

II-213 - AVALIAÇÃO DA RECUPERAÇÃO DE BIOMASSA E EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS DE *DESMODESMUS SUBSPICATUS* E *CHLORELLA VULGARIS* CULTIVADAS EM ESGOTO DOMÉSTICO PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Sílvia Mariana S. Barbosa ⁽¹⁾

Bacharel em Ciências Biológicas/Ambientais pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE). Mestre e doutoranda em Engenharia Civil (Tecnologia Ambiental) pela UFPE.

Marcella Vianna Cabral Paiva ⁽²⁾

Bacharel em Ciências Biológicas/Ambientais pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) Mestre e doutoranda em Engenharia Civil (Tecnologia Ambiental) pela UFPE.

Sávia Gavazza ⁽³⁾

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Alagoas (UFAL). Doutorado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela Escola de Engenharia de São Carlos (EESC-USP). Professora Associada da UFPE. Pós-doutorado na Universidade de Cornell (EUA) e Universidade de Toronto (Canadá).

Mario Takayuki Kato ⁽⁴⁾

Engenheiro Civil pela Universidade Federal do Paraná (UFPR). Mestrado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela EESC-USP. Doutorado em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela Universidade de Wageningen (Holanda). Professor Titular da UFPE.

Lourdinha Florencio ⁽⁵⁾

Engenheira Civil pela UFPE. Mestrado em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela EESC-USP. Doutorado em Tecnologia Ambiental e Ciências da Agricultura pela Universidade de Wageningen (Holanda). Professora Titular da UFPE.

Endereço: Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Tecnologia e Geociências. Departamento de Engenharia Civil. Laboratório de Saneamento Ambiental (LSA – UFPE). Av. Acadêmico Hélio Ramos, s/n. Cidade Universitária. CEP: 50740-530 Recife PE, Brasil. Tel: (81) 2126-8742 e-mail: flor@ufpe.br; barbosasms@gmail.com

RESUMO

Este trabalho teve como objetivo, promover um estudo sobre a recuperação da biomassa do meio de cultivo, e a recuperação do conteúdo lipídico das espécies *Chlorella vulgaris* e *Desmodesmus subspicatus* cultivadas em esgoto doméstico, visando estudar a viabilidade de se utilizar esta matéria-prima para produção de biodiesel. A biomassa em suspensão, foi submetida a ação de diferentes agentes coagulantes, de natureza catiônica, em diferentes concentrações. Para avaliar a recuperação da biomassa do meio, foram testadas soluções de hidróxido de sódio, sulfato de alumínio, hidroxicarbonato de sódio, cloreto férrico, sulfato de alumínio associado a cloreto férrico e solução de cloreto de alumínio. A decantação sem auxílio de floculantes foi também avaliada. Os métodos de extração lipídica, envolveram o uso de técnicas assistidas por um equipamento ultrassom e por meio de equipamento *Soxhlet* na presença de metanol, clorofórmio e da mistura clorofórmio: metanol 2:1. Foi constatado que o uso da mistura de floculantes sulfato de alumínio e cloreto férrico numa proporção 1:1, foi a que melhor promoveu a colheita da biomassa de *D. subspicatus* e *C. vulgaris*, tanto no quesito tempo de decantação, como na recuperação da biomassa do meio de cultivo utilizado (esgoto doméstico). O uso do equipamento *soxhlet*, sob ação da mistura de solventes clorofórmio e metanol 2:1, em ciclos de extração de 8h, foi a que melhor promoveu a recuperação de lipídeos intracelular da biomassa das espécies *Chlorella vulgaris* e *Desmodesmus subspicatus*.

PALAVRAS-CHAVE: Microalgas, lipídeos, floculantes, rendimento lipídico.

INTRODUÇÃO

Biodiesel pode ser produzido a partir de matérias primas, tais como óleos vegetais ou gorduras animais. No entanto, sua produção proveniente de óleos vegetais como de milho, girassol, soja, canola, palma, beterraba e cana de açúcar competem com a produção de alimentos, que também necessita de vastas áreas para o cultivo, implicando no aumento de preços e o uso de práticas agrícolas insustentáveis (DEMIRBAS, 2011).

Dentre as fontes alternativas para a produção de biodiesel destaca-se o potencial das microalgas. Existe grande expectativa para a consolidação das microalgas como fonte viável de biomassa para a produção de biocombustível. Porém, este tipo de cultivo não deslocará as tradicionais áreas de cultivo voltadas para a alimentação humana (FILHO et al, 2013). As microalgas constituem um amplo e heterogêneo grupo de organismos simples tipicamente autótrofos, que tem a capacidade de produzir compostos orgânicos complexos a partir de moléculas inorgânicas através de fotossíntese ou de reações químicas (FILHO et al, 2013).

A produção de biocombustível a partir de microalgas tem como principais vantagens: (i) não competir por áreas agricultáveis, (ii) não necessitar de agrotóxicos e consumo excessivo de água, (iii) apresentar altas taxas de crescimento da biomassa com elevado teor lipídico intracelular e (iv) apresentam maior produtividade por área quando comparada as plantas oleaginosas mais produzidas (CHISTI, 2007; BAHADAR et al 2013; CRUZ, et al 2013).

Seguinte ao processo de cultivo, colhe-se e processa a biomassa para liberar os subprodutos, tais como os triglicerídeos, que são utilizados para produção de biodiesel. Os métodos de colheita da biomassa algal mais comuns incluem a sedimentação, centrifugação, filtração, ultra-filtração, podendo ser utilizada a floculação adicional ou com uma combinação de floculação-flotação. O método de extração de lipídios da biomassa microalgal para este fim deve ser o mais específico e seletivo possível, a fim de minimizar a extração das frações não lipídicas e maximizar as frações desejadas. Dentre os métodos para romper a parede celular estão os métodos mecânicos: por meio de prensas e congelamento, e os químicos: com uso de solventes orgânicos e choque osmótico; reações ácidas, básicas e enzimáticas, além da extração assistida por ultrassom e por micro-ondas, extração com CO₂ em estado supercrítico. As prensas mecânicas e os solventes apolares são os métodos mais utilizados para a extração de lipídeos das microalgas, assim como é realizado com oleaginosas tradicionais (GRIMA et al 2003; MATA et al 2010).

A extração química, utiliza solventes como benzeno, éter e hexano, metanol e clorofórmio e apresenta uma alta especificidade para os lipídios que são altamente solúveis, com isso consegue-se extrair os lipídios intracelulares e requer um processo de destilação subsequente para separar o excesso de solventes que ficou no extrato e a grande quantidade que utiliza para obter quantidades significativas de óleo (CHISTI, 2007).

Desse modo, esse trabalho objetivou promover um estudo sobre o a recuperação da biomassa do meio de cultivo, e a recuperação do conteúdo lipídico das espécies *Chlorella vulgaris* e *Desmodesmus obliquus* da divisão Chlorophyta, submetidas a ação de diferentes agentes floculantes e diferentes técnicas para extração lipídica, visando estudar a viabilidade de se utilizar esta matéria-prima para produção de biodiesel.

MATERIAIS E MÉTODOS

Cultivo, colheita e testes de coagulação-floculação da biomassa

O cultivo foi realizado em regime contínuo, utilizando esgoto bruto como fonte de carbono e nutrientes, proveniente da ETE Rio Formoso, litoral sul de Pernambuco. Foram utilizados aquários em vidro transparente com volume de 20L, sob iluminação artificial contínua de 3000 ± 100 lux, e para favorecer a mistura, foi injetado ar atmosférico filtrado a uma vazão de 300 L.h^{-1} e temperatura controlada de 20 ± 1 °C. Alcançada a fase estacionária da curva de crescimento (15 dias) aferiu-se o pH, temperatura, condutividade elétrica do cultivo, e o rendimento final da biomassa (g.L^{-1}). Para avaliar a eficiência da coagulação-floculação, cones de *Imhoff* em vidro com volumes de 1L foram utilizados. Foram testadas soluções de hidróxido de sódio NaOH; sulfato de alumínio $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$; hidroxicarbonato de cálcio $\text{Ca}(\text{OH})_2$, cloreto férrico FeCl_3 , cloreto de alumínio AlCl_3 e sulfato de alumínio + cloreto férrico na proporção 1:1 de modo que a concentração final de coagulante no volume testado, não ultrapassasse 500mg.L^{-1} . Foram avaliados aspectos quanto a molaridade do composto (1 e 2M), o tempo de floculação-decantação (10, 20, 40, 60 e 120 minutos), o pH obtido ao longo do tempo de floculação-decantação, e a taxa de recolhimento (avaliada por meio da concentração de SST mg.L^{-1} do sobrenadante ao longo do tempo) para a biomassa das duas espécies. A decantação sem auxílio de coagulantes foi também avaliada como parâmetro controle. A secagem da biomassa para posterior extração, foi realizada ao sol, sob uma película plástica de 0,8 mm que se manteve exposta por um período máximo de 12 horas.

Extração de lipídeos

A extração de lipídeos foi realizada com a biomassa de *D. subspicatus* (Ds) e *C. vulgaris* (Cv) obtidas no melhor teste de coagulação-floculação. A recuperação lipídica foi avaliada com uso dos solventes: clorofórmio (C), metanol (M), e a mistura clorofórmio e metanol 2:1(CM). Todos os solventes foram utilizados com grau de pureza de 95%. Para auxiliar no processo de quebra da parede celular algal, foram comparados o uso de equipamento *Sohxlet* (Quimis, mod 0388-268) e ultrassom (banho ultrassom Unique, mod. USC-1850 A 120 watts 3,6 L). Para cada um dos tratamentos, foram utilizados 2g de biomassa seca e 200 mL de solvente. O período de extração foi de 4h para ambos os equipamentos, sendo este um tempo hábil para se completar 8 ciclos de lavagem no *Sohxlet*. Um retroevaporador em dois módulos (IKA, mod. HB 10 basic módulo de banho, e retroevaporador IKA mod. RV 10 basic) foi usado para remover os solventes da amostra, que se manteve em banho maria a uma temperatura de 65°C por um período de 1h. Após remoção do solvente, a quantificação total de óleo recuperado, foi obtida gravimetricamente com uso de balança analítica. A técnica utilizada foi adaptada do método de Blight & Dyer (1956). Para avaliar diferenças entre os tratamentos, foi realizado teste ANOVA, e teste *t* com nível de confiança de 95%.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Colheita da biomassa (testes de floculação)

O pH e a temperatura de ambos os cultivos, manteve-se constante ao longo dos 15 dias de cultivo, sugerindo um equilíbrio do sistema, e a não interferência de fatores externos. O cultivo (autotrófico) favoreceu a utilização total dos nutrientes do meio. A densidade condutividade elétrica do cultivo no momento da colheita (1001 e 956 $\mu\text{S}/\text{cm}$) e o pH (7,0 e 7,1) mostrou-se em valores comuns a cultivos com altas densidade de microalgas (902×10^6 e 867×10^6 para *C. vulgaris* e *D. subspicatus*) respectivamente.

Os agentes coagulantes que melhor promoveram a floculação/decantação da biomassa em estudo, foram a mistura de sulfato de alumínio + cloreto férrico, e a solução de hidroxicarbonato de cálcio. Essas soluções obtiveram melhores resultados quanto ao tempo de decantação, e não promoveram o aumento do pH do cultivo para ambas as espécies. No entanto, o não uso de agentes coagulantes, também é capaz de promover a decantação significativa da biomassa, que por gravidade pode ser removida do meio de cultivo, especialmente para a espécie *Chlorella vulgaris*, o que é atribuído ao fato de a espécie possuir menor volume celular. No entanto a recuperação da biomassa ocorre num intervalo de tempo superior. A figura 1 abaixo, apresenta as concentrações de sólidos suspensos no meio de cultivo – sobrenadante, usados para cultivo de *C. vulgaris* e *D. subspicatus* após a decantação da biomassa, indicando a taxa de recuperação da mesma após a aplicação de cada um dos coagulantes.

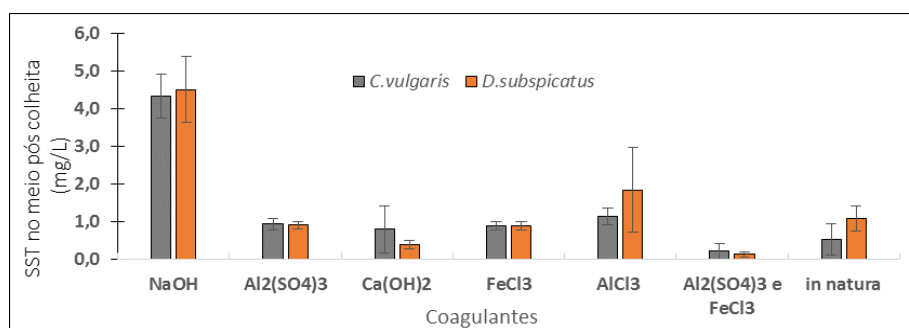


Figura 1- Concentração de sólidos suspensos totais no meio de cultivo (esgoto doméstico) após aplicação dos coagulantes (1M) e ao início da decantação natural, obtidos após 120 minutos.

Nota-se que a menor quantidade de sólidos foi observada no sobrenadante referente ao cultivo de *Desmodesmus subspicatus* após 120 minutos, onde utilizou-se o a mistura de sulfato de alumínio + cloreto férrico (1M), indicando que a recuperação da biomassa com uso deste agente coagulante foi a mais satisfatória. No entanto, após 10 minutos da adição do coagulante já pôde-se notar o clareamento diferenciado do sobrenadante em relação aos demais reagentes testados. Vale salientar que a recuperação da biomassa de ambas as espécies mostrou-se satisfatória, sem o uso de coagulantes, porém um real clareamento

só foi observado após 120 minutos de teste. Após a colheita, a secagem foi realizada ao sol e a biomassa seca foi armazenada em potes de vidro a temperatura ambiente. Posteriormente foi realizado os testes de recuperação lipídica, fazendo uso da biomassa colhida com uso da mistura de coagulantes que se destacou nos testes de floculação.

Recuperação lipídica (testes de extração)

O rendimento de óleo mostrou-se mais satisfatória na extração assistida pelo equipamento *Sohxlet*, fazendo uso da mistura clorofórmio metanol 2:1 (CM), principalmente para a espécie *Desmodesmus subspicatus*, que apresentou um rendimento médio de óleo de 0,053 g/g, conforme ilustra o a Figura 2 abaixo.

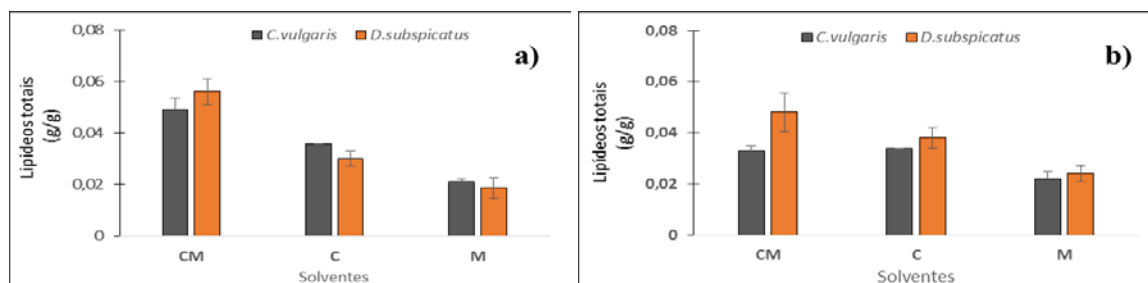


Figura 2- Rendimento lipídico médio observado com uso do equipamento Sohxlet (a) e ultra-som (b) para as espécies *D.subspicatus* e *C.vulgaris* com uso de clorofórmio, metanol, e a mistura clorofórmio e metanol (2:1).

A extração assistida pelo uso do *Sohxlet*, consegue ser mais eficiente para este fim, provavelmente pelo fato de o solvente promover uma lavagem contínua sobre a amostra, e assim removendo o óleo extraído continuamente, e agregando-o ao solvente, diferentemente do uso do ultrassom, que apesar de auxiliar o rompimento da parede celular algal com a emissão das ondas ultrassônicas, mantém o solvente estático em contato com a amostra, sendo apenas removido com auxílio de filtração. O rendimento lipídico da espécie *Desmodesmus subspicatus* mostrou-se mais satisfatória pelo fato dessa espécie ter uma natural capacidade para promover uma maior acumulação lipídica do que a *Chlorella vulgaris* (BAHADAR, 2013; DERMIBAS, 2011). A natureza apolar dos solventes utilizados, facilita o processo de ruptura de paredes celulares vegetais, pela ausência, ou baixa ocorrência de regiões eletricamente densas. Sendo assim, a mistura de dois solventes dessa natureza, pôde promover a ruptura e o acesso do óleo intracelular ao meio externo.

CONCLUSÕES

- Pode-se concluir que o uso da mistura de coagulantes sulfato de alumínio e cloreto férrico a uma proporção 1:1, foi a que melhor promoveu a colheita da biomassa de *D. subspicatus* e *C. vulgaris*, tanto no quesito tempo de decantação, como na recuperação da biomassa do meio de cultivo utilizado (esgoto doméstico bruto previamente decantado).
- O não uso de agentes coagulantes, é capaz de promover uma colheita satisfatória de biomassa quando se utiliza esgoto bruto como meio de cultivo para as espécies *C. vulgaris* e *D. subspicatus*, porém em um tempo de 6 a 7 vezes superior ao uso de agentes coagulantes.
- O uso do equipamento *Sohxlet*, sob ação da mistura de solventes clorofórmio e metanol 2:1, em ciclos de extração de 8h, foi a que melhor promoveu a recuperação de lipídeos intracelular da biomassa das espécies *Chlorella vulgaris* e *Desmodesmus subspicatus*, devido a ação física do solvente em contínuas lavagem, e a natureza dos solventes utilizados.

AGRADECIMENTOS

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia de Pernambuco (FACEPE) pelo apoio financeiro para realização das pesquisas neste tema aos pesquisadores do LSA-UFPE (projeto PRONEX/NUTREL); à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão de bolsas. À Financiadora de Estudos e Projetos (FINEP), pelo apoio ao projeto Rede Nacional de Tratamento de Esgotos Descentralizados (RENTED). À Companhia

de Saneamento de Pernambuco (COMPESA) e BRK Ambiental pelo suporte aos trabalhos experimentais e coleta de amostras nas estações de tratamento de esgotos de Rio Formoso e Mangueira Recife. À Fibra Revestimentos, pela cessão e suporte na operação de reatores piloto e filtros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA-AWWA-WPCF Standard methods for the examination of water and wastewater, APHA, Washington, 1691 p. 2012.
2. BAHADAR, A., & BILAL KHAN, M. Progress in energy from microalgae: A review. *Renew Sust Energ Rev.* 27:128–148. 2013.
3. DEMIRBAS, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. *Appl Energ.* 88 (10), 3541–3547. 2011.
4. BAHADAR, A., & BILAL KHAN, M. (2013). Progress in energy from microalgae: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 27:128–148.
5. CHISTI, Y. (2007). Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances.* 25 (3), 294–306.
6. CRUZ, R.S.; FRANCO, A. L. C.; LOBO, I. P. 2013. Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. *Química Nova.* 36 (3), 437-448.
7. DEMIRBAS, A. (2011). Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. *Applied Energy.* 88 (10), 3541–3547.
8. FILHO, N.R.A.; MENEZES, R.S.; LELES, M.I.G.; SOARES, A.T.; FRANCO, P.I.B. 2013. Avaliação da potencialidade de microalgas dulcícolas como fonte de matéria prima graxa para a produção de biodiesel. *Química Nova.* 36 (1), 10-15.
9. MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. (2010). Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews.* 14 (1), 217–232.