

EFEITO DA FLOCULAÇÃO QUÍMICA NA SEPARAÇÃO E COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA DE *DESMODESMUS SUBSPICATUS* VISANDO PROCESSOS DE TRATAMENTO DE ÁGUAS RESIDUÁRIAS

Noreyni Ndyaié¹, Luiz F. A. de Mattos^{2*}, Reinaldo G. Bastos³

1 Graduando em Biotecnologia, Aluno de Iniciação Científica, Centro de Ciências Agrárias , UFSCAR, Araras – SP, Fone: (0XX19) 3543-2662, nondyaie@gmail.com.

2 Farmacêutico, Auxiliar em Pesquisa, Centro de Ciências Agrárias , UFSCAR, Araras – SP.

3 Engenheiro de Alimentos, Prof. Adjunto, Departamento de Tecnologia Agroindustrial e Sócio-Economia Rural, Centro de Ciências Agrárias , UFSCAR, Araras – SP.

*Autor para correspondência: arjonilla.lf@hotmail.com

Apresentado no

XLIV Congresso Brasileiro de Engenharia Agrícola – CONBEA 2015

13 a 17 de Setembro de 2015 – São Pedro – SP, Brasil

RESUMO

Os sistemas de tratamento de efluentes por microalgas comumente terminam com um percentual de sólidos suspensos entre 0.1 e 1.0%, cuja separação demanda muita energia, dado o grande volume a ser processado. Uma forma de aumentar a eficiência nesse processo é a condução de uma etapa de floculação-decantação previamente à filtração ou centrifugação, com o objetivo de concentrar a biomassa em uma fração de volume menor, diminuindo assim o tempo de operação do sistema e consequentemente seu consumo energético. Sendo assim, avaliou-se a eficiência flocculante e o efeito dos íons Al^{3+} , Ca^{2+} e Fe^{2+} sobre a composição da biomassa de *Desmodesmus subspicatus*. Nos ensaios, inicialmente titulou-se suspensões de cultivo com soluções de $Al_2(SO_4)_3$, $CaCl_2$ e $FeCl_2$ em jarros (*Jar test*) a fim de determinar a quantidade ótima para a adição do flocculante. Assim, foi possível observar intensa floculação da biomassa quando adicionados Al^{3+} e Fe^{2+} à suspensão, porém nenhuma floculação foi observada com Ca^{2+} . Além disso, observou-se uma drástica mudança na composição da biomassa floculada com Al^{3+} e uma discreta mudança naquela floculada com Fe^{2+} , cujos teores lipídicos foram de 6.8 e 11.3%, respectivamente, quando comparadas com um controle apenas centrifugado, cujo teor lipídico encontrado foi de 14.8%.

PALAVRAS-CHAVE: *Desmodesmus*, floculação, produção de biomassa.

ABSTRACT

Microalgae based waste water treatment systems usually end up with a suspended solids content between 0.1 and 1.0%, whose separation demands a lot of energy, given the high volume to be processed. A way of enhancing the efficiency of these processes is conducting a flocculation-decantation step before filtration or centrifugation, aiming to concentrate biomass in a smaller volume, decreasing this way the operation time of the system, and so its energy demand. Thus, in this paper the flocculant efficiency and the effect of Al^{3+} , Ca^{2+} and Fe^{2+} in *Desmodesmus subspicatus* biomass composition were evaluated. Initially suspended culture broths were titrated with $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, CaCl_2 and FeCl_3 solutions in jars (jar-test) aiming to fix the optimum amount of flocculant to be added. Proceeding this way, it was possible to observe intense flocculation of biomass when added Al^{3+} and Fe^{2+} to the suspension, but none could be observed when Ca^{2+} was added. Furthermore, a drastic change in biomass composition was observed in biomass flocculated with Al^{3+} and a slight change was observed in that flocculated with Fe^{2+} , whose lipid content were 6.8 and 11.3% respectively, when compared with the centrifuged control, whose lipid content was 14.8%.

KEY-WORDS: *Desmodesmus*, flocculation, biomass production

INTRODUÇÃO

Microalgas têm sido pesquisadas na última década como potenciais produtoras de insumos para a indústria farmo-química e alimentícia pela grande diversidade de compostos que são capazes de produzir (Perez-Garcia et al., 2011). Principalmente pelo seu alto teor lipídico e eficiência na utilização do espaço produtivo, têm sido também foco de uma corrida do ouro pela produção de biodiesel de microalgas, como uma matriz sustentável de combustível teoricamente não competidora com a produção de alimentos (Sheehan et al. 1998)

Sendo uma tecnologia ainda economicamente inviável, certas abordagens vêm sendo pesquisadas para a diminuição de custos, sendo uma delas a utilização de efluentes na produção de microalgas, associando o tratamento de água à produção de biomassa, acoplando processos aumentando a eficiência global das plantas produtivas (De Mattos e Bastos, 2015; Colmenares- Roldan et al., 2012; Sheehan et al. 1998).

De Mattos e Bastos (2015) cultivando *Desmodesmus* sp. em vinhaça registraram consumos de 52.1% e 36.2% da concentração total de nitrogênio e DQO da vinhaça em 30 horas de cultivo heterotrófico desta microalga com produtividade de biomassa acima de $100 \text{ mg.L}^{-1}.\text{h}^{-1}$. Em situação semelhante, Martinez et al. (2000), cultivando *Scenedesmus* sp. registraram reduções acima de 90% das concentrações de fósforo e nitrogênio de efluente de tratamento secundário de esgoto doméstico.

Em paralelo às alternativas de baixo custo para a produção da biomassa, um enfoque de suma importância é o da redução de custos também no processamento da biomassa produzida, uma vez que o teor de sólidos em suspensão no cultivo dificilmente passa de 1.0%, implicando em alto custo na separação mecânica da biomassa do meio (Borowitzka, 1992).

A alternativa mais comum para a redução do volume a ser processado em filtro ou centrífuga é a floculação e coagulação do material em suspensão e sua separação da fração de

maior volume por decantação ou flotação, utilizando para isso agentes flocculantes minerais ou poliméricos como o $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, o FeCl_3 , polímeros catiônicos e os taninos vegetais (Richter e Azevedo Netto, 2003; Gris, 2014).

Nesse contexto e considerando-se o baixo custo dos flocculantes minerais, o objetivo deste trabalho foi avaliar a eficiência na flocculação da biomassa de *Desmodesmus subspicatus* utilizando flocculantes minerais comumente empregados em larga escala, quantificando as perdas inerentes ao processo e o impacto da adição dos mesmos na composição da biomassa recuperada.

MATERIAL E MÉTODOS

Manutenção de inóculo e cultivo

Para a manutenção das cepas em nosso banco de culturas e o seu cultivo autotrófico em escala piloto (200L) foi utilizado o meio Braun-Grunow *Medium* (BGN) como modificado por Ripka *et al.* (1979) composto de: K_2HPO_4 (30.0 mg.L^{-1}), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (75.0 mg.L^{-1}), $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (36.0 mg.L^{-1}), Citrato de amônio férrico (6.0 mg.L^{-1}), Na_2EDTA (1.0 mg.L^{-1}), Ácido cítrico (6.0 mg.L^{-1}), Na_2CO_3 (20.0 mg.L^{-1}), NaNO_3 (1500.0 mg.L^{-1}), NaCl (72.0 mg.L^{-1}), H_3BO_3 ($2860.0 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ ($1810.0 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ($220.0 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$), $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ($390.0 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ($79.0 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$), $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ ($40.0 \text{ }\mu\text{g.L}^{-1}$).

Para a manutenção e propagação do inóculo de 20 mL até 20 L, os meios de cultura foram preparados e prontamente esterilizados em autoclave a 121°C por 30 minutos, sendo toda repicagem ou propagação realizada assepticamente em capela de fluxo laminar. Em escala piloto de 200L a água utilizada para a preparação do meio de cultivo foi tratada com hipoclorito de sódio, previamente à adição das soluções-estoque dos nutrientes do meio de cultivo, neutralizado com tiosulfato de sódio.

A biomassa utilizada nos experimentos de flocculação foi proveniente de uma mesma amostragem de um tanque de cultivo de 200L do sistema piloto, conforme ilustrado na figura 1.



Figura 1: Sistema piloto de produção de microalgas do CCA/UFSCAR.

Floculação

Em um teste de jarros (*Jar test*) foram testados os agentes floculantes $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$, CaCl_2 e FeCl_3 em suspensões de 200 mg.L^{-1} da microalga *Desmodesmus subspicatus* cuja eficiência de floculação foi avaliada através da quantificação da redução do volume a ser processada após o tratamento físico-químico, da quantidade de agente floculante utilizada, do tempo de decantação, da recuperação efetiva de biomassa e seus constituintes ao final do processamento e do acúmulo dos metais constituintes desses sais na biomassa.

A redução do volume foi quantificada através da relação entre o volume final a ser processado e o volume inicial. A quantidade ótima de agente floculante foi determinada por titulação de uma suspensão algácea de concentração conhecida utilizando o tempo de decantação como indicador do ponto de virada.

Recuperação da biomassa

A recuperação de biomassa por floculação seguida de decantação, e conseqüentemente a perda inerente a esse processo, foi quantificada pela diferença entre a concentração de sólidos suspensos inicial e a do sobrenadante após a separação do decantado, sendo relativizada em porcentagem para melhor comparação dos resultados.

A concentração de sólidos suspensos foi obtida por filtração a vácuo em frasco Kitasato e aparato de filtração de 5.0 mL de suspensão algácea, utilizando filtros de acetato de celulose com porosidade de $0.45 \mu\text{m}$ previamente secos e pesados. Após a filtração, os filtros foram secos por uma hora em estufa a 105°C , então colocados em dessecador para esfriar e posteriormente foram pesados. A massa seca foi obtida pela diferença entre a massa da membrana limpa e após a filtração, secagem e resfriamento.

Composição da biomassa

Considerando as características reológicas heterogêneas entre os diferentes centrifugados derivados dos decantados obtidos após a floculação, realizou-se a análise de umidade do material pesando-se aproximadamente 10 g de material úmido após centrifugação em vidro de relógio seco a 105°C por 24 horas em estufa de secagem, devidamente identificado e com sua massa anotada, e deixando secar em estufa de secagem a 105°C por 24 horas. Após a retirada do material da estufa, o mesmo foi colocado para resfriar em dessecador com sílica gel, pesando posteriormente em balança analítica Metler Toledo[®] AE160. A umidade foi calculada a partir da porcentagem de massa perdida após a secagem (AOAC, 1995).

O teor lipídico foi quantificado utilizando a biomassa centrifugada, após floculação e decantação, ainda úmida através do método descrito por Bligh e Dyer (1959), tendo como controle a biomassa centrifugada diretamente do tanque de cultivo, sem tratamento químico, sendo expressa em percentual relativo e em mg.L^{-1} recuperado do meio uma vez observadas distorções na comparação dos dados apenas em percentual relativo.

O teor de proteínas foi obtido pela multiplicação do resultado da análise de nitrogênio total da biomassa, realizada em um analisador TOC - LCPN SHIMADZU[®], pelo fator 6.25, obtendo com isso a quantidade de proteína bruta por massa seca, sendo expressa em percentual relativo e em mg.L^{-1} recuperado do meio uma vez observadas distorções na comparação dos dados apenas em percentual relativo.

A quantificação de ferro e alumínio na biomassa após a decantação, centrifugação e secagem foi realizada inicialmente calcinando 200 mg das amostras tratadas e do controle por 3 horas a temperatura entre 500 e 600°C. Para a análise de ferro adicionou-se 5mL de uma solução de HCl 1N às cinzas e completou-se o volume para 50 mL. A amostra foi analisada em espectrômetro de absorção atômica Perkin Elmer AAnalist 400 e seu resultado expresso em mg.kg⁻¹. Para análise de alumínio adicionou-se 10mL de uma solução de HCl 2N e procedeu-se a análise pelo método colorimétrico do aluminon utilizando o ácido aurintricarboxílico como indicador.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A figura 2 apresenta os perfis de tempo de floculação pela quantidade de Al₂(SO₄)₃ e FeCl₃ adicionados a suspensões de cultivo de *Desmodesmus subspicatus* com concentração 200 mg.L⁻¹ onde se pode verificar o ponto ótimo de adição dos flocculantes em termos de economia de tempo no processo de decantação.

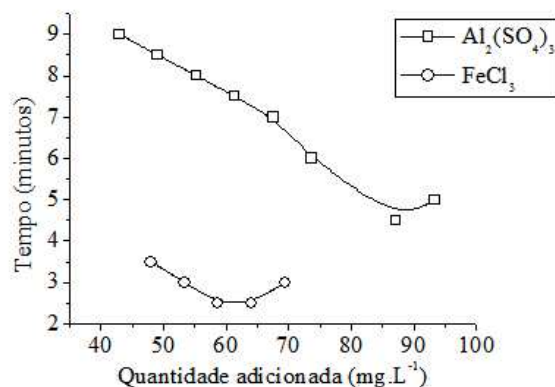


Figura 2: Relação entre adição de agente flocculante e tempo de decantação de uma suspensão de 200 mg.L⁻¹ de *D. subspicatus*.

Na figura é possível observar que a adição de 87.2 mg de Al₂(SO₄)₃ a 1000 mL de solução foi capaz de realizar a decantação em menor tempo para esse agente flocculante, cerca de 5 minutos, entretanto a massa de 61.4 mg de FeCl₃ aplicada ao mesmo volume de suspensão foi capaz de realizar o mesmo trabalho em metade do tempo observado (2.5 minutos), enquanto nenhuma quantidade de CaCl₂ foi capaz de realizar a floculação da biomassa.

Esses resultados estão de acordo com aqueles obtidos por Chen et al. (2013) que apontam recuperação de biomassa de *Scenedesmus sp.* superior a 90% após 10 minutos da aplicação de Al₂(SO₄)₃ e 2 minutos da aplicação de FeCl₃ em concentrações de 300 mg.g⁻¹ e 150 mg.g⁻¹ respectivamente. Gerde et al. (2014) também observou eficiência de recuperação de biomassa acima de 90% utilizando 250 mg.g⁻¹ de Al₂(SO₄)₃ apontando, porém a qualidade menos densa dos flocos formados com Al₂(SO₄)₃ quando comparados com aqueles formados utilizando amido catiônico.

O volume final alcançado tanto para a suspensão testada com Al₂(SO₄)₃ quanto com FeCl₃ foi de 100 mL para 1000mL de volume total tratado, como apresentado na figura 3,

representando, com isso, um ganho de 90% do tempo de filtração ou centrifugação do material.



Figura 3: Volume da suspensão após decantação.

Após a decantação da suspensão uma centrifugação a 3500 rpm (1250 xg) por 3 minutos foi realizada com a finalidade de separar a biomassa do restante da suspensão e, considerando características heterogêneas entre as biomassas obtidas após os dois tratamentos, procedemos uma análise de umidade no centrifugado para determinar o teor de sólidos totais, cujos dados são apresentados na figura 4.

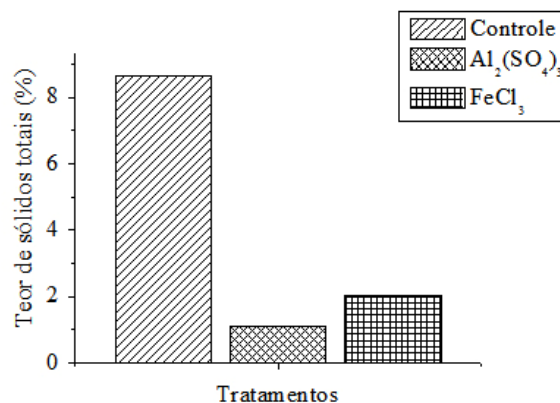


Figura 4: Teor de sólidos após centrifugação do decantado.

Foi possível observar que, comparadas à biomassa centrifugada sem tratamento, as biomassas decantadas terminaram a centrifugação com teor de sólidos totais inferior, sendo de 1.1% na biomassa tratada com Al₂(SO₄)₃ e 2.0% naquela tratada com FeCl₃ contra os 8.6% daquela sem tratamento.

Comparados com os valores de sólidos totais ao final da centrifugação comumente relatados na literatura, nossos resultados se mostraram abaixo da média (10 a 22 %) até mesmo para o controle, possivelmente pelo baixo tempo de operação (3 minutos) comparado com os tempos de 10 a 30 minutos praticados comumente (Milledge e Heaven, 2013).

A alta umidade após o tratamento com Al₂(SO₄)₃ e FeCl₃, quando comparada àquela da biomassa centrifugada sem tratamento, pode estar relacionada ao acúmulo de água no interior

dos flocos formados, o que torna sua remoção mais difícil quando comparada à água livre presente entre as células não floculadas.

Após secagem da biomassa em liofilizador e pesagem do material seco foi possível determinar as perdas inerentes ao processamento da biomassa através de comparação entre a quantidade de biomassa obtida ao final com a concentração de biomassa determinada na suspensão inicial. Os resultados são apresentados na figura 5 e mostram excelente recuperação de biomassa no tratamento com FeCl_3 , com perdas semelhantes entre o processamento sem tratamento e o processamento após tratamento com $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$.

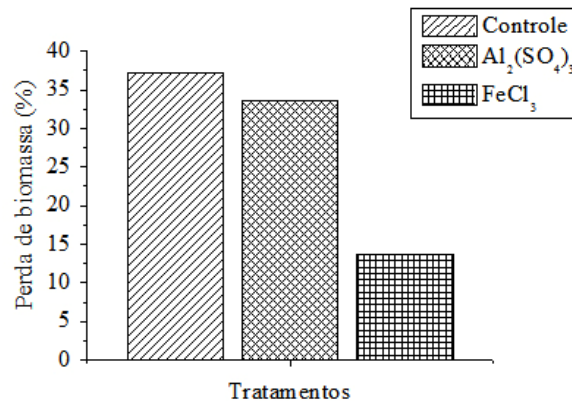


Figura 5: Perdas ao final do processamento da biomassa de *D. subspicatus*.

Considerando-se o sistema simples de decantação utilizado e o curto tempo de centrifugação aplicado, pode-se dizer que sistemas de decantação, ou de flotação (Gris, 2014), mais eficientes que o tanque cilíndrico de decantação em batelada e um tempo de centrifugação maior poderiam diminuir ainda mais as perdas quantificadas nesse experimento, aproximando a uma recuperação quase total da biomassa no caso do tratamento com FeCl_3 .

Quanto a composição da biomassa, o percentual protéico, lipídico e de cinzas das biomassas analisadas são apresentados na figura 6, onde se pode observar resultados semelhantes entre os tratamentos com FeCl_3 e $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ e o controle centrifugado sem tratamento no que tange a composição nutricional da biomassa, apenas o teor de cinzas variando de forma significativa entre as três condições.

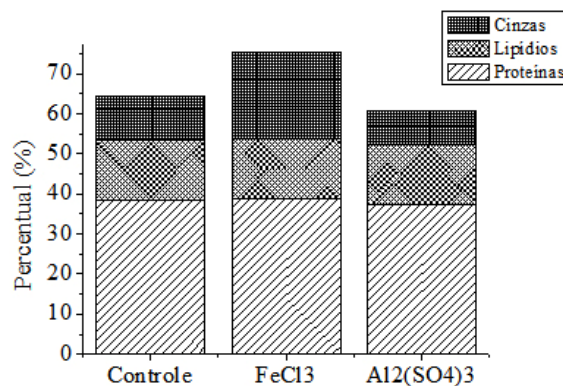


Figura 6: Composição da biomassa de acordo com os tratamentos.

A diferença praticamente nula na composição nutricional das biomassas separadas por floculação/decantação quando comparadas com a biomassa apenas centrifugada indica que o tratamento físico-químico não teve impacto na qualidade da biomassa em termos energéticos. Porém, como se pode notar no teor de cinzas, a biomassa tratada com FeCl_3 teve seu teor de cinzas elevado devido à complexação do Fe^{3+} com outros elementos do meio precipitando-se junto à biomassa.

Na análise em espectrômetro de absorção atômica, verificou-se que a concentração de Fe^{3+} na biomassa tratada com FeCl_3 , chegou a $1090.0 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$, valor 3.75 vezes maior que aquele observado no controle, cuja concentração observada foi de $290.0 \text{ mg} \cdot 100\text{g}^{-1}$ e também 500 vezes maior que a média da carne bovina encontrada na Tabela Brasileira de Composição dos Alimentos (NEPA-UNICAMP, 2011). A alta concentração de Fe^{3+} ao final do processamento da biomassa pode ser encarado como uma forma de suplementação de ferro em sua forma mais importante para a saúde humana (Germano et al., 2002), tornando a biomassa produzida uma fonte rica em ferro no caso da utilização como *single-cell protein*.

CONCLUSÕES

Ao final deste trabalho foi possível concluir que a floculação com FeCl_3 seguida de decantação foi mais eficiente que aquela realizada utilizando $\text{Al}_2(\text{SO}_4)_3$ ou CaCl_2 , não apenas em termos de quantidade a ser aplicada de agente floculante, mas também pelo menor tempo de decantação e pela maior coesão dos flocos, o que permitiu maior recuperação de biomassa do meio.

Dentre os benefícios encontrados na utilização do FeCl_3 para a floculação da biomassa de *D. subspicatus* está a sua pouca interferência na composição nutricional da biomassa e a adsorção de Fe^{3+} pela mesma, tornando-a uma potencial fonte de ferro e ácidos graxos poliinsaturados na alimentação de humanos e animais.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer ao Laboratório de Análises Químicas de Solo e Planta do CCA/UFSCAR pela análise de metais de nossas amostras, e à Algae Biotecnologia e ao BNDES pelo apoio financeiro.

REFERÊNCIAS

Borowitzka, M. A. Algal biotechnology products and processes: Matching science and economics. *Journal of Applied phycology*, v.4, n.3, p.267-279, 1992.

Chen, L.; Wang, C.; Wang, L. e Wei, J. Optimal conditions of different flocculation methods for harvesting *Scenedesmus* sp. Cultivated in an open-pond system. *Biosource Technology*, v. 133, p. 9-15, 2013.

Colmenares-Roldan, G.; Rendón-Castrillón, L.; Ramírezcarmona, M.; Velez-Salazar, Y. Wastewater treatment by using algae as potential for biodiesel production. *Proceedings of Algal Biomass, Biofuels and Bioproducts*. Elsevier. San Diego, CA, Estados Unidos, 2012.

De Mattos, L. F. A.; Bastos, R. G. COD and nitrogen removal from sugarcane vinasse by heterotrophic green algae *Desmodesmus* sp. *Desalination and Water Treatment*. Published online: 31 Mar 2015. doi: 10.1080/19443994.2015.1028454.

Gerde J. A.; Yao, L.; Lio, J. Y.; Wen, Z. e Wang T. Microalgae flocculation: Impact of flocculant type, algae species and cell concentration. *Algae Research*, v. 3, n.1, p. 30-35, 2014.

Germano, R. M. A.; Canniatti-Brazaca, S. G. Importância do ferro em nutrição humana, *Nutrire: Revista da Sociedade Brasileira de Alimentação e Nutrição*, v.24, p.85-104, 2002.

Gris, L. R. S. Recuperação de *Scenedesmus* sp. por floculação e flotação por ar dissolvido. Trabalho de diplomação em engenharia química, UFRGS, Porto Alegre – RS, defendido em 09/12/2014. 46 pp.

Martinez, M. E.; Sanches, S.; Jimenez, 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.

Milledge, J. e Heaven, S. A review of the harvesting of micro-algae for biofuel production. *Reviews in Environmental Science and Bio/Technology*, v. 12, n. 2, p. 165-178, 2013.

Núcleo de Estudos e Pesquisa em Alimentação da UNICAMP. Tabela Brasileira de composição dos alimentos, 4ª Edição Revisada e Ampliada, Campinas – NEPA/UNICAMP, 2011.

Perez-Garcia, O.; Escalante, F.M.E.; De-Bashan, L.E.; Bashan, Y. Heterotrophic cultures of microalgae: Metabolism and potential products, *Water Research*, v. 45, p. 11-36, 2011.

Richter, C. A.; Azevedo Netto, J. M. Tratamento de água: Tecnologia atualizada. São Paulo, Ed. Edgard Blucher, 2003.

Sheehan, J.; Dunahay, T.; Benemann, J. e Roessler, P. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae. National Renewable Energy Laboratory, Report NREL/TP-580-24190, 1998.