

714 - PRODUTIVIDADE DE LIPÍDIOS E DESEMPENHO DE BIODIESEL ORIUNDOS DE AGREGADOS MICROALGA-BACTÉRIA CULTIVADOS EM LAGOA DE ALTA TAXA SOB BATELADA SEQUENCIAL

Paulo Henrique da Silva⁽¹⁾

Químico Industrial e mestre em Engenharia Civil com ênfase em Tecnologia Ambiental pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Acson Gonçalves de Lima⁽²⁾

Graduando em Engenharia Civil pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Erika Virginia da Silva Lima⁽³⁾

Graduanda em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Wanderli Rogério Moreira Leite⁽⁴⁾

Engenheiro Ambiental pela Universidade do Estado do Pará; mestre em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Santa Catarina (2011); Doutor em Engenharia Ambiental pela Universidade Federal de Santa Catarina (2015). Professor Adjunto do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental da Universidade Federal de Pernambuco.

Maria de Lourdes Florencio dos Santos⁽⁵⁾

Engenheira Civil pela Universidade Federal de Pernambuco; mestra em Engenharia Civil (Hidráulica e Saneamento) pela Universidade de São Paulo (USP); Doutora em Ciências Agrícola e Ambiental pela Universidade de Wageningen. Professora titular do Departamento de Engenharia Civil e Ambiental – Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

Endereço⁽¹⁾: Av. Prof. Moraes Rego, 1235 - Cidade Universitária, Recife - PE, 50670-901- Brasil - Tel: (81) 99656- 7784 - e-mail: paulo.hsilva3@ufpe.br.

RESUMO

Em lagoas de alta taxa, a operação em regime contínuo tende a induzir problemas operacionais que prejudicam o desenvolvimento da biomassa algal-bacteriana, um insumo em potencial para a produção de biodiesel, a depender do perfil de ácidos graxos encontrados. Neste estudo, uma lagoa de alta taxa em escala piloto, de volume útil 2,4 m³, foi utilizada para avaliar o desempenho da operação em batelada sequencial (BS) com troca volumétrica de 50% a cada 2 dias, totalizando um TDH de 4 dias. Os critérios da análise envolveram a produtividade de biomassa, o perfil de ácidos graxos produzidos, a qualidade global do biodiesel em termos de número de cetano (NC) e valor de iodo (VI) e o tratamento do esgoto doméstico pré-tratado por reator UASB usado como meio de cultura. Após 20 dias de formação da biomassa e 24 dias de operação em BS, estabeleceu-se uma biomassa predominantemente rica no gênero *Scenedesmus* sp. (72%), além de se observar uma produtividade de 68 kg.ha⁻¹.d⁻¹, considerada elevada. A extração lipídica revelou um teor lipídico de 10% e, consequentemente, uma produtividade lipídica total de 6,8 kg.ha⁻¹.d⁻¹, valor até 3 vezes maior que estudos anteriores em regime contínuo com fotobiorreatores fechados, em teoria, mais controlados. Além disso, o sistema alcançou um pico de 650 mg.L⁻¹ de sólidos suspensos voláteis, valor que supera em 2 vezes resultados pregressos em regime contínuo na mesma lagoa. O perfil lipídico foi dominado pelos ácidos palmitato (C16:0) e estereato (18:0) nas proporções de 33,9 e 41,4 %, respectivamente. Tratam-se de cadeias lipídicas associadas a um biodiesel de qualidade, como observado nos resultados de número de cetano de 62 e valor de iodo de 10 gI₂.100g, valores que superaram com folga os requisitos da Agência Nacional de Petróleo (ANP), que preconiza um NC mínimo e um VI máximo de 42 e 120 gI₂.100g, respectivamente. Mesmo o requisito de NC do biodiesel Premium da união européia, com um mínimo de 60, foi atingido. Por fim, a remoção de nutrientes ao final do experimento ficou em 90% para o nitrogênio amoniacal e 30% para o fósforo total. Os resultados mostram que a operação em batelada sequencial pode não só ser uma alternativa produtiva ao regime contínuo em vista dos problemas que este apresenta, como os lipídios produzidos atendem com segurança diversos dos parâmetros exigidos a um biodiesel de qualidade.

PALAVRAS-CHAVE: Microalga, bactérias, lagoas de alta taxa, biodiesel, efluentes.

INTRODUÇÃO

A crescente urbanização das cidades, por vezes desenfreada e não planejada, gera um grande volume de resíduos líquidos que necessitam de tratamentos adequados. Esses efluentes causam impactos ambientais (i.e. eutrofização, mortandade de peixes, assoreamento etc.) e sociais, como a propagação de doenças de veiculação hídrica. Custos altos e incompatibilidades dificultam o uso das técnicas clássicas de remoção de matéria orgânica, nitrogênio e fósforo. A fim de solucionar esses problemas técnicos e econômicos, microalgas cultivadas em lagoas de alta taxa pode ser utilizadas para uma remoção de nutrientes que atenda aos requisitos legais (Zhang et al., 2023).

Além do tratamento de esgoto, microalgas são capazes de produzir lipídios neutros (triacilgliceróis) que podem ser convertidos a um biodiesel de qualidade em termos de número de cetano e número de iodo, parâmetros associados ao atraso na queima e estabilidade oxidativa, respectivamente (Wu e Miao, 2014). Entretanto, a baixa sedimentabilidade desses micro-organismos dificulta a colheita da biomassa formada (Dos Santos Neto *et al.*, 2021). O cultivo do consórcio entre microalgas e bactérias é uma possível solução operacional por promover a formação de um agregado que sedimenta até 100 vezes mais rápido e apresenta ganhos na estabilidade e remoção de nutrientes (Sátiro, 2023).

O cultivo de agregados alga-bactéria em lagoas de alta taxa se dá, em sua vasta maioria, sob fluxo contínuo como regime hidrodinâmico. Entretanto, esse tipo de operação pode apresentar baixas produtividades ao atingir a fase estacionária, perdas na biomassa no período noturno e facilidade de contaminação. A operação descontínua, também conhecida como batelada sequencial, opera em sucessivas bateladas a partir de um inóculo de micro-organismo. Esse regime já foi apontado como vantajoso na produção de bioenergia por manter a fase exponencial por mais tempo, o que tende a aumentar a produtividade. Entretanto, são raros os casos na literatura em foi avaliado o desempenho da operação em batelada sequencial na produção de um biodiesel de qualidade, sobretudo para lagoas de alta taxa (Tan *et al.*, 2018).

OBJETIVOS

Este trabalho realizou o cultivo em batelada sequencial de um consórcio algal-bacteriano em lagoa de alta taxa de escala piloto com esgoto doméstico pré-tratado com os objetivos de avaliar: (i) produtividade de biomassa e lipídios; (ii) perfil de ésteres metílicos de ácidos graxos; (iii) desempenho do biodiesel em termos de número de cetano e valor de iodo e (iv) tratamento do efluente utilizado como meio de cultura.

METODOLOGIA UTILIZADA

O sistema operado se localizou na estação de tratamento de esgoto (ETE) Mangueira, em Recife/PE, e se compõe de uma lagoa de alta taxa (LAT) de 8 m² de superfície, 2,4 m³ de volume e lâmina d'água de 30 cm. No dia 0 de operação, a LAT recebeu lodo ativado na concentração de 180 mg.L⁻¹ (Sátiro, 2021) e esgoto pré-tratado por reator UASB. Após isso, a lagoa permaneceu por 20 dias para a estabilização da biomassa e formação do agregado, etapa chamada Fase 1, monitorando-se dados de pH, OD, microscopia e clorofila-a. No dia 20 se iniciou a operação em batelada sequencial com a retirada de 50% do volume da lagoa após 30 minutos de fase de sedimentação. Em seguida, a lagoa recebia 1,2 m³ de esgoto pré-tratado e era retomada a agitação de maneira a completar um período reacional de 2 dias, totalizando um TDH de 4 dias.

Na Fase 2, foram monitorados dados de sólidos, pH e OD ao longo da operação. No dia 42, coletou-se o esgoto pré-tratado afluente, sendo realizadas as análises de nitrogênio amoniacal e fósforo total (APHA; AWWA; WEF, 2012). Na batelada seguinte, o efluente decantado da lagoa também foi analisado e a diferença foi utilizada como expressão do tratamento alcançado. No dia 44, foram realizadas análises lipídicas segundo Bligh e Dyer (1957) a partir da biomassa seca em estufa de circulação de ar a 50 °C e triturada. Para os cálculos de produtividade, segundo a equação 1, foi considerado que houve perda nula de biomassa algal-bacteriana em cada ciclo de batelada e, portanto, o TRS na fase de batelada sequencial foi o tempo de duração da fase 2 (24 dias).

$$\text{Produtividade (g. m}^{-2}\text{.d}^{-1}\text{)} = (\text{SSV. Vol. do reator})/(\text{área superficial. TRS}) \quad (\text{Equação 1})$$

A partir da concentração lipídica encontrada e da produtividade da biomassa, foi calculada a produtividade de lipídios. Os extratos foram esterificados segundo McCurry Technologies (2012) e Halim *et al.* (2011) e analisados em cromatógrafo gasoso a partir de padrões FAMES MERCK®. A etapa de esterificação consistiu na adição de 2 mL de clorofórmio e 2 mL de H₂SO₄ 10% em metanol. Após digestão de 30 minutos a 100 °C, a adição de 1 mL e agitação em vórtex por 2 minutos gerou uma separação de fases na qual a fase inferior, rica em clorofórmio, incluiu

a presença dos lipídios e foi coletada para análise cromatográfica. Foram utilizadas as equações 2 e 3 para os cálculos das frações de cada ácido graxo e, para tanto, estimou-se que após o tempo reacional, adição de 1 mL de água e agitação em vórtex, toda a fase inferior era composta pelo clorofórmio adicionado, isto é, 2 mL.

$$MF = C \text{ (mg L)} \times 2 \text{ (mL)} \times 1/1000 \quad \text{(Equação 2)}$$

$$TFE = (MF/TL) \times 100 \quad \text{(Equação 3)}$$

Onde:

C = Concentração de FAME obtida a partir dos dados cromatográficos;

TFE = Teor de FAME no extrato lipídico;

Por fim, o perfil de FAMES e seus respectivos valores de TFE foram utilizados para o cálculo de número de cetano e valor de iodo segundo a metodologia de Wu e Miao (2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na figura 1, são observados registros fotográficos das etapas de extração lipídica, que foram desde o cultivo na lagoa de alta taxa até a obtenção de um extrato lipídico purificado e pronto para a derivatização.

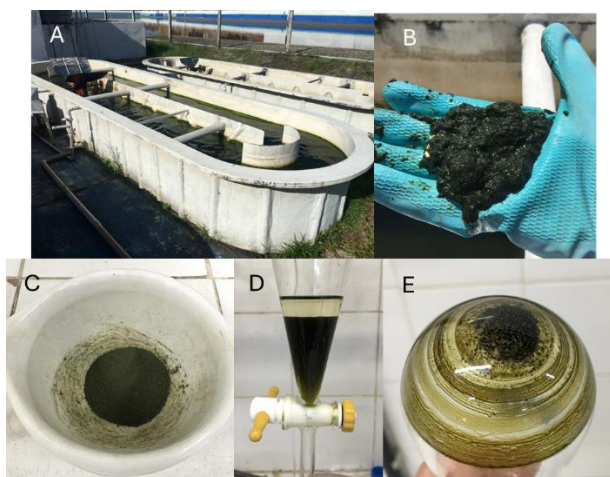


Figura 1: Lagoa de alta taxa operada na presente pesquisa (primeiro plano) (A); Concentrado de biomassa úmida (B) e seca após pulverização (C); Extração em soxhlet (D) e extrato puro livre de solvente (E).

No dia 0 do experimento, a adição do lodo ativado ao esgoto pré-tratado resultou em uma concentração de sólidos de 260 mg.L⁻¹. Após a formação dos agregados, essa concentração decaiu para 150 mg.L⁻¹, provavelmente em função da morte celular e consumo endógeno. Além disso, a microscopia revelou a transição de um perfil de gêneros mistos para a predominância, no dia 44, de 72% do gênero *Scenedesmus* sp., clorofíceas frequentemente estudadas na produção de bioprodutos e energia.

Ao final da operação em batelada sequencial, após 22 dias, a lagoa apresentou SSV de 650 mg.L⁻¹, valor mais de 2 vezes maior que o encontrado em estudos prévios utilizando o mesmo sistema da presente pesquisa (Sátiro, 2021). A produtividade de SSV encontrada, portanto, atingiu 6,8 g.m⁻².d⁻¹ (68 kg.ha⁻¹.d⁻¹). A concentração lipídica encontrada, por sua vez, girou em torno de 10,0 %, enquanto a produtividade lipídica ficou em 0,68 g.m⁻².d⁻¹ (6,8 kg.ha⁻¹.d⁻¹). Como é possível observar na figura 2, os resultados de produtividade apresentaram vantagem frente a outros trabalhos com e sem adição de lodo ativado para induzir a formação de agregados alga-bactéria e em regime contínuo.

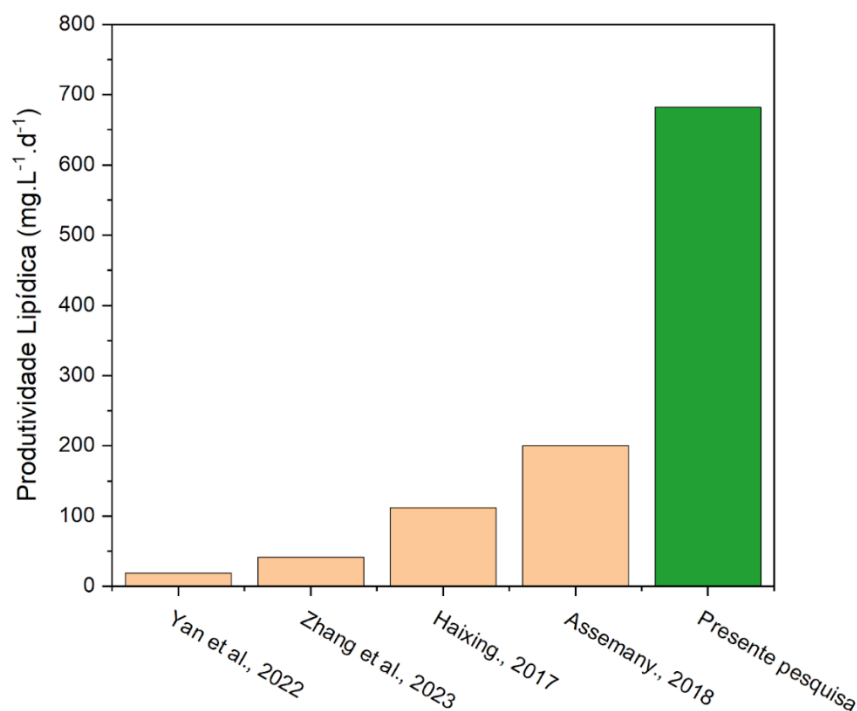


Figura 2: Produtividade Lipídica encontrada frente à pesquisas antecessoras envolvendo fotobiorreatores com microalgas puras ou consórcios bacterianos.

A análise cromatográfica, por sua vez, evidenciou a presença majoritária de ácidos estereato (C18:0) e palmitato (C16:0), indicativo de um biodiesel de qualidade, como demonstrado na tabela 1 (Mehrabadi; Craggs; Farid, 2016).

Cadeia do Metil Éster	Assemany <i>et al.</i> , 2015	Chang <i>et al.</i> , 2017	Zhang <i>et al.</i> , 2023	Presente pesquisa
C12:0	0,8	-	-	-
C14:0	2,7	-	-	1,6
C16:0	30,9	32,13	42,93	33,9
C16:1	10,5	13,34	2,36	6,2
C16:2	13,7	11,42	-	-
C18:0	0,8	2,82	3,98	41,4
C18:1n9	18,5	23,35	30,76	8,8
C18:2n6	8,5	5,98	7,11	5,2
C18:3n3	13,6	7,35	9,87	2,9
C20:0	-	-	2,46	-

Tabela 1: Comparação entre os resultados do presente estudo e outras pesquisas no que tange ao teor de ácidos graxos específicos no extrato bruto proveniente da biomassa.

O perfil de ácidos graxos permitiu o cálculo do número de cetano do biodiesel produzido, que atingiu o valor de 63. Esse resultado superou com folga os mínimos de 42 e 48 para o diesel S500 e S10, respectivamente, estabelecidos pela resolução 968 de 30 de abril de 2024, da Agência Nacional de Petróleo e Biocombustíveis (ANP) (BRASIL, 2024). Mesmo a norma EN 590:2009 para o biodiesel premium da União Europeia (mín. 60) foi satisfeita (CEN, 2009). Além disso, o valor de iodo ficou em 10 gI₂.100g, valor mais de 10 vezes inferior ao máximo permitido segundo a ANP (120 gI₂.100g). Fica claro o potencial bioenergético da operação em batelada sequencial aplicada ao cultivo de agregados alga-bactéria em lagoas de alta taxa. LATs se caracterizam por reatores de baixo custo e a otimização da produção de biomassa e subprodutos é essencial para a viabilização da refinaria algal.

No presente caso, poderia se arquitetar um cenário em que o excedente de biomassa produzido na fase 2, em torno de 500 mg.L⁻¹, seria colhido, permanecendo a mesma quantidade de agregados iniciais (150 mg.L⁻¹). Isso, em tese, permitiria a retirada da biomassa em um sedimentador mantendo a continuidade do sistema com resultados semelhantes. A avaliação da repetição do ciclo observado neste estudo deve ser o passo subsequente para a

consolidação das informações obtidas. Em seguida, a busca por técnicas de extração e transesterificação baratas e sustentáveis são, sem dúvidas, as etapas necessárias à biorrefinaria algal.

Por último, a remoção de fósforo e nitrogênio são importantes fatores de barateamento da produção e, portanto, devem ser analisados. A remoção de nitrogênio amoniacal do dia 44 ficou em torno de 90%, reduzindo a concentração de 25 mg.L^{-1} para $2,5 \text{ mg.L}^{-1}$, o que se encontra no nível de tratamentos em regime contínuo (Sátiro, 2021). Já a remoção de fósforo ocorreu em 30%, variando de 5 para $3,5 \text{ mg.L}^{-1}$. Visto que, no período, o pH da lagoa atingiu 9,5 (dados não mostrados), era de se esperar uma remoção mais significativa em razão da precipitação química. É provável que baixas quantidades de cátions e gêneros algais pouco consumidores de fósforo tornaram a remoção deficiente.

CONCLUSÕES E RECOMENDAÇÕES

É possível concluir que a operação em batelada sequencial foi capaz de induzir a uma satisfatória produtividade de biomassa algal-bacteriana de $6,8 \text{ g.m}^{-2}.\text{d}^{-1}$ em uma lagoa de alta taxa de escala piloto. Apesar da concentração lipídica não ter atingido patamares elevados em razão da participação bacteriana, a produção lipídica ao final do experimento foi alavancada pela produção de biomassa e superou valores encontrados na literatura para casos em regime contínuo sob condições muito menos adversas que a operação em sistemas abertos. Além disso, o perfil de ácidos graxos extraídos permitiu a formação de um biodiesel de alta qualidade, com número de cetano e valor de iodo que superaram as normas mais elevadas do Brasil e União Européia. Apesar da baixa assimilação de fósforo, nutriente cuja remoção exige mais aprofundamento a nível de gêneros algais, a remoção de nitrogênio amoniacal acima de 90% se conecta perfeitamente com o conceito de redução de custos necessários à valorização da biomassa algal. A operação descontínua pode, portanto, ser uma ferramenta crucial na expansão da tecnologia de produção de energia e tratamento de efluentes com microalgas em lagoas de alta taxa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APHA; AWWA; WEF (org.). **Standard methods for the examination of water and wastewater**. 22. ed. Washington (D.C.): American public health association, 2012.
- ASSEMANY, P. P. *et al.* Energy recovery in high rate algal pond used for domestic wastewater treatment. **Water Science and Technology**, [s. l.], v. 78, n. 1, p. 12–19, 2018.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A RAPID METHOD OF TOTAL LIPID EXTRACTION AND PURIFICATION. **Journal of Biological Chemistry**, [s. l.], v. 226, n. 1, p. 497–509, 1957.
- BRASIL. Resolução ANP nº 968, de 30 de abril de 2024. Estabelece as especificações dos óleos diesel destinados a veículos ou equipamentos dotados de motores do ciclo Diesel e as obrigações quanto ao controle da qualidade a serem atendidas **pelos agentes econômicos que comercializam o produto em território nacional**. Diário Oficial da União, seção 1, p. 82. Brasília, DF, 2 mai. 2024.
- DOS SANTOS NETO, A. G. *et al.* Strategy for the formation of microalgae-bacteria aggregates in high-rate algal ponds. **Environmental Technology**, [s. l.], v. 44, n. 12, p. 1863–1876, 2021.
- CEN. **EN 590:2009 – automotive fuels – diesel – requirements and test methods**, BS Organisation; 2009.
- CHANG, H. *et al.* Improvement of microalgae lipid productivity and quality in an ion-exchange-membrane photobioreactor using real municipal wastewater. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, [s. l.], v. 10, n. 1, p. 97–106, 2017.
- HALIM, R. *et al.* Oil extraction from microalgae for biodiesel production. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 102, n. 1, p. 178–185, 2011.
- MCCURRY, J. D.; TECHNOLOGIES, A. **GC Analysis of Total Fatty Acid Methyl Esters (FAME) and Methyl Linolenate in Biodiesel Using the Revised EN14103:2011 Method** Author. [S. l.: s. n.], 2012.
- MEHRABADI, A.; CRAGGS, R.; FARID, M. M. Biodiesel production potential of wastewater treatment high rate algal pond biomass. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 221, p. 222–233, 2016.

SÁTIRO, J. R. **Fatores que influenciam a biofloculação de microalgas em lagoas de alta taxa com esgotos sanitários**. 2021. 124 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2021.

TAN, X. B. *et al.* Cultivation of microalgae for biodiesel production: A review on upstream and downstream processing. **Chinese Journal of Chemical Engineering**, [s. l.], v. 26, n. 1, p. 17–30, 2018.

WU, H.; MIAO, X. Biodiesel quality and biochemical changes of microalgae *Chlorella pyrenoidosa* and *Scenedesmus obliquus* in response to nitrate levels. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 170, p. 421–427, 2014.

YAN, H. *et al.* Development of microalgae-bacteria symbiosis system for enhanced treatment of biogas slurry. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 354, p. 127187, 2022.

ZHANG, Lijie *et al.* Responses of *Chlorella vulgaris* to the native bacteria in real wastewater: Improvement in wastewater treatment and lipid production. **Environmental Pollution**, [s. l.], v. 339, p. 122737, 2023.