



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL
ESCOLA DE ENGENHARIA
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA
ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA
QUÍMICA



Efeitos da luz UV no cultivo da microalga *Scenedesmus sp.*

Autor: Lúcio Sulzbach Silva

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Farenzena

Coorientador: Nelzy Neyza Vargas Ramirez

Porto Alegre, dezembro de 15

Sumário

Sumário	ii
Agradecimentos	iv
Resumo	v
Lista de Figuras	vi
Lista de Tabelas	vii
1 Introdução	1
2 Revisão Bibliográfica	3
2.1 Microalgas	3
2.1.1 Uso de microalgas	3
2.1.2 <i>Scenedesmus</i> sp.	4
2.2 Produção de microalgas	4
2.3 Sistemas de cultivo	5
2.3.1 Sistemas abertos	5
2.3.2 Sistemas fechados	6
2.4 Comparação entre sistemas de cultivo	8
2.5 Biorreatores de baixo custo	9
2.6 Luz Ultravioleta	10
2.6.1 Saturação luminosa e fotoinibição	11
2.6.2 Camada de ozônio	12
2.7 Relação entre algas e luz ultravioleta	12
3 Materiais e Métodos	15
3.1 Produção das microalgas	15
3.2 Medida de biomassa produzida	15
3.3 Cálculo de produtividade	19
3.4 Fotobiorreator	19
3.4.1 Tempo de cultivo	21
3.5 Filtros Ultravioletas	21
3.5.1 Análise dos filmes plásticos	22
3.5.2 Montagem do sistema de filme plástico	25
4 Resultados	26
4.1 Fotobiorreatores de baixo custo	26
4.1.1 Experimento controle	26
4.1.2 Experimento com o filme plástico anti-UV	27
4.2 Comparação do experimento controle com o experimento com filtro UV	28
4.3 Comparação do experimento controle com dados da literatura	30
5 Conclusões e Trabalhos Futuros	32

Agradecimentos

Primeiramente agradeço por toda a minha família, em especial aos meus pais, pelo amor incondicional e por me proporcionarem suporte emocional e financeiro durante todo o meu período da graduação. Vocês sempre compactuaram com meus sonhos e meus desejos, e sou muito grato por isso.

Agradeço também às amigadas que fiz durante a faculdade e que levarei para o resto da minha vida. Amigos sem os quais muito provavelmente eu não teria conquistado o grau de bacharel em engenharia química. Agradeço por todas as histórias que tivemos durante esse tempo e a todas que ainda não de vir.

Gostaria de agradecer aos meus professores, sem os quais nada disso seria possível. Professores que me deram toda a base e o conhecimento para sair da universidade com todas as ferramentas necessárias para atuar de forma ética e profissional no mercado de trabalho. Um agradecimento especial para o meu orientador Prof. Dr. Marcelo Farenzena pela ajuda durante a realização desse trabalho e à minha coorientadora Nelzy Ramirez por me transmitir todo o conhecimento necessário para realizar os experimentos com as microalgas.

Resumo

A radiação ultravioleta (RUV) solar incidente na atmosfera terrestre tem a capacidade de modificar diversos ecossistemas. As microalgas como parte disso sofrem mudanças em seu crescimento e em sua produtividade. Este trabalho buscou avaliar a influência da luz ultravioleta no crescimento da microalga *Scenedesmus sp.* cultivada em um fotobiorreator de baixo custo. Os resultados mostraram que a microalga estudada apresentou menores taxas de crescimento e de produtividade de biomassa microalgal durante o experimento sem a influência da RUV. A concentração máxima e a produtividade média foram 22 e 24% menores, respectivamente, no teste sem a luz UV em comparação com o teste com a presença desse mesmo espectro de onda (concentrações máximas de $1,647 \pm 0,109 \text{ g.L}^{-1}$ para o teste controle e $1,282 \pm 0,168 \text{ g.L}^{-1}$ para o teste com o filtro anti-UV).

Lista de Figuras

Figura 2.1: Fluxograma de produção de microalgas e seus produtos. Adaptado de Naik <i>et al.</i> , 2010.	5
Figura 2.2: Visão superior esquemática de um <i>raceway pond</i> . Adaptado de Chisti (2007). 6	6
Figura 2.3: (a) Fotobiorreator tubular vertical. (b) Fotobiorreator tubular horizontal. (c) Fotobiorreator tubular helicoidal. Adaptado de Chisti (2007) e Singh e Sharma (2012).....	7
Figura 2.4: Diferentes geometrias de fotobiorreatores de placas. Adaptado de Dasgupta <i>et al.</i> (2010).....	8
Figura 2.5: Fotobiorreatores de sacos plásticos. Adaptado de Klein (2015)	10
Figura 2.6: Efeito da intensidade luminosa para uma taxa específica de crescimento microalgal. Adaptado de Chisti (2007).	12
Figura 3.1: Relação entre a concentração de biomassa e absorbância no experimento controle.....	17
Figura 3.2: Relação entre a concentração de biomassa e absorbância no experimento com o filtro ultravioleta.....	17
Figura 3.3: Relação entre a concentração de biomassa e absorbância no experimento controle com interseção na origem	18
Figura 3.4: Relação entre a concentração de biomassa e absorbância no experimento com o filtro ultravioleta com interseção na origem.....	18
Figura 3.3: Sistema de cultivo da <i>Scenedesmus sp.</i> em fotobiorreatores de baixo custo. .	20
Figura 3.4: Acessórios do fotobiorreator de baixo custo.....	20
Figura 3.5: Filmes plásticos testados durante o experimento. Da esq. para a dir.: filme 1, filme 2 e Trifilme.....	21
Figura 3.6: Espectro visível de absorção dos filmes plásticos.....	23
Figura 3.7: Espectro de radiação UV dos filmes plásticos.....	24
Figura 3.8: Montagem do sistema de filme plástico.	25
Figura 3.9: Sistema de cultivo da <i>Scenedesmus sp</i> juntamente com o sistema de filme plástico.....	26
Figura 4.1: Curva logarítmica de crescimento das microalgas durante o experimento controle.	27
Figura 4.2: Curva de crescimento da <i>Scenedesmus sp.</i> durante o experimento controle. 27	27
Figura 4.3: Curva logarítmica do crescimento das microalgas <i>scenedesmus sp.</i> durante o experimento com o filme plástico anti-UV.....	28
Figura 4.4: Curva de crescimento das microalgas durante o experimento com o filme plástico anti-UV.	28
Figura 4.5: Curva comparativa de crescimento da microalga <i>Scenedesmus sp.</i> nos experimentos de controle e com o filtro anti-UV.	29
Figura 4.6: Curva logarítmica do crescimento de biomassa nos experimentos de controle e com o filtro anti-UV	29
Figura 4.7: Resultado do teste Tukey aplicado as produtividades.....	30

Lista de Tabelas

Tabela 2.1: Principais características dos fotobiorreatores de placas. Adaptado de Dasgupta <i>et al.</i> (2010).	8
Tabela 2.1: Principais vantagens e desvantagens dos Sistemas Abertos. Adaptado de Demirbas (2010), Lam e Lee (2012), Pires <i>et al.</i> (2012) e Singh e Sharma (2012).	9
Tabela 2.2: Principais vantagens e desvantagens dos Sistemas Fechados. Adaptado de Demirbas (2010), Lam e Lee (2012), Pires <i>et al.</i> (2012) e Singh e Sharma (2012).	9
Tabela 2.3: Tipos de radiação ultravioleta e suas propriedades. Adaptado de Narayanan, Saladi e Fox (2010).	11
Tabela 3.1: Composição do meio de cultivo de Guillard Modificado.. Adaptado de Ramirez (2013).	15
Tabela 3.2: Características e especificações dos filtros plásticos	22
Tabela 3.3: Valores medidos de perda de intensidade luminosa por meio de um luxímetro digital.	22
Tabela 3.4: Valores de transmitância calculados para cada plástico.	25
Tabela 4.1: Concentração média máxima e produtividade média de cada experimento..	30
Tabela 4.2: Concentração média máxima e produtividade média de cada experimento.	31

1 Introdução

A preocupação com as questões ambientais tem se tornado cada vez mais evidente em função da demasiada utilização de recursos naturais tanto pela indústria quanto pela sociedade em geral, a qual vive na constante busca por novos produtos devido à cultura do consumismo exacerbado. Tal situação propicia um elevado potencial de poluição e esgotamento desses recursos.

Diante desse cenário, busca-se aliar desenvolvimento econômico com proteção ambiental, desenvolvendo-se novos produtos, novas alternativas de processos e técnicas eficientes no combate e remediação da poluição, tomando assim, a atividade industrial menos impactante ao meio ambiente.

A fim de suprir tal necessidade, os processos biológicos tornaram-se uma alternativa interessante no combate à poluição e na geração de novos produtos devido a dois importantes aspectos:

- Utilizam-se do metabolismo microbiano para degradar e remover poluentes;
- Capacidade de transformar matérias-primas gerando produtos menos nocivos ao meio ambiente através de formas sustentáveis.

Neste cenário, destaque tem sido dado às microalgas de diversas espécies, as quais têm sido utilizadas em estudos de tratamento de efluentes, biossorção de metais tóxicos, biofixação de CO₂ e produção de biocombustíveis (SCHMITZ; MAGRO; COLLA, 2012).

A produção microalgal, na maioria dos casos, ocorre em ambientes externos sob a absorção de radiação solar, a qual é primordial para o crescimento do meio de cultivo. Entretanto, estudos de diversos órgãos e agências governamentais vêm alertando sobre o gradativo aumento da radiação ultravioleta de média intensidade (também conhecida como radiação UVB, 280 – 320 nm) que atinge a superfície terrestre, a qual é resultado direto da diminuição da camada de ozônio estratosférica. Tal efeito chama a atenção para os potenciais efeitos da radiação ultravioleta (RUV) nos ecossistemas aquáticos. Estudos recentes demonstram que a RUV solar afeta tanto no crescimento quanto na produção de algas.

Entretanto, não existe um consenso na literatura acerca do efeito da RUV para as mais diferentes espécies de microalgas. Uma vez cultivada em escala industrial, é de suma importância a busca por espécies que sejam não só tolerantes, mas também receptivas a esse tipo de radiação. Do ponto de vista de produção, a tolerância da microalga para com a RUV gera uma redução no custo final da biomassa, uma vez que não haveria a necessidade de um filtro para barrar tal radiação.

Neste trabalho de conclusão, o objetivo foi avaliar de que forma a RUV afeta o crescimento máximo e a produtividade da microalga *Scenedesmus sp.* cultivada em um fotobiorreator de baixo custo. Para isso, realizaram-se experimentos de crescimento da mesma sob condições de presença e ausência da RUV. O bloqueio da luz UV foi realizado através de um filme plástico com um filtro anti-UV. Este trabalho é dividido em cinco capítulos. No capítulo 2 estão apresentados os principais conceitos e estudos relacionados às microalgas e aos seus modos de produção. No capítulo 3 estão

apresentados os materiais e métodos utilizados neste estudo tanto para o cultivo de microalgas quanto para a montagem dos fotobiorreatores e no capítulo 4 estão apresentados os resultados obtidos da aplicação destes métodos. Por fim, o capítulo 5 apresenta as conclusões do estudo, além de fornecer sugestões para trabalhos futuros.

2 Revisão Bibliográfica

Este capítulo apresenta a revisão bibliográfica acerca das microalgas, seus usos e seus principais equipamentos para cultivo – entre eles os fotobiorreatores de baixo custo – os quais serão estudados neste trabalho. Sequencialmente, o mesmo discorrerá sobre a luz ultravioleta, apresentando sua origem, sua importância para o planeta e a influência que essa possui para com as microalgas.

2.1 Microalgas

Segundo Lee (2008) algas são organismos talófitos, (plantas sem a presença de raízes, caules e folhas), que têm *clorofila a* como seu principal pigmento fotossintético.

As microalgas são microrganismos procariontes ou eucariontes que apresentam uma rápida taxa de crescimento e podem viver em condições adversas devido à sua estrutura unicelular simples. Elas estão presentes em todos os ecossistemas terrestres existentes, representando uma grande variedade de espécies (MATA *et al.*, 2010).

As microalgas podem ser autotróficas, (necessitam de compostos inorgânicos, sal e a energia solar para o seu crescimento), ou heterotróficas, (requerem uma fonte externa de compostos orgânicos e de nutrientes para suprirem sua necessidade energética). Algumas algas fotossintéticas são mixotróficas, ou seja, têm a habilidade de realizar fotossíntese e de se alimentar de compostos orgânicos sintetizados (BRENNAN; OWENDE, 2010).

Andrade e Costa (2008) e Chisti (2008) caracterizam as microalgas como microrganismos fotossintéticos, que combinam água e dióxido de carbono atmosférico com luz solar para produzirem várias formas de energia como biomassa (polissacarídeos, proteínas, lipídios e hidrocarbonetos). Segundo Chisti (2004) as microalgas produzem mais oxigênio do que todas as plantas juntas existentes no mundo, sendo responsáveis por pelo menos 60% da produção primária da Terra.

2.1.1 Uso de microalgas

As microalgas tem sido foco de inúmeras pesquisas biotecnológicas devido a sua importância econômica, nutricional e ecológica (ANTELO *et al.*, 2010). Nesse sentido, cultivos de microalgas têm sido realizados visando à produção de biomassa tanto para uso na elaboração de alimentos quanto para a obtenção de compostos naturais com alto valor no mercado mundial. Dentro os inúmeros compostos extraídos, ou com potencial de exploração comercial, podem ser relacionados ácidos graxos poliinsaturados, carotenóides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos compostos bioativos naturais (antioxidantes, redutores do colesterol, etc.), os quais podem ser empregados especialmente no desenvolvimento de alimentos funcionais, por suas propriedades nutricionais e farmacêuticas (DERNER *et al.*, 2006).

Além disso, as microalgas apresentam-se como uma interessante matéria-prima para a produção de biocombustíveis. Dependendo da espécie e o meio de cultivo, elas podem produzir quantidades significativas de polissacarídeos (açúcares), e triacilgliceróis (gorduras), as quais são primordiais na produção de inúmeros produtos, como o bioetanol e o biodiesel (MÖLLER; CLAYTON, 2007).

2.1.2 *Scenedesmus sp.*

A *Scenedesmus sp.* é uma microalga aquática, dominante em lagos de água doce e rios (KIM et al., 2007). Ela existe principalmente como seres unicelulares ou múltiplos de dois, com um cenóbio de quatro ou oito células as quais geram diferentes morfologias fenotípicas. As espécies diferem principalmente no número e no tipo de espinhos na célula e a textura da parede celular. As alterações morfológicas na *Scenedesmus sp.* são majoritariamente induzidas por modificações na concentração de nutrientes, pH ou por meio de aloquímicos liberados por herbívoros (LÜRLING, 1998).

A *Scenedesmus sp.* tem sido utilizada para produção de biomassa, tratamento de águas em lagoas de oxidação e já foi estudada a possibilidade da sua utilização no tratamento de efluentes de lagares (fábricas de extração de azeite) e de águas residuais urbanas (RICARDO; CABRAL, 2011). Além disso, Mata *et al.*, (2012) considera a *Scenedesmus sp.* uma das mais importantes microalgas para a produção de biocombustíveis devido à sua capacidade de crescer em diferentes tipos de águas residuais aliada ao seu elevado teor de biomassa, lipídios e carboidratos.

2.2 Produção de microalgas

De acordo com Chisti (2007) a produção e o subsequente crescimento de organismos fotossintéticos se dá através de fontes suficientes de luz, dióxido de carbono, água e compostos inorgânicos.

No ambiente natural, assim como nos cultivos, o crescimento de uma população microalgal é resultado da interação entre fatores biológicos, físicos e químicos (RAVEN, 1988). Os fatores biológicos estão relacionados às próprias taxas metabólicas da espécie cultivada, bem como com a possível influência de outros organismos sobre o desenvolvimento microalgal. Quanto aos fatores físico-químicos, são principalmente reportados estudos sobre iluminação, temperatura, salinidade e disponibilidade de nutrientes (EPPLEY, 1977; GUILLARD, 1975; HELLENBUST, 1970; YONGMANITICHAI; OWEN, 1991).

As microalgas são adaptadas a varrer o seu ambiente atrás de recursos, a armazená-los, ou aumentar a sua eficiência na utilização dos mesmos. Em geral, a biomassa microalgal, (que possui de 40-50% de carbono), depende de uma oferta suficiente de uma fonte de carbono e luz para realizar a fotossíntese (MOHEIMANI; BOROWITZKA, 2006, 2005). No entanto, elas podem ajustar ou alterar a sua estrutura interna, através de processos de aclimação, bioquímicos e fisiológicos, por exemplo, ao passo que externamente podem excretar uma variedade de compostos para, entre outros, tornar nutrientes disponíveis ou limitar o crescimento de microorganismos concorrentes (RICHMOND, 2004).

As microalgas podem ser cultivadas nos modos autotrófico, heterotrófico e mixotrófico, sendo que a diferença entre estas modalidades de cultivo está na fonte de energia e de carbono (FRANCO et al., 2013).

Atualmente, apenas o processo autotrófico é técnica e economicamente viável para cultivar microalga à escala comercial, o qual é frequentemente conduzido em ambiente exterior com luz solar abundante e gratuita (LAM; LEE, 2012). Sob condições naturais de crescimento, as algas fotossintéticas se reproduzem por meio da absorção da energia

solar, da assimilação do dióxido de carbono e, finalmente, através do consumo de nutrientes (BRENNAN; OWENDE, 2010).

Em um processo industrial, toda a biomassa microalgal é cultivada através do fornecimento de luz, água e dióxido de carbono. Após essa biomassa passar por processos de coleta, secagem e extração, são obtidos os seus produtos tais como biodiesel, glicerol, bioativos, entre outros. O fluxograma simplificado de uma biorrefinaria de microalgas juntamente com seus produtos é apresentado na Figura 2.1.

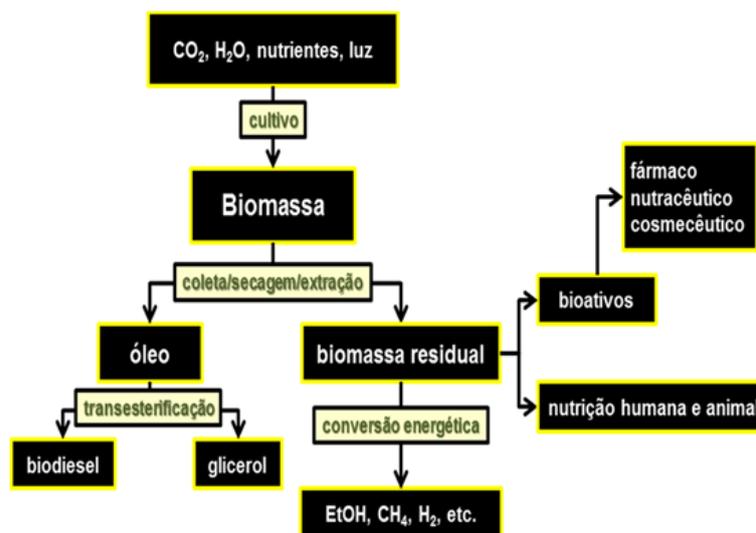


Figura 2.1: Fluxograma de produção de microalgas e seus produtos. Adaptado de Naik et al., 2010.

2.3 Sistemas de cultivo

Os biorreatores utilizados para a produção de biomassa podem ser classificados em batelada, contínuo ou semi-batelada (DASGUPTA et al., 2010). Segundo Borowitzka (1999), as microalgas podem ser cultivadas em diversos sistemas de produção, com volume variando desde poucos litros até bilhões de litros. Ricardo e Cabral (2011) salientam a versatilidade do processo de produção de microalgas, seja em relação à fonte de energia utilizada seja em relação ao método de produção. Essa produção pode ser conduzida em sistemas abertos (*raceway ponds*) ou em sistemas fechados, também chamados de fotobiorreatores (SOUSA, 2014).

2.3.1 Sistemas abertos

O cultivo de algas em sistemas abertos de produção vem sendo utilizado desde a década de cinquenta (BOROWITZKA, 1999). Essa forma de produção pode ser categorizada em águas naturais (lagos, lagoas e açudes) e em águas artificiais (tanques e containers) (BRENNAN; OWENDE, 2010). A viabilidade técnica de cada sistema é influenciada por propriedades intrínsecas da alga selecionada, assim como das condições climáticas somadas aos custos da terra e da água da região de cultivo (BOROWITZKA, 1999). Devido ao longo tempo de uso, já se possui uma extensiva experiência na operação dos tanques *raceway*. A maior fazenda de tanques *raceway* do mundo ocupa uma área de 440.000 m², a qual é utilizada na produção de biomassa microalgal para aquicultura (SPOLAORE et al., 2006).

Grande parte dos cultivos de microalgas tem sido realizada em lagoas e tanques abertos que utilizam a luz solar e o CO₂ da atmosfera. Os tanques podem ser construídos e explorados a baixos custos e, portanto, oferecem muitas vantagens, desde que sejam utilizadas espécies adequadas para este tipo de cultivo (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). Os tanques têm uma variedade de formas e tamanhos possíveis, sendo o tipo comumente usado o *raceway pond* (FRANCO et al., 2013).

De acordo com a definição de Chisti (2007), uma *raceway pond* consiste de uma lagoa que possui um canal de circuito fechado de cerca de 0,3 m de profundidade por onde as microalgas e os nutrientes circulam através de uma roda de pás. O fluxo microalgal é guiado por meio defletores posicionados nas curvas do canal (Figura 2.2). Os canais são construídos em concreto ou terra compactada e podem ser revestidos com plástico branco. Durante o dia, a cultura é continuamente alimentada em frente à roda de pás, onde começa o fluxo, enquanto que a biomassa microalgal é colhida através do canal de retirada que fica localizado atrás da roda de pás, após a conclusão do circuito de circulação (Figura 2.2). A roda de pás opera a todo o tempo para evitar a sedimentação.

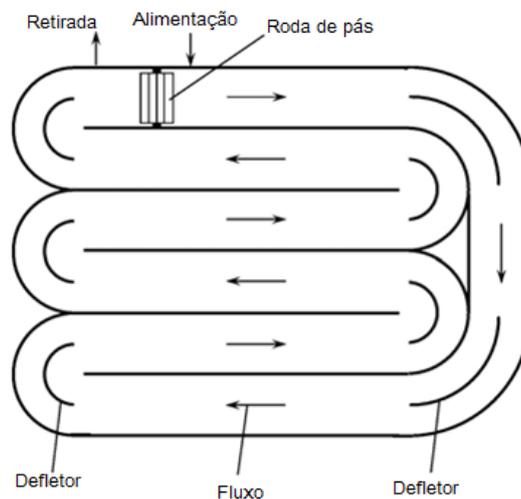


Figura 2.2: Visão superior esquemática de um *raceway pond*. Adaptado de Chisti (2007).

2.3.2 Sistemas fechados

Os sistemas fechados, também denominados por fotobiorreatores, foram implementados com o intuito de corrigir alguns dos problemas dos sistemas abertos (Lee, 1986). O termo “fechado” diz respeito ao menor contato com o ambiente externo que estes sistemas apresentam em relação aos tanques abertos (ORCHARD, 2008).

Diferentes tipos de fotobiorreatores têm sido desenvolvidos para a produção de microalgas. De acordo com Singh e Sharma (2012) os mesmos podem ser classificados como tubular, coluna de bolhas, *airlift*, placas e tanque agitado. Subseqüentemente são apresentados aqueles de maior relevância para esse trabalho.

Fotobiorreator Tubular

Um fotobiorreator tubular consiste em um conjunto de tubos lineares transparentes, normalmente de plástico ou vidro. Esse arranjo tubular é onde a luz do sol é capturada (Figura 2.3). Os tubos apresentam geralmente um diâmetro igual ou inferior a 0,1 m. Estes tubos não podem ser de grande diâmetro uma vez que é necessária luz para que o processo de fotossíntese ocorra (CHISTI, 2007; RICARDO; CABRAL, 2011).

A geometria de um fotobiorreator tubular apresenta-se sob diferentes configurações tais como reator tubular vertical (tubo transparente vertical de polietileno ou vidro, no qual a agitação é atingida pelo borbulhamento feito a partir do fundo) Figura 2.3 (a); reator tubular horizontal (o gás é introduzido pela conexão do tubo através de uma unidade de troca gasosa) Figura 2.3 (b); reator tubular helicoidal (construídos com tubos de plástico flexível em estruturas helicoidais tridimensionais – o mesmo é ligado externamente por um trocador de gás e um trocador de calor, e uma bomba centrífuga é utilizada para acionar a alimentação através dos tubos de forma ascendente) Figura 2.3 (c) (DASGUPTA et al., 2010).

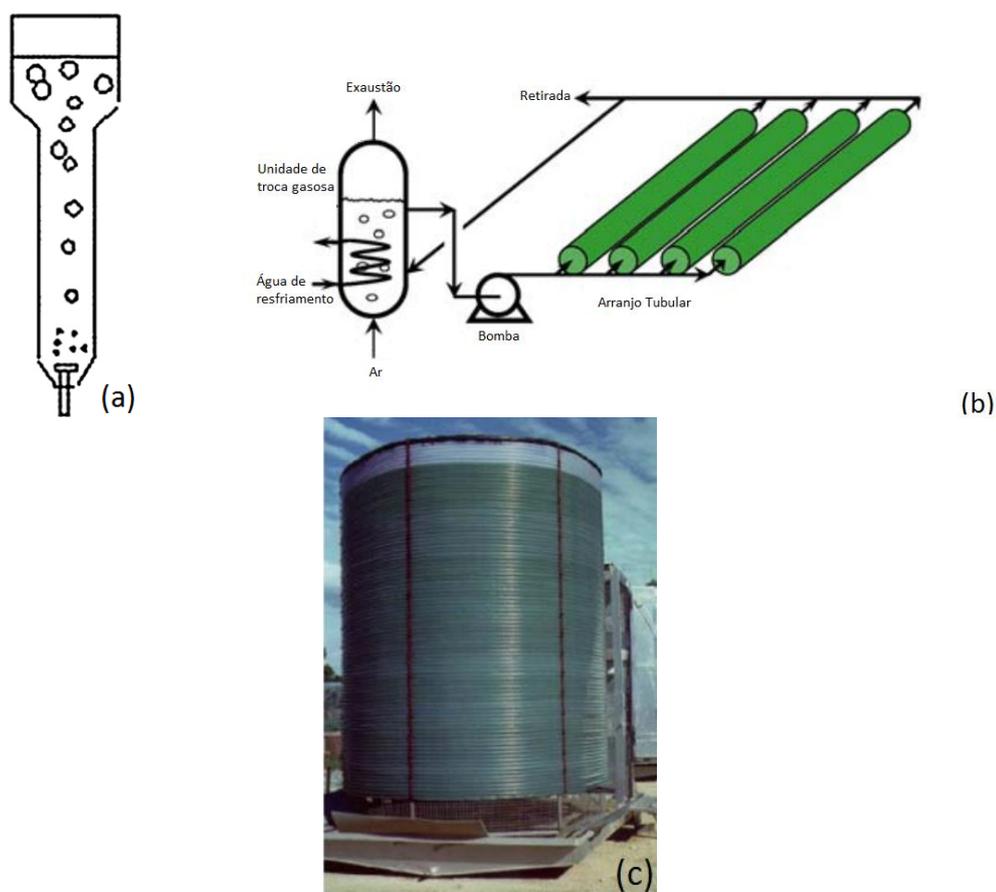


Figura 2.3: (a) Fotobiorreator tubular vertical. (b) Fotobiorreator tubular horizontal. (c) Fotobiorreator tubular helicoidal.

Adaptado de Chisti (2007) e Singh e Sharma (2012).

Fotobiorreator de Placas

Os fotobiorreatores de placas tem recebido atenção para o cultivo de microalgas devido à sua elevada razão superfície/volume (razão S/V) – especificamente quando a espessura da placa é mínima em relação à sua altura/largura. As placas devem ser orientadas no sentido próprio para maximizar a captação solar (MOLINA GRIMA et al., 1999). Em uma produção de larga escala, várias chapas estão dispostas paralelamente sobre uma área. Os reatores de placa plana são caracterizados por uma área aberta de transferência de gás, reduzindo assim a necessidade de um desgaseificador exclusivo para

isso (DASGUPTA et al., 2010). A Figura 2.4 mostra os tipos mais comuns de fotobiorreatores de placas.

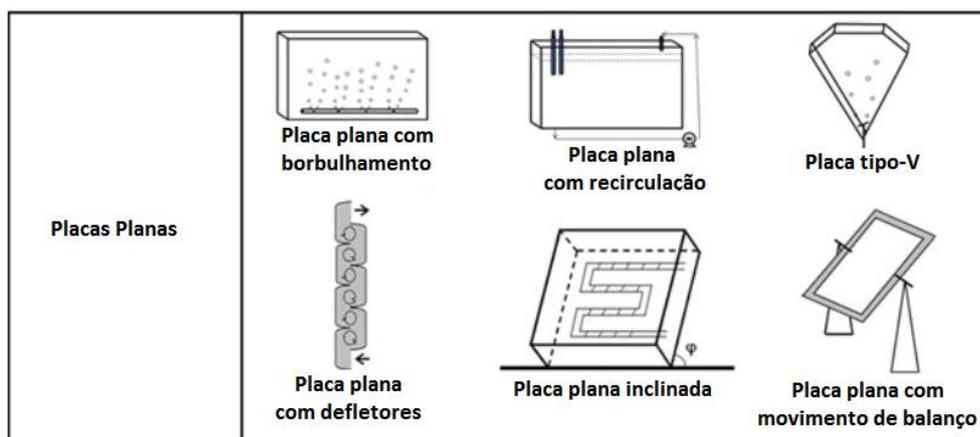


Figura 2.4: Diferentes geometrias de fotobiorreatores de placas. Adaptado de Dasgupta et al. (2010).

Apesar de pertencerem à mesma categoria, os fotobiorreatores de placas diferem enormemente entre si devido às suas geometrias, aeração, razão superfície/volume, entre outros fatores. A Tabela 2.1 elucida as características dos principais fotobiorreatores de placas.

Tabela 2.1: Principais características dos fotobiorreatores de placas. Adaptado de Dasgupta et al (2010).

Tipo de fotobiorreator	Razão S/V	Sistema de agitação	Controle de temperatura	Aeração	Vantagens	Desvantagens
Placa plana com borbulhamento	Média	Borbulhamento pelo fundo ou pela lateral	Serpentina de troca térmica	Borbulhamento	Sistema aberto para o ambiente evita o acúmulo de O ₂	Cisalhamento
Placa tipo-V	Média	Borbulhamento	Serpentina de troca térmica	Borbulhamento	Alta taxa de mistura, baixo cisalhamento	Preço e montagem
Placa plana com movimento de balanço	Alta	Balanço da placa	Serpentina de troca térmica	Borbulhamento	Alta razão S/V	Preço e montagem

2.4 Comparação entre sistemas de cultivo

Desde o início do desenvolvimento de sistemas fechados de cultivo, diversos autores vêm realizando análises comparativas das principais vantagens e limitações deste novo método de cultivo com o antigo (sistema aberto). Nas tabelas **Tabela 2.2** e Tabela 2.3 encontram-se as principais vantagens e desvantagens de cada um dos sistemas de produção de biomassa microalgal (DEMIRBAS, 2010; LAM; LEE, 2012; PIRES et al., 2012; SINGH; SHARMA, 2012).

Tabela 2.2: Principais vantagens e desvantagens dos Sistemas Abertos.
Adaptado de Demirbas (2010), Lam e Lee (2012), Pires *et al.* (2012) e Singh e Sharma (2012).

Vantagens	Desvantagens
	Elevado grau de contaminação
Simplicidade na operação	Necessidade de grandes extensões de terra
Menor investimento	Sujeito às condições climáticas
Baixos consumos energéticos	Ocorrência de elevada evaporação
Menores custos de produção	Impossibilidade de controle de vários parâmetros de operação
	Menor produtividade

Tabela 2.3: Principais vantagens e desvantagens dos Sistemas Fechados.
Adaptado de Demirbas (2010), Lam e Lee (2012), Pires *et al.* (2012) e Singh e Sharma (2012).

Vantagens	Desvantagens
Possibilidade de produzir monoculturas	
Controle dos parâmetros de operação	
Reduzido grau de contaminação	
Menor necessidade de área de implantação	Complexidade na operação
	Elevado investimento
Maiores produtividades	Alto consumo energético
Maior homogeneidade de produção	Custo de produção
Menores perdas de CO ₂	
Produção de biofármacos complexos	

2.5 Biorreatores de baixo custo

Apesar da ideia de utilizar microalgas como uma fonte alternativa de biocombustível não ser nova, a mesma vêm sendo tratada com maior seriedade atualmente devido à escalada de preço do barril de petróleo aliada à crescente preocupação a cerca do aquecimento global associado à queima de combustíveis fósseis. Entretanto, o custo de produção de um quilograma de biomassa microalgal ainda é muito elevado: US\$2,95 (fotobiorreator) e US\$3,80 (*raceway*), assumindo a fonte de CO₂ como isenta de custo. Tal fato inviabiliza a utilização da mesma como uma fonte energética viável atualmente, mesmo quando comparada com outros biocombustíveis (CHISTI, 2007).

Atualmente nenhum biorreator atende a todos os critérios para uma produção barata e eficiente. Existe uma necessidade de combinar diferentes tipos de fotobiorreatores a fim de aumentar a eficiência no cultivo de microalgas. Em um de seus trabalhos, Oosterhuis e Van den Berg (2011) apresentam biorreatores de sacolas plásticas como uma alternativa eficiente aos biorreatores tradicionais.

Biorreatores descartáveis vem sendo utilizados nos últimos anos na área de desenvolvimento de fármacos. Estes reatores são construídos em plásticos como

polietileno, poliestireno e polipropileno e, conseqüentemente, são bem menos custosos do que os reatores tradicionais feitos de aço ou vidro. Além do baixo custo, biorreatores descartáveis apresentam como vantagem serem flexíveis, fáceis de lidar e terem uma baixa probabilidade de contaminação (EIBL et al., 2010).

Klein (2015) utilizou sacos plásticos de polipropileno e polietileno para o cultivo de microalgas. O fotobiorreator é aerado através de pedras porosas conectadas a um compressor por meio de mangueiras de borracha (Figura 2.5). Os sacos plásticos de polipropileno apresentaram taxas de crescimento microalgal significativamente superiores quando comparadas a um fotobiorreator tradicional de acrílico (produtividade de $0,529 \pm 0,121 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ do fotobiorreator baixo custo contra os $0,066 \text{ g.L}^{-1}.\text{dia}^{-1}$ do fotobiorreator tradicional). Por conseqüência disso, esse sistema de biorreatores de sacos plásticos será o utilizado para a execução deste trabalho.



Figura 2.5: Fotobiorreatores de sacos plásticos. Adaptado de Klein (2015)

2.6 Luz Ultravioleta

A luz ultravioleta (UV) é uma radiação eletromagnética com um comprimento de onda (λ) do intervalo de 100 a 400 nanômetros (nm). A radiação ultravioleta (RUV) proveniente da luz solar é subdividida em ultravioleta A [UVA (315 – 400 nm)], ultravioleta B [UVB (280 – 315 nm)] e ultravioleta C [UVC (100 – 280 nm)] (NARAYANAN; SALADI; FOX, 2010). Cerca de 90 a 99% da RUV solar que atinge a superfície terrestre é composta de UVA, enquanto que apenas 1 a 10% é UVB. A Tabela 2.4 apresenta as diferentes radiações ultravioletas que atingem o planeta Terra (NARAYANAN; SALADI; FOX, 2010).

Tabela 2.4: Tipos de radiação ultravioleta e suas propriedades. Adaptado de Narayanan, Saladi e Fox (2010).

Tipo de radiação UV	Propriedades gerais
<p align="center">Radiação ultravioleta A (UVA)</p>	<p>Aproximadamente 90-99% atinge a superfície terrestre</p> <p>Não é filtrado pela camada de ozônio atmosférica</p> <p>Longo comprimento de onda e baixa energia</p>
<p align="center">Radiação ultravioleta B (UVB)</p>	<p>Aproximadamente 1-10% atinge a superfície terrestre</p> <p>Filtrado parcialmente pela camada de ozônio atmosférica</p> <p>Curto comprimento de onda e alta energia</p>
<p align="center">Radiação ultravioleta C (UVC)</p>	<p>Completamente filtrado pela camada de ozônio atmosférica antes de atingir a superfície terrestre</p> <p>Presente artificialmente sob a forma de lâmpadas germicidas</p>

2.6.1 Saturação luminosa e fotoinibição

Saturação luminosa é caracterizada a partir de uma constante de saturação luminosa, a qual corresponde à intensidade de luz na qual a taxa de crescimento de biomassa é a metade do seu valor máximo, μ_{\max} (Figura 2.6). Acima de certa quantidade de intensidade luminosa, o aumento do nível de luz reduz a taxa de crescimento de biomassa. Esse fenômeno é conhecido como fotoinibição. A microalga torna-se fotoinibida em intensidades luminosas estreitamente superiores à μ_{\max} . A fotoinibição geralmente resulta em um dano irreversível ao aparato fotossintético, como uma consequência direta do excesso de luminosidade (CAMACHO RUBIO et al., 1999). A eliminação da constante de saturação luminosa μ_{\max} ou até mesmo a sua modificação para diferentes valores por meio de enzimas ou aditivos químicos pode aumentar significativamente a taxa de crescimento média diária de biomassa microalgal (CHISTI, 2007).

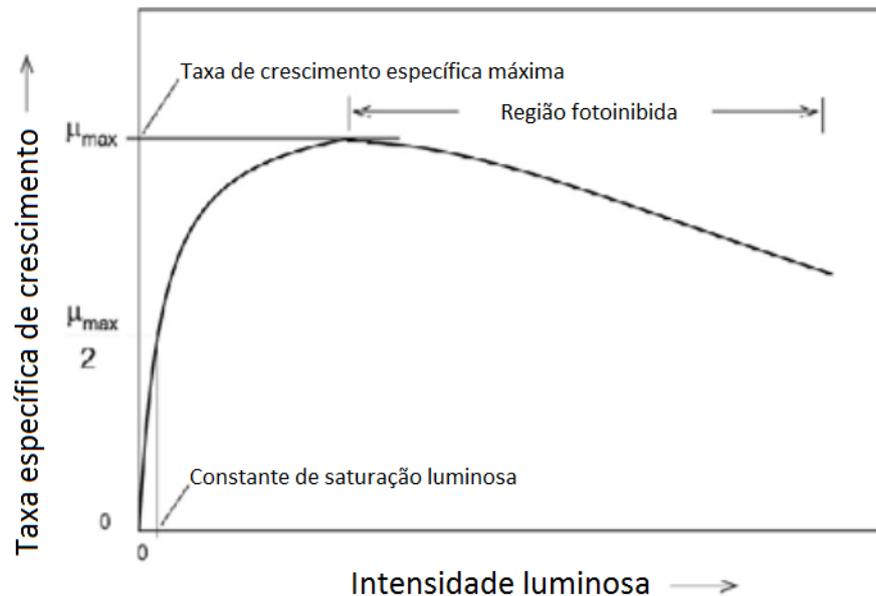


Figura 2.6: Efeito da intensidade luminosa para uma taxa específica de crescimento microalgal. Adaptado de Chisti (2007).

A fotoinibição ocorre em todos os organismos fotossintéticos, das plantas vasculares às cianobactérias. Em ambos, os efeitos da fotoinibição são mais evidentes em comprimentos de luz do espectro do ultravioleta ($\lambda < 400$ nm) (TYYSTJA et al., 2002).

2.6.2 Camada de ozônio

A camada de ozônio refere-se a uma região da estratosfera terrestre que absorve grande parte da radiação UV solar. A mesma leva esse nome por conter altas concentrações do gás ozônio (O_3) (cerca de 10 partes por milhão) quando comparada a outras partes da atmosfera (aproximadamente 0,3 partes por milhão). A camada de ozônio é encontrada majoritariamente nas regiões mais baixas da estratosfera, na faixa de 20 a 30 quilômetros acima da superfície terrestre (WORLD METEOROLOGICAL ORGANIZATION, 1998).

Desde a década de setenta, a destruição da protetora camada de ozônio terrestre devido à poluição atmosférica tem gradativamente alterado os padrões climáticos e o balanço ecológico terrestre. (UNITED STATES ENVIRONMENTAL PROTECTION AGENCY, 2008). Uma importante consequência da destruição dessa camada é o aumento da transmissão de radiação ultravioleta (UV) para a superfície e atmosfera terrestre. A radiação UV é conhecida por afetar uma gama de processos químicos e biológicos, e é altamente prejudicial a diversos organismos. Preocupações incluem o aumento de incidência de câncer de pele, dano ocular e outros efeitos na saúde humana e animal; dano à vegetação terrestre e oceânica e mudanças na composição química da troposfera (MADRONICH et al., 1998).

2.7 Relação entre algas e luz ultravioleta

Dentre as radiações que atingem a superfície terrestre, a radiação ultravioleta B é a que chama mais atenção aos pesquisadores e órgãos de proteção ambiental devido ao seu maior poder energético. Portanto, por apresentar-se como uma onda eletromagnética de alta energia, a radiação UVB é capaz de penetrar em profundidades

de até 30 metros em oceanos, rios e lagoas, e acarretar efeitos deletérios a organismos marinhos. Além disso, tem havido uma grande preocupação acerca do aumento da radiação UVB e suas consequências sobre a biosfera ao longo do século 21 decorrentes da degradação da camada de ozônio (ZHANG et al., 2015).

Segundo Bi e Zhang (2007) os efeitos da redução da camada de ozônio já são aparentes através de uma crescente eutrofização (aumento do nível de nutrientes) dos oceanos. Essa eutrofização ocorre quando uma fonte não natural de nutrientes é introduzida em um corpo d'água, facilitando, assim, o crescimento de algas no local. De acordo com Li e Lin (2012) a radiação ultravioleta (RUV) possui uma influência significativa tanto na eutrofização dos oceanos quanto em uma série de outros processos bioquímicos referentes às microalgas, incluindo a absorção de nutrientes, pigmentação, fotossíntese, crescimento e composição bioquímica.

Xue *et al.* (2005) apresentam duas respostas normais de algas à índices de radiação UV. A primeira diz respeito ao fato de uma exposição forte e curta de UV provocar erros sequenciais no DNA do organismo, resultando na morte do mesmo. O Segundo diz respeito a uma exposição longa e gradual da radiação UV, a qual força a alga a criar métodos de adaptação para reduzir o efeito da radiação sobre a mesma, resultando em uma tardia proliferação de algas (eflorescência algal).

Jokiel e York (1984) reforçam a tese de que a RUV é um importante fator ecológico nos ecossistemas aquáticos. Além disso, eles evidenciam que tanto os raios UVA quanto os UVB são prejudiciais para algumas espécies de microalgas (tal como a *S. microadriaticum* e a *O. lud*). A variabilidade de respostas entre as várias espécies estudadas é consistente com a observação de McLeod (1958), uma vez que diferentes espécies de algas contêm substâncias além de clorofila capazes de proteger e sensibilizar os organismos frente à RUV.

Já Liu *et al.* (2015) comprovaram o efeito benéfico da radiação ultravioleta sob a microalga *Chlorella sp.* A RUV provocou uma mutagênese na microalga, a qual teve a sua produtividade e a sua acumulação de lipídios aumentada em 7,6 e 28,1%, respectivamente.

Li e Lin (2012) determinaram a necessidade da utilização de filtros UV para o crescimento da microalga *Scenedesmus rubescens* em lagoas *raceway* iluminadas naturalmente, uma vez que experimentos sem os filtros acarretaram aumento da fotoinibição e diminuição das taxas de crescimento microalgal. Entretanto, eles observaram que a RUV não alterou a quantidade de ácidos graxos e nem modificou o perfil da microalga estudada.

Por fim, todos os estudos apresentados corroboram com as informações de McLeod (1958), o qual afirma que não existe um consenso na literatura acerca do efeito da RUV para as mais diferentes espécies de microalgas. A Tabela 2.5 apresenta o efeito ante a RUV de diversos microorganismos estudados por diferentes autores, onde o sinal (+) é representativo da receptividade dos microorganismos ante à RUV, enquanto que o sinal (-) representa exatamente o efeito oposto.

Autor(a)	Ano	Microorganismo	Efeito ante RUV
Bi e Zhang	2007	Algas	+
Li e Lin	2012	<i>Scenedesmus rubescens</i>	-
Xue et al.	2005	<i>Dunaliella salina</i>	-
Jokiel e York	1984	<i>O. Lud</i>	-
Lie et al.	2015	<i>Chlorella</i> sp.	+

Tabela 2.5: Efeito de diferentes microorganismos ante à RUV

3 Materiais e Métodos

3.1 Produção das microalgas

Neste estudo utilizou-se as microalgas da espécie *Scenedesmus sp.* cultivadas em um fotobiorreator de baixo custo a fim de avaliar seu comportamento perante a radiação ultravioleta (RUV).

Para o preparo do inóculo utilizado no experimento, utilizou-se a *Scenedesmus sp.* em um meio Guillard Modificado (RAMIREZ, 2013). *Erlenmeyers*, pipetas reguláveis, ponteiras plásticas e mangueiras foram utilizadas para a preparação do inóculo. A esterilização de toda vidraria e a água destilada foram realizadas através de uma autoclavagem à 121°C durante 30 minutos. Após esse processo, os materiais, a água e o meio de cultivo foram submetidos à luz ultravioleta durante 15 minutos em uma capela de fluxo de gás laminar, na qual as repicagens foram realizadas.

O meio de cultivo de Guillard Modificado, cuja composição pode ser vista na Tabela 3.1, foi usado para o crescimento de cultivo da *Scenedesmus sp.*

Tabela 3.1: Composição do meio de cultivo de Guillard Modificado. Adaptado de Ramirez (2013)

Macronutrientes	g/L
CaCl ₂ *2H ₂ O	36,76
MgSO ₄ *7H ₂ O	36,97
NaHCO ₃	12,6
K ₂ HPO ₄	8,71
NaNO ₃	85,01
Na ₂ SiO ₃ *9H ₂ O	28,42
Micronutrientes	g/L
Na ₂ EDTA	4,36
FeCl ₃ *6H ₂ O	3,15
CuSO ₄ *5H ₂ O	0,01
ZnSO ₄ *7H ₂ O	0,022
CoCl ₂ *6H ₂ O	0,01
MnCl ₂ *4H ₂ O	0,18
Na ₂ MoO ₄ *2H ₂ O	0,006

3.2 Medida de biomassa produzida

A fim de avaliar o crescimento das microalgas e o seu efeito ante a luz UV, realizou-se análises de densidade ótica e de peso seco.

Uma análise de densidade ótica baseia-se na lei de Beer-Lambert, a qual estipula que a absorvância é diretamente proporcional à concentração de espécies absorventes. Como as microalgas possuem pigmentos fotossintetizantes é importante escolher um comprimento de onda adequado para as análises, onde não existem picos de absorção referentes às clorofilas (LOURENÇO, 2006).

Neste experimento, a absorvância foi medida diariamente através do espectrofotômetro UV-1600 Pró Análise, com o comprimento de onda de 570nm (afastado dos picos de absorção referentes às clorofilas). As amostras foram preparadas em cubetas de vidro de volume de 3 mL e com caminho ótico de 1 cm. A absorvância deve ser inferior à unidade (ficar entre 0,1 e 1). Para manter a absorvância nesse intervalo, fez-se uma diluição em água destilada em uma proporção de 1:10 para as amostras com absorvância superior à unidade.

Para obter a equação que relacione a absorvância com a concentração das espécies absorventes (lei de Beer-Lambert), foram realizadas análises de peso seco a partir da filtragem de volumes determinados de amostras dos fotobiorreatores. As amostras foram filtradas com o auxílio de uma bomba de vácuo em filtros de 0,7 μ m previamente pesados. Esses filtros foram levados à estufa para secagem por 24h a uma temperatura de 100°C. Ao final desse período, os filtros foram novamente pesados e o peso seco foi determinado pela diferença.

Para a construção da equação relacionando a absorvância com a concentração de microalgas, diversos pontos de absorvância e peso seco foram medidos durante a operação dos fotobiorreatores. Uma vez que as condições experimentais são diferentes e a fim de minimizar os erros atribuídos à correlação, fez-se a determinação de duas diferentes retas de calibração: uma para o experimento sem o filtro ultravioleta (controle) e outra para o experimento com o filtro UV.

Para o experimento controle, 18 pontos (com absorvâncias a partir de 1,1 até 3,97) foram medidos durante os 10 dias de cultivo microalgal. A curva que representa a correlação entre concentração de biomassa em peso seco e a absorvância para o experimento controle pode ser vista na Figura 3.1

A equação que relaciona as análises de densidade ótica com a concentração, obtida por meio destes pontos foi:

$$C_{\text{biomassa}} = DO_{570} \times 0,2828 + 0,2764 \quad (3.1)$$

Onde, C_{biomassa} é a concentração em g/L de biomassa no meio de cultivo e DO_{570} é a densidade ótica medida no comprimento de onda de 570nm. O coeficiente de correlação obtido foi de aproximadamente 96,3%.

De forma análoga, durante o experimento com o filtro ultravioleta, 18 pontos (com absorvâncias a partir de 1,4 até 5,6) foram medidos e a reta representativa da correlação concentração/biomassa resultante, com um coeficiente de correlação aproximado de 97,7% foi:

$$C_{\text{biomassa}} = DO_{570} \times 0,2494 + 0,3278 \quad (3.2)$$

A curva que representa a correlação entre concentração de biomassa em peso seco e a absorvância para o experimento com o filtro UV pode ser observada na Figura 3.2

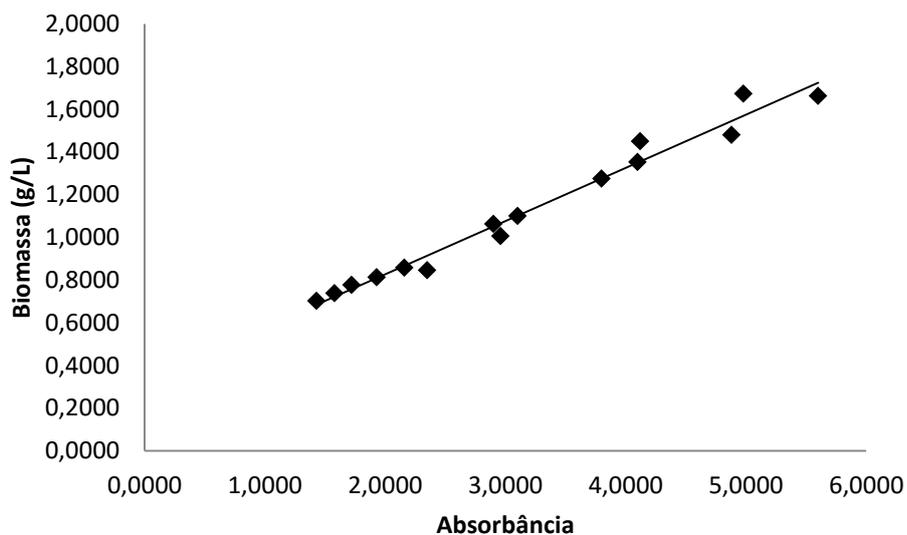


Figura 3.1: Relação entre a concentração de biomassa e absorvância no experimento controle

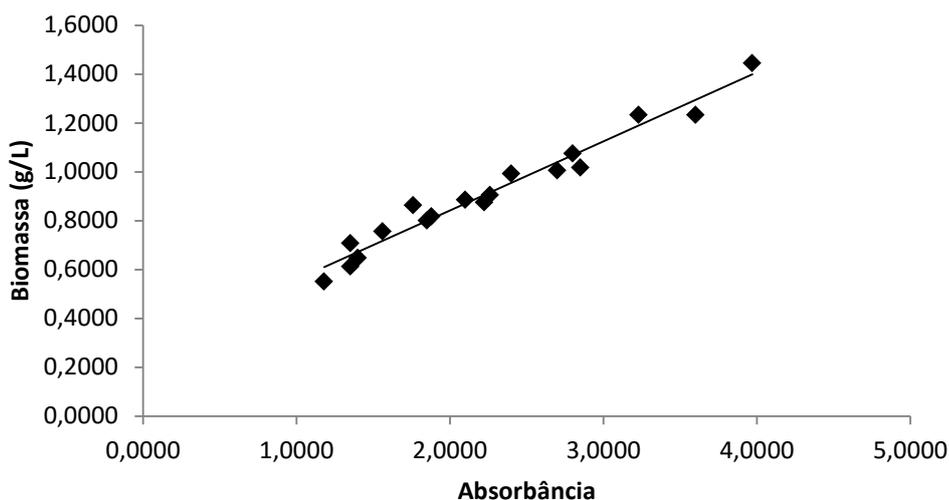


Figura 3.2: Relação entre a concentração de biomassa e absorvância no experimento com o filtro ultravioleta

Teoricamente a regressão linear da equação que relaciona as análises de densidade ótica com a concentração de biomassa deve passar pela origem, já que quando se mede apenas água destilada a absorvância deve ser zero. Entretanto quando se realizou a curva com interseção em zero tanto para o experimento controle (Figura 3.3) quanto para o experimento com o filtro ultravioleta (Figura 3.4), observamos que a reta gerada não corresponde aos dados coletados (gerando equações com baixos coeficientes de correlação, 83,3% para o experimento controle e 80,1% no experimento com o filtro UV). Acredita-se que a divergência da reta em relação à origem se dá principalmente por algum problema no sensor do espectrofotômetro.

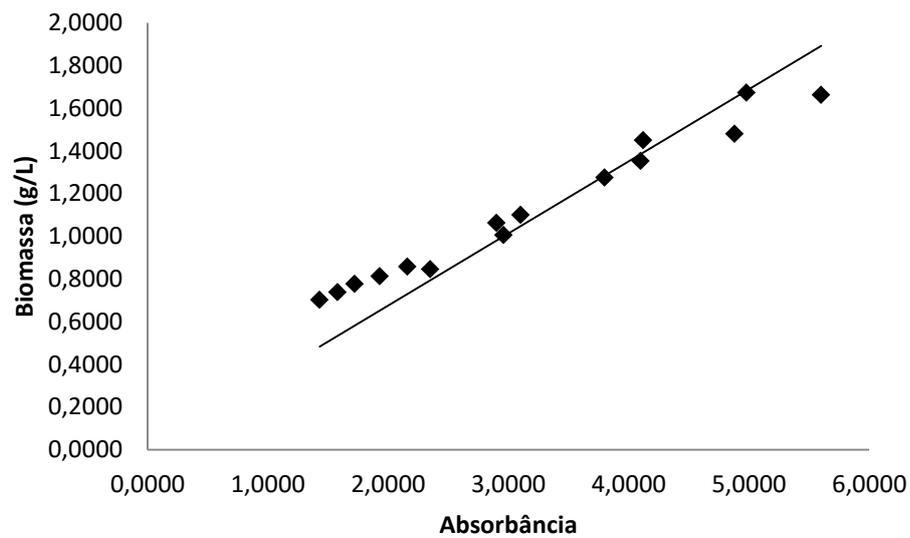


Figura 3.3: Relação entre a concentração de biomassa e absorvância no experimento controle com interseção na origem

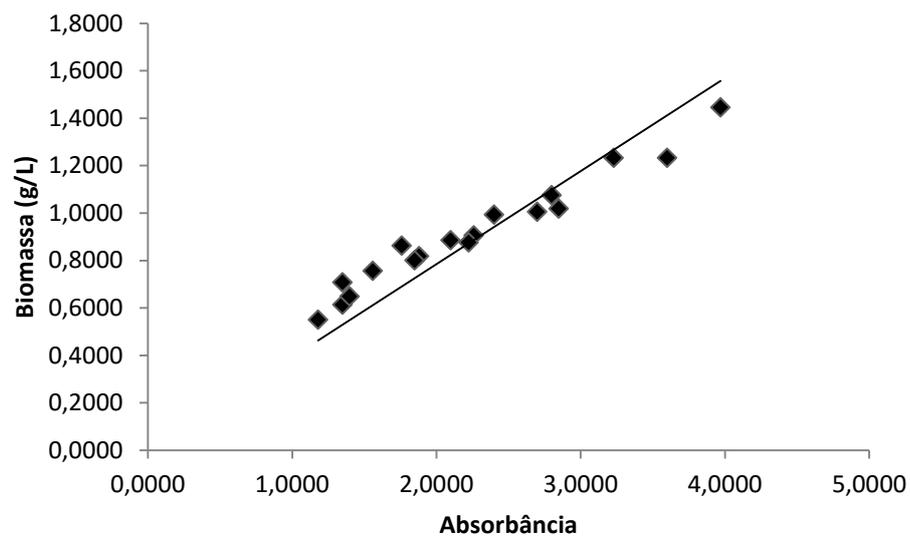


Figura 3.4: Relação entre a concentração de biomassa e absorvância no experimento com o filtro ultravioleta com interseção na origem

3.3 Cálculo de produtividade

Para efeito de comparação entre os experimentos, determinamos a produtividade do fotobiorreator (P_x), expressa em $g.L^{-1}.dia^{-1}$, através da seguinte equação:

$$P_x = \frac{X_m - X_i}{T_m} \quad (3.3)$$

Onde X_m é a concentração máxima de biomassa (g/L), X_i é a concentração de biomassa inicial e T_m é o tempo de cultivo referente a concentração máxima de biomassa.

3.4 Fotobiorreator

A análise do efeito da radiação ultravioleta no crescimento da microalga *Scenedesmus sp.* foi realizada através de experimentos realizados em um fotobiorreator de baixo custo.

A montagem dos fotobiorreatores foi realizada em uma bancada onde a luz foi fornecida por meio de quatro lâmpadas fluorescentes de 40W cada. O fotoperíodo utilizado nos testes foi de 12h/12h (12 horas luz e 12 horas escuro) regulado por meio de um timer e a intensidade luminosa fornecida por esse conjunto de lâmpadas em ambos os experimentos foi de 8.000 lux (medição realizada através de um luxímetro).

Durante os experimentos, o ar fornecido foi filtrado utilizando algodão ortopédico e a aeração foi fornecida durante todo o tempo de cultivo. A vazão de aeração foi mantida constante em $15 \text{ cm}^3/\text{min}$ durante toda a realização dos experimentos. A determinação da vazão de ar ocorreu por meio de um rotâmetro.

Conforme idealizado e construído por Klein (2015), o fotobiorreator utilizado consiste de um saco transparente de polipropileno com uma espessura de 0,018 mm e um tamanho de 200 mm de largura por 290 mm de comprimento. O volume do reator foi estipulado em 1,5 L, pois essa quantidade de líquido preenche suficientemente o biorreator. Além disso, este volume foi escolhido devido ao fato de que ele molda o fotobiorreator, criando assim um caminho ótico constante para que a luz o atravesse.

Para a montagem do set para os fotobiorreatores, um sistema de hastes metálicas foi instalado para pendurar os sacos pela sua parte superior, de forma a impedir qualquer contato dos mesmos com o chão (Figura 3.5). Os fotobiorreatores foram posicionados na distância suficiente para que os mesmos recebam uma intensidade luminosa de 8.000 lux. Para o experimento de controle (sem o filtro UV), com o auxílio de uma régua, os reatores foram posicionados a 19 cm de distância da fonte luminosa. A fixação dos fotobiorreatores deu-se por meio de prendedores.

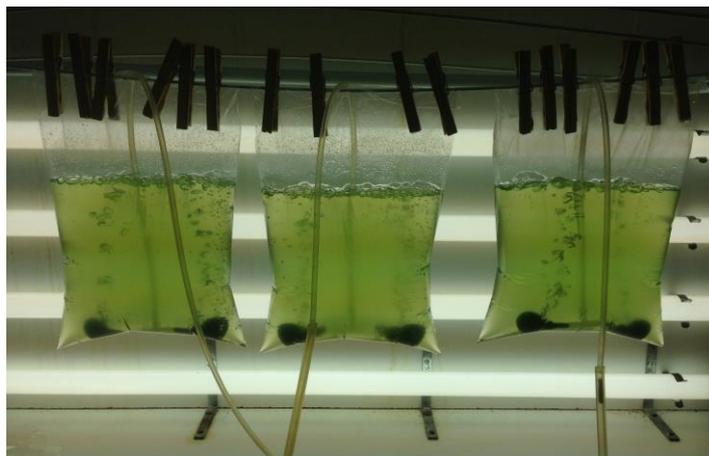


Figura 3.5: Sistema de cultivo da *Scenedesmus* sp. em fotobiorreatores de baixo custo.

Todos os testes realizados com os sacos plásticos foram feitos em triplicata. Toda a aeração dentro dos reatores foi promovida por compressores conectados a um sistema composto por mangueiras e duas pedras porosas situadas na parte central de cada saco.

A vedação dos sacos foi realizada com fita adesiva em sua abertura superior para evitar quaisquer possíveis contaminações. Um pequeno orifício foi deixado em volta da entrada da mangueira para que o ar pudesse sair. Além disso, cada saco tinha uma pequena abertura lateral para retirada de amostras, as quais foram coletadas vertendo seu conteúdo em um *Becker*. Os componentes do fotobiorreator de baixo custo podem ser visualizados na Figura 3.6.



Figura 3.6: Acessórios do fotobiorreator de baixo custo

A fim de evitar a contaminação por meio das pedras porosas, as mesmas passaram por assepsia com soluções de hipoclorito de sódio e de tiosulfato de sódio. As sacolas não sofreram o mesmo processo, pois eram novas e estavam em embalagens lacradas.

3.4.1 Tempo de cultivo

Segundo Ramirez (2013) o tempo de cultivo, em um sistema batelada, da *Scenedesmus sp.* em um meio de cultivo de Guillard modificado é de 10 dias, momento no qual ocorre o fim da fase exponencial. Esse foi o tempo de cultivo escolhido para comparar o crescimento das microalgas com e sem a proteção contra a RUV.

3.5 Filtros Ultravioletas

Para verificar o efeito da radiação ultravioleta (RUV) no crescimento da *Scenedesmus sp.*, fez-se necessário a utilização de filtros bloqueadores desse tipo de radiação. Gentilmente, os filtros utilizados no experimento foram doados pela empresa gaúcha Plastisul Artefatos Plásticos Ltda., a qual atua no setor de artefatos plásticos para as áreas de agricultura, sacaria industrial e golfrados.

Dentre as opções disponíveis pelo fabricante, a mesma forneceu 3 diferentes filtros plásticos, cada qual com as suas características, conforme segue:

- Filme transparente aditivado com absorvedor de irradiação ultravioleta sem coloração (filme 1);
- Filme transparente aditivado com absorvedor de irradiação ultravioleta na coloração esverdeada (filme 2);
- Trifilme difusor de luz (Trifilme).



Figura 3.7: Filmes plásticos testados durante o experimento. Da esquerda para a direita: filme 1, filme 2 e Trifilme.

Segundo informações do fabricante, tanto os filmes transparentes quanto o Trifilme são produzidos em polietileno de baixa densidade (PEBD), o qual é o material mais empregado na plasticultura, para a cobertura morta de solos (*Mulching*) e, finalmente, para a cobertura de túneis e estufas. Para o PEBD, o fabricante também informa que a espessura do plástico pouco influi na transparência do polietileno, entretanto a espessura de todos os filtros utilizados nesse experimento foram medidas através de um paquímetro digital.

O aditivo anti-UV que confere proteção contra a RUV utilizado nos filmes analisados consiste de um fotoestabilizador do tipo amina, também chamado de HALS (*Hindered Amine Stabilizers*). Esses estabilizadores pertencem a uma classe de substâncias quimicamente reativas que bloqueiam os radicais livres criados pela degradação da ligação dupla do carbono, que é a matriz do polímero, provocada e desencadeada pela ação nociva dos raios ultravioletas. Além disso, cabe também destacar que os estabilizadores de luz a base de HALS são propensos aos ataques de produtos químicos ácidos. Tal sensibilidade faz necessária a presença de um antioxidante adicionado à estrutura do material para evitar quaisquer problemas de ordem química ao mesmo (PLASTISUL, 2015).

Por fim, tem-se ainda o método de produção nos filmes plásticos, uma vez que diferentemente dos filmes transparentes que são constituídos por apenas uma camada de PEBD, o Trifilme é fabricado por meio da técnica de co-extrusão em tripla camada, fato que lhe confere qualidade e resistências superiores aos filtros monocamada. O Trifilme Difusor de luz é composto por um aditivo orgânico de alta ação na difusão de luz dentro das estufas, aumentando assim a irradiação solar difusa no interior das mesmas.

A fim de facilitar a visualização, a Tabela 3.2 explicita todas as características previamente citadas dos filtros plásticos analisados.

Tabela 3.2: Características e especificações dos filtros plásticos

Filme	Material	Espessura (mm)	Anti-UV	Anti-oxidante	Difusor	Coloração
Filme 1	PEBD	0,16	Sim	Sim	Não	Transparente
Filme 2	PEBD	0,13	Sim	Sim	Não	Esverdeado
Trifilme	PEBD	0,11	Sim	Sim	Sim	Leitoso

3.5.1 Análise dos filmes plásticos

Para avaliar as diferenças entre os filmes plásticos e, conseqüentemente, determinar o mais apropriado para a realização dos experimentos de cultivo da *Scenedesmus* sp, foram realizados testes de perda de intensidade luminosa seguidas por análises de espectrofotometria.

A perda de intensidade luminosa foi calculada para cada filme plástico e os valores obtidos estão apresentados na Tabela 3.3.

Tabela 3.3: Valores medidos de perda de intensidade luminosa por meio de um luxímetro digital.

Fotobiorreator	Perda de intensidade luminosa
Filme 1	11,4%
Filme 2	13,7%
Trifilme	21,2%

Os filmes 1 e 2 apresentaram perdas semelhantes, pois são confeccionados a partir do mesmo material e da mesma forma, apresentando diferença apenas na coloração. Diferentemente dos anteriores, o Trifilme apresentou uma maior perda de intensidade luminosa.

As análises de espectrofotometria foram realizadas no espectrofotômetro T80+ UV/VIS da PG Instruments Ltd. A medição das amostras foi realizada através do corte de um retângulo de três centímetros de comprimento por 1 de largura seguida pelo encaixe da amostra na cubeta do equipamento. Tal adaptação teve que ser realizada devido ao fato de que o espectrofotômetro utilizado foi projetado para medir a absorbância em líquidos. Os testes realizados foram divididos em duas faixas de comprimento de onda: UV (200 a 400 nm) e visível (400 a 800 nm). Em ambos os casos, os resultados para todos os filmes foram sobrepostos a fim de tornar possível a comparação dos seus espectros.

Idealmente, o filme plástico utilizado durante o experimento deve apresentar uma baixa perda de intensidade luminosa. Aliado a isso, a absorbância do mesmo perante a fonte luminosa deve ser minimizada na faixa do visível e maximizada na do UV, uma vez que buscamos um material que atue como um bloqueador somente na faixa da radiação ultravioleta.

Na Figura 3.8 é possível observar a absorbância dos filmes plásticos no comprimento de onda visível. Os filmes 1 e 2 apresentam comportamentos semelhantes por divergirem apenas na coloração do material. O trifilme, por outro lado, apresenta absorbâncias médias três vezes superior às apresentadas pelos filmes 1 e 2.

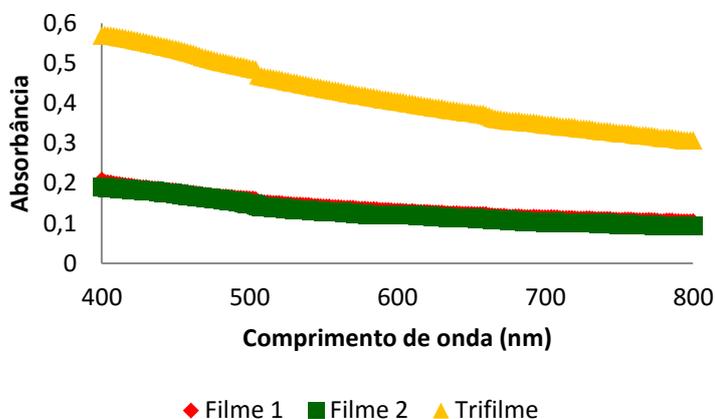


Figura 3.8: Espectro visível de absorção dos filmes plásticos

A Figura 3.9 apresenta os dados referentes ao espectro dos filmes plásticos nos comprimentos de onda da radiação UV. Para esta faixa do espectro, os três filmes apresentaram resultados semelhantes. Tanto os filmes 1 e 2 quanto o trifilme bloquearam completamente toda e qualquer radiação de comprimento de onda menor que 340 nm.

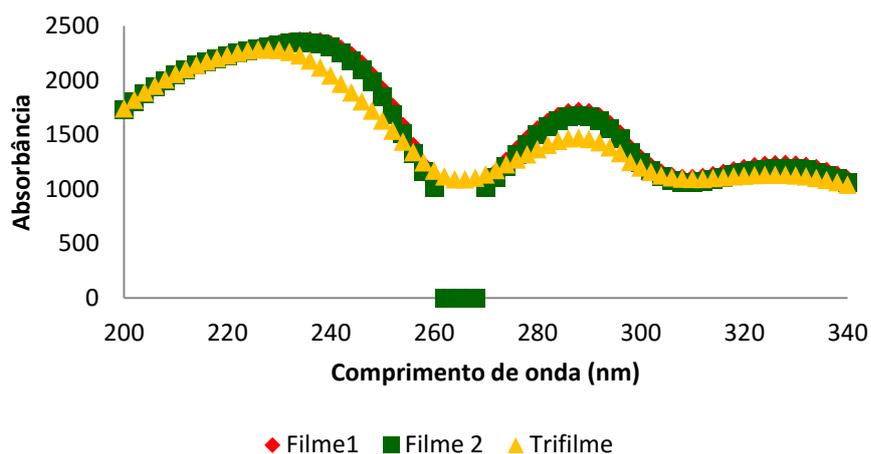


Figura 3.9: Espectro de radiação UV de absorção dos filmes plásticos para o comprimento de onda de 200 a 340 nm

Apesar de barrar por completo grande parte do espectro da radiação ultravioleta, os filmes plásticos são permeáveis a frações da RUV em comprimentos de onda superiores a 340 nm (região do UV-A), conforme pode ser visualizado na Figura 3.10.

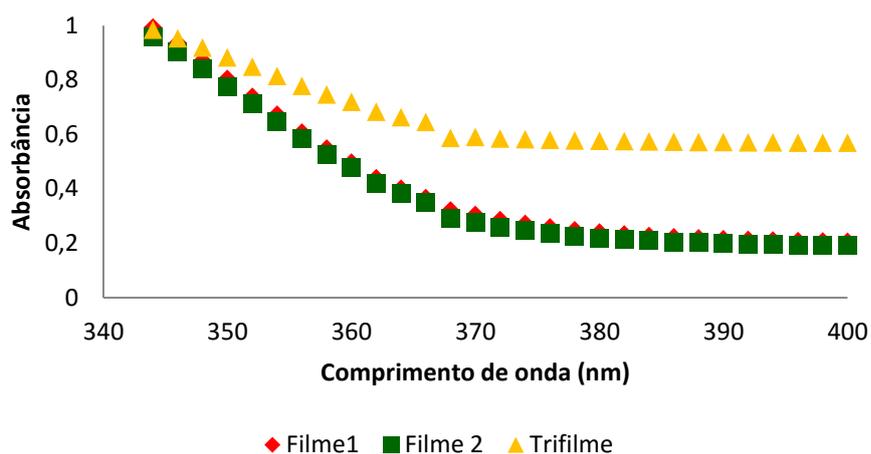


Figura 3.10: Espectro de radiação UV de absorção dos filmes plásticos para o comprimento de onda de 340 a 400 nm

Os valores de transmitância de cada plástico foram calculados a partir dos dados de absorção e estão apresentados na Tabela 3.4. Estes valores quantificam a permeabilidade luminosa que cada filme plástico deixa passar. É possível notar que para comprimentos de onda inferiores à 400 nm os três filmes saíram-se satisfatoriamente bem e obstruíram em grande parte a radiação UV.

Tabela 3.4: Valores de transmitância calculados para cada plástico

Comprimento de onda (nm)	Transmitância		
	Filme 1	Filme 2	Trifilme
200	0%	0%	0%
300	0%	0%	0%
400	62%	64%	27%
500	69%	71%	32%
600	74%	76%	39%
700	77%	79%	45%
800	79%	81%	49%

Por meio da análise da transmitância juntamente com as curvas de absorção, conclui-se que o Trifilme não é adequado para utilização no experimento, pois ele absorve uma grande quantidade de luz na faixa do visível, fato que prejudicaria o crescimento microalgal. Já os filmes 1 e 2 apresentam comportamentos análogos e a escolha de qualquer um deles seria satisfatória. Por fim, fez-se a escolha pelo filme 1, uma vez que esse não apresenta nenhuma coloração (característica que poderia vir a gerar problemas de absorção em certos comprimentos de onda durante a realização do experimento).

3.5.2 Montagem do sistema de filme plástico

Para selar a bancada de microalgas contra a radiação UV utilizou-se o sistema de hastes metálicas como um suporte para o filme plástico. Toda fixação do plástico à haste foi feita com fita adesiva. A Figura 3.11 apresenta a montagem final do sistema.

**Figura 3.11:** Montagem do sistema de filme plástico.

Observa-se que é de suma importância para a validação do experimento que os fotobiorreatores fiquem no centro da vedação plástica recebendo apenas a iluminação já “filtrada” pelo filme plástico. Além disso, é importante salientar que os fotobiorreatores devem receber a mesma iluminação quando comparada com o teste controle (8.000 lux). Uma vez que existe uma perda de intensidade luminosa nos filmes plásticos, os biorreatores foram reposicionados a 12 cm da fonte luminosa a fim de manter o mesmo

valor de intensidade luminosa do primeiro experimento (teste controle). A montagem do sistema juntamente com os fotobiorreatores pode ser visualizada na Figura 3.12.

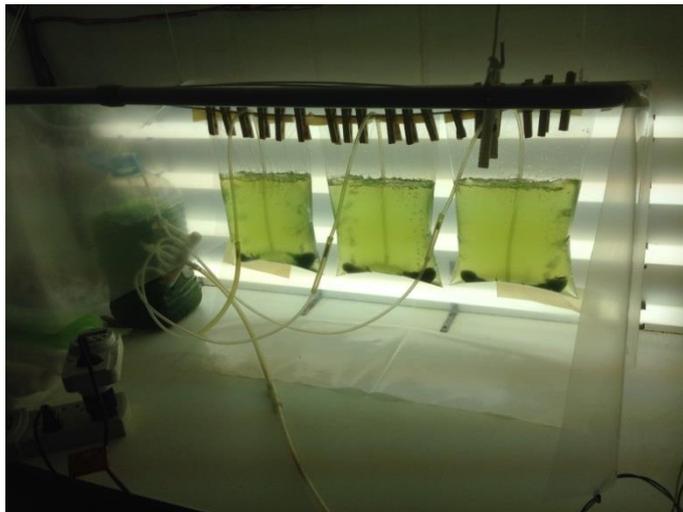


Figura 3.12: Sistema de cultivo da *Scenedesmus sp* juntamente com o sistema de filme plástico.

4 Resultados

Este capítulo sumariza os resultados obtidos nesse trabalho, contemplando o cultivo da microalga *Scenedesmus sp.* em fotobiorreatores de baixo custo juntamente com os resultados do controle de crescimento microalgal sob a ausência de radiação ultravioleta (RUV).

4.1 Fotobiorreatores de baixo custo

Esta seção apresenta os resultados dos cultivos nos fotobiorreatores de baixo custo. Inicialmente os resultados de cada cultivo (teste controle e com o filme plástico) serão descritos e ao final confrontados juntamente com dados da literatura.

4.1.1 Experimento controle

O crescimento das microalgas no fotobiorreator de sacos plásticos de polipropileno (fotobiorreator de baixo custo), descrito no capítulo anterior, foi avaliado durante 10 dias. O teste controle foi realizado sem os filmes plásticos anti-UV. Utilizando a curva de calibração da equação 3.1 obtida através das análises de peso seco, é possível transformar os valores de densidade ótica em concentração de biomassa (g/L). Na Figura 4.1, que relaciona o logaritmo da concentração de biomassa com o tempo transcorrido, é possível observar o comportamento do crescimento de biomassa.

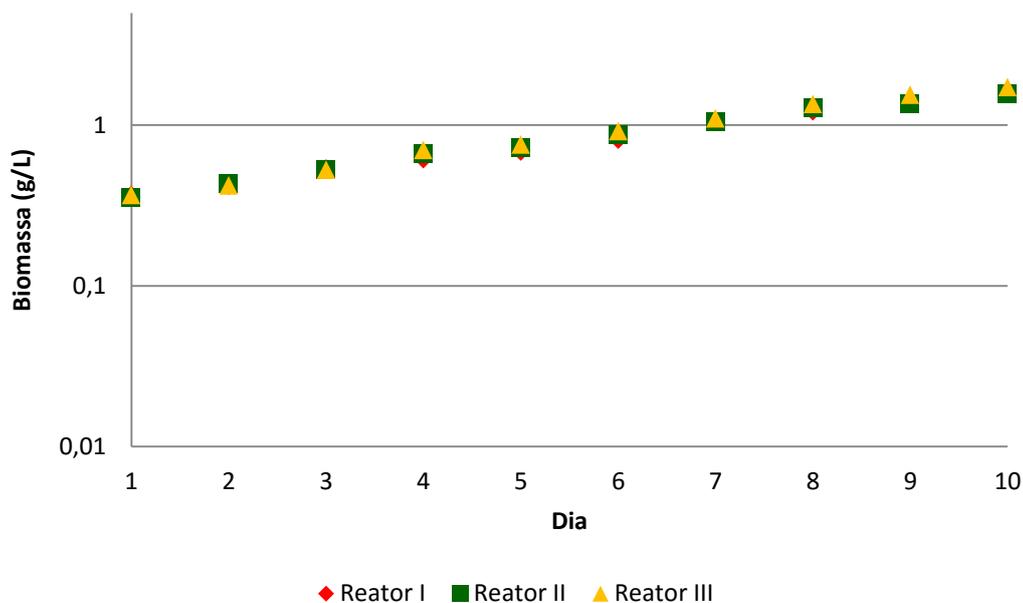


Figura 4.1: Curva logarítmica de crescimento das microalgas durante o experimento controle.

Na Figura 4.2 que relaciona a concentração de biomassa com o tempo, é possível observar que a concentração máxima obtida no experimento controle é de 1,647 g/L com um desvio padrão de $\pm 0,109$ g/L. Vale ressaltar a inexistência de dados de biomassa do reator I nos dias 9 e 10, pois o plástico desse fotobiorreator se rompeu no penúltimo dia, impossibilitando a coleta de dados do mesmo.

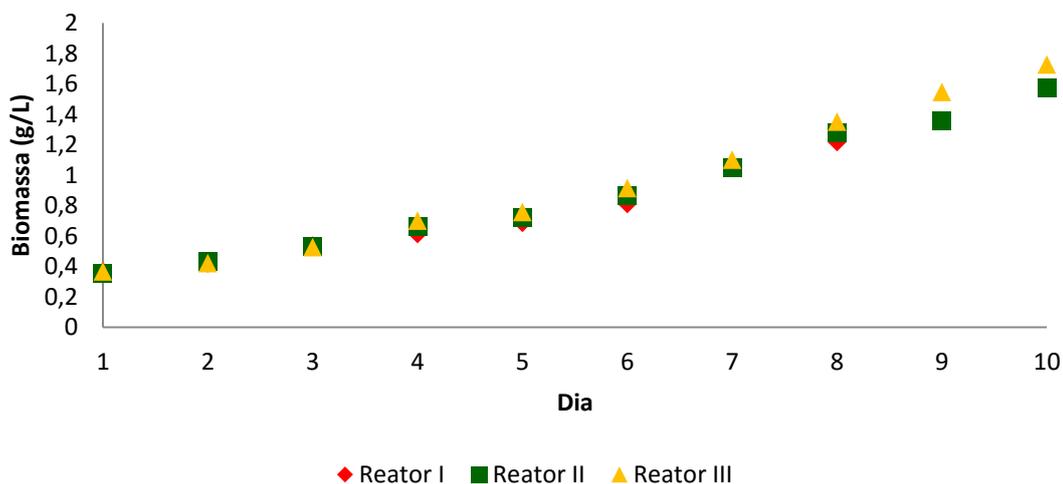


Figura 4.2: Curva de crescimento da *Scenedesmus sp.* durante o experimento controle.

4.1.2 Experimento com o filme plástico anti-UV

Analogamente ao experimento controle, o crescimento da microalga *Scenedesmus sp.* durante o experimento com o filme plástico anti-UV foi avaliado durante 10 dias. A equação 3.2, a qual foi obtida a partir dos mesmos procedimentos já citados, foi utilizada para a obtenção das curvas de crescimento microalgal. Na Figura 4.2, que relaciona o

logaritmo da concentração de biomassa com o tempo transcorrido, é possível observar o comportamento do crescimento de biomassa.

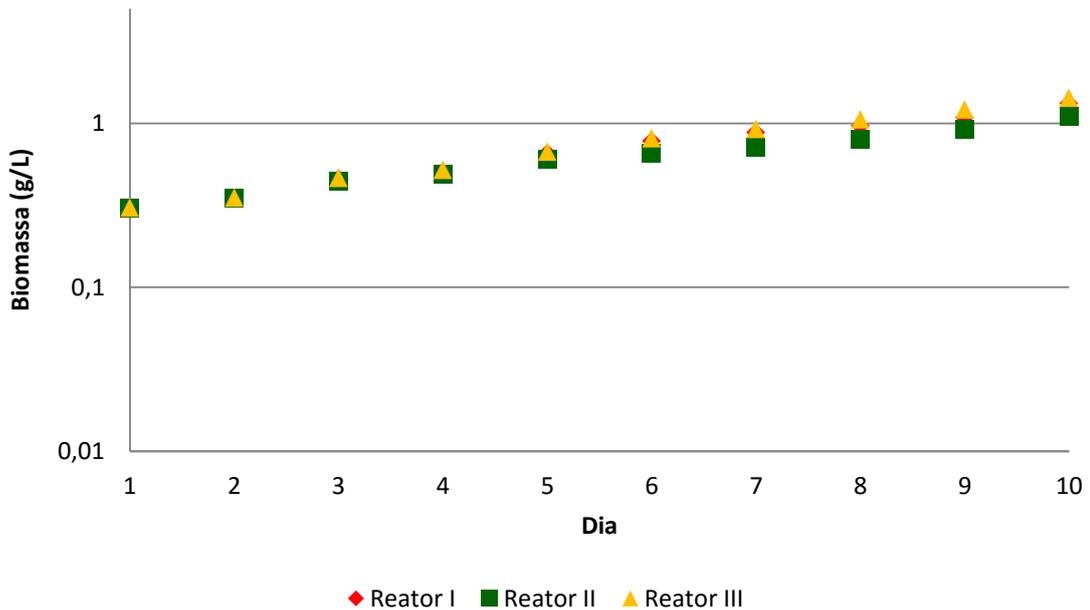


Figura 4.2: Curva logarítmica do crescimento das microalgas *scenedesmus sp.* durante o experimento com o filme plástico anti-UV

Na Figura 4.3 é possível observar as concentrações de biomassa ao longo do tempo para o experimento com o filtro anti-UV. Para este segundo experimento, a concentração máxima de biomassa obtida foi de 1,282 g/L com um desvio padrão de $\pm 0,168$.

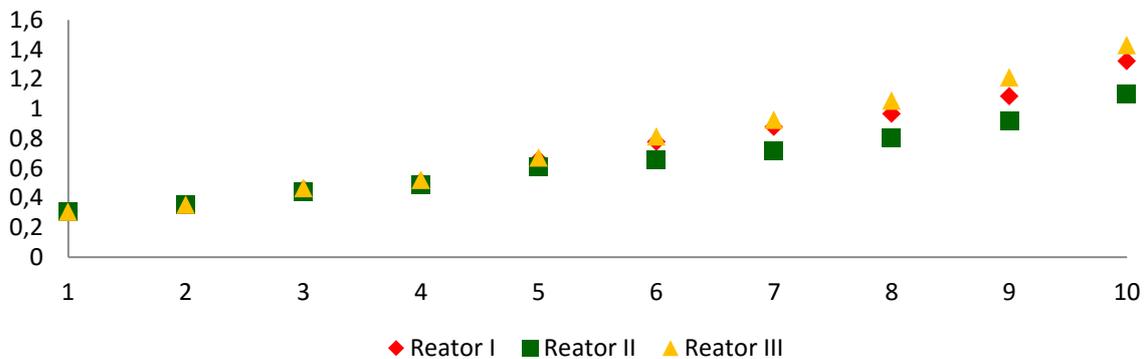


Figura 4.3: Curva de crescimento das microalgas durante o experimento com o filme plástico anti-UV.

4.2 Comparação do experimento controle com o experimento com filtro UV

Para avaliar o crescimento das microalgas nos dois experimentos realizados nesse trabalho foi traçado um gráfico das médias da concentração de biomassa no experimento controle e no experimento com filtro UV em função do tempo (Figura 4.5).

É possível observar que a concentração de biomassa no experimento sem o filme plástico bloqueador da radiação UV (controle) é superior às concentrações do experimento com o filme plástico.

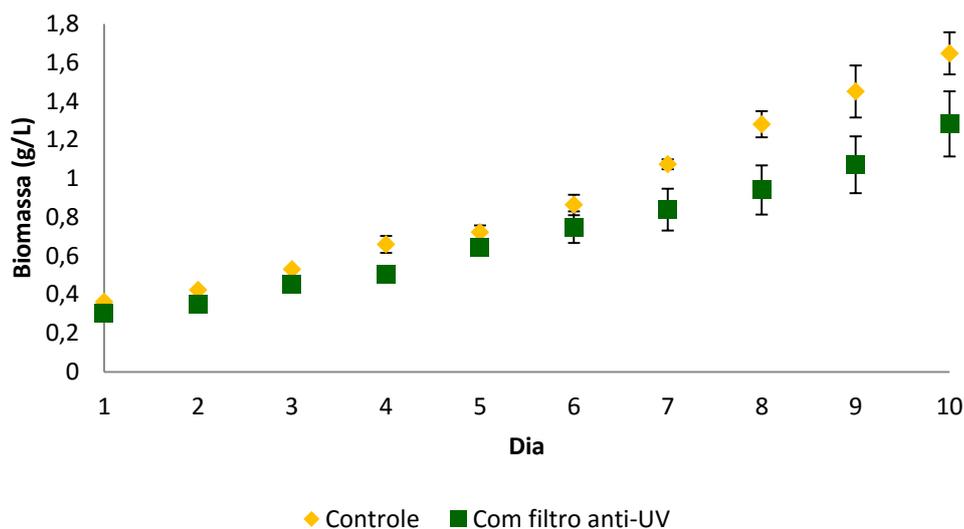


Figura 4.5: Curva comparativa de crescimento da microalga *Scendesmus sp.* nos experimentos de controle e com o filtro anti-UV.

A curva logarítmica das concentrações em ambos os experimentos foi traçada para avaliar o comportamento do crescimento microalgal nos dois estudos de caso (Figura 4.6). É possível observar que o comportamento de crescimento é semelhante em ambos experimentos. A velocidade de crescimento de biomassa, entretanto, foi maior no experimento controle.

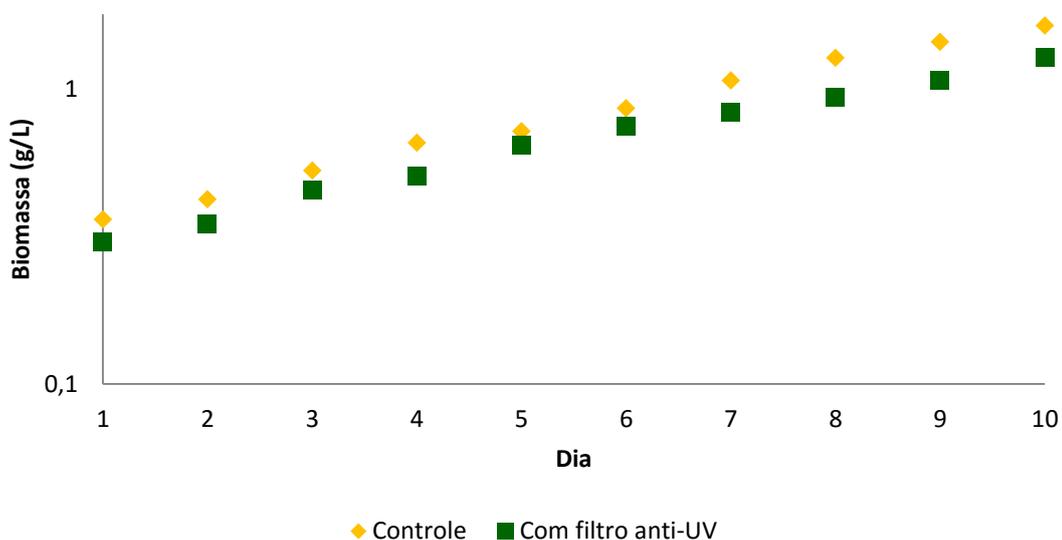


Figura 4.6: Curva logarítmica do crescimento de biomassa nos experimentos de controle e com o filtro anti-UV

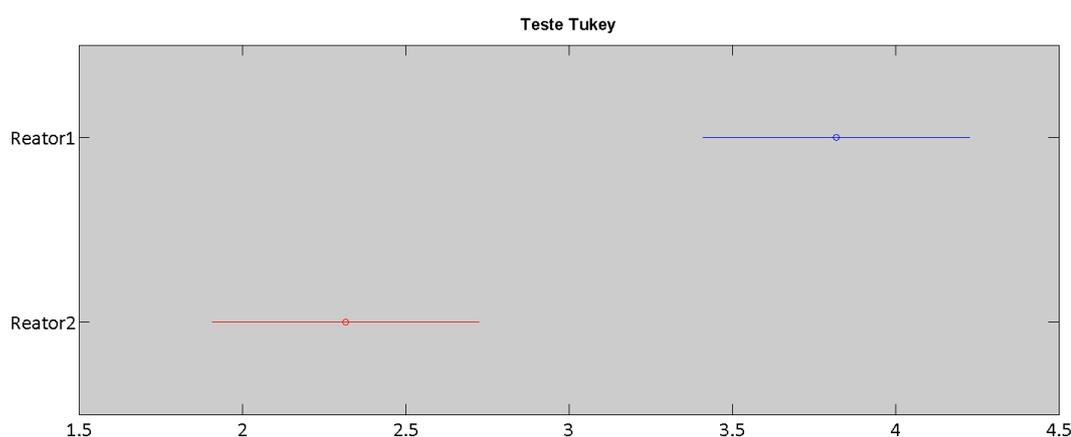
Conforme elucidado anteriormente, as concentrações máximas médias obtidas assim como a produtividade média para cada um dos experimentos realizados (com e sem o filtro UV) foram comparados e apresentados na Tabela 4.1.

Tabela 4.1: Concentração média máxima e produtividade média de cada experimento

	Concentração máxima (g.L ⁻¹)		Produtividade (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	
	Média	Desvio	Média	Desvio
Controle	1,647	0,109	0,128	0,014
Filtro anti-UV	1,282	0,168	0,097	0,016

Para avaliar os resultados de produtividade foi aplicado o teste Tukey com nível de significância $\alpha=0,05$. O teste foi realizado para os dados do oitavo dia de experimento, uma vez que um dos reatores do experimento controle se rompeu no nono dia. Os resultados obtidos estão indicados na Figura 4.7, onde o Reator 1 representa o experimento controle e o Reator 2 o experimento com o filtro anti-UV.

É possível observar que os experimentos realizados com e sem a presença de um filtro anti-UV apresentaram valores de produtividade significativamente diferentes, comprovando que a microalga *Scenedesmus sp.* cultivada no fotobiorreator de baixo custo gerou melhores resultados de produtividade e concentração máxima ante à luz UV do que sob a sua ausência da mesma.

**Figura 4.7:** Resultado do teste Tukey aplicado as produtividades.

4.3 Comparação do experimento controle com dados da literatura

Conforme citado anteriormente, o fotobiorreator de polipropileno utilizado neste trabalho foi o mesmo idealizado e concebido por Klein (2015). Uma vez que a autora utilizou-se desses biorreatores para o cultivo da mesma microalga *Scenedesmus sp.* sob o mesmo meio de cultivo (meio de Guillard modificado), cabe aqui realizarmos uma comparação das concentrações médias máximas e produtividades obtidas em ambos os experimentos, a qual pode ser observada através da Tabela 4.2.

Tabela 4.2: Concentração média máxima e produtividade média de cada experimento

	Concentração máxima (g/L)		Produtividade (g/L.dia)	
	Média	Desvio	Média	Desvio
Controle	1,647	0,109	0,128	0,014
Klein	3,723	0,844	0,529	0,121

A observação dos resultados explicita de imediato a grande diferença tanto de concentração máxima quanto de produtividade entre os experimentos avaliados. Através da metodologia empregada por Klein (2015), podemos determinar os fatores divergentes utilizados pela mesma, os quais foram:

- Tempo de cultivo de 8 dias;
- Intensidade luminosa de 10.000 lux;
- Fotoperíodo de 24 horas.

Diferentemente do tempo de cultivo e a intensidade luminosa que apresentaram pequenas diferenças em relação ao teste controle (menos de 25%), o fotoperíodo aplicado neste trabalho difere substancialmente do aplicado por Klein (2015), sendo esse, possivelmente, o maior responsável pela diferença de concentração e de produtividade entre os experimentos, uma vez que os resultados obtidos apresentaram-se significativamente diferentes pelo teste de Tukey.

5 Conclusões e Trabalhos Futuros

Com base nos resultados obtidos conclui-se que o crescimento da microalga *Scenedesmus sp.* em meio de Guillard modificado é afetado pela ausência da radiação ultravioleta.

A análise das curvas de crescimento microalgal dos experimentos realizados (Figura 4.5) ressalta visualmente a diferença entre os testes efetuados com e sem a presença de um filtro para a RUV.

Em termos quantitativos, o experimento de controle (RUV da fonte luminosa não foi bloqueada) apresentou valores superiores em relação ao experimento com o filtro UV tanto no quesito de concentração máxima média (22% maior) quanto em relação à produtividade (24% maior). A partir de tal fato podemos concluir que a luz UV é a responsável pela diferença de comportamento de crescimento da microalga *Scenedesmus sp.* no fotobiorreator de baixo custo avaliado nesse trabalho.

Uma das possíveis explicações para o aumento da produtividade e da concentração máxima seria o efeito mutagênico que a RUV gera nas microalga *Scenedesmus sp.* Tal efeito foi analisado e quantificado por Liu *et al.* (2015) em seus experimentos com a microalga *Chlorella sp.*, a qual obteve um aumento de 7,6% em sua produtividade e de 28,1% na acumulação de lipídios.

Além disso, as diferenças observadas entre o experimento de Klein (2015) e o experimento controle (Tabela 4.2) corroboram os resultados de Pawlik-Skowron e Trzcina (2014), os quais mostram a relação do crescimento microalgal com o fotoperíodo para as microalgas pertencentes ao mesmo grupo biológico que a *Scenedesmus sp.*. Infelizmente, os resultados obtidos nesse trabalho em relação ao fotoperíodo não podem ser avaliados uma vez que as condições nos experimentos estudados não foi a mesma, (diferenças no tempo de cultivo e na intensidade luminosa).

Uma vez percebido a relação do fotoperíodo com a taxa de crescimento microalgal, seria de grande interesse realizar um estudo no intuito de verificar o fotoperíodo ideal para o crescimento da *Scenedesmus sp.*

Além disso, visto que a RUV auxiliou no crescimento da microalga avaliada, estudos com iluminação UV artificial podem ser feitos para determinar o ponto de saturação da *Scenedesmus sp.* perante à luz ultravioleta.

Por fim, é de grande interesse estudar e quantificar as variáveis de vazão de aeração, de volume e de intensidade luminosa dos fotobiorreatores de baixo custo a fim de otimizá-los para aumentarem a produção de biomassa microalgal.

6 Referências

- ANDRADE, M. D. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, n. 5, p. 1551–1556, 2008.
- ANTELO, F. S. et al. Extraction and Purification of C-phycoyanin from. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 21, n. 5, p. 921–926, 2010.
- BI, H.; ZHANG, G. M. Changes of Phycocyanin in *Spirulina platensis* After Ultraviolet Light Irradiation.pdf. **Journal of Agro-Environment Science**, v. 26, p. 1033–1039, 2007.
- BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae : ponds , tanks , tubes and fermenters. v. 70, p. 313–321, 1999.
- 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**, v. 14, n. 2, p. 557–577, 2010.
- CAMACHO RUBIO, F. et al. Prediction of dissolved oxygen and carbon dioxide concentration profiles in tubular photobioreactors for microalgal culture. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 62, n. 1, p. 71–86, 1999.
- CHISTI, Y. Microalgae: our marine forests. **Biotechnology Advances**, v. 22, n. 7, p. 565–566, 2004.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294–306, 2007.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 126–131, 2008.
- DASGUPTA, C. N. et al. Recent trends on the development of photobiological processes and photobioreactors for the improvement of hydrogen production. **International Journal of Hydrogen Energy**, v. 35, n. 19, p. 10218–10238, 2010.
- DEMIRBAS, A. Use of algae as biofuel sources. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 12, p. 2738–2749, 2010.
- DERNER, R. B. et al. Microalgas , produtos e aplicações. p. 1959–1967, 2006.
- EIBL, R. et al. Disposable bioreactors: The current state-of-the-art and recommended applications in biotechnology. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 86, n. 1, p. 41–49, 2010.
- EPPLEY, R. W. **The growth and culture of diatoms***The Biology of Diatoms*, 1977.
- FRANCO, A. L. C. et al. Biodiesel De Microalgas: Avanços E Desafios. **Química Nova**, v. 36,

n. 3, p. 437–448, 2013.

GUILLARD, R. R. L. **Culture of Phytoplankton for Feeding Marine Invertebrates****Culture of Marine Invertebrate Animals**, 1975.

HELLENBUST, J. A. **Marine ecology: A comprehensive integrated treatise on life in oceans and coastal waters**. London: Wiley Interscience, 1970.

JOKIEL, P. L.; YORK, R. H. J. Importance of ultraviolet radiation in photo inhibition of microalgal growth. **Limnology and Oceanography**, v. 29, n. 1, p. 192–198, 1984.

KIM, M. K. et al. Enhanced production of *Scenedesmus* spp. (green microalgae) using a new medium containing fermented swine wastewater. **Bioresource Technology**, v. 98, n. 11, p. 2220–2228, 2007.

KLEIN A. P. Avaliação de diferentes fotobiorreatores para cultivo de microalgas. 2015.

LAM, M. K.; LEE, K. T. Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. **Biotechnology Advances**, v. 30, n. 3, p. 673–690, 2012.

LEE, R. **Basic characteristics of the algae**. [s.l.: s.n.].

LI, P.; LIN, J. Effect of ultraviolet radiation on photosynthesis, biomass, and fatty acid content and profile of a *Scenedesmus rubescens*-like microalga. **Bioresource Technology**, v. 111, p. 316–322, 2012.

LIU, S. et al. Improving Cell Growth and Lipid Accumulation in Green Microalgae *Chlorella* sp. via UV Irradiation. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 175, n. 7, p. 3507–3518, 2015.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas : princípios e aplicações**. [s.l.: s.n.].

LÜRLING, M. Effect of Grazing-Associated Infochemicals on Growth and Morphological Development in *Scenedesmus Acutus* (Chlorophyceae). **Journal of Phycology**, v. 586, p. 578–586, 1998.

MADRONICH, S. et al. Changes in biologically active ultraviolet radiation reaching the Earth's surface. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 46, n. 1-3, p. 5–19, 1998.

MATA, T. M. et al. Parametric study of a brewery effluent treatment by microalgae *Scenedesmus obliquus*. **Bioresource Technology**, v. 107, p. 151–158, 2012.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217–232, 2010.

MCLEOD, G. C. Delayed light action spectra of several algae in visible and ultraviolet light. **The Journal of General Physiology**, v. 42, n. 955, p. 243–250, 1958.

MOHEIMANI, N. R.; BOROWITZKA, M. A. The long-term culture of the coccolithophore

Pleurochrysis carterae (Haptophyta) in outdoor raceway ponds. **Journal of Applied Phycology**, v. 18, n. 6, p. 703–712, 2006.

MOHEIMANI, N. R.; BOROWITZKA, P. M. The culture of Coccolithophorid algae for carbon dioxide bioremediation. **Algal Biotechnology Laboratory**, p. 252, 2005.

MOLINA GRIMA, E. et al. Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup. **Journal of Biotechnology**, v. 70, n. 1, p. 231–247, 1999.

MÖLLER, R.; CLAYTON, D. **Micro- and macro-algae: utility for industrial applications**. [s.l: s.n.].

NAIK, S. N. et al. Production of first and second generation biofuels: A comprehensive review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 2, p. 578–597, 2010.

NARAYANAN, D. L.; SALADI, R. N.; FOX, J. L. Ultraviolet radiation and skin cancer. **International Journal of Dermatology**, v. 49, n. 9, p. 978–986, 2010.

OOSTERHUIS, N. M. G.; VAN DEN BERG, H. J. **How multipurpose is a disposable bioreactor?** **BioPharm International**, 2011.

ORCHARD, E. **Algae of Australia: introduction** **Algae**, 2008.

PAWLIK-SKOWRON, B.; TRZCIN, M. Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. p. 735–741, 2014.

PIRES, J. C. M. et al. Carbon dioxide capture from flue gases using microalgae: Engineering aspects and biorefinery concept. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 16, n. 5, p. 3043–3053, 2012.

PLASTISUL. **Plastisul**. Disponível em: <<http://www.plastisul.com.br/>>. Acesso em: 22 nov. 2015.

RAMIREZ, N. N. V. Estudo do Crescimento da Microalga Scenedesmus sp. em Vinhaça. 2013.

RAVEN, J. A. **Micro-algal biotechnology: Limits to growth**. Cambridge: Cambridge University, 1988.

RICARDO, J.; CABRAL, P. DE. Produção de Bioetanol a Partir da Microalga Scenedesmus obliquus. 2011.

RICHMOND, A. Handbook of microalgae culture: Biotechnology and applied phycology. **Analytical biochemistry**, v. 296, n. 2, 2004.

SCHMITZ, R.; MAGRO, C.; COLLA, L. Aplicações ambientais de microalgas. **Revista CIATEC-UPF**, v. 4, n. 1, p. 48–60, 2012.

SINGH, R. N.; SHARMA, S. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. v. 16, p. 2347–2353, 2012.

SOUSA, C. V. DE. Microalgas : do Tratamento de Efluentes para a Biorrefinaria. 2014.

SPOLAORE, P. et al. Commercial Applications of Microalgae. v. 101, n. 2, p. 87–96, 2006.

TYYSTJA, T. et al. Action spectrum of psbA gene transcription is similar to that of photoinhibition in *Synechocystis* sp . PCC 6803. v. 516, p. 167–171, 2002.

WAHIDIN, S. et al. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp . **Bioresource Technology**, v. 129, p. 7–11, 2013.

XUE, L. et al. **Effects of enhanced ultraviolet-B radiation on algae and cyanobacteria. Critical reviews in microbiology**, 2005.

YONGMANITCHAI, W.; OWEN, P. W. Screening of Algae for Potential Alternative Acid Sources of. **Phytochemistry**, v. 30, n. 9, p. 2963–2967, 1991.

ZHANG, X. et al. Effect of enhanced UV-B radiation on photosynthetic characteristics of marine microalgae *Dunaliella salina* (Chlorophyta, Chlorophyceae). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, v. 469, p. 27–35, 2015.