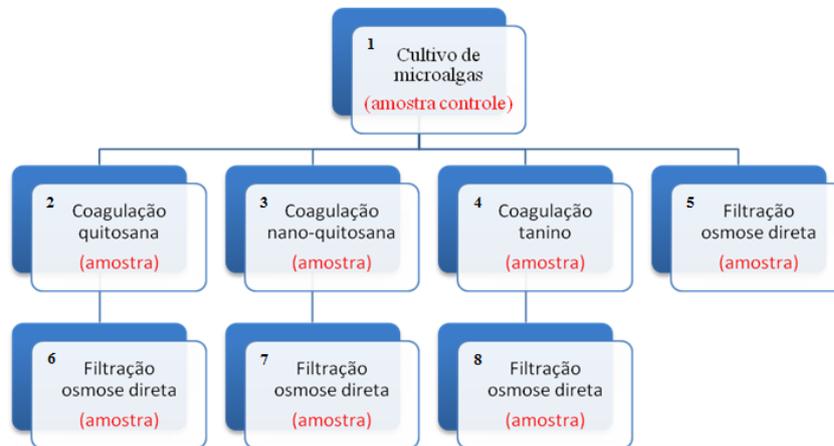


Figura 3.5 Esquema geral da coleta de amostras.

Na Figura 3.6 está apresentado um fluxograma geral das análises realizadas em cada uma das etapas dos experimentos.

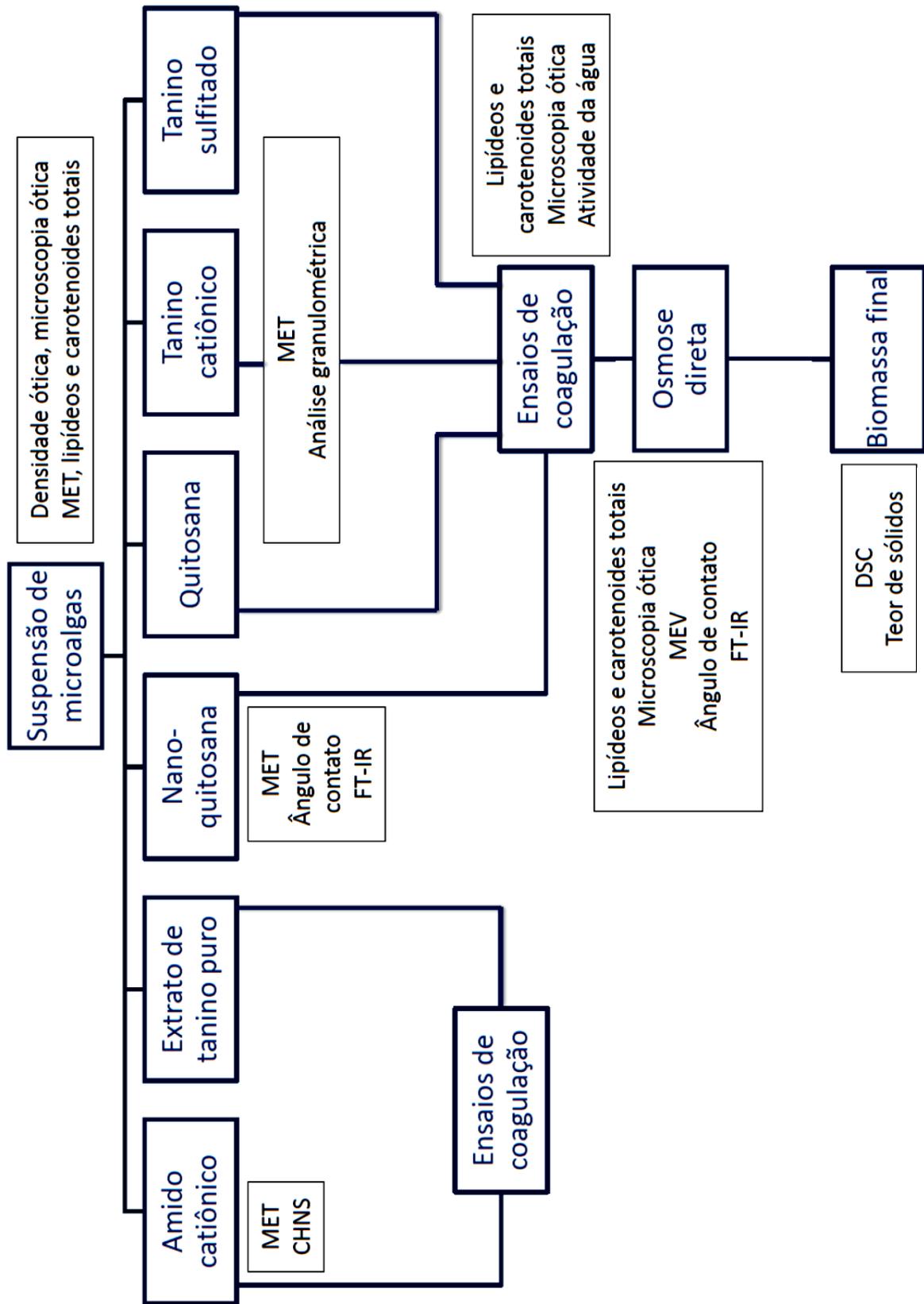


Figura 3.6 Fluxograma geral das análises realizadas.

3.9.1 Análise granulométrica

O tamanho de partícula dos coagulantes que foram considerados eficazes (quitosana, tanino catiônico e tanino sulfitado), foi determinado em um Analisador de Partícula por Difração a *Laser* 1180 (CILAS). A granulometria foi medida em duplicata.

3.9.2 Atividade da água

Para o cálculo da pressão osmótica da solução através das Equações 2.15 a 2.17, a atividade da água (a_w) foi determinada no equipamento Analisador de Atividade de Água modelo LabMaster (Tecnal). A atividade da água foi medida, em triplicata, na solução de cultivo e após a adição de cada coagulante testado e considerado eficaz.

3.9.3 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Tendo como base o princípio proposto por Lee et al. (2012) de que a “água ligada” não sofre congelamento durante o arrefecimento da amostra a uma temperatura inferior a limiar, tal como $-20\text{ }^{\circ}\text{C}$, a técnica DSC mede a diferença de calor transferido entre a amostra e uma referência em temperaturas impostas. A referência normalmente é de um material termicamente inerte (pó de alumina).

Para análise de DSC, aproximadamente 12,5 mg de amostra de biomassa concentrada, coletada nas etapas 5, 6, 7 e 8 (Figura 3.5), foi inserida no equipamento DSC 6000 (PerkinElmer) e a temperatura foi reduzida até $-30\text{ }^{\circ}\text{C}$ a uma taxa de $1\text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$. Um gráfico das diferenças de fluxo de calor em relação a variação de temperatura foi construído, onde foi possível observar picos de aumento e de decréscimo, característicos de transformações exotérmicas e endotérmicas, respectivamente. Medindo-se a área dos picos e considerando o calor necessário para congelar a água, a quantidade de “água ligada” e a força de ligação podem ser estimadas. A massa seca das amostras foi determinada utilizando o método de Apha (1998). As análises foram realizadas em triplicata.

3.9.4 Determinação de carotenoides totais

Para a avaliação do efeito de cada etapa proposta para o processo de concentração de biomassa algal, a coleta de amostras para a determinação de carotenoides totais foi realizada nas etapas 1 a 8 (Figura 3.5).

As amostras coletadas (2 mL) foram acondicionadas em tubo *ependorf* e centrifugadas a $16.000 \times g$ a 4°C durante 5 min pela centrífuga refrigerada CT-5000R (Cientec). O sobrenadante de cada amostra foi descartado e no sedimento adicionou-se 2 mL de acetona. Os *ependorfs* foram colocados em local escuro, em temperatura de 4°C por 12 h. As leituras no Espectrofotômetro UV-VIS modelo T 80 (PG Instruments Ltd) foram realizadas a 470, 662 e 645 nm. As Equações 3.4 a 3.6 foram utilizadas para determinar a concentração de carotenoides em mg L^{-1} (LICHTENTHALER & BUSCHMANN, 2001).

$$C_a = 11,24 \times DO_{662} - 2,04 \times DO_{645} \quad (3.4)$$

$$C_b = 20,13 \times DO_{645} - 4,19 \times DO_{662} \quad (3.5)$$

$$C_{x+c} = \frac{1000 \times DO_{470} - 1,90 \times C_a - 63,14 \times C_b}{214} \quad (3.6)$$

onde C_a , C_b e C_{x+c} são as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides em mg L^{-1} , respectivamente.

3.9.5 Determinação de lipídeos totais

A determinação de lipídeos totais foi realizada a partir da técnica Bligh n'Dyer (ref). Para a avaliação do efeito de cada etapa proposta para o processo de concentração de biomassa algal, a coleta de amostras para a determinação de lipídeos totais foi realizada nas etapas 1 a 8 (Figura 3.5). Brevemente, centrifugou-se aproximadamente 1 L de cada amostra em centrífuga refrigerada CT-5000R (Cientec), onde o sobrenadante foi descartado e o sedimento foi liofilizado em um liofilizador L101 (Liobras). Pesou-se cerca de 1 g de amostra liofilizada e, em um vidro fechado, adicionou-se 20 mL de metanol, 10 mL de clorofórmio e 8 mL de água destilada. A solução foi agitada por 30 min em agitador magnético a temperatura ambiente ($25 \pm 2^\circ\text{C}$). Em seguida foram adicionados 10 mL de metanol e 10 mL de solução 10 % em massa de sulfato de sódio e água. A agitação foi continuada por mais 2 min. A solução foi então vertida em um funil de separação, dentro do qual, as duas fases (clorofórmio contendo lipídeos e metanol e água) foram separadas. A parte inferior, o clorofórmio, foi coletada e foi acrescentado mais 1 g de sulfato de sódio anidro. A solução foi então filtrada e 5 mL foram colocados em um béquer previamente tarado e a solução foi evaporada em estufa a 80°C até completa evaporação do solvente. Após o resfriamento dos béqueres em dessecador, estes foram pesados em balança analítica e o percentual de lipídeos foi calculado através da Equação 3.7 (Bligh & Dyer, 1959).

$$\%lipídeos = \frac{4p_l}{p_s} \quad (3.7)$$

onde p_l (g) é a massa de lipídeos em 5 mL de amostra e p_s (g) é a massa da amostra. As análises foram realizadas em triplicata.

3.9.6 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR) é um tipo de espectroscopia de absorção na qual se utiliza a região do infravermelho do espectro eletromagnético para identificar um material ou investigar sua composição química.

Para avaliar a modificação ocorrida na etapa de obtenção da nano-quitosana, comparou-se a estrutura química da quitosana com a da nano-quitosana a partir de espectros FT-IR obtidos em Espectrofotômetro no Infravermelho (FT-IR), no modo de Reflexão Total Atenuada (ATR) 640-IR (Varian).

A membrana de triacetato de celulose utilizada no módulo de OD também foi caracterizada por FT-IR, porém não se utilizou o modo ATR.

3.9.7 Medida do ângulo de contato

Para avaliação da hidrofiliabilidade dos coagulantes testados, considerados eficazes e com capacidade de formação de filme, bem como da membrana utilizada no módulo de OD, foram realizadas medidas de ângulo de contato. Para a análise dos coagulantes, a solução contendo os materiais foi deixada em ar atmosférico para evaporação de solvente e formação de filme. Para aqueles onde não houve formação de filme, a medida não pode ser realizada.

Para estes testes, uma microgota de água deionizada foi inserida vagarosamente em três pontos diferentes da superfície de cada amostra (medida estática). As imagens de cada gota foram capturadas com auxílio do microscópio óptico Digital Blue QTX (magnificação de 60 vezes). A verificação do ângulo de contato (Θ) foi obtida com auxílio do software SurfTens® 3.0. As medidas foram realizadas em triplicata e foi considerada a média destes resultados. Considerou-se a superfície hidrofílica para $\Theta < 90^\circ$ e hidrofóbica para $\Theta > 90^\circ$.

3.9.8 Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

O MET possui sistemas de iluminação e vácuo que produz feixes de elétrons de alta energia, que ao incidir sobre uma amostra ultrafina, fornece imagens planas imensamente

ampliadas. A formação da imagem é possível através da utilização de contraste, que consiste no emprego de substâncias de alta massa molar, como chumbo e ouro. A imagem é resultante da absorção diferenciada de elétrons por diversas regiões da amostra, seja por variação de espessura, seja por interação com átomos de maior ou menor número atômico.

As propriedades morfológicas e o tamanho das partículas dos coagulantes testados em solução (amido catiônico, quitosana, nano-quitosana e tanino catiônico) foram caracterizadas pelo microscópio eletrônico de transmissão JEM 1200 Ex-II (Jeol).

3.9.9 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

O MEV consiste em uma técnica de inspeção bastante flexível, que utiliza um feixe de elétrons incidindo sobre a amostra. Tal característica permite a visualização da amostra em imagens com aspecto tridimensional, devido à ampla profundidade de foco. Além disso, há possibilidade de alcance de ampliações bem mais elevadas do que as técnicas ópticas. Esta técnica aliada a um programa de processamento de imagem é bastante utilizada para medir a porosidade e a distribuição de tamanho de poros de membranas. Em resumo, pode-se afirmar que esta é uma técnica de medida direta que permite a caracterização rápida e simples da estrutura microporosa, tanto superficial quanto em corte transversal.

Na realização da técnica de MEV, o principal objetivo foi obter uma análise mais aprofundada da morfologia superficial da membrana de OD utilizada nos experimentos.

3.9.10 Microscopia ótica

A avaliação da morfologia e viabilidade das microalgas antes e após a adição de cada coagulante testado e considerado eficaz, foi realizada através de microscopia ótica em um microscópio biológico binocular TIM-107 Opton (magnificação de 40 vezes).

3.10 Reagentes analíticos

A Tabela 3.2 apresenta os reagentes utilizados na execução dos experimentos, indicando a fórmula molecular, o grau de pureza e o fabricante.

Tabela 3.2 Reagentes utilizados, fórmula molecular, grau de pureza e fornecedor.

Reagente	Fórmula molecular	Grau de pureza	Fornecedor
Meio de cultivo (Guillard – “f1/2”)			
Ácido clorídrico	HCl	P.A.	Nuclear
Ácido etilenodiamino tetra- acético dissódico	Na ₂ EDTA	P.A.	Vetec
Biotina	C ₁₀ H ₁₆ N ₂ O ₃ S	> 99,0 %	Fluka
Cianocobalamina	C ₆₃ H ₈₈ CoN ₁₄ O ₁₄ P	> 99,0 %	Vetec
Cloreto de cobalto hexahidratado	CoCl ₂ .6H ₂ O	P.A.	Vetec
Cloreto férrico hexahidratado	FeCl ₃ .6H ₂ O	P.A.	Vetec
Cloreto de manganês tetrahidratado	MnCl ₂ .4H ₂ O	P.A.	Vetec
Fosfato de sódio	NaH ₂ PO ₄	P.A.	Vetec
Molibdato de sódio dihidratado	Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O	P.A.	Vetec
Nitrato de sódio	NaNO ₃	P.A.	Fmaia
Sal marinho	-	-	Red Sea
Silicato de sódio	Na ₂ O ₃ Si	P.A.	Vetec
Sulfato cúprico pentahidratado	CuSO ₄ .5H ₂ O	P.A.	Vetec
Sulfato de zinco heptahidratado	ZnSO ₄ .7H ₂ O	P.A.	Vetec
Tiamina	C ₁₂ H ₁₇ ClN ₄ OS	P.A.	Sintofarm
Tris	C ₄ H ₁₁ NO ₃	P.A.	Cromato Produtos Químicos
Sanitização			
Hipoclorito de sódio	NaClO	10 %	Dinâmica
Tiosulfato de sódio	Na ₂ S ₂ O ₃	P.A.	Dinâmica
Amido Catiônico			
Ácido clorídrico	HCl	P.A.	Vetec
Amido de batata	(C ₆ H ₁₀ O ₅) _n	P.A.	Sigma- Aldrich
Epicloridrina	C ₃ H ₅ ClO	≥ 99 %	Sigma- Aldrich
Etanol	C ₂ H ₆ O	P.A.	Cromato Produtos Químicos
Hidróxido de sódio	NaOH	P.A.	Vetec
Histamina	C ₅ H ₉ N ₃	≥ 97 %	Sigma- Aldrich
Quitosana 1%			
Ácido acético	C ₂ H ₄ O ₂	P.A.	Vetec
Quitosana	(C ₆ H ₁₁ O ₄ N) _n	85 %	Sigma- Aldrich
Nano-quitosana			
Tripolifosfato de sódio	Na ₅ P ₃ O ₁₀	85 %	Sigma- Aldrich
Ensaio de coagulação			
Ácido clorídrico	HCl	P.A.	Vetec
Hidróxido de sódio	NaOH	P.A.	Vetec
Determinação de carotenoides			
Acetona	C ₃ H ₆ O	P.A.	Labsynth
Determinação de lipídeos totais			
Clorofórmio	CHCl ₃	P.A.	Vetec
Metanol	CH ₄ O	P.A.	Vetec
Sulfato de sódio	NaSO ₃	P.A.	Synth

Capítulo 4

Resultados e Discussão

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados da caracterização da microalga, dos coagulantes e da membrana, dos experimentos de coagulação e filtração por OD, onde foi avaliada a interferência dos processos no teor de carotenoides e lipídeos totais, bem como a viabilidade das células algais. Também foi analisado o teor de água ligada da biomassa concentrada na etapa de OD para avaliar a eficiência do processo.

4.1 Caracterização da microalga e crescimento

A curva de crescimento médio da *Chlorella* sp. cultivada em fotobiorreator é apresentada na Figura 4.1. A fase de adaptação ao crescimento ocorreu entre o primeiro e o segundo dia de cultivo. A fase de crescimento exponencial ocorreu entre os dias 2 e 5 e a fase de redução de crescimento ocorreu entre os dias 5 e 6. Nos dias 6 e 7 é identificada a fase estacionária de crescimento.

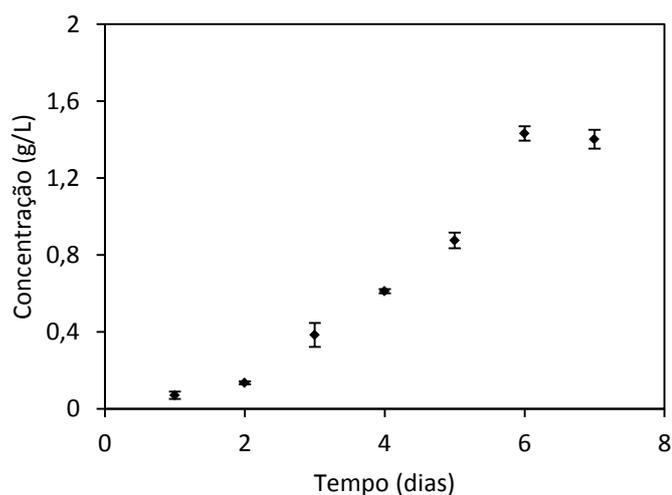


Figura 4.1 Curva de crescimento médio da microalga *Chlorella* sp. cultivada em fotobiorreator nas seguintes condições: meio Guillard – “f1/2” com adição de 300 mg de nitrato de sódio, temperatura de 28 ± 1 °C, taxa de aeração de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ e intensidade luminosa de 17,5 klx.

As suspensões de microalgas utilizadas nos experimentos foram obtidas na fase estacionária de crescimento, ou seja, entre os dias 6 e 7. Alguns cultivos apresentaram fase de adaptação reduzida e crescimento exponencial mais acentuado devido a melhores condições de crescimento (ajustou-se a iluminação dos reatores), o que acarretou colheita antecipada (entre os dias 5 e 6), conforme mostra a Figura 4.2.

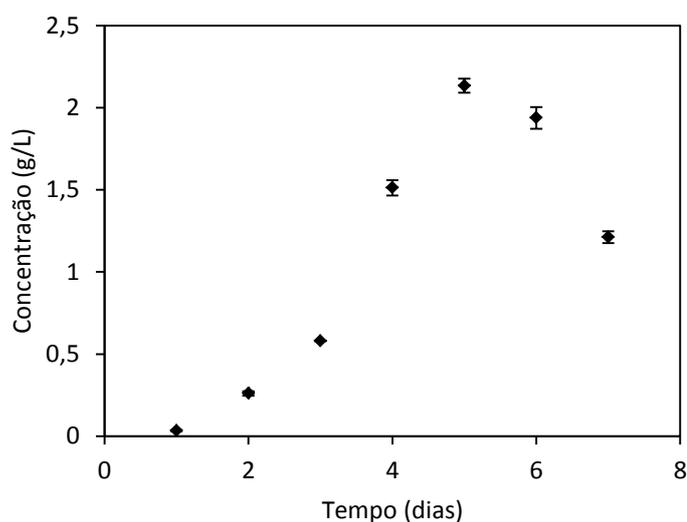


Figura 4.2 Curva de crescimento médio (colheita antecipada) da microalga *Chlorella* sp. nas seguintes condições: meio Guillard – “f1/2” com adição de 300 mg de nitrato de sódio, temperatura de 28 ± 1 °C, taxa de aeração de $0,5 \text{ L min}^{-1}$ e intensidade luminosa de 17,5 klx.

Lananan et al. (2013) cultivaram microalgas do gênero *Chlorella* sp. no meio de cultivo f/2. As curvas de crescimento obtidas apresentaram a mesma tendência das Figuras 4.1 e 4.2, porém o cultivo atingiu a fase estacionária apenas após o 14º dia. A diferença apresentada é decorrente da modificação do meio de cultivo utilizado no presente trabalho, que consiste na utilização de 300 mg de nitrato de sódio (ao invés de 75 mg) no meio de cultivo e adição diária de 2 mL L^{-1} de micronutrientes (metais-traço e fosfato de sódio), confirmando que a alteração é propulsora de crescimento.

Feng et al. (2005) avaliaram o aumento da produção de ácido graxo da *Chlorella* sp. pela adição de glicose e tiosulfato de sódio no meio de cultivo (água do mar natural). A fase estacionária da curva de crescimento ocorreu após o 13º dia de cultivo e as curvas de crescimento foram semelhantes às curvas apresentadas nas Figuras 4.1 e 4.2. As diferenças são decorrentes da modificação do meio de cultivo.

Chiu et al. (2011) cultivaram *Chlorella* sp. em meio de cultivo f/2 modificado e as curvas de crescimento foram bastante semelhantes à da Figura 4.2, onde a fase estacionária

foi atingida no mesmo dia (dia 6) e as concentrações celulares foram de aproximadamente $2,0 \text{ g L}^{-1}$, próximas as obtidas neste trabalho.

Em razão da microalga estudada não apresentar espécie identificada, a caracterização de sua estrutura se fez necessária. A caracterização das microalgas obtidas na fase estacionária de crescimento é exibida nas micrografias da Figura 4.3 A e B, onde pode ser observado com clareza a morfologia das células da microalga *Chlorella* sp., que apresentam formato esférico. Resultados semelhantes foram apresentados por Sadiq et al. (2011).

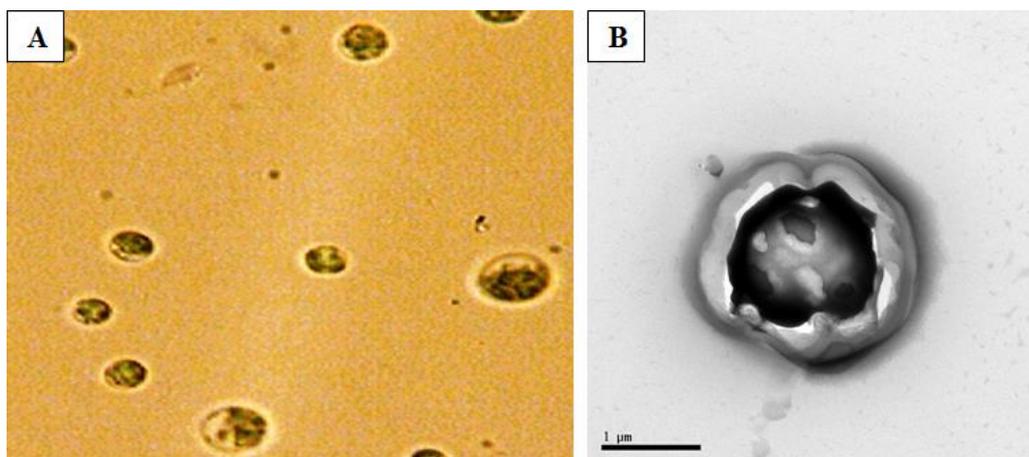


Figura 4.3 Micrografias da microalga *Chlorella* sp. (A) Microscopia ótica com aumento de $40 \times$ e (B) MET com aumento de $30.000 \times$.

Já a Fig. 4.3 B obtida a partir de MET, confirma o formato esférico da célula algal e é possível determinar seu diâmetro médio (em torno de $2 \mu\text{m}$). Hu et al. (2014) realizaram análises de MET da microalga *Chlorella ellipsoidea*, as micrografias obtidas confirmaram a estrutura esférica da *Chlorella*, bem como o diâmetro médio de $2 \mu\text{m}$.

4.2 Caracterização dos coagulantes

A morfologia dos coagulantes exerce influência direta no processo de coagulação, dado que materiais com partículas muito grandes podem apresentar baixo desempenho devido à menor área superficial. Desta forma, a análise da estrutura e morfologia dos coagulantes utilizados foi realizada e os resultados obtidos são apresentados a seguir.

4.2.1 Amido catiônico

A morfologia do amido catiônico é exibida na Figura 4.4, onde as micrografias foram obtidas da substância em solução. O material possui estrutura predominantemente esférica

(Figura 4.4 A) e possui diâmetro médio de 130 nm (Figura 4.4 B). Em decorrência do pequeno tamanho de partícula, apresenta grande área superficial, característica esperada para coagulantes eficientes. Medidas do ângulo de contato não foram realizadas, pois conforme será visto mais adiante (item 4.3.1), esse coagulante não foi eficaz nos ensaios de coagulação de microalgas.

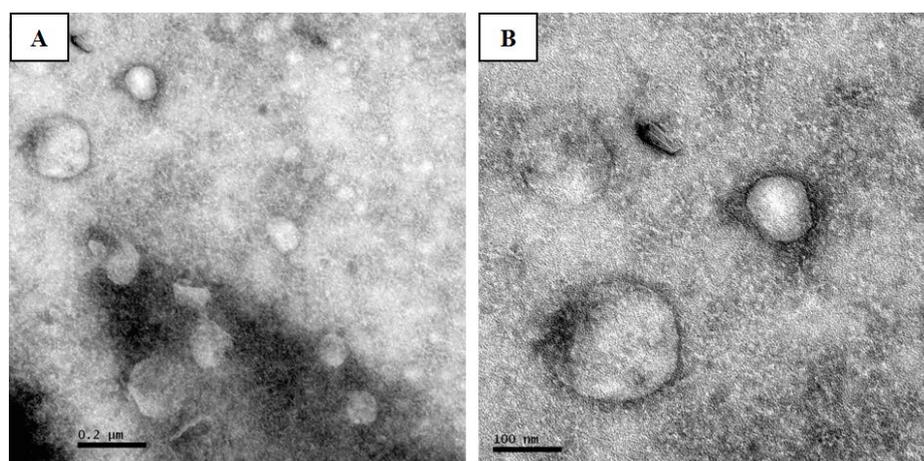


Figura 4.4 Micrografia (MET) do amido catiônico em solução com aumento de (A) 100.000 × e (B) 200.000 ×.

O grau de substituição (DS) foi calculado utilizando a Equação 3.1, onde foi encontrado o valor de 0,00167, o que demonstra que o amido sintetizado possui elevada cationicidade. Anthony & Sims (2013) através da análise de 27 amostras e pela interação entre duas variáveis com o Software de Análise Estatística, mostraram que há uma correlação estatisticamente significativa entre DS e a eficiência do coagulante (relacionada com o potencial zeta). A correlação mostrou que há um aumento do potencial zeta com o aumento do DS, sendo que esta relação foi verificada através da observação de que uma alta cationicidade é alcançada com o aumento da fixação de nitrogênio pelo amido catiônico. Os valores de DS encontrados pelos referidos autores eram na ordem de 1×10^{-3} e apresentaram altos valores de potencial zeta.

Vale ressaltar que o amido catiônico foi preparado no laboratório através de uma metodologia complexa a partir de amido de batata comercial. Para confirmar os resultados obtidos mais estudos devem ser realizados.

4.2.2 Quitosana

Micrografias foram obtidas para a quitosana em solução, conforme Figuras 4.5 A e B. A quitosana apresenta morfologia predominantemente homogênea e de formato esférico.

Devido ao pequeno tamanho de partícula de quitosana tem-se como resultado uma maior área por unidade de massa, o que confere à quitosana característica de bom coagulante, além disso sabe-se que a quitosana apresenta superfície carregada positivamente, característica que também favorece o processo de coagulação, visto que as microalgas possuem superfície carregada negativamente.

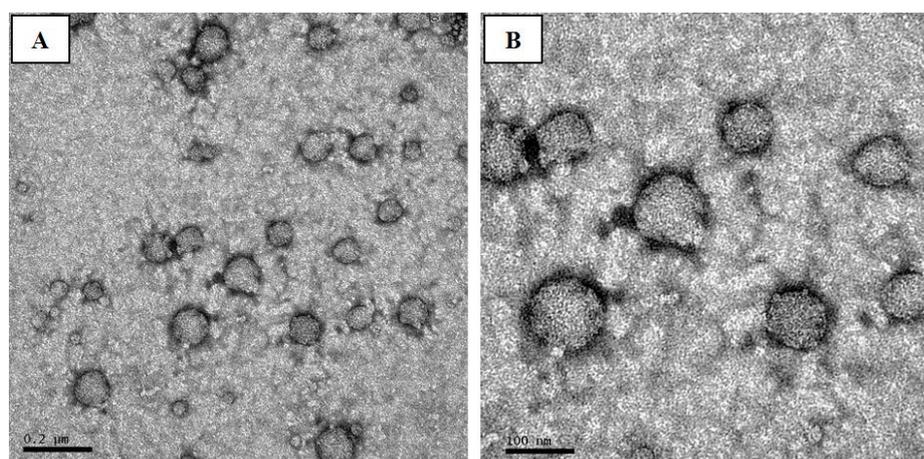


Figura 4.5 Micrografia (MET) da quitosana em solução com aumento de (A) 100.000 \times e (B) 200.000 \times .

A Tabela 4.1 apresenta os resultados da análise granulométrica, onde é possível verificar que a quitosana possui um tamanho de partícula médio de $122,40 \pm 3,19 \mu\text{m}$.

Tabela 4.1 Análise granulométrica por difração a *laser* da quitosana.

Amostra	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	D _{médio} (μm)
Quitosana	$21,36 \pm 0,70$	$99,98 \pm 0,68$	$252,15 \pm 12,02$	$122,40 \pm 3,19$

Além disso, observa-se que existe uma distribuição bem larga de tamanhos variando desde D₁₀ igual a 21 μm a D₉₀ igual a 252 μm , mais de 10 vezes maior.

4.2.3 Nano-quitosana

Assim como a quitosana, a nano-quitosana apresentou morfologia homogênea (Figura 4.6 A), de formato esférico e aglomerado, com um tamanho médio de partícula de aproximadamente 40 nm (Figura 4.6 B), resultados semelhantes aos obtidos por Kocak et al. (2012). Além disso, apresentou estrutura sólida e consistente. As medidas de ângulo de contato comprovam a hidrofiliabilidade do material, uma vez que a média dos valores obtidos foi de $69,3^\circ \pm 1,2$. Entretanto, o material apresenta grande área superficial (devido ao pequeno tamanho) carregada positivamente, o que auxilia o processo de coagulação.

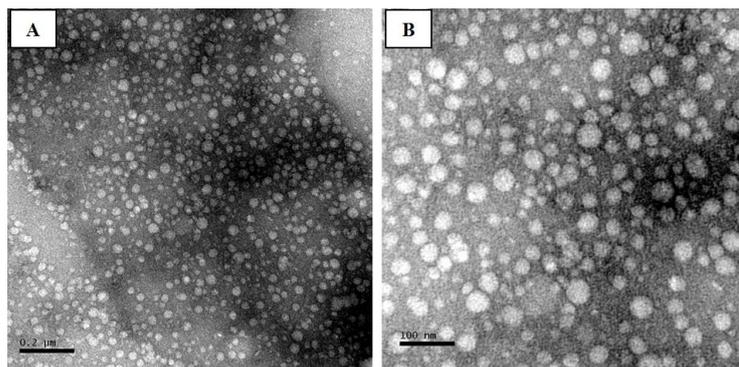


Figura 4.6 Micrografia (MET) da nano-quitosana em solução com aumento de (A) 100.000 \times e (B) 200.000 \times .

Durante a formação das nanopartículas de quitosana, a proporção entre quitosana e STTP é de extrema importância, pois controla o tamanho e a distribuição das nanopartículas, podendo desta forma afetar o desempenho das partículas formadas (proporção utilizada: 5:1). De acordo com Calvo et al. (1997), as ligações inter e intra moleculares entre o STTP e os grupos amino carregados positivamente da quitosana são responsáveis pela eficácia do processo de gelificação iônica. A formação de nanopartículas é possível apenas para algumas concentrações específicas de quitosana e STTP, e o tamanho das partículas é dependente da proporção quitosana:STTP. Desta forma, a concentração final de quitosana pode ser de até 4 mg mL⁻¹, enquanto que a concentração máxima de STTP é de apenas 0,75 mg mL⁻¹.

Khalil et al. (2012) avaliaram o efeito de diferentes razões de quitosana e STTP (1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 5:1 e 6:1) sobre as dimensões das nanopartículas. Verificaram que as nanopartículas formadas nas proporções 1:1, 2:1, 4:1, 5:1 e 6:1 apresentam morfologia predominantemente esférica e aglomerada. Já na proporção 3:1, as partículas mostraram-se espalhadas e distintamente esféricas. Em referência à dimensão, foi observado diminuição do tamanho de partícula com o aumento da proporção quitosana:STTP, o que pode estar correlacionado com a diminuição da força da ligação iônica de formação. Os diâmetros médios encontrados pelos referidos autores variaram de 13 nm a 35 nm.

Neves et al. (2014) também analisaram o efeito de diferentes razões de quitosana e STTP. Constataram que maiores concentrações iniciais de quitosana e STTP produzem nanopartículas com tamanhos maiores e que a proporção de quitosana:STTP de 3:1 produz partículas estáveis e uniformes (tamanho médio de partícula de 82,5 nm). Resultados semelhantes são relatados por Solval et al. (2014), que observaram uma relação linear entre a concentração inicial de quitosana e o tamanho médio das nanopartículas resultantes. No

entanto, outras variáveis, como a massa molar da quitosana e as condições de mistura, afetam o tamanho e a distribuição de tamanhos das moléculas. A proporção de 3:1 formou as menores partículas (179 – 234 nm), de formato esférico, sem aglomeração e estáveis.

Na Figura 4.7 são apresentados os espectros de FT-IR da quitosana e da nano-quitosana, que foram obtidos para verificação da composição química da nano-quitosana. Os picos de absorção característicos da quitosana (Figura 4.7 A) foram observadas em 3000-3800 cm^{-1} (OH, NH_2), 2876 cm^{-1} (extensão de -CH), 1651 cm^{-1} (banda -CONH amida II), 1588 cm^{-1} (banda -NH amida II), 1323 (banda -NH amida III) e 1151 cm^{-1} (vibração de alongamento C-O). O espectro de FT-IR da nano-quitosana (Figura 4.7 B) mostra o pico de absorção característico de OH e NH_2 a 2905-3254 cm^{-1} . Os picos de absorção característicos de N-H, - CH_3 e o pico de absorção da segunda hidroxila (-OH) aparecem em 1647, 1410 e 1321 cm^{-1} , respectivamente. As bandas de absorção em 1073 cm^{-1} (alongamento assimétrico da ponte C-O-C) são bandas de absorção características de polissacarídeos presentes na estrutura da quitosana.

Comparando os dois espectros (Figura 4.7 A e B), observa-se que para a nano-quitosana há uma mudança da banda 3353 cm^{-1} para 3254 cm^{-1} e ela torna-se menos larga, indicando a redução de ligação de hidrogênio. A diminuição da quantidade de ligações de hidrogênio nos complexos de nanopartículas reticuladas é devido à estrutura mais aberta resultante da reticulação com STTP. Outra alteração que indica a formação de nanopartículas é o desvio das bandas em 1651 e 1588 cm^{-1} para 1647 e 1548 cm^{-1} , que correspondem aos grupos CONH_2 e NH_2 , respectivamente, no espectro da nano-quitosana. O deslocamento destas duas bandas e o aumento da banda de NH_2 são decorrentes da interação iônica entre os grupos amina da quitosana carregados positivamente e os grupos do STTP carregados negativamente. Resultados semelhantes são encontrados na literatura (KOKAC et al., 2012; NEVES et al., 2014; TANG et al., 2007).

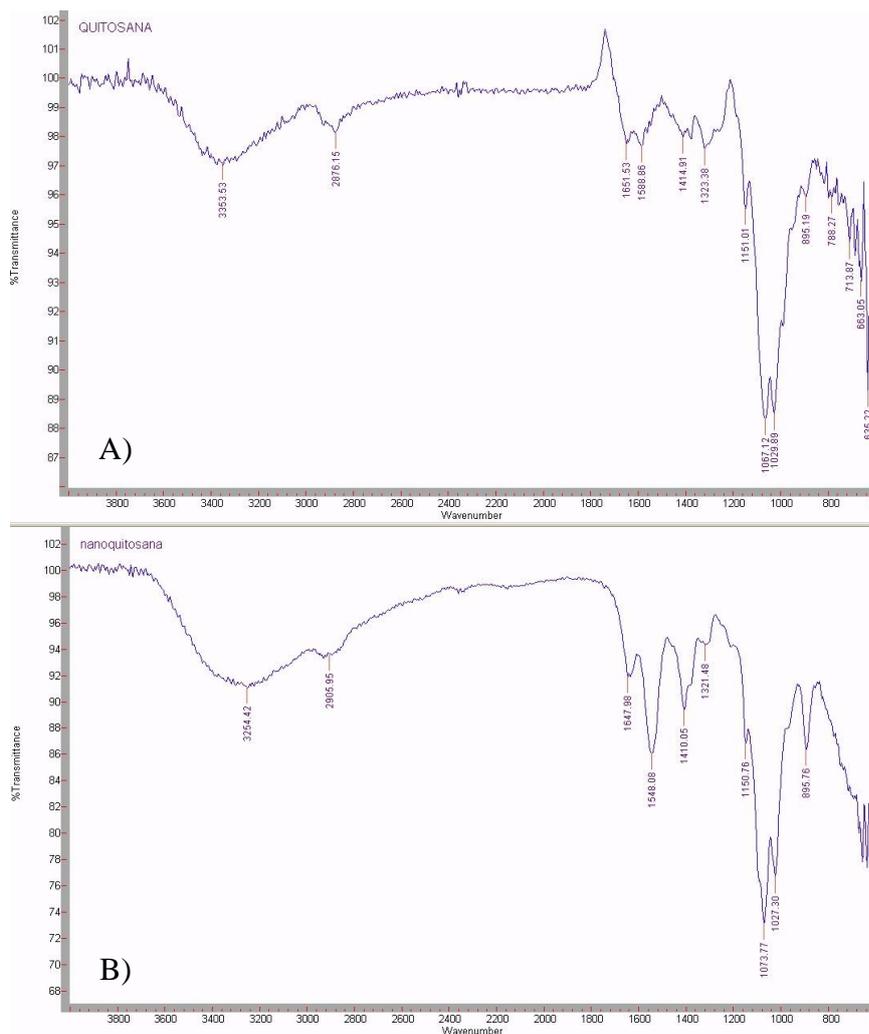


Figura 4.7 Espectros FT-IR (A) quitosana e (B) nano-quitosana.

4.2.4 Tanino

O tanino catiônico (TANFLOC SG) apresenta morfologia disforme (Figura 4.8 A e B), de formato irregular e não aglomerado.

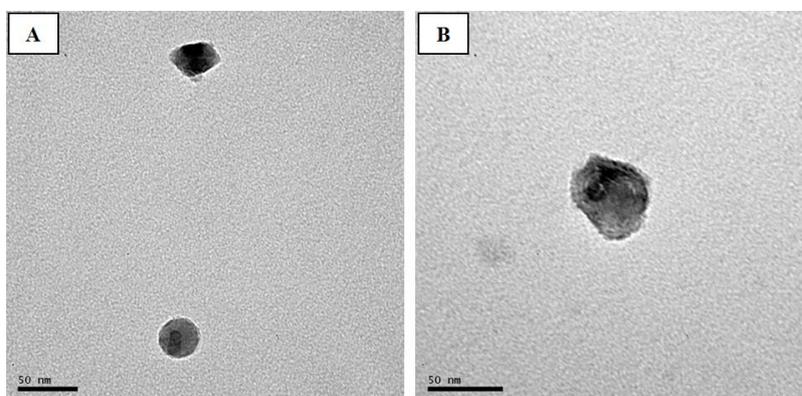


Figura 4.8 Micrografias (MET) do tanino em solução com magnitude de (a) $400.000 \times$ e (b) $500.000 \times$.

A Tabela 4.2 apresenta os resultados da análise granulométrica do tanino catiônico e do tanino sulfitado, onde é possível verificar que o tanino catiônico possui um tamanho de partícula médio de $53,99 \pm 0,08 \mu\text{m}$ enquanto que o do tanino sulfitado é de $57,62 \pm 0,18 \mu\text{m}$.

Tabela 4.2 Análise granulométrica por difração a *laser* do tanino catiônico e do tanino sulfitado.

Amostra	D ₁₀ (μm)	D ₅₀ (μm)	D ₉₀ (μm)	D _{médio} (μm)
Tanino catiônico	$18,43 \pm 0,46$	$53,89 \pm 0,08$	$89,98 \pm 0,28$	$53,99 \pm 0,08$
Tanino sulfitado	$13,08 \pm 0,80$	$55,56 \pm 0,05$	$104,12 \pm 1,50$	$57,62 \pm 0,18$

Devido ao pequeno tamanho de partícula, tanto o tanino catiônico quanto o tanino sulfitado apresentam-se como bons agentes coagulantes, uma vez que apresentam grande área superficial. Não foi possível a realização de medidas de ângulo de contato, uma vez que as soluções de tanino não formaram filme.

4.3 Ensaios de coagulação

As condições ótimas de coagulação para cada coagulante analisado foram determinadas, bem como os efeitos no teor de carotenoides e lipídeos totais. Os resultados são apresentados a seguir.

4.3.1 Amido catiônico

O gráfico da Figura 4.9 mostra os percentuais de recuperação obtidos durante os ensaios de coagulação das microalgas, onde se variou as concentrações de amido catiônico de 10 mg L^{-1} a 150 mg L^{-1} , com uma concentração inicial de biomassa de $1,69 \pm 0,17 \text{ g L}^{-1}$.

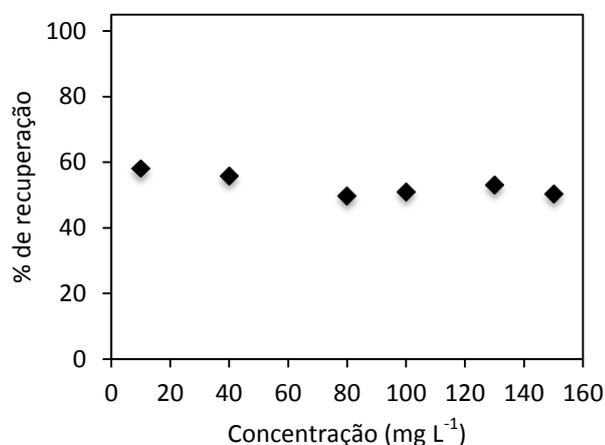


Figura 4.9 Efeito da dosagem de amido catiônico sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou as concentrações de amido catiônico de 10 mg L^{-1} a 150 mg L^{-1} , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,69 \pm 0,17 \text{ g L}^{-1}$.

Como pode ser observado, a recuperação obtida para cada concentração avaliada foi semelhante e próxima a 50 %, indicando que o coagulante não foi eficaz na concentração da biomassa algal, uma vez que a recuperação obtida foi decorrente do processo natural de decantação. Além disso, a análise estatística mostrou que o aumento na dosagem de coagulante não afeta o percentual de recuperação ($p > 0,05$).

Nas Figuras 4.10 A e 4.10 B estão apresentadas fotografias do resultado do teste de jarros para o processo de coagulação da suspensão de microalgas utilizando amido catiônico como agente coagulante. Visualmente percebe-se que não houve clarificação da amostra nem formação de aglomerados, mesmo quando altas concentrações de coagulante foram adicionadas. Frente a estes resultados, para este coagulante não foram determinadas as condições ótimas de operação nem foram realizadas análises de ângulo de contato e da interferência do processo no teor de carotenoides e lipídeos totais.

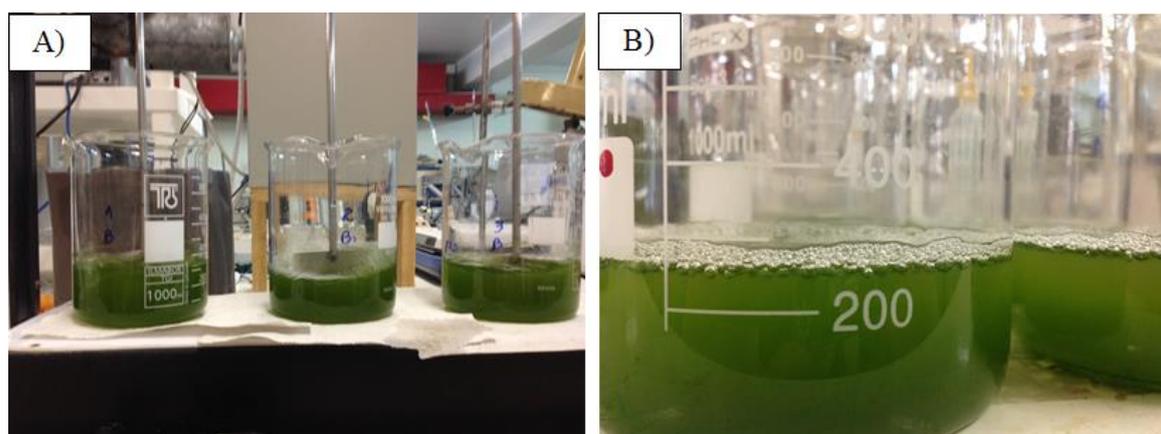


Figura 4.10 Cultura de microalgas coaguladas com amido catiônico (A) durante agitação e (B) após 60 min de sedimentação, nas concentrações de amido catiônico de 10 mg L^{-1} a 150 mg L^{-1} , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,69 \pm 0,17 \text{ g L}^{-1}$.

4.3.2 Quitosana

O efeito da dosagem de quitosana na recuperação da biomassa algal é exibido na Figura 4.11, onde as concentrações variam de 10 a 150 mg L^{-1} , com uma concentração inicial de biomassa de $1,24 \pm 0,42 \text{ g L}^{-1}$. Elevados valores de recuperação foram obtidos, mesmo em baixas concentrações de quitosana. A máxima recuperação ($88,5 \pm 1,2 \%$) foi obtida na concentração de 150 mg L^{-1} e a mínima ($76,7 \pm 3,5 \%$) a 10 mg L^{-1} .

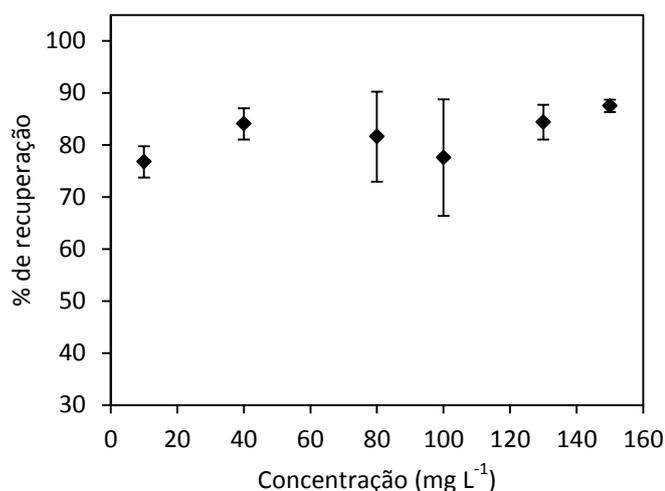


Figura 4.11 Efeito da dosagem de quitosana sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou a concentração de quitosana de 10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹, com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,24 ± 0,42 g L⁻¹.

Os mecanismos mais prováveis envolvidos no processo de coagulação com quitosana são a adsorção e a formação de ponte. Devido a sua alta massa molar e elevada densidade de carga catiônica (grupos funcionais amino carregados positivamente – NH₃⁺ e NH₂⁺), a quitosana tem tendência a adsorver micro-organismos carregados negativamente, incluindo microalgas. Em soluções ácidas (a quitosana foi preparada em solução de ácido acético 2 %), há um aumento no número de grupos amina protonados. Devido à rápida adsorção originária de sua elevada carga positiva, apresenta forte capacidade de neutralização de carga. A quitosana, carregada positivamente, é fortemente adsorvida sobre as microalgas, que são carregadas negativamente, resultando em um acúmulo de cargas na superfície das células algais. Esta característica promove a coagulação por neutralização das cargas depositadas sobre a superfície das células algais, levando ao enfraquecimento da repulsão eletrostática entre as mesmas. Este fenômeno é conhecido como neutralização de cargas e está associado à redução da mobilidade eletroforética global. Em baixas concentrações, a quitosana adsorve apenas em uma pequena área da célula algal, e a superfície livre de coagulante se une a outra célula, formando uma cadeia cuja estrutura é denominada ponte. Em concentrações elevadas, as células são praticamente cobertas pelo biopolímero, gerando uma carga líquida positiva. Esta carga líquida positiva também se liga a outras células algais, formando aglomerados (AHMAD et al., 2011; BEACH et al., 2012; RASHID et al., 2013b).

Foi verificado que o percentual de recuperação tende a aumentar com o aumento da dosagem. Em baixas doses de coagulante, as células de microalgas ocupam todos os locais de

ligação disponíveis na quitosana, formando assim aglomerados fortes e estáveis devido à elevada atração eletrostática e mínima repulsão. A concentração de 40 mg L^{-1} resultou em uma recuperação de $84 \pm 4,8 \%$, o que pode ser considerada uma boa percentagem de recuperação e muito próxima da recuperação máxima obtida.

Através da análise estatística, constatou-se que o aumento da dosagem de coagulante não afeta o percentual de recuperação ($p > 0,05$) e que todos os valores são estatisticamente iguais. Em contrapartida, na concentração de 10 mg L^{-1} não foi observada a formação de flocos.

Para melhor definição da dosagem ótima da quitosana, variou-se a concentração de 30 a 55 mg L^{-1} ; os resultados estão apresentados na Figura 4.12. A maior recuperação alcançada foi de $76,6 \pm 18,2 \%$ a 30 mg L^{-1} , onde houve a rápida formação de aglomerados compactos, sendo esta considerada a dosagem ótima. A análise estatística dos dados corrobora a escolha da dosagem ($p > 0,05$), uma vez que o aumento da dosagem de coagulante, na faixa analisada, não afeta o percentual de recuperação. Cheng et al. (2011) demonstraram que o meio de cultivo tem um efeito negativo sobre a coagulação, que pode ser ocasionado pela interferência de sais ou outras moléculas presentes no meio. Além disso, compostos biológicos, como substâncias poliméricas extracelulares (EPS), também podem afetar as interações inter e intra moleculares da quitosana e interações entre a quitosana e as células de microalgas. Estes fatores devem ser considerados durante a abordagem de processos de concentração da biomassa algal por coagulação.

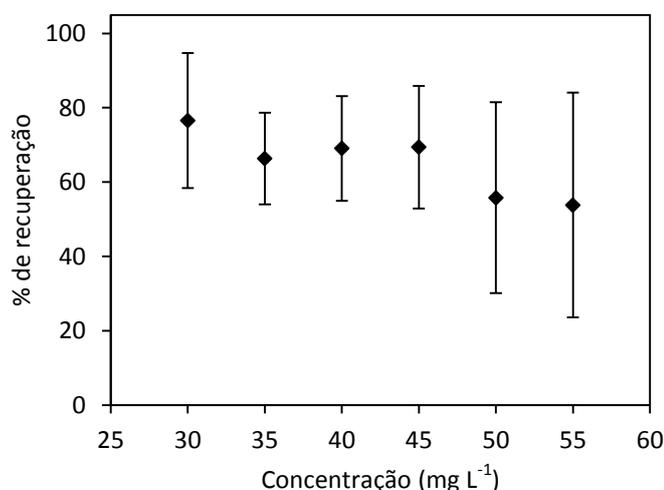


Figura 4.12 Efeito da dosagem de quitosana sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou a concentração de quitosana de 30 mg L^{-1} a 55 mg L^{-1} , com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,24 \pm 0,42 \text{ g L}^{-1}$.

Na literatura é encontrada uma variedade de estudos de concentração de biomassa algal por coagulação com quitosana: Ahmad et al. (2011) alcançaram uma recuperação de 99,3 % a 10 mg L⁻¹ de quitosana (GD 90 %) durante a coagulação da microalga *Chlorella* sp. Beach et al. (2012) atingiram a 100 mg L⁻¹ de quitosana, uma recuperação de 95% da microalga *Neochloris oleoabundans*. Rashid et al. (2013b) concentraram microalgas *Chlorella vulgaris* com quitosana e obtiveram a maior recuperação (92 ± 0,4 %) a 120 mg L⁻¹. Pei et al. (2014) atingiram recuperação máxima de 95,8 % e mínima de 29,2 % durante a coagulação da microalga *Microcystis aeruginosa*.

A eficiência da recuperação também é dependente do pH. Na Figura 4.13 está apresentado o percentual de recuperação de microalgas para uma faixa estreita de pH (6 a 9) quando foi utilizada solução de quitosana na concentração de 30 mg L⁻¹; observa-se que a maior recuperação obtida foi de 88,3 ± 4,3 % a pH 7,0 e a menor foi de 45,7 ± 5,2 % a pH 8,5.

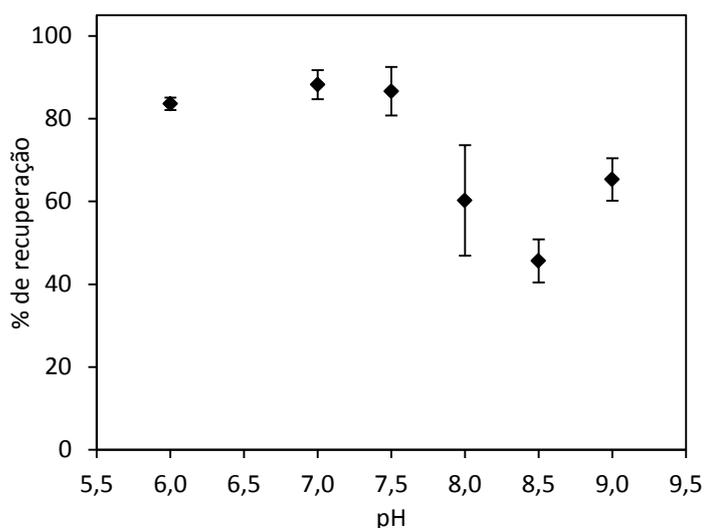


Figura 4.13 Efeito do pH sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com quitosana, onde se variou o pH de 6,0 a 9,0, com concentração de quitosana de 30 mg L⁻¹, 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,24 ± 0,42 g L⁻¹.

O efeito do pH pode ser explicado pelas propriedades físicas da quitosana e pelas interações físico-químicas entre a quitosana e as células algais. A alteração do pH afeta a estrutura do coagulante e das substâncias presentes na suspensão. A carga superficial das microalgas (altamente negativa a pH básico) e da quitosana (altamente positiva a pH ácido) variam com o pH, o que afeta as interações entre as partículas. Em pH neutro, a quitosana apresenta estrutura enrolada, o que aumenta a superfície de adsorção e consequentemente, melhora a interação das partículas e aumenta a eficiência da coagulação. Em pH muito

elevado (maiores do que 8,0), as células algais tendem a precipitar com os íons presentes no meio, a estrutura da quitosana é relativamente linear e encontra-se dispersa na suspensão, o que reduz consideravelmente a recuperação. Em pH ácido (menor do que 5,0), há a formação de grandes aglomerados devido à elevada carga positiva, aumentando a eficiência do processo. Nesta condição as partículas de quitosana estão altamente protonadas, ocasionando repulsão entre si, diminuindo as interações entre as partículas. Estudos anteriores apontam que a autofloculação é desencadeada por meio da elevação do pH acima de 8,5 ou pela redução do pH abaixo de 3,5 (CHENG et al., 2011; SUKENIK & SHELEF, 1984). Desta forma, a formação de aglomerados a pHs muito baixos ou muito altos é decorrente da autofloculação, não da ação do coagulante. Em pHs baixos (menor que 7,0 e maior que 5,0), as microalgas tendem a se agregar devido à baixa carga de superfície celular. Em pH 7,0, a carga líquida positiva da quitosana diminui, permitindo uma maior interação entre as moléculas de quitosana (RASHID et al., 2013b). Resultados diversos são encontrados: para a coagulação da *Chlorella variabilis*, Cheng et al. (2011), definiram o pH de 8,5 como pH ótimo. Granados et al. (2012), encontraram o pH 8,0 como ideal para a coagulação de diferentes espécies de microalgas. Beach et al. (2012), para a concentração da microalga *Neochloris oleoabundans*, utilizaram pH 7,0.

Após teste de Tukey (vide apêndice A), averiguou-se que as recuperações encontradas em pH 6,0, 7,0 e 7,5 são estatisticamente iguais. De forma a reduzir o volume de reagentes utilizados para o ajuste de pH, o pH 7,5 foi selecionado como sendo o mais adequado para o processo de coagulação utilizando quitosana.

O resultado da variação do tempo de mistura sobre a recuperação é demonstrado na Figura 4.14. A análise dos dados mostra que a quitosana necessita de um tempo de mistura de pelo menos 40 min para atingir o valor máximo de recuperação das células algais ($94,0 \pm 0,2$ %). A recuperação aumenta com o tempo de contato, atingindo o valor máximo em 40 min. Este comportamento demonstra que a coagulação é um processo lento, uma vez que a suspensão de microalgas é uma mistura complexa com muitos interferentes e a atração eletrostática é influenciada pela presença dos sais e outras substâncias. Em tempos de mistura superiores a 40 min, a recuperação manteve-se no valor máximo, sofrendo pequenas variações (inferior a 5 %). Através do teste de Tukey (vide apêndice A), verificou-se que os tempos de mistura de 40 min a 120 min são estatisticamente iguais. Desta forma, para reduzir o consumo

energético, o tempo de 40 min foi selecionado como sendo o mais adequado para este processo.

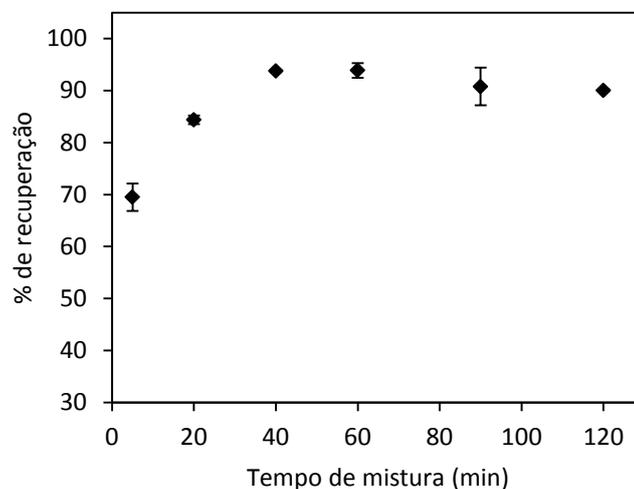


Figura 4.14 Efeito do tempo de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com quitosana, onde se variou o tempo de mistura de 5 min a 120 min, com concentração de quitosana de 30 mg L^{-1} , pH 7,5, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,24 \pm 0,42 \text{ g L}^{-1}$.

Vale ressaltar que os aglomerados formados pela agregação com quitosana permaneceram intactos mesmo após longos períodos de mistura, o que demonstra que a quitosana não apenas adsorve na superfície celular, mas também forma ligações fortes, formando aglomerados compactos. Resultados diferentes foram encontrados na utilização de alumínio e PACl para coagulação de suspensão de argila (KAN et al., 2002). Neste caso, os aglomerados formados foram facilmente desestabilizados e dispersos na amostra conforme o prolongamento do tempo de mistura e, devido à agitação intensa, a recuperação do processo diminuiu.

A velocidade também afeta a recuperação do processo de coagulação por quitosana, sendo o resultado ilustrado na Figura 4.15. Na menor velocidade de mistura (30 rpm), durante 40 min, com dosagem de quitosana de 30 mg L^{-1} e pH 7,5, obteve-se uma recuperação de $98,4 \pm 0,3 \%$. Essa velocidade é suficiente para que todas as partículas de quitosana sejam adsorvidas pelas microalgas. Conforme a velocidade aumenta, a percentagem de recuperação diminuiu consideravelmente (mais de 10 pontos percentuais), este comportamento é causado pela estabilização das células. Além disso, altas velocidades tendem a danificar os aglomerados, fazendo com que as células coaguladas sejam dispersas e reintroduzidas no meio. Através da análise estatística dos dados ($p \leq 0,05$), este resultado foi comprovado.

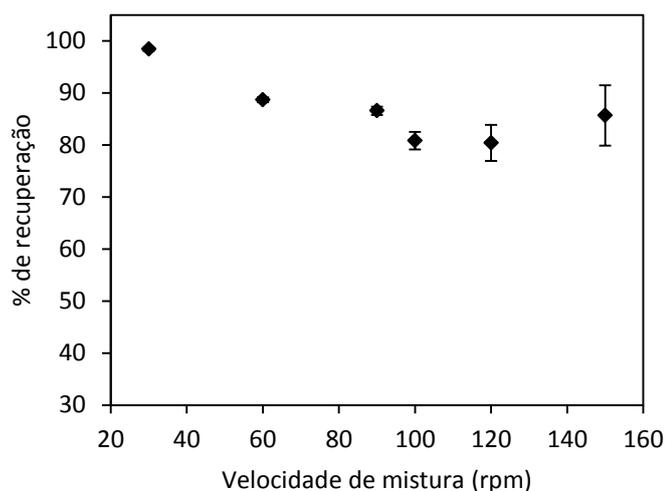


Figura 4.15 Efeito da velocidade de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com quitosana, onde se variou a velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm, com concentração de quitosana de 30 mg L^{-1} , pH 7,5, 40 min de mistura, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,24 \pm 0,42 \text{ g L}^{-1}$.

Resultados semelhantes são encontrados no estudo realizado por Ahmad et al. (2011), porém, Rashid et al. (2013a) relataram o contrário, com maior recuperação obtida na maior velocidade de mistura. Esses autores concluíram que a alta velocidade de mistura (300 rpm) permitiu uma mistura mais rápida e uniforme entre as células de algas carregadas negativamente e as partículas de quitosana protonadas. Em contrapartida, baixas velocidades de mistura não distribuem uniformemente o coagulante, reduzindo assim a recuperação e formando aglomerados fracos, que facilmente se estabilizam.

Durante o processo de coagulação, alguns autores recomendam a utilização de agitação rápida seguida por mistura lenta. Pei et al (2014) demonstraram os efeitos do tempo de agitação rápida e o tempo de agitação lenta sobre a eficiência da recuperação. Os autores observaram que durante a variação da agitação lenta, não houve alterações significativas no percentual de recuperação, o que mostra que este parâmetro não possui efeito considerável sobre o processo. Porém, modificações no tempo e na velocidade de agitação rápida provocam alterações. Kan et al. (2002) avaliaram o tempo e a velocidade de mistura rápida e apontaram que o tempo de mistura rápida afeta a estabilização dos aglomerados e a velocidade de mistura tem um impacto expressivo no tamanho dos aglomerados e na velocidade de sedimentação.

Na Figura 4.16 está apresentada a relação da recuperação em função do tempo de sedimentação, nas condições ótimas pré-estabelecidas.

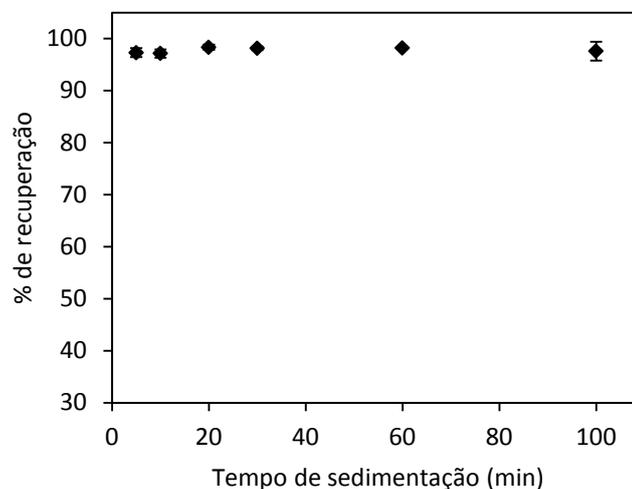


Figura 4.16 Efeito do tempo de sedimentação sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com quitosana, onde se variou o tempo de sedimentação de 5 min a 100 min, com concentração de quitosana de 30 mg L^{-1} , pH 7,5, 40 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de $1,24 \pm 0,42 \text{ g L}^{-1}$.

Recuperações próximas a 98 % são alcançadas em todo o intervalo de tempo de sedimentação analisado, resultado que foi comprovado através de análise estatística dos dados ($p > 0,05$). Este resultado é dependente da escala e consequentemente da altura de suspensão, que neste trabalho foi de apenas 3,5 cm; em outras alturas de sedimentação, o efeito do tempo de sedimentação pode ser diferente. Na maioria das vezes, o tempo de sedimentação é dependente do tamanho dos aglomerados. Quando há formação de aglomerados mais rapidamente, o percentual de recuperação é maior (AHMAD et al., 2011). Como discutido anteriormente, a quitosana promove uma rápida agregação das células através da formação de pontes entre as células, o que permite a formação de partículas com tamanho suficiente para sedimentar rapidamente, visto que a sedimentação ocorre devido à ação da gravidade. Segundo Luna-Finkler & Finkler (2008), quando uma suspensão de sólidos é submetida ao processo de sedimentação, a força motriz do processo é a força gravitacional e ela atua sob diferentes formas, dependendo da concentração da suspensão. Em baixas concentrações, cada partícula move-se separadamente, sendo o movimento exclusivamente decorrente da força gravitacional. No entanto, em altas concentrações, a velocidade é influenciada pela interação entre as partículas e a medida que as partículas vão sedimentando, há o arraste das que estão

abaixo, o que ocasiona um aumento do peso das partículas, intensificando desta forma a força gravitacional. O mesmo efeito da concentração pode ser observado em função da altura.

A micrografia apresentada na Figura 4.17 B foi realizada nas condições ótimas de coagulação, antes do processo de sedimentação. A finalidade foi avaliar a formação e o tamanho dos aglomerados para posterior filtração por membranas (OD). Em comparação com microalga *in natura* apresentada na Figura 4.17 A, é possível visualizar a aglomeração das células algais, o que comprova que a quitosana promove a coagulação das microalgas. As células se unem umas às outras, apresentando um padrão de aproximadamente três células. Através da micrografia foi possível visualizar que as células se mantiveram íntegras, sem rompimento da parede celular e com coloração esverdeada, comprovando a viabilidade das mesmas.

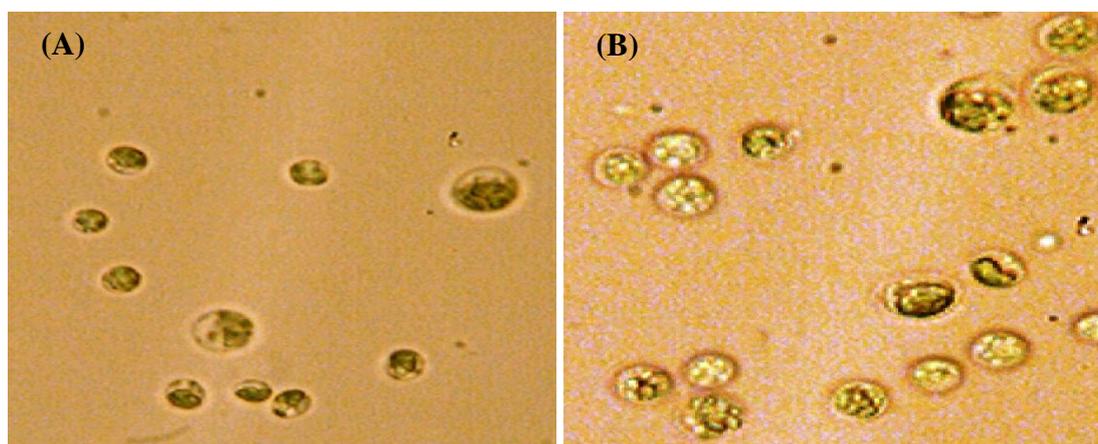


Figura 4.17 Micrografia ótica com aumento de 40x da microalga *Chlorella* sp. (A) microalga *in natura* e (B) microalga coagulada com quitosana, com concentração de quitosana de 30 mg L^{-1} , pH 7,5, 40 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de $1,24 \pm 0,42 \text{ g L}^{-1}$.

A quitosana não alterou o teor de carotenoides, porém causou uma redução no teor de lipídeos. Os resultados para a análise de carotenoides totais da microalga coagulada com quitosana, em comparação com a microalga *in natura* estão mostrados na Tabela 4.3.

Tabela 4.3 Teor de clorofila a (C_a), de clorofila b (C_b) e de carotenoides totais (C_{x+c}) da microalga *in natura* e da microalga coagulada com quitosana.

	$C_{\text{inicial biomassa}} \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	$C_a \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$	$C_b \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$	$C_{x+c} \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$
Microalga <i>in natura</i>	$1,88 \pm 0,02$	$11,00 \pm 0,03$	$7,03 \pm 0,12$	$5,69 \pm 0,05$
Microalga coagulada com quitosana	$1,80 \pm 0,06$	$10,79 \pm 0,60$	$7,07 \pm 0,46$	$5,47 \pm 0,28$
p (estatisticamente iguais se $> 0,05$)	-	0,59	0,90	0,26

onde $C_{\text{inicial biomassa}}$ é a concentração inicial de biomassa e C_a , C_b e C_{x+c} são as concentrações de clorofila a, clorofila b e carotenoides em mg L^{-1} , respectivamente.

Para o teor de lipídeos totais da microalga coagulada com quitosana, em comparação com a microalga *in natura*, houve redução, conforme dados apresentados na Tabela 4.4.

Tabela 4.4 Teor de lipídeos totais na suspensão de microalga *in natura* e da suspensão coagulada com quitosana.

	$C_{\text{inicial biomassa}} \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	Lipídeos (%)
Microalga <i>in natura</i>	$1,88 \pm 0,05$	$19,65 \pm 2,70$
Microalga coagulada com quitosana	$1,80 \pm 0,06$	$15,17 \pm 0,21$
p (estatisticamente iguais se $> 0,05$)	-	0,04

Deve-se considerar, na análise de lipídeos da biomassa coagulada, a contribuição do coagulante durante a pesagem da biomassa liofilizada. Como a concentração ideal da quitosana foi estabelecida como sendo 30 mg L^{-1} e, levando em conta que todo coagulante esteja presente na biomassa (desconsiderando quantidades de coagulante no sobrenadante), em $1,0 \text{ g}$ de biomassa liofilizada pesada (concentração inicial de biomassa de aproximadamente $1,80 \text{ g L}^{-1}$), o coagulante corresponde a $1,67 \%$ de massa pesada. Considerando a contribuição da massa de coagulante, o teor de lipídeos da microalga coagulada com quitosana é de $15,42 \pm 0,21 \%$ e, comparando com o teor de lipídeos da microalga *in natura* ($p = 0,05$), ainda são encontradas diferenças.

4.3.3 Nano-quitosana

Em decorrência da nano-quitosana ser uma modificação da quitosana, o processo de coagulação apresenta grande similaridade. Os mecanismos da coagulação podem ser considerados os mesmos (adsorção e formação de ponte) e o comportamento do coagulante frente às variáveis testadas é análogo. A modificação acarreta uma diminuição do tamanho de partícula, aumentando assim a superfície de contato e, por consequência, eleva a capacidade de adsorção do coagulante.

A relação entre a dosagem de nano-quitosana e a recuperação da biomassa algal é evidenciada pelos resultados apresentados na Figura 4.18, onde as concentrações de coagulante variaram de 10 a 150 mg L^{-1} , com uma concentração inicial de biomassa de $1,35 \pm 0,36 \text{ g L}^{-1}$. Na concentração de 40 mg L^{-1} a recuperação foi de $96,3 \pm 4,5 \%$, sendo este o valor máximo obtido ($p \leq 0,05$). A menor recuperação foi de $65,7 \pm 11,6 \%$ a 10 mg L^{-1} .

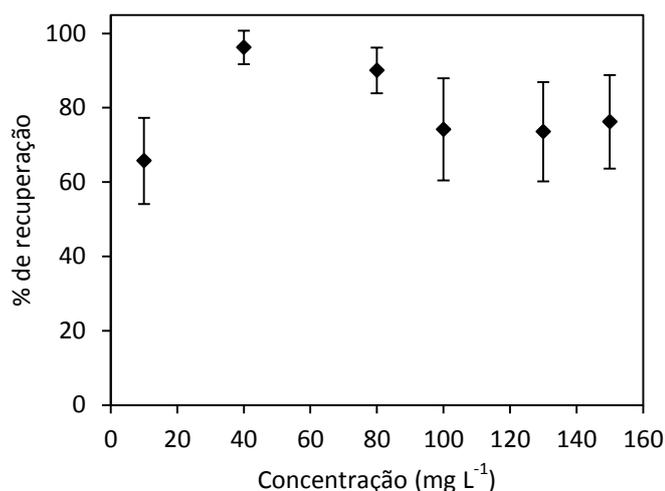


Figura 4.18 Efeito da dosagem de nano-quitossana sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou concentração de nano-quitossana de 10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹, com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L⁻¹.

Na Figura 4.19 estão apresentados os resultados para uma faixa menor de concentração de coagulante, variando de 20 mg L⁻¹ a 50 mg L⁻¹.

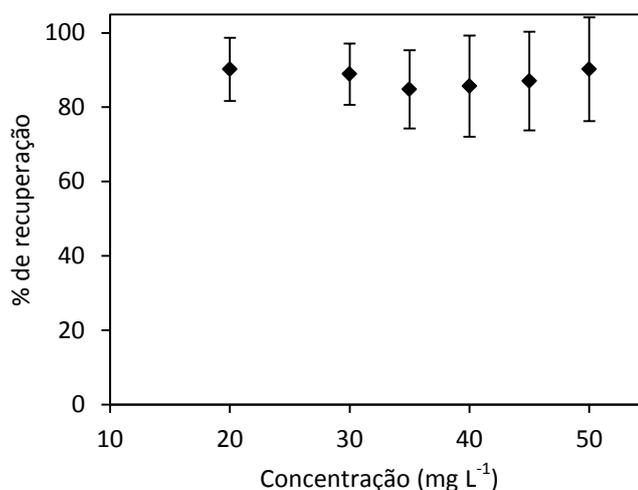


Figura 4.19 Efeito da dosagem de nano-quitossana sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou concentração de nano-quitossana de 20 mg L⁻¹ a 50 mg L⁻¹, com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L⁻¹.

Nessas concentrações, a maior recuperação alcançada foi de 90,2 ± 8,5 % na concentração de 20 mg L⁻¹. Através da análise estatística, o aumento da dosagem de coagulante não afeta o percentual de recuperação ($p > 0,05$), desta forma, a concentração de 20 mg L⁻¹ foi definida como a melhor, objetivando o menor consumo de coagulante. Em comparação com a quitossana (recuperação de 76,6 ± 18,2 % a 30 mg L⁻¹), a nano-quitossana obteve maior recuperação com uma menor concentração, confirmando a hipótese inicial de

que a nano-quitosana apresenta maior área disponível para uma mesma massa. Em virtude de sua maior área de contato superficial, apresenta maior capacidade de transferência de massa, o que facilita o processo difusivo de adsorção, resultando na formação de aglomerados compactos e uma rápida sedimentação. Além disso, a estrutura da nano-quitosana possui ligações iônicas cruzadas com o STTP, o que gera uma grande rede de polímeros, aumentando a capacidade de formação de pontes, reduzindo desta forma a dosagem ótima do coagulante (FARID et al., 2013).

Variações na recuperação para diferentes valores de pH são mostrados na Figura 4.20. Altas recuperações são obtidas em pH neutro e pouco alcalino, porém há uma queda acentuada quando o pH é superior a 8,0. O efeito do pH sobre a recuperação pode ser explicado pelas diferenças na protonação dos grupos amina e pelas alterações da estrutura molecular do biopolímero. Através do teste de Tukey (vide Apêndice A), verificou-se que os pH 6,0, 7,0 e 8,0 são estatisticamente iguais. Sendo assim, a fim de minimizar o consumo de reagentes com o ajuste de pH, o pH 8,0 foi considerado o mais adequado para o processo.

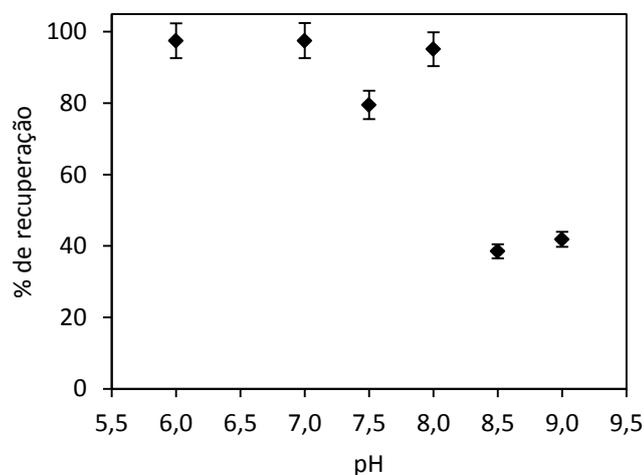


Figura 4.20 Efeito do pH sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com nano-quitosana, onde se variou o pH de 5,0 a 9,0, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L^{-1} , 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,35 \pm 0,36 \text{ g L}^{-1}$.

A Figura 4.21 apresenta a relação da recuperação em função do tempo de mistura, com dosagem de 20 mg L^{-1} de nano-quitosana e pH 8,0. Em apenas 5 min de mistura a nano-quitosana apresenta a mais alta recuperação ($94,4 \pm 0,4 \%$), porém os valores sofrem uma pequena queda (inferior a 10 pontos percentuais) no decorrer do tempo. Uma explicação para este fenômeno é a estabilização dos aglomerados formados e dispersão das células algais na amostra em tempos de mistura mais elevados (de 20 a 120 min), o que reduz a recuperação do

processo. Apesar de ser um coagulante eficaz (baixa dosagem ótima, rápida formação de aglomerados e elevada recuperação), os aglomerados formados durante o processo são menores e mais frágeis. Pela análise estatística dos dados, verificou-se que o aumento do tempo de mistura não afeta o percentual de recuperação ($p > 0,05$). Desta forma, para reduzir o consumo energético, o tempo de 5 min foi selecionado para execução dos demais experimentos.

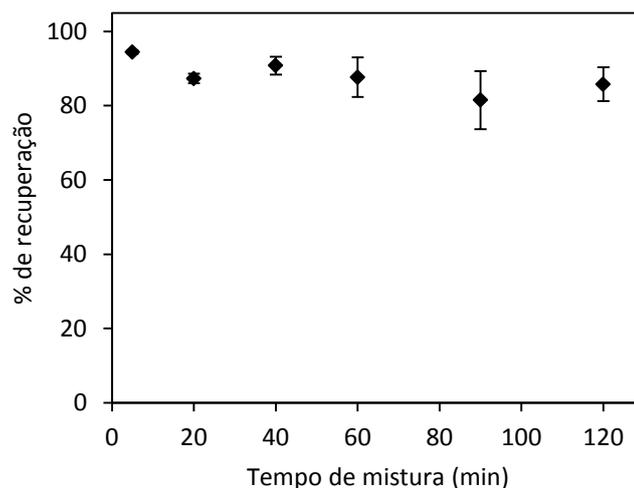


Figura 4.21 Efeito do tempo de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com nano-quitosana, onde se variou o tempo de mistura de 5 min a 120 min, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L^{-1} , pH 8,0, velocidade de mistura de 100 rpm, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,35 \pm 0,36 \text{ g L}^{-1}$.

Na Figura 4.22 estão apresentados os resultados de recuperação como uma função da velocidade de mistura.

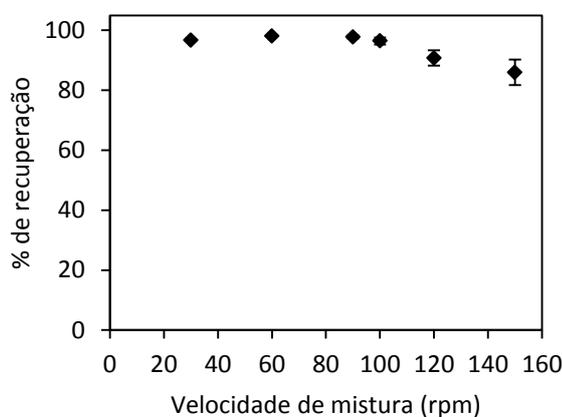


Figura 4.22 Efeito da velocidade de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com nano-quitosana, onde se variou a velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L^{-1} , pH 8,0, 5 min de mistura, 60 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de $1,35 \pm 0,36 \text{ g L}^{-1}$.

Observa-se que a velocidade de mistura também afeta a recuperação, porém de forma mais amena. A maior recuperação foi de $97 \pm 0,1$ % nas seguintes condições: velocidade de 30 rpm, dosagem de nano-quitosana de 20 mg L^{-1} , pH 8,0 e 5 min de mistura. A velocidade de 30 rpm mostrou-se suficiente para que todas as partículas de nano-quitosana fossem adsorvidas. Em velocidades superiores a 100 rpm, há maior desestabilização dos aglomerados devido ao enfraquecimento dos mesmos, o que acarreta a diminuição dos flocos e consequentemente reduz a recuperação. O teste de Tukey (vide Apêndice A) mostrou que as recuperações obtidas entre 30 rpm a 100 rpm são estatisticamente iguais e, com a finalidade de reduzir danos às células algais, a velocidade de 30 rpm foi considerada a mais adequada.

O efeito do tempo de sedimentação sobre a recuperação da biomassa algal é exibido pela Figura 4.23. A recuperação máxima obtida foi de $97,5 \pm 0,6$ % após um tempo de sedimentação de 60 min, nas condições de 20 mg L^{-1} de nano-quitosana, pH 8,0, tempo e velocidade de mistura de 5 min e 30 rpm, respectivamente. O teste de Tukey (vide Apêndice A) demonstrou que os tempos de 5 min a 60 min são estatisticamente iguais, sendo o tempo de 5 min considerado o melhor.

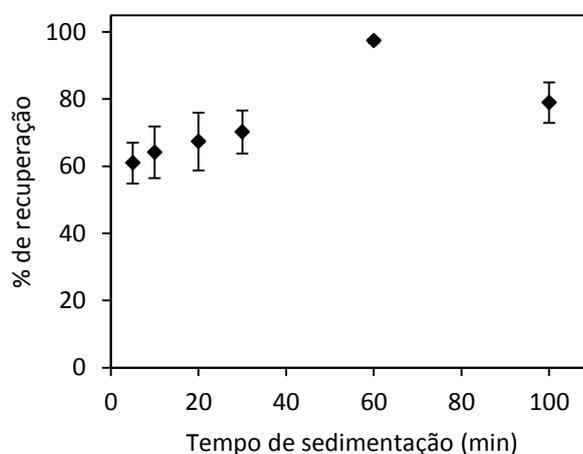


Figura 4.23 Efeito do tempo de sedimentação sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com nano-quitosana, onde se variou o tempo de sedimentação de 5 min a 100 min, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L^{-1} , pH 8,0, 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de $1,35 \pm 0,36 \text{ g L}^{-1}$.

Na Figura 4.24 A está apresentada a micrografia da microalga *in natura* e na B a micrografia da microalga coagulada com nano-quitosana, nas condições ótimas e anteriormente ao processo de sedimentação. A viabilidade das células foi comprovada, uma vez que não houve danos à estrutura celular. Em comparação com a Figura 4.17 B (microalga

coagulada com quitosana), as células algais se aglomeram em cadeias quase lineares, diferentemente das coaguladas com quitosana, onde as células se aglomeraram em grupos.

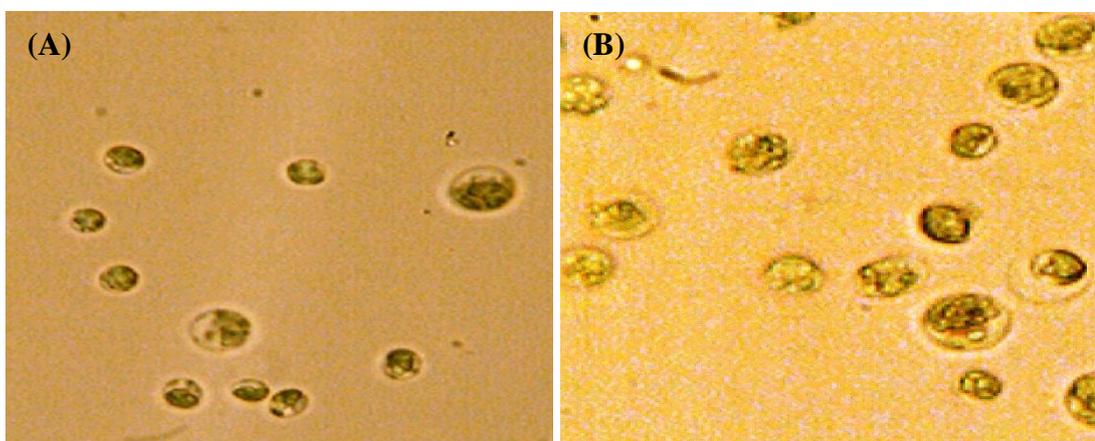


Figura 4.24 Micrografias óticas com magnitude de 40x da microalga *Chlorella* sp. coagulada com nano-quitosana. (A) microalga *in natura* e (B) microalga coagulada com nano-quitosana, com concentração de nano-quitosana de 20 mg L⁻¹, pH 8,0, 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de 1,35 ± 0,36 g L⁻¹.

A nano-quitosana não afetou o teor de carotenoides nem o teor de lipídeos. A análise de carotenoides totais da suspensão de microalgas coagulada com nano-quitosana, em comparação com a suspensão *in natura*, está apresentada na Tabela 4.5. A redução encontrada no teor de clorofila *a* ($p = 0,01$) sugere alguma interação com a nano-quitosana.

Tabela 4.5 Teor de clorofila *a* (C_a), de clorofila *b* (C_b) e de carotenoides totais (C_{x+c}) da microalga *in natura* e da microalga coagulada com nano-quitosana.

	$C_{\text{inicial biomassa}}$ (g L ⁻¹)	C_a (mg L ⁻¹)	C_b (mg L ⁻¹)	C_{x+c} (mg L ⁻¹)
Microalga <i>in natura</i>	1,88 ± 0,02	11,00 ± 0,03	7,03 ± 0,12	5,69 ± 0,05
Microalga coagulada com nano-quitosana	1,84 ± 0,08	10,25 ± 0,29	6,56 ± 0,30	5,63 ± 0,17
p (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,01	0,06	0,64

onde $C_{\text{inicial biomassa}}$ é a concentração inicial de biomassa e C_a , C_b e C_{x+c} são as concentrações de clorofila *a*, clorofila *b* e carotenoides em mg L⁻¹, respectivamente.

Para o teor de lipídeos totais da microalga coagulada com nano-quitosana, em comparação com a microalga *in natura*, os dados estão apresentados na Tabela 4.6.

Tabela 4.6 Teor de lipídeos totais da microalga *in natura* e da microalga coagulada com nano-quitosana.

	$C_{\text{inicial biomassa}} \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	Lipídeos (%)
Microalga <i>in natura</i>	$1,88 \pm 0,05$	$19,65 \pm 2,70$
Microalga coagulada com nano-quitosana	$1,84 \pm 0,08$	$15,15 \pm 5,19$
p (estatisticamente iguais se $> 0,05$)	-	0,25

Avaliando a contribuição da nano-quitosana durante a pesagem da biomassa liofilizada, conclui-se que a nano-quitosana corresponde a 1,09 % da biomassa liofilizada pesada (dosagem de coagulante de 20 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de aproximadamente $1,84 \text{ g L}^{-1}$). O teor de lipídeos da microalga coagulada com quitosana é $15,32 \pm 5,25 \%$, não havendo diferenças quando comparado com o teor de lipídeos da microalga *in natura* ($p = 0,27$).

4.3.4 Tanino

Na Figura 4.25 estão apresentados os resultados obtidos em relação ao efeito da dosagem de diferentes taninos sobre a recuperação de células de microalgas, com a concentração de coagulante variando de 10 a 150 mg L^{-1} . A Figura 4.25 A apresenta os resultados obtidos com extrato de tanino puro (concentração inicial de biomassa algal de $1,31 \pm 0,08 \text{ g L}^{-1}$), onde a recuperação mantém-se praticamente constante e próxima a 35 %, indicando que o coagulante não foi eficaz na concentração da biomassa algal. A recuperação obtida foi decorrente do processo natural de decantação, comportamento semelhante ao obtido com o amido catiônico. Para este coagulante não foram determinadas as condições ótimas de operação nem foram realizadas análises de interferência no teor de carotenoides e lipídeos totais. A análise estatística dos dados demonstrou que o aumento da dosagem do coagulante não afeta o percentual de recuperação ($p > 0,05$).

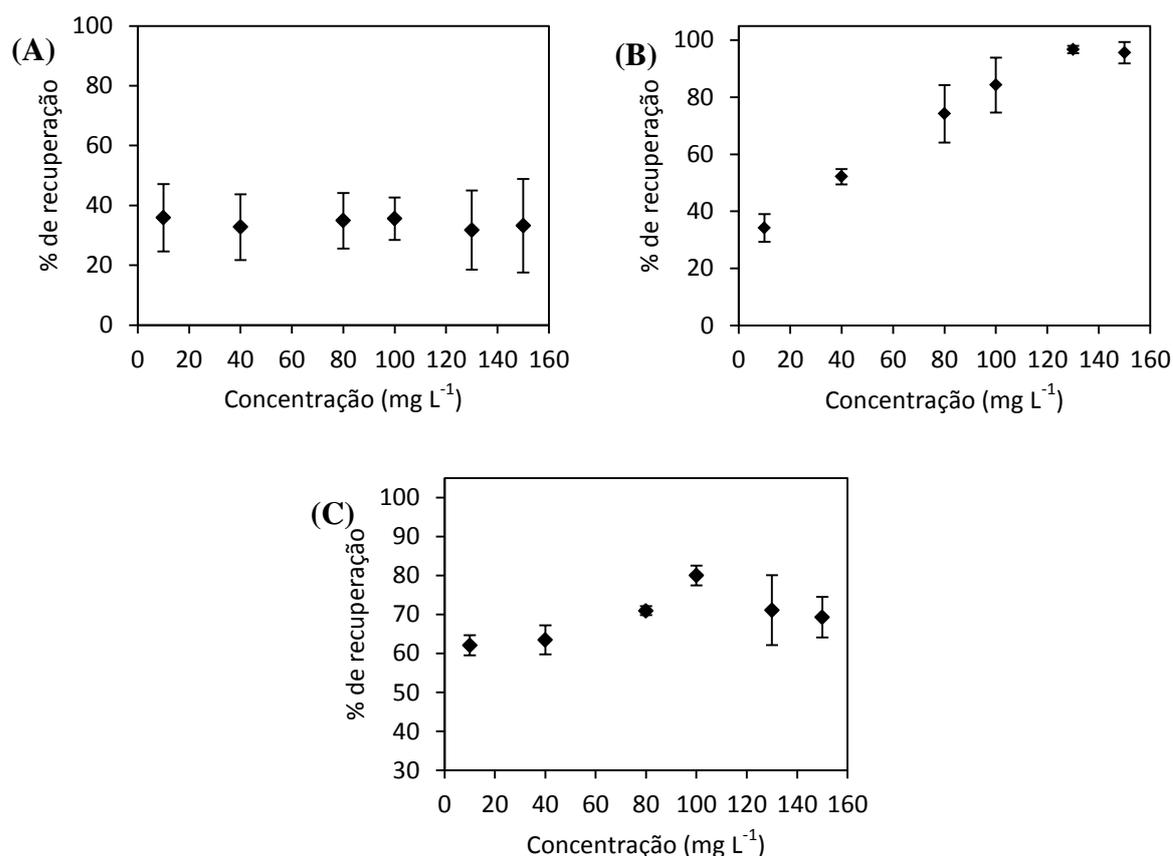


Figura 4.25 Efeito da dosagem de tanino sobre a recuperação de células de microalgas, onde se variou concentração de tanino de 10 a 150 mg L⁻¹, com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm e 60 min de sedimentação. (A) Extrato de tanino puro, com concentração inicial de biomassa de $1,31 \pm 0,08$ g L⁻¹, (B) tanino catiônico, com concentração inicial de biomassa de $1,26 \pm 0,15$ g L⁻¹ e (C) tanino sulfitado, com concentração inicial de biomassa de $2,60 \pm 0,34$ g L⁻¹.

A recuperação atingida pelo tanino catiônico é exibida na Figura 4.25 B (concentração inicial de biomassa algal de $1,26 \pm 0,15$ g L⁻¹). Como pode ser observado, há uma tendência de aumento na recuperação com o acréscimo da dosagem de tanino. A máxima recuperação foi de $96,8 \pm 1,3$ % com uma dosagem de 130 mg L⁻¹ e a mínima foi de $34,2 \pm 4,9$ % com uma dosagem de 10 mg L⁻¹. Uma recuperação quase total foi obtida apenas variando-se a concentração do coagulante, comportamento este que indica que o processo de coagulação é dependente da concentração do coagulante. Através do teste de Tukey (vide Apêndice A), as recuperações obtidas nas concentrações de 100 a 130 mg L⁻¹ são estatisticamente iguais. Apesar de serem estatisticamente iguais, durante os experimentos foi possível verificar que na concentração de 130 mg L⁻¹ houve rápida formação de flocos, o que reduz consideravelmente o tempo de mistura e conseqüentemente o consumo energético. Em função disto, a concentração de 130 mg L⁻¹ foi selecionada como a mais adequada.

Comportamentos semelhantes foram encontrados na literatura. Beltrán-Heredia & Sánchez-Martín (2009) determinaram a dosagem ótima de tanino no tratamento de águas residuais municipais. Verificaram que a recuperação aumenta muito rapidamente com a dosagem de flocculante e uma recuperação de 80 % é conseguida com uma dosagem inferior a 40 mg L^{-1} . A dosagem ótima encontrada pelos autores foi de 100 mg L^{-1} e os resultados foram comparados com dados obtidos da coagulação com alúmen (nas mesmas condições), onde o tanino apresentou uma ligeira melhoria na recuperação. Beltrán-Heredia et al. (2010) estudaram a eficácia do tanino na remoção de corantes em águas residuais. Em relação à dosagem, uma diminuição acentuada foi obtida com o aumento da dosagem do coagulante. Com uma concentração de 100 mg L^{-1} , foi possível a remoção de 80 % de corante, sendo este um valor considerado elevado. Luna-Finkler & Finkler (2008) testaram diferentes coagulantes para a concentração de *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* (Bti); utilizando uma concentração de tanino de 1000 mg L^{-1} atingiram uma recuperação de 100 % dos sólidos presentes no caldo da cultura. Em comparação a outros coagulantes (FeCl_3 , $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$), o tanino apresentou maior eficácia.

Para o tanino sulfitado (Figura 4.25 C), com uma concentração inicial de biomassa algal de $2,60 \pm 0,34 \text{ g L}^{-1}$, é possível visualizar uma tendência de aumento de recuperação com o aumento da dosagem até atingir um pico de recuperação (dosagem de 100 mg L^{-1}), a partir do qual há uma inversão desta tendência. A máxima recuperação foi de $78,0 \pm 2,6 \%$ com uma dosagem de 100 mg L^{-1} e a mínima foi de $62,0 \pm 2,6 \%$ com uma dosagem de 10 mg L^{-1} . Através do teste de Tukey (vide Apêndice A), verificou-se que as recuperações obtidas pelas concentrações 80 mg L^{-1} e 100 mg L^{-1} são estatisticamente iguais.

Os mecanismos mais prováveis envolvidos no processo de coagulação com tanino (tanto o catiônico quanto o sulfitado), assim como com a quitosana e a nano-quitosana, são a adsorção e a neutralização de cargas.

A fim de determinar com maior precisão a melhor dosagem do tanino catiônico e do tanino sulfitado, foram realizados testes com dosagens entre 110 e 135 mg L^{-1} para o tanino catiônico e para o sulfitado entre 80 e 110 mg L^{-1} . Os resultados para tanino catiônico estão apresentados na Figura 4.26 A, onde é possível verificar que a recuperação se manteve praticamente constante e próxima a 95 %, sendo a dosagem de 110 mg L^{-1} considerada adequada. A análise estatística dos dados confirma que o aumento da dosagem de coagulante não afeta o percentual de recuperação ($p > 0,05$). A Figura 4.26 B mostra os resultados do

tanino sulfitado, onde a recuperação exibe comportamento semelhante ao da Figura 4.25 C. A máxima recuperação obtida foi de $71,3 \pm 0,7\%$ a 110 mg L^{-1} , sendo considerada a melhor dosagem. Apesar disto, o teste de Tukey (vide Apêndice A) demonstrou que as dosagens de 80 mg L^{-1} a 110 mg L^{-1} são estatisticamente iguais, logo, a concentração de 80 mg L^{-1} foi selecionada como a mais adequada.

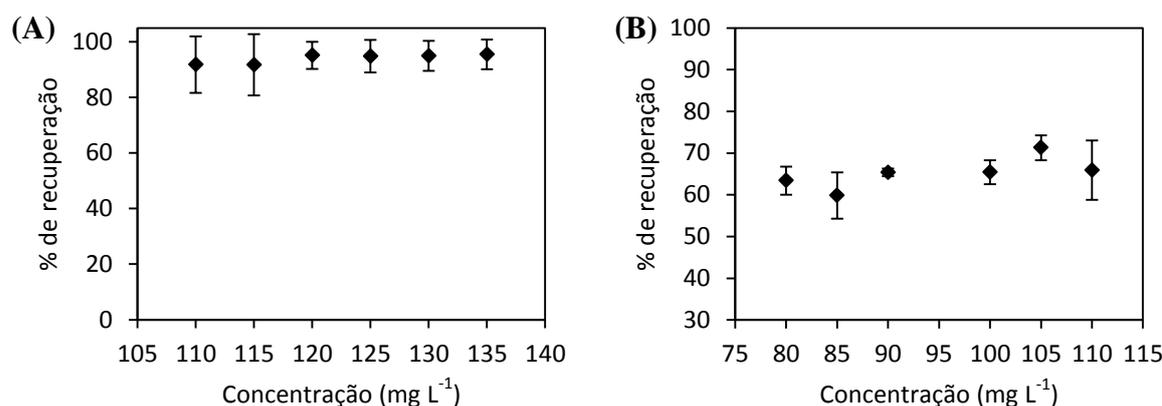


Figura 4.26 Efeito da dosagem de tanino sobre a recuperação de células de microalgas, com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm e 60 min de sedimentação, onde se variou a concentração de (a) tanino catiônico, de 110 mg L^{-1} a 135 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de $1,26 \pm 0,15 \text{ g L}^{-1}$ e (b) tanino sulfitado, de 80 mg L^{-1} a 110 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de $2,60 \pm 0,34 \text{ g L}^{-1}$.

O efeito do pH sobre a recuperação de biomassa algal é mostrado na Figura 4.27. Para o tanino catiônico (Figura 4.27 A), na faixa de pH 6,0 a 8,0 a recuperação se manteve próxima a 97 %.

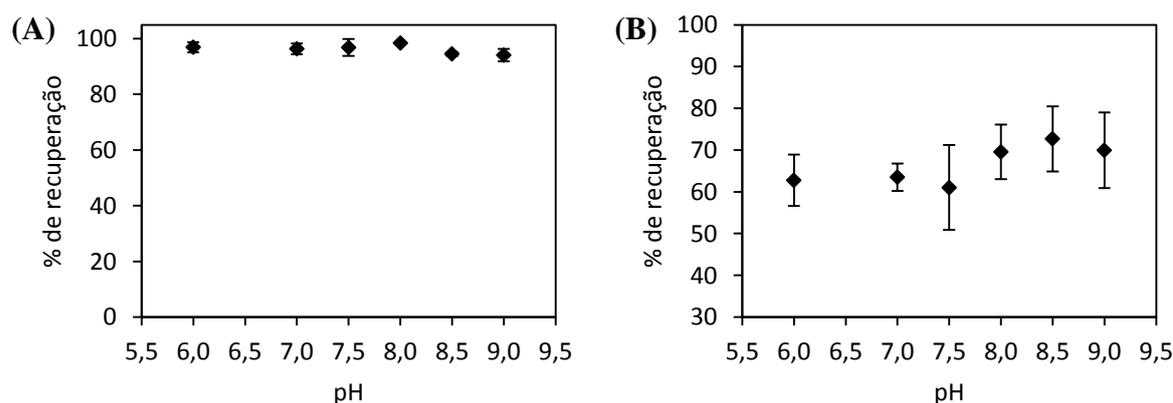


Figura 4.27 Efeito do pH sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com tanino, com 60 min de mistura, velocidade de mistura de 100 rpm e 60 min de sedimentação, onde se variou o pH de 6,0 a 9,0. (A) Tanino catiônico, com concentração de tanino de 110 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de $1,26 \pm 0,15 \text{ g L}^{-1}$ e (B) tanino sulfitado, com concentração de tanino de 80 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de $2,60 \pm 0,34 \text{ g L}^{-1}$.

Em pH 8,0, a recuperação foi máxima e igual a $98,4 \pm 0,1$ %. Para valores de pH maiores do que 8,0, a recuperação foi de aproximadamente 94 %. Apesar das pequenas variações de recuperação, o ajuste de pH não é necessário neste caso, uma vez que o pH das microalgas encontra-se na faixa entre 8,0 e 9,0. Além disso, a variação encontrada foi inferior a 5%, o que confirma que o pH não interfere no processo de coagulação. Através da análise estatística dos dados, verificou-se que as recuperações obtidas nos diferentes pH são estatisticamente iguais ($p > 0,05$), o que corrobora a afirmação de que não é necessário ajuste de pH. A mesma análise pode ser realizada para o tanino sulfitado, cujo resultado está apresentado na Figura 4.27 B. Observa-se que assim como para o tanino catiônico, o pH não interfere no processo de coagulação com tanino sulfitado. Desta forma, o ajuste de pH não é necessário, o que foi confirmado pela análise estatística dos dados ($p > 0,05$).

Em relação ao tempo de mistura, na Figura 4.28 estão apresentados os resultados do efeito desta variável no intervalo de 5 a 120 min sobre a recuperação.

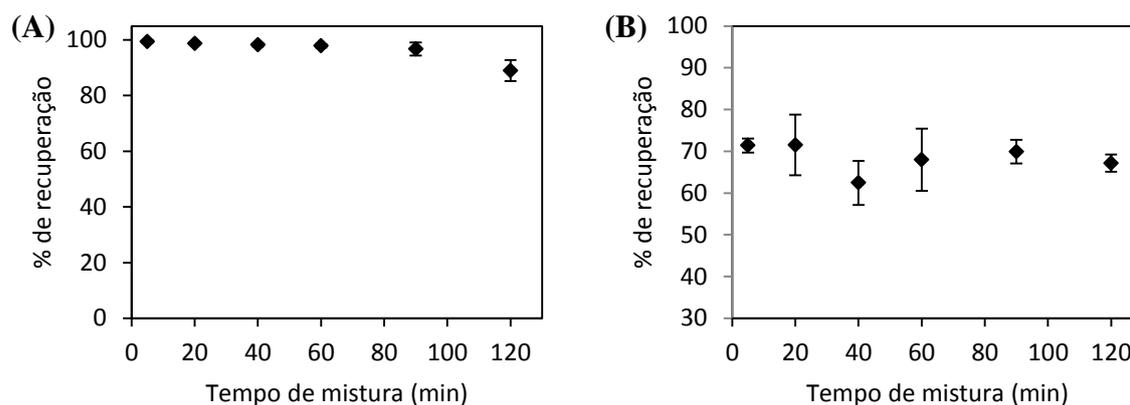


Figura 4.28 Efeito do tempo de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com tanino, com velocidade de mistura de 100 rpm e 60 min de sedimentação, onde se variou o tempo de mistura de 5 min a 120 min. (A) Tanino catiônico, com concentração de tanino de 110 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de $1,26 \pm 0,15 \text{ g L}^{-1}$ e (B) tanino sulfitado, com concentração de tanino de 80 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de $2,60 \pm 0,34 \text{ g L}^{-1}$.

Quanto ao tanino catiônico (Figura 4.28 A), conforme o tempo de agitação aumenta, há uma pequena redução da recuperação. Essa queda é decorrente da estabilização dos aglomerados formados. A recuperação máxima foi de $99,4 \pm 0,5$ %, obtida em apenas 5 min de mistura, e a mínima foi de $89,0 \pm 3,8$ % com 120 min de mistura, nas condições de 110 mg L^{-1} de tanino. Foi observada rápida formação de aglomerados grandes e compactos. Não houve diferença estatística ($p > 0,05$) e por isso o tempo de 5 min foi considerado o melhor.

Beltrán-Heredia & Sánchez-Martín (2009), no tratamento de águas residuais municipais com tanino, relataram efeito contrário, onde o aumento do tempo de mistura acarretou acréscimo da recuperação. Os resultados obtidos demonstraram que o tempo de 30 min foi adequado. Contudo, consideraram que o parâmetro não interferiu no processo, uma vez que a recuperação variou entre 80 e 90 %.

Para o tanino sulfitado (Figura 4.28 B), o tempo de mistura não interfere no processo de coagulação, uma vez que a variação da recuperação obtida com o aumento do tempo de mistura foi inferior a 5 %, sendo confirmado pela análise estatística dos dados ($p > 0,05$). Desta forma, o tempo de 5 min foi considerado adequado, visando a redução do consumo energético.

A velocidade de mistura foi variada entre 30 e 150 rpm, mantendo-se constante as demais condições, sendo os resultados obtidos mostrados na Figura 4.29.

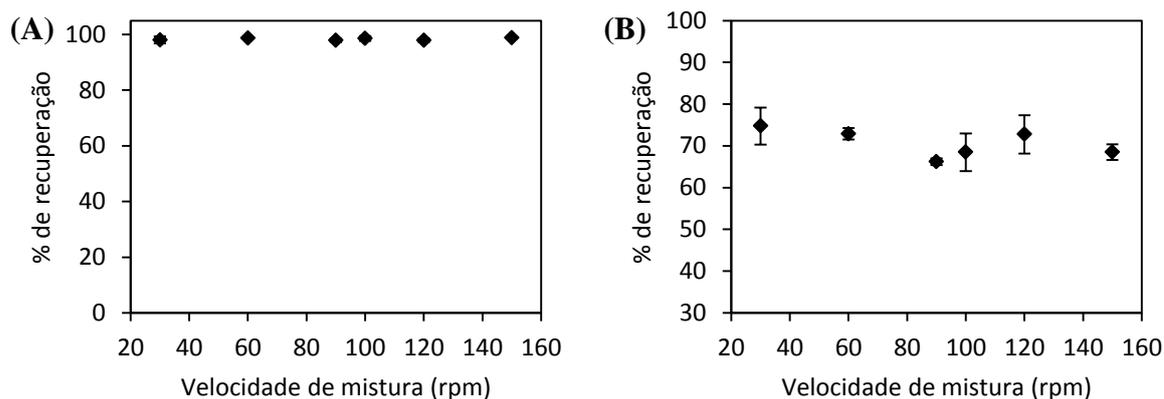


Figura 4.29 Efeito da velocidade de mistura sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com tanino, com 60 min de sedimentação, onde se variou a velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm. (A) Tanino catiônico, com concentração de tanino de 110 mg L^{-1} , 5 min de mistura e concentração inicial de biomassa de $1,26 \pm 0,15 \text{ g L}^{-1}$ e (B) tanino sulfitado, com concentração de tanino de 80 mg L^{-1} , 5 min de mistura e concentração inicial de biomassa de $2,60 \pm 0,34 \text{ g L}^{-1}$.

Através da análise dos dados apresentados na Figura 4.29 A para o tanino catiônico, é possível constatar que o percentual de recuperação se mantém praticamente constante (variação próxima a 1 %). A recuperação máxima obtida foi de $98,7 \pm 0,1 \%$ a 60 rpm. Em contrapartida, a análise estatística dos dados demonstrou que a velocidade de mistura não afeta o percentual de recuperação ($p > 0,05$). Apesar da pequena variação encontrada, a velocidade de agitação é um parâmetro importante na formação de aglomerados, desta forma, a velocidade de 30 rpm foi considerada adequada, visando redução de danos às células algais. Já para o tanino sulfitado (Figura 4.29 B), a velocidade de mistura não ocasiona alterações

significativas no processo de coagulação, o que foi confirmado pela análise estatística dos dados ($p > 0,05$). Desta forma, assim como para o tanino catiônico, a velocidade de 30 rpm foi considerada a melhor a fim de reduzir danos celulares e reduzir o consumo energético.

A Figura 4.30 exhibe os resultados para o efeito do tempo de sedimentação sobre a recuperação das células algais, nas condições ótimas já determinadas.

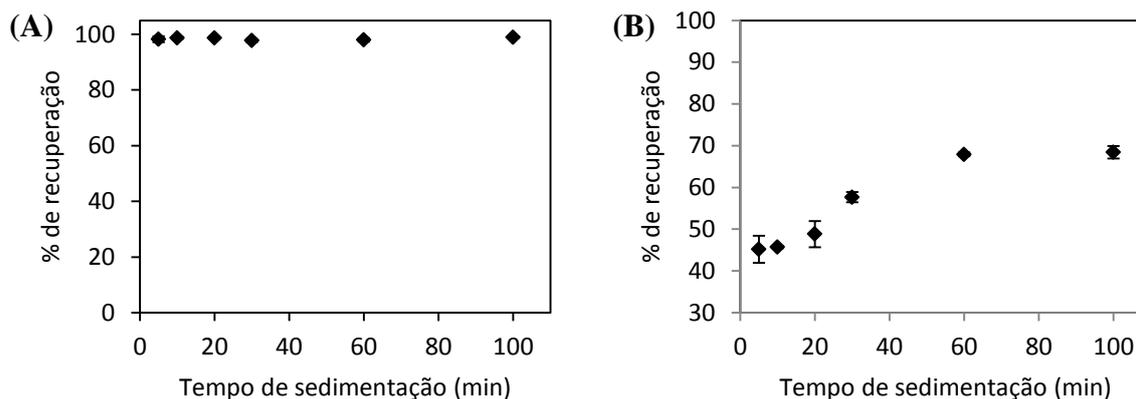


Figura 4.30 Efeito do tempo de sedimentação sobre a recuperação de células de microalgas na coagulação com tanino, onde se variou o tempo de sedimentação de 5 a 100 min. (A) Tanino catiônico, com concentração de tanino de 110 mg L^{-1} , 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de $1,26 \pm 0,15 \text{ g L}^{-1}$ e (B) tanino sulfitado, com concentração de tanino de 80 mg L^{-1} , 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm e concentração inicial de biomassa de $2,60 \pm 0,34 \text{ g L}^{-1}$.

O comportamento alcançado pelo tanino catiônico (Figura 4.30 A) é semelhante ao da variação da velocidade, onde é encontrada uma diferença máxima de 1 % nos valores obtidos. A recuperação máxima encontrada foi de $98,9 \pm 0,3 \%$ em 120 min, porém em apenas 5 min, a recuperação foi de $98,2 \pm 1,0 \%$. A análise estatística dos dados demonstrou que o tempo de sedimentação não afeta o percentual de recuperação ($p > 0,05$). Devido a isso, o menor tempo de sedimentação, 5 min, foi selecionado. A rápida recuperação obtida foi em função dos aglomerados formados apresentarem grande dimensão, facilitando assim a ação da gravidade. Isto também está relacionado com a altura de suspensão, uma vez que foi de apenas 3,5 cm. Este resultado é dependente da escala e, em outras alturas de sedimentação, o efeito do tempo de sedimentação pode ser diferente. Já para o tanino sulfitado (Figura 4.30 B), com o acréscimo do tempo de sedimentação, há aumento da recuperação. A maior recuperação alcançada é próxima de 68 %, com tempo superior a 60 min. O alto tempo de sedimentação encontrado provavelmente é decorrente da formação de aglomerados pequenos e frágeis, o que dificulta a ação da gravidade. O tempo de 60 min foi selecionado, pois é possível verificar

que há uma tendência de estabilização do valor de recuperação em tempos maiores. A análise estatística dos dados confirma este resultado ($p \leq 0,05$).

Beltrán-Heredia & Sánchez-Martín (2009) também avaliaram o efeito da temperatura no processo de coagulação, em função da variação sazonal. A temperatura foi variada na faixa de 10 °C a 40 °C. Os resultados mostraram que a temperatura não afeta a eficiência do coagulante.

Micrografias da microalga coagulada com tanino catiônico nas melhores condições e anteriormente ao processo de sedimentação são apresentadas na Figura 4.31. Para o tanino catiônico, as células algais se aglomeram em cadeias quase lineares, semelhante ao da nano-quitosana (Figura 4.24). Em relação à viabilidade das células, foi observado o rompimento da parede celular de algumas microalgas (Figura 4.31) e diminuição da mobilidade das células. Em relação ao tanino sulfitado, não foram encontradas alterações na mobilidade e viabilidade das células.



Figura 4.31 Micrografia ótica com aumento de 40x da microalga *Chlorella* sp. coagulada com tanino catiônico com rompimento de parede celular, com concentração de tanino de 110 mg L⁻¹, 5 min de mistura, velocidade de mistura de 30 rpm, 5 min de sedimentação e concentração inicial de biomassa de 1,26 ± 0,15 g L⁻¹.

O tanino não acarretou alterações no teor de carotenoides nem no teor de lipídeos. Os resultados para a análise de carotenoides totais da microalga coagulada com tanino, em comparação com a microalga *in natura*, para o tanino catiônico e para o tanino sulfitado são apresentados na Tabela 4.7.

Tabela 4.7 Teor de clorofila a (C_a), de clorofila b (C_b) e de carotenoides totais (C_{x+c}) da microalga *in natura* e da microalga coagulada com diferentes tipos de tanino.

	$C_{\text{inicial biomassa}} \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	$C_a \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$	$C_b \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$	$C_{x+c} \text{ (mg L}^{-1}\text{)}$
Microalga <i>in natura</i>	$1,86 \pm 0,06$	$7,59 \pm 0,77$	$6,45 \pm 1,56$	$7,14 \pm 0,56$
Microalga coagulada com tanino catiônico	$1,65 \pm 0,07$	$6,22 \pm 1,15$	$5,44 \pm 0,92$	$6,77 \pm 0,52$
p (estatisticamente iguais se $> 0,05$)	-	0,16	0,39	0,44
Microalga <i>in natura</i>	$1,49 \pm 0,03$	$3,43 \pm 0,40$	$3,88 \pm 0,82$	$1,27 \pm 0,31$
Microalga coagulada com tanino sulfitado	$1,41 \pm 0,03$	$2,99 \pm 0,66$	$3,74 \pm 1,62$	$1,22 \pm 0,10$
p (estatisticamente iguais se $> 0,05$)	-	0,37	0,90	0,80

onde $C_{\text{inicial biomassa}}$ é a concentração inicial de biomassa e C_a , C_b e C_{x+c} são as concentrações de clorofila a, clorofila b e carotenoides em mg L^{-1} , respectivamente.

O teor de lipídeos totais da microalga coagulada com tanino catiônico e com tanino sulfitado, em comparação com a microalga *in natura*, são mostrados na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 Teor de lipídeos totais da microalga *in natura* e da microalga coagulada com diferentes tipos de tanino.

	$C_{\text{inicial biomassa}} \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	Lipídeos (%)
Microalga <i>in natura</i>	$1,86 \pm 0,06$	$19,65 \pm 2,70$
Microalga coagulada com tanino catiônico	$1,65 \pm 0,07$	$15,74 \pm 0,99$
p (estatisticamente iguais se $> 0,05$)	-	0,08
Microalga <i>in natura</i>	$1,49 \pm 0,03$	$17,20 \pm 3,18$
Microalga coagulada com tanino sulfitado	$1,41 \pm 0,03$	$11,33 \pm 3,40$
p (estatisticamente iguais se $> 0,05$)	-	0,09

Assim como para a quitosana e para a nano-quitosana, deve-se avaliar a contribuição da massa do coagulante na análise do teor de lipídeos. Para o tanino catiônico, há uma contribuição de 6,67 % na pesagem da biomassa liofilizada (dosagem de coagulante de 110 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de aproximadamente $1,65 \text{ g L}^{-1}$), correspondendo desta forma a um teor de lipídeos de $16,87 \pm 1,06 \%$ e, em comparação com o teor de lipídeos da microalga *in natura*, não houve alterações ($p > 0,05$). Para o tanino sulfitado, o coagulante contribui com 5,67 % na pesagem da biomassa liofilizada (dosagem de coagulante de 80 mg L^{-1} e concentração inicial de biomassa de aproximadamente $1,41 \text{ g L}^{-1}$), correspondendo a um teor de lipídeos de $12,01 \pm 3,61 \%$, que, em comparação com o teor de lipídeos da microalga *in natura*, não produziu alterações ($p > 0,05$).

4.4 Caracterização da membrana

A membrana de triacetato de celulose de OD foi caracterizada em relação à morfologia e às características de separação, fluxo de água e fluxo inverso de sal. Além disso,

foi realizada análise de ângulo de contato para verificar a afinidade do material com água e análise de espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR) para avaliar a estrutura da membrana.

Na Figura 4.32 estão apresentadas as micrografias da membrana em relação à camada seletiva, à camada de fundo e à seção transversal.

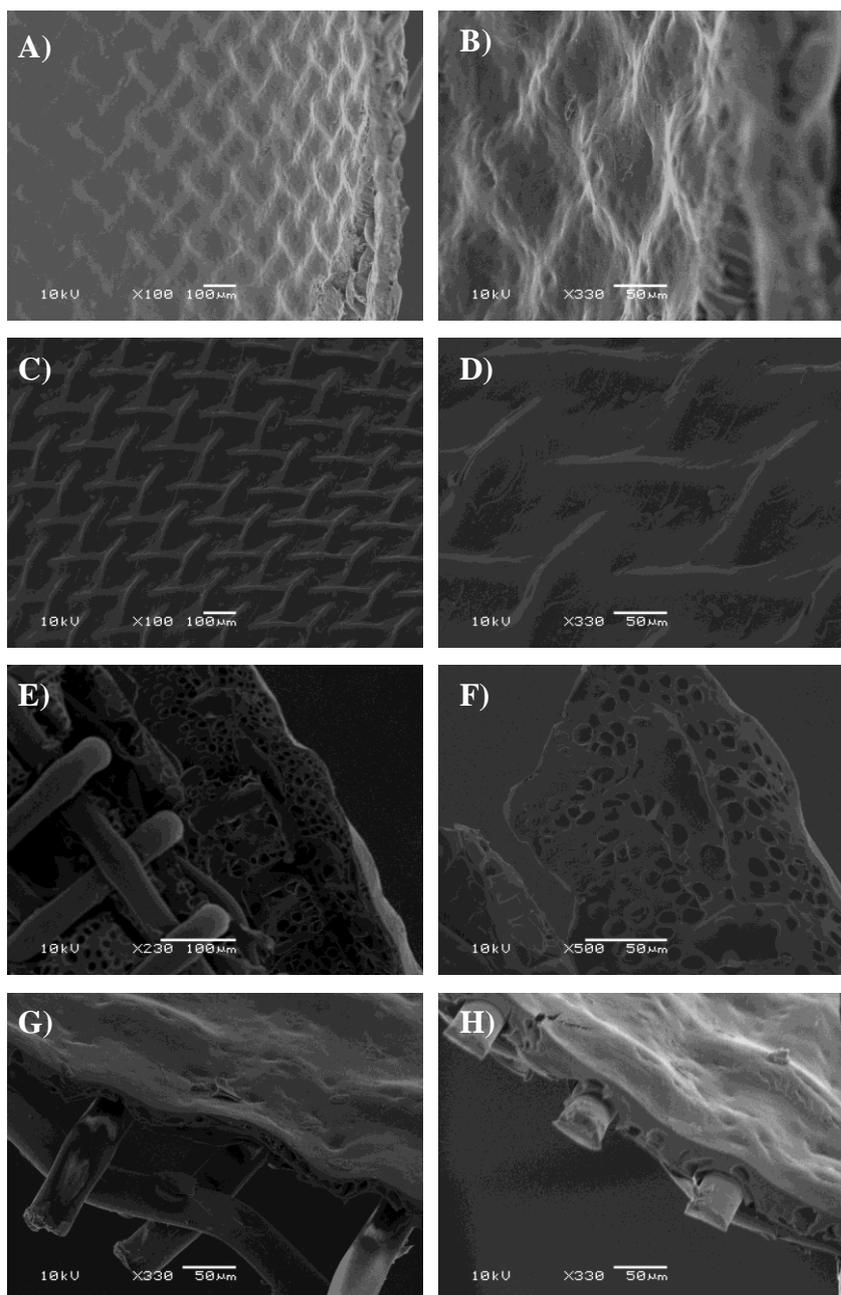


Figura 4.32 Micrografias da membrana TAC obtidas em 10 kV. (A) Superfície da membrana com magnificação de 100 ×, (B) superfície da membrana com magnificação de 330 ×, (C) superfície do suporte com magnificação de 100 ×, (D) superfície do suporte com magnificação de 330 ×, (E) seção transversal da membrana quebrada com nitrogênio líquido com magnificação de 230 ×, (F) seção transversal da membrana quebrada com magnificação de 500 ×, (G) seção transversal da membrana cortada com magnificação de 330 × e (H) seção transversal da membrana cortada com magnificação de 330 ×.

Através das micrografias (MEV) da superfície da membrana TAC (Figuras 4.32 A e B), onde se encontra a camada seletiva, é possível visualizar que a superfície é irregular e apresenta um grande número de depressões, o que, associado ao material, pode explicar o reduzido ângulo de contato da camada seletiva (ângulo de $38,89^\circ \pm 1,27$). Devido a este pequeno ângulo, a camada seletiva da membrana apresenta caráter hidrofílico. As Figuras 4.32 C e D mostram que a micrografia da camada de suporte da membrana se apresenta como uma fina rede cruzada, estrutura esta que confere resistência mecânica e facilita o transporte de moléculas através da membrana. Assim como a superfície, a camada suporte da membrana apresenta caráter hidrofílico (ângulo de $44,54^\circ \pm 1,45$).

A seção transversal da membrana é exibida pelas Figuras 4.32 E a H. Essas imagens mostram claramente que a membrana possui uma estrutura composta por uma fina camada porosa e assimétrica, e uma malha (suporte) incorporada nesta camada (GAO et al., 2013; NA et al., 2014). Por intermédio das Figura 4.32 G e H, pode-se verificar que a espessura total da membrana é relativamente fina (aproximadamente 50 μm) e pelas Figuras 4.32 E e F, a membrana possui um tamanho médio de poro de 10 μm (ZHAO & ZOU, 2011).

A caracterização do fundo (suporte) e do topo (camada ativa) da membrana por FT-IR é mostrada na Figura 4.33.

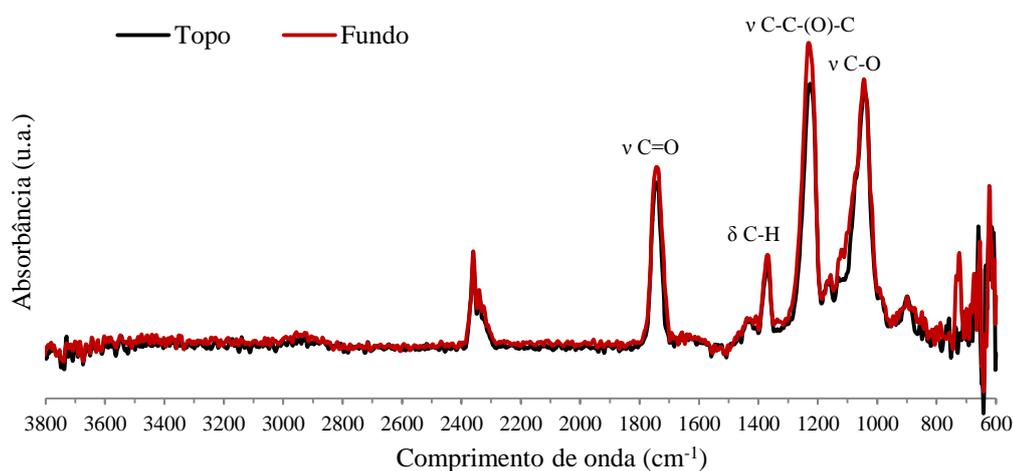


Figura 4.33 Espectros FT-IR do topo (camada ativa) e do fundo (suporte) da membrana TAC.

O exame dos espectros mostra algumas diferenças visíveis no espectro entre o fundo e o topo, particularmente em torno dos números de onda de ν C=O ($1760 - 1700 \text{ cm}^{-1}$), δ C-H ($1390 - 1370 \text{ cm}^{-1}$), ν C-C-(O)-C ($1300 - 1050 \text{ cm}^{-1}$) e ν C-O ($1275 - 1020 \text{ cm}^{-1}$). Na região de estiramento do grupo carbonila (ν C=O) de ácidos carboxílicos, o fundo apresenta pico de

intensidade de 1736 cm^{-1} enquanto que o topo apresenta um pico de 1734 cm^{-1} ; para a região de deformação angular ($\delta\text{ C-H}$), o pico de intensidade do fundo é 1365 cm^{-1} e do topo é 1363 cm^{-1} ; na região de estiramento de ésteres saturados ($\nu\text{ C-C-(O)-C}$), o fundo possui pico de 1225 cm^{-1} e o topo de 1215 cm^{-1} ; já na região de éter aromáticos e vinílicos ($\nu\text{ C-O}$), o pico de intensidade do fundo ocorre a 1041 cm^{-1} e no topo a 1038 cm^{-1} (WANG et al., 2014; ZHANG et al., 2013). Os grupos C=O , C-C-(O)-C e C-O detectados na membrana confirmam seu material de confecção, pois estes são grupos funcionais do triacetato de celulose.

4.5 Osmose direta

Foram realizados experimentos de filtração de biomassa algal com cinco diferentes soluções de alimentação: microalga *in natura*, microalga coagulada com quitosana, microalga coagulada com nano-quitosana, microalga coagulada com tanino catiônico e microalga coagulada com tanino sulfitado. Antes e após cada etapa de filtração realizou-se a caracterização dos fluxos da membrana, para a avaliação da ocorrência de *fouling*. Os resultados são apresentados a seguir.

4.5.1 Caracterização dos fluxos para a membrana

A caracterização dos fluxos de permeado e fluxo inverso de soluto para a membrana de TAC foi realizada durante 45 minutos antes e após todos os experimentos de filtração de biomassa algal, utilizando solução osmótica de cloreto de sódio $1,0\text{ mol L}^{-1}$ e água deionizada como solução de alimentação, nas seguintes condições de operação: temperatura de $20 \pm 1\text{ }^\circ\text{C}$, vazão de alimentação de $3,6\text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78\text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6\text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98\text{ m s}^{-1}$).

Durante a realização dos experimentos, foi possível perceber que o fluxo permeado (água) e o fluxo inverso de soluto se mostraram instáveis até aproximadamente 20 min e foram estabilizando nos minutos seguintes. Isto se deve à formação da camada limite de concentração da solução osmótica e a alguma conformação da microestrutura da membrana. Desta forma, os fluxos permeados médio para água e o inverso de sal foram calculados no intervalo de tempo de 20 a 45 min. Uma vez que dentro do intervalo de tempo de 45 min não foi observada a completa estabilização do fluxo, foi assumido que o processo atinge um estado pseudo-estacionário após 20 min. Nas condições de operação adotadas, o processo de diluição da solução osmótica não ocorreu, em função disso, a queda do gradiente de pressão

osmótica não sofreu alterações significativas, não se fazendo necessária a reconcentração da solução osmótica no decorrer dos experimentos.

A Tabela 4.9 exhibe a média dos resultados obtidos.

Tabela 4.9 Fluxo médio de água (J_w) e fluxo inverso médio de soluto (J_s) obtidos durante a caracterização da membrana TAC com cloreto de sódio $1,0 \text{ mol L}^{-1}$, antes e após o processo de filtração de biomassa algal por OD. Condições de operação: temperatura de $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

Característica da suspensão	$C_{\text{inicial biomassa}} \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	Antes		Depois	
		$J_w \text{ (L m}^{-2} \text{ h}^{-1}\text{)}$	$J_s \text{ (g m}^{-2} \text{ h}^{-1}\text{)}$	$J_w \text{ (L m}^{-2} \text{ h}^{-1}\text{)}$	$J_s \text{ (g m}^{-2} \text{ h}^{-1}\text{)}$
Microalga <i>in natura</i>	$2,48 \pm 0,75$	$15,91 \pm 6,67$	$4,39 \pm 0,32$	$16,83 \pm 7,47$	$2,78 \pm 1,56$
Microalga coagulada com quitosana	$2,13 \pm 0,11$	$16,29 \pm 7,83$	$4,36 \pm 0,37$	$11,70 \pm 8,80$	$3,77 \pm 1,46$
Microalga coagulada com nano-quitosana	$2,23 \pm 0,35$	$8,34 \pm 2,04$	$6,72 \pm 1,86$	$8,16 \pm 1,36$	$4,30 \pm 0,90$
Microalga coagulada com tanino catiônico	$2,13 \pm 0,74$	$8,77 \pm 1,04$	$5,14 \pm 0,23$	$7,88 \pm 0,30$	$4,78 \pm 0,28$
Microalga coagulada com tanino sulfitado	$2,16 \pm 0,73$	$5,86 \pm 1,43$	$5,15 \pm 0,19$	$9,17 \pm 0,18$	$4,86 \pm 0,69$
Média geral	$2,23 \pm 0,48$	$8,38 \pm 5,72$	$3,91 \pm 1,11$	$8,16 \pm 5,23$	$3,11 \pm 1,14$

O fluxo médio de água geral obtido antes dos experimentos de filtração foi semelhante ao determinado por Cath et al. (2013), de aproximadamente $10 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ em condições de operação semelhantes, porém com velocidade tangencial de $0,25 \text{ m s}^{-1}$. No entanto, o valor obtido para o fluxo inverso médio de soluto foi inferior ao encontrado por Cath et al. (2013), de aproximadamente $10 \text{ g m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Os altos desvios padrão encontrados são decorrentes da elevada variabilidade nas características das amostras de membranas utilizadas.

A avaliação dos fluxos obtidos antes e após os experimentos de filtração é efetuada de forma a constatar se houve modificações na membrana ou se a ocorrência do fenômeno de *fouling* ocasionou alterações consideráveis nos fluxos da membrana. Esta avaliação foi realizada através de análise estatística (vide Apêndice A), onde foi constatado que os experimentos de filtração de biomassa algal por OD não causaram modificações na membrana e a ocorrência de *fouling* não interferiu no processo ($p > 0,05$).

Este é um aspecto importante do processo de OD, o baixo *fouling*, considerando os baixos fluxos de água obtidos, que é uma característica inerente do processo a baixa tendência

ao *fouling* permite que o processo seja conduzido em um longo período de tempo sem a necessidade de paradas para realização de limpezas químicas; neste caso para elevadas vazões seria necessária uma área de membrana maior.

4.5.2 Experimentos de filtração de biomassa algal por OD

Os experimentos de filtração de biomassa algal por OD foram realizados durante 90 min, utilizando como solução de alimentação microalga *in natura* e microalga coagulada com quitosana, nano-quitosana, tanino catiônico e tanino sulfitado, e solução osmótica de cloreto de sódio 5,0 mol L⁻¹. As condições de operação foram: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de 3,6 L min⁻¹ (velocidade tangencial de 0,78 m s⁻¹) e vazão da solução osmótica de 4,6 L min⁻¹ (velocidade tangencial de 0,98 m s⁻¹).

Assim como para a etapa de caracterização dos fluxos para a membrana, durante os experimentos de filtração de biomassa também foi observado o declínio do fluxo de permeado (água) nos primeiros minutos, até aproximadamente 30 min (Figuras 4.34 a 4.37). Sendo assim, o fluxo médio de água foi calculado no intervalo de tempo de 30 min a 90 min. Foram realizadas duas etapas de filtração para cada membrana, totalizando tempo de contato das membranas com a suspensão de microalgas de 180 min. A primeira filtração foi realizada em duplicata, porém a segunda filtração foi realizada apenas uma vez, em decorrência de limitação de volume de biomassa. Para o fluxo inverso de soluto, a instabilidade observada permaneceu em um intervalo de tempo maior, sendo considerado o intervalo de tempo de 50 min a 90 min para o cálculo de seu valor médio (Figuras 4.38 a 4.39). A reconcentração da solução osmótica não foi necessária, uma vez que não houve efeito de diluição para os tempos de experimento estabelecidos. Os resultados dos fluxos médios são apresentados na Tabela 4.10.

A microalga *in natura*, na primeira filtração, atingiu um fluxo médio de água de 4,45 ± 0,02 L m⁻² h⁻¹ e fluxo inverso médio de soluto de 5,22 ± 0,20 g m⁻² h⁻¹. Zou et al. (2011) realizaram a concentração da microalga *Chlorella sorokiniana* por osmose direta. Nas condições de operação de temperatura de 22 ± 1 °C, solução osmótica de cloreto de sódio 4,0 mol L⁻¹ e velocidade tangencial de 0,23 m s⁻¹, obtiveram um fluxo de água de 28,8 L m⁻² h⁻¹ e fluxo inverso de soluto de 1,02 mol m⁻² h⁻¹ (corresponde a 59,62 g m⁻² h⁻¹). Apesar de o fluxo de água obtido ser bastante superior ao encontrado no presente trabalho, o fluxo inverso de soluto também foi superior, quando o esperado é que esse seja o menor possível.

Tabela 4.10 Fluxo médio de água (J_w) e fluxo médio de soluto (J_s) obtidos durante a primeira e a segunda filtração de biomassa algal através de OD. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

	$C_{\text{inicial biomassa}} \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	Primeira filtração		Segunda filtração	
		$J_w \text{ (L m}^{-2} \text{ h}^{-1}\text{)}$	$J_s \text{ (g m}^{-2} \text{ h}^{-1}\text{)}$	$J_w \text{ (L m}^{-2} \text{ h}^{-1}\text{)}$	$J_s \text{ (g m}^{-2} \text{ h}^{-1}\text{)}$
Microalga <i>in natura</i>	$2,489 \pm 0,75$	$4,45 \pm 0,02$	$5,22 \pm 0,20$	3,42	5,69
Microalga coagulada com quitosana	$2,136 \pm 0,11$	$12,41 \pm 1,20$	$5,33 \pm 0,05$	6,67	5,00
Microalga coagulada com nano-quitosana	$2,233 \pm 0,35$	$3,57 \pm 0,74$	$5,16 \pm 0,33$	2,37	5,02
Microalga coagulada com tanino catiônico	$2,130 \pm 0,74$	$6,00 \pm 1,53$	$5,04 \pm 0,13$	2,82	3,90
Microalga coagulada com tanino sulfitado	$2,160 \pm 0,73$	$5,82 \pm 0,26$	$5,43 \pm 0,11$	3,37	4,79

Com exceção da microalga coagulada com nano-quitosana, os demais coagulantes atingiram fluxos superiores ao do obtido com a suspensão de microalga *in natura* durante a primeira filtração, o que provavelmente está relacionado com a interação do coagulante com a membrana. A nano-quitosana, apesar de apresentar caráter hidrofílico (ângulo de contato de $69,3^\circ \pm 1,2$), apresentou um ângulo de contato maior, o que pode estar associado a uma baixa interação com a membrana, resultando na queda de fluxo de água. A suspensão coagulada com quitosana apresentou o maior fluxo e obteve-se um aumento de aproximadamente $2,8 \times$ em relação ao fluxo de água obtido pela suspensão da microalga *in natura*. As soluções coaguladas com o tanino catiônico e o tanino sulfitado apresentaram aumentos de $1,35 \times$ e $1,31 \times$, respectivamente.

Lee et al. (2012) avaliaram o efeito da concentração de quitosana na etapa de pré-concentração sobre o fluxo de água na etapa de microfiltração da microalga *Chlorella vulgaris*. Com o aumento da concentração de quitosana, houve aumento do fluxo de água. Com uma concentração de quitosana de 10 mg L^{-1} e 50 mg L^{-1} verificaram um aumento no fluxo de água de $2,4 \times$ e $4,1 \times$, respectivamente.

O comportamento do fluxo de permeado em relação ao fator de concentração e ao tempo, durante a primeira filtração está mostrado nas Figuras 4.34 e 3.35, onde é possível perceber o declínio do fluxo de água no início do processo (até aproximadamente 30 min). Também é possível perceber que a suspensão coagulada com quitosana apresentou os

resultados mais satisfatórios, com fluxo permeado em torno de $10 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, os demais coagulantes foram menos eficientes e os resultados obtidos foram semelhantes.

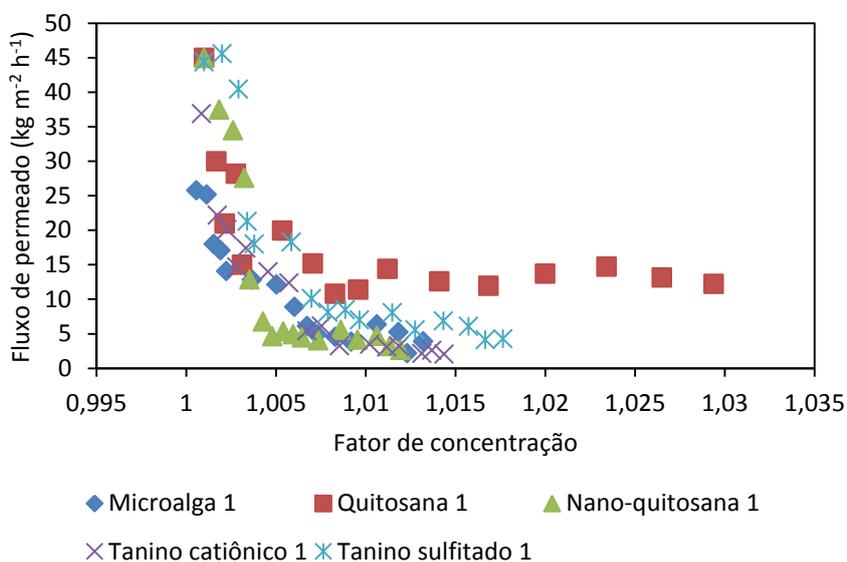


Figura 4.34 Fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do fator de concentração. Condições de operação: temperatura de $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

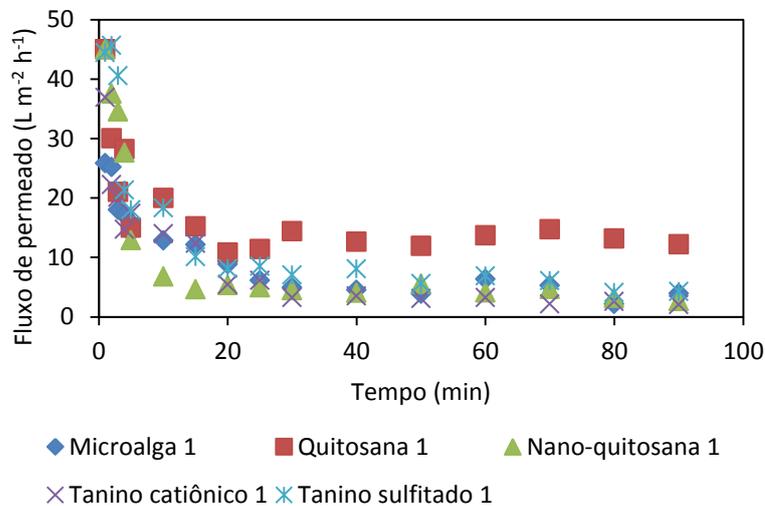


Figura 4.35 Fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de $20 \pm 1 \text{ }^\circ\text{C}$, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

A avaliação dos fluxos de água obtidos na primeira e na segunda filtração demonstrou uma pequena queda para a suspensão de microalga *in natura* e para a suspensão de microalga coagulada com nano-quitosana, sendo mais acentuada para as demais suspensões de alimentação. O comportamento do fluxo de permeado em relação ao fator de concentração e

ao tempo, durante a segunda filtração está exibido nas Figuras 4.36 e 4.37, onde é possível perceber o declínio do fluxo de água no início do processo (até aproximadamente 30 min) e a estabilidade do fluxo nos minutos consecutivos, bem como um comportamento semelhante entre as diferentes alimentações. Este declínio inicial se deve principalmente à formação da camada limite de concentração em ambos os lados da membrana e ao *fouling*.

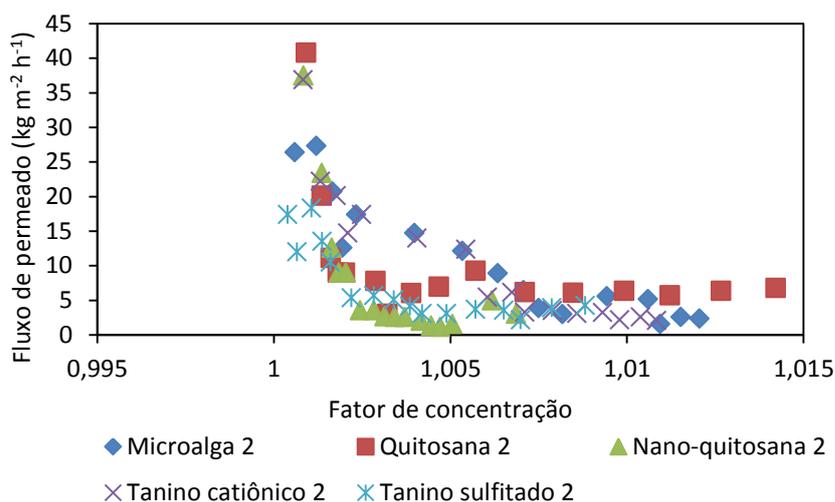


Figura 4.36 Fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a segunda filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do fator de concentração. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

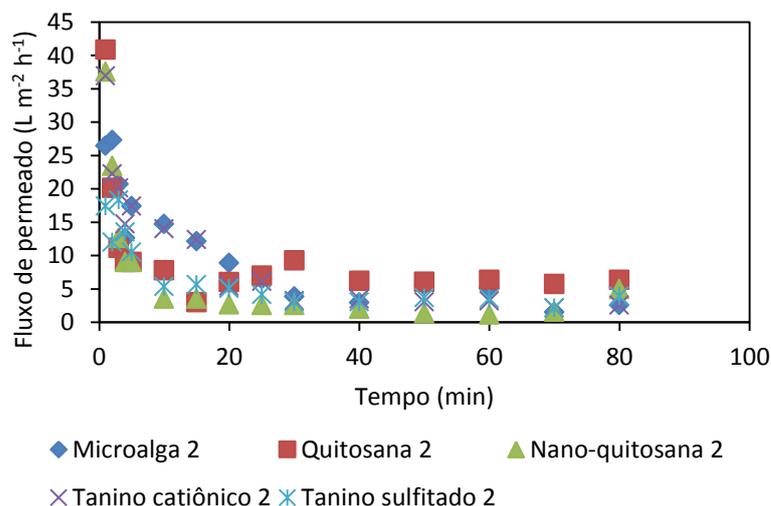


Figura 4.37 Fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a segunda filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

A avaliação dos fluxos inversos de soluto obtidos na primeira e na segunda filtração demonstrou que o fluxo inverso de soluto praticamente não sofreu alterações (Tabela 4.10). O

comportamento do fluxo inverso de soluto em relação ao tempo, durante a primeira e a segunda filtração, está apresentado nas Figuras 4.38 e 4.39. Com exceção da suspensão coagulada com tanino sulfitado, onde há uma tendência de diminuição do fluxo inverso de soluto com o tempo, as demais apresentaram uma tendência de aumento o do fluxo inverso de soluto. Da mesma forma que ocorre com o fluxo de permeado, observa-se para o fluxo inverso de soluto um período de instabilidade nos primeiros minutos (50 min), seguido de estabilidade nos minutos consecutivos.

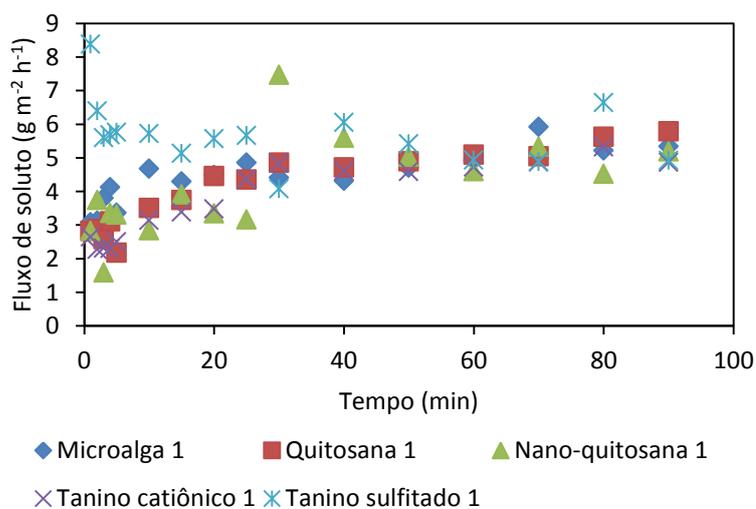


Figura 4.38 Fluxo inverso de soluto para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

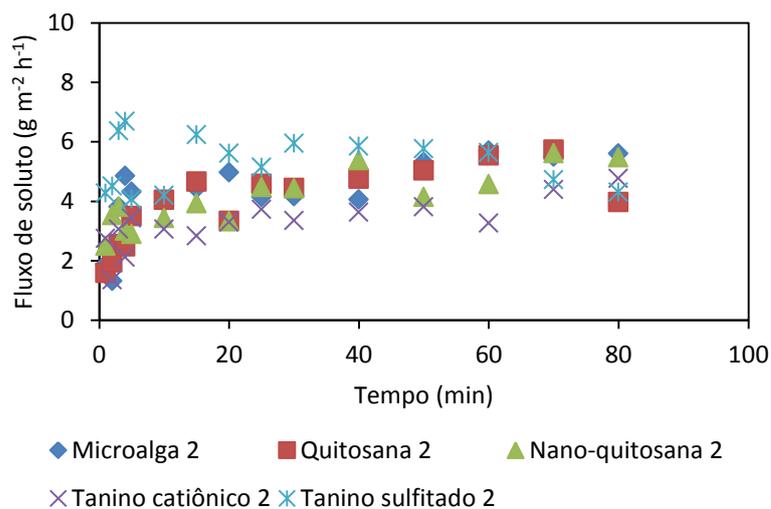


Figura 4.39 Fluxo inverso de soluto para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a segunda filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

A Figura 4.40 apresenta fotografias das membranas utilizadas durante o processo de filtração de biomassa algal, antes e após 180 min de operação.

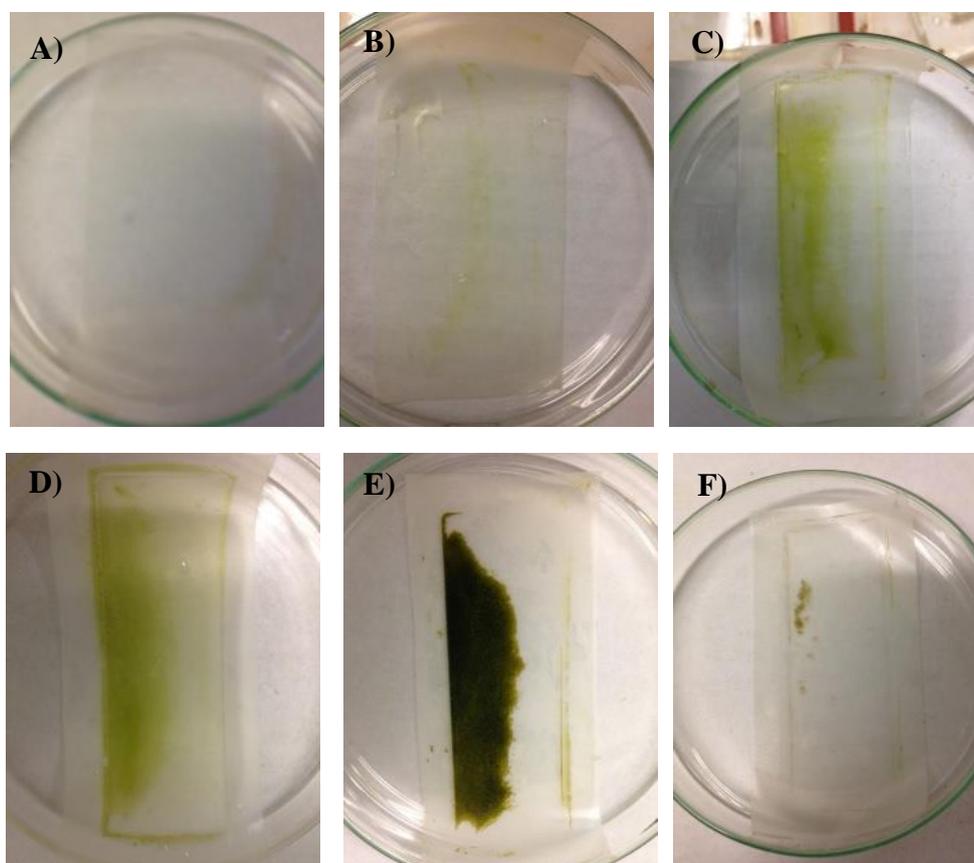


Figura 4.40 Fotografias da membrana TAC antes (A) e após 180 min de operação: (B) microalga *in natura*, (C) microalga coagulada com quitosana, (D) microalga coagulada com nano-quitosana, (E) microalga coagulada com tanino catiônico e (F) microalga coagulada com tanino sulfitado. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

É possível visualizar a formação de *biofouling* em todas as membranas, sendo que para a suspensão coagulada com nano-quitosana e com tanino catiônico o *biofouling* foi mais acentuado. Apesar desta ocorrência visível, os dados apresentados anteriormente demonstraram que o *biofouling* não interferiu no processo, pois o fluxo permeado se manteve constante após o declínio inicial. Em relação à viabilidade das células, foi visualizada a liberação de pigmentos e possível liberação de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) no sobrenadante, o que pode estar relacionado à lise celular.

Na Tabela 4.11 estão apresentados os resultados obtidos para o teor de carotenoides totais da suspensão de microalgas *in natura*, da suspensão após OD e após o processo combinado de coagulação e OD. O processo combinado não ocasionou alterações no teor de carotenoides totais.

Tabela 4.11 Teor de clorofila a (C_a), de clorofila b (C_b) e de carotenoides totais (C_{x+c}) da suspensão de microalgas *in natura*, após o processo de OD e após processo combinado de coagulação e OD.

Suspensão	$C_{\text{inicial biomassa}}$ (g L^{-1})	C_a (mg L^{-1})	C_b (mg L^{-1})	C_{x+c} (mg L^{-1})
Osmose direta (OD)				
Microalga <i>in natura</i>	2,89 ± 0,09	3,42 ± 0,03	3,35 ± 0,01	3,13 ± 0,17
Microalga após OD	2,90 ± 0,07	3,36 ± 0,52	3,65 ± 0,68	2,92 ± 0,34
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,84	0,48	0,52
Quitosana + OD				
Microalga <i>in natura</i>	2,89 ± 0,09	8,44 ± 0,33	7,12 ± 0,10	5,08 ± 0,23
Microalga coagulada com quitosana após OD	2,20 ± 0,07	7,94 ± 0,84	7,23 ± 0,75	4,68 ± 0,47
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,39	0,88	0,26
Nano-quitosana + OD				
Microalga <i>in natura</i>	2,45 ± 0,05	6,09 ± 0,86	6,80 ± 0,80	3,28 ± 0,99
Microalga coagulada com nano-quitosana após OD	2,39 ± 0,09	5,66 ± 1,24	5,27 ± 0,05	3,10 ± 0,34
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,64	0,03	0,79
Tanino catiônico + OD				
Microalga <i>in natura</i>	2,48 ± 0,09	7,59 ± 0,77	6,45 ± 1,56	7,14 ± 0,56
Microalga coagulada com tanino catiônico após OD	2,58 ± 0,07	5,67 ± 1,73	5,45 ± 1,41	2,81 ± 0,45
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,52	0,12	0,72
Tanino sulfitado + OD				
Microalga <i>in natura</i>	2,59 ± 0,05	6,49 ± 0,40	6,43 ± 2,41	3,38 ± 1,56
Microalga coagulada com tanino sulfitado após OD	2,52 ± 0,10	5,03 ± 1,00	5,91 ± 1,50	3,04 ± 0,23
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,08	0,76	0,72

Em relação ao teor de lipídeos, a Tabela 4.12 apresenta os resultados. Com exceção da microalga coagulada com tanino catiônico ($p = 0,05$), não houve alterações no teor de lipídeos totais. A redução encontrada para o tanino catiônico pode estar relacionada à lise celular. Para o cálculo de lipídeos real, foi considerada a contribuição do coagulante durante a pesagem da biomassa liofilizada (desconsiderando quantidades de coagulante no sobrenadante) e a concentração inicial da biomassa (fornecida na Tabela 4.12). Para a obtenção da massa correspondente ao coagulante durante a pesagem, foi considerada a dosagem ideal de cada coagulante: quitosana 30 mg L^{-1} (1,67 %), nano-quitosana 20 mg L^{-1} (1,09 %), tanino catiônico 110 mg L^{-1} (6,67 %) e tanino sulfitado 80 mg L^{-1} (5,67 %). Desta forma, o processo combinado não ocasionou alterações no teor de lipídeos totais.

Tabela 4.12 Teor de lipídeos totais da microalga *in natura* e da microalga após o processo de OD e processo combinado, onde lipídeos real está relacionado a redução ocasionada pelo processo combinado (considerando a massa de coagulante na biomassa liofilizada pesada).

	$C_{\text{inicial biomassa}} \text{ (g L}^{-1}\text{)}$	Lipídeos (%)	Lipídeos real (%)
Osmose direta			
Microalga <i>in natura</i>	2,89 ± 0,07	15,41 ± 0,48	-
Microalga após OD	2,90 ± 0,07	15,21 ± 1,60	-
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,84	-
Quitosana + OD			
Microalga <i>in natura</i>	2,89 ± 0,07	18,19 ± 0,91	18,19 ± 0,91
Microalga coagulada com quitosana após OD	2,20 ± 0,07	16,37 ± 1,74	16,65 ± 1,19
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,10	0,15
Nano-quitosana + OD			
Microalga <i>in natura</i>	2,08 ± 0,04	18,19 ± 0,91	18,19 ± 0,91
Microalga coagulada com nano-quitosana após OD	2,39 ± 0,09	17,10 ± 0,61	17,24 ± 0,61
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,15	0,21
Tanino catiônico + OD			
Microalga <i>in natura</i>	2,08 ± 0,04	18,19 ± 0,91	15,41 ± 0,48
Microalga coagulada com tanino catiônico após OD	2,48 ± 0,09	16,25 ± 0,86	17,41 ± 0,92
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,05	0,35
Tanino sulfitado			
Microalga <i>in natura</i>	2,08 ± 0,04	18,19 ± 0,91	18,19 ± 0,91
Microalga coagulada com tanino sulfitado após OD	2,52 ± 0,10	17,84 ± 2,22	18,11 ± 1,40
<i>p</i> (estatisticamente iguais se > 0,05)	-	0,81	0,94

Com a finalidade de reduzir o consumo energético nas etapas de secagem posteriores ao processo de concentração da biomassa algal, essa deve estar tão seca quanto possível. Nesta etapa do trabalho foi estimada a energia de ligação sólido-água com base nos resultados de DSC; os resultados obtidos para cada suspensão (não coagulada e coaguladas com diferentes agentes) após o processo de OD estão apresentados na Figura 4.41. Vale ressaltar que no processo de OD não ocorreu uma concentração expressiva das suspensões e, portanto, este resultado pode ser relacionado principalmente à etapa de coagulação. Observa-se que a energia de ligação (relacionada à “água ligada”), para as suspensões pré-concentradas com nano-quitosana e com tanino catiônico mostraram maior redução na energia de ligação, em comparação com a microalga não coagulada, e conseqüentemente apresentam menor energia necessária para secagem nas etapas subsequentes. A quitosana (considerando o desvio padrão encontrado) e o tanino sulfitado não foram eficazes na redução da energia de ligação.

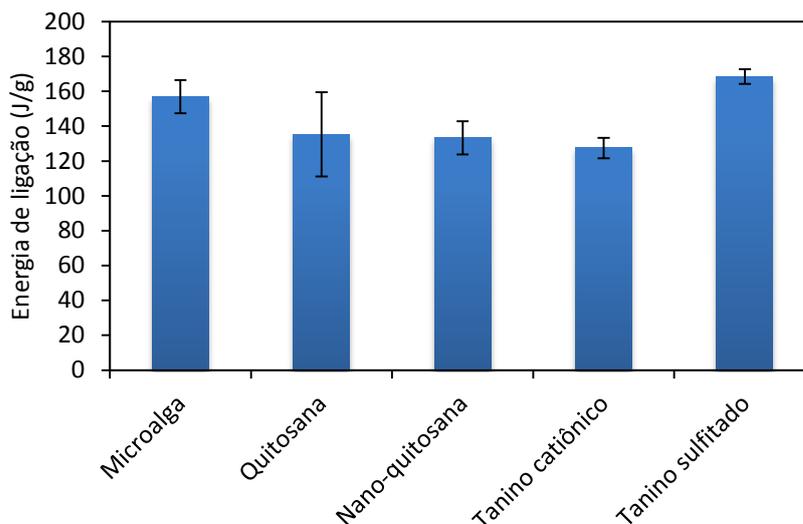


Figura 4.41 Energia de ligação estimada com base no DSC após o processo de OD em função dos coagulantes utilizados na etapa de pré-concentração (nas melhores condições) e da microalga não coagulada.

Na Figura 4.42 está apresentado o teor de sólidos determinado após o processo de OD como função dos coagulantes utilizados na etapa de pré-concentração e, também, para a suspensão de microalgas não coagulada.

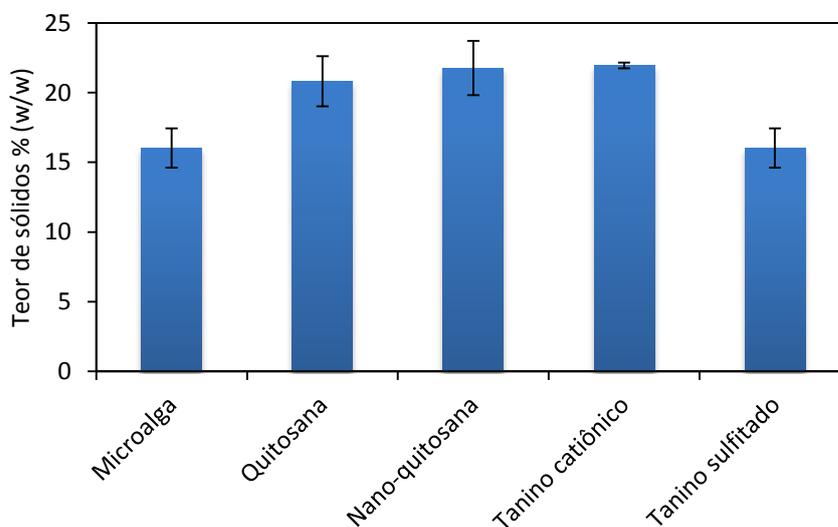


Figura 4.42 Teor de sólidos após o processo de OD em função dos coagulantes utilizados na etapa de pré-concentração (nas melhores condições) e da suspensão de microalgas não coagulada.

Em relação ao teor de sólidos, com exceção do tanino sulfitado, a etapa de pré-concentração acarretou uma maior percentagem de teor de sólidos na biomassa final, em comparação com a suspensão de microalgas não coagulada. A amostra com a menor energia de ligação sólido-água apresentou a biomassa mais seca (com menor umidade). Desta forma, o teor de sólidos na biomassa concentrada foi correlacionado inversamente com a energia de

ligação sólido-água (obtida através do DSC). Resultados semelhantes foram encontrados por Lee et al. (2012), que avaliaram o teor de sólidos e a energia de ligação sólido-água em diferentes concentrações do coagulante PACl durante a coagulação da microalga *Chlorella vulgaris*.

Capítulo 5

Conclusões e Sugestões

As conclusões desse trabalho em função dos resultados obtidos nos experimentos de pré-concentração da biomassa algal por coagulação, filtração por osmose direta, avaliação do teor de carotenoides totais, teor de lipídeos totais, viabilidade e água ligada são apresentadas a seguir.

- O amido catiônico possui estrutura predominantemente esférica e possui diâmetro médio de 130 nm, apresentando um grau de substituição (DS) 0,00167, porém seu desempenho não foi satisfatório para as condições testadas para pré-concentrar a biomassa algal.
- As melhores condições para a utilização da quitosana como coagulante foram: dosagem de 30 mg L⁻¹, pH 7,5, tempo de mistura de 40 min e velocidade de mistura de 30 rpm. Nessas condições as células se mantiveram íntegras, sem rompimento da parede celular e com coloração esverdeada, comprovando a viabilidade das mesmas, sem alteração no teor de carotenoides totais, porém com alteração no teor de lipídeos totais.
- As melhores condições para a utilização de nano-quitosana como coagulante foram: dosagem de 20 mg L⁻¹, pH 8,0, tempo de mistura de 5 min, velocidade de mistura de 30 rpm e tempo de sedimentação de 5 min. Nessas condições a viabilidade das células foi comprovada, uma vez que não houve danos à estrutura celular. A nano-quitosana não afetou o teor de carotenoides totais nem o teor de lipídeos totais.
- O extrato de tanino puro foi considerado ineficaz para o processo de pré-concentração da suspensão de microalgas.
- As melhores condições para utilização do tanino catiônico como coagulante foram: dosagem de 110 mg L⁻¹, sem necessidade de ajuste de pH, tempo de mistura de 5 min e velocidade de mistura de 30 rpm. Em relação à viabilidade das células, foi observado

o rompimento da parede celular de algumas microalgas e diminuição da mobilidade das células. O tanino catiônico não ocasionou alterações no teor de carotenoides totais nem no teor de lipídeos totais.

- Para o tanino sulfitado, as melhores condições para utilização do mesmo como coagulante foram: dosagem de 80 mg L^{-1} , sem necessidade de ajuste de pH, tempo de mistura de 5 min, velocidade de mistura de 30 rpm e tempo de sedimentação de 60 min. Nessas condições, não foram observadas alterações na mobilidade e viabilidade das células. Não houve alterações no teor de carotenoides totais nem no teor de lipídeos totais.
- A avaliação dos fluxos obtidos antes e após os experimentos de filtração mostrou que os experimentos de filtração de biomassa algal não causaram modificações na membrana e a ocorrência de *fouling* não interferiu no processo.
- A suspensão de microalga coagulada com quitosana apresentou o maior fluxo e obteve um aumento de aproximadamente $2,8 \times$ em relação ao fluxo de água obtido pela microalga *in natura*. As suspensões de microalgas coaguladas com tanino catiônico e com tanino sulfitado apresentaram aumentos de fluxos de água de $1,35 \times$ e $1,31 \times$, respectivamente.
- A avaliação dos fluxos de água obtidos na primeira e na segunda filtração demonstrou uma pequena queda para a suspensão de microalga *in natura* e para a suspensão de microalga coagulada com nano-quitosana, sendo mais acentuada para as demais suspensões de alimentação.
- Os fluxos inversos de soluto obtidos na primeira e na segunda filtração de biomassa algal praticamente não sofreram alterações.
- Com exceção do tanino sulfitado, onde há uma tendência de queda do fluxo inverso de soluto com o tempo, os demais coagulantes apresentaram uma tendência de aumento do fluxo inverso de soluto.
- O processo combinado de pré-concentração por coagulação e filtração através de osmose direta não apresentou alterações no teor de carotenoides totais e lipídeos totais em comparação com a microalga *in natura*.

-
- As pré-concentrações com nano-quitosana e com tanino catiônico mostraram maior redução na energia de ligação, apresentando assim menor energia necessária para secagem nas etapas subsequentes.
 - A amostra com a menor energia de ligação sólido-água obteve a biomassa mais seca (com menor umidade).

Para dar continuidade a esse trabalho, os estudos listados a seguir são sugeridos.

- Utilização de coagulantes inorgânicos na etapa de pré-concentração e comparação com os coagulantes orgânicos.
- Avaliação energética do processo, em comparação com outros encontrados na literatura.
- Otimização das condições de operação de osmose direta.
- Avaliar o fluxo de permeado e o fluxo inverso de soluto em função da concentração dos coagulantes.
- Análise do permeado e do sobrenadante para avaliar a presença ou não de substâncias poliméricas extracelulares.
- Utilização do processo combinado de coagulação e filtração com outros PSM.

Referências Bibliográficas

AHMAD, A. L. et al. Optimization of microalgae coagulation process using chitosan. **Chemical Engineering Journal**, v.173, p. 879-882, 2011.

AHMAD, A. L. et al. Crossflow microfiltration of microalgae biomass for biofuel production. **Desalination**, v. 302, p. 65-70, 2012.

ANTHONY, R. J. et al. Effect of coagulant/flocculants on bioproducts from microalgae. **Bioresource Technology**, v. 149, p. 65-70, 2013.

ANTHONY, R. J.; SIMS, R. C. Optimization of cationic amino starch synthesis using biogenic amines. **Carbohydrate Polymers**, v. 98, p. 1409-1415, 2013b.

APHA, A. P. **The Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater**. 20^a ed. Washington: American Public Health Association, 1998.

BALDASSO, C. **Concentração, Purificação e Fracionamento das Proteínas do Soro Lácteo através da Tecnologia de Separação por Membranas**. 2008. 163 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2008.

BALDASSO, C. **Fracionamento dos Componentes do Soro de Leite através da Tecnologia de Separação por Membranas**. 2011. 282 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2011.

BAO, H. et al. Influence of cetyltrimethylammonium bromide on physicochemical properties and microstructures of chitosan-TPP nanoparticles in aqueous solutions. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 328, p. 270-277, 2008.

BARRUT, B. et al. Separation efficiency of a vacuum gas lift for microalgae harvesting. **Bioresource Technology**, v.128, p. 235-240, 2013.

BEACH, E. S. et al. Preferential technological life cycle environmental performance of chitosan flocculation for harvesting of the green algae *Neochloris oleoabundans*. **Bioresource Technology**, v. 121, p. 445-449, 2012.

BEDIRLI, A. et al. Administration of *Chlorella* sp. Microalgae reduces endotoxemia, interstitial oxidative stress and bacterial translocation in experimental biliary obstruction. **Clinical Nutrition**, v. 28, p. 674-678, 2009.

BELTRÁN-HEREDIA, J.; SÁNCHEZ-MARTÍN, J. Municipal wastewater treatment by modified tannin flocculant agent. **Desalination**, v. 249, p. 353-358, 2009.

BELTRÁN-HEREDIA, J. et al. New coagulant agents from tannin extracts: Preliminary optimization studies. **Chemical Engineering Journal**, v. 162, p. 1019-1025, 2010.

BILAD, M. R. et al. Harvesting microalgal biomass using submerged microfiltration membranes. **Bioresource Technology**, v. 111, p. 343-352, 2012.

BLIG, E. G.; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian journal of biochemistry and physiology**, v. 37, p. 911-917, 1959.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuel from microalgae – A review of Technologies for production, processing, and extraction of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 557-577, 2010.

BUCKWALTER, P. et al. Dewatering microalgae by forward osmosis. **Desalination**, v. 312, p. 19-22, 2013.

CALVO, P. et al. Novel Hydrophilic Chitosan – Polyethylene Oxide Nanoparticles as Protein Carriers. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 63, p. 125-132, 1997.

CAMPENINI, L. et al. Carotenoid and lipid production by the autotrophic microalga *Chlorella protothecoides* under nutritional, salinity, and luminosity stress conditions. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 1383-1393, 2013.

CATH, T. Y. et al. Forward osmosis: Principles, application, and recent developments. **Journal of Membrane Science**, v. 281, p. 70-87, 2006.

CATH, T. Y. et al. Standard Methodology for Evaluating Membrane Performance in Osmotically Driven Membrane Processes. **Desalination**, v. 312, p. 31-38, 2013.

CHENG, Y. et al. The impact of cell wall carbohydrate composition on the chitosan flocculation of *Chlorella*. **Process Biochemistry**, v. 46, p. 1927-1933, 2011.

CHERYAN, M. **Ultrafiltration and Microfiltration Handbook**. Pennsylvania: Technomic Publishing Company, 1998.

CHIU, S. et al. Microalgal biomass production and on-site bioremediation of carbon dioxide, nitrogen oxide and sulfur dioxide from flue gas using *Chlorella* sp. cultures. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 9135-9142, 2011.

CHRISTAKI, E. et al. Functional properties of carotenoids originating from algae. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v. 93, p. 5-11, 2012.

CORDERO, B. F. et al. Isolation and Characterization of a Lycopene ϵ -Cyclase Gene of *Chlorella (Chromochloris) zofingiensis*. Regulation of the Carotenogenic Pathway by Nitrogen and Light. **Marine Drugs**, v. 10, p. 2069-2088, 2013.

DEENU, A. et al. Optimization and Economic Evaluation of Ultrasound Extraction of Lutein from *Chlorella vulgaris*. **Biotechnology and Bioprocess Engineering**, v. 18, p. 1151-1162, 2013.

DIAS, T. Membranas: meio filtrante de tecnologia avançada. **Meio Filtrante**, ano V, n. 23, nov./dez. 2006.

DI BERNARDO, L.; DANTAS, A. D. B. **Métodos e Técnicas de Tratamento de Água**. 2ª ed. São Carlos: Rima, 2005. v. 1.

DI BERNARDO, L. **Métodos e técnicas de tratamento de água**. Rio de Janeiro: ABES, 1993. v. 1.

DISCART, V. et al. Role of transparent exopolymeric particles in membrane fouling: *Chlorella vulgaris* broth filtration. **Bioresource Technology**, v. 129, p. 18-25, 2013.

FARID, M. S. et al. Using nano-chitosan for harvesting microalga *Nannochloropsis* sp. **Bioresource Technology**, v. 131, p. 555-559, 2013.

FENG, F. et al. Enhancement of fatty acid production of *Chlorella* sp. (Chlorophyceae) by addition of glucose and sodium thiosulphate to culture medium. **Process Biochemistry**, v. 40, p. 1315-1318, 2005.

GAO, Y. et al. Characterization of forward osmosis membranes by electrochemical impedance spectroscopy. **Desalination**, v. 312, p. 45-51, 2013.

GE, Q. et al. Draw solutions for forward osmosis processes: Developments, challenges, and prospects for the future. **Journal of Membrane Science**, v. 442, p. 225-237, 2013.

GERDE, J. A. et al. Microalgae flocculation: Impact of flocculant type, algae species and cell concentration. **Algal Research**, v.3, p. 30-35, 2014.

GIORDANO, P. C. et al. Rational design of a culture medium for the intensification of lipid storage in *Chlorella* sp.. Performance evaluation in air-lift bioreactor. **Bioresource Technology**, v. 158, p. 269-277, 2014.

GRAHAM, N. et al. Characterization and coagulation performance of a tannin-based cationic polymer: A preliminary assessment. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 327, p. 9-16, 2008.

GRANADOS, M. R. et al. Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 102-110, 2012.

GUILLARD, R. L. L. **Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. Conference on Culture of Marine Invertebrate Animals**. New York: Plenum Press, p. 29-60, 1975.

HABERT, A. C. et al. **Processos de Separação com membranas**. Rio de Janeiro: E-papers, 2006.

HARUN, R. et al. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 1037-1047, 2010.

HENDERSON, R. et al. The impact of algal properties and pre-oxidation on solid-liquid separation of algae. **Water Research**, v. 42, p. 1827-1845, 2008.

HU, Y. et al. Improvement of microalgae harvesting by magnetic nanocomposites coated with polyethylenimine. **Chemical Engineering Journal**, v. 242, p. 341-347, 2014.

HU, Z. G. et al. The sorption of acid dye onto chitosan nanoparticles. **Polymer**, v. 47, p. 5838-5842, 2006.

HWANG, K.; LIN, S. Filtration flux-shear stress-cake mass relationships in microalgae rotating-disk dynamic microfiltration. **Chemical Engineering Journal**, v. 244, p. 429-437, 2014.

HWANG, T. et al. Harvesting of *Chlorella* sp. KR-1 using cross-flow membrane filtration system equipped with an anti-fouling membrane. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 379-382, 2013.

JARENKOW, A. **Estudo da Produção e Extração de Lipídeos na Microalga *Chlorella* sp.** 2014. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2014.

KAN, C. et al. Time requirement for rapid-mixing in coagulation. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 203, p. 1-9, 2002.

KHALIL, S. K. H. et al. Preparation and evaluation of warfarin- β -cyclodextrin loaded chitosan nanoparticles for transdermal delivery. **Carbohydrate Polymers**, v. 90, p. 1244-1253, 2012.

KHAN, S. A. et al. Prospects of biodiesel production from microalgae in India. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, p. 2361-2372, 2009.

KIM, J. et al. Methods of downstream processing for the production of biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 31, p. 862-876, 2013.

KOÇAK, N. et al. Synthesis and characterization of novel nano-chitosan Schiff base and use of lead (II) sensor. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 51, p. 1159-1166, 2012.

KOCHEM, L. H. et al. Characterization of a Novel Flat-Panel Airlift Photobioreactor With an Internal Heat Exchanger. **Chemical Engineering & Technology**, v. 37, p. 1-7, 2014.

LANANAN, F. et al. Effect of Conway Medium and f/2 Medium on the growth of six genera of South China Sea marine microalgae. **Bioresource Technology**, v. 141, p. 75-82, 2013.

LEE, D. et al. Coagulation-membrane filtration *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 108, p. 184-189, 2012.

LEE, J. et al. Microalgae-associated bacteria play a key role in the flocculation of *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 131, p. 195-201, 2013.

LICHTENTHALER, H. K.; BUSCHMANN, C. **Chlorophylls and carotenoids - Measurement and characterisation by UV-VIS**. In: Current Protocols in Food Analytical Chemistry. Madison: John Wiley&Sons, p. F4.3.1-F4.3.8, 2001.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações**. São Carlos: Rima, 2006.

HABERT, A. C. et al. **Processos de Separação com membranas**. Rio de Janeiro: E-papers, 2006.

HU, Z.G. et al. The sorption of acid dye onto chitosan nanoparticles. **Polymer**, v. 47, p. 5838-5842, 2006.

LÓPEZ-LEÓN, T. et al. Physicochemical characterization of chitosan nanoparticles: electrokinetic and stability behavior. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 283, p. 344-351, 2005.

LUNA-FINKLER, C. L.; FINKLER, L. Production of concentrates of bacterial bio-insecticide *Bacillus thuringiensis* var. *israelenses* by flocculation/sedimentation. **Acta Tropica**, v. 107, p. 134-138, 2008.

MENDES, C. G. N. **Estudo da Coagulação e Flocculação de Águas Sintéticas e Naturais com Cor e Turbidez Variáveis**. 1989. Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual do Estado de São Paulo, São Carlos, 1989.

MERCADANTE, A. Z. R.-A., D. B. Carotenoids from yellow passion fruit (*Passiflora edulis*). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 46, p. 4102-4106, 1998.

MOTARJEMI, Y. et al. **Encyclopedia of Food Safety**. 1ª ed. Amsterdam: Elsevier. 2014. v. 1.

MULDER, M. **Basic principles of membrane technology**. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers, 1996.

NA, Y. et al. Evaluation of citrate-coated magnetic nanoparticles as draw solute for forward osmosis. **Desalination**, v. 347, p. 34-42, 2014.

-
- NEVES, A. L. P. et al. Factorial as tool in chitosan nanoparticles development by ionic gelation technique. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 445, p. 34-39, 2014.
- NOBLE, R. D.; STERN, S. A. **Membrane separations technology: principles and applications**. Amsterdam: Elsevier, 1995.
- NUNES, S. P.; PEINEMANN, K. V. **Membrane technology in the chemical industry**. Weinheim: Wiley-VCH, p. 299, 2001.
- NURRA, C. et al. Vibrating membrane filtration as improved technology for microalgae dewatering. **Bioresource Technology**, v. 157, p. 247-253, 2014.
- OLIVEIRA JUNIOR, E. N. **Caracterização dos efeitos de quitosana na inibição de fungos fitopatogênicos**. 2006. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2006.
- PEI, H. et al. The behaviors of *Microcystis aeruginosa* cells and extracellular microcystins during chitosan flocculation and flocs storage processes. **Bioresource Technology**, v. 151, p. 314-322, 2014.
- PHUKAN, M. M. et al. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. **Applied Energy**, v. 88, p. 3307-3312, 2011.
- PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 65, p. 635-648, 2004.
- RASHID, N. et al. Use of chitosan acid solutions to improve separation efficiency for harvesting of the microalga *Chlorella vulgaris*. **Chemical Engineering Journal**, v. 226, p. 238-242, 2013a.
- RASHID, N. et al. Rapid harvesting of freshwater microalgae using chitosan. **Process Biochemistry**, v. 48, p. 1107-1110, 2013b.
- RENAULT, F. et al. Chitosan for coagulation/flocculation processes – An eco-friendly approach. **European Polymer Journal**, v. 45, p. 1337-1348, 2009.

- SADIQ, I. M. et al. Ecotoxicity study of titania (TiO₂) NPs on two microalgae species: *Scenedesmus* sp. and *Chlorella* sp. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 74, p. 1180-1187, 2011.
- SANYANO, N. et al. Coagulation-flocculation of marine *Chlorella* sp. for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 147, p. 471-476, 2013.
- SOLVAL, K. M. Evaluation of chitosan nanoparticles as a glazing material for cryogenically frozen shrimp. **LWT – Food Science and Technology**, v. 57, p. 172-180, 2014.
- SPOLAORE, P. et al. Commercial Applications of Microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 101, p. 87-96, 2006.
- SUKENIK, A.; SHELEF, G. Algal autoflocculation – verification and proposed mechanism. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 26, p. 142–7, 1984.
- TANG, Z. et al. Neutral lipase from aqueous solutions on chitosan nano-particles. **Biochemical Engineering Journal**, v. 34, p. 217-223, 2007.
- TOLEDO, R. T. **Fundamentals of Food Process Engineering**. 3^a ed. Atenas: Springer, 2007.
- UTOMO, R. P. et al. Lutein recovery from *Chlorella* sp. ESP-6 with coagulants. **Bioresource Technology**, v. 139, p. 176-180, 2013.
- VANDAMME, D. et al. Influence of organic matter generated by *Chlorella vulgaris* on five different modes of flocculation. **Bioresource Technology**, v. 124, p. 508-511, 2012.
- VANDAMME, D. et al. Floc characteristics of *Chlorella vulgaris*: Influence of flocculation mode and presence of organic matter. **Bioresource Technology**, v. 151, p. 383-387, 2014.
- WANG, D. et al. Claisen-type degradation mechanism of cellulose triacetate membranes in ethanol-water mixtures. **Journal of Membrane Science**, v. 454, p. 119-125, 2014.
- WANG, J. et al. Synthesis, characterization and application of a novel starch-based flocculant with high flocculation and dewatering properties. **Water Research**, v. 47, p. 2643-2648, 2013.
- WEI, P. et al. A review of membrane technology for bioethanol production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 30, p. 388-400, 2014.

WEI, Y. et al. Synthesis and flocculating properties of cationic starch derivatives. **Carbohydrate Polymers**, v. 74, p. 673-679, 2008.

YOU, L. et al. Preparation and flocculation properties of cationic starch/chitosan crosslinking-copolymer. **Journal of Hazardous Materials**, v. 172, p. 38-45, 2009.

ZHANG, X. et al. A novel ethanol dehydration process by forward osmosis. **Chemical Engineering Journal**, v. 232, p. 397-404, 2013.

ZHANG, Y. et al. Dewatering of *Chlorella pyrenoidosa* using diatomite dynamics membrane: Filtration performance, membrane fouling and cake behavior. **Colloid and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 113, p. 458-466, 2014.

ZHAO, S. et al. Recent developments in forward osmosis: Opportunities and challenges. **Journal of Membrane Science**, v. 396, p. 1-21, 2012.

ZHAO, S.; ZOU, L. Effects of working temperature on separation performance, membrane scaling and cleaning in forward osmosis desalination. **Desalination**, v. 278, p. 157-164, 2011.

ZHENG, H. et al. Harvesting of microalgae by flocculation with poly (γ -glutamic acid). **Bioresource Technology**, v. 112, p. 212-220, 2012.

ZOU, S. et al. Direct microscopic observation of forward osmosis membrane fouling by microalgae: Critical flux and the role of operational conditions. **Journal of Membrane Science**, v. 436, p. 174-185, 2013.

ZOU, S. et al. The role of physical and chemical parameters on forward osmosis membrane fouling during algae separation. **Journal of Membrane Science**, v. 366, p. 356-362, 2011.

Apêndice A – Análise Estatística dos Dados

Neste apêndice estão apresentadas as tabelas referentes às análises estatísticas dos dados experimentais de coagulação e osmose direta.

Tabela A.1 Análise estatística dos dados experimentais do amido catiônico, concentração de 10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹.

F	P	F_{crítico}
0,51	0,76	3,11
Grupo	Média	
10	0,57 ^a	
40	0,54 ^a	
80	0,50 ^a	
100	0,51 ^a	
130	0,49 ^a	
150	0,50 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.2 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, concentração de 10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹.

F	P	F_{crítico}
1,27	0,34	3,11
Grupo	Média	
10	0,77 ^a	
40	0,84 ^a	
80	0,82 ^a	
100	0,78 ^a	
130	0,84 ^a	
150	0,88 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.3 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, concentração de 30 mg L⁻¹ a 55 mg L⁻¹.

F	P	F_{crítico}
0,46	0,80	3,11
Grupo	Média	
30	0,77 ^a	
35	0,84 ^a	
40	0,82 ^a	
45	0,78 ^a	
50	0,84 ^a	
55	0,88 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.4 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, pH de 6,0 a 9,0.

F	P	F_{crítico}
18,43	2,93×10 ⁻⁵	3,11
Grupo	Média	
6,0	0,84 ^{a,b}	
7,0	0,88 ^a	
7,5	0,87 ^a	
8,0	0,60 ^{c,d}	
8,5	0,46 ^d	
9,0	0,65 ^{b,c}	

Legenda: ^{a,b,c} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.5 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, tempo de mistura de 5 min a 120 min.

F	P	<i>F</i>_{crítico}
67,18	$2,36 \times 10^{-8}$	3,11
Grupo	Média	
5	0,69 ^c	
20	0,84 ^b	
40	0,94 ^a	
60	0,94 ^s	
90	0,91 ^a	
120	0,90 ^a	

Legenda: ^{a,b,c} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.6 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm.

F	valor-P	<i>F</i>_{crítico}
15,81	$6,42 \times 10^{-5}$	3,11
Grupo	Média	
30	0,98 ^a	
60	0,89 ^b	
90	0,87 ^{b,c}	
100	0,81 ^{b,c}	
120	0,80 ^c	
150	0,86 ^{b,c}	

Legenda: ^{a,b,c} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.7 Análise estatística dos dados experimentais da quitosana, tempo de sedimentação de 5 min a 100 min.

F	P	<i>F</i>_{crítico}
0,93	0,49	3,11
Grupo	Média	
5	0,97 ^a	
10	0,97 ^a	
20	0,98 ^a	
30	0,98 ^a	
60	0,98 ^a	
100	0,98 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.8 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, concentração de 10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹.

F	P	<i>F</i>_{crítico}
3,29	0,04	3,11
Grupo	Média	
10	0,66 ^b	
40	0,96 ^a	
80	0,90 ^{a,b}	
100	0,74 ^{a,b}	
130	0,74 ^{a,b}	
150	0,76 ^{a,b}	

Legenda: ^{a,b} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.9 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, concentração de 20 mg L⁻¹ a 50 mg L⁻¹.

F	P	F _{crítico}
0,46	0,80	3,11
Grupo	Média	
20	0,90 ^a	
30	0,89 ^a	
35	0,85 ^a	
40	0,86 ^a	
45	0,87 ^a	
50	0,90 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.10 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, pH de 6,0 a 9,0.

F	P	F _{crítico}
57,86	5,86×10 ⁻⁸	3,11
Grupo	Média	
6,0	0,98 ^a	
7,0	0,98 ^a	
7,5	0,79 ^b	
8,0	0,95 ^{a,b}	
8,5	0,39 ^c	
9,0	0,42 ^c	

Legenda: ^{a,b,c} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.11 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, tempo de mistura de 5 min a 120 min.

F	P	F _{crítico}
2,92	0,06	3,11
Grupo	Média	
5	0,94 ^a	
20	0,87 ^a	
40	0,91 ^a	
60	0,88 ^a	
90	0,82 ^a	
120	0,86 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.12 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm.

F	P	F _{crítico}
16,20	5,67×10 ⁻⁵	3,11
Grupo	Média	
30	0,97 ^a	
60	0,98 ^a	
90	0,98 ^a	
100	0,96 ^{a,b}	
120	0,91 ^{b,c}	
150	0,86 ^{b,c}	

Legenda: ^{a,b,c} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.13 Análise estatística dos dados experimentais da nano-quitosana, tempo de sedimentação de 5 min a 100 min.

F	P	F _{crítico}
12,91	1,75×10 ⁻⁴	3,11
Grupo	Média	
5	0,61 ^c	
10	0,64 ^{b,c}	

20	0,67 ^{b,c}
30	0,70 ^{b,c}
60	0,97 ^a
100	0,79 ^b

Legenda: ^{a,b,c} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.14 Análise estatística dos dados experimentais do extrato de tanino puro, concentração de 10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹.

	F	P	F _{crítico}
	0,06	1,00	3,11
Grupo	Média		
10	0,36 ^a		
40	0,33 ^a		
80	0,35 ^a		
100	0,36 ^a		
130	0,32 ^a		
150	0,33 ^a		

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.15 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, concentração de 10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹.

	F	P	F _{crítico}
	46,92	1,83×10 ⁻⁷	3,11
Grupo	Média		
10	0,34 ^d		
40	0,52 ^c		
80	0,74 ^b		
100	0,84 ^{a,b}		
130	0,97 ^a		
150	0,96 ^a		

Legenda: ^{a,b,c,d} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.16 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, concentração de 110 mg L⁻¹ a 135 mg L⁻¹.

	F	P	F _{crítico}
	0,16	0,972	3,11
Grupo	Média		
110	0,92 ^a		
115	0,92 ^a		
120	0,95 ^a		
125	0,95 ^a		
130	0,95 ^a		
135	0,95 ^a		

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.17 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, pH de 6,0 a 9,0.

	F	P	F _{crítico}
	2,13	0,13	3,11
Grupo	Média		
6,0	0,97 ^a		
7,0	0,96 ^a		
7,5	0,97 ^a		
8,0	0,98 ^a		
8,5	0,95 ^a		
9,0	0,94 ^a		

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.18 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, tempo de mistura de 5 min a 120 min.

F	P	F_{crítico}
12,91	$1,75 \times 10^{-4}$	3,11
Grupo	Média	
5	0,99 ^a	
20	0,99 ^a	
40	0,98 ^a	
60	0,98 ^a	
90	0,97 ^a	
120	0,89 ^b	

Legenda: ^{a,b} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.19 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm.

F	P	F_{crítico}
0,84	0,54	3,11
Grupo	Média	
30	0,98 ^a	
60	0,99 ^a	
90	0,98 ^a	
100	0,99 ^a	
120	0,98 ^a	
150	0,99 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.20 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, tempo de sedimentação de 5 min a 100 min.

F	P	F_{crítico}
1,81	0,18	3,11
Grupo	Média	
5	0,98 ^a	
10	0,99 ^a	
20	0,99 ^a	
30	0,98 ^a	
60	0,98 ^a	
100	0,99 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.21 Análise estatística dos dados experimentais do tanino sulfitado, concentração de 10 mg L⁻¹ a 150 mg L⁻¹.

F	P	F_{crítico}
5,47	$7,5 \times 10^{-3}$	3,11
Grupo	Média	
10	0,62 ^b	
40	0,63 ^b	
80	0,71 ^{a,b}	
100	0,80 ^a	
130	0,71 ^{a,b}	
150	0,69 ^{a,b}	

Legenda: ^{a,b} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.22 Análise estatística dos dados experimentais do tanino sulfitado, concentração de 100 mg L⁻¹ a 135 mg L⁻¹.

F	P	F_{crítico}
2,16	0,13	3,11
Grupo	Média	
100	0,63 ^a	

115	0,60 ^a
120	0,65 ^a
125	0,65 ^a
130	0,71 ^a
135	0,66 ^a

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.23 Análise estatística dos dados experimentais do tanino sulfitado, pH de 6,0 a 9,0.

F	P	F _{crítico}
1,19	0,37	3,11
Grupo	Média	
6,0	0,63 ^a	
7,0	0,63 ^a	
7,5	0,61 ^a	
8,0	0,70 ^a	
8,5	0,73 ^a	
9,0	0,70 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.24 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, tempo de mistura de 5 min a 120 min.

F	P	F _{crítico}
1,38	0,30	3,11
Grupo	Média	
5	0,71 ^a	
20	0,72 ^a	
40	0,62 ^a	
60	0,68 ^a	
90	0,70 ^a	
120	0,67 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.25 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, velocidade de mistura de 30 rpm a 150 rpm.

F	P	F _{crítico}
2,98	0,06	3,11
Grupo	Média	
30	0,75 ^a	
60	0,73 ^a	
90	0,66 ^a	
100	0,68 ^a	
120	0,73 ^a	
150	0,68 ^a	

Legenda: ^a letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.26 Análise estatística dos dados experimentais do tanino catiônico, tempo de sedimentação de 5 min a 100 min.

F	P	F _{crítico}
1,81	0,18	3,11
Grupo	Média	
5	0,45 ^c	
10	0,46 ^c	
20	0,49 ^c	
30	0,58 ^b	
60	0,68 ^a	
100	0,68 ^a	

Legenda: ^{a,b,c} letras iguais representam valores iguais estatisticamente a um nível de significância de 0,05.

Tabela A.27 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga *in natura*.

Fluxo permeado			Fluxo de soluto		
F	P	$F_{crítico}$	F	P	$F_{crítico}$
0,02	0,91	18,51	2,04	0,29	18,51

Tabela A.28 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga coagulada com quitosana.

Fluxo permeado			Fluxo de soluto		
F	P	$F_{crítico}$	F	P	$F_{crítico}$
0,30	0,64	18,51	0,31	0,63	18,51

Tabela A.29 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga coagulada com nano-quitosana.

Fluxo permeado			Fluxo de soluto		
F	P	$F_{crítico}$	F	P	$F_{crítico}$
0,01	0,93	18,51	2,75	0,24	18,51

Tabela A.30 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga coagulada com tanino catiônico.

Fluxo permeado			Fluxo de soluto		
F	P	$F_{crítico}$	F	P	$F_{crítico}$
1,35	0,37	18,51	2,09	0,29	18,51

Tabela A.31 Análise estatística dos dados de fluxo (osmose direta) – caracterização da membrana microalga coagulada com tanino sulfitado.

Fluxo permeado			Fluxo de soluto		
F	P	$F_{crítico}$	F	P	$F_{crítico}$
10,57	0,08	18,51	0,31	0,63	18,51

Apêndice B – Curvas de Calibração

Este apêndice contém as curvas de calibração utilizadas para a determinação do fluxo inverso de soluto, da solução osmótica para a solução de alimentação, nos experimentos de caracterização da membrana e de concentração de biomassa algal.

Para a quantificação do fluxo inverso de soluto durante os experimentos de caracterização da membrana, foi construída uma curva de calibração da condutividade elétrica em função da concentração mássica de cloreto de sódio. Para a curva de calibração da condutividade elétrica, dada em $\mu\text{S cm}^{-1}$, expressa como função da concentração mássica de cloreto de sódio, dada em g L^{-1} , foi obtido um coeficiente angular de $2068 \mu\text{S L cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. O coeficiente de determinação da curva de calibração da Figura B.1, igual a 0,9982, demonstra a tendência linear da condutividade elétrica com a concentração de cloreto de sódio dentro da faixa estudada.

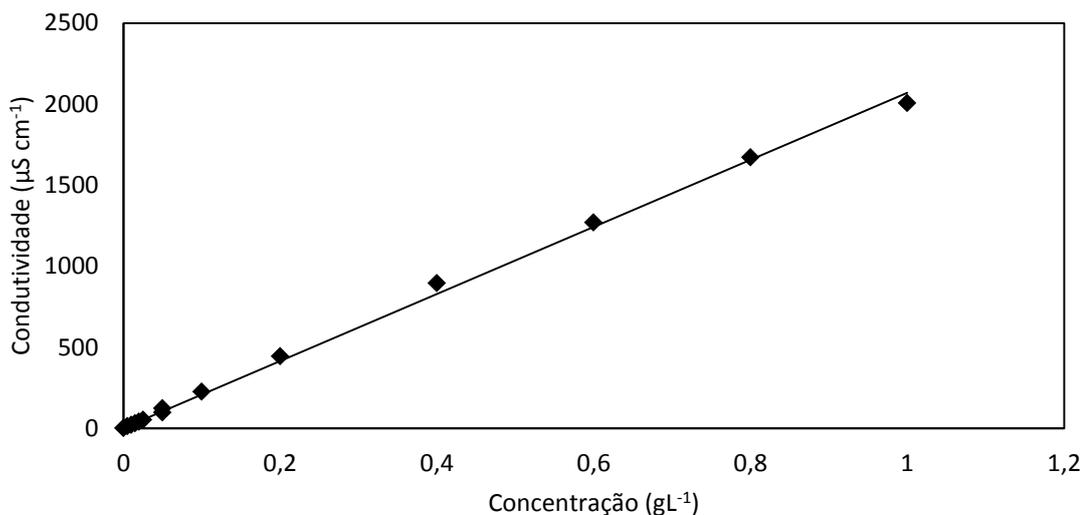


Figura B.43 Curva de calibração do fluxo inverso de soluto, da solução osmótica para a solução de alimentação. Curva constituída por quatorze pontos com concentrações de NaCl entre 0 g L^{-1} e $1,0 \text{ g L}^{-1}$, medidos em triplicata.

Para a quantificação do fluxo inverso de soluto durante os experimentos de concentração da biomassa algal, foi construída uma curva de calibração da condutividade elétrica em função da concentração mássica de sal marinho (Red Sea). Para a curva de calibração da condutividade elétrica para os experimentos, dada em $\mu\text{S cm}^{-1}$, expressa como função da concentração mássica de sal marinho, dada em g L^{-1} , foi obtido um coeficiente angular de $0,64 \mu\text{S L cm}^{-1} \text{g}^{-1}$. O coeficiente de determinação da curva de calibração da Figura

B.2, igual a 0,9889, demonstra a tendência linear da condutividade elétrica com a concentração de sal marinho dentro da faixa estudada.

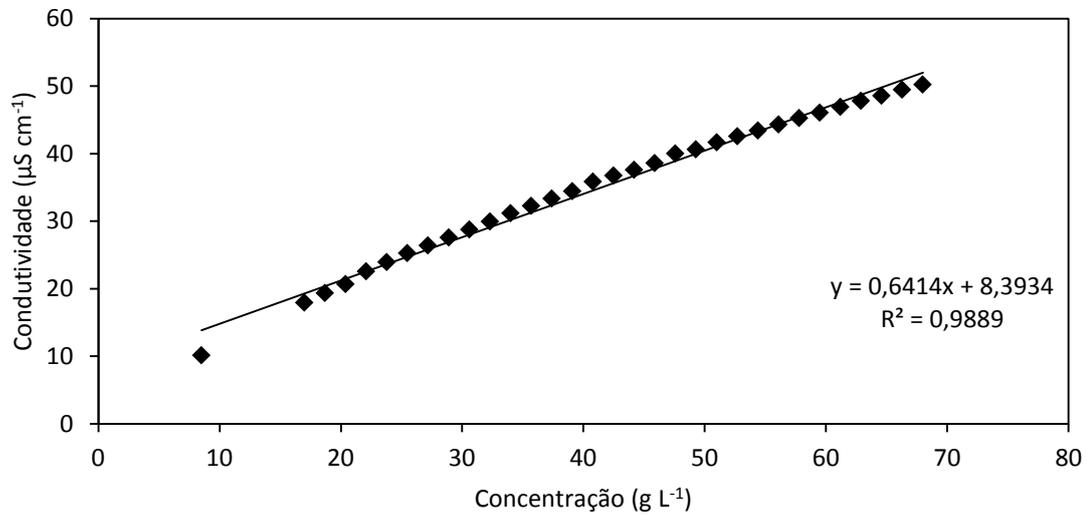


Figura B.44 Curva de calibração do fluxo inverso de soluto, da solução osmótica para a solução de alimentação. Curva constituída por trinta e três pontos com concentrações de sal marinho (Red Sea) entre 8,5 g L⁻¹ e 68,0 g L⁻¹, medidos em duplicata.

Apêndice C – Duplicatas dos Experimentos de Filtração por OD

Neste apêndice estão apresentadas as duplicatas da primeira etapa de concentração.

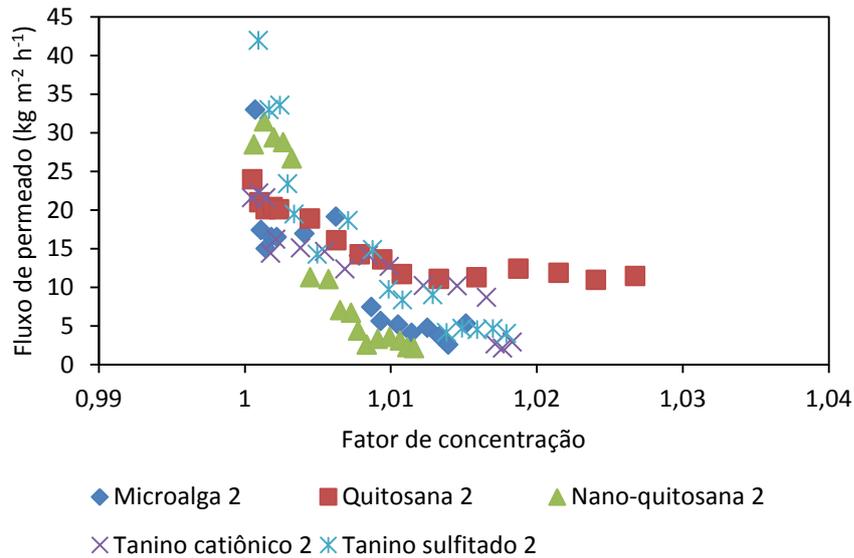


Figura C.45 Duplicata do fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do fator de concentração. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

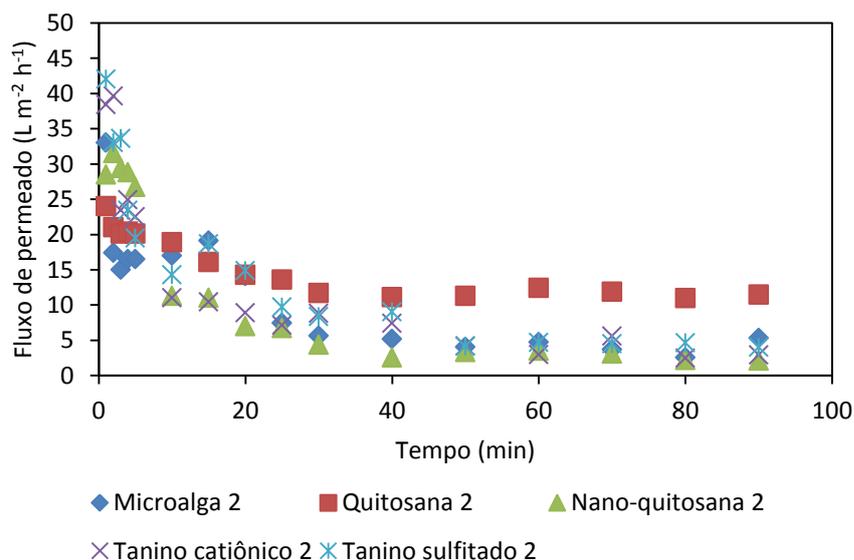


Figura C.46 Duplicata do fluxo de permeado para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).

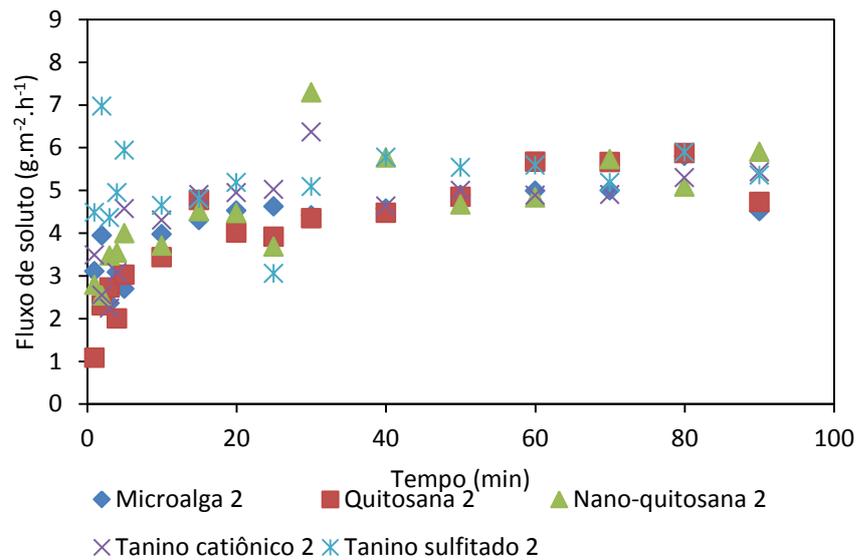


Figura C.47 Duplicata do fluxo inverso de soluto para a membrana TAC nos experimentos de OD durante a primeira filtração de biomassa algal em processo combinado, em função do tempo. Condições de operação: temperatura de 20 ± 1 °C, vazão de alimentação de $3,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,78 \text{ m s}^{-1}$) e vazão da solução osmótica de $4,6 \text{ L min}^{-1}$ (velocidade tangencial de $0,98 \text{ m s}^{-1}$).