

## PRODUÇÃO DE BIODIESEL 3G POR *PHORMIDIUM AUTUMNALE* A PARTIR DE RESÍDUOS AGROINDUSTRIAIS

C. NEVES<sup>1</sup>, M. M. MARONEZE<sup>1</sup>, G. J. G. TEIXEIRA, L. Q. ZEPKA<sup>1</sup> e E. JACOB-LOPES<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Tecnologia e Ciência de Alimentos  
E-mail para contato: jacoblopes@pq.cnpq.br

**RESUMO** – O objetivo do trabalho foi avaliar a produção de biodiesel 3G partir de efluentes do abate e processamento de bovinos por *Phormidium autumnale*. Os experimentos foram realizados em biorreatores de coluna de bolhas, nas condições de 100 mg/L de inóculo, pH ajustado a 7,5, reator isotérmico operando a 20°C, aeração contínua de 1VVM e ausência de luminosidade. Os resultados demonstraram uma produtividade em biomassa de 29,7 mg/L.d em paralelo a uma produtividade lipídica de 4,57 mg/L.d. Os ácidos graxos de maior representatividade foram os ácidos oléico, palmitoléico e esteárico com 27%, 15% e 13%, respectivamente. As propriedades de combustão do biodiesel 3G indicaram adequacidade em relação às normas internacionais para biodiesel, demonstrando o potencial de exploração desta rota tecnológica.

### 1. INTRODUÇÃO

Os resíduos agroindustriais são resultado de diversas operações unitárias do processamento industrial. A indústria de processamento de carne utiliza aproximadamente 62 milhões de m<sup>3</sup> por ano de água no mundo. No entanto, apenas uma pequena quantidade torna-se componente do produto final, e a fração restante converte-se em águas residuárias com concentrações elevadas de material em suspensão, elevada carga de matéria orgânica e rica também em nitrogênio e fósforo (Sroka *et al.*, 2004). O lançamento destes efluentes em corpos hídricos proporciona alterações na concentração de oxigênio dissolvido, além de possibilitar a eutrofização de corpos hídricos (Demirbas, 2011).

As microalgas possuem substancial capacidade de bioconversão de material orgânico e nutrientes presentes em águas residuárias. Neste sentido, sua utilização em efluentes agroindustriais seria uma alternativa em relação às formas convencionais de tratamento, uma vez que possuem menores custos e são mais eficientes. Estes sistemas permitem a remoção de matéria orgânica e nitrogênio em uma única etapa, produzindo uma biomassa com valor econômico devido ao seu teor significativo de proteínas e lipídeos (Queiroz *et al.*, 2007; Markou & Georgakakis, 2011).

A grande dependência pelos combustíveis fósseis levou ao surgimento de discussões sobre questões como a poluição atmosférica e a escassez dos recursos energéticos, direcionando ao desenvolvimento de tecnologias para a obtenção de fontes de energias alternativas e renováveis, como os biocombustíveis de 1ª a 4ª geração (Martín & Grossmann, 2012). As microalgas têm sido apontadas como uma fonte renovável capaz de atender grande

parte da demanda global de combustíveis para transportes, uma vez que são caracterizados pelas elevadas taxas de crescimento e elevado teor de óleo intracelular (Chisti, 2007).

Em face disso, o objetivo do estudo foi avaliar a produção de biodiesel de 3ª geração produzido a partir do cultivo heterotrófico da microalga *Phormidium autumnale*, empregando resíduos agroindustriais como fonte de carbono orgânico.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **1.1. Microorganismo, meio de cultivo e água residuária**

A microalga utilizada foi a *Phormidium autumnale* obtida a partir de um isolamento de uma área localizada no deserto de Cuarto Cienégas (26° 59' N, 102° 03' W – México). O meio de cultura utilizado foi o meio sintético BGN (Rippka *et al.*, 1979) adicionado de agar-agar na concentração de 15g/L.

O efluente proveniente do abate e processamento de bovinos foi coletado após o tratamento primário (peneira rotativa e equalizador), na estação de tratamento de efluentes de uma indústria localizada na cidade de Santa Maria, RS.

### **1.2. Biorreator**

O aparato experimental foi constituído de um biorreator do tipo coluna de bolhas, construído em vidro de 0,5mm de espessura, diâmetro interno de 15 cm, altura de 20 cm e 3,5 L de volume de trabalho. O sistema de dispersão de gases do reator constituiu em um difusor de ar de 1,5 cm localizado no centro da base da coluna.

### **1.3. Dados cinéticos, Métodos Analíticos e Parâmetros Cinéticos**

Os experimentos foram conduzidos em um biorreator de coluna de bolhas construído em vidro de 0,5mm de espessura, diâmetro interno de 6,5cm, altura de 70cm e 2,5L de volume/ de trabalho. As condições experimentais utilizadas foram: concentração inicial do inóculo de 100 mg/L, pH de 7,6, aeração constante de 1VVM (volume de ar por volume de meio por minuto) e ausência de luminosidade.

As amostras foram coletadas em intervalos regulares de 12 horas e caracterizadas quanto a demanda química de oxigênio (DQO), determinados conforme a metodologia descrita no Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater (APHA, 2005). A concentração celular foi determinada gravimetricamente por meio da filtração de um volume conhecido de efluente em filtro de 0,45 µm de diâmetro. A composição centesimal foi feita baseada na metodologia descrita na A.O.A.C (2000). Os testes foram realizados em duplicata e os dados cinéticos referentes à média de quatro repetições.

A fração lipídica da biomassa foi extraída pelo método de Bligh & Dyer (1959). O método de Hartman e Lago (1976) foi utilizado para saponificar e esterificar o extrato seco de lipídeos para obtermos os ésteres metílicos de ácidos graxos (biodiesel). A composição de ácidos graxos foi determinada usando o cromatógrafo a gás VARIAN 3400CX (Varian, Palo Alto-CA, USA). Os ésteres metílicos dos ácidos graxos foram identificados por comparação

dos tempos de retenção com os tempos padrão (Supelco, Louis-MO, USA) e quantificados por normalização de área. Adicionalmente, as propriedades de combustão do biodiesel foram analisadas *BiodieselAnalyzer*® proposto por Biofuel Research Team (BRTeam), que analisou os parâmetros de combustão do biodiesel.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os parâmetros cinéticos para o cultivo de *Phormidium autumnale*, a partir de resíduos do abate e processamento de bovinos estão apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 – Parâmetros cinéticos do processo

Parâmetros	Valor
$r_{S(DQO)}$ (mg/L.d)	68,5
$P_X$ (mg/L.d)	29,7
Lipídeos (%)	15,4
$P_L$ (mg/L.d)	4,57

O cultivo de *Phormidium autumnale* em águas residuárias do processamento de abate de bovinos apresentou taxa de consumo do substrato de 68,5 mg/L.d, produtividade em biomassa de 29,7 mg/L.d, teor de lipídeos de 15,4% e produtividade lipídica na ordem de 4,57 mg/L.d. Estudos indicam conteúdos lipídicos provenientes de células das microalgas variáveis, em média, de 20% a 40% em termos de biomassa seca (Ma e Hanna, 1999; Luque et al., 2010; Mairet et al., 2011). Esses microorganismos podem produzir de 25 a 220 vezes mais triacilglicerídeos do que plantas oleaginosas terrestres (Ahmad et al., 2011).

A qualidade dos óleos unicelulares é um fator decisivo na escolha e definição de rotas tecnológicas de produção de biodiesel 3G, independente dos aspectos quantitativos. Neste sentido, a Tabela 2, apresenta o perfil de ácidos graxos da microalga cultivada a partir de resíduos agroindustriais.

Tabela 2 - Perfil de ácidos graxos da *Phormidium autumnale* a partir de resíduos agroindustriais

Ácidos Graxos	Percentual (%)
C16:1	15,2
C17:0	8,8
C18:0	13,5
C18:1n9c	27,3
C18:2n6c	5,3
Saturados	22,30
Monoinsaturados	42,50
Poliinsaturados	5,30

O perfil de ácidos graxos do óleo microalgal é o principal fator que determina as características do biodiesel. Ao total, identificaram-se três diferentes ácidos graxos majoritários: ácido oléico (27,3%), ácido palmitoléico (15,2%) e ácido esteárico (13,5%). Dessa forma, o perfil de ácidos graxos foi predominantemente saturado (22,30%) e monoinsaturado (42,50%). Knothe (2005) reporta que óleos com composição predominantemente saturada e monoinsaturada são os mais adequados para a síntese de biodiesel, pois produzem combustíveis com propriedades ideais ao uso em motores a diesel.

Adicionalmente, a Tabela 3 apresenta as propriedades de combustão do biodiesel obtido a partir da microalga *Phormidium autumnale*, comparado ao biodiesel de soja.

Tabela 3 - Propriedades de combustão do biodiesel obtido pela microalga *Phormidium autumnale*, a partir resíduos agroindustriais

Propriedades do biodiesel	Biodiesel 3G	Biodiesel de soja <sup>1</sup>	ANP 255	ASTM 6751	EN 14214
CE (%)	99,8	96,6	-	-	min. 96,5
NC	55,0	49,0	min. 45	min. 47	min. 51
II (gI <sub>2</sub> 100g <sup>-1</sup> )	49,33	128,0	-	-	max. 120
GI (%)	53,1	143,8	-	-	-
IS	142,96		-	-	-
FCC (%)	6,75		-	-	-
PEFF (°C)	4,73	-5,0	max. 2	-	-
PN (°C)	-4,99			-	-
PAE	37,9		-	-	-
PBAE	5,3		-	-	-
EO (h)	0		-	-	-
VA	27,69		-	-	-
μ (mm <sup>2</sup> /s)	0,97		1	-	-
ρ (g/cm <sup>3</sup> )	0,61		-	-	-

CE: conteúdo de ésteres, NC: número de cetano, II: índice de iodo, GI: grau de insaturação, IS: índice de saponificação, FCC: fator de comprimento da cadeia, PEFF: ponto de entupimento de filtro a frio, PN: ponto de névoa, PAE: posição alílica equivalente, PBAE: posições bis-alílicas equivalente, EO: estabilidade oxidativa, VA: valor de aquecimento, μ: viscosidade cinemática e ρ: densidade.

<sup>1</sup>Ramos et al., (2009).

Verifica-se que o biodiesel produzido a partir da biomassa da *Phormidium autumnale* gerada durante o tratamento de resíduos do abate e processamento de bovinos possui um conteúdo de ésteres de 99,9%, um número de cetano de 55,0, um índice de iodo de 49,33gI<sub>2</sub>/100g<sup>-1</sup>, um grau de insaturação de 53,1%, índice de saponificação de 142,96, fator de comprimento de cadeia de 6,75%, ponto de entupimento de filtro a frio de -5,0°C, ponto de névoa de -4,99°C, posição alílica equivalente de 37,9, posições bis-alílicas equivalentes de 5,3, estabilidade oxidativa de 0 horas, valor de aquecimento de 27,69, viscosidade cinemática de 0,97 mm<sup>2</sup>/s e densidade de 0,61 g/cm<sup>3</sup>.

Os valores das propriedades de combustão do biodiesel obtidos no presente estudo são superiores aos exigidos pela norma brasileira (ANP 255), norte americana e europeia (ASTM 6751 e EN 14214), respectivamente. Esses resultados sugerem a potencialidade de exploração do biodiesel obtido a partir da biomassa da *Phormidium autumnale* nas condições avaliadas.

#### 4. CONCLUSÃO

A síntese e caracterização do biodiesel microalgal, evidenciou a possibilidade da obtenção de um combustível com características de qualidade (teor de ésteres de 99,9%, número de cetano de 55,0, índice de iodo de  $49,33\text{gI}_2/100\text{g}^{-1}$ , grau de insaturação de 53,1%, ponto de entupimento de filtro a frio de  $-2,8^\circ\text{C}$ , ponto de névoa de  $-4,99^\circ\text{C}$ , posição alílica equivalente de 37,9, posições bis-alílicas equivalentes de 5,3, estabilidade oxidativa de 0 horas, valor de aquecimento de 27,69, viscosidade cinemática de  $0,97\text{ mm}^2/\text{s}$  e densidade de  $0,61\text{ g/cm}^3$ ) enquadradas dentro das normas brasileiras, europeias e norte americanas, possibilitando a reutilização da biomassa gerada no processo de tratamento na direção da síntese de biocombustíveis como produto final do processo global de tratamento.

#### 5. REFERÊNCIAS

- AHMAD, A.L.; YASIN, N.H.M.; DEREK, C.J.C.; LIM, J.K. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 15, p. 584-593, 2011.
- AMERICAN PUBLIC HEALTH ASSOCIATION- APHA. Standard Methods for the Examination of Water and Wastewater. 20. ed. Washington: APHA, 2005.
- ANP (Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis). *Boletim mensal do biodiesel*. 2013.
- ASSOCIATION OF OFFICIAL ANALYTICAL CHEMISTS. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 17. ed. Gaithersburg, Maryland: AOAC, 2000.
- ASTM 6751. *Standard Specification for Biodiesel Fuel (B100)*. Blend Stock for Distillate Fuels, 2002.
- BLIGH, EG; DYER, JW. A rapid method of total lipid extraction and purification. *Journal Biochem Physiol* 37:911–917, 1959.
- BOHDZIEWICZ, J.; SROKA, E. Application of hybrid systems to the treatment of meat industry wastewater. *Desalination* v.198, p.33–40, 2006.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, v.25, p.294–306, 2007.
- HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. A rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*, v.22, p.475-476, 1976.

- KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. *Fuel Processing Technology*, v. 86, p.1059–1070, 2005.
- LUQUE, R.; LOVETT, J.C.; DATTA, B.; CLANCY, J.; CAMPELO, J.M.; ROMERO, A.A. Biodiesel as feasible petrol fuel replacement: a multidisciplinary overview. *Energy Environmental Science*, v. 3, p. 1706–1721, 2010.
- MA, F.; HANNA, M.A. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*, v. 70, p. 1-15, 1999.
- MAIRET, F.; BERNARD, O.; MASCI, P.; LACOUR, T.; SCIANDRA, A. Modelling neutral lipid production by the microalga *Isochrysis aff. galbana* under nitrogen limitation. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 142-149, 2011.
- MARKOU, G.; GEORGAKAKIS, D. Cultivation of filamentous cyanobacteria (blue-green algae) in agro-industrial wastes and wastewaters: A review. *Applied Energy*, v.88, p.3389–3401, 2011.
- MARTÍN, M.; GROSSMANN, I.E. *On the synthesis of sustainable biorefineries*. Industrial & Engineering Chemistry Research, v.52, p.3044-3064, 2012.
- QUEIROZ, M.I.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L.Q.; BASTOS, R.G.; GOLDBECK, R. The kinetics of the removal of nitrogen and organic matter from parboiled rice effluent by cyanobacteria in a stirred batch reactor. *Bioresource Technology* v.98, p.2163–2169, 2007.
- RAMOS, M. J.; FERNANDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRIGUEZ, R.; PEREZ, A. Influence of fatty acid composition of raw materials in biodiesel properties. *Bioresource Technology*, n.100, p.261-268, 2009.
- RIPPKA, R. et al. Generic Assignments Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria. *Journal of General Microbiolog.* Great Britain. n.111. p.1-61, 1979.
- SROKA, A.; KAMINSKI, W.; BOHDZIEWICZ, J. Biological treatment of meat industry wastewater. *Desalination*, v.162, p.85–91, 2004.
- UNE-EN 14214. Automotive Fuels, Fatty Acid Methyl Esters (FAME) for Diesel Engines, *Requirements and Test Methods*, 2003.