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

**Concentração da biomassa de *Chlorella* sp. utilizando sistema de filtração
com membrana submersa**

- Dissertação de Mestrado -

Carolina Garcia Nick

Porto Alegre

2022

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

**Concentração da biomassa de *Chlorella* sp. utilizando sistema de filtração
com membrana submersa**

Carolina Garcia Nick

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

Orientadores:

Prof.^a Dr.^a Isabel Cristina Tessaro

Prof.^o Dr.^o Nilson Romeu Marcilio

Co-orientadora:

Dr.^a Julia Frick

Porto Alegre

2022

AGRADECIMENTOS

Aos meus orientadores Isabel Cristina Tessaro e Nilson Romeu Marcilio pela confiança, paciência, incentivo, compreensão e amizade durante o longo período de realização desta dissertação.

À colaboradora sempre presente e disposta a ajudar Julia Frick pelos conselhos, correções, ideias e orientação.

Aos colegas do Laboratório de Processos de Separação por Membranas da UFRGS pela amizade nos anos de mestrado.

Ao Departamento de Engenharia da Química pela estrutura física dos laboratórios disponibilizada.

À minha família e amigos que me incentivaram a chegar ao fim desta jornada sempre com palavras de apoio.

E a todos que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho.
Muito obrigada!

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 *Concentração da biomassa de Chlorella sp. utilizando sistema de filtração com membrana submersa*, elaborada por Carolina Garcia Nick, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Engenharia.

Comissão Examinadora:

Prof. Dra.

Prof. Dra.

Dra.

Resumo

As microalgas vêm despertando grande interesse de pesquisadores em vista de sua grande aplicabilidade na indústria de alimentos e farmacêutica, e nas áreas da biomedicina e ambiental. A produção das microalgas envolve etapas de cultivo, recuperação e purificação da biomassa, sendo a etapa de recuperação um dos principais obstáculos da produção deste microrganismo, devido às baixas concentrações celulares obtidas no cultivo. Desta maneira, destaca-se a técnica de microfiltração para a concentração das microalgas no próprio meio de cultura. O objetivo deste trabalho foi avaliar a capacidade de concentração de biomassa da microalga *Chlorella* sp. utilizando um sistema de microfiltração com membranas submersas. Para isso, foram realizados cultivos de *Chlorella* sp. para a obtenção das suspensões que foram concentradas, experimentos de caracterização das membranas de polieterimida (PEI) e poli(fluoreto de vinilideno) (PVDF) do tipo fibra-oca, definição das melhores condições de operação do processo de microfiltração submersa para a concentração celular, avaliação da tendência ao *fouling* para cada uma das membranas utilizadas e avaliação da integridade e viabilidade celular das microalgas, após a etapa de concentração da biomassa. Por apresentarem maior tamanho de poro e uma estrutura de fibra menos densa, os módulos construídos com membrana de PEI apresentaram melhores resultados de filtração em comparação com os módulos fabricados com membranas de PVDF. Os dois módulos construídos com PEI apresentaram permeância hidráulica de 77,62 L m² h⁻¹ bar⁻¹ e 83,23 L m² h⁻¹ bar⁻¹, enquanto os módulos construídos com PVDF apresentaram permeância hidráulica de 32,52 L m² h⁻¹ bar⁻¹ e 26,29 L m² h⁻¹ bar⁻¹. Estes valores mostram que o fluxo através das membranas de PEI é maior do que através das membranas de PVDF fazendo com que a filtração das microalgas ocorra de maneira mais rápida. A utilização da técnica de relaxamento das membranas ao longo do experimento foi de extrema importância para que o fluxo de permeado retornasse aos valores iniciais e, por consequência, o objetivo de fator de concentração igual 2 fosse atingido mais rapidamente. Ao longo dos experimentos, as membranas de PEI atingiram a concentração de 2 g L⁻¹ de microalgas em um tempo inferior ao necessário para as membranas de PVDF. A redução no fluxo de permeado causada pelo *fouling* nestes processos de filtração chegou a 64% para as membranas de PEI e 71% para as de PVDF. Em nenhuma das filtrações foram observados prejuízos quanto à integridade das microalgas, ou seja, tanto a aeração do tanque quanto a pressão transmembrana estavam adequadas aos experimentos. O emprego de corantes para determinação da viabilidade celular das microalgas foi uma técnica simples e visual de observação da integridade dos microrganismos. Portanto, as condições definidas para os procedimentos se mostraram adequadas e a membrana de PEI apresentou melhores resultados para a microfiltração submersa de microalgas.

Palavras-chave: microalgas, filtração com membranas submersas, microfiltração.

Abstract

Microalgae have been attracting great interest from researchers in view of their wide applicability in the food and pharmaceutical industry, and in the area of biomedicine and the environment. The production of microalgae involves stages of cultivation, recovery and purification of biomass, the stage of recovery being one of the main obstacles to the production of this microorganism, due to the low cell concentrations obtained in the cultivation. In this way, the microfiltration technique stands out for the concentration of microalgae in the culture medium itself. The objective of this work was to evaluate the biomass concentration capacity of the microalgae *Chlorella* sp. using a microfiltration system with submerged membranes. For this purpose, crops of *Chlorella* sp. were grown to obtain the suspensions that were concentrated, experiments to characterize the hollow fiber polyetherimide (PEI) and poly(vinylidene fluoride) (PVDF) membranes, defining the best operating conditions for the submerged microfiltration process for cellular concentration, evaluation of the tendency of fouling for each of the membranes used and evaluation of the cellular integrity and viability of the microalgae, after the biomass concentration stage. Due to their larger pore size and a less dense fiber structure, modules built with PEI membrane showed better results compared to modules made with PVDF membranes. Both modules built with PEI showed hydraulic permeability of 77.62 L m² h⁻¹ bar⁻¹ and 83.23 L m² h⁻¹ bar⁻¹, while modules built with PVDF showed hydraulic permeability of 32.52 L m² h⁻¹ bar⁻¹ and 26.29 L m² h⁻¹ bar⁻¹. These values show that the flux through PEI membranes is much greater than through the PVDF membranes, leading to a fastest microalgae filtration. The use of the membrane relaxation technique throughout the experiment was extremely important for the permeate flow to return to the initial values and, consequently, the objective of equal concentration factor 2 was reached more quickly. Throughout the experiment, PEI membranes reached a concentration of 2 g L⁻¹ of microalgae in a shorter time than that required for PVDF membranes. The reduction in permeate flow caused by fouling in these filtration processes reached 64% for PEI membranes and 71% for PVDF membranes. In none of the filtrations were losses observed as to the integrity of the microalgae, that is, both the aeration of the tank and the transmembrane pressure were adequate for the experiments. The use of dyes to determine the cellular viability of microalgae was a simple and visual technique for observing the integrity of microorganisms. Therefore, the conditions defined for the procedures proved to be adequate and the PEI membrane showed better results for the submerged microfiltration of microalgae.

Keywords: microalgae, filtration with submerged membranes, microfiltration.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1: Fotografia da microalga <i>Chlorella sp.</i>	18
Figura 2: Fotografia do biorreator no início do cultivo da microalga <i>Chlorella sp</i> indicando os itens que compõem o equipamento.	20
Figura 3: Representação esquemática de um sistema de duas fases com separação por membranas.....	22
Figura 4: Representação esquemática da seção transversal dos diferentes tipos de morfologia das membranas sintéticas.....	23
Figura 5: Configurações de escoamento do processo de filtração por membranas: Esquerda – perpendicular ou transversal (<i>dead-end</i>), Direita – tangencial ou cruzado (<i>crossflow</i>).	24
Figura 6: Esquema de um sistema de filtração com membrana submersa.	28
Figura 7: Exemplo de experimento que demonstra o ponto de fluxo crítico.	30
Figura 8: Ângulos de contato de líquidos com superfície sólida: (a) perfeitamente molhante (hidrofílico), (b) predominantemente molhante (hidrofílico), (c) predominantemente.....	32
Figura 9: Câmara Neubauer (A) e rede de quadrantes (B).	32
Figura 10: Imagens dos módulos de membranas em processo de fabricação. A - Inserção das fibras; B - Colagem das fibras em um tampão de PVC de 1/2 in.....	36
Figura 11: Desenho esquemático do sistema de bancada de microfiltração com membranas submersas. Tanque de filtração (1), o módulo de filtração (2), bomba de vácuo (3), tanque para recolher o permeado (4), balança semi-analítica (5) e aerador (6).	37
Figura 12: Fotografia do sistema de bancada de microfiltração com membranas submersas, onde: (1) tanque de filtração; (2) módulo de filtração; (3) bomba à vácuo; (4) tanque de armazenamento de permeado; (5) balança; (6) placa porosa.	38
Figura 13: Fotografia dos frascos com pré-inóculos dentro da estufa rotatória no primeiro dia (A) e ao final do sétimo dia (B).	40
Figura 14: Fotografia dos fotobiorreatores utilizados para o cultivo das microalgas.	41
Figura 15: Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier da membrana da PAM – Membranas Seletivas Ltda e de uma amostra de membrana de Poli(éter-imida).	46
Figura 16: Fluxo permeado em função da pressão transmembrana para membranas fabricadas em PEI: permeância hidráulica de dois módulos diferentes. Módulo 1 – permeância hidráulica	

de 83,2 L m² h⁻¹ bar⁻¹ e R² de 0,9877. Módulo 2 – permeância hidráulica de 77,6 L m² h⁻¹ bar⁻¹ e R² de 0,9503.....47

Figura 17: Fluxo permeado em função da pressão transmembrana para membranas fabricadas em PVDF: permeância hidráulica de dois módulos diferentes. Módulo A – permeância hidráulica de 32,5 L m² h⁻¹ bar⁻¹ e R² de 0,9448. Módulo B – permeância hidráulica de 26,3 L m² h⁻¹ bar⁻¹ e R² de 0,9796.47

Figura 18: Fotografias de medida de ângulo de contato para as membranas de PEI e PVDF. A - Membrana de PEI com característica hidrofílica. B - Membrana de PVDF com característica levemente hidrofóbica.49

Figura 19: Micrografias da superfície das membranas obtidas por MEV. A - Membrana de PEI – 10 kV, aumento de 3000 x. B - Membrana de PVDF - 15 kV, aumento de 3500 x.....50

Figura 20: Micrografias da seção transversal das membranas obtidas por MEV. A - Membrana de PEI voltagem de aceleração de 10 kV, aumento de 450x. B - Membrana de PVDF, voltagem de aceleração de 15 kV, aumento de 3500x.50

Figura 21: Média de concentração das microalgas na suspensão, durante o processo de cultivo em reatores *airlift* ao longo do tempo.....51

Figura 22: Média dos valores de fluxo permeado para água destilada no processo de compactação de das membranas de PEI. Condições de operação: pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25 °C. As médias de fluxo são de dois módulos diferentes.....52

Figura 23: Média dos valores de fluxo permeado para água destilada no processo de compactação de das membranas de PVDF. Condições de operação: pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25 °C. As médias de fluxo são de dois módulos diferentes. ..53

Figura 24: Valores de fluxo de permeado médio para a membrana PEI para diferentes pressões transmembrana. Concentração inicial da suspensão contendo microalgas de 1g/L, 3 litros de solução algal no tanque de alimentação e temperatura de 25°C.....54

Figura 25: Valores de fluxo de permeado médio para a membrana PVDF para diferentes pressões transmembrana. Concentração inicial da suspensão contendo microalgas de 1g/L, 3 litros de solução algal no tanque de alimentação e temperatura de 25°C.....55

Figura 26: Valores de fluxo de permeado médio para os experimentos de filtração da suspensão de microalgas com a membrana de PEI. Condições de operação: Concentração inicial da suspensão contendo microalgas de 1,17 g/L, 3 litros de solução algal no tanque de alimentação, pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25°C.56

Figura 27: Valores de fluxo de permeado médio para os experimentos de filtração de solução de microalgas com a membrana de PVDF. Condições de operação: Concentração inicial da

suspensão contendo microalgas de 1,02 g/L, 3 litros de solução algal no tanque de alimentação, pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25°C.	58
Figura 28: Fluxo permeado médio de água destilada antes e após a filtração com a suspensão de microalgas para módulos construídos com membranas PEI. Módulo 1 – tendência ao <i>fouling</i> de 64 %. Módulo 2 – tendência ao <i>fouling</i> de 63 %. Condições de operação: volume de 3 litros de água destilada no tanque de alimentação, pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25°C.	60
Figura 29: Fluxo permeado médio de água destilada antes e após a filtração com a suspensão de microalgas para os módulos construídos com membranas de PVDF: Módulo A - tendência ao <i>fouling</i> . de 71 %. Módulo B – tendência ao <i>fouling</i> de 70,7 %. Condições de operação: volume de 3 litros de água destilada no tanque de alimentação, pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25°C.	61
Figura 30: Fotografias das microalgas com aumento de 40x. A – Microalgas antes do processo de filtração. B - Microalgas após processo de filtração. Experimento com as membranas de PEI.	62
Figura 31: Número de células viáveis: ao final do cultivo das microalgas e após a filtração com membrana submersa.	63
Figura 32: Fotografias das microalgas marcadas com corantes antes do procedimento de filtração. A- Células marcadas com corante Vermelho Neutro. B – Células marcadas com corante Azul de Evans.	64
Figura 33: Fotografias das microalgas marcadas com corantes após procedimento de filtração. A- Células marcadas com corante Vermelho Neutro. B – Células marcadas com corante Azul de Evans.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 : Classificação das algas, número aproximado de espécies conhecidas em cada grupo e principal habitat.	18
Tabela 2: Características relevantes dos processos de separação por membranas.	26
Tabela 3: Características das membranas utilizadas fornecidas pelos fabricantes.	35
Tabela 4: Valores médios de ângulo de contato para as membranas de PVDF e PEI utilizadas.	48
Tabela 5: Valores médios de concentração da suspensão algal durante a filtração com membranas de PEI.	57
Tabela 6: Valores médios de concentração da suspensão algal durante a filtração com membranas de PVDF.	59

LISTA DE SIGLAS, ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

α – FATOR DE SELETIVIDADE

BIOENG - LABORATÓRIO DE BIOENGENHARIA

CO - CONCENTRAÇÃO DA ESPÉCIE NA ALIMENTAÇÃO

CP - CONCENTRAÇÃO NO PERMEADO

D - DIÁLISE

D_p - DIFERENCIAL DE PRESSÃO

e - ESPESSURA

ED - ELETRODIALISE

EPS - SUBSTÂNCIAS POLIMÉRICAS EXTRACELULARES

FC - FATOR DE CONCENTRAÇÃO

FCV - FATOR DE CONCENTRAÇÃO VOLUMÉTRICO

ICTA - INSTITUTO DE CIÊNCIAS E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS

J - FLUXO PERMEADO

L_p - PERMEABILIDADE DA MEMBRANA

MEV - MICROSCÓPIO ELETRÔNICO DE VARREDURA

MF - MICROFILTRAÇÃO

MM - MASSA MOLAR

Na₂SiO₃.9H₂O - SILICATO DE SÓDIO

NaH₂PO₃.H₂O - FOSFATO DE SÓDIO

NaNO₃ - NITRATO DE SÓDIO

NF - NANOFILTRAÇÃO

OI - OSMOSE INVERSA

PEI - POLIETERIMIDA

PG - PERMEAÇÃO DE GASES

PV - PERVAPORAÇÃO

PVC - POLI(CLORETO DE VINILA)

PVDF POLIFLUORETO DE VINILIDENO

Robs - COEFICIENTE DE RETENÇÃO

UF - ULTRAFILTRAÇÃO

UFRGS - UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL

VO - VOLUME INICIAL DA SOLUÇÃO

VP - VOLUME DE PERMEADO

VR - VOLUME RETIDO

SUMÁRIO

Capítulo 1 - Introdução	15
1.1 Objetivo	16
1.2 Estrutura da dissertação	16
Capítulo 2 – Fundamentos teóricos e revisão bibliográfica	17
2.1. Microalgas	17
2.1.1. Microalga <i>Chlorella</i> sp.	18
2.2. Técnicas de cultivo de microalgas	19
2.3. Processos de recuperação de biomassa	20
2.3.1. Processos de separação por membranas	22
2.4. Microfiltração com membrana submersa para concentração de microalgas	27
2.5. Parâmetros operacionais do processo de microfiltração	29
2.6 Considerações finais da revisão bibliográfica	33
Capítulo 3 - Materiais e Métodos	34
3.1. Microalgas e meio de cultivo	34
3.2. Membranas e módulos	35
3.3. Sistema de filtração	37
3.4. Caracterização das membranas	38
3.4.1 Permeância hidráulica e determinação do percentual de <i>fouling</i>	38
3.4.3 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	39
3.4.4 Medida de ângulo de contato.....	39
3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	39
3.5. Metodologia experimental	40
3.5.1 Pré-inóculo	40
3.5.2 Cultivo em biorreatores	40
3.5.3 Compactação da membrana.....	42
3.5.4 Determinação do fluxo crítico	43
3.5.5 Experimento de concentração das microalgas.....	43
3.6. Análises para microalgas	44
3.6.1 Microscopia ótica	44
3.6.2 Câmara Neubauer	44
3.6.3 Análise de viabilidade celular.....	44
Capítulo 4 – Resultados e Discussão	45

4.1. Caracterização das membranas	45
4.1.1 Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FT-IR)	45
4.1.2 Permeância hidráulica.....	46
4.1.3 Medida de ângulo de contato	48
4.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	49
4.2 Cultivo de microalgas	50
4.3. Experimentos de concentração	51
4.3.1 Compactação das membranas.....	51
4.3.2 Determinação do fluxo crítico	53
4.3.3 Concentração da suspensão de microalgas	55
4.3.4 Determinação do percentual de <i>fouling</i>	59
4.4. Análises para microalgas	61
4.4.1 Microscopia ótica.....	61
4.4.2 Câmara Neubauer	62
4.4.3 Viabilidade celular através do emprego de corantes	63
Capítulo 5 - Conclusões e sugestões para trabalhos futuros.....	66
Referências	68

Capítulo 1 - Introdução

O interesse em microalgas tem aumentado muito nos últimos anos, devido à biodiversidade e consequente variabilidade na composição bioquímica da biomassa obtida das culturas microalgais. Dentre os inúmeros compostos extraídos das microalgas, podem ser relacionados ácidos graxos poliinsaturados, carotenóides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos compostos bioativos naturais (antioxidantes, redutores do colesterol, etc.). Desta forma, diversos estudos de produção de microalgas vêm sendo relatados na literatura, em relação a sua utilização como alimento, na farmacologia, como antioxidantes e antibióticos, na produção de biodiesel, no tratamento de águas residuais, na obtenção de diversos compostos com alto valor agregado, como corantes naturais e ácidos graxos, e também para biofixar CO₂ da atmosfera.

A produção das microalgas envolve as etapas de cultivo, recuperação da biomassa do meio de cultura e purificação. A etapa de concentração da biomassa, na qual ocorre a remoção de elevadas quantidades de meio de cultura das células, devido às baixas concentrações celulares obtidas no cultivo, pode representar cerca de 20 a 30 % do custo total da produção de microalgas. Desta maneira, uma seleção adequada do método de concentração é necessária para obter-se uma alta concentração celular e um menor custo de produção. Neste contexto, vários métodos de concentração de biomassa algal têm sido reportados na literatura, que incluem sedimentação, centrifugação, floculação, filtração convencional e os métodos de separação por membranas, tais como microfiltração e ultrafiltração.

A aplicação de processos com membranas como microfiltração (MF) e ultrafiltração (UF) se mostra uma alternativa promissora para a concentração de biomassa algal, pois estes apresentam vantagens em relação aos processos convencionais, ou seja, a concentração da biomassa é realizada de forma seletiva, os processos envolvem um baixo custo energético, não necessitam da adição de compostos químicos e, geralmente, é mantida a integridade celular das microalgas. Estudos têm demonstrado a eficácia da MF e UF, em configuração *cross-flow*, para concentração de biomassa algal. Esta configuração oferece uma elevada produtividade devido às altas taxas de cisalhamento e velocidades de escoamento sobre a superfície da membrana. No entanto, esses parâmetros devem ser selecionados levando em consideração a integridade das células e o consumo de energia. A exposição das microalgas ao cisalhamento excessivo, especialmente em sistemas com bombeamento, pode ocasionar o rompimento das células

formando partículas menores (coloide e matéria orgânica dissolvida), ou ainda, promover a liberação de substâncias poliméricas extracelulares (do inglês, EPS), facilitando o *fouling*.

Frente ao exposto, surge como uma alternativa promissora a aplicação de um sistema de filtração com membranas submersas para a concentração das microalgas. Nesta técnica aplicam-se pressões mais baixas do que as utilizadas em processos convencionais, sendo que a alta taxa de cisalhamento resultante do sistema de aeração utilizado, pode resultar em um processo com custo reduzido, além da obtenção de uma biomassa com maior viabilidade e integridade celular.

1.1 Objetivo

O objetivo geral deste trabalho foi estudar o processo de microfiltração com membranas submersas para a concentração de biomassa da microalga *Chlorella sp.*. Como objetivos específicos, tem-se:

- a) caracterizar as membranas de polieterimida (PEI) e poli(fluoreto de vinilideno) (PVDF) quanto à compactação e à permeância hidráulica;
- b) determinar os parâmetros operacionais (pressão transmembrana e velocidade de aeração) para a etapa de concentração da solução algal;
- c) avaliar a tendência à formação de *fouling* para cada uma das membranas utilizadas, PVDF e PEI;
- d) avaliar a integridade e viabilidade celular das microalgas.

1.2 Estrutura da dissertação

A dissertação está dividida em cinco capítulos. O Capítulo 1 refere-se à introdução do assunto abordado nessa pesquisa. No Capítulo 2 estão apresentados os fundamentos teóricos e a revisão bibliográfica, onde são apresentadas as características das microalgas e dos diferentes processos de cultivo e colheita, além de definições importantes sobre os processos de separação por membranas, com ênfase na microfiltração submersa. No Capítulo 3, Materiais e Métodos, são descritos o procedimento experimental, as análises realizadas e os equipamentos utilizados no desenvolvimento deste trabalho. O Capítulo 4, Resultados e Discussões, trata da apresentação e discussão dos resultados obtidos na concentração das microalgas e avaliação das membranas utilizadas no processo. No Capítulo 5 estão expostas as conclusões, de acordo com os resultados obtidos na parte experimental, além de sugestões para trabalhos futuros.

Capítulo 2 – Fundamentos teóricos e revisão bibliográfica

Este capítulo tem como objetivo apresentar a fundamentação teórica e a revisão bibliográfica, abordando os tópicos relevantes para este trabalho, como: características e sistemas de cultivo de microalgas, métodos de colheita, com destaque para a microfiltração submersa. Os fundamentos teóricos sobre os parâmetros operacionais nos processos de separação com membranas também são evidenciados.

2.1. Microalgas

As microalgas são organismos fotossintéticos coloniais ou unicelulares que estão naturalmente presentes em diferentes ambientes aquáticos/úmidos, incluindo rios, lagos, oceanos e solos. Elas podem ser utilizadas como matéria-prima para a produção de uma gama de bioprodutos, tais como biocombustíveis, produtos químicos, ração animal e suplemento alimentar (BRASIL; SILVA; SIQUEIRA, 2017).

Esses microrganismos fotossintéticos podem crescer rapidamente em grande quantidade, exigindo compostos inorgânicos, como o CO₂, fonte de energia leve e nutrientes, como nitrogênio e fósforo, para seu crescimento (SINGH; PATIDAR, 2018).

A estrutura unicelular das microalgas permite que elas convertam facilmente a energia solar em energia química. Essa conversão bioquímica está sendo aproveitada comercialmente para a obtenção de biomassa de microalgas e, conseqüentemente, para o desenvolvimento de produtos de aplicação comercial (CARDOSO *et al.*, 2011).

Segundo KHAN *et al.* (2009), as microalgas podem ser classificadas de acordo com a pigmentação, ciclo de vida e estrutura celular básica, e podem ser divididas em quatro grupos: diatomáceas, algas verdes, algas verde-azuladas e algas douradas, de acordo com os dados apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 : Classificação das algas, número aproximado de espécies conhecidas em cada grupo e principal *habitat*.

Divisão	Espécies Conhecidas (aprox.)	Habitat
Diatomáceas (<i>Bacillariophyceae</i>)	10 ⁵	Oceanos, água doce e salobra
Algas verdes (<i>Chlorophyta</i>)	8 x 10 ³	Água doce
Algas verde-azuladas (<i>Cyanophyta</i>)	2 x 10 ³	Diferentes habitats
Algas douradas (<i>Chrysophyceae</i>)	10 ³	Água doce

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

2.1.1. Microalga *Chlorella* sp.

A microalga *Chlorella* sp. é uma alga verde, unicelular, de geometria esférica, globular ou elipsoidal, que não possui flagelos, com tamanho de células variando entre 2,0 µm e 10 µm, conforme pode-se observar na Figura 1. Esta microalga apresenta como característica a alta tolerância ao dióxido de carbono, facilidade de cultivo em laboratório, rápido crescimento, alto conteúdo de óleo, com predominância dos ácidos graxos com cadeia de 16 e 18 carbonos, sendo, portanto, ideal para a produção de biodiesel. Além disso, a microalga *Chlorella* sp. apresenta boa adaptação às condições de cultivo e cresce tanto em metabolismo autotrófico, quanto heterotrófico ou mixotrófico, além de estar consolidada comercialmente como suplemento alimentar, sendo produzida industrialmente por várias empresas (CHEIRSILP; TORPEE, 2012).

Figura 1: Fotografia da microalga *Chlorella* sp.



Fonte: <http://ccala.butbn.cas.cz/cs/node/13945>

2.2. Técnicas de cultivo de microalgas

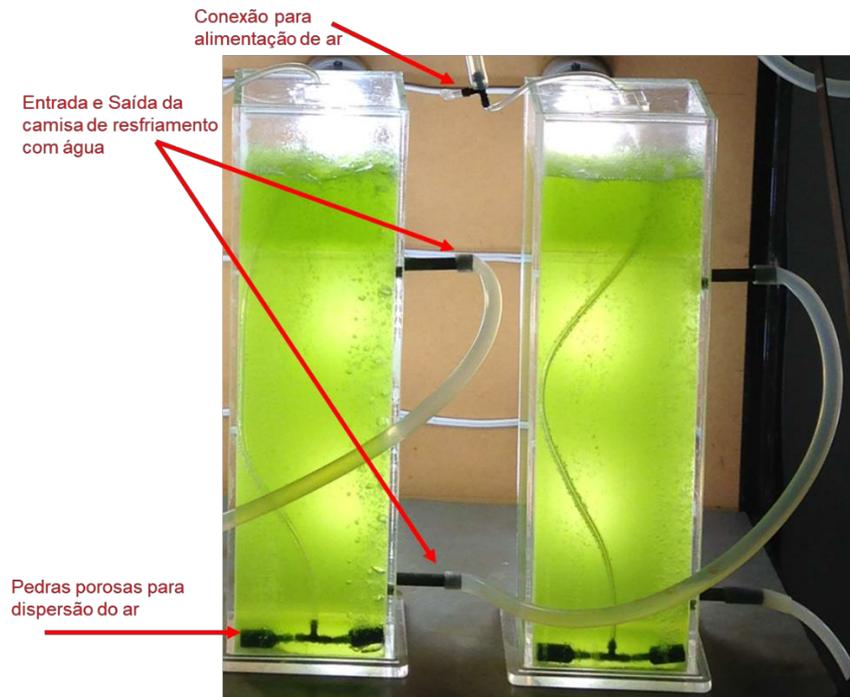
As técnicas de cultivo de microalgas mais utilizadas atualmente são as lagoas aeradas abertas e os fotobiorreatores fechados (KHAN *et al.*, 2009).

Os sistemas abertos são muito utilizados, podendo apresentar diversas formas, tamanhos e materiais, além de diferentes tipos de agitação (REDAELLI, 2012), sendo, geralmente, sistemas a céu aberto com luz natural para a iluminação. Em comparação com o sistema fechado ou de fotobiorreator, o sistema de lagoa aberta é um método mais barato para a produção de microalgas em grande escala, apresentando menor consumo energético e facilidade de manutenção e limpeza. Além disso, os sistemas abertos apresentam baixos custos de construção, operação e manutenção, e um menor controle de variáveis. Entretanto, no que diz respeito à produtividade de biomassa, são menos eficientes (KHAN *et al.*, 2009). E o cultivo aberto ainda pode sofrer contaminações por espécies indesejadas, que inevitavelmente, acabam sendo introduzidas no meio (FRANCO *et al.* 2013).

Os sistemas fechados (fotobiorreatores) permitem um controle mais preciso das variáveis de processo, menor risco de contaminação, maior produtividade, além de utilizar uma área física bem menor (HARUN *et al.* 2010).

Os fotobiorreatores são feitos de materiais transparentes (vidro ou plástico) para melhor captação da luminosidade e, em geral, apresentam as configurações horizontal, vertical e inclinada. Dentre as principais diferenças entre as configurações, pode-se citar que, na forma vertical, há maior transferência de massa, menor consumo energético e alta eficiência fotossintética, enquanto que, no plano horizontal, os sistemas possibilitam maior facilidade de escalonamento, porém requerem maior área de instalação (BRENNAN; OWENDE, 2010). Na configuração vertical, a agitação, oxigenação e mistura do sistema, pode ser realizada por bombeamento de ar através do reator, e assim tem-se o modelo de fotobiorreator *airlift* (MOLINA GRIMA *et al.*, 2003). Na Figura 2 vemos o modelo de reator *airlift*, onde a aeração do meio é realizada com a injeção de ar em pedras porosas, localizadas no fundo do reator.

Figura 2: Fotografia do biorreator no início do cultivo da microalga *Chlorella sp* indicando os itens que compõem o equipamento.



Fonte: Registro fotográfico do autor.

2.3. Processos de recuperação de biomassa

O processo de recuperação de biomassa de microalgas envolve a aplicação de diferentes operações unitárias, como sedimentação, centrifugação, floculação, filtração tradicional, micro e ultrafiltração, para a remoção de elevados volumes de água do meio de cultura. Muitas vezes é utilizada a combinação de mais de uma dessas operações unitárias. A escolha do método de recuperação a ser aplicado vai depender das características da microalga produzida, tais como: tamanho das células, concentração da suspensão celular e qualidade desejada para o produto final (RAWAT *et al.*, 2011).

A sedimentação é um processo mecânico de separação de partículas de um fluido por ação da força da gravidade. As partículas podem ser sólidas ou gotas líquidas e o fluido um líquido ou gás em repouso ou em movimento. Para a recuperação de microalgas, a sedimentação é amplamente utilizada em diversas espécies, geralmente em tratamento de águas residuais (RAWAT *et al.*, 2011). Porém, de acordo com EDZWALD (1993), o uso de agentes floculantes melhora a sedimentação, uma vez que, devido à sua baixa densidade, as partículas possuem uma fraca decantação.

A flotação é considerada uma sedimentação invertida, onde as partículas são separadas com bolhas de ar utilizando a força de elevação das próprias bolhas de ar. A natureza

hidrofóbica da superfície da célula microalgal colabora com a remoção de biomassa com a adição de um surfactante. Os parâmetros responsáveis pela eficiência do processo de flotação incluem o tamanho da bolha, pH, força iônica do meio, a pressão do ar no tanque, tempo de retenção hidráulica, entre outras. Por causa das características auto-flutuantes das células de microalgas com baixa densidade, este tipo de separação é considerado mais rápido e eficaz do que o processo de sedimentação (ANANTHI *et al.*, 2021).

A técnica de floculação consiste no processo de agregação de partículas, por meio de colisão, para formação de flocos (partículas de grande dimensão). A aderência das partículas ocorre através de mecanismo de dispersão de cargas, que é auxiliado pela adição de agentes floculantes (produtos químicos). Esta técnica é sensível ao pH e requer uma grande quantidade de floculante para separar a biomassa do meio aquoso, o que pode contaminar as microalgas e, ainda, gerar um grande volume de resíduo (MOLINA GRIMA *et al.*, 2003).

A centrifugação é um processo que utiliza força centrífuga para provocar a separação dos componentes de um sistema sólido-líquido ou líquido-líquido, sendo a mais utilizada para a separação das microalgas do seu meio de cultura. No entanto, a aplicação de elevadas forças gravitacionais e de cisalhamento podem danificar a estrutura das células e, quando utilizada em grande escala, requer sistemas de centrifugação com elevado custo e consumo de energia (KNUCKEY *et al.*, 2006).

A filtração por membrana é uma técnica bem desenvolvida para a separação da biomassa e pode ser considerada como um método promissor para a recuperação de microalgas. Esta técnica é geralmente de menor custo em relação às demais, devido ao baixo consumo de energia. Ela ainda oferece vantagens como a retenção quase total de biomassa e o potencial de desinfecção através de remoção de protozoários e vírus, de acordo com a membrana utilizada. Além disso, ao comparar algumas técnicas de colheita, a filtração por membranas resulta em células menos interrompidas e, assim, produz uma biomassa de boa qualidade sem a necessidade de qualquer envolvimento químico (ANANTHI *et al.*, 2021). No entanto, os processos de separação por membranas são suscetíveis a incrustações, fenômeno que modifica as características de seletividade e de permeabilidade das membranas, reduzindo, desta forma, o desempenho do processo. Estas incrustações se tornam mais complexas de acordo com a composição da suspensão de alimentação, como no caso do caldo de microalgas, em que além da biomassa, tem-se a presença de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) e macrosolutos (WICAKSANA *et al.*, 2012). Há uma infinidade de membranas disponíveis no mercado, porém

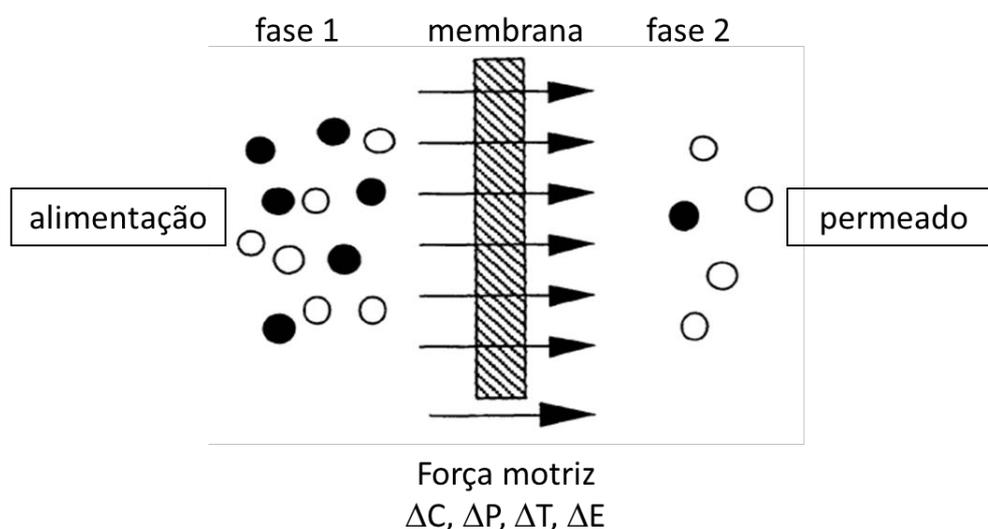
o principal obstáculo nesse processo é a incrustação rápida levando a uma baixa taxa de transferência (ANANTHI *et al.*, 2021).

2.3.1. Processos de separação por membranas

Os processos de separação por membranas (PSM) são utilizados para separar, concentrar e purificar substâncias, utilizando uma membrana semipermeável, a qual atua como uma barreira física, gerando duas correntes: a de permeado (ou filtrado) e a de concentrado (ou retido) (HABERT *et al.*, 2006).

Os PSM permitem o fracionamento de solutos dissolvidos em correntes líquidas e a separação de misturas gasosas. A maioria destes processos usa o escoamento tangencial (“*cross flow*”), uma particularidade que os distingue da filtração convencional, onde se promove a separação de partículas sólidas em suspensão de correntes líquidas ou gasosas em escoamento frontal. A membrana é definida como uma barreira permeável e seletiva, que restringe a transferência de massa entre duas fases (MULDER, 1991), como demonstrado na Figura 3.

Figura 3: Representação esquemática de um sistema de duas fases com separação por membranas.

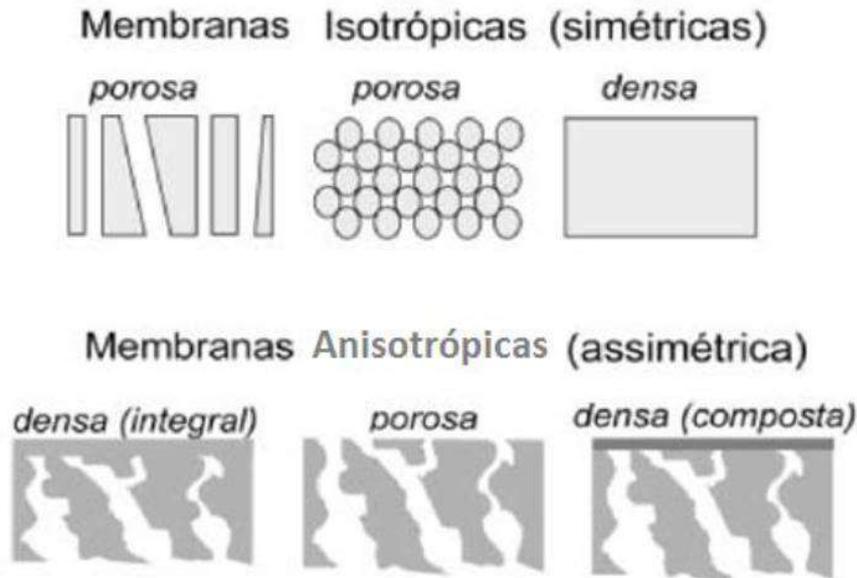


Fonte: Adaptado de Mulder, (1991).

Quanto à morfologia, as membranas são classificadas como densas ou porosas, sendo que a escolha de uma determinada morfologia será função das características da superfície da membrana e da solução que irá ser separada. Ainda com relação à morfologia, as membranas podem ser isotrópicas ou anisotrópicas. As membranas isotrópicas possuem a mesma morfologia ao longo de toda a sua espessura, enquanto as anisotrópicas possuem uma região

muito fina e mais fechada (possuindo poros ou não), suportada em uma camada porosa (suporte poroso). Quando o suporte e a camada de topo são do mesmo material, a membrana é dita integral, caso contrário, é denominada composta. Na Figura 4 estão apresentados os diferentes tipos de morfologia presentes nas membranas.

Figura 4: Representação esquemática da seção transversal dos diferentes tipos de morfologia das membranas sintéticas.



Fonte: Mulder, (1991).

Nas membranas densas o transporte dos componentes ocorre devido à afinidade entre os solutos e o material das membranas, e o mecanismo é o de solução-difusão, o qual envolve uma etapa de dissolução e uma de difusão através da membrana. Nas membranas porosas o transporte dos permeantes ocorre de forma convectiva, sendo que a separação é devido a diferença de tamanho entre o soluto e os poros da membrana.

Para que ocorra a separação é necessário a aplicação de uma força motriz no processo, a qual é expressa através de um gradiente de potencial químico e/ou potencial elétrico.

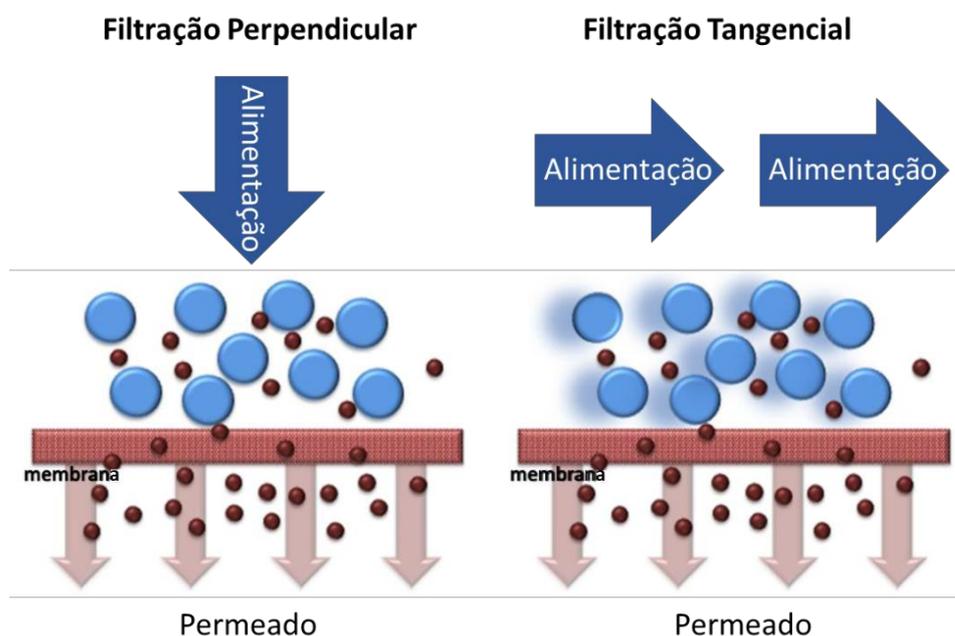
Levando-se em conta que o potencial químico (μ) é função da pressão (P), temperatura (T) e concentração (a), ou seja, $\mu = \mu(T, P, a)$, e que, de modo geral, os PSM são operados à temperatura constante, gradientes de concentração e de pressão podem atuar como forças motrizes capazes de promover o transporte de uma dada espécie através da membrana.

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.

O processo de filtração por membranas pode ser operado em duas configurações de escoamento, apresentadas na Figura 5: transversal ou perpendicular (*dead-end*), e tangencial ou fluxo cruzado (*crossflow*), tendo como força motriz a diferença de potencial químico expresso em termos do gradiente de pressão através da membrana. Nestes dois modos há alta produtividade, relacionada aos altos valores de fluxo de permeado e aos efeitos das forças de cisalhamento. Porém, o consumo de energia é elevado, devido à aplicação de pressão e à estrutura das microalgas pode facilmente ser danificada, pois há utilização de bombas e altas forças de cisalhamento. A quebra das microalgas pode formar partículas menores, orgânicos dissolvidos e podem liberar substâncias poliméricas extracelulares (EPS) que causam *fouling* (NURRA *et al.*, 2014).

Figura 5: Configurações de escoamento do processo de filtração por membranas: Esquerda – perpendicular ou transversal (*dead-end*), Direita – tangencial ou cruzado (*crossflow*).



Fonte: Material disciplina de membranas do programa de pós-graduação UFRGS.

Na Tabela 2 estão apresentados os principais processos de separação com membranas, citando o tipo de força motriz envolvida, o material retido, bem como alguns exemplos de aplicação.

Dentre os PSM que utilizam como força motriz o gradiente de pressão transmembrana, pode-se citar a Microfiltração (MF), a Ultrafiltração (UF), a Nanofiltração (NF) e a Osmose Inversa (OI), os quais já são bastante consolidados e utilizados industrialmente. As membranas de MF possuem tamanho de poro entre 0,1 e 10 μm , sendo capazes de reter partículas em suspensão, colóides e bactérias. Com tamanho de poros menores (0,1 a 0,2 μm), a UF retém colóides, macromoléculas, vírus e proteínas. A NF, tem poros ainda menores e consegue remover partículas com massa molar (MM) entre 500 e 2000 Da, inclusive íons divalentes. A OI pode ser utilizada para separar matérias solúveis ou em suspensão, como o procedimento de desmineralização da água.

A diálise (D), separação com membranas que utiliza o diferencial de concentração como força motriz separa substâncias com massa molar maior que 5000 Da e é utilizada para o tratamento de hemodiálise e também para recuperação de NaOH durante produção de viscose. Outras técnicas que utilizam o diferencial de concentração como força motriz são a permeação de gases (PG), para recuperação de hidrogênio e fracionamento do ar, por exemplo, e a pervaporação (PV), que separa líquidos como na desidratação de álcoois e eliminação de contaminantes da água.

Diferentemente das demais técnicas a eletrodiálise (ED) opera com diferencial de potencial elétrico e pode ser empregada na concentração de soluções salinas e na purificação de águas e efluentes.

Tabela 2: Características relevantes dos processos de separação por membranas.

PROCESSO	FORÇA MOTRIZ	MATERIAL RETIDO	APLICAÇÕES
Microfiltração (MF)	Gradiente de pressão 0,1 – 1 bar	Material em suspensão 0,1 – 10 μm	- Clarificação de vinho e cerveja - Esterilização bacteriana - Concentração de células
Ultrafiltração (UF)	Gradiente de pressão 0,5 – 5 bar	Colóides, macromoléculas MM > 5000	- Fracionamento e concentração de proteínas - Recuperação de pigmentos - Recuperação de óleos
Nanofiltração (NF)	Gradiente de pressão 1,5 – 40 bar	Moléculas de média massa molar 500 < MM < 2000	- Purificação de proteínas - Separação de compostos orgânicos e sais divalentes
Osmose Inversa (OI)	Gradiente de pressão 20 – 100 bar	Todo material solúvel ou em suspensão	- Dessalinização de águas - Concentração de sucos - Desmineralização da água
Diálise (D)	Gradiente de concentração	Moléculas de MM > 5000	- Hemodiálise-Rim artificial - Separação de sais
Eletrodialise (ED)	Gradiente de potencial elétrico	Macromoléculas e compostos iónicos	- Concentração de soluções salinas
Permeação de gases (PG)	Gradiente de pressão e concentração	Gases menos permeáveis	- Recuperação de H ₂ - Separação CO ₂ /CH ₄ - Fracionamento do ar
Pervaporação (PV)	Gradiente de concentração	Líquidos menos permeáveis	- Desidratação de álcoois - Remoção de compostos voláteis - Separação de misturas azeotrópicas

Fonte: adaptado de <http://labvirtual.eq.uc.pt/>

Segundo HWANG *et al.* (2013) pode-se realizar a colheita das microalgas utilizando processos com membranas de diferentes maneiras, como sistemas com membranas submersas, microfiltração tangencial e microfiltração dinâmica – microfiltração com utilização de discos rotativos sobrepostos que geram uma velocidade diferencial em relação um ao outro. Este tipo de filtração cria um escoamento turbulento sem o uso de bomba de circulação e é mais eficiente na prevenção ao *fouling*.

Esforços recentes nos estudos com microfiltração de microalgas com membranas demonstram que esta é uma alternativa viável devido ao baixo consumo de energia e simplicidade, enquanto alcança quase 100% de recuperação de biomassa (SHEKHAR *et al.*, 2017). À medida que as técnicas de fabricação de membranas melhoram e a gama de aplicações se expande, o custo das membranas diminui constantemente, o que pode facilitar o uso da tecnologia de membranas para este fim. Além disso, a filtração por membranas pode remover protozoários e vírus do meio de cultura de algas usado, mantendo os nutrientes residuais. Assim, o meio de cultivo de algas pode ser reciclado. Além disso, nenhum coagulante é adicionado, o que facilita o uso da biomassa residual.

De maneira similar a microfiltração, a ultrafiltração tem se mostrado uma alternativa viável na colheita de microalgas, devido a capacidade de retenção, baixo custo quando comparado a centrifugação e devido a aplicação de baixas pressões que mantem integridade celular. O grande obstáculo da técnica é a redução da permeabilidade da membrana ao longo da operação, devido ao *fouling* gerado pelo acúmulo de algas e seus produtos metabólicos na superfície e poros da membrana (ZANG *et al.*, 2022).

Este trabalho irá aprofundar os estudos considerando a técnica de microfiltração, desta maneira, o assunto será melhor abordado no item subsequente.

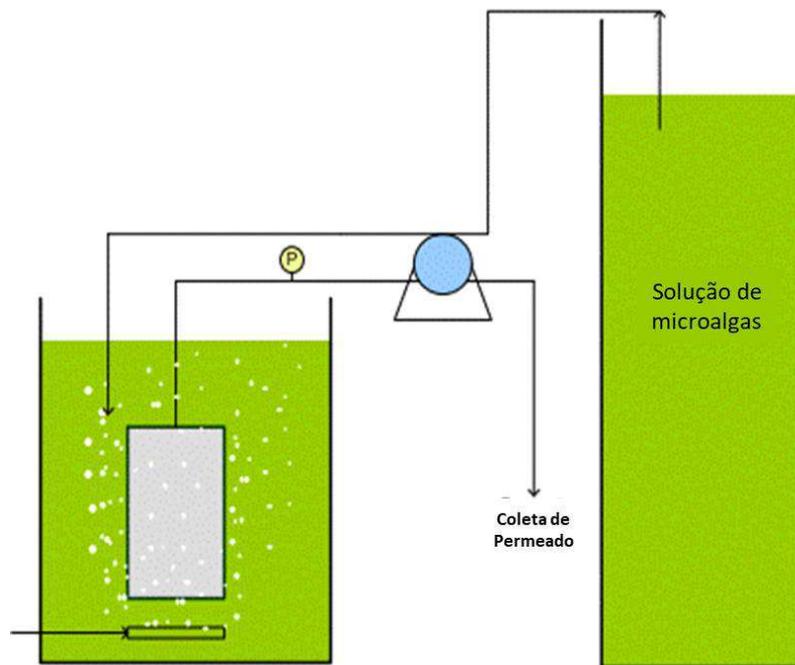
2.4. Microfiltração com membrana submersa para concentração de microalgas

Uma alternativa aos processos comumente utilizados com membranas seria a utilização de um sistema de membranas submersas. Neste processo, a filtração é feita através de vácuo aplicado à membrana do tipo fibra oca, há menor consumo de energia, altas taxas de eficiência e o cisalhamento existente é causado pelas bolhas de ar provenientes da aeração, o que gera menor liberação de EPS pelas microalgas e, por consequência, menos *fouling* (BILAD, M.R. *et al.*, 2014). Nesse modo de filtração, o escoamento pode ser tanto *dead-end*

quanto *crossflow*. Devido a existência da aeração no fundo do equipamento, é possível que as duas configurações existam simultaneamente.

Na Figura 6 é apresentado um desenho esquemático de um sistema de filtração com membrana submersa. Nesta figura pode-se observar o módulo de fibras ocas imerso em um tanque com aeração e a bomba de vácuo fazendo a sucção do permeado. As microalgas são concentradas no próprio tanque de alimentação onde ocorre a filtração.

Figura 6: Esquema de um sistema de filtração com membrana submersa.



Fonte: Bilad et al., (2012).

BILAD *et al.* (2012) (BILAD *et al.*, 2012) realizaram experimentos de microfiltração submersa de microalgas utilizando membranas planas de microfiltração de PVDF de diferentes porosidades. Neste estudo, as taxas de retenção para a microalga *Chlorella vulgaris* foram maiores que 90% e o consumo de energia ficou em torno de $0,25 \text{ kWh m}^{-3}$. Os resultados dos testes de fluxo crítico demonstraram que o método gera pouquíssimo *fouling* e permite um teste de maior tempo quando comparado à microfiltração tangencial. O fluxo permeado encontrado por BILAD *et al.* (2012) foi similar ao encontrado por CARVALHO (2014), de aproximadamente $30 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$.

HWANG *et al.* (2015) modificaram membranas de PVDF com adição de materiais hidrofílicos na tentativa de melhorar o desempenho quanto ao fluxo de permeado e a tendência

ao *fouling*. Foram encontrados resultados de retenção de 100 % e fluxo de 96 L m⁻² h⁻¹, mais de 50% superiores aos encontrados para as membranas puramente de PVDF.

SHEKHAR *et al.* (2017) encontraram fluxos iniciais de 22 L m² h¹ para membranas de fibra oca de microfiltração de polipropileno para a *Chlorella vulgaris*.

Segundo YAMAMURA *et al.* (2022), que estudaram membranas de PVDF de diferentes porosidades, as membranas de fibra oca possuem alto potencial de coleta, além de fácil limpeza quando aplicadas técnicas como a retrolavagem. Assim, os custos de operação desse sistema podem ser minimizados.

2.5. Parâmetros operacionais do processo de microfiltração

Neste item serão abordados os principais parâmetros de processo para a microfiltração, como o fluxo permeado, a importância de determinar o fluxo crítico, a retenção e o fator de concentração.

Através da Lei de Darcy pode-se descrever o volume de solução que permeia através das membranas, sendo o fluxo permeado (J), expresso em L m h⁻¹, diretamente proporcional à diferença de pressão aplicada (ΔP) em bar, conforme a Equação 2.1:

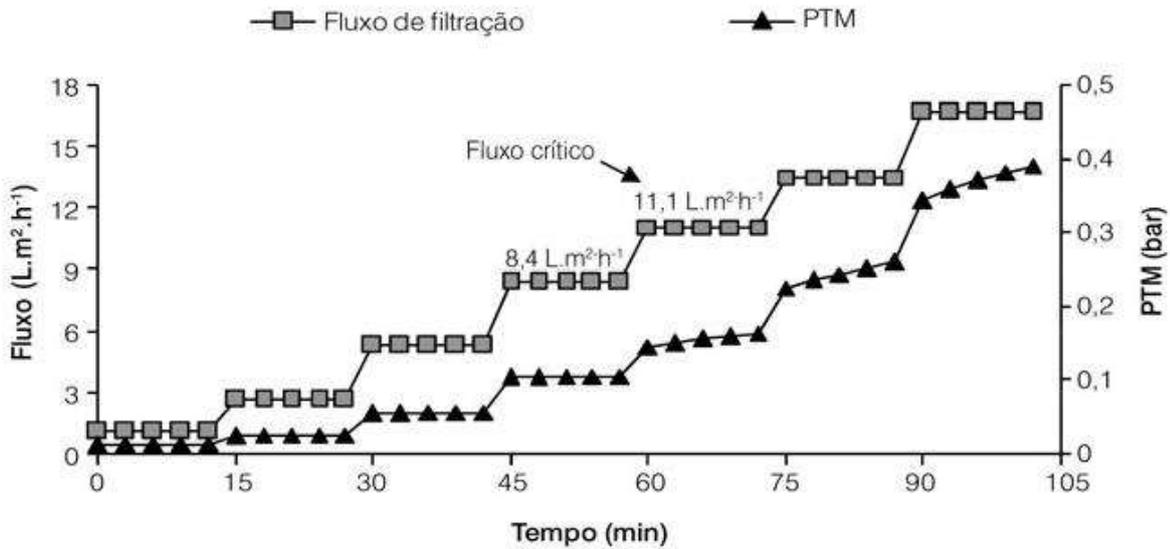
$$J = Lp \times \frac{\Delta P}{e} \quad (2.1)$$

sendo (e) é a espessura da membrana (m), (Lp) é a constante de permeabilidade da membrana, expressa em L m² h⁻¹ bar⁻¹ e que engloba fatores estruturais, tais como a porosidade da membrana, o diâmetro de poro e a distribuição destes. Além disso, essa constante inclui, também, a viscosidade do líquido que permeia.

Um dos indicadores mais importantes do desempenho da filtração e propensão ao *fouling* da membrana é o fluxo crítico, o maior fluxo operacional no qual a incrustação não afeta prejudicialmente o fluxo de permeado ao longo do tempo (MO *et al.*, 2015). O fluxo crítico está correlacionado com os materiais da membrana, tamanho dos poros da membrana, concentração de partículas na solução e outras características hidrodinâmicas. Este pode ser definido como o maior fluxo permeado onde não se observa uma diminuição do fluxo com o tempo. Acima deste fluxo é observado *fouling*, pois nesta condição existe uma maior tendência ao arraste de partículas durante a permeação, sendo preferencial trabalhar com fluxos mais baixos.

Na Figura 7 é demonstrado um exemplo de experimento no qual o fluxo crítico é 11,1 L m² h⁻¹, pois neste ponto a pressão transmembrana não estabiliza, sendo necessário o seu aumento para manter o fluxo de permeado constante.

Figura 7: Exemplo de experimento que demonstra o ponto de fluxo crítico.



Fonte: Billad et al. (2012).

A seletividade de uma membrana, fator decisivo no desempenho, usualmente é expressa pelo coeficiente de retenção observada (R_{obs}) ou pelo fator de seletividade (α).

Para processos em que a força motriz é a pressão transmembrana, como a microfiltração, o coeficiente de retenção (R_{obs}) traduz melhor a seletividade. O coeficiente é calculado através da Equação 2.2.

$$R_{obs} = 1 - \frac{C_p}{C_o} \tag{2.2}$$

sendo C_o é a concentração da espécie na alimentação (g L⁻¹) e C_p é sua concentração no permeado (g L⁻¹).

Com base nos resultados de R_{obs} tem-se a seguinte interpretação: se igual a zero, a concentração da espécie em questão é igual à sua concentração na alimentação, não havendo nenhuma capacidade seletiva para esta espécie. Quando R_{obs} for igual a um, a espécie em questão não está presente no permeado, ou seja, a membrana foi capaz de rejeitá-la completamente.

Nos processos de separação por membranas utiliza-se o fator de concentração (FC), também conhecido como fator de concentração volumétrico (FCV) para análise dos dados. O FC 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 2.3:

$$FC = \frac{V_O}{V_R} = \frac{V_O}{V_O - V_P} \quad (2.3)$$

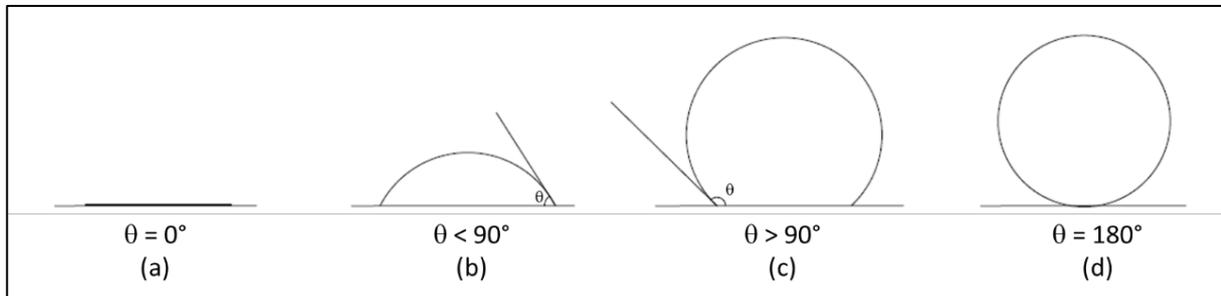
sendo V_O é o volume inicial da solução (L), V_R é o volume retido (L) e V_P é o volume de permeado (L).

No processo de concentração de um dado componente através da membrana, a concentração deste soluto durante o processo irá variar em função tanto da redução de volume da alimentação, como da retenção (R_{obs}) do soluto pela membrana.

Para avaliação da eficiência do processo de filtração, além dos parâmetros operacionais já descritos, também são realizadas diversas análises de caracterização da membrana, tais como, espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), medidas de ângulo de contato, microscopia eletrônica de varredura (MEV), entre outras. Um fator importante na concentração de microalgas é a viabilidade celular que pode ser comprovada por observação com microscopia ótica, análise na câmara de Neubauer e uso de corantes.

Com a análise de ângulo de contato em conjunto com as demais informações do processo de filtração pode-se avaliar que tipo de membrana, hidrofílica ou hidrofóbica, apresenta melhores resultados para o processo de concentração de microalgas. Pelo método da gota séssil, é possível analisar o ângulo que se forma na superfície de um líquido ao entrar em contato com um sólido. O valor do ângulo de contato depende principalmente da relação que existe entre as forças adesivas entre o líquido e o sólido e as forças coesivas do líquido. Quando as forças adesivas com a superfície do sólido são maiores em relação às forças coesivas, o ângulo de contato é menor que 90° , e o líquido molha a superfície (SILVERSTEIN, 1993). A Figura 8 apresenta as diferentes possibilidades de ângulo de contato e suas classificações. Ângulos iguais a zero e menores que 90° significam superfícies hidrofílicas (molhantes), enquanto ângulos maiores que 90° caracterizam superfícies hidrofóbicas (não-molhantes).

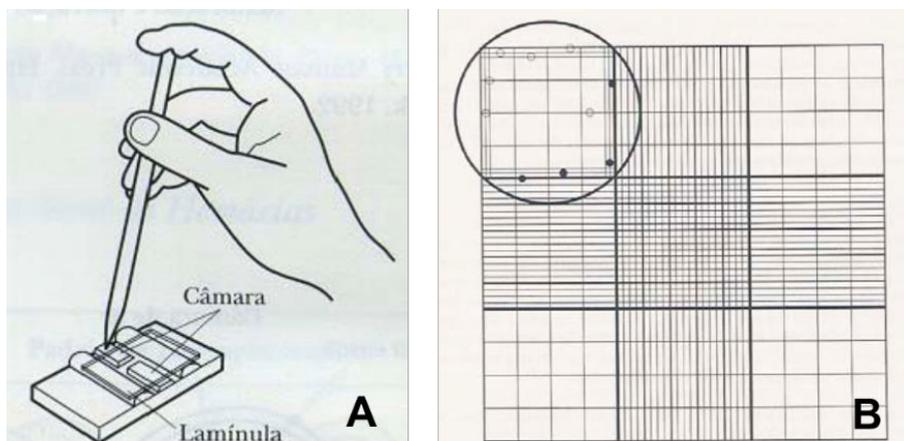
Figura 8: Ângulos de contato de líquidos com superfície sólida: (a) perfeitamente molhante (hidrofilico), (b) predominantemente molhante (hidrofilico), (c) predominantemente não-molhante (hidrofóbico) e (d) perfeitamente não-molhante (hidrofóbico).



Fonte: Adaptado de Silverstein, 1993.

A Câmara de Neubauer consiste em uma lâmina de microscopia, bem mais alta do que uma lâmina normal, onde existe uma câmara gravada no vidro (a parte indicada como câmara na Figura 9 A). Ao lado da câmara existem dois suportes que mantêm uma lamínula acima do chão da câmara. Assim, quando se coloca uma solução na câmara e se cobre a mesma com a lamínula, a profundidade da solução é conhecida. Nesta câmara também são gravadas marcações que a dividem em quadrantes de dimensões conhecidas (rede de quadrantes representada na Figura 9 A). Como a área de cada quadrado de contagem é conhecida e a profundidade da solução também, pode-se determinar o volume de cada câmara formada entre as marcações. E, dividindo o número de células contadas pelo volume do quadrante chegamos à concentração de células da solução. Este dispositivo, originalmente projetado por Louis-Charles Malassez, foi aprimorado por O. Neubauer e é amplamente utilizado na contagem de células.

Figura 9: Câmara Neubauer (A) e rede de quadrantes (B).



Fonte: Adaptado de https://www.ufrgs.br/labvir/material/contagem_celulas.pdf

2.6 Considerações finais da revisão bibliográfica

Este trabalho traz a comparação da eficiência de duas diferentes membranas (PEI e PVDF) para concentração de microalgas em sistema de microfiltração submersa, além de demonstrar que membranas com poros muito pequenos exigem um tempo de concentração muito grande. Este trabalho também demonstra a viabilidade da aplicação da técnica de coloração das microalgas para avaliação da sua viabilidade após o procedimento de concentração.

Diferentes trabalhos estudaram a configuração submersa para concentração de microalgas, porém a maioria com membranas planas e associados a outras técnicas, como BILAD, M. R. *et al.* (2014) que associaram a microfiltração submersa com técnicas de vibração e aeração.

Capítulo 3 - Materiais e Métodos

Neste capítulo são apresentados os materiais e a metodologia utilizados para o desenvolvimento deste trabalho. Primeiramente, estão apresentados os aspectos relacionados às microalgas, às membranas utilizadas e ao modo de construção dos módulos, assim como a descrição do sistema de filtração. Após, são apresentadas as análises realizadas para caracterização das membranas. Ao final, estão descritas as metodologias de cultivo das microalgas e da realização dos experimentos de concentração com membranas e a caracterização do meio de cultivo.

3.1. Microalgas e meio de cultivo

A microalga utilizada neste trabalho foi a *Chlorella* sp., cultivada conforme metodologia já consolidada pelo Laboratório de Bioengenharia (BIOENG), do Instituto de Ciências e Tecnologia de Alimentos (ICTA), da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS). O próprio BIOENG possui a microalga e doou o meio de cultivo inicial para este trabalho.

O meio de cultivo foi preparado da seguinte forma: 34 g de sal marinho (Red Sea), 300 mg de nitrato de sódio (NaNO_3), 1 mL solução de silicato de sódio ($\text{Na}_2\text{SiO}_3 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$), 1 mL de solução de vitaminas, 1 mL de solução de fosfato de sódio ($5,0 \text{ g L}^{-1} \text{ NaH}_2\text{PO}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$), 1 mL de solução de metais-traço (Cu, Zn, Co, Mn e Mo) e 1 mL de solução-tampão de pH, que são quantidades referentes ao preparo de 1 L de meio de cultivo. Diariamente, foram adicionados (por litro) 1 mL de solução de metais-traço e 1 mL de solução de fosfato de sódio no cultivo. 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 foi utilizada com o intuito de manter o pH entre 7,5 e 8,5 (pH ideal para a proliferação) e foi preparada 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 um valor entre 7,1-7,3 e água destilada, sendo o volume total da solução de 200 mL. Todas as soluções descritas foram preparadas e estocadas para fazer o meio de cultivo de acordo com Lourenço (2006).

O meio de cultivo e as vidrarias utilizadas foram esterilizados em autoclave a 1,1 bar e 121 °C durante 15 min. A solução de vitaminas foi esterilizada por microfiltração. As vitaminas e os demais nutrientes foram adicionadas após o resfriamento do meio de cultivo.

3.2. Membranas e módulos

Foram utilizadas membranas poliméricas de fibra oca de dois diferentes materiais para a construção dos módulos de filtração, fibras de poli(éter-imida) (PEI) fornecidas pela PAM – Membranas Seletivas Ltda. e de poli(fluoreto de vinilideno) (PVDF) adquiridas da DUPONT WATER SOLUTIONS (MEMCOR® MEMBRANES). Algumas características das membranas utilizadas estão apresentadas na Tabela 3. Cabe salientar que estas características devem ser confirmadas a partir de procedimentos adicionais, pois as informações fornecidas pelos fabricantes são valores médios.

Tabela 3: Características das membranas utilizadas fornecidas pelos fabricantes.

CARACTERÍSTICAS	MEMBRANA PVDF	MEMBRANA PEI
Temperatura máxima (°C)	45	100
Faixa de pH	2 – 10	2 – 13
Diâmetro externo da fibra (mm)	0,5	0,8 – 1,0
Diâmetro dos poros (µm)	0,04	0,1 – 0,5

A construção dos módulos de fibra oca foi realizada em três etapas, adaptando-se a metodologia utilizada por SILVA (2009) e CADORE (2015). Modificaram-se as dimensões das peças de poli(cloreto de vinila) (PVC) e o número de fibras utilizadas para se obter a área de permeação desejada, além do uso de nitrogênio líquido para facilitar o corte das fibras. As etapas para a fabricação dos módulos de fibra oca estão descritas a seguir.

Primeira etapa: colagem das fibras no interior de um tampão de PVC com o intuito de manter o lúmen (parte interna das fibras) fechado, pois a retirada do permeado deve ser realizada pela outra extremidade. Utilizou-se a cola epóxi Araldite® TEKBOND para este trabalho e para garantir que a estrutura do módulo seja mecanicamente estável, insere-se no meio do módulo (entre as fibras), na etapa de colagem, uma haste rígida de fio de cobre (espessura de 10 mm).

Segunda etapa: realizada 24 horas após a primeira etapa, devido ao tempo de cura da cola. Nesta segunda etapa faz-se a colagem das fibras da outra extremidade no interior de um *niple* de PVC. Para conter a cola, foi feito um pequeno envelope de plástico na extremidade da rosca do *niple*.

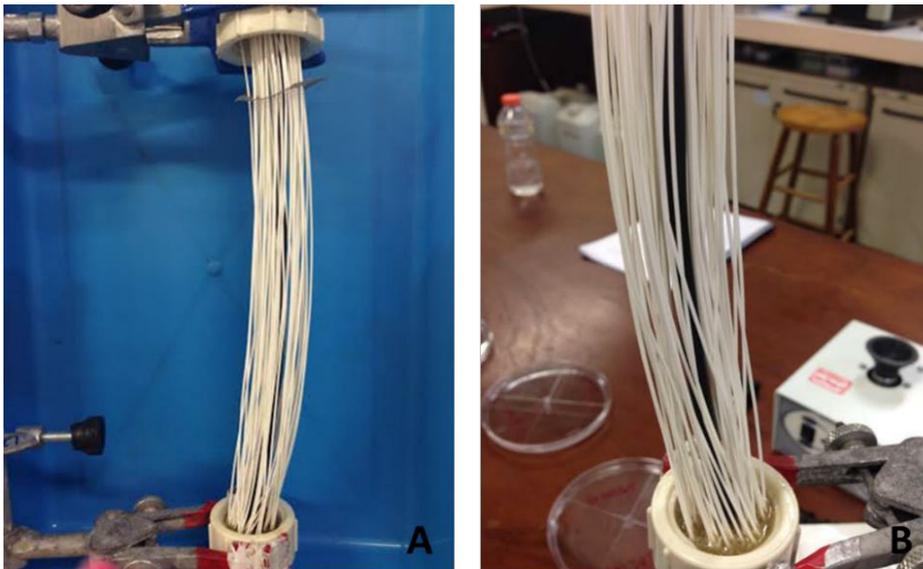
Terceira etapa: após o tempo de cura da cola (24 horas), a parte do envelope é mergulhada em nitrogênio líquido e, na sequência, cortada com auxílio de um formão e martelo para permitir que o lúmen das fibras fique aberto.

Neste trabalho foram confeccionados módulos de fibra oca com comprimento entre 13 e 15 cm, com uma área de permeação média de $0,01 \text{ m}^2$. Para os módulos em PEI foram utilizadas de 20 a 25 fibras, enquanto para os módulos de PVDF foram necessárias cerca de 50 fibras para obter a mesma área de permeação. O diâmetro dos módulos foi determinado pela dimensão das peças de PVC, sendo que, neste trabalho, foram utilizados *nipples* de 1,27 cm (1/2 in), de maneira que a densidade de empacotamento dos módulos fosse de $584 \text{ m}^2 \cdot \text{m}^{-3}$. Foram construídos 2 módulos para cada tipo de membrana. Os feixes de membranas eram armazenados em um tanque de 5 litros de água destilada, sendo este volume renovado a cada semana.

Todos os módulos foram testados anteriormente à realização dos experimentos de permeação, com o intuito de verificar se a colagem das fibras foi adequada, de modo a evitar a contaminação do permeado. O teste foi realizado através da injeção de ar no sentido contrário ao de permeação, pelo interior das fibras, com o módulo submerso em água destilada.

As etapas de fabricação dos módulos de fibra oca podem ser observadas na Figura 10.

Figura 10: Imagens dos módulos de membranas em processo de fabricação. A - Inserção das fibras; B - Colagem das fibras em um tampão de PVC de 1/2 in.



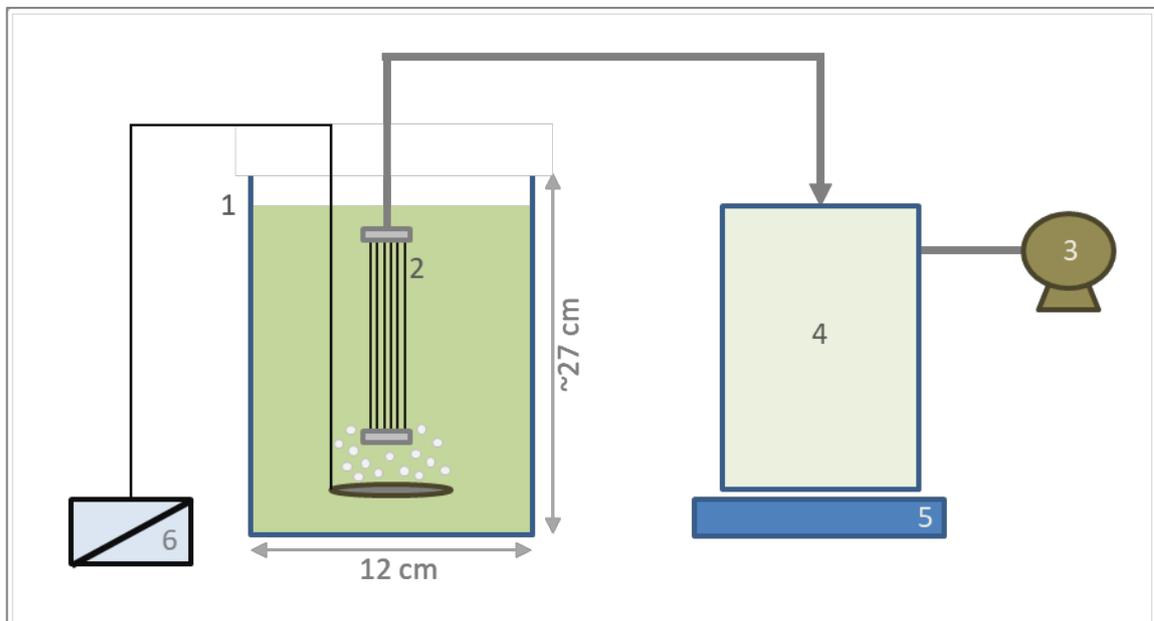
Fonte: Registro fotográfico do autor.

3.3. Sistema de filtração

O sistema de microfiltração com membranas submersas foi desenvolvido especificamente para este trabalho, que foi realizado no Laboratório de Processos de Separação por Membranas da UFRGS (LASEM).

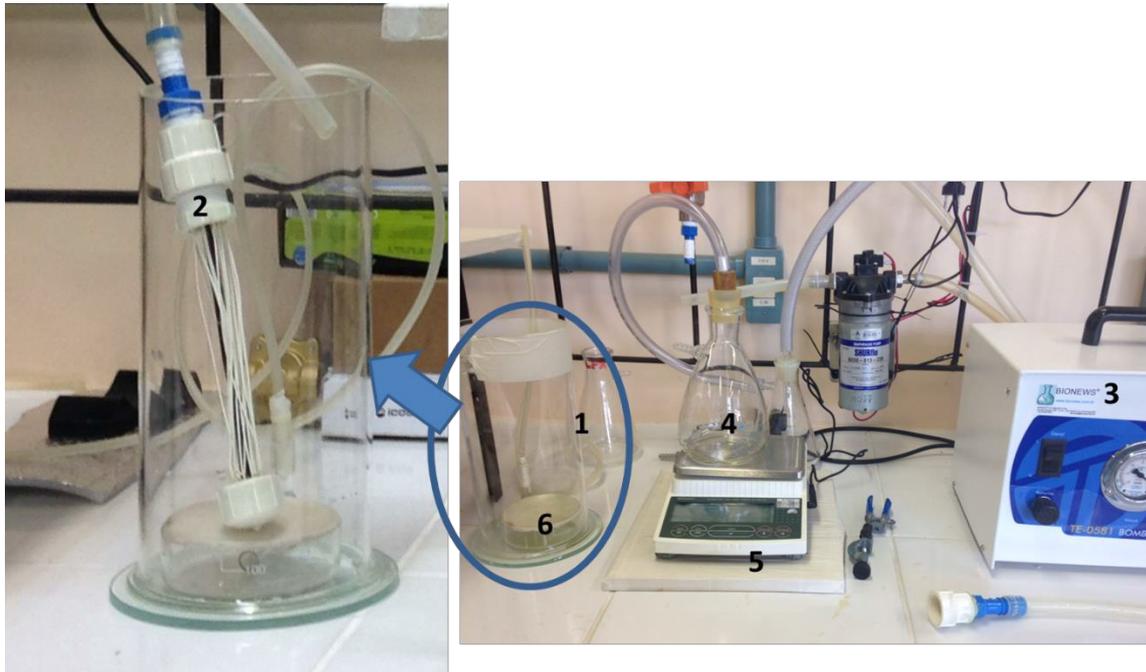
Na Figura 11 tem-se uma ilustração do sistema utilizado, composto por um tanque de filtração (1), o módulo de filtração (2), uma bomba de vácuo (Modelo TE-0581, TECNAL, Brasil) (3), um tanque para recolher o permeado (4), uma balança semi-analítica (Semi-analítica 3200 g, SHIMADZU, Brasil) (5) e um aerador (6).

Figura 11: Desenho esquemático do sistema de bancada de microfiltração com membranas submersas. Tanque de filtração (1), o módulo de filtração (2), bomba de vácuo (3), tanque para recolher o permeado (4), balança semi-analítica (5) e aerador (6).



O tanque de filtração utilizado foi um tanque em vidro, cilíndrico, com volume de 3 litros, confeccionado com as dimensões de 12 cm de diâmetro e 27 cm de altura. A aeração foi realizada através de um compressor para aquários (Aerador BIG AIR A230), que mantinha a velocidade do ar em $1,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$. Este aerador enviava o ar através de uma placa de 80 mm de diâmetro com porosidade aproximada de 90 – 150 μm localizada no fundo do tanque de filtração. O tanque de permeado utilizado foi um Erlenmeyer de 500 mL. Na Figura 12 está apresentada uma fotografia do sistema utilizado de microfiltração com membranas submersas.

Figura 12: Fotografia do sistema de bancada de microfiltração com membranas submersas, onde: (1) tanque de filtração; (2) módulo de filtração; (3) bomba à vácuo; (4) tanque de armazenamento de permeado; (5) balança; (6) placa porosa.



Fonte: Registro fotográfico do autor.

A solução algal proveniente do Laboratório de Bioengenharia com concentração de 1 g.L^{-1} , foi colocada no tanque de filtração (1). O módulo de membranas de fibra oca ficava imerso nesta solução e, através da bomba de vácuo (TECNAL BOMBA TE0581), se realizava a filtração. O filtrado era recolhido no tanque de permeado (4), enquanto a solução algal era concentrada no tanque 1. O tanque de permeado estava instalado sobre uma balança (SEMI ANALITICA SHIMADZU), com o intuito de mensurar a quantidade de líquido filtrado.

3.4. Caracterização das membranas

3.4.1 Permeância hidráulica e determinação do percentual de *fouling*

Para membranas porosas, a expressão para o fluxo de permeado (J) é dado pela Lei de Darcy, expressa pela Equação 2.1 (página 29), sendo J ($\text{L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$) o fluxo de permeado, L_p ($\text{L m}^2 \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$) a permeabilidade, ΔP (bar) = $P_{TM} = P_{atm} - P_{vácuo}$ e (e) é a espessura da membrana (m).

Como a estrutura da membrana é compactada ao longo do processo, a sua espessura não é conhecida e, desta forma, utiliza-se a permeância hidráulica ($K = L_p/e$) para avaliar o desempenho de permeação da membrana.

Assim, o fluxo de permeado, aqui denominado (J_p) pode ser escrito conforme a Equação 3.1:

$$J_p = K \times \Delta P \quad (3.1)$$

Desta maneira, a permeância hidráulica pode ser calculada através do coeficiente angular da reta de um gráfico de fluxo de permeado versus pressão transmembrana.

Para cada pressão avaliada foi monitorado (medido na balança) o fluxo permeado pelo tempo de 10 min, este intervalo se denomina “passo”. Neste trabalho foram utilizados 6 passos, cada um com uma pressão 67 mbar superior a anterior. As pressões de vácuo avaliadas foram de 214 a 547 mbar, ou seja, PTMs de 799 a 466 mbar. As medidas de permeância hidráulica foram realizadas nos módulos de membranas antes e após cada experimento de permeação com as suspensões de microalgas. A partir da comparação das medidas de fluxo permeado antes e após o procedimento de filtração da solução algal tem-se a informação do percentual de *fouling* para cada tipo de membrana.

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

Para determinar os grupamentos funcionais das membranas foram realizadas análises de FT-IR no Laboratório de Materiais Cerâmicos da UFRGS (LACER), equipamento Shimadzu modelo IRAffinity-1. Foram realizadas 4 varreduras para cada material, nos comprimentos de onda de 400 a 4000 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} .

3.4.4 Medida de ângulo de contato

O caráter hidrofílico das duas membranas utilizadas neste estudo foi determinado a partir da visualização do ângulo de contato formado entre uma gota d'água e a superfície do material, utilizando-se o método da gota sésil. Utilizou-se um analisador da forma da gota equipado com uma câmara fechada e uma lente, equipamento da marca KRUSS, capaz de medir ângulos de 0 a 180 °, com um erro de 0,1 °. Foram utilizadas 6 amostras de cada material de membrana, realizando-se duas medidas para cada uma delas.

3.4.5 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Através da microscopia eletrônica de varredura (MEV) pode-se determinar a morfologia da superfície e da seção transversal das fibras ocas de microfiltração. Para analisar a seção transversal, as fibras foram fraturadas em nitrogênio líquido e secas através da evaporação em temperatura ambiente, para analisar a superfície, não foi necessário realizar a fratura da amostra.

Foram realizadas análises nas voltagens de 10 kV para as membranas PEI e para as de PVDF voltagens de 15 kV. As imagens foram obtidas no Centro de Microscopia e Microanálise da UFRGS (CMM), equipamento JEOL JSM 6060 (JEOL Ltd, JP).

3.5. Metodologia experimental

3.5.1 Pré-inóculo

Para inocular cada cultivo em reator, uma alíquota de 24 mL de suspensão algal da cultura-mãe do banco de cultivo foi inoculada em 216 mL de meio de cultivo estéril em Erlenmeyer de 500 mL. Em seguida, foram colocados em câmara incubadora com agitação (*shaker*), com velocidade de 19 rpm, temperatura controlada de 28 °C e iluminação permanente através de lâmpadas com intensidade luminosa de aproximadamente 7,0 klx. Após sete dias, através de medida de densidade ótica, os pré-inóculos foram considerados prontos para serem cultivados em reatores.

Na Figura 13 estão apresentadas fotografias dos Erlenmeyers no *shaker* no primeiro dia de inoculação e ao final do sétimo.

Figura 13: Fotografia dos frascos com pré-inóculos dentro da estufa rotatória no primeiro dia (A) e ao final do sétimo dia (B).



Fonte: Registro fotográfico do autor.

3.5.2 Cultivo em biorreatores

Os cultivos das microalgas foram realizados em fotobiorreatores do tipo *airlift*, confeccionados em acrílico, com volume útil de 2,4 L, providos de camisa de aquecimento/resfriamento interno conectados a um banho ultratermostático (MA184X, Marconi, Brasil).

A aeração foi realizada com vazão de $0,5 \text{ L}\cdot\text{min}^{-1}$ de ar comprimido através de mangueiras do topo até o fundo dos reatores. Na parte inferior das mangueiras, foram conectadas duas pedras porosas ($30 \times 20 \text{ mm}$). As vazões de ar foram controladas por rotômetros e a temperatura foi controlada pelas camisas de aquecimento/resfriamento. Os cultivos foram iluminados continuamente por um painel de lâmpadas eletrônicas com intensidade luminosa de $17,5 \text{ klx}$. Na Figura 14 está apresentada uma imagem do fotobiorreator utilizado no cultivo da microalga.

Figura 14: Fotografia dos fotobiorreatores utilizados para o cultivo das microalgas.



Fonte: Registro fotográfico do autor.

Os reatores foram sanitizados, antes do início do cultivo, através da adição de água destilada (até quase completar o volume do reator) contendo 5 mL de solução comercial de hipoclorito de sódio ($2,5 \%$), sob aeração constante. Depois de 30 min foram adicionados 10 mL de solução de tiosulfato de sódio $250 \text{ g}\cdot\text{L}^{-1}$, para neutralização do cloro. Após 24 h , a solução foi descartada, os reatores foram lavados com água destilada para remoção de resíduos, preenchidos com $2,16 \text{ L}$ de meio de cultivo estéril modificado e os pré-inóculos foram adicionados, de modo que os equipamentos ficassem com capacidade máxima de $2,4 \text{ L}$.

Diariamente, durante o cultivo, foram adicionados 1 mL L^{-1} de solução de metais-traço e 1 mL L^{-1} de solução de fosfato de sódio.

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).

A Equação 3.2 foi utilizada para correlacionar a densidade celular e a densidade ótica a 750 nm.

$$y = 0,79 \times DO_{750} \quad (3.2)$$

sendo y a concentração de biomassa algal em g. L^{-1} e DO_{750} é a densidade ótica a 750 nm. Esta curva foi obtida no laboratório BIOENG e apresenta coeficiente de determinação (R^2) de 0,96.

O cultivo foi mantido até que as microalgas atingissem a concentração de 1 g.L^{-1} . Neste momento, metade do volume dos fotobiorreatores foi removido e transportado imediatamente para o laboratório LASEM para a realização dos testes de microfiltração. Os fotobiorreatores foram preenchidos com mais meio de cultivo estéril modificado para que o crescimento das microalgas continuasse. Assim, o cultivo das microalgas foi feito de maneira intermitente, sem a necessidade de preparação de novos pré-inóculos.

3.5.3 Compactação da membrana

Previamente aos experimentos de microfiltração foi realizada a compactação das membranas, com o intuito de avaliar um possível adensamento da sua microestrutura. Esse procedimento é necessário para que uma possível redução do fluxo permeado não seja atribuída a este fenômeno. Uma diferença de pressão transmembrana (PTM) de 733 mbar foi utilizada para a compactação da membrana, até que fosse atingido um fluxo permeado de água constante. As medidas de permeado foram coletadas a cada minuto.

O fluxo permeado é a vazão de permeado por área de membrana, por tempo, conforme mostrado na Equação 3.3.

$$J_p = \frac{V}{A \times t} \quad (3.3)$$

sendo J_p o fluxo permeado em $(\text{L m}^{-2} \text{ h}^{-1})$, V o volume (L) de permeado coletado em um tempo t (h) e A a área de permeação do sistema (m^2).

3.5.4 Determinação do fluxo crítico

O fluxo crítico do sistema foi determinado pela mesma metodologia utilizada na determinação da permeância hidráulica. O monitoramento do fluxo permeado foi realizado por 30 min, para 6 valores de vácuo distintos: 214, 280, 347, 414, 480 e 547 mbar (PTM iguais a 799, 733, 666, 599, 533 e 466 mbar).

A determinação do fluxo crítico foi realizada para estabelecer qual pressão transmembrana era a mais adequada para a realização dos experimentos de concentração das microalgas.

3.5.5 Experimento de concentração das microalgas

Os experimentos de concentração das microalgas foram realizados em batelada. Todos os ensaios foram realizados à temperatura ambiente e iniciados após a compactação das membranas, com 2 L da suspensão algal a uma concentração de $1,0 \pm 0,1 \text{ g.L}^{-1}$.

Os experimentos foram conduzidos até elevar a concentração da suspensão algal para $2,0 \pm 0,1 \text{ g.L}^{-1}$ obtendo-se, assim, um fator de concentração (FC) igual a 2. A concentração da solução foi medida ao longo do experimento por análise gravimétrica, onde o precipitado obtido após a centrifugação (em equipamento da marca Sigma, modelo 2-16KL) de um determinado volume de suspensão celular era submetido à secagem em estufa e posterior pesagem (balança analítica SHIMADZU).

Durante 6 horas e meia foram observados os valores de fluxo permeado, através da balança existente sob o tanque de permeado. Após este período, a filtração foi cessada (bomba de vácuo desligada) e o módulo foi deixado submerso na suspensão algal apenas com a aeração em funcionamento, para fazer o procedimento de relaxamento das fibras, com o objetivo de diminuição do *fouling* e melhoria do fluxo permeado. Este procedimento foi conduzido por 8 horas. Na sequência, foi retomada a filtração por mais 6,5 horas, tempo necessário para alcançar o FC desejado.

Ao longo do processo de filtração foram adicionados 200 mL de suspensão algal ao tanque de filtração, a fim de deixar o módulo de membranas totalmente submerso durante todo o experimento.

3.6. Análises para microalgas

3.6.1 Microscopia ótica

Através da microscopia ótica é possível verificar a morfologia e a integridade das microalgas. Assim, pode-se observar o efeito da microfiltração sobre a estrutura das microalgas.

As amostras foram analisadas antes e após os experimentos de microfiltração, utilizando-se um microscópio ótico marca Biotika, BRA, modelo B100, com aumento de 40x.

3.6.2 Câmara Neubauer

Foram realizadas análises no microscópio ótico marca Biotika, BRA, modelo B100 com o auxílio da Câmara Neubauer, aumento de 40x, para a contagem das células e, assim, determinar a concentração de células antes e após a filtração.

3.6.3 Análise de viabilidade celular

Para avaliação da viabilidade celular das microalgas após os experimentos de microfiltração, utilizou-se a técnica de adição de corantes.

Com base no trabalho de MATTIELLO (2014) foram selecionados dois corantes, um para marcar células vivas, Vermelho Neutro (Fluka, Sigma Aldrich), que é tomado por endocitose pelos vacúolos das células, e outro para marcar células mortas, Azul de Evans (Sigma Aldrich), que entra nas células através da membrana quando está comprometida.

Estes corantes foram adicionados à amostra de microalgas antes e após a microfiltração. Foram utilizadas soluções com concentração de 1,5 mM para o corante Vermelho Neutro e 0,5 mM para o corante Azul de Evans.

Amostras de 1 mL de solução algal foram coletadas (no início e no final da microfiltração) e adicionadas as soluções dos corantes, em amostras diferentes; 1,5 mL do corante Vermelho Neutro e 3,5 mL do Azul de Evans, volumes indicados no trabalho de MATTIELLO (2014). Após 20 minutos de contato da amostra com o corante foi feita a análise em microscópio ótico (marca Biotika, BRA, modelo B100). Não foram realizados testes com mistura de corantes em uma mesma amostra.

Capítulo 4 – Resultados e Discussão

Neste capítulo são apresentados e discutidos os resultados obtidos com os estudos relacionados à concentração de microalgas em sistemas com membranas submersas. Primeiramente, são abordados os resultados relativos à caracterização das membranas utilizadas. Na sequência, são apresentados os resultados sobre os estudos referentes aos procedimentos de cultivo e concentração das microalgas e os resultados referentes à caracterização do meio de cultivo.

4.1. Caracterização das membranas

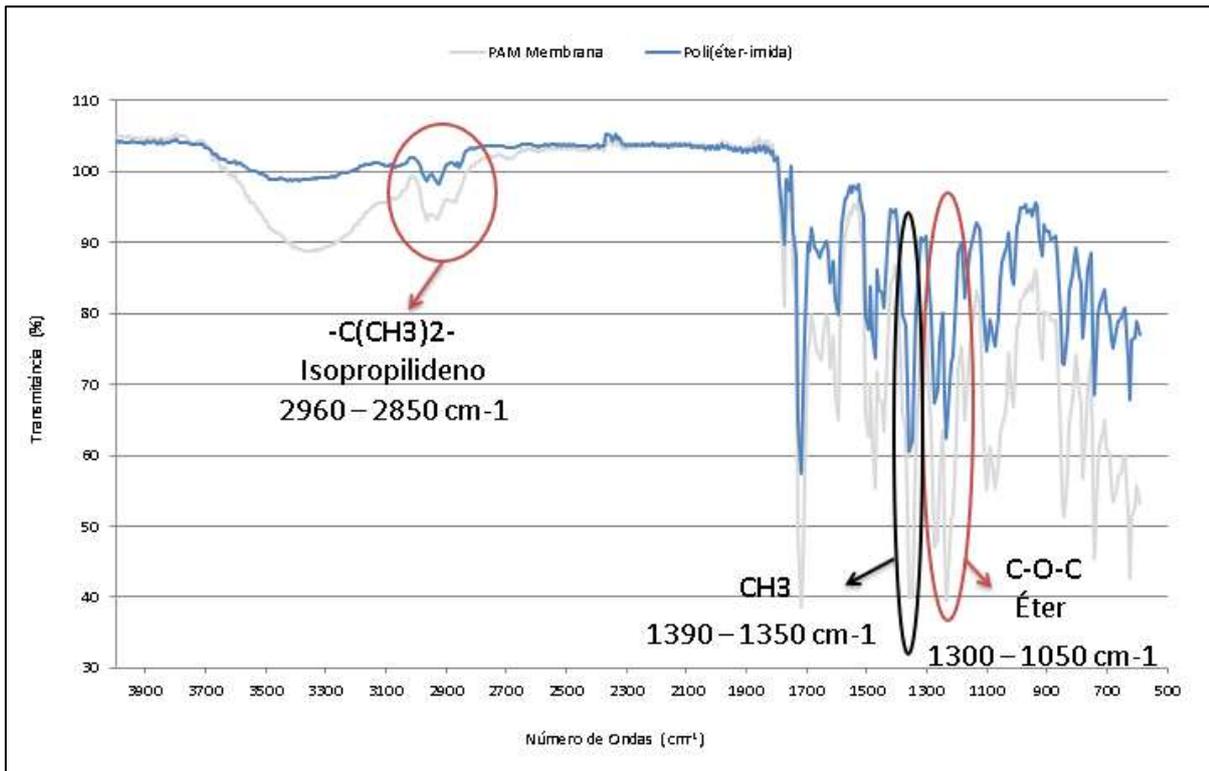
Duas diferentes membranas do tipo fibra oca foram utilizadas neste trabalho, uma de poli(éter-imida) (PEI) e outra em poli(fluoreto de vinilideno) (PVDF). Foram realizados os mesmos testes de caracterização e condicionamento para os dois tipos de membrana de fibra oca utilizados.

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

Uma análise da estrutura química por FT-IR das membranas utilizadas neste trabalho foi realizada com o objetivo de determinar os grupos funcionais existentes nas estruturas das mesmas e confirmar, em relação ao fornecedor, se os materiais poliméricos utilizados se tratavam realmente de PEI.

Na Figura 15 observam-se os espectros característicos de FTIR da membrana PEI (amostra existente no LASEM) e da membrana fornecida pela PAM – Membranas Seletivas Ltda. Observa-se nos dois espectros a presença da banda referente ao grupamento éter C-O-C na região entre 1050 e 1300 cm^{-1} e a presença do grupamento isopropilideno $\text{C}(\text{CH}_3)_2$ na região entre 2850 e 2960 cm^{-1} . Verifica-se, também, na região entre 1390 e 1350 cm^{-1} a presença do grupamento CH_3 , confirmando assim a similaridade dos dois espectros e confirmando, ainda, que a membrana PAM é uma membrana de poli(éter imida). Dados de caracterização de membranas por FTIR encontrados na literatura (PERIOTTO, 2012) corroboram com os encontrados neste trabalho de pesquisa.

Figura 15: Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier da membrana da PAM – Membranas Seletivas Ltda e de uma amostra de membrana de Poli(éter-imida).



4.1.2 Permeância hidráulica

Permeância hidráulica é a relação entre o fluxo de permeado e a pressão transmembrana. Nas Figura 16 e Figura 17 estão apresentados os resultados de fluxo permeado *versus* pressão transmembrana para os módulos fabricados com os diferentes tipos de membranas utilizados, de PEI e de PVDF, respectivamente.

Figura 16: Fluxo permeado em função da pressão transmembrana para membranas fabricadas em PEI: permeância hidráulica de dois módulos diferentes. Módulo 1 – permeância hidráulica de $83,2 \text{ L m}^2 \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ e R^2 de 0,9877. Módulo 2 – permeância hidráulica de $77,6 \text{ L m}^2 \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ e R^2 de 0,9503.

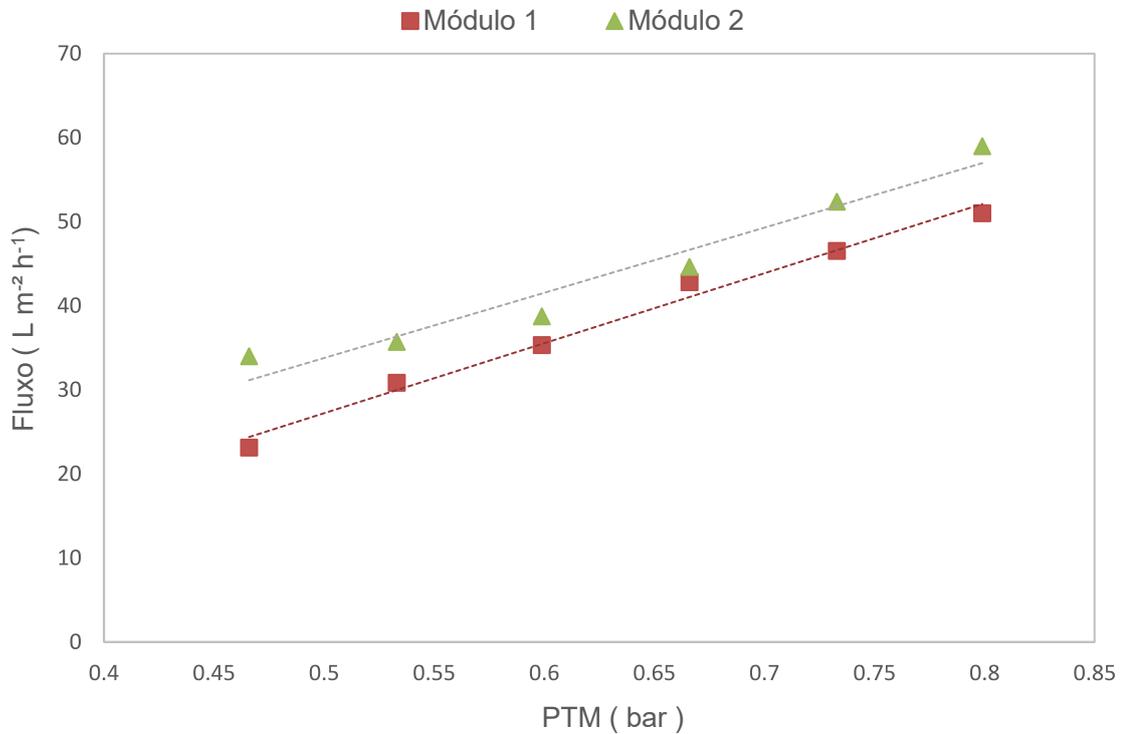
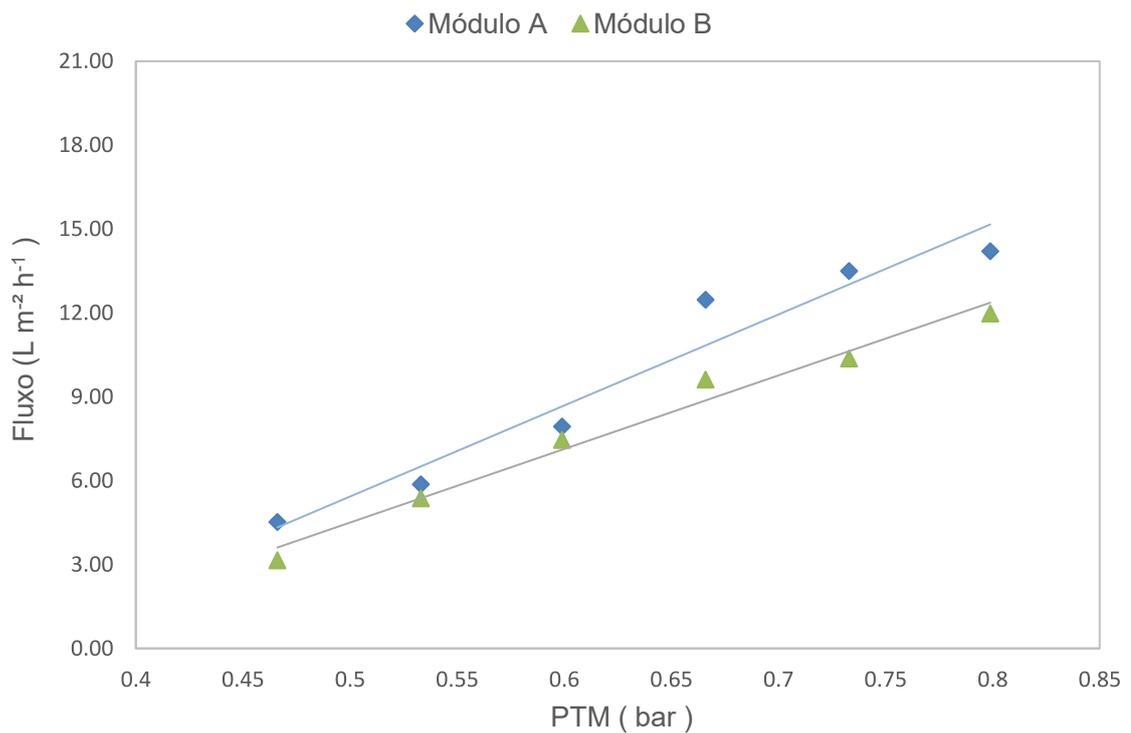


Figura 17: Fluxo permeado em função da pressão transmembrana para membranas fabricadas em PVDF: permeância hidráulica de dois módulos diferentes. Módulo A – permeância hidráulica de $32,5 \text{ L m}^2 \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ e R^2 de 0,9448. Módulo B – permeância hidráulica de $26,3 \text{ L m}^2 \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$ e R^2 de 0,9796.



Como pode-se observar, a permeância hidráulica das membranas fabricadas em PEI é superior às de PVDF, encontrando-se os valores médios de 80,5 e 29,5 L m² h⁻¹ bar⁻¹, respectivamente. Por apresentarem maior tamanho de poro e uma estrutura de fibra menos densa, os módulos construídos com membrana de PEI apresentaram melhores resultados de filtração em comparação com os módulos fabricados com membranas de PVDF. CADORE (2015) encontrou resultados semelhantes para a permeância das membranas de fibras ocas de PEI, igual a 73 L m² h⁻¹ bar⁻¹. No estudo conduzido por LI (2010), sobre preparação de membranas de fibra oca de PVDF/PVA (álcool polivinílico), para membranas com 0 % de adição de PVA o fluxo de água obtido foi de 30 L m² h⁻¹ bar⁻¹, similar ao encontrado neste estudo.

4.1.3 Medida de ângulo de contato

Foram realizadas medidas de ângulo de contato em 6 amostras de cada material, PEI e PVDF, para determinação do ângulo de contato. Na Tabela 4 são apresentados os valores médios de ângulo de contato encontrados para cada tipo de material.

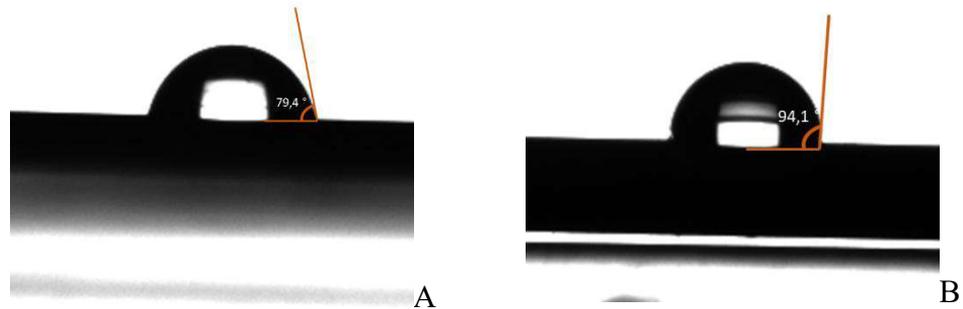
Tabela 4: Valores médios de ângulo de contato para as membranas de PVDF e PEI utilizadas.

	PVDF	PEI
Ângulo Médio	94,1° ± 8°	79,4° ± 5°

Os resultados obtidos, tanto para as membranas PEI quanto para as de PVDF, estão de acordo com valores encontrados na literatura. NURRA *et al.* (2014) e LI (2010), observaram características hidrofóbicas para as membranas de PVDF, enquanto CADORE (2015) obteve valores de ângulo de contato semelhantes aos encontrados neste estudo para as membranas de PEI, indicando características hidrofílicas.

Na Figura 18 pode-se visualizar fotografias de uma das medidas de ângulo de contato para cada material.

Figura 18: Fotografias de medida de ângulo de contato para as membranas de PEI e PVDF. A - Membrana de PEI com característica hidrofílica. B - Membrana de PVDF com característica levemente hidrofóbica.



4.1.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Através da análise de microscopia eletrônica de varredura (MEV) foram obtidas micrografias tanto da superfície quanto da seção transversal das fibras ocas dos dois materiais utilizados neste trabalho, PEI e PVDF.

Na Figura 19 estão apresentados os resultados obtidos para a superfície dos dois materiais. Apesar da micrografia referente à membrana de PVDF estar com um aumento maior, pode-se observar que a membrana de PEI (Figura 19 – A) possui maior uniformidade de tamanhos e uma melhor distribuição de poros.

Em relação à seção transversal das membranas, conforme apresentado na Figura 20, pode-se notar a mudança na estrutura das fibras da membrana de PEI ao longo da espessura, sendo muito mais densa na superfície externa do que na interna. Esta membrana é porosa e assimétrica, pois do lado externo da fibra percebe-se a existência de uma camada seletiva com poros muito pequenos e, do lado interno, uma camada com poros maiores. Já a membrana de PVDF também possui uma camada seletiva externa mais densa e uma estrutura porosa ao longo da espessura, levando a entender que pode ser simétrica.

Figura 19: Micrografias da superfície das membranas obtidas por MEV. A - Membrana de PEI – 10 kV, aumento de 3000 x. B - Membrana de PVDF - 15 kV, aumento de 3500 x.

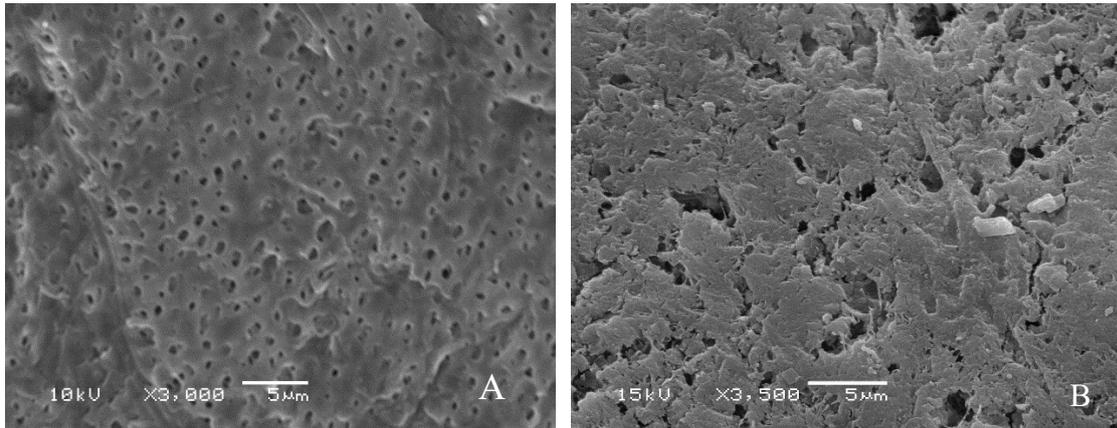
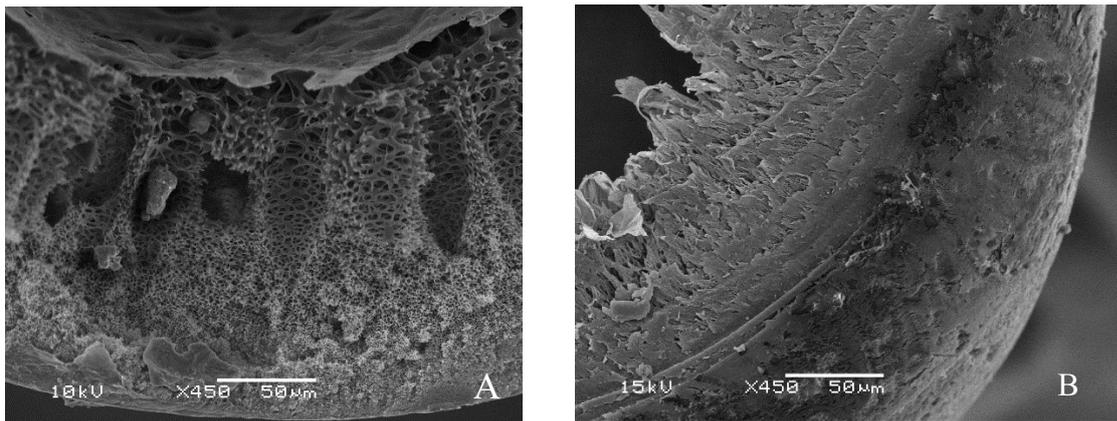


Figura 20: Micrografias da seção transversal das membranas obtidas por MEV. A - Membrana de PEI voltagem de aceleração de 10 kV, aumento de 450x. B - Membrana de PVDF, voltagem de aceleração de 15 kV, aumento de 450x.

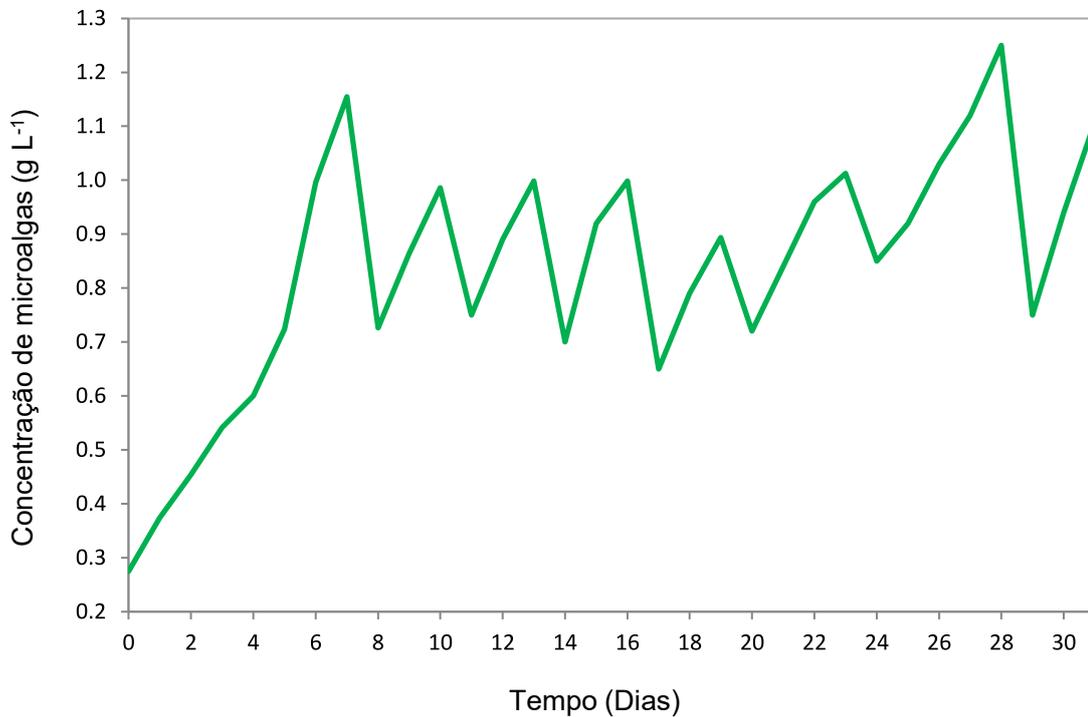


4.2 Cultivo de microalgas

O cultivo da *Chlorella* sp. foi realizado em fotobiorreatores do tipo *airlift*, em regime semicontínuo de operação, no meio de cultivo modificado. A cada ciclo, quando a suspensão de microalgas atingia a concentração de 1 g L^{-1} , metade do meio de cultivo era retirado para a realização dos experimentos de concentração e os biorreatores eram preenchidos com meio estéril modificado para que o crescimento das microalgas continuasse.

O crescimento das microalgas foi monitorado diariamente através da medida da densidade ótica da cultura a 750 nm, obtendo-se os resultados apresentados na Figura 21.

Figura 21: Média de concentração das microalgas na suspensão, durante o processo de cultivo em reatores *airlift* ao longo do tempo.



O cultivo levou cerca de 7 dias para atingir a concentração de 1 g L^{-1} , momento em que foi realizada a primeira retirada da suspensão algal. Após esta primeira intervenção, o cultivo levou aproximadamente dois dias para atingir novamente o crescimento desejado, mantendo-se a média de dois dias de crescimento até o final deste cultivo.

4.3. Experimentos de concentração

4.3.1 Compactação das membranas

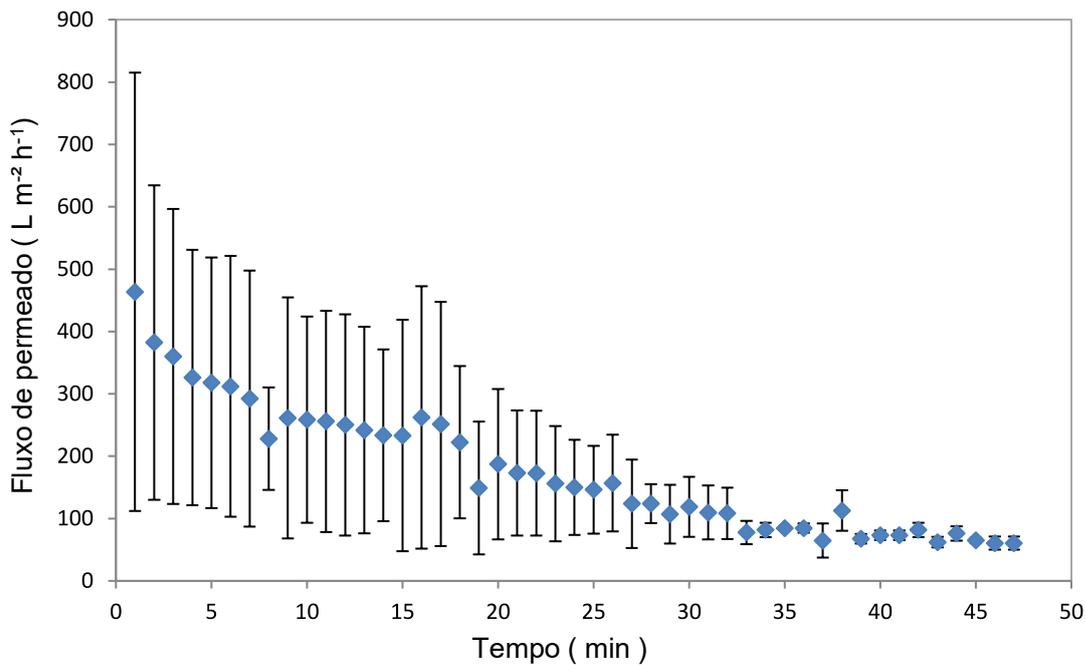
A compactação das membranas é uma etapa importante a ser realizada antes dos procedimentos de filtração com a solução de estudo para que o valor de fluxo permeado seja real, sem interferência deste fenômeno que ocorre na estrutura das membranas.

Este procedimento foi realizado a uma pressão transmembrana de 733 mbar até que fosse atingido um fluxo permeado de água estável. Para cada tipo de membrana de fibra oca foi realizada a compactação em dois diferentes módulos, sendo a média dos valores apresentada graficamente.

A membrana de PEI, como observa-se na Figura 22, levou aproximadamente 40 min para ter o fluxo estabilizado, alcançando uma redução do fluxo de permeado de 460 para $60 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$. Ainda, nota-se um maior desvio-padrão nos instantes iniciais do teste de

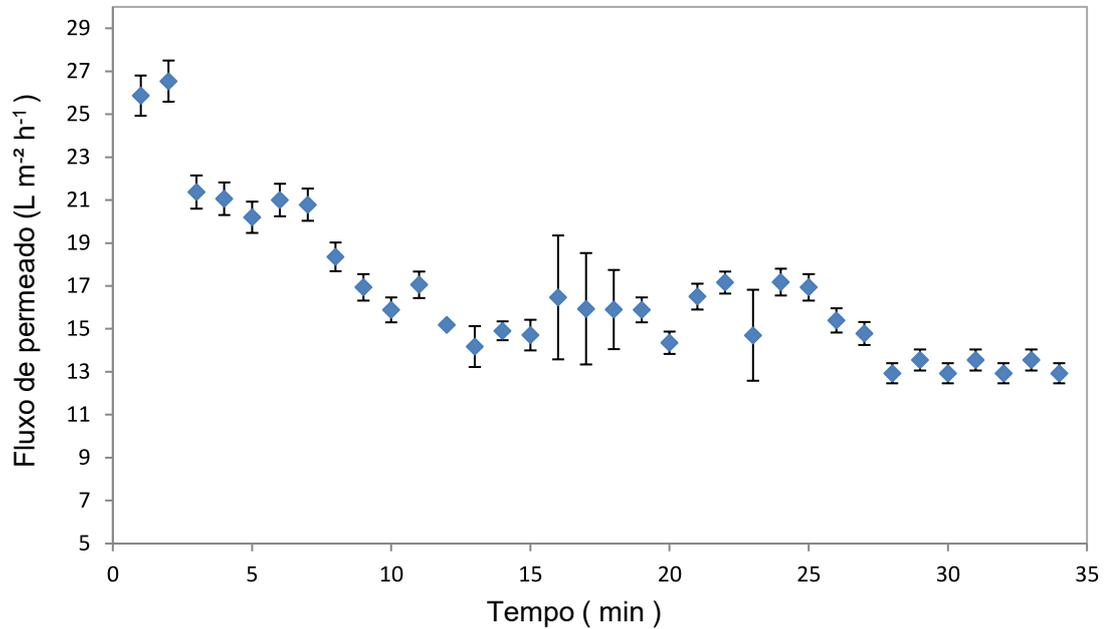
compactação e um desvio menos acentuado nos instantes finais. Essa discrepância nos valores de fluxo permeado pode estar associada às diferenças nas estruturas das fibras de cada módulo e ao próprio fenômeno de compactação.

Figura 22: Média dos valores de fluxo permeado para água destilada no processo de compactação de das membranas de PEI. Condições de operação: pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25 °C. As médias de fluxo são de dois módulos diferentes.



A membrana de PVDF apresentou uma compactação mais rápida e com menor variação entre o valor inicial de fluxo e o final. Em 30 min o fluxo de água reduziu de 26 para 13 $L m^{-2} h^{-1}$ (Figura 23) e se manteve estável. O desvio padrão da média entre as duas membranas para este material foi muito menor em comparação à membrana de PEI. E, como observou-se através do MEV, a sua estrutura parece ser simétrica e menos porosa tornando-a menos compactável. Estes resultados podem indicar que as membranas produzidas pela MEMCOR® possuem uma melhor padronização, gerando membranas mais similares.

Figura 23: Média dos valores de fluxo permeado para água destilada no processo de compactação de das membranas de PVDF. Condições de operação: pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25 °C. As médias de fluxo são de dois módulos diferentes.

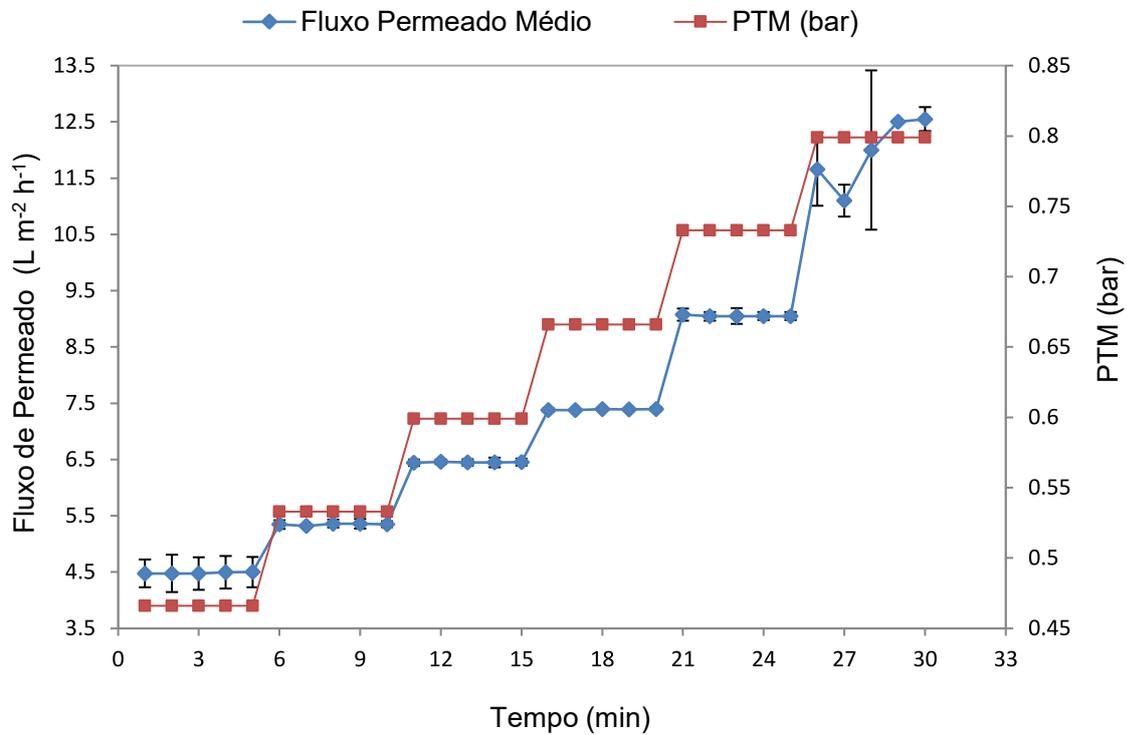


4.3.2 Determinação do fluxo crítico

Para determinação do fluxo crítico os dois tipos de membranas foram expostos a 6 valores distintos de vácuo 214, 280, 347, 414, 480, 547 mbar (PTM iguais a 799, 733, 666, 599, 533 e 466 mbar) para filtração da suspensão de microalgas. Vale ressaltar que o processo ocorre à pressão transmembrana constante, observando-se o comportamento do fluxo no intervalo de tempo igual a 5 min. Nas Figura 24 e Figura 25 pode-se observar a mudança na linearidade do fluxo médio em função da pressão para as membranas de PEI e PVDF, respectivamente.

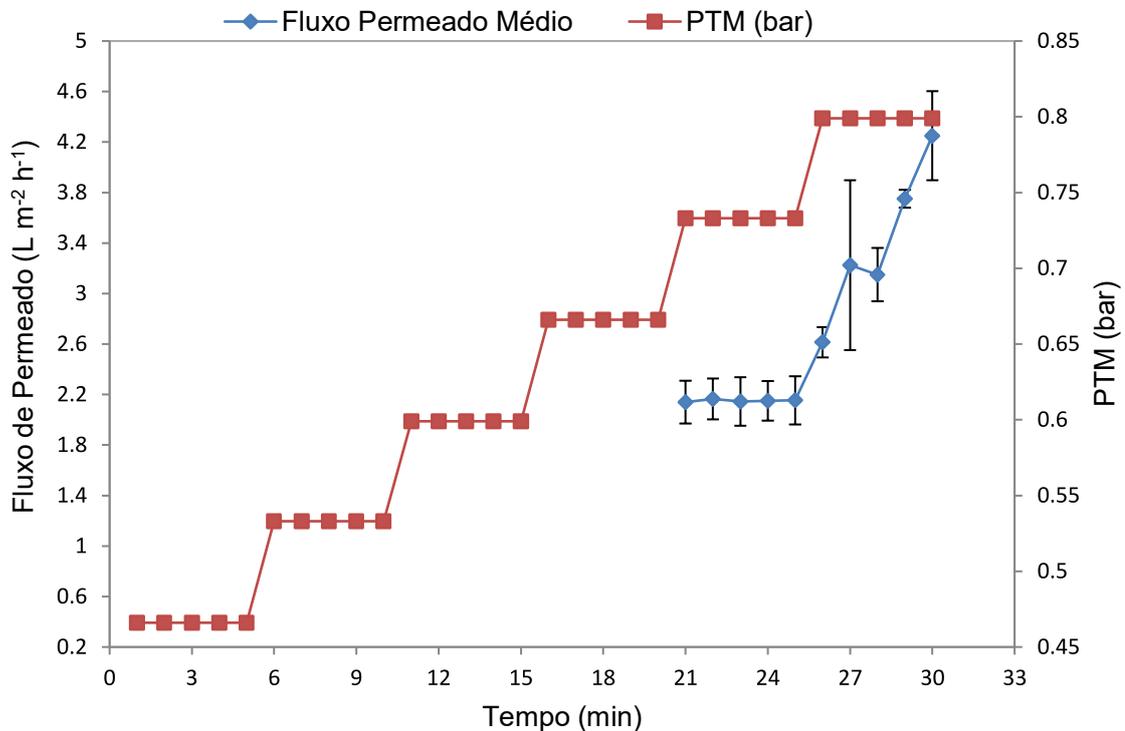
Para as membranas de PEI (Figura 24) ocorreu um aumento no fluxo linear na pressão de 0,79 bar, o que indica que nessa pressão foi atingido o fluxo crítico. Até a pressão de 0,73 bar, foi mantida a linearidade do fluxo permeado através da membrana, portanto, optou-se por trabalhar com esta pressão nos experimentos em que foi utilizada a membrana de poli(éter-imida).

Figura 24: Valores de fluxo de permeado médio para a membrana PEI para diferentes pressões transmembrana. Concentração inicial da suspensão contendo microalgas de 1 g L^{-1} , 3 litros de solução algal no tanque de alimentação e temperatura de 25°C .



Para as membranas de PVDF (Figura 25) não se obteve fluxo para pressões transmembrana inferiores a 0,73 bar, apenas a partir desta pressão. Na PTM de 0,73 bar o fluxo se manteve baixo, porém linear. Em pressões maiores, o fluxo apresentou um aumento, mas não manteve a linearidade. Portanto, também foi definido para a membrana de poli(fluoreto de vinilideno) a PTM de 0,73 bar como a pressão crítica.

Figura 25: Valores de fluxo de permeado médio para a membrana PVDF para diferentes pressões transmembrana. Concentração inicial da suspensão contendo microalgas de 1 g L^{-1} , 3 litros de solução algal no tanque de alimentação e temperatura de 25°C .



4.3.3 Concentração da suspensão de microalgas

Imediatamente após os ensaios de compactação das membranas em cada um dos módulos foram realizados os experimentos de microfiltração para a concentração das microalgas.

Primeiramente, foram testados os dois módulos com membranas de poli(éter-imida) e, na sequência, os de poli(flúoreto de vinilideno). Durante 13 horas, com intervalo de relaxamento das fibras de 8 horas na metade do tempo, foi efetuada a filtração da suspensão algal para cada módulo. Amostras da suspensão concentrada foram retiradas a cada 30 min, iniciando no tempo zero, e analisadas gravimetricamente. Ao longo do experimento eram acrescentados, sempre que necessário, 200 ml de suspensão algal para garantir que o módulo de membranas estivesse sempre submerso.

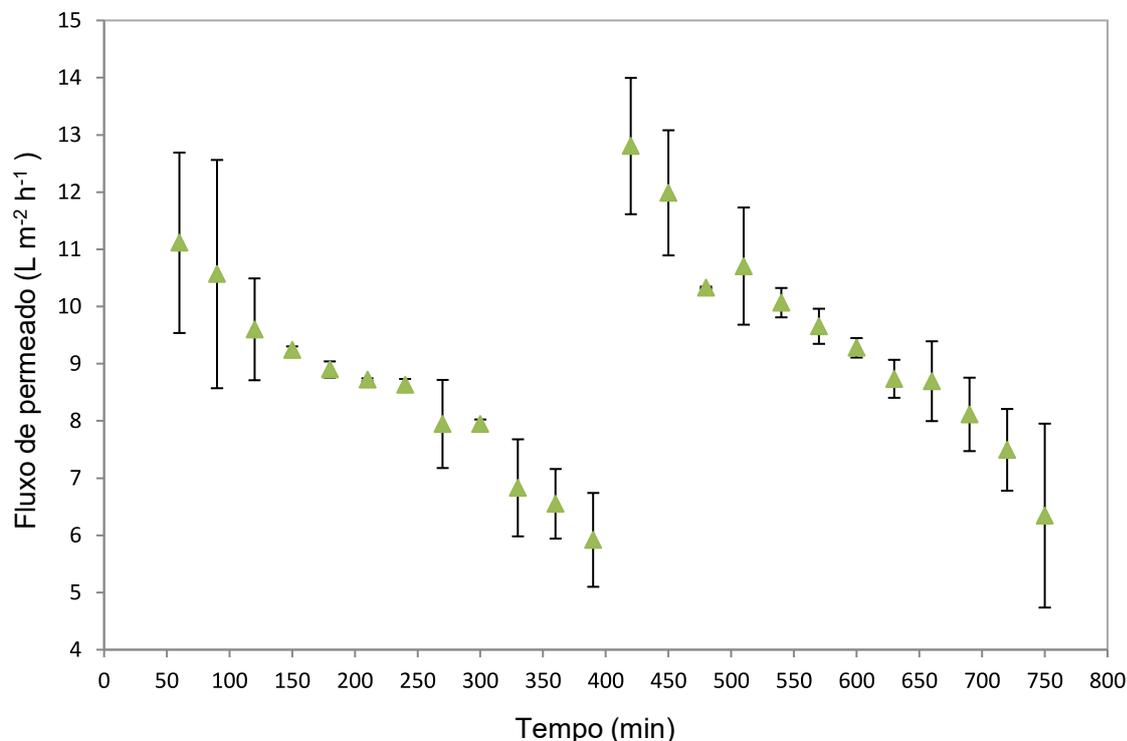
Conforme pode-se observar na Figura 26, devido aos fenômenos de polarização por concentração e *fouling*, após as 6 h e 30 min de experimento o fluxo de permeado decaiu consideravelmente, atingindo uma redução de aproximadamente 50%. A fim de retomar o fluxo de permeado inicial e melhorar a performance do experimento, foi aplicada a técnica de relaxamento das fibras por um período de 8 horas. Esta técnica consiste em manter o módulo

imerso na solução a ser filtrada, porém sem aplicação de PTM, mantendo somente a aeração do tanque. A aeração faz com que as partículas aderidas às fibras se soltem, desobstruindo poros e, por consequência, melhorando a capacidade de permeação das membranas.

Com a aplicação da técnica de relaxamento nas membranas de PEI o fluxo de permeado, que havia decaído de $11,1 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$ para $5,9 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, retornou a um valor inclusive superior ao inicial, $12,8 \text{ L m}^{-2} \text{ h}^{-1}$, comprovando a eficiência da técnica aplicada. Após o relaxamento, o experimento continuou por 6 h e 30 min de filtração para garantir que o fator de concentração (FC) definido igual a 2 fosse atingido.

No tempo de 420 minutos o procedimento de filtração foi interrompido e o relaxamento, com duração de 8 h, foi iniciado. Na sequência, a concentração das microalgas foi retomada a partir do tempo de 420 minutos, conforme mostrado na Figura 26. O período do relaxamento não foi inserido no gráfico do fluxo de permeado médio.

Figura 26: Valores de fluxo de permeado médio para os experimentos de filtração da suspensão de microalgas com a membrana de PEI. Condições de operação: Concentração inicial da suspensão contendo microalgas de $1,17 \text{ g L}^{-1}$, 3 litros de solução algal no tanque de alimentação, pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25°C .



Na Tabela 5 estão apresentados os valores de concentração média das amostras das suspensões concentradas de microalga por hora para o procedimento realizado com as

membranas de PEI. Estes valores são referentes à média dos dois módulos utilizados e, também, realizando-se uma média no tempo, uma vez que foram retiradas amostras a cada meia hora.

Tabela 5: Valores médios de concentração da suspensão algal durante a filtração com membranas de PEI.

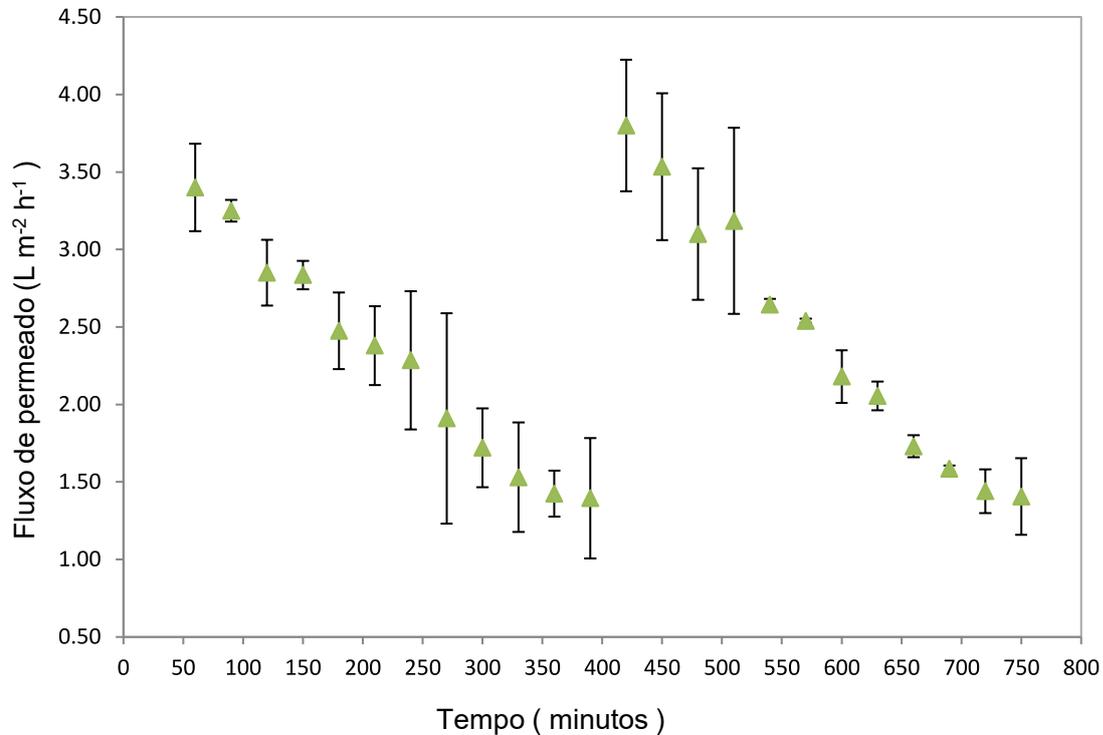
Tempo (h)	Concentração (g L ⁻¹)	Tempo (h)	Concentração (g L ⁻¹)
0	1,17	7	1,68
1	1,16	8	1,89
2	1,44	9	2,05
3	0,81	10	2,08
4	1,59	11	2,16
5	1,51	12	2,32
6	1,788	-	-

Analisando-se os resultados da Tabela 5 percebe-se que houve um crescimento gradativo na concentração das microalgas, alcançando 2 g L⁻¹ após 9 h de processo e 8h de técnica de relaxamento, atingindo-se assim o fator de concentração desejado.

Para a membrana de PVDF o mesmo procedimento foi realizado, filtração-relaxamento-filtração, pelo mesmo período, conforme demonstrado na Figura 27. Neste caso, não foi necessária a adição de mais suspensão algal durante o teste devido ao baixo fluxo de permeado.

Também pode-se observar que o procedimento de relaxamento teve o mesmo efeito benéfico para estas membranas, fazendo com que o fluxo de permeado retornasse a valores próximos aos do início do processo (Figura 27). Nas primeiras 6,5 h de filtração, o fluxo de permeado caiu de 3,4 para 1,4 L m⁻² h⁻¹, uma queda de quase 60%. Após o procedimento de relaxamento, assim como ocorreu para a membrana de PEI, o fluxo retomou para um valor maior que o inicial, 3,8 L m⁻² h⁻¹. No período de aplicação da técnica de relaxamento é provável que tenha acontecido uma pequena descompactação da membrana, o que leva a este resultado maior no início da segunda etapa de filtração. Este fenômeno pode ter ocorrido tanto para a membrana de PEI quanto para a de PVDF.

Figura 27: Valores de fluxo de permeado médio para os experimentos de filtração de solução de microalgas com a membrana de PVDF. Condições de operação: Concentração inicial da suspensão contendo microalgas de $1,02 \text{ g L}^{-1}$, 3 litros de solução algal no tanque de alimentação, pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25°C .



Na Tabela 6 tem-se os valores de concentração média por hora das amostras das soluções concentradas de microalga para o procedimento realizado com as membranas de PVDF.

Como consequência do baixo fluxo de permeado alcançado com as membranas de PVDF, após 13 h de experimento conseguiu-se um FC de apenas 1,18. Estima-se que para atingir a concentração de 2 g L^{-1} , com base no fluxo de permeado apresentado, seriam necessários mais 3 ciclos de processo, filtração-relaxamento-filtração, o que faz com que o processo se torne muito longo e pouco competitivo com outras técnicas.

Tabela 6: Valores médios de concentração da suspensão algal durante a filtração com membranas de PVDF.

Tempo (h)	Concentração (g L ⁻¹)	Tempo (h)	Concentração (g L ⁻¹)
0	1,02	7	1,08
1	1,01	8	1,06
2	1,06	9	1,12
3	1,04	10	1,11
4	1,06	11	1,14
5	1,05	12	1,18
6	1,08	-	-

Membranas de PVDF planas foram utilizadas em estudos anteriores para concentração de microalgas, como BILAD *et al.* (2012) que utilizou filtração submersa, e CARVALHO (2014) que utilizou microfiltração tangencial. Em ambos os estudos foram encontrados valores de aproximadamente 30 L m⁻² h⁻¹.

HWANG *et al.* (2015) modificaram membranas de PVDF com a adição de partículas de PEI, com o intuito aumentar a hidrofiliabilidade do material. Com filtrações tangenciais, os autores obtiveram um fluxo permeado de aproximadamente 77 L m⁻² h⁻¹.

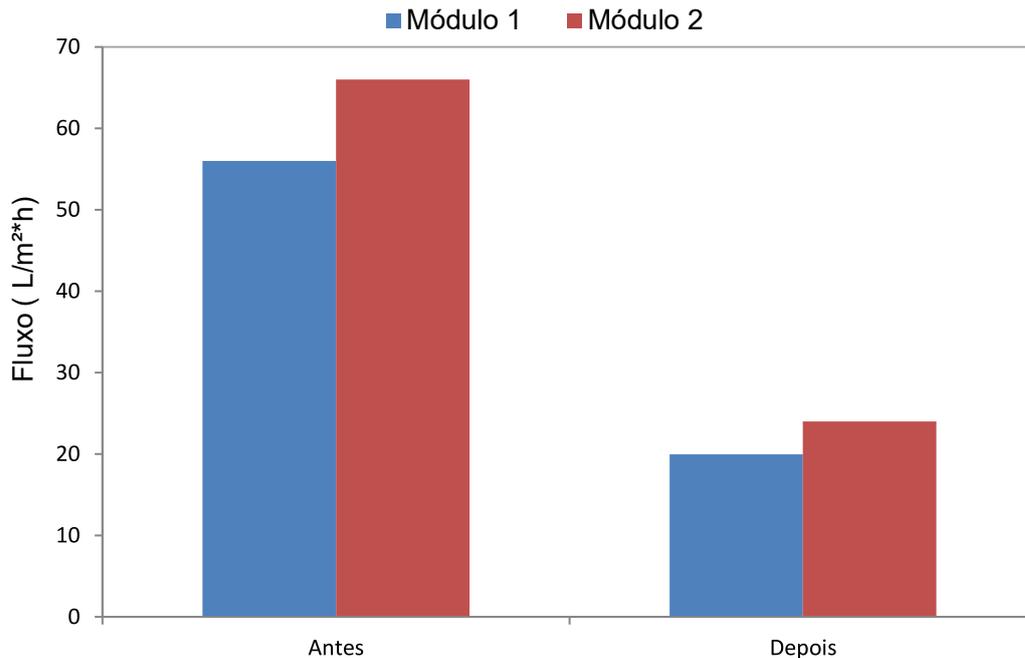
Estes resultados mais elevados podem estar relacionados com o tipo de filtração, com a geometria da membrana e do módulo e da facilidade de contato da área plana com a solução.

4.3.4 Determinação do percentual de *fouling*

Através de medidas de fluxo permeado de água destilada antes e após as etapas de microfiltração com a suspensão de microalgas foi possível determinar a tendência ao *fouling* para os dois tipos de membrana utilizados neste trabalho. A primeira medida de fluxo permeado foi realizada após a compactação das membranas e a última medida foi realizada após a segunda etapa de filtração da suspensão de microalgas, ao final do experimento. Vale ressaltar que não foi realizada limpeza das membranas, apenas um enxágue com água destilada.

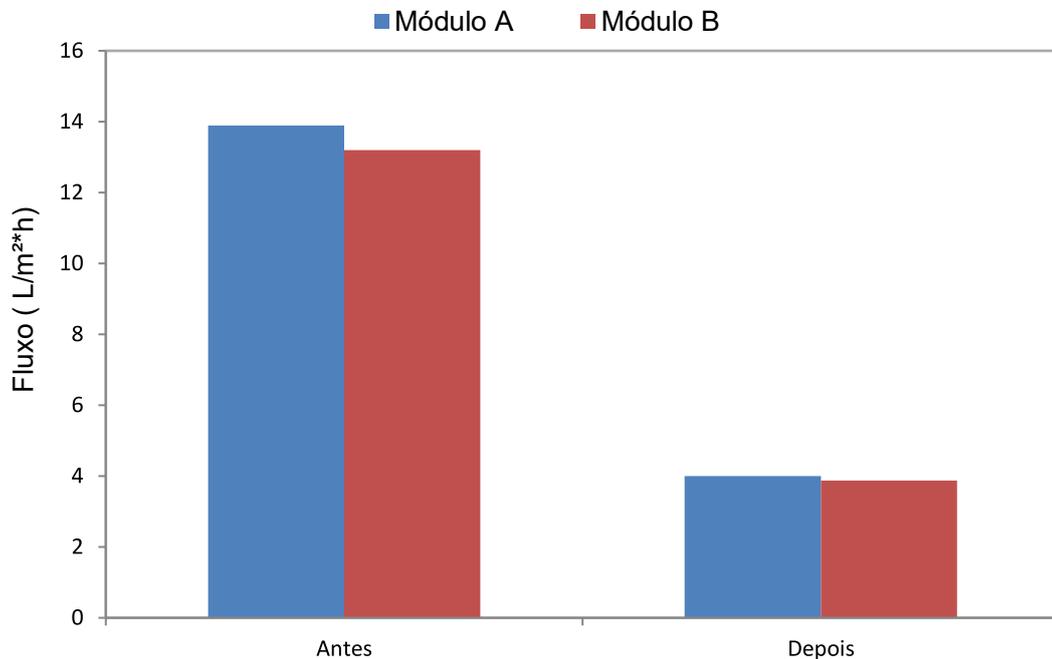
Na Figura 28 pode-se observar que o fluxo de permeado apresentou uma redução de aproximadamente 64% após o processo de concentração das microalgas para os dois módulos de membrana de PEI testados.

Figura 28: Fluxo permeado médio de água destilada antes e após a filtração com a suspensão de microalgas para módulos construídos com membranas PEI. Módulo 1 – tendência ao *fouling* de 64%. Módulo 2 – tendência ao *fouling* de 63%. Condições de operação: volume de 3 litros de água destilada no tanque de alimentação, pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25°C.



Na Figura 29 nota-se que, para a membrana de PVDF, a tendência ao *fouling* foi mais acentuada, obtendo-se uma redução do fluxo permeado após a filtração de 71% para ambos os módulos utilizados, valor superior aos das membranas de PEI.

Figura 29: Fluxo permeado médio de água destilada antes e após a filtração com a suspensão de microalgas para os módulos construídos com membranas de PVDF: Módulo A - tendência ao *fouling* de 71%. Módulo B – tendência ao *fouling* de 70,7%. Condições de operação: volume de 3 litros de água destilada no tanque de alimentação, pressão transmembrana de 733 mbar e temperatura de 25°C.



ROSSIGNOL (1999) afirma que membranas hidrofílicas são mais resistentes ao *fouling* porque a absorção de proteínas e macromoléculas dissolvidas é minimizada. Portanto, materiais com esta característica têm maior probabilidade de retomar o fluxo inicial de água após a filtração de uma solução ou suspensão.

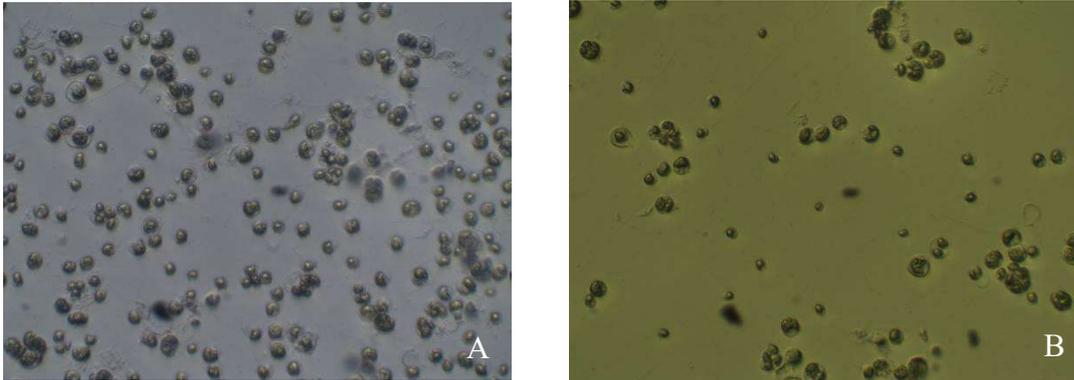
Segundo DREXLER (2014) apesar do fluxo inicial de membranas de ultrafiltração ser baixo, essas membranas apresentam melhores resultados em procedimentos de longa duração. No caso das membranas de microfiltração como o tamanho do poro é maior, essas membranas são mais propensas ao *fouling*.

4.4. Análises para microalgas

4.4.1 Microscopia ótica

As amostras de microalgas foram fotografadas antes e depois dos ensaios de filtração, com aumento de 40x, a fim de verificar a morfologia e a integridade das células após a exposição à pressão transmembrana e à aeração do tanque. As fotografias estão apresentadas na Figura 30.

Figura 30: Fotografias das microalgas com aumento de 40x. A – Microalgas antes do processo de filtração. B - Microalgas após processo de filtração. Experimento com as membranas de PEI.



Não foram observadas diferenças nas fotografias das microalgas para as diferentes membranas utilizadas. Por este motivo, apenas as imagens referentes aos experimentos com as membranas de PEI foram apresentadas.

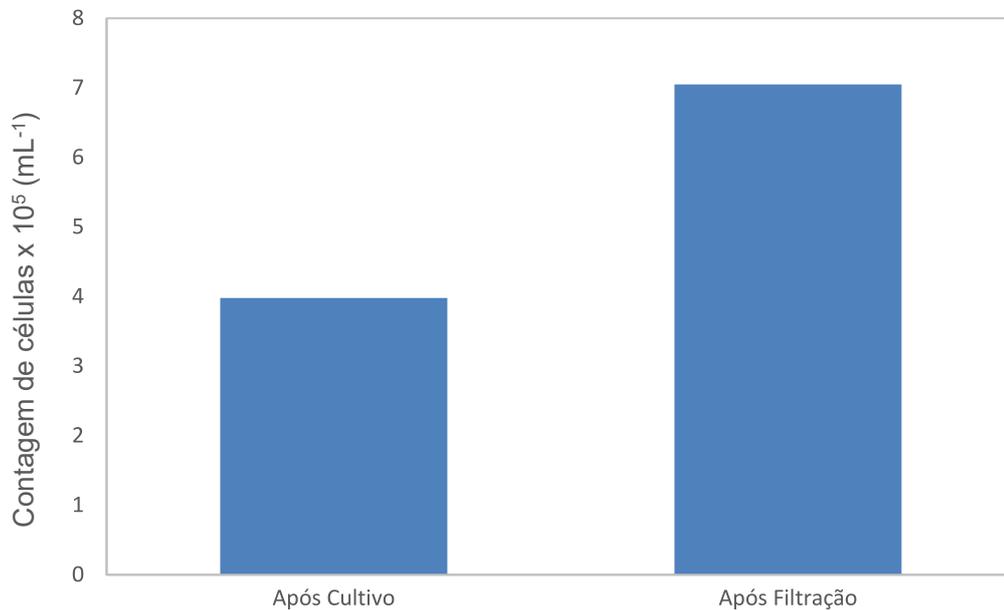
A pressão transmembrana utilizada nos testes foi de 0,73 bar e observando as imagens das microalgas antes e após os experimentos, nota-se que esta condição não causou prejuízos à integridade celular das microalgas. Sua forma arredondada de parede celular foi mantida, o que demonstra a resistência das células ao processo de microfiltração e confirma que a condição operacional utilizada foi adequada. Pela integridade celular das microalgas após o experimento, podemos afirmar também que a velocidade de aeração mantida nos tanques e a ocorrência dos testes em temperatura ambiente podem ser considerados fatores que não exerceram prejuízo às células.

4.4.2 Câmara Neubauer

Através da Câmara Neubauer foi possível fazer a contagem das células viáveis de microalgas ao final do cultivo nos reatores *airlift* e após a filtração submersa. Foram consideradas viáveis as células que apresentaram estrutura da parede celular intacta.

Os resultados referentes à membrana de PEI são apresentados na Figura 31.

Figura 31: Número de células viáveis: ao final do cultivo das microalgas e após a filtração com membrana submersa.



Ao final do cultivo das microalgas, instante em que se atingiu a concentração de 1 g L^{-1} , foi realizada uma contagem das células algais obtendo-se para o cultivo que foi utilizado nos experimentos com a membrana de PEI uma quantidade de $(4,00 \pm 0,2) \times 10^5 \text{ células mL}^{-1}$ e para o cultivo que foi utilizado nos experimentos com a membrana de PVDF uma quantidade de $(3,98 \pm 0,07) \times 10^5 \text{ células mL}^{-1}$. Após o procedimento de filtração foi realizada nova contagem, que como pode-se observar na Figura 31, resultou em um número maior de células. Para a membrana de PEI o número encontrado foi de $(7,47 \pm 0,34) \times 10^5 \text{ células mL}^{-1}$ e para a de PVDF foi de $(4,84 \pm 0,03) \times 10^5 \text{ células mL}^{-1}$.

4.4.3 Viabilidade celular através do emprego de corantes

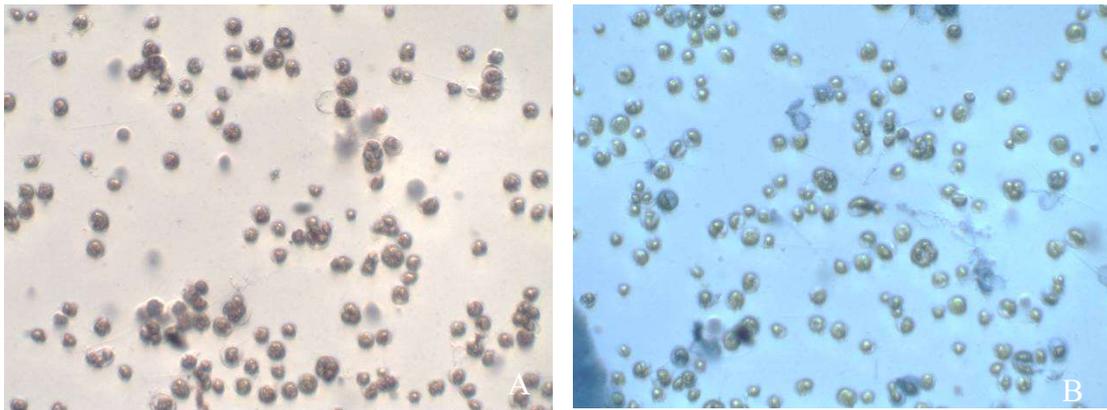
Com base no trabalho de MATTIELLO (2014), dois corantes foram utilizados para avaliação da viabilidade celular das células das microalgas. Para marcação das células vivas o corante Vermelho Neutro foi o escolhido, e para as mortas, o Azul de Evans.

O corante Vermelho Neutro é tomado por endocitose pelos vacúolos das células, penetrando a parede celular da célula ainda viva. O Azul de Evans, entra nas células através da membrana quando está comprometida, ou seja, inviável.

Para esta análise foram retiradas amostras antes e após a filtração com as membranas de PEI. No início da filtração foram retiradas 2 alíquotas de 1 mL de suspensão algal de cada experimento para que fossem adicionados os corantes, para posterior análise no microscópio.

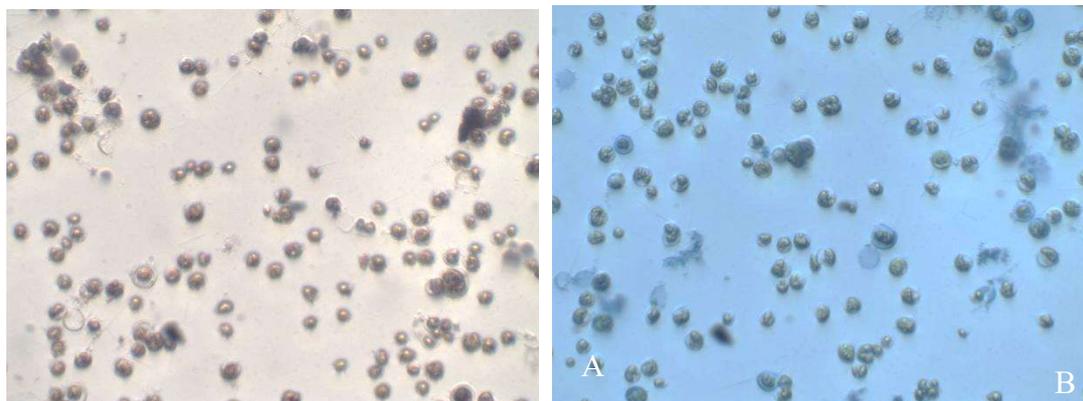
Na Figura 32-A observa-se que o corante Vermelho Neutro foi incorporado pelas microalgas, dando indicativos da viabilidade das células. Este efeito é exatamente o esperado, pois a suspensão recém havia sido retirada dos reatores de crescimento. Na Figura 32-B tem-se células ainda verdes, sem o corante Azul de Evans, outro indicativo que neste momento do experimento, as células se encontravam vivas e íntegras. Observa-se a existência de EPS (substâncias poliméricas extracelulares) na imagem apresentada na Figura 32-B, provavelmente causados pela *lise* celular ocasionada pelo próprio corante, que em contato com as microalgas por tempo excessivo rompe a parede celular.

Figura 32: Fotografias das microalgas marcadas com corantes antes do procedimento de filtração. A- Células marcadas com corante Vermelho Neutro. B – Células marcadas com corante Azul de Evans.



Novas amostras foram retiradas após o procedimento de filtração e, também, foram marcadas com os corantes para células vivas e mortas. Na Figura 33-A observa-se a coloração das células com o Vermelho Neutro, indicativo da viabilidade e integridade após o experimento. O corante Azul de Evans marcou mais células nesta etapa e mostra também a existência de EPS possivelmente liberados pela *lise* celular ocorrida durante a filtração. Mas, ainda assim, tem-se na maioria células não coradas, indicando que o procedimento experimental adotado é compatível para manter a viabilidade e integridade celular das microalgas.

Figura 33: Fotografias das microalgas marcadas com corantes após procedimento de filtração. A- Células marcadas com corante Vermelho Neutro. B – Células marcadas com corante Azul de Evans.



A partir destes resultados observa-se a viabilidade da utilização deste processo de filtração com membranas submersas, uma vez que a concentração foi alcançada para a membrana de PEI e a integridade celular das microalgas foi mantida.

Capítulo 5 - Conclusões e sugestões para trabalhos futuros

Ao longo do desenvolvimento deste trabalho foram realizados experimentos de microfiltração submersa com dois diferentes materiais de membranas, poli (éter imida) e poli (fluoreto de vinilideno), com o objetivo de concentrar uma suspensão de microalgas de 1 g L^{-1} para 2 g L^{-1} .

O cultivo das microalgas no sistema de batelada semicontínua se mostrou eficaz em relação ao tempo de cultivo. Com esta técnica, de realizar a colheita somente de metade do volume do reator e preencher os equipamentos com novo meio estéril de cultivo, a etapa de pré-inóculo foi realizada apenas uma vez no início dos trabalhos, se tornando desnecessária na continuação do experimento. Caso fosse optado utilizar todo o volume dos reatores a cada experimento, um novo inóculo teria de ser preparado e o tempo envolvido teria se tornado mais elevado.

Para comparação entre os materiais utilizados das membranas foram construídos módulos de mesma área de filtração e foram estudados os mesmos parâmetros para cada módulo. Módulos construídos com a membrana de PEI - poli(eterimida) apresentaram os melhores resultados de microfiltração de suspensão algal do que os módulos com a membrana de PVDF - poli(fluoreto de vinilideno), provavelmente devido ao tamanho maior dos poros das membranas de PEI e às interações entre a suspensão algal e o material das membranas.

Com um maior tamanho de poros e uma estrutura de fibras menos densa os dois módulos construídos com PEI apresentaram, respectivamente, permeâncias hidráulicas de $77,6$ e $83,2 \text{ L m}^2 \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$. Por sua vez os dois módulos fabricados com PVDF apresentaram permeâncias hidráulicas de $32,5$ e $26,3 \text{ L m}^2 \text{ h}^{-1} \text{ bar}^{-1}$, respectivamente. Estes valores demonstram que o fluxo através das membranas de PEI é bem maior quando comparado com o fluxo através das membranas de PVDF, ocasionando assim um menor tempo de filtração da solução algal quando se utilizam membranas de PEI. Os experimentos de microfiltração foram realizados utilizando uma PTM de $0,73 \text{ bar}$ para os dois tipos de membrana utilizados. Essa pressão foi definida devido ao fluxo crítico obtido para o processo.

A utilização da técnica de relaxamento das membranas ao longo do experimento foi de extrema importância para que o fluxo de permeado retornasse aos valores iniciais, sem a necessidade de limpeza química, e, desta forma, o fator de concentração pré-estabelecido igual 2 fosse atingido mais rapidamente.

Ao longo dos experimentos, utilizando as membranas de PEI, em 12 horas de filtração com um intervalo de relaxamento de 8 horas, atingiu-se a concentração de microalgas de 2 g L^{-1} , enquanto para as membranas de PVDF atingiu-se a concentração final de microalgas de $1,2 \text{ g L}^{-1}$, utilizando as mesmas condições operacionais.

A redução no fluxo de permeado causada pelo *fouling* no processo de filtração das microalgas chegou a 64% para as membranas de PEI e 71% para as de PVDF, indicando que as membranas de PEI são mais adequadas para a microfiltração submersa de microalgas do tipo *Chlorella sp.*

Em nenhum dos experimentos realizados de filtração de suspensão algal foram observados prejuízos quanto à integridade das microalgas, ou seja, tanto a vazão de aeração do tanque quanto a pressão transmembrana estavam adequadas aos experimentos. O emprego de corantes para determinação da viabilidade celular das microalgas foi uma técnica simples e visual de observação da integridade dos microrganismos.

Portanto, as condições experimentais definidas para os procedimentos de filtração se mostraram adequadas sendo que os melhores resultados para a microfiltração submersa de microalgas foram obtidos com as membranas de PEI.

Alguns aspectos que não puderam ser avaliados neste trabalho podem ser investigados em estudos futuros de continuidade e estão listados a seguir.

- Estudar o desempenho de módulos com diferentes diâmetros e áreas de permeação.
- Estudar o desempenho das membranas e das microalgas em experimentos de maior duração.
- Avaliar a interação dos dois corantes (para células vivas e para células mortas) na mesma amostra.
- Estudar a possibilidade de um sistema integrado de cultivo de microalgas e concentração simultânea.

Referências

ANANTHI, V. *et al.* A critical review on different harvesting techniques for algal based biodiesel production. [S. l.]: Elsevier B.V., 2021.

BILAD, M. R. *et al.* Coupled cultivation and pre-harvesting of microalgae in a membrane photobioreactor (MPBR). *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 155, p. 410–417, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.05.026>.

BILAD, M.R. *et al.* Direct comparison of aerated and vibrated filtration systems for harvesting of *Chlorella vulgaris*. *Algal Research*, [s. l.], v. 6, p. 32–38, 2014. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211926414000770>.

BILAD, M. R. *et al.* Harvesting microalgal biomass using submerged microfiltration membranes. *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 111, p. 343–352, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.02.009>.

BILAD, M. R.; ARAFAT, H. a.; VANKELECOM, I. F. J. Membrane technology in microalgae cultivation and harvesting: A review. *Biotechnology Advances*, [s. l.], v. 32, n. 7, p. 1283–1300, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biotechadv.2014.07.008>.

BRASIL, B. S. A. F.; SILVA, F. C. P.; SIQUEIRA, F. G. Microalgae biorefineries: The Brazilian scenario in perspective. *New Biotechnology*, [s. l.], 2017.

BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, [s. l.], v. 14, n. 2, p. 557–577, 2010.

CADORE, Í. R. Efeito das condições hidrodinâmicas no desempenho de um Biorreator com Membranas Submersas em pressão constante. [s. l.], 2015.

CARDOSO, A. S. *et al.* O uso de microalgas para a obtenção de biocombustíveis. *Revista Brasileira de Biociência*, [s. l.], v. 9, n. 4, p. 542–549, 2011.

CARVALHO, A. Recuperação e Purificação de Biomassa das Microalgas de *Chlorella sp.* e *Dunaliella tertiolecta* Utilizando Microfiltração Tangencial Recuperação e Purificação de Biomassa das Microalgas de *Chlorella sp.* e *Dunaliella tertiolecta* Utilizando Microfiltração. 2014. [s. l.], 2014.

CHEIRSILP, B.; TORPEE, S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch

cultivation. *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 110, p. 510–516, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2012.01.125>.

GAO, F. *et al.* Bioresource Technology Concentrated microalgae cultivation in treated sewage by membrane photobioreactor operated in batch flow mode. *BIORESOURCE TECHNOLOGY*, [s. l.], v. 167, p. 441–446, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.06.042>.

HWANG, T. *et al.* Dramatic improvement of membrane performance for microalgae harvesting with a simple bubble-generator plate. *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 186, p. 343–347, 2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2015.03.111>.

HWANG, T. *et al.* Harvesting of *Chlorella* sp. KR-1 using a cross-flow membrane filtration system equipped with an anti-fouling membrane. *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 139, p. 379–382, 2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2013.03.149>.

HWANG, T. *et al.* Microalgae recovery by ultrafiltration using novel fouling-resistant PVDF membranes with in situ PEGylated polyethyleneimine particles. *Water Research*, [s. l.], v. 73, p. 181–192, 2015. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0043135414008343>.

KHAN, S. a. *et al.* Prospects of biodiesel production from microalgae in India. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, [s. l.], v. 13, n. 9, p. 2361–2372, 2009.

KNUCKEY, R. M. *et al.* Production of microalgal concentrates by flocculation and their assessment as aquaculture feeds. *Aquacultural Engineering*, [s. l.], v. 35, n. 3, p. 300–313, 2006. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0144860906000343>.

MATTIELLO, I. D. L. V. Avaliação de corantes para a detecção da viabilidade do fitoplâncton marinho. Dissertação de Mestrado- Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, [s. l.], p. 78, 2014.

MO, W. *et al.* Application of membrane dewatering for algal biofuel. *Algal Research*, [s. l.], v. 11, p. 1–12, 2015. Disponível em: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211926415001381>.

MOLINA GRIMA, E. *et al.* Recovery of microalgal biomass and metabolites: Process options and economics. [S. l.: s. n.], 2003.

MULDER, M. Characterisation of membranes. [s. l.], 1991.

-
- NURRA, C. *et al.* Vibrating membrane filtration as improved technology for microalgae dewatering. *Bioresource Technology*, [s. l.], v. 157, p. 247–253, 2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.biortech.2014.01.115>.
- RAWAT, I. *et al.* Dual role of microalgae: Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production. *Applied Energy*, [s. l.], v. 88, n. 10, p. 3411–3424, 2011. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.apenergy.2010.11.025>.
- REDAELLI, C. Estudo da Produção de Lipídeos e Carotenoides por *Chlorella minutissima* em Fotobiorreator. 2012. [s. l.], 2012.
- SHEKHAR, M. *et al.* Microfiltration of algae: Impact of algal species, backwashing mode and duration of filtration cycle. *Algal Research*, [s. l.], v. 23, p. 104–112, 2017. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.algal.2017.01.013>.
- SILVA, M. K. Da. Biorreatores com Membranas : uma Alternativa para o Tratamento de Efluentes. Universidade Federal Do R O Grande Do Sul, [s. l.], n. Tese de Doutorado, 2009.
- SINGH, G.; PATIDAR, S. K. Microalgae harvesting techniques: A review. [S. l.: s. n.], 2018.
- WICAKSANA, F. *et al.* Microfiltration of algae (*Chlorella sorokiniana*): Critical flux, fouling and transmission. *Journal of Membrane Science*, [s. l.], v. 387–388, n. 1, p. 83–92, 2012. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.memsci.2011.10.013>.
- YAMAMURA, H. *et al.* Application of 1.0- μm macroporous hollow fiber membrane for prevention of membrane fouling and enhancement of permeate flux in algae harvesting. *Bioresource Technology Reports*, [s. l.], v. 17, n. November 2021, p. 100895, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.biteb.2021.100895>.
- ZANG, X. *et al.* Effects of extracellular organic matter on chitosan coagulation-microfiltration harvesting of *Microcystis flos-aquae*. *Separation and Purification Technology*, [s. l.], v. 287, n. November 2021, p. 120548, 2022. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.seppur.2022.120548>.