

CULTIVATION OF *Spirulina Platensis* AT HIGH CONCENTRATIONS OF INDUSTRIAL EFFLUENT, AIMING THE PRODUCTION OF BIOFUELS

Francine de S. Sossella, Marcelo Hemkemeier

Universidade de Passo Fundo - UPF

Faculdade de Engenharia e Arquitetura, Campus I – Passo Fundo - RS

fransossella@hotmail.com; marceloh@upf.br

Abstract. Seeking more sustainable sources for biofuel production, microalgae have been object of study. A difficulty in their cultivations is the high investment to ensure that the conditions are met, to resolve this problem, a solution would be to alternate means of cultivation production, as for example, wastewater containing nutrients that are essential to the growth of species of microalgae. The brewery effluent contains these characteristics and thus, this study had as objective to carry out cultivation of microalgae *Spirulina platensis* LEB 52 in cultivation with addition of 60% and 80% of effluent. The cultivations were held in erlenmeyers of 2 litres, controlled as luminosity, aeration and temperature. The results were up 62% for nitrate removal and 75% for phosphorus removal, showing to be an alternative to the treatment of effluents, as well as final biomass with approximately 43% of carbohydrate accumulation, which can be converted into biofuel.

Palavras-chave: Efluente industrial, Biotecnologia, microalgas

1. INTRODUÇÃO

O descarte de efluentes, resíduos líquidos de qualquer que seja o processo produtivo, com elevados teores de matéria orgânica em recursos hídricos acarreta a contaminação dos mesmos, podendo muitas vezes levar à eutrofização, devido às altas concentrações de nitrogênio e fósforo presentes. O tratamento adequado dessas águas residuárias muitas vezes pode se tornar caro e ineficiente, podendo submeter à empresa multas e notificações ambientais.

Em paralelo, com a busca por fontes mais limpas de energia está em pauta a produção de biocombustíveis. Estes podem ser produzidos a partir de diversas fontes, dividindo-se em 1ª geração (milho, cana-de-

açúcar, soja), 2ª geração (biomassa lenhocelulósica) e 3ª geração (microalgas).

A grande vantagem da utilização das microalgas se encontra no rendimento comparado à área necessária para os cultivos (L de óleo/ha.ano). Quando o rendimento do milho, por exemplo, é 172 L de óleo/ha ano, a microalga alcança rendimentos de 58700 L óleo/ha ano. A necessidade de área para produção de 1 kg de biodiesel utilizando a canola é 12 m², utilizando soja, 18 m² e microalga 0,2 m² (MATA *et al.*)[1].

Para sua produção se tornar viável economicamente, uma alternativa pode ser utilização de efluentes que possuem características biodegradáveis e nutrientes necessários ao desenvolvimento das microalgas. Alguns estudos levantados por Abdel-Raiouf [2] confirmam a capacidade deste uso, como Lau *et al.* [3] que relatou remoção de 86% para nitrogênio inorgânico e 78% para fósforo inorgânico utilizando *Chlorella vulgaris* e Colak e Kaya [4] relataram remoção de nitrogênio de 50,2% e fósforo de 85,7% utilizando efluente industrial, e quando utilizando efluente doméstico alcançou eficiência de remoção de fósforo de 97,8%.

O objetivo geral deste trabalho foi realizar cultivos da microalga *Spirulina platensis* LEB 52 em meio de cultivo contendo adição de efluente proveniente de maltaria visando produção de biocombustíveis.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

O local da coleta das amostras de efluente foi a Estação de Tratamento de Efluentes de uma maltaria, localizada no município de Passo Fundo - RS. A pesquisa foi conduzida no Laboratório de Fermentações do Curso de Engenharia de Alimentos e Laboratório de Química, Efluentes e Saneamento Ambiental do Curso de Engenharia Ambiental, da Universidade de Passo Fundo.

A coleta do efluente foi realizada na saída do tratamento biológico, em frasco de polietileno e conservada em refrigerador a 4°C até a realização das análises de caracterização, que foram: demanda química de oxigênio (DQO), demanda bioquímica de oxigênio (DBO), Nitrogênio Total Kjeldahl (NTK), nitrogênio amoniacal, nitrogênio orgânico, nitrato, fósforo total, pH e turbidez.

A adaptação das microalgas foi realizada previamente, em erlenmeyers de 2 L, com a adição de 1 mL de efluente diariamente, num período de 10 dias.

A microalga selecionada para essa pesquisa foi a *Spirulina platensis* LEB 52, obtida da coleção do Laboratório de Fermentações do Curso de Engenharia de Alimentos da Universidade de Passo Fundo (UPF) e cultivada em meio proposto por Zarrouk [5].

Os cultivos foram realizados em modo descontínuo, em duplicata, em erlenmeyer de 2 L, com volume útil de 1,8 L, adicionados de 60% e 80% de efluente de maltaria e complementando com o meio de cultivo Zarrouk. As quantidades de fontes de nitrogênio e fósforo do meio de cultivo padrão foram alteradas a fim de que as microalgas utilizem as fontes presentes no efluente.

Os cultivos foram conduzidos em estufa termostaticada não estéril, a 30 °C, com fotoperíodo de 12 h claro/escuro, iluminação de 1800 lux, aeração promovida por bombas de diafragma, com concentração inicial de inóculo de 0,15 g.L⁻¹ e mantidos até a fase de declínio.

A justificativa da escolha das concentrações de efluente e as microalgas é o trabalho realizado por Vendruscolo [6], que realizou a seleção de microalgas quando submetidas a 30% do efluente de maltaria.

Foi realizado acompanhamento dos cultivos quanto a crescimento celular diariamente, determinado a 670 nm em espectrofotômetro, a partir de curva de calibração; pH também diariamente, pelo método potenciométrico; determinação de carboidratos pelo método de Dubois [7] ao final do cultivo; análises de nitrato, fósforo e DQO com amostras do primeiro dia de cultivo e último dia.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O pH determina a solubilidade do dióxido de carbono e minerais no meio e influencia direta ou indiretamente o metabolismo das algas (BECKER) [8]. Apesar da adição do efluente que tem pH na faixa de 7 – 8, o meio de cultivo é alcalino, principalmente porque o componente em maior concentração é o bicarbonato de sódio (NaHCO₃) que tem função de tamponamento, elevando o pH dos cultivos e tornando ideal para o desenvolvimento da microalga, que conforme apontado por Park *et al.* [9] se mantém na faixa de 8 - 10, e quando fora dessa faixa, afeta não apenas o crescimento das algas, como também a capacidade de remover nitrogênio e outros nutrientes. O pH dos cultivos permaneceu na faixa ideal, segundo a Ref. [9], como pode ser observado na Fig. 1. O mesmo perfil se apresenta no cultivo com 80% de efluente, que não está apresentado em forma de figura.

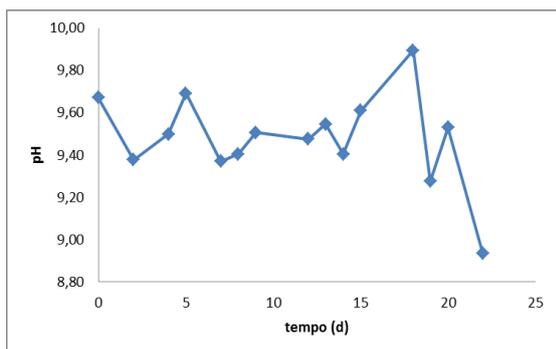


Figura 1. Variação do pH no cultivo da *Spirulina platensis* LEB 52 com 60% de efluente.

Quanto ao crescimento, os resultados quando comparados com ensaios realizados sem adição de efluente são inferiores. Estudos como de Klein [10] alcança uma concentração final de biomassa de *Chlorella vulgaris* de aproximadamente 2 g/L.

Observando a Fig. 3 e Fig. 4, conclui-se que as fases de crescimento não são bem definidas. Segundo a Ref [1], as microalgas se desenvolvem em diferentes fases: fase de lag, uma fase de adaptação das células ao meio de cultivo; fase 2, fase de aceleração, observa-se uma faixa de crescimento na concentração; fase 3 é caracterizada por um crescimento exponencial; fase 4 é estacionária, ou seja, o crescimento máximo foi alcançado, já que os nutrientes foram consumidos; finalmente a fase 5 é de declínio, onde há um decréscimo no número de células.

Nos cultivos realizados, principalmente há ausência de uma fase LAG – fase de adaptação. Um provável motivo desse comportamento é de que a espécie já estava previamente adaptada ao efluente e às condições de cultivo (fotoperíodo, intensidade luminosa, aeração...) (MEINERZ) [11], e, portanto, ocorrendo a adição do efluente, já iniciou na fase de aceleração.

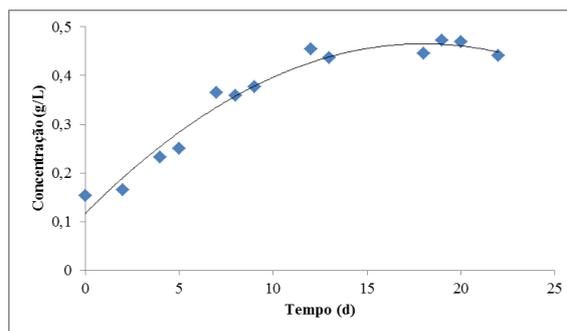


Figura 2. Curva de crescimento para cultivo com 60% de efluente.

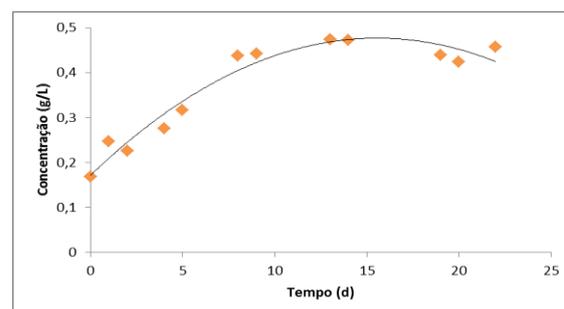


Figura 3. Curva de crescimento para cultivo com 60% de efluente.

As concentrações finais de biomassa foram semelhantes para os cultivos, sendo $0,441 \text{ g.L}^{-1}$ para o cultivo com 60% de efluente e $0,457 \text{ g.L}^{-1}$ para o cultivo com 80%. A biomassa foi avaliada quanto a teor de carboidratos intracelulares, obtendo para o cultivo com 60% de efluente cerca de 40% de carboidratos e para o cultivo com 80%, 43%. Os resultados de produtividade foram analisados estatisticamente, por teste de Tukey e análise de variância, não apresentando diferença estatística entre si.

Avaliando as remoções de nitrato e fósforo, cujos resultados estão na Tab. 1, pode-se confirmar a eficiência do uso da *Spirulina platensis* no tratamento desse efluente.

Tabela 1. Remoção de fósforo e nitrato.

Conc. efluente (%)	Remoção fósforo (%)	Remoção nitrato (%)
60%	$72,21 \pm 3,59$	$62,91 \pm 1,05$
80%	$75,28 \pm 0,59$	$43,90 \pm 12,79$

Segundo Beuckels *et al.* [12], as microalgas acumulam mais P quando as concentrações de N são elevadas. Em alguns casos, como a Ref. 6, a manutenção da proporção N:P é realizada, mantendo em 5:1.

Outros gêneros e outros efluentes foram objeto de estudo em pesquisas semelhantes, por exemplo, SILVA [13] utilizando a *Chlorella vulgaris* obteve uma remoção em % de 80,5 de nitrato e 51,9 de fósforo do efluente hidropônico. Méndez [14] alcançou remoção de nitrato e de fósforo pela *Chlorella spp.* em efluente doméstico de, respectivamente, 61,45% e 61,68%.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *Spirulina platensis* LEB 52 demonstrou eficiência na remoção de fósforo e nitrato, podendo ser utilizada como uma alternativa no tratamento de efluentes.

Ainda, a utilização do efluente com sucesso, mostra uma alternativa à produção de biocombustíveis, já que houve bom acúmulo de carboidratos, tornando a produção pela 3ª geração mais viável economicamente.

Agradecimentos

À Universidade de Passo Fundo, pela bolsa de Iniciação Científica.

REFERÊNCIAS

- [1] MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2009. Disponível em: <doi:10.1016/j.rser.2009.07.020>.
- [2] ABDEL-RAOUF, N.; AL-HOMIDAN, A. A.; IBRAHEEM, I. B. M. Microalgae and wastewater treatment. *Saudi Journal of Biological Sciences*, v. 19, p. 257-275, 2012. Disponível em : < doi:10.1016/j.sjbs.2012.04.005>.
- [3] Lau, P.S., Tam, N.F.Y., Wong, Y.S., 1996. Wastewater nutrients removal by *Chlorella vulgaris*: optimization through acclimation. *Environ. Technol.* 17 (2), 183–189.
- [4] Colak, O., Kaya, Z., 1988. A study on the possibilities of biological wastewater treatment using algae. *Doga Biyolji Serisi* 12 (1), 18–29.
- [5] ZARROUK, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée: influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. 1966. Tese (Ph.D), Universidade de Paris, Paris, 1966.
- [6] VENDRUSCOLO, L. P. Cultivo de microalgas com efluente de maltaria para obtenção de biocombustíveis. 2016. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia de Alimentos, Faculdade de Agronomia e Medicina Veterinária, Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, 2016.
- [7] DUBOIS, M.; GILLES. K.A.; HAMILTON, J.K.; REBERS, P.A.; MITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. *Analytical Chemistry*, v. 28, p. 350-356, 1956.
- [8] BECKER, E. W. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press, 1995. 292 p.
- [9] Park J, R Craggs & A Shilton. 2011a. Wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. *Bioresource Technology* 102: 35-42.
- [10] KLEIN, B. C. Cultivo de microalgas para produção de bioetanol de terceira geração. 2013. Dissertação (Mestrado em Engenharia química na Área de Concentração de Desenvolvimento de Processos Químicos) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2013.
- [11] MEINERZ, L. I. 2016. Influência da temperatura, salinidade e nutrientes dissolvidos (N e P) no cultivo de microalgas de água estuarina e costeira. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós Graduação em Aquicultura, Universidade Federal de Rio Grande, Rio Grande, 2007.
- [12] BEUCKELS, A.; SMOLDERS, E.; MUYLEAERT, K. Nitrogen availability influences phosphorus removal in microalgae-based wastewater treatment. *Water Research*, v. 77, p. 98-106, 2015.
- [13] SILVA, F. Biorremoção de nitrogênio, fósforo e metais pesados (Fe, Mn, Cu, Zn) do efluente hidropônico, através do uso de *Chlorella vulgaris*. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agroecossistemas, Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.
- [14] MÉNDEZ, N. J. Evaluacion de la remoción de fosforo y nitrogenio de aguas residuales por el alga *Chlorella ssp.* *Revista Institucional de la Facultad de Salud.Colombia.* 2, p. 41-46. 2003.

