

## II-073 - VIABILIDADE DE REDUÇÃO DE IMPACTOS AMBIENTAIS COM A REUTILIZAÇÃO DO PERMEADO DA SEPARAÇÃO DE MICROALGAS POR MEMBRANAS PARA DESENVOLVIMENTO DE NOVOS CULTIVOS

**Maniza Sofia Monteiro Fernandes<sup>(1)</sup>**

Graduada em Engenharia Sanitária Ambiental pela Universidade Estadual da Paraíba(UEPB), doutoranda em Engenharia Química pela Universidade Federal de Campina Grande

**Tereziana Silva da Costa**

Química Industrial pela Universidade Estadual da Paraíba (UEPB). Mestre em Engenharia Química pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).

**Rodrigo Vieira Alves**

Graduado em Química Industrial pela UEPB, Mestre em Engenharia Química pela UFCG, Doutorando em Engenharia Química pela UFCG.

**Cristiano Quintino Furtado**

Graduado em Tecnologia dos alimentos pela Fatec- Cariri, mestrando em Engenharia Química pela Universidade Federal de Campina Grande (UFCG).Atualmente professor do IFAL Campus Piranhas.

**Kepler Borges França**

Engenheiro Químico pela UFPB, Doutor pela University of Kent at Canterbury Atualmente é professor associado ao Departamento de Engenharia Química da Universidade Federal de Campina Grande.

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Rua Antônio José Santiago,115 - Brasil -- e-mail: [maniza-f@hotmail.com](mailto:maniza-f@hotmail.com)

### RESUMO

Com o crescimento e interesse no estudo de microrganismos como microalgas, alguns fungos e bactérias deve-se à essencial importância destes nas diversas cadeias tróficas e na possibilidade da aplicação comercial em distintas áreas como na nutrição, na saúde humana e animal, no tratamento de águas residuais, na produção de energia e na obtenção de compostos de indústrias alimentar, química e farmacêutica. Porém até chegar nessa grande escala de aplicação há uma inconveniência na separação da microalga, havendo uma necessidade de preservar sua biomassa, bem como as características celulares. Dentro dos diversos métodos de separação de microalgas os mais utilizados são: centrifugação, filtração, floculação, e em determinados casos, onde as dimensões são bastante pequenas, utiliza-se a separação por meio da adição de coagulante, que em sua maioria, são constituídos por sais metálicos que pode prejudicar na composição química da célula e impede o uso de meio após a separação. A escolha do método de separação depende das propriedades das microalgas, tais como densidade, tamanho e o valor do produto desejado. Portanto tem a necessidade de procurar novas técnicas de separação de microalgas que não modifique as características; os processos de separação por membranas têm como vantagem não romper a estrutura celular e permitem uma maior separação dependendo da porosidade da mesma, além do mais, o permeado oriundo da separação pode ser reaproveitado como meio de cultivo das microalgas. Na separação por microalgas sempre vai haver duas correntes uma que vai ser de interesse do pesquisador outra que muitas vezes é descartado no solo contribuindo para isso impacto ambiental do mesmo. Com o reuso do permeado haverá uma diminuição de custo bem significativo na separação de microalgas favorecendo assim uma biomassa com as características químicas e físicas que poderá aproveitar todo o potencial químico da célula em termos de proteínas, pigmentos, ácidos graxos saturados e insaturados entre outros componentes.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microalgas, separação por membranas, reuso.

### INTRODUÇÃO

Ao separar as microalgas por membranas se não for reaproveitada tanto o permeado como o concentrado o descarte dos mesmos no meio faz com que o solo seja contaminado por vários produtos, visto que na maioria das vezes não há um aproveitamento na sua totalidade.

Segundo TSIOURTIS (2001), a forma de minimizar as preocupações relacionadas ao meio ambiente devido à geração de resíduos líquidos através dos processos de separação por membranas devem ser levados em conta

três fatores importantes: a escolha do local para a instalação da central de dessalinização, o consumo de energia e a eliminação do que é rejeitado.

Portanto, além das preocupações quanto ao lançamento de efluentes domésticos, industriais e de resíduos de atividades agrícolas interferindo na qualidade do ambiente deve-se dar importância a qualquer tipo de descarte de modo a não causar impactos negativos ao meio.

Conforme CETESB (2001), contaminação é a introdução no meio ambiente de organismos patogênicos, substâncias tóxicas ou outros elementos, em concentrações que possam afetar a saúde humana; sendo considerado um tipo particular de poluição.

No momento em que um contaminante ou poluente atinge a superfície do solo, ele pode ser adsorvido atuando como um tanque ou depósito, acumulando estes poluentes, pode ser arrastado pelo vento ou pelas águas do escoamento superficial, ou lixiviado pelas águas de infiltração, passando para as camadas inferiores e atingindo as águas subterrâneas até ser carregadas por outras regiões, através do fluxo dessas águas.

Dentro dos compostos contaminantes de água subterrâneas, o nitrato vem destacando uma vez é mais encontrada em águas subterrâneas, uma vez que entre os íons lixiviados, esses não são adsorvidos pelos componentes das frações do solo, razão pela qual se deslocam facilmente na solução do solo, podendo ser absorvidos pelas raízes e transferidos às folhas, onde se acumulam pela transpiração, ou serem lixiviados aos mananciais subterrâneos (PHILLIPS & BURTON, 2005, CORREA et al., 2006).

Normalmente são encontradas em baixos teores nas águas superficiais, mas pode atingir altas concentrações em águas profundas, o seu consumo por meio de águas de abastecimento está associadas à indução de metemoglobinemia, especialmente em crianças e formação de potencial de nitrosaminas e nitrosamidas carcinogênicas. Devido à alta mobilidade do nitrato esse parâmetro é utilizado como indicador de contaminação das águas subterrâneas. Ele é formado a partir de processos tanto microbiológicos e químicos que podem ocorrer no ar, solo, água e vegetação. A matéria orgânica presente no solo é rapidamente quebrada em compostos simples por bactérias saprófitas do solo e vários tipos de fungos.

O nitrogênio por sua vez, é incorporado em aminoácidos e proteínas utilizados por esses microrganismos, sendo o excesso liberado sob a forma de íons amônio ( $\text{NH}_4^+$ ) ou amônia ( $\text{NH}_3$ ), este processo é denominado amonificação. O amônio não adsorvido é convertido a nitrito ( $\text{NO}_2^-$ ) e posteriormente oxidado a nitrato ( $\text{NO}_3^-$ ), este processo é conhecido por nitrificação (BARBOSA, 2005).

Este estudo objetiva efetuar o reuso de resíduos líquidos proveniente de membranas cerâmicas da microalga *Chlorella* sp, visando viabilizar a reutilização do permeado para novos cultivos de microalgas minimizando os impactos ambientais provenientes do lançamento dos resíduos líquidos oriundos da separação de biomassa no solo.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A cepa utilizada foi *Chlorella* sp proveniente do laboratório de biotecnologia Alimentar da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), mantida no cepário localizado no Labdes (Laboratório de Referência em Dessalinização). Para o cultivo das microalgas foi utilizado o BBM – Bold's Basal Medium (BOROWITZKA, 1988), homogeneizados por aeração mantidos sob iluminação artificial através de lâmpadas fluorescentes de 40W com fotoperíodo de 12 horas.

Após repiques dessas foram desenvolvidos os cultivos em fotobiorreatores de 50 L com uma população inicial de  $10^5 \text{ cel.mL}^{-1}$  da microalga em estudo até atingir a fase estacionária que correspondia a uma população de  $10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$ . Esse monitoramento foi feito através de contagem com o auxílio de uma câmara de Neubauer, após atingirem a população desejada, realizava-se a separação das microalgas pelo processo de membrana Cerâmica onde foi utilizada uma membrana de  $\text{AlSiO}_4$  (alumina) de 30 cm e de diâmetro de 1,1 cm com um fluxo de  $60 \text{ L/m}^2 \cdot \text{h}$  e porosidade de  $10^{-6} \text{ m}$  produzida no Laboratório de Cerâmica- LabCEM localizado no LABDES.

O processo de separação foi realizado com uma bomba de grafite (marca PROCON) com motor de 1/2Hp, o sistema foi regulado a um gradiente de pressão constante de 2 Kgf/cm<sup>2</sup>. O meio de cultivo foi separado gerando duas correntes, a do permeado contendo os nutrientes do meio de cultura e os metabolitos das microalgas e o concentrado que apresentava a biomassa

Foi estudado em várias proporções para a reutilização do permeado, após a suplementação esperava-se o crescimento celular até atingir a fase estacionária, avaliando em seguida o rendimento da biomassa e a clorofila "a" com intuito de viabilizar esse estudo.

Os métodos analíticos utilizados na pesquisa seguiram as recomendações do *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater* (APHA, AWWA, WPCF, 1999).

## RESULTADOS

O parâmetro analisado foi à densidade celular com intuito de estudar o crescimento celular comparando um meio com 100% de BBM com um meio contendo 250 mL, 500 mL e 750 mL do permeado do processo de separação para completar 1000 mL do inóculo.

O Quadro 1 apresenta os resultados da análise físico-química do permeado proveniente da separação por membrana cerâmica que foi inoculado para estudar o crescimento celular nos erlenmeyers, verifica-se que na sua composição substâncias essenciais para o cultivo de microalgas tais como NH<sub>3</sub>, Na<sup>+</sup>, NO<sub>2</sub><sup>-</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup>, Cl<sup>-</sup> e PO<sub>4</sub>, mostrando a potencialidade de suplementação no meio de cultivo das microalgas apesar de ocorrer um aumento na concentração de alguns componentes químicos provavelmente devido as reações metabólicas ocorridas durante o cultivo.

Através da composição do permeado percebe-se que devido ao excesso de macronutrientes em especial o nitrogênio, o lançamento desse resíduo líquido de forma inadequada pode acarretar sérios impactos ao solo e/ou aos corpos aquáticos. Outra vantagem no reuso do permeado é uma redução nos custos com o cultivo das microalgas.

**Quadro 1: Resultados da análise físico-química do permeado da membrana Cerâmica**

Parâmetros	Resultados
Sódio (Na <sup>+</sup> ), mg/L	124,5
Fósforo Total, mg/L	84,0
Cloreto (Cl <sup>-</sup> ), mg/L	69,6
Nitrato (NH <sub>4</sub> <sup>+</sup> ), mg/L	20,99
Nitrito (NH <sub>2</sub> <sup>-</sup> ), mg/L	25,00
Amônia (NH <sub>3</sub> ), mg/L	7,04
Cor, Unidade Hazen (mg Pt-Co/L)	35,0
Ferro Total, mg/L	0,32

Segundo PEQUENO (2010), nitrogênio é um componente básico na formação de proteínas, ácidos nucleicos e pigmentos fotossintetizantes, constituinte de diversas substâncias de metabolismo primário e pode ser encontrada em concentrações variáveis no interior das células algáceas na forma de nitrito, nitrato e amônio. E é assimilando tanto na forma amoniacal assim como na forma de nitrogênio gasoso ou molecular, de nitrato, nitrito onde são responsáveis pelas concentrações de proteínas e clorofilas nas células.

De acordo ao mesmo autor, o ferro é considerando como uma das principais elementos limitantes para microalgas, ele é importante na regulação do metabolismo celular (síntese de lipídeos e carboidratos), também conseguem absorver quantidade muito alta de fósforo de 8 a 16 vezes, permitindo assim que a célula possa desenvolver mesmo que não haja disponibilidade de novas fontes de alimentos.

Para cada experimento foram plotadas três curvas, pois diariamente se realizava a contagem de células em triplicada para cada inóculo, num período de oito dias com as mesmas condições climáticas, luminosidade e inicialmente a mesma proporção de microalgas de 1:100. Observando o comportamento temporal do

crescimento da *Chlorella* sp em 100% de BBM como ilustrado na Figura 1, na qual a fase de adaptação começou com uma população de  $10^5 \text{ cel. mL}^{-1}$ , a fase estacionária começou-se no quarto dia de cultivo obtendo um número máximo de células de  $4,8 \times 10^7 \text{ cel. mL}^{-1}$ ; esses resultados foram semelhantes aos obtidos por Ferreira, 2012.

Neste experimento foi realizado o cultivo sem adição do permeado oriundo da separação, apenas o meio de cultura BBM utilizando erlenmeyers com volume de 1000 mL como fotobioreatores, mantendo as aclimações ideais conforme descrito no procedimento experimental.

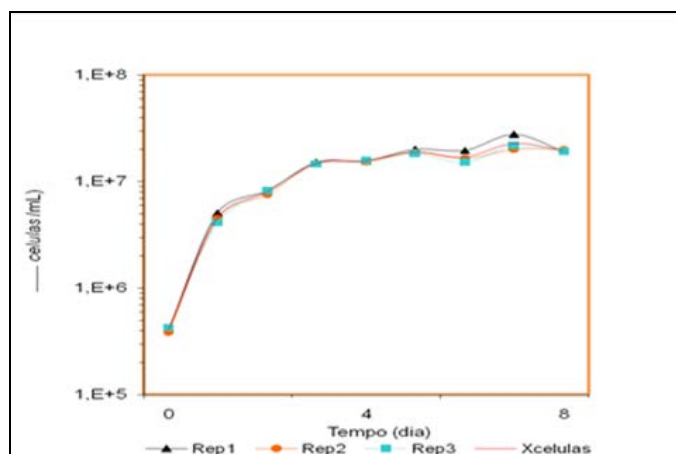


Figura 1- Cultivo de *Chlorella* sp. em 100% de BBM sem adição de permeado

Na Figura 2, a qual apresenta os resultados do experimento com utilização de 250 mL do permeado, observou-se que no primeiro dia de cultivo as células apresentaram uma rápida adaptação ao meio atingindo em 24 horas o número de células de  $2,1 \cdot 10^6 \text{ cel. mL}^{-1}$ , a população de  $10^7 \text{ cel. mL}^{-1}$  foi observada a partir do quinto dia e o número máximo celular foi de  $4,1 \cdot 10^7 \text{ cel. mL}^{-1}$ , importante ressaltar que devido à porosidade da membrana de cerâmica (na ordem de  $10^{-6} \text{ m}$ ).

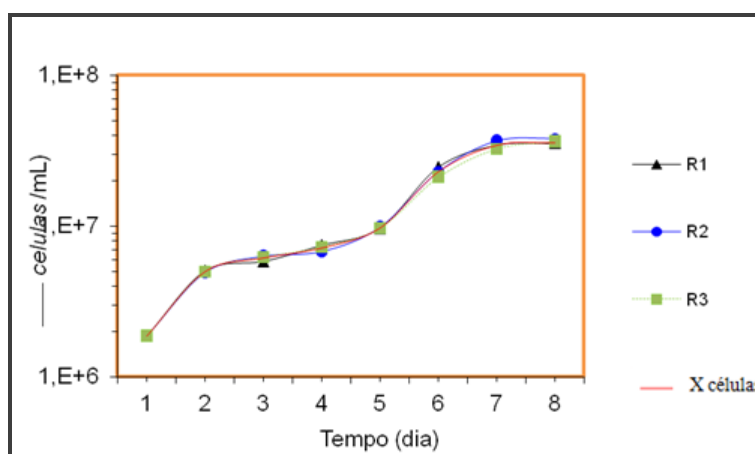
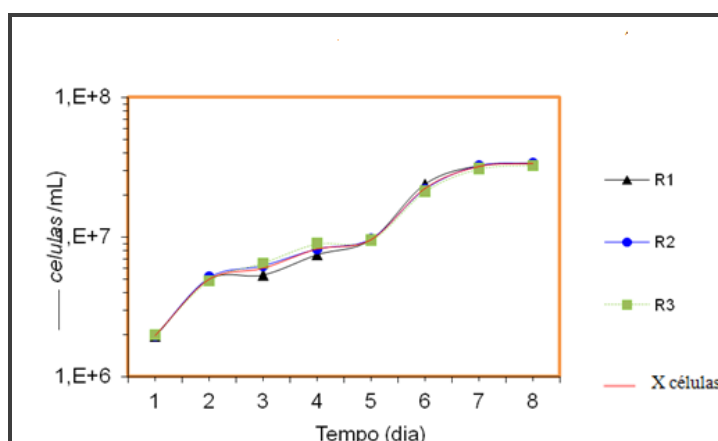


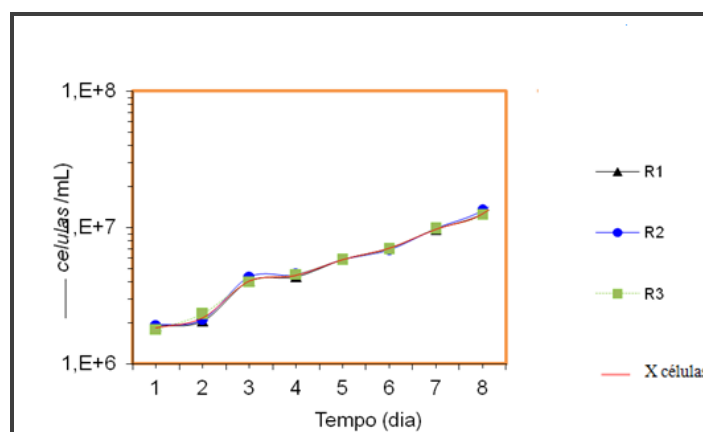
Figura 2- Crescimento da *Chlorella* sp com adição de 250 mL do permeado da separação por membrana cerâmica

Para a suplementação de 500mL de permeado da membrana cerâmica percebe-se que também houve um crescimento satisfatório  $3,4 \cdot 10^7 \text{ cel. mL}^{-1}$  como mostra a Figura 3, no entanto, a fase de declínio ocorreu mais rapidamente iniciando no oitavo dia de cultivo, muito provavelmente devido ao esgotamento rápido de nutrientes no meio de cultivo, já que a fase estacionária iniciou no sexto dia.



**Figura 3 – Crescimento da *Chlorella sp* com adição 500mL do permeado por separação de membrana Cerâmica.**

Analizando o comportamento do cultivo da *Chlorella sp* em suplementação de 750 mL do permeado da separação em estudo da Figura 4, nas mesmas condições de aclimatização da microalga e o mesmo tempo de estudo dos demais, verifica-se que as células já apresentam dificuldades em desenvolvimento com os demais, porém conseguiu, alcançar o crescimento máximo celular a partir do sétimo dia de cultivo. Percebendo assim, que se pode reaproveitar o permeado da membrana cerâmica para o crescimento de novas cepas evitando dessa forma que o mesmo seja lançado de forma inadequada no solo, conforme FERREIRA (2012).



**Figura 4 – Crescimento da *Chlorella sp* com adição 750mL do permeado por separação de membrana Cerâmica.**

A Tabela 1 mostra o desenvolvimento das microalgas *Chlorella sp* no permeado da membrana cerâmica que apresentou melhores resultados do rendimento da biomassa quando faz-se a suplementação com 250mL e 500mL do permeado o que mostra a viabilidade no uso do permeado no cultivo das microalgas.

Tabela 1: Rendimento da biomassa e de clorofila-a em função do (volume de permeado) .

Volume do permeado	Avaliação do desenvolvimento da <i>Chlorellas</i> sp. no permeado da membrana Cerâmica			
	Rendimento da biomassa (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )		Clorofila (µg/L)	
	Inicial do cultivo	Final do cultivo	Inicial do cultivo	Final do cultivo
250mL	0,044	0,990	1369,10	13994,67
500 mL	0,035	0,996	1017,40	15100,91
750 mL	0,17	0,798	907,21	11296,46

Em sistemas comerciais de produção de microalgas, de maneira geral, as empresas produtoras de microalgas visam alcançar a máxima produtividade e, isto implica em elevada produção de biomassa (ou de produto de interesse) no menor espaço de tempo possível (TREDICI, 2004). Por obterem um intervalo muito curto da fase lag até atingir a fase log, pode-se afirmar que a velocidade de crescimento e a produtividade estão diretamente relacionadas. (KAYOMBO et al., 2003; TUKAJ et al., 2003).

Observa-se que com o uso de membranas cerâmicas obteve-se um rendimento da biomassa, bem como uma maior velocidade de crescimento, já que rapidamente as células alcançavam o número máximo de células.

Para clorofila-a os valores foram muito altos provavelmente porque o permeado havia ainda alguma presença de microalgas antes de serem inoculados, assim, estes resultados podem estar vinculados ao fato das células já estarem adaptadas ao cultivo com excesso de nitrato, nitrito e fósforo.

## CONCLUSÕES

O crescimento de *Chlorellas* sp com adição do permeado da separação da membrana cerâmica é viável uma vez que foi obtido bons resultados e o crescimento máximo celular deu-se no quinto dia de permeado e 25% e 50%;

Com o reuso do permeado haverá uma diminuição de custo bem significativo na separação de microalgas favorecendo assim uma biomassa com as características químicas e físicas que poderá aproveitar todo o potencial químico da célula em termos de proteínas, pigmentos, ácidos graxos saturados e insaturados entre outros componentes;

Em relação à diminuição do impacto ambiental do solo e dos lençóis freáticos com o permeado não haverá poluição se esse for reutilizado, sabendo que é possível no cultivo das microalgas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, M.R. Cultivos autotróficos e mixotróficos de *Spirulina platensis* em diferentes escalas e condições ambientais no extremo sul do Brasil. Dissertação apresentada para a obtenção do título de mestre em Engenharia e Ciência de Alimentos na sub-área de Bioprocessos em alimentos. Rio Grande do Sul, 2005.
2. APHA, AWWA, WPCF. *Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater*. 20th ed., Washington, D.C: American Public Health Association/American Water Works Association/Water Environment Federation, 1999.
3. BARBOSA, C.F. Hidrogeoquímica e a contaminação por nitrato em água subterrânea no bairro Piranema, Seropédica-RJ. Dissertação (mestrado) -Universidade Estadual de Campinas, 2005.
4. BOROWITZKA, M.A. Pharmaceutical and agrochemicals from microalgas. Chemicals from
5. algae. Washington DC : Cohen, Z., 1988. p 313-352.
6. CETESB. Regulamentação da Lei Federal Alemã de proteção do solo e de AC (RLFPS) 6510. Projeto
7. CETESB, 2001.
8. PEQUENO, M.A.G.; Avaliação do potencial produtivo de óleos obtidos a partir de microalgas por cromatografia gasosa, Dissertação (mestrado em Química), p. 13 UFPB, João Pessoa, PB , 2010.



9. FERREIRA, W.B.; Aproveitamento do Concentrado da Dessalinização Via Osmose Inversa Para Desenvolvimento de *Chlorella* Sp. E *Chlorella Vulgaris* Visando a Produção de Biocombustível. 2012. Tese (Doutorado em Engenharia Química)-UFPA, Campina Grande-PB, 2012.
10. KAYOMBO, S.; MBWETTE, T.S.A.; KATIMA, J.H.Y.; JORGENSEN, S.E. Effect of substrate concentration on the growth of heterotrophic bacteria and algae in secondary facultative ponds. *Water Research*, v.37, p. 2937–2943, 2003.
11. PHILLIPS, I.; BURTON, E. Nutrient leaching in undisturbed cores of an acidic sandy Podsol following simultaneous potassium chloride and di-ammonium phosphate application. *Nutrient Cycling in Agroecosystems*, v.73, p.1-14, 2005.
12. TREDICI, M.R. Mass production of microalgae: photobioreactors. In: RICHMOND, A.(Ed). *Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology*. Oxford: Blackwell Science, p.178-214. 2004.
13. Tsiourtis, N.X., “Desalination and the environment”, *Desalination*, 141, pp. 223-236, 2001.
14. TUKAJ, Z.; MATUSIAK-MIKULIN, K.; LEWANDOWSKA, J.; SZURKOWSKI, J. Changes in the pigment patterns and the photosynthetic activity during a light-induced cell cycle of the green algae *Scenedesmus armatus*. *Plant Physiology and Biochemistry*, v.41, p.337–344, 2003.