



II CONEPETRO

II CONGRESSO NACIONAL DE ENGENHARIA DE
PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS
IV WORKSHOP DE ENGENHARIA DE PETRÓLEO

ESTUDO CINÉTICO DO DESENVOLVIMENTO DA MICROALGA *Scenedesmus sp* EM DIFERENTES MEIOS DE CULTURA VISANDO POTENCIALIZAR A PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS.

Olga Elyzabeth Lucena Almeida¹; Thiago Santos de Almeida Lopes²; Andréia Freitas Silva³, André Luiz Alves da Silva⁴, Weruska Brasileiro Ferreira⁵.

¹ Universidade Estadual da Paraíba, Dept de Engenharia Sanitária e Ambiental - olgaelyzabeth@hotmail.com

² Universidade Estadual da Paraíba, Dept de Engenharia Sanitária e Ambiental - thiagosantos_al@outlook.com

³ Universidade Estadual da Paraíba, Dept de Engenharia Sanitária e Ambiental - andreaifreitassilva@gmail.com

⁴ Universidade Estadual da Paraíba, Dept de Engenharia Sanitária e Ambiental - nadre.alas@mail.com

⁵ Universidade Estadual da Paraíba, Dept de Engenharia Sanitária e Ambiental - weruska.brasileio@pq.cnpq.br

RESUMO

Por apresentarem uma vasta aplicabilidade no campo da biotecnologia, as microalgas estão cada vez mais destacando-se no cenário da produção de biocombustíveis, devido à sua alta produtividade por unidade de área, uso de terras não aráveis, possuir uma rica fonte de lipídeos e carboidratos e à utilização de diversas fontes de águas residuais como substrato. Porém, o alto custo com manutenção, que envolve os meios de cultura utilizados para o seu desenvolvimento, ainda inviabiliza a produção em grande escala. Esse estudo tem como finalidade analisar a influência de diferentes meios de cultura, como o *Bold's Basal Medium* (BBM), suplementado com extrato de levedura, e o *Wright's Cryptophyte* (WC), que são meios sintéticos, e o efluente de reator UASB, que é um meio alternativo, no crescimento da microalga *Scenedesmus sp* visando a produção de biocombustível, com um menor custo de produção. Observou-se que, o cultivo suplementado com o meio WC, proporcionou um bom desenvolvimento da microalga, com uma elevada produtividade de biomassa e taxa de crescimento, mas com baixa densidade celular de $1,4 \times 10^7$ cel.mL⁻¹. Porém, o alto custo ao utilizar o meio WC, dificulta uma produção em larga escala, por isso busca-se a utilização de meios alternativos. Mesmo apresentando uma produtividade inferior ao meio WC, a utilização de efluente UASB apresentou resultado significativo, com uma densidade celular de $2,54 \times 10^7$ cel.mL⁻¹, superior aos outros meios estudados, o que possibilita uma grande concentração de lipídeos, demonstrando assim a viabilidade do efluente como meio de cultivo, sendo eficaz para produção de biocombustíveis.

Palavras-chave: biocombustíveis, microalgas, *Scenedesmus sp*, UASB.

1. INTRODUÇÃO

As microalgas possuem uma aplicabilidade diversificada no campo da biotecnologia. A biomassa produzida pode ser convertida em produtos que têm grande interesse comercial, que vai desde a indústria

de cosméticos até a produção de biocombustíveis.

A utilização da biomassa de microalgas para produção de biocombustíveis vem sendo vista como uma alternativa promissora, uma vez que, o seu cultivo proporciona

www.conepetro.com.br

(83) 3322.3222

contato@conepetro.com.br

produtividades em carboidratos e lipídios superiores às matérias-primas vegetais convencionalmente utilizadas na obtenção de etanol e biodiesel (KLEIN, 2013). A seleção da espécie utilizada no cultivo é fator decisivo para uma maior produção da substância desejada.

Para a obtenção dos biocombustíveis, as microalgas podem ser convertidas por: métodos bioquímicos, que incluem a digestão anaeróbica, para a produção de metano, e de fermentação, para a produção de etanol; conversão química, que envolve a extração de lipídeos acumulados pelas microalgas, transformação em biodiesel pela reação de transesterificação e a conversão termoquímica que compreende gaseificação para obtenção de combustível [SPOLAORE *et al.*, 2006].

Segundo Ferreira [2012], destacam-se como vantagens do uso das microalgas como matéria-prima para a produção de biocombustíveis as elevadas taxas de crescimento; o maior rendimento na produção de óleo por área utilizada no cultivo de microalgas, se comparada ao plantio das oleaginosas mais produtivas; o não comprometimento da produção agrícola, pois não necessita de terras cultiváveis; a utilização de diversas fontes de águas residuárias como substrato; e a não utilização de herbicidas e pesticidas.

Scenedesmus sp é o gênero de algas verdes mais comum. A colônia é formada geralmente por 2, 4, 16 ou 32 células e, raramente, são unicelulares. As células podem ser elipsoides, ovoides, fusiformes ou lunadas, e ter formatos iguais ou as externas serem de uma forma e as internas de outra [BICUDO e MENESES, 2005].

Segundo Siapaúba-Tavares [1995], os custos com reagentes químicos, para a elaboração do meio de cultura, constituem um dos maiores problemas do cultivo de microalgas, pois o alto custo dos nutrientes representa um fator limitante para a produção. Por isso, busca-se cada vez mais estudar meios de cultura alternativos, tais como: esgoto doméstico, efluentes de biodigestores, lodo digerido, vinhaça de cana-de-açúcar, águas residuárias da produção de azeite de oliva e resíduos da suinocultura [BERTOLDI, 2008]. Meios estes, que podem ser utilizados em diferentes proporções e em variados sistemas de produção.

Além de minimizar os custos da produção, a utilização de águas residuárias como meio alternativo, pode ser uma saída para o tratamento de efluentes altamente poluidores, que estariam sendo descartados em recursos hídricos. Com isso, seria agregado a este processo o conceito de reuso da água [PITTMAN *et al.*, 2011].

Para o desenvolvimento de um meio de cultura ideal, devem-se considerar alguns pontos, como: fonte de carbono e nitrogênio; concentração de sais, potássio e fósforo; e a adição de componentes orgânicos e substâncias que promovam o crescimento celular [BECKER, 1994; LOURENÇO, 2006].

O reator do tipo UASB tem como vantagem a remoção de grande parte da matéria orgânica do esgoto, porém, não é eficiente na remoção de nutrientes (nitrogênio e fósforo) e patógenos, necessitando comumente de um pós tratamento para que possa atender as condições de lançamento.

Desta forma, esse estudo tem como finalidade analisar a influência dos meios de cultura, BBM e o WC, que são meios sintéticos, e o efluente do reator UASB, que é um meio alternativo, no crescimento da microalga *Scenedesmus sp* visando potencializar a produção de biocombustíveis.

2. METODOLOGIA

2.1 Microalga

Para este estudo, foi utilizado cepas da espécie de microalga *Scenedesmus sp*. existentes no Laboratório de Saneamento da UEPB, que foram fornecidas pelo laboratório da Universidade Federal Fluminense.

As culturas de microalgas eram mantidas em frascos de Erlenmeyers a $26^{\circ}\text{C}\pm 2$, agitadas por meio da injeção direta de ar comprimido, que garantia a homogeneização do meio, e iluminadas por lâmpadas fluorescentes de 40W durante um período de 12h diárias.

A espécie utilizada no estudo foi escolhida por possuir um teor de lipídeos significante, que cultivada em laboratório pode chegar a 40%, variando de acordo com as condições nutricionais do meio [BECKER, 1994]. Favorecendo assim a produção de biocombustíveis.

A Figura 1 mostra a fotomicrografia das cepas de *Scenedesmus sp* utilizadas em todo o estudo, e as condições de aclimação.

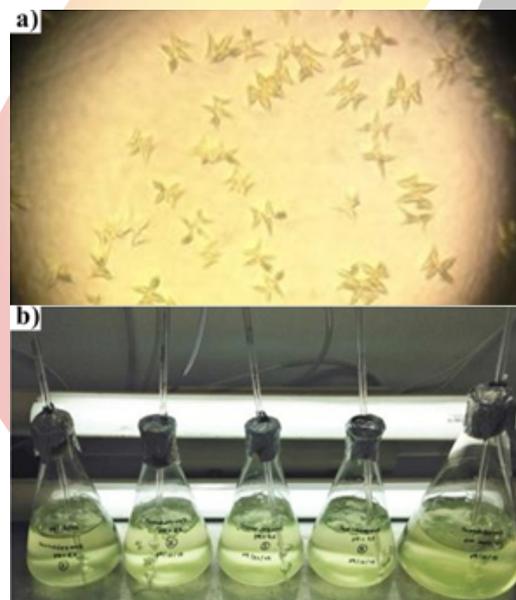


Figura 1: a) Fotomicrografia da microalga *Scenedesmus sp*. em ampliação de 400x; b) Aclimação dos cultivos.

2.2 Meios de cultura

Os meios de cultura sintéticos utilizados para o cultivo da *Scenedesmus sp.* foi o *Bold's Basal Medium* (BBM), suplementado com extrato de levedura e o *Wright's Cryptophyte* (WC), desenvolvido por Guillard & Lorenzen [1972]. E como meio alternativo, o efluente do reator UASB, instalado na Extrabes (Estação Experimental de Tratamento Biológico de Esgoto Sanitário). Este efluente tem como característica, um pH médio de 7,73 e uma alcalinidade total de 293,76 ppmCaCO.

2.3 Avaliação do crescimento

Com o auxílio da microscopia óptica foi possível determinar o crescimento das microalgas, avaliando-se a densidade celular em função do tempo de cultivo em cada uma das unidades experimentais. As amostras foram retiradas ao início e término dos cultivos a cada 24h. A densidade celular, expressa em número de células por mililitro de cultivo (células.mL⁻¹), foi determinada a partir das contagens de células em câmara de Neubauer.

A contagem de células foi realizada em triplicata. O número de células corresponde à média geométrica das três contagens. O tempo de cultivo foi expresso pela quantidade de dias decorridos desde o início da

inoculação (período de adaptação – fase lag) até o alcance máximo da densidade celular (fase estacionária). Os gráficos de dispersão foram plotados para representar as curvas de crescimento da *Scenedesmus sp.*, onde o eixo das abscissas corresponde ao tempo de cultivo em dias e o eixo das ordenadas ao número de células.mL⁻¹.

2.4 Avaliação da cinética de crescimento algal

A velocidade de crescimento é diretamente proporcional à concentração de microrganismos em um dado instante. A fração pela qual a população cresce na unidade de tempo é dada por $\mu_{\text{máx}}$, que representa a velocidade específica de crescimento e tem unidade de tempo h⁻¹. Na fase exponencial (ou logarítmica) a velocidade específica de crescimento é constante e máxima, sendo μ_x igual a $\mu_{\text{máx}}$. A velocidade de crescimento foi calculada através da Equação [1].

$$\ln(x) = \mu_{\text{máx}} \cdot (t - t_i) + \ln(x_i) \quad [1]$$

A representação de $\ln(x)$ versus o tempo de cultivo, na fase exponencial, resulta em uma reta com coeficiente angular igual à velocidade específica máxima de crescimento $\mu_{\text{máx}}$. A fase exponencial também é

caracterizada pelo tempo de geração (t_g), que é o tempo necessário para dobrar o valor da concentração celular ($x = 2x_i$). O tempo de geração foi calculado através da Equação [2].

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

2.5 Avaliação da produtividade de biomassa

As análises de produtividade da biomassa cultivada em laboratório foram realizadas em triplicata no início e fim dos cultivos. Foram utilizadas membranas de acetato de celulose de porosidade de $0,45\mu\text{m}$ para realizar filtração a vácuo das amostras contendo biomassa de *Scenedesmus sp*, realizando-se a secagem em estufa na temperatura de 60°C até atingir peso constante e posterior pesagem da biomassa seca.

A produtividade foi determinada por meio da Equação [3], onde a biomassa seca inicial corresponde à quantidade de biomassa seca no início do cultivo e a biomassa seca final corresponde à quantidade de biomassa ao término do cultivo.

$$P_{\text{produtividade}} = \frac{(biomassa_{\text{seca,final}} - biomassa_{\text{seca,inicial}})}{(tempo_{\text{final}} - tempo_{\text{inicial}})}$$

[3]

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de verificar a influência que o meio de cultura exerce sobre o crescimento da microalga *Scenedesmus sp*, foram elaborados cultivos com a suplementação dos meios WC, BBM e de efluente do reator UASB. A figura 2 ilustra as curvas de crescimento da microalga sob diferentes suplementações em função do tempo. Todos os cultivos iniciaram com uma concentração de células na ordem de 10^5 .

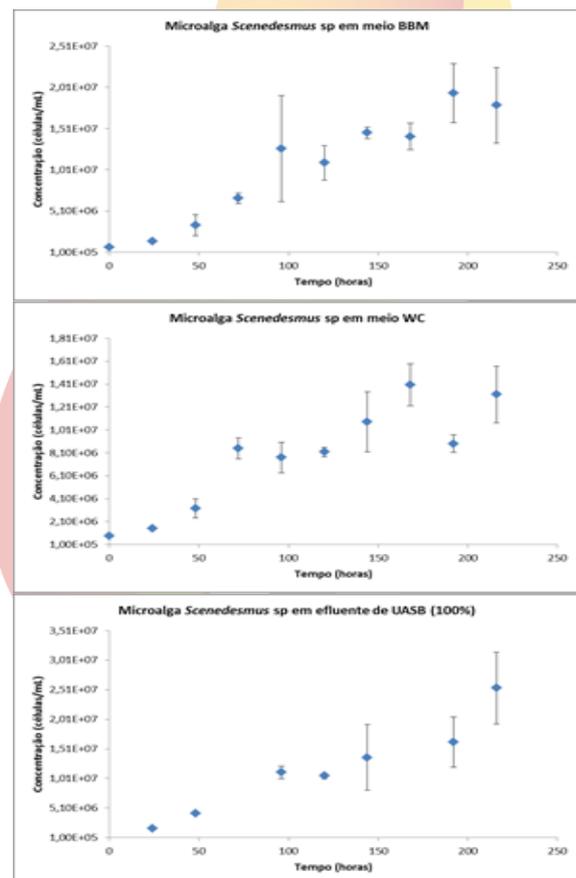


Figura 2: Curvas de crescimento da *Scenedesmus sp* em meio BBM, WC e efluente UASB.

Observando o comportamento temporal do desenvolvimento da *Scenedesmus sp*, em meios BBM e WC foi possível verificar que o número máximo de células alcançado foi de $1,94 \times 10^7$ cel.mL⁻¹ e de $1,4 \times 10^7$ cel.mL⁻¹, respectivamente. O desenvolvimento em ambos os meios ocorreu de forma lenta, com elevada taxa de crescimento e uma maior produtividade, destacando o cultivo no meio WC com melhor desempenho, os dados são apresentados na Tabela 1. Já no meio alternativo de efluente UASB, o número máximo de células foi de $2,54 \times 10^7$ cel.mL⁻¹, com baixa taxa de crescimento e de

produtividade, e alto tempo de geração, Tabela 1, se comparado aos meios sintéticos, WC e BBM.

A utilização de meios alternativos proporciona uma maior fonte de nutrientes ao cultivo, atingindo assim uma densidade celular maior. Enquanto, nos cultivos que foram utilizados meios sintéticos, apresentaram uma densidade celular menor, pois após atingir uma população de 10^7 teve seus nutrientes esgotados. Apesar de ter mais nutrientes que os meios sintéticos, os meios alternativos em alta concentração no cultivo pode ser tóxica para a microalga, o que dificulta o seu metabolismo. Influenciando, portanto, na velocidade específica e no tempo de geração da célula.

Tabela 1: Velocidades específicas máximas, tempos de geração e produtividades de biomassa dos cultivos de *Scenedesmus sp* em meios BBM, WC e efluente UASB.

Meios de cultura	Velocidade específica $\mu_{\text{máx}}$ (h ⁻¹)	R ²	Tempo de geração (h)	Produtividade de biomassa (g.L ⁻¹ .d ⁻¹)
BBM	0,03	0,9953	23,10	0,0905
WC	0,036	0,996	19,25	0,0955
UASB	0,0254	0,9727	27,29	0,0844

O trabalho desenvolvido por Martínez *et al* [2000] com cultivo de *Scenedesmus obliquus* em efluente de UASB, que trata esgoto doméstico, obteve produtividade de biomassa de 0,026 g.L⁻¹.d⁻¹. Comparando o resultado do referido autor, observa-se que o valor obtido de 0,08444 g.L⁻¹.d⁻¹, apresentado

na Tabela 1, no estudo da *Scenedesmus sp* em meio UASB, foi superior.

Morais e Costa [2007] ao cultivarem a *Scenedesmus obliquus* utilizando o meio WC, obtiveram uma taxa de crescimento de 0,0062 h⁻¹, inferior à alcançada neste trabalho que foi de 0,036 h⁻¹.

Bonini [2012] estudou o cultivo de *Chlorella vulgaris* em vinhaça, previamente tratada por hidrólise ácida e autoclavada, e obteve uma velocidade específica de crescimento de $0,0024 \text{ h}^{-1}$. Comparando esse dado com os dados obtidos no estudo da

4. CONCLUSÕES

Diante a análise do desenvolvimento da microalga *Scenedesmus sp* por meio do uso de diferentes meios de cultura, visando a produção de biocombustíveis, pode-se concluir que:

- O uso do cultivo de microalgas para o tratamento de efluentes acoplado à geração de biocombustíveis é uma opção atrativa em termos de redução dos custos energéticos, nutrientes e água naturais;
- O meio WC apresentou produtividade elevada da biomassa, menor tempo de geração e alta taxa de crescimento, porém devido ao alto custo do meios sintéticos o mesmo dificulta a produção de alta;
- Mesmo apresentando produtividade biomassa de 11,6% menor que o WC, a utilização de efluente UASB sugere que este método de cultivo é viável para geração de biocombustível;

microalga *Scenedesmus sp*, verifica-se que em meio WC e BBM a velocidade supera a encontrada por Bonini, enquanto a velocidade em meio de efluente UASB se aproxima a velocidade específica.

- O cultivo com efluente do reator UASB apresentou um bom desenvolvimento celular, se comparado aos outros meios em estudo, alcançando uma densidade máxima de $2,54 \times 10^7 \text{ cel.mL}^{-1}$. Essas características observadas utilizando como meio o efluente de UASB permite a extração de grandes concentrações de lipídios viabilizando a produção de biocombustível.

5. AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo financiamento do projeto.

6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECKER, E. W. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. New York: Cambridge University Press, 1994.

BERTOLDI, F. C.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. L. B. *Revisão: Biotecnologia*

de Microalgas. B. CEPPA, v. 26, p. 9-20, 2008.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. *Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil: Chave para Identificação e Descrições*. São Carlos: Editora RiMa, 2005.

BONINI, M. A. *Cultivo heterotrófico de Aphanothece microscópica Nægeli e Chlorella vulgaris em diferentes fontes de carbono e em vinhaça*. 2012, 96p. Dissertação de Mestrado - Universidade Federal de São Carlos, Curso de Agricultura e Ambiente, Centro de Ciências Agrárias. Araras-SP.

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 de Doutorado, Universidade Federal de Campina Grande, Programa de Pós Graduação em Engenharia Química. Campina Grande-PB.

GUILLARD, Robert R. L.; LORENZEN, Carl J. *Yellow-green algae with chlorophyll *a* and *b**, 2. *Journal of Phycology*, v. 8, p. 10-14, 1972.

LOURENÇO, S. O. *Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações*. São Carlos: Editora RiMa, 2006.

MARTÍNEZ, M. E.; SÁNCHEZ, S.; JIMÉNEZ, J. M.; EL YOUSFI, F.; MUÑOZ, L. *Nitrogen and phosphorus removal from urban wastewater by the microalga Scenedesmus obliquus*. *Bioresource Technology*, v.73, p. 263-272, 2000.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. *Biofixation of Carbon Dioxide by Spirulina sp. and Scenedesmus obliquus Cultivated in a Three-Stage Serial Tubular Photobioreactor*. *Journal of Biotechnology*, v.129, p. 439–445, 2007.

PITTMAN, J. K.; DEAN, A. P.; OSUNDEKO, O. *The potential of sustainable algal biofuel production using wastewater resources*. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 17-25, 2011.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.S. *Limnologia aplicada à aquicultura*. Jaboticabal: Funep, 1995.

SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBERT, A. *Commercial applications of microalgae*. *Journal of*

Bioscience and Bioengineering, v. 101, p. 87-96, 2006.

KLEIN, B. C. *Cultivo de microalgas para a produção de bioetanol de terceira geração.*

2013, 128p. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Engenharia Química. Campinas –SP.

