



Cultivo da Microalga *Chlorella Vulgaris* em Fotobiorreator de Placas Planas e Produção de Ésteres por Transesterificação *In Situ*¹

Valeria Ferreira Cavalcanti², Bruna Elise Sauer Leal³, Marcelo Real Prado⁴, Anderson Cardoso Sakuma⁵, Leandro Andrade Pegoraro⁶, Luiz Pereira Ramos⁷

¹ Aceito para publicação no 3º Trimestre de 2014

² Mestranda em Bioenergia na Universidade Federal do Paraná- UFPR, valfcavalcanti@gmail.com

³ Mestranda em Ciência e Tecnologia Ambiental na Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR, lealbrunaa@hotmail.com

⁴ Professor do Departamento Acadêmico de Química e Biologia na Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR, mrealprado@utfpr.edu.br

⁵ Doutorando em Engenharia Mecânica na Universidade Federal do Paraná, Anderson.sakuma.tecpar@gmail.com

⁶ Doutorando em Engenharia Mecânica e de Materiais na Universidade Tecnológica Federal do Paraná- UTFPR, eandropgoraro@gmail.com

⁷ Professor do Departamento de Química na Universidade Federal do Paraná- UFPR, luiz.ramos@ufpr.br

Resumo

O presente trabalho visou obter a biomassa liofilizada da microalga *Chlorella vulgaris*, cultivada em fotobiorreatores de placas planas, e avaliar seu potencial de produção de ésteres alquílicos por transesterificação *in situ*. O cultivo foi feito em meio Chu suplementado por emissões geradas na queima do carvão em uma churrascaria. A obtenção da biomassa seca foi feita por eletroflotação, seguida de decantação, congelamento e liofilização, apresentando um rendimento de 0,3397 g de biomassa seca por L de solução do fotobiorreator submetido à eletroflotação. A síntese de ésteres foi realizada pela transesterificação *in situ* da biomassa liofilizada tanto pela rota metílica quanto pela etílica, empregando HCl_{37%} e n-hexano. O rendimento, em massa, de produto por biomassa seca foi de 8,73 % para ésteres metílicos e 21,83 % para ésteres etílicos.

Palavras-chave: tratamento de gases, eletroflotação, biodiesel.

Cultivation In Flat Plate Photobioreactor And Esters Production By *In Situ* Transesterification Of *Chlorella Vulgaris* Microalgae

Abstract

The present work is aimed at obtaining *Chlorella vulgaris* lyophilized biomass, which were grown in flat plate photobioreactor, and evaluate its potential for alkyl esters production by *in situ* transesterification. The microalgae were cultivated in Chu medium and supplemented with burning coal emissions generated by a steakhouse. The dry biomass was obtained by electroflotation, followed by decantation and freeze-drying, with a resulting yield of 0.3397 g.L⁻¹ dry biomass per processed solution in electroflotation. The synthesis of esters was performed by *in situ* transesterification, using the lyophilized biomass, by methyl and ethyl route, employing HCl_{37%} and hexane. The yield, by mass, of product by dry biomass was 8.73% for methyl esters and 21.83% for ethyl esters.

Keywords: gas treatment, electroflotation, biodiesel.

Introdução

Pesquisas em busca por fontes alternativas e/ou complementares para produção de energia estão amplamente relacionadas com a produção de biocombustíveis, mais especificamente o biodiesel. O mesmo é comumente reconhecido como uma alternativa verde ao diesel de petróleo e oriundo de fontes renováveis (BRANCO, 2013).

Os biocombustíveis produzidos das lavouras tornaram-se uma grande controvérsia devido à competição entre alimentos e combustível. Neste contexto, a produção de biocombustível a partir de microalgas é amplamente aceito. Microalgas são capazes de produzir entre 15-300 vezes mais óleo para produção de biodiesel do que as culturas tradicionais, com base na produtividade por área. Além disso, microalgas têm um curto ciclo de colheita (3-15 dias, dependendo da fonte de algas e do processo), permitindo colheitas múltipla ou contínua, com aumento da produtividade de biomassa, quando comparado com plantas de culturas convencionais, que são normalmente colhidas uma ou duas vezes em um ano (ASHOKKUMAR *et al.*, 2014).

O principal método de produção do biodiesel é a transesterificação. Neste processo, um mol de triacilglicerol reage com três mols de álcool, usualmente o metanol ou o etanol, na presença de um catalisador, que pode ser homogêneo, heterogêneo ou enzimático. A razão molar (RM) estequiométrica de álcool e óleo na transesterificação é de 3:1 (três mols de álcool para um mol de óleo), porém, um amplo excesso de álcool, usualmente 6:1 ou 12:1, é utilizado para deslocar o equilíbrio químico a fim de maximizar a produção de ésteres graxos (RAMOS et al., 2011).

Segundo Menezes *et al.* (2013), a fim de reduzir o custo da produção do biodiesel de microalgas e aumentar o rendimento em ésteres metílicos de ácidos graxos, para essa biomassa se utiliza a transesterificação *in situ* (ou direta), na qual a extração e a transesterificação ocorrem simultaneamente numa única etapa. O óleo extraído das microalgas apresenta alto índice de acidez (LEMÕES, 2011) e devido ao conteúdo em ácidos graxos livres nos lipídeos das microalgas, a catálise ácida é considerada viável como rota de síntese para conversão à monoésteres alquílicos (CARVALHO JUNIOR, 2010).

A poluição atmosférica tem se tornado um dos maiores problemas ambientais após a revolução industrial. Com esta, além dos problemas do aquecimento global e de problemas respiratórios, ainda encontram-se os relacionados ao odor produzido por compostos voláteis (MIKAMI, 2011). O sequestro de gases causadores do aquecimento global tem sido pauta de inúmeros projetos em que organismos fotossintetizantes absorvem dióxido de carbono e dissolvem-no em biomassa. Microalgas possuem aparato fotossintético para desempenhar este sequestro (VIEIRA, 2011).

Neste contexto, uma churrascaria investiu na implantação de um sistema biológico para o tratamento das emissões atmosféricas geradas pela queima do carvão. O sistema consiste de dois fotobiorreatores de placas planas contendo microalgas, para onde a fumaça captada da chaminé é direcionada e injetada. Essas microalgas, através de seu metabolismo em presença de luz, utilizam como nutrientes componentes presentes na fumaça, removendo assim compostos causadores do odor (TÖWS, 2013). Como consequência, ocorre a geração de biomassa de microalgas que podem ser utilizadas na produção de biodiesel.

O objetivo deste trabalho foi o de avaliar a obtenção de biomassa liofilizada da microalga *Chlorella vulgaris* nestes fotobiorreatores de placas planas, bem como o seu potencial de produção de ésteres alquílicos por transesterificação *in situ*.

Materiais e Métodos

Obtenção da Biomassa de Microalga

A microalga *Chlorella vulgaris* foi cultivada em dois fotobiorreatores de placas planas, instalados na laje de uma churrascaria de Curitiba-PR, em meio de cultivo Chu, utilizando luz natural e sob injeção de emissões atmosféricas, provenientes da queima do carvão, captadas da chaminé do estabelecimento.

A capacidade dos fotobiorreatores é de 510 L cada um. No entanto, o volume utilizado foi de somente 400 L, pois, quando cheios completamente, produzem muita espuma, extravasando pela parte superior.

O inóculo de microalgas foi preparado a partir de uma quantidade de 10% de solução de microalgas, considerando o volume utilizado no fotobiorreator, ou seja, 40 L de solução de microalgas para um volume de 360 L de meio Chu. O inóculo foi realizado no dia 10 de janeiro de 2014 e, a partir daí, o volume foi sendo completado com água potável sempre que os níveis da coluna de água estavam baixos. No entanto, não foi realizado o controle relacionado à concentração de células, ou microalgas, no volume adicionado, o que prejudica o desenvolvimento de uma curva de crescimento da microalga no sistema.

A coleta foi realizada 139 dias após a inoculação. A biomassa formada no fotobiorreator 1 foi separada do meio de cultivo por eletroflotação, em um sistema desenvolvido por Michelin (2013). O sistema é constituído por uma câmara eletrolítica - com capacidade de 60 L, uma válvula de escoamento, instalada a 5 cm da base do recipiente, e dois eletrodos de alumínio fixados no fundo do recipiente. Os eletrodos foram conectados a uma fonte modelo OS-5000, operando em uma corrente contínua podendo variar de 0 a 4 Amperes e uma faixa de tensão fixada a 32 Volts. A eletrólise efetuou a separação da biomassa em suspensão de forma física – pela geração de microbolhas – e por meio de reações químicas – formação de hidróxido de alumínio.

Foram realizadas 6 bateladas de 60 L, com recirculação do líquido clarificado para o fotobiorreator. O concentrado de microalgas foi acondicionado em galões de plástico para transporte. A biomassa coletada foi quantificada, homogeneizada e armazenada em refrigerador, sendo mantida em repouso por 24 h para decantação e remoção do excesso de água. Após, foi transferida para copos plásticos de 40 mL de capacidade, congelada e liofilizada. A biomassa liofilizada foi pesada e mantida sob refrigeração.

Obtenção dos Ésteres Alquílicos

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Pesquisa Relacionada à Biomassa e Bioenergia (LAPREBB) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR), Campus Ecoville, Curitiba-PR.

Com a microalga liofilizada, foram realizados os ensaios para a obtenção de ésteres alquílicos, através do método de transesterificação *in situ*, descrita por Lewis (2000), utilizando uma mistura de transesterificação contendo um álcool, um catalisador ácido e um solvente. O método foi adaptado para uma maior quantidade de biomassa, visando uma maior produção de ésteres.

Em triplicata, 0,6 g da biomassa liofilizada da microalga *Chlorella vulgaris* foram introduzidos em um erlenmeyer de 250 mL com tampa, seguida da adição de 90 mL da mistura de transesterificação, recém preparada, álcool (metanol ou etanol):HCl37%:n-hexano 10:1:1 (v/v/v). Os frascos foram tampados e mantidos em estufa pré-aquecida a 60 °C, durante 90 minutos, sem agitação. Passado este tempo, os frascos foram retirados da estufa, resfriados em banho de gelo até a temperatura ambiente e seu conteúdo foi filtrado sob vácuo para a remoção da microalga pobre.

O meio reacional filtrado foi transferido para um funil de separação de 500 mL. Foram adicionados 30 mL de água desmineralizada para promover a formação de fases e três porções de 60 mL da mistura extratora n-hexano:clorofórmio 4:1 (v/v). O sistema foi agitado levemente e deixado em repouso por 30 min. Observou-se a formação de um sistema trifásico, constituído por uma fase orgânica (superior) contendo ésteres e solventes, uma fase glicerínica (intermediária) e uma fase aquosa (inferior) contendo os demais subprodutos da reação. As fases aquosa e glicerínica foram escoadas pela torneira do funil em um mesmo recipiente. A fase orgânica foi recolhida pelo topo e reservada em um erlenmeyer de 250 mL.

A fim de remover a coloração esverdeada ocasionada pelo arraste do pigmento clorofila das microalgas e obter um produto com menos impurezas, a fase orgânica contendo os ésteres foi submetida a um teste de purificação com carvão ativado em pó, em leito fluidizado. Foi adicionado 1 g de carvão ativado em pó à fase orgânica obtida, agitado manualmente, seguido de repouso de 4 h. O carvão foi removido por filtração em papel de filtro faixa preta.

A remoção do excesso de solvente foi feita em evaporador rotativo, em banho-maria (85 °C; 40 rpm). O destilado foi transferido para um béquer de massa conhecida (P1). O produto foi levado à estufa (60 °C), para a evaporação do solvente residual, até atingir peso constante (P2). A massa de produto foi determinada pela diferença entre P2 e P1. O

rendimento foi definido como sendo a razão entre a massa de produto (mg) e a massa inicial de biomassa liofilizada (g).

Resultados e Discussão

Obtenção da biomassa

A solução de microalgas presente nos fotobiorreatores apresentava uma coloração verde-escura, acusando a presença de elementos fotossintetizantes no sistema.

Durante a eletroflotação, foi possível observar o escape de pequenas bolhas geradas na eletrólise. O equipamento possui uma tubulação transparente conectada lateralmente, de onde foi possível acompanhar o acúmulo de microalgas na superfície (Figura 1).

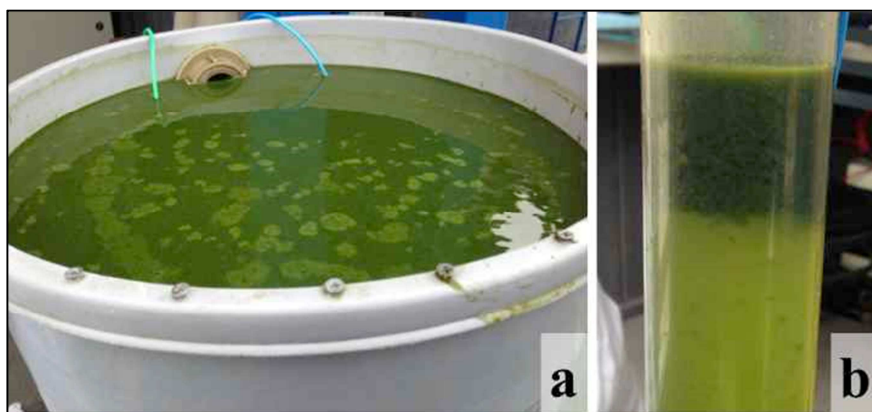


Figura 1 - Eletroflotação: (a) escape de microbolhas; (b) acúmulo de microalgas na superfície do equipamento.

Dos 360 L de solução do fotobiorreator 1 submetidos à eletroflotação, foram coletados 12,384 L de concentrado de microalgas, ou seja, 3,44 % do volume processado. Lembrando que ocorre a recirculação do líquido clarificado ao fotobiorreator ao final de cada batelada, o que reduz a concentração de células para a batelada seguinte.

A eletroflotação demonstrou ser um método prático e eficiente para a concentração de biomassa microalgal. Porém, após o acondicionamento do concentrado nos galões plásticos, foi observado que a biomassa acumulava-se no fundo após alguns minutos em repouso, revelando a presença de um elevado teor de água na parte superior. Houve uma preocupação em retirar a máxima quantidade de água possível, a fim de agilizar o processo de liofilização. Este material foi deixado em repouso para decantar sob refrigeração por 24 h.

Após este tempo, foi possível remover 6,630 L de água, ou seja, 53,54% em volume referente ao total concentrado na eletroflotação.

Ao final da liofilização foram obtidos 122.29 g de biomassa seca da microalga *Chlorella vulgaris*. Um rendimento de 0,3397 g de biomassa seca por L de solução do fotobiorreator submetido à eletroflotação. Vieira (2011) obteve um rendimento de 0,4307 g.L⁻¹ de *Chlorella sp.* cultivada em fotobiorreator de bancada, em meio Watanabe e suplementado com gás de um incinerador de produtos sólidos tóxicos. Pereira (2013) conseguiu valores de 0,451 g.L⁻¹ de biomassa a partir de um mix de microalgas com predominância do gênero *Scenedesmus sp.* em meio Chu suplementado com CO₂. Logo, o rendimento de biomassa seca apontado neste estudo encontra-se abaixo do encontrado na literatura, podendo ser otimizado por meio de um estudo mais detalhado da curva de crescimento da microalga.

O estudo relacionado à curva de crescimento da microalga *C. vulgaris* para este sistema de cultivo não foi realizado devido à falta de controle da concentração de células no momento da inoculação. Através deste estudo teria sido possível determinar as fases de crescimento da microalga e identificar e corrigir fatores que possam interferir na produção de biomassa nos fotobiorreatores. O conhecimento da fase de crescimento exponencial (log) ajuda a determinar o período em que o sistema apresenta maior densidade de células antes de atingir a fase estacionária, podendo ser realizado um planejamento para definir os dias de coleta, o que poderia gerar maior rendimento de biomassa.

Obtenção dos Ésteres Alquílicos

Ao final da reação de transesterificação *in situ*, o conteúdo dos frascos apresentavam uma forte coloração esverdeada, em virtude da possível extração e arraste do pigmento clorofila das microalgas. Na etapa de extração, foi possível observar a formação de um sistema bifásico após a adição da água. Em seguida, com a adição da mistura n-hexano:clorofórmio 4:1 (v/v), e deixando o volume total em repouso, foi possível verificar a formação de três fases bem distintas sendo formadas no funil de separação (Figura 2).

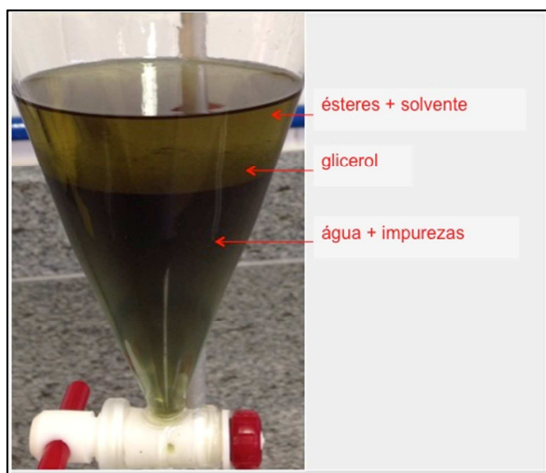


Figura 2 - Sistema trifásico formado na extração.

Após a extração, a fase orgânica contendo os ésteres foi submetida à clarificação por adsorção, obtendo-se um líquido transparente e amarelo-claro (Figura 3). A justificativa para este procedimento é baseada na presença de pigmentos e demais impurezas geradas e/ou arrastadas pelo solvente na transesterificação *in situ* de microalgas, que podem interferir na determinação do rendimento de produto ($\text{mg}_{\text{produto}} : \text{g}_{\text{biomassa liofilizada}}$) após a secagem, mascarando o resultado final.

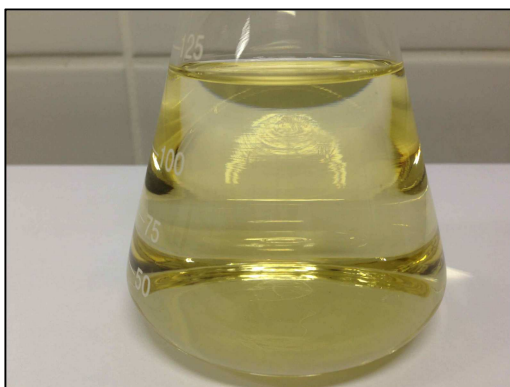


Figura 3 - Fase orgânica após a clarificação com carvão ativado.

Com relação ao rendimento de produto final contendo os ésteres, foram obtidos, em média, $87,32 \text{ mg}_{\text{produto}} : \text{g}_{\text{biomassa liofilizada}}$ para ésteres metílicos e $218,32 \text{ mg}_{\text{produto}} : \text{g}_{\text{biomassa liofilizada}}$ para ésteres etílicos (8,73 % e 21,83 %, respectivamente).

Cavalcanti *et al.* (2013) realizaram um estudo semelhante de produção de ésteres alquílicos a partir da biomassa liofilizada de uma cultura mista, apresentando rendimentos de

117,93 e 89,64 mg_{produto} : g_{biomassa liofilizada} para ésteres metílicos e etílicos (11,79% e 8,9 %, respectivamente). Os resultados atuais, empregando *Chlorella vulgaris* estão abaixo do obtido com a cultura mista via rota metílica mas, obteve valores muito superiores com relação à rota etílica. Salientando que no estudo anterior, empregando a cultura mista, não foi realizada a clarificação para a remoção das impurezas, o que torna o resultado da transesterificação *in situ* a partir da *C. vulgaris* ainda mais satisfatório.

Silva-Baumgärtner (2011) obteve como rendimento, para a microalga *Scenedesmus sp.*, 61,79 e 60,74 mg de éster/g de biomassa para etanol e metanol, respectivamente, ou seja, 6,18% e 6,07%, na temperatura de 60°C, utilizando hexano como solvente. Em um estudo mais recente, Silva-Baumgartner *et al.* (2013) verificaram que a síntese de ésteres da biomassa de *Spirulina platensis* mostrou melhor resultado utilizando etanol e hexano, em temperatura de 45 °C, obtendo valores de rendimento acima de 70mg/g.

Segundo Silva-Baumgärtner (2011), diferença nas reações de transesterificação/esterificação *in situ* entre espécies ocorrem, possivelmente, devido às diferenças na estrutura celular entre as espécies de microalgas. Logo, os resultados aqui adquiridos estão de acordo com os encontrados na literatura.

Conclusão

A partir deste estudo foi possível concluir que a microalga *Chlorella vulgaris*, cultivada em fotobiorreatores de placas planas e suplementadas pelas emissões geradas pela queima de carvão, apresentam potencial para serem utilizadas na produção de ésteres alquílicos. Porém, é necessário realizar um estudo da curva de crescimento das microalgas neste sistema a fim de se atingir maiores rendimentos de biomassa.

Agradecimentos

À administração da Devon's Grill por permitir o acesso aos fotobiorreatores.

À equipe do TECPAR (Instituto de Tecnologia do Paraná) pela realização da coleta e por todas as informações fornecidas.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudos para a realização deste trabalho.

Referências

Revista Brasileira de Energias Renováveis, v. 3, p. 244- 254, 2014

ASHOKKUMAR, V.; RENGASAMY, R.; DEEPALAKSHMI, S.; SIVALINGAM, A.; SIVAKUMAR, P. Mass cultivation of microalgae and extraction of total hydrocarbons: A kinetic and thermodynamic study. **Fuel**. 119, p.308-312, 2014.

BRANCO, K. B. Z. F. **Estudo da transesterificação *in situ* da microalga *Scenedesmus sp.* visando a síntese de ésteres para produção de biodiesel**. 2013, 75p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2013.

CARVALHO JUNIOR, R. M. **Desenvolvimento e análise energética do processo de obtenção do biodiesel de microalgas por metanólise *in situ***. 2010, 85 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Mecânica e de Materiais, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2010.

CAVALCANTI, V. F.; LEAL, B. E. S.; TRAMONTINI, M. P.; ANZE, M. H. N.; PRADO, M. R.; SAKUMA, A. C.; PEGORARO, L. A. Avaliação qualitativa do uso de microalgas de um sistema biológico para tratamento de emissões atmosféricas na produção de biodiesel. In: 8º Cong. Int. de Bioenergia, 2013, São Paulo. **Anais...** São Paulo: Porthus Eventos, 2013. 1 CD-ROM.

LEMÕES, J. S. **Síntese de ésteres graxos de *Chlorella sp.* utilizando os processos de extração transesterificação e transesterificação *in situ***. 2011, 56p. Dissertação (Mestrado em Química Tecnológica e Ambiental) - Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande, 2011.

LEWIS, T.; NICHOLS, P. D.; MCMEEKIN, T. A. Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acids from lipid-producing microheterotrophs. **Journal of Microbiological Methods**. v.43, n.2, p.107-106, 2000.

MENEZES, R. S.; LELES, M. I. G.; SOARES, A. T.; BRANDÃO P. I.; FRANCO, M.; ANTONIOSI FILHO, N. R.; SANT'ANNA, C. L.; VIEIRA, A. A. H. Avaliação da potencialidade de microalgas dulcícolas como fonte de matéria-prima graxa para a produção

de biodiesel. **Quim. Nova** , v.36, n.1, p.10-15, 2013.

MICHELON, L. K.; **Estudo de alternativa para separação de microalgas por eletroflotação.** 2011, 64p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Curso Superior de Tecnologia em Processos Ambientais, Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

MIKAMI, W., R.; **Avaliação da eficiência de um sistema biológico para tratamento de emissões atmosféricas.** 2011, 60p. Trabalho de conclusão de curso (Graduação) - Curso Superior de Tecnologia em Processos Ambientais, Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

PEREIRA, A. B. **Produção de biomassa e de lipídeos por cultivo misto de microalgas suplementado por CO₂.** 2013, 109p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

RAMOS, L. P.; SILVA, F. R.; MANGRICH, A. S.; CORDEIRO, C. S. Tecnologias de produção de biodiesel. **Rev. Virtual Quím.** , v.3, n.5, p. 285-405, 2011.

SILVA-BAUMGÄRTNER, T. R. D. S. **Cultivo e extração de óleo das microalgas *Scenedesmus sp.* e *Spirulina sp.* para a síntese de ésteres visando a produção de biodiesel.** 2011, 124p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Departamento de Engenharia Química, Universidade Estadual de Maringá, Maringá, 2011.

SILVA-BAUMGARTNER, T. R. D. S.; BURAK, J. A. M.; BAUMGARTNER, D.; ZANIN, G. M.; ARROYO, P. A. Biomass production and ester synthesis by *in situ* transesterification/esterification using the microalgae *Spirulina platensis*. **International Journal of Chemical Engineering.** V.2013, Article ID 425604, 7 pages, 2013.

TÖWS, M. **Identificação de riscos à segurança do trabalhador na operação de remoção de odores - caso de uma churrascaria em Curitiba.** 2013, 51p. Monografia (Especialização em Engenharia de Segurança do Trabalho) - Departamento Acadêmico de Construção Civil, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba 2013.

VIEIRA, D. B. **Cultivo de *Chlorella sp.* em fotobiorreator suplementado com gás de incineração de resíduos sólidos perigosos e avaliação de sequestro de dióxido de carbono para produção de biomassa.** 2011, 92p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Agrícola) - Programa de Pós-graduação em Engenharia Agrícola, Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.