



II-376 - PRODUÇÃO DE MICROALGAS A PARTIR DE EFLUENTE URBANO/INDUSTRIAL: REMEDIAÇÃO AMBIENTAL E OBTENÇÃO DE BIOENERGIA NO VALE DO RIO PARDO RS

Pablo Diego Gressler ⁽¹⁾

Biólogo pela Universidade de Santa Cruz do Sul, Especializando em Biocombustíveis e Mestrando em Tecnologia Ambiental pela Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC – RS - Brasil

Marcia Stracke Alves

Bióloga pela Universidade Luterana do Brasil e Especializanda em Biocombustíveis pela Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC – RS – Brasil.

Rosana de Cássia de Souza Schneider

Doutora em Química – Área de concentração Química Ambiental pela Universidade Federal de Rio Grande do Sul. Professora do Departamento Química e Física da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC

Eduardo Lobo Alcayaga

Doutor em Ciências Aquáticas pela Universidade de Pesquerias de Tóquio, Japão; Pós-Doutorado em Contaminação Aquática no Instituto Nacional de Recursos Ambientais, Japão. Professor do Departamento de Biologia e Farmácia da Universidade de Santa Cruz do Sul – UNISC

Endereço⁽¹⁾: Av. Independência, 2293 Bairro Universitário, Santa Cruz do Sul- Rio Grande do Sul – CEP 96815-900 – Brasil - Tel: +55 (51) 3717-7739 - Fax: +55 (51) 3717-7545 - e-mail: pablo.3105@yahoo.com.br

RESUMO

É crescente a aplicação de algas, entre estas *Scenedesmus sp.*, no contexto da fitorremediação. Foram obtidas curvas de crescimento, de *Scenedesmus subspicatus* Chodat (Chlorophyceae), em cultivo estacionário, em meio Chu₁₂ (padrão) e em efluente da ETE-UNISC. O experimento em escala laboratorial foi conduzido em fotobiorreator estacionário, sob iluminância de 2800 lux, fornecida por lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (Osram, 20W), com injeção de ar (filtrado) proveniente de bombas diafragmáticas. Não foi acrescido CO₂ suplementar. Os cultivos tiveram duração de 14 dias, iniciados com 1,0 x 10⁶ células/ml de *S. subspicatus*, mantidos em sala climatizada em 25°C ± 2, com fotoperíodo de 24h. A extração do óleo da biomassa liofilizada foi realizada com solvente a base de clorofórmio, metanol e água. O óleo obtido foi derivatizado para análise de Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas em equipamento Shimadzu QP 2010 Plus. Em experimento piloto, com 1,0L de cultura de *S. subspicatus* sob 10 dias de cultivo, sob idênticas condições de cultivo foi obtida a biomassa liofilizada de 1,020g, resultando em 142mg de óleo. O cultivo de *S. subspicatus* no efluente testado apresenta uma tendência favorável ao desenvolvimento, condizente com o escopo de fitorremediação e concomitante obtenção de biomassa para fins de bioenergia.

PALAVRAS-CHAVE: Bioenergia, *Scenedesmus subspicatus*, cromatografia, efluente, fitorremediação.

INTRODUÇÃO

O crescente interesse no estudo de microrganismos como microalgas, alguns fungos e bactérias deve-se à essencial importância destes nas diversas cadeias tróficas e na possibilidade de aplicação comercial em distintas áreas como na nutrição, na saúde humana e animal, na produção de energia (biodiesel e bioetanol) e na obtenção de compostos de interesse das indústrias alimentar, química e farmacêutica, dentre outras (Derner, 2006).

Recentemente, alguns cultivos têm sido desenvolvidos em equipamento específico, denominado fotobiorreator, visando a alcançar elevada produtividade. Os cultivos são realizados em sistema fechado, tipo prismático, ou serpentinas (tubos, espirais) ou ainda cilindros, construídos com tubos de acrílico ou vidro. Nos fotobiorreatores, é possível controlar as condições de cultivo (quantidade dos nutrientes, temperatura, iluminação, pH etc.). Isto implica uma elevada produtividade, viabilizando a produção comercial de uma série de compostos de elevado valor (Derner, 2006).

As possibilidades de aplicação das microalgas, no tratamento de águas residuais são fundamentalmente três: remoção de nutrientes, desinfecção e remoção de metais pesados. A eficiência da remoção de azoto e fósforo por algas como *Scenedesmus sp.* no tratamento de águas residuais, indica potencial para redução da poluição



ambiental em águas agroindustriais severamente contaminadas. Ressalta-se ainda que a utilização de microalgas que se desenvolvem naturalmente em águas residuais, adaptadas às respectivas variações de temperatura e composição iônica, deve resultar numa maior eficiência de remoção de nutrientes, em relação à utilização de espécies comerciais. Contudo, são poucos os estudos que utilizam microalgas obtidas dessa forma (Monteiro, 2004).

Em estudo sobre a performance de *Chlorella vulgaris* na remoção de fósforo e nitrogênio de efluente, em laboratório, Aslan e Kapdan (2006), sob iluminação artificial constataram a remoção média de 21.2mg/L^{-1} do nitrogênio amoniacal, sobretudo menor tolerância da espécie para $\text{PO}_4\text{-P}$. A cultura removeu em média 7.7mg/L^{-1} da concentração inicial de $\text{PO}_4\text{-P}$, totalizando 78% de eficiência. Sevgi et al, trabalharam com a remoção de corantes de indústria têxtil e utilização *Phormidium sp.* imobilizada com suporte a base de alginato de cálcio, os resultados obtidos variaram de 50 a 88% de remoção do corante em todas as concentrações testadas.

Em 1995 Kaya et al, estudaram a imobilização de *Scenedesmus bicellularis* utilizando quitosana para remoção de corantes. O ponto ótimo para a remoção dos corantes foi obtido com as células imobilizadas em pH de 8.5, independente do corante testado. Além disso, a imobilização proporcionou maior eficiência, uma vez que os rendimentos das cepas livres foram significativamente menores quando comparados com a cepa imobilizada em alginato de cálcio.

Hodaifa et al, investigaram o uso de efluente industrial, a água de enxágüe industrial proveniente da centrifugação do óleo de oliva, para a produção de biomassa de *Scenedesmus obliquus*. Constataram que a maior síntese protéica durante a fase exponencial de crescimento foi de 3.7 mg/g h para 50% de água de enxágüe. A biomassa de lipídios, segundo os autores, foi dependente da porcentagem de água residual utilizada como meio nutritivo, alcançando os maiores teores de ácidos graxos mono-insaturados, poli-insaturados e ácidos graxos essenciais em 100% de água de enxágüe como meio de cultivo.

Grönlund et al. estudaram a sustentabilidade do tratamento de águas residuais por microalgas em clima frio, em uma pequena cidade da Suécia, com 10 000 habitantes, a latitude de 60°N , avaliando-a com princípios emergentes e sócio-ecológicos. O estudo comparou o uso das microalgas com os métodos convencionais mecânicos e químicos complementados com uma wetland. Do ponto de vista de sustentabilidade testado, o tratamento de efluentes com microalgas obteve uma melhor colocação para um processo sustentável, em comparação aos demais testados quando avaliados com os princípios sócio-ecológicos.

A região do Vale do Rio Pardo detém um alto nível de industrialização pela presença de indústrias de Tabaco. O uso de uma alternativa de fitorremediação de efluentes é uma resposta à necessidade de descarte de um efluente menos impactante na Bacia Hidrográfica do Rio Pardo, uma vez que, os problemas com recursos hídricos regionais estão relacionadas com a excessiva eutrofização, agravada pelo descarte de efluentes com alto nível de nitrogênio e fósforo.

O objetivo deste trabalho é realizar os estudos preliminares sobre a potencialidade de desenvolvimento da microalga *Scenedesmus subspicatus* (Chodat) no efluente da Estação de Tratamento de Efluentes da UNISC (ETE-UNISC), visando empregar a biomassa resultante na produção de ésteres (biodiesel). Desta forma, esta pesquisa poderá ser uma etapa para a construção de um modelo economicamente viável de fitorremediação, integrada a um processo gerador de bioenergia para pequenas estações de tratamento no Vale do Rio Pardo-RS.

PARTE EXPERIMENTAL

Amostragem

Neste trabalho realizou-se o desenvolvimento, mediante curvas de crescimento de *Scenedesmus subspicatus* em meio Chu₁₂ (padrão) e efluente advindo da Estação de Tratamento de Efluentes da Universidade de Santa Cruz do Sul.



Preparação do efluente

O volume amostral de efluente da Estação de Tratamento de Efluentes da Universidade de Santa Cruz do Sul foi previamente esterilizado com ozonizador por 20 minutos. Em seguida foi filtrado em papel filtro. O pH foi ajustado para 7,0 e em seguida o volume foi distribuído nas unidades experimentais e autoclavado.

Cultivo

Os cultivos foram mantidos em dois meios nutrientes, com diferentes concentrações especialmente de nitrogênio e fósforo, para comparação das médias referentes à produção de biomassa e o potencial oleaginoso das cepas. O experimento, em escala laboratorial foi conduzido em fotobiorreator estacionário (fechado), sob iluminância de 2800 lux, fornecida por lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (Osram, 20W), com injeção de ar (filtrado) a 1600 cm³/min, proveniente de bombas de ar diafragmáticas. Não foi acrescido CO₂ suplementar além do naturalmente encontrado no ambiente de cultivo e injetado pela bomba (aproximadamente 500 ppm). Os cultivos tiveram duração de 14 dias, iniciados com densidade celular de $1,0 \times 10^6$ células/ml de *S. subspicatus*. O aparato experimental foi mantido em sala climatizada em $25^\circ\text{C} \pm 2$, com fotoperíodo de 24h conforme Figura 1.

Extração de óleo

A extração do óleo da biomassa liofilizada foi realizada com solvente contendo uma mistura de clorofórmio/metanol e água. O óleo obtido utilizado para a produção de ésteres foi derivatizado com BF₃/metanol para posterior análise cromatográfica.

Análise cromatográfica

O conteúdo lipídico das células foi extraído e analisado por Cromatografia Gasosa Acoplada a Espectrometria de Massas com método AOCS (Ce 1c-89), modificado por (AOCS, 2008). Para as análises foi utilizado um equipamento Shimadzu QP 2010 Plus equipado com Injetor Automático AOC 20i. Os padrões de referência de ésteres metílicos de ácidos graxos, bem como das amostras de ésteres do óleo extraído de microalga as condições da coluna de DB5 MS 30m x 0,25 mm x 0,25 µm iniciaram em 150°C (0,1min) aquecendo até 250°C (3°C/min), continuando o aquecimento a 30°C/min até 300°C; no detector de massas a temperatura da fonte de ionização e a temperatura de interface em 280°C e split de 1:5, utilizando o modo SCAN, foi injetada em triplicata uma alíquota de 1 µL da mistura de padrões e da amostra para identificação dos ésteres metílicos presentes.



Figura 1 – Sistema de bancada para fotobiorreator estacionário.

Resultados e Discussão

Em experimento teste, com 1,0L (em três repetições) de cultura de *S. subspicatus*, em 10 dias de cultivo, conforme a Figura 2, com ausência de CO₂ suplementar (apenas a concentração aproximadamente de 0,03mg/L, proveniente do ar atmosférico enviado pela bomba diafragmática), foi obtida a biomassa liofilizada de 1,020g. Isto proporcionou 142mg de óleo de microalga.

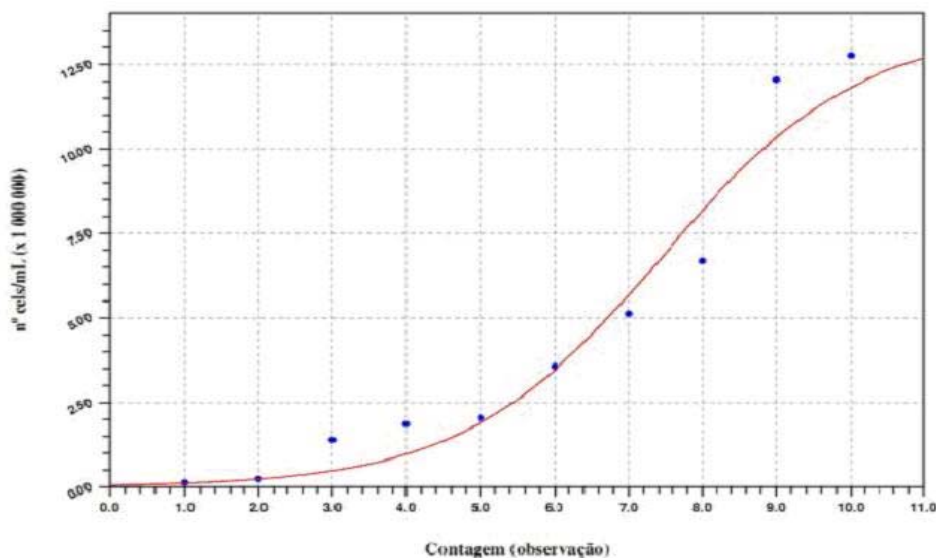


Figura 2 – Curva de crescimento (logístico) para *S. subspicatus* em 10 dias de cultivo (10 observações/contagens em triplicata por Câmara de Neubauer)

Observa-se que o cultivo desta microalga no efluente testado apresenta uma tendência favorável ao desenvolvimento, a partir da comparação das curvas de crescimento apresentadas na Figura 3. É esperado maior crescimento no meio Chu₁₂, pois este possui o equilíbrio iônico de nutrientes necessários ao desenvolvimento dos indivíduos, em contraste com o meio efluente.

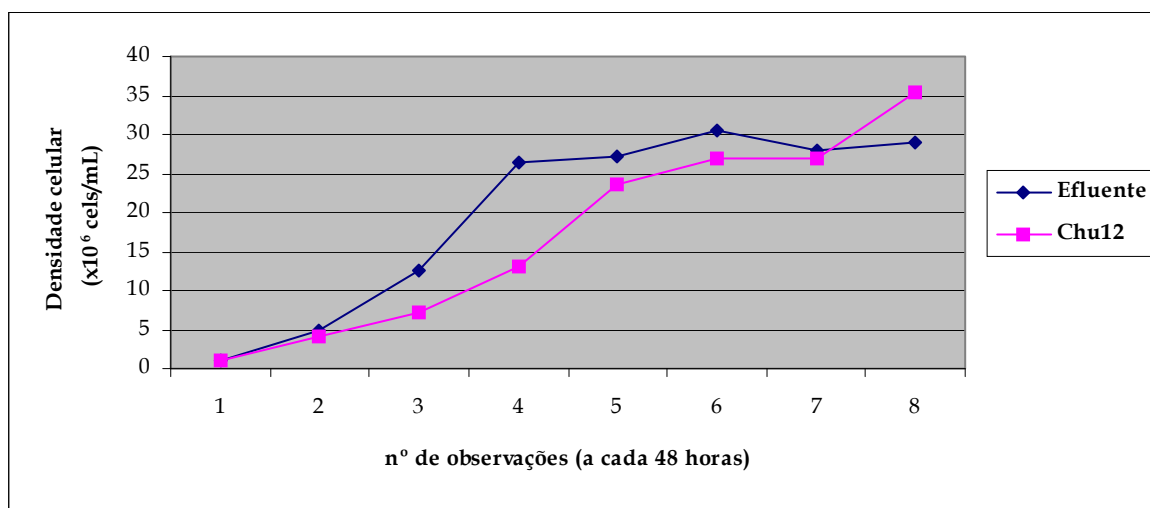


Figura 3 – Comparação das curvas de crescimento de *S. subspicatus* cultivada em meio Chu₁₂ e efluente (ETE – UNISC)

Contudo, a visualização das curvas inspira hipóteses condizentes com o escopo do trabalho, no caso a viabilidade de desenvolvimento de *S. subspicatus* em efluente urbano, com produção de biomassa e fitorremediação. Enfatiza-se que o experimento está em curso, o que justifica a ausência do tratamento estatístico das variâncias amostrais.



Dalla Colletta trabalhando na mesma ETE em 2008 constatou uma elevada concentração de Nitrogênio amoniacal, com um valor máximo de 68mg/L^{-1} e Fósforo total de até $8,2\text{mg/L}^{-1}$. Embora não esteja clara a proporção entre NH_3 , que é tóxico para os indivíduos e NH_4 , que constitui uma das duas principais formas de assimilação do nitrogênio por organismos fotossintetizantes.

No presente trabalho também será feita a caracterização físico-química do efluente testado para análise das quantidades de nutrientes como Nitrogênio amoniacal, nitratos e Fósforo para uma compreensão mais objetiva das variáveis determinantes do crescimento celular em questão. Contudo o crescimento de *S. subspicatus*, aparentemente, está sendo favorecido por estas concentrações de nutrientes no efluente conforme visualizado na Figura 3.

Para avaliar a composição do óleo e iniciar os estudos de viabilidade de produção de biodiesel a partir do óleo de *S. subspicatus* foi realizada a reação de transesterificação. O produto da transesterificação está apresentado na figura 4.



Figura 4 – Amostra do éster metílico de ácido graxo de *S. subspicatus*

Os cromatogramas das amostras de óleo extraído das microalgas transesterificados apresentaram o perfil cromatográfico da Figura 5. Observa-se a presença dos mesmos ácidos graxos observados em outros óleos extraídos de plantas oleaginosas. A diferença destes óleos para o óleo extraído da microalga em estudo está na proporção de cada ácido graxo presente nos triacilgliceróis. Destaca-se que no óleo extraído das microalgas *S. subspicatus* apresentaram um maior percentual de ácido linoléico, o que é um aspecto importante para o seu destino como biocombustível ou para outras finalidades. A presença de ácido linoléico em maior quantidade no óleo, comparado aos outros ácidos graxos presentes, pode ser determinante para a utilização deste óleo como biodiesel. Por outro lado, há uma quantidade maior de ácido palmítico, que é saturado.

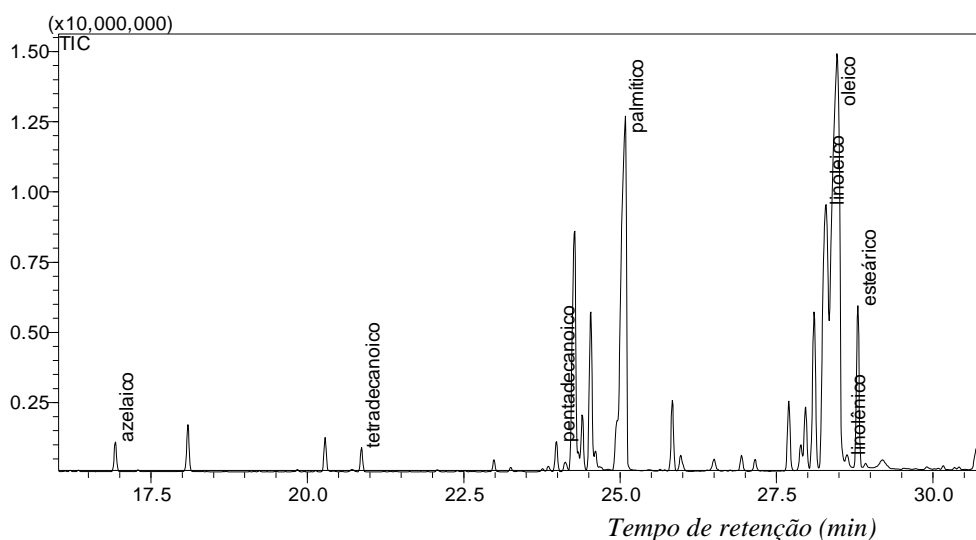


Figura 5 –Cromatograma íon total dos ésteres metílicos do óleo de *S. subspicatus*.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Conforme resultados obtidos até o momento, o óleo obtido apresenta-se adequado à produção de biodiesel com relação ao perfil de ácidos graxos encontrados. No que tange ao crescimento, mais estudos são necessários no sentido de melhorar as condições físicas de cultivo, quais sejam, a possibilidade de um fotobiorreator com alimentação semicontínua de efluente para suprir as necessidades nutricionais especialmente de nitrogênio e fósforo, com otimização do uso de energia luminosa (artificial ou solar) e aporte de CO₂ suplementar, por exemplo. Sobretudo a biologia da espécie e a facilidade de cultivo, aliadas à disponibilidade de nutrientes provenientes dos efluentes, permitem a formulação e o teste de hipóteses no sentido de minimizar o impacto destes nos corpos d'água de uma forma ambientalmente mais correta.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. APHA/AWWA - American Public Health Association. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20ed. Baltimore, APHA, 1998.
2. Dalla Colletta, Vanessa. Avaliação ecotoxicológica da eficiência da detoxificação do efluente tratado pela Estação de Tratamento de Esgoto da Universidade de Santa Cruz do Sul, RS, Brasil. Dissertação de Mestrado. Santa Cruz do Sul, fevereiro de 2008.100p.
3. Derner, R. B. et al. Microalgas: produtos e aplicações. Ciência Rural, 36, 6, 1959-1967, 2006.
4. Grönlund Erik; Klang, Anders; Falk, Stefan; Hanæusb Jörgen. Sustainability of wastewater treatment with microalgae in cold climate, evaluated with emergy and socio-ecological principles. Ecological Engineering 22 (2004) 155–174.
5. Hodaifa, Gassan; Martinez, M. Eugenia; Sánchez, S. Use of industrial wastewater from olive-oil extraction for biomass production of *Scenedesmus obliquus*. Bioresource Technology 99(2008) 1111-1117
6. Holmberg, J., Robèrt, K.-H., Eriksson, K.-E., 1996. Socioecological principles for a sustainable society. In: Costanza, R., Olan, S., Martinez-Alier, J. (Eds.). Getting Down to earth. Practical Applications of Ecological Economics. International Society of Ecological Economics, Island Press, Washington, DC.
7. Kaya, Valentino M.; Picard, Gaston; Stability of chitosan gel as entrapment matrix of viable *Scenedesmus bicellularis* cells immobilized on screens for tertiary treatment of wastewater. Bioresource Technology 56 (1996) 147-155.
8. Monteiro, Álvaro Boaventura, Rui Dinis, Maria Alzira. Tratamento de águas residuais: o papel das microalgas. Edições Universidade Fernando Pessoa: Revista da Faculdade de Ciência e Tecnologia. Porto. ISSN 1646-0499. 1 (2004) 41-54.
9. Official methods and recommended practices of the AOCS –2005-2006 and additions and revisions, 2008.
10. Sevgi Ertug˘ rul, Melike Bakır, Go˘ nu˘ l Do˘ nmez. Treatment of dye-rich wastewater by an immobilized thermophilic cyanobacterial strain: *Phormidium* sp. ecological engineering 3 2 (2008) 244–248.