

## **II-348 - POTENCIAL DE GERAÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEL PELO CULTIVO DA MICROALGA *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER EM EFLUENTE DE REATOR UASB**

**Emanuel Júnior Silva Soares<sup>(1)</sup>**

Graduando em Engenharia Sanitária e Ambiental (UEPB)

**Natália Ferreira Silva<sup>(2)</sup>**

Graduanda em Engenharia Sanitária e Ambiental (UEPB)

**Celia Regina Diniz<sup>(3)</sup>**

Engenheira Química. Doutora em Recursos Naturais (UFCG). Professora do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde (CCBS/UEPB)

**Helvia Walewska Casullo de Araújo<sup>(4)</sup>**

Engenheira Química. Doutora em Biotecnologia e Recursos Naturais (UECE/UFPE/UNICAP). Professora do Departamento de Química Industrial (CCT/UEPB)

**Weruska Brasileiro Ferreira<sup>(5)</sup>**

Engenheira Química. Doutora em Engenharia Química (UFCG). Professora do Departamento de Engenharia Sanitária e Ambiental (CCT/UEPB)

**Endereço<sup>(1)</sup>:** Av. Getúlio Vargas, 513 – Centro – Campina Grande – PB – CEP: 58400-052 – Brasil – Tel: (83) 99973-0788 – e-mail: [emanuel.junior.902@gmail.com](mailto:emanuel.junior.902@gmail.com)

### **RESUMO**

Atualmente, a sociedade busca minimizar as poluições ocasionadas pelo desenvolvimento urbano e industrial, dentro dessa problemática tem-se a exacerbada utilização de combustíveis fósseis que emitem drásticas quantidades de poluentes para atmosfera, em especial, o dióxido de carbono e ozônio. As microalgas se apresentam como fonte para produção de biocombustíveis a partir da extração dos lipídios contidos em sua composição biológica. Visando a produção de biocombustíveis a partir do cultivo da microalga *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER quando cultivada em meio alternativo, o efluente de reator UASB, avaliou-se o desenvolvimento microalgal quando submetido a concentrações de 0, 25, 50, 75 e 100% do rejeito em questão. Utilizaram-se parâmetros como número de células, velocidade específica máxima e tempo de geração, além disso manteve-se os cultivos expostos a 12 horas de luz diária e pH natural do meio. Assim, percebeu-se uma melhor resposta ao crescimento celular da microalga quando submetida a suplementação de 25% do efluente de UASB e, junto a isso, teve-se uma remoção de DQO de 40,23%.

**PALAVRAS-CHAVE:** Geração de biocombustível, biomassa, *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER, UASB, microalga.

### **INTRODUÇÃO**

A preocupação com os rumos que o mundo tem tomado em termos ambientais tem levado autoridades globais e organizações internacionais a unir forças na tomada de medidas, que em linhas gerais, minimizem a poluição. O setor de biocombustíveis tem investido em pesquisas como seleção e melhoramento de linhagens, cultivos em sistemas abertos, utilização de resíduos industriais, desenvolvimento de sistemas em escala industrial, entre outros que supram as necessidades governamentais (ANDRADE, 2014). Dentre essas medidas têm-se a substituição dos combustíveis fósseis, que emitem drásticas quantidades de dióxido de carbono para a atmosfera, por biocombustíveis que podem ser obtidos a partir de biomassa.

As microalgas estão no topo das pesquisas biotecnológicas em função de suas qualidades em produzir elevadas quantidades de biomassa, em curto período de tempo, apresentarem teores lipídicos de interesse à produção de energia e bioprodutos para indústrias de alimentos, química fina e fármacos em geral (SASSI, 2016).

Especificamente, são organismos fotossintetizantes, unicelulares que estão sendo amplamente utilizadas para a produção de biocombustíveis, quando cultivados em meios alternativos, a exemplo do efluente de reator UASB

(*Upflow Anaerobic Sludge Blanket*), possuem a capacidade de biodegradar compostos contidos no meio. Estima-se que existam entre 70.000 a um milhão de espécies, embora apenas 44.000 destas foram catalogadas (NEOFOTIS et al., 2016).

Além dos parâmetros biológicos que variam de acordo com as espécies de microalgas, fatores físico-químicos como luminosidade, potencial hidrogeniônico (pH) e disponibilidade de nutrientes no meio são determinantes para o desenvolvimento celular, que está diretamente relacionado com o aumento ou diminuição da produção lipídica.

As microalgas possuem capacidade de remediação através da remoção ou biotransformação de poluentes de um meio líquido ou gasoso. Estes poluentes são capturados pela crescente biomassa de algas, permitindo que sejam recuperados através da colheita. Esta capacidade resulta em um sistema de cultura com dois propósitos: remoção de contaminantes e produção de biomassa para usos comerciais. Ambas as metas dependem do sistema de cultivo, espécies cultivadas e fatores ambientais (PÉREZ; LABBÉ, 2014).

A utilização de microalgas para o tratamento de águas residuais, além de constituir um processo biológico de baixo custo, permite o aproveitamento da biomassa algal produzida para produção de energia, ração animal e pigmentos (NASCIMENTO et al., 2016).

A microalga *Dunaliella tertiolecta* BUTCHER, é um microrganismo fotossintético capaz de produzir simultaneamente grandes quantidades de carotenoides e lipídios em determinadas condições de estresse ambiental, como luminosidade e concentração salina do meio de cultivo (FRÉ; RECH; MARCÍLIO, 2014)

Ao realizar o cultivo de microalgas fazendo uso de efluente advindo de reator UASB, tem-se a produção de biomassa, para consequentemente geração de biocombustível unido ao reuso do referente efluente, sendo este rico em nutrientes e matéria orgânica. Entretanto, nesse estudo foi avaliado o potencial de desenvolvimento da microalga *Dunaliella tertiolecta* quando cultivada no efluente de reator UASB, visando à potencialidade para produção de biocombustível.

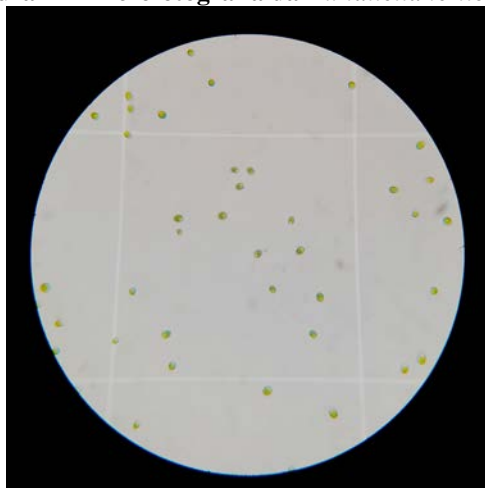
## OBJETIVO

Avaliar o desenvolvimento, por meio de estudos cinéticos, da alga *Dunaliella tertiolecta* quando cultivada em efluente de reator UASB, visando a produção de biocombustível e verificar, através da DQO, o potencial de biorremediação que a mesma possui.

## MATERIAIS E MÉTODOS

A espécie de microalga *Dunaliella tertiolecta* (Figura 1), foi selecionada devido a sua elevada capacidade de produção lipídica, assim como de biomassa, o que favorece a produção de biocombustíveis.

**Figura 1 – Microfotografia da *Dunaliella tertiolecta***



O meio de cultura F/2, desenvolvido por Guillard (1975), foi adotado para o cultivo da *Dunaliella tertiolecta*. Utilizou-se Erlenmeyers de 500mL, como fotobiorreatores, acoplados a aeradores que permitem a homogeneização e oxigenação do meio.

O fornecimento de iluminação deu-se a partir de lâmpadas com potência fixa de 40W, submetendo os cultivos a intervalos de 12 horas de luz diária. De acordo com os estudos de Silva et al. (2018), esse é o fotoperíodo mais adequado para o desenvolvimento da microalga.

As suplementações com efluente de reator UASB foram feitas com diluições de 0, 25, 50 e 75% em relação ao F/2, além de um cultivo da microalga em efluente puro (100% de efluente de UASB). Os cultivos foram realizados em triplicata à temperatura de  $26 \pm 2^\circ\text{C}$ .

O desenvolvimento das microalgas foi analisado no período de 192 horas (08 dias consecutivos), através de contagens em câmaras de Neubauer com auxílio do microscópio óptico para determinação de número de células em células por mililitro ( $\text{células.mL}^{-1}$ ). A velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) e o tempo de geração ( $t_g$ ) foram determinadas pelas Equações 1 e 2, respectivamente.

$$\ln(x) = \mu_{\text{máx}}(t - t_i) + \ln(t_i) \quad \text{equação (1)}$$

Onde:

x - Concentração celular ( $\text{células.mL}^{-1}$ );

$\mu_{\text{máx}}$  - Velocidade específica máxima de crescimento ( $\text{h}^{-1}$ );

$t_i$  - Tempo inicial referente a fase exponencial (h);

t - Tempo final referente à fase exponencial (h);

$x_i$  - Concentração celular inicial ( $\text{células.mL}^{-1}$ ).

$$t_g = \frac{\ln(2)}{\mu_{\text{máx}}} = \frac{0,693}{\mu_{\text{máx}}} \quad \text{equação (2)}$$

Onde:

$t_g$  - Tempo de geração (h);

$\mu_{\text{máx}}$  - velocidade específica máxima de crescimento ( $\text{h}^{-1}$ ).

Para as análises de produtividade da biomassa foram coletadas amostras no primeiro e último dia de cultivo. Estas foram centrifugadas em duas etapas: primeiramente para concentração da biomassa, e em seguida a centrifugação com solução de ácido clorídrico (pH=5) para retirada da salinidade do meio de cultura. As cápsulas foram colocadas na estufa a  $55^\circ\text{C}$  para secar até atingir peso constante. A produtividade ( $\text{g.L}^{-1}.\text{d}^{-1}$ ) foi determinada por meio da Equação 3.

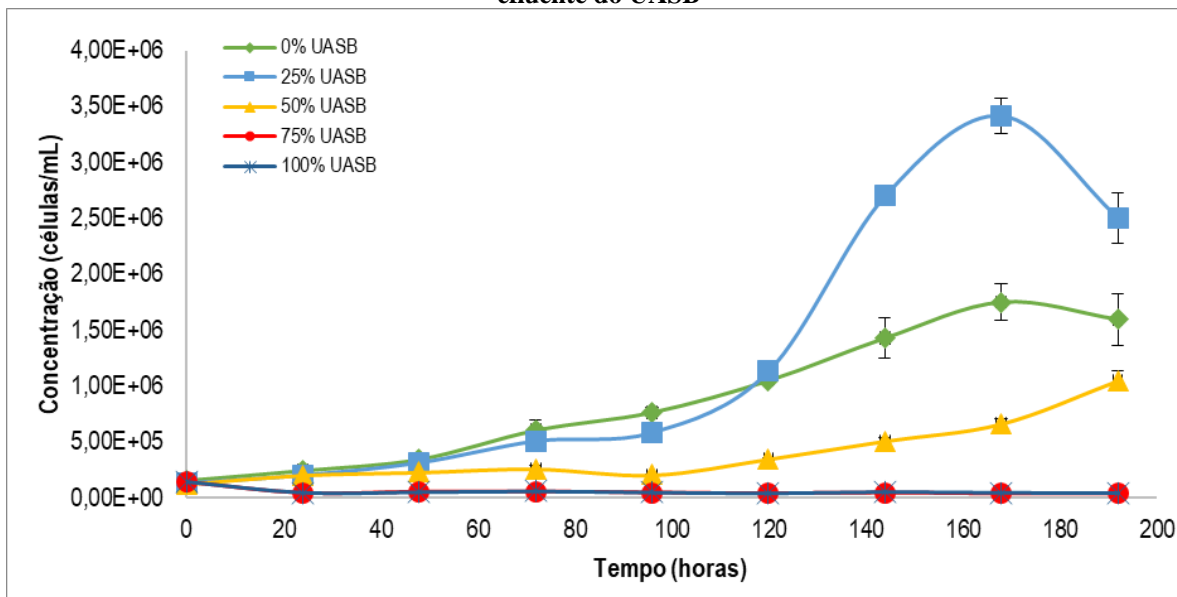
$$\text{Produtividade} = \frac{\text{biomassa seca}_{\text{final}} - \text{biomassa seca}_{\text{inicial}}}{\text{tempo de cultura}_{\text{final}} - \text{tempo de cultura}_{\text{inicial}}} \quad \text{equação (3)}$$

Para estimar a carga poluidora contida no meio (F/2) acrescido do efluente de reator UASB e *Dunaliella tertiolecta* fez-se a determinação da Demanda Química de Oxigênio (DQO), utilizando o método de refluxação fechada descrito no *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater* (APHA, 2012), no primeiro e último dia de cultivo.

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Figura 2 ilustra o perfil de crescimento da microalga *Dunaliella tertiolecta* no meio F/2 com diferentes proporções de efluente de reator UASB.

**Figura 2 – Curvas de crescimento da microalga *Dunaliella tertiolecta* sob variações na concentração de efluente do UASB**



A cepa cultivada em meio F/2 mantendo iluminação constante de 12 horas e sem a presença de efluente de UASB, iniciou seu desenvolvimento com concentração celular de  $1,57 \times 10^5$  células.mL<sup>-1</sup> atingindo número de células máximo de  $1,75 \times 10^6$  células.mL<sup>-1</sup> no sétimo dia, entrando posteriormente em decaimento.

A *Dunaliella tertiolecta* exposta à concentração de 25% de efluente de reator UASB apresentou número celular inicial de  $1,28 \times 10^5$  células.mL<sup>-1</sup> obtendo desenvolvimento máximo no sétimo dia com  $2,5 \times 10^6$  células.mL<sup>-1</sup>. Enquanto que o cultivo de 50% de efluente iniciou com concentração  $1,25 \times 10^5$  células.mL<sup>-1</sup> mostrando uma longa fase de adaptação ao meio, alcançando  $1,05 \times 10^6$  células.mL<sup>-1</sup>, ao oitavo dia. Nos teores de 50 e 100% de efluente de reator UASB a microalga sofreu decaimento celular ao longo do tempo de análise.

Para uma melhor análise do comportamento da microalga *Dunaliella tertiolecta* quando exposta ao efluente de reator UASB, a Tabela 1 apresenta os dados de velocidade específica máxima de crescimento, tempo de geração, produtividade de biomassa e remoção de DQO dos cultivos.

**Tabela 1 – Parâmetros avaliados nos cultivos de *Dunaliella tertiolecta* em diferentes concentrações de efluente de reator UASB**

Concentração de efluente de reator UASB (%)	Velocidade específica $\mu_{\max}$ (h <sup>-1</sup> )	Tempo de geração (h)	Produtividade de biomassa (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )	Remoção de DQO (%)
0	0,0189	36,7	0,107833	-
25	0,0194	35,73	0,034083	40,23
50	0,0061	113,63	0,012083	36,33
75	0,0057	121,6	0,012167	19,35
100	0,0048	144,41	0,003166	25,35

Verifica-se que a *Dunaliella tertiolecta* reduz seu desenvolvimento celular à medida que se aumenta a concentração do efluente de reator UASB, isto é, diminui a fração pela qual a população cresce em unidade de tempo nos primeiros dias de inóculo, observada através da redução do fator velocidade específica, bem como o aumento do tempo de geração e redução da produtividade de biomassa.

Nos estudos realizados por Liu e Yildiz (2017), sob uma concentração de salinidade de 30 ppt, os valores de densidade ideal de células referente aos tratamentos de águas residuais municipais variaram de 0,640 a 0,810 (absorvância, A), que foram muito superiores aqueles obtidos em concentrações de salinidade de 20 e 40 ppt, que variou de 0,390 a 0,496 A e 0,316 a 0,359 A. Pode-se dizer que o discreto desenvolvimento da *Dunaliella tertiolecta* quando submetida a maiores concentrações de efluente de reator UASB se deu pela baixa

concentração de sal do meio, pois, ao passo que reduziu-se a quantidade de F/2, que possui alta salinidade, e aumentou-se a concentração de efluente percebeu-se a inadaptabilidade da alga.

Mulbry (2008), em seus estudos, afirma que as microalgas são utilizadas para o tratamento de águas residuais por promoverem purificação das águas através do consumo contaminantes e nutrientes solúveis que estão presentes em maiores quantidades nesse ambiente. Com as análises da DQO, observa-se que a melhor remoção (40,23%) da carga poluidora ao final do cultivo foi obtida no tratamento contendo 25% de efluente de reator UASB.

## CONCLUSÕES

Conforme as análises realizadas objetivando a avaliação da microalga *Dunaliella tertiolecta* quando cultivada em distintas concentrações de efluente de UASB, verificou-se que o desenvolvimento da alga decaiu à medida que elevou-se o teor de efluente. Assim, no tratamento com 25% de efluente de UASB observou-se maior consumo de nutrientes presentes no meio notado através das análises de DQO e consequentemente maior produtividade em termos de biomassa microalgal. Com a condição anteriormente citada foi obtida a melhor concentração de biomassa, que pode conter lipídios com potencial para produção de biocombustível.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ANDRADE, L. M. Produção de microalgas e caracterização de sua composição proteica e lipídica via espectrofotometria de massa. São Paulo, 2014. Tese de Doutorado- Escola Politécnica-Universidade de São Paulo, 2014.
2. APHA, AWWA, WEF. *Standard Methods For the Examination of Water and Wastewater*. 22ª Edition. American Public Health Association, Washington, DC. 2012.
3. FRÉ, N. C. DA; RECH, R.; MARCÍLIO, N. R. Influência da luminosidade e concentração salina na produção de lipídios e carotenoides microalga *Dunaliella tertiolecta* em fotobiorreator airlift. XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química. **Anais**. Florianópolis, SC: out. 2014.
4. GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: SMITH, WL & MH CHANLEY (Eds.) **Culture of Marine Invertebrate Animals**. New York. Plenum, p. 29-60, 1975.
5. LIU, Y., YILDIZ, I. The effect of salinity concentration on algal biomass production and nutrient removal from municipal wastewater by *Dunaliella salina*. **International Journal of Energy Research (Canadá)**. p. 1-10, Nov. 2017.
6. NASCIMENTO, R. C., et al. Avaliação do cultivo de microalgas em fotobiorreatores de placas planas para a produção de biomassa e biorremediação de efluente da agroindústria de óleo de palma. **Processos Bioquímicos**, p. 103-109.
7. NEOFOTIS, P. et al. Characterization and classification of highly productive microalgae strains discovered for biofuel and bioproduct generation. **Algal Research**, v. 15, p. 164-178, 2016.
8. MULBRY, Walter, et al. Treatment of dairy manure effluent using freshwater algae: algal productivity and recovery of manure nutrients using pilot-scale algal turf scrubbers. **Bioresource technology**, v. 99, n. 17, p. 8137-8142, 2008.
9. PÉREZ, A. H., LABBÉ, J. I. Microalgas, cultivo y beneficios. **Revista de Biología Marina y Oceanografía (Chile)**. v.49, n.2, p.157-173, ago. 2014.
10. SASSI, P. G. P. Uso de microalgas com potencial para produção de biodiesel e mitigação de impactos ambientais. João Pessoa, 2016. Tese de Mestrado. Centro de Energias Alternativas e Renováveis, 2016.
11. SILVA, N. F., et al. Potencial da alga *Dunaliella Tertiolecta* BUTCHER para geração de biocombustíveis. V Congresso Baiano de Engenharia Sanitária e Ambiental. **Anais**. Juazeiro, BA; jul. 2014.