

ENERGIAS RENOVÁVEIS

CULTIVO DE MICROALGA EM MEIO ALTERNATIVO ENRIQUECIDO COM VINHAÇA PARA INDICATIVO DE POTENCIALIDADE NA PRODUÇÃO DE BIOCOMBUSTÍVEIS

Flávia Maria Fogaça – flaviamariafogaça@gmail.com
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS.

Leila Cristina Konradt Moraes – leilackm@uems.br
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS.

Gabriela Andrade de Oliveira – gabiaandrade1@gmail.com
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS.

Jelly Makoto Nakagaki – jelly@uems.br
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul – UEMS.

Resumo: A produção de etanol cresceu significativamente nos últimos anos e concomitantemente a isso, aumentou também a produção de vinhaça, que é um efluente de alto teor poluente quando descartado de maneira indevida na natureza. Ainda na busca pela substituição de combustíveis fósseis por combustíveis renováveis, embora de forma mais discreta, o biodiesel tem aos poucos adentrado ao setor energético e pesquisas recentes estudam a viabilidade de utilizar óleo extraído de microalgas para sua produção. Diante disso, este trabalho teve por objetivo avaliar a potencialidade da vinhaça como fonte nutricional para o cultivo da microalga *Chlorella sorokiniana* e monitorar fatores que possam vir a influenciar seu desenvolvimento, visando a futura produção de biodiesel. Para tal, realizou-se o cultivo da microalga na diluição de 30% de vinhaça por um período total de 60 dias, com aeração constante e fotoperíodo de 12 horas luz/12 horas escuro, tendo como controle e meio de referência ensaios na diluição de 1% de adubo químico N:P:K (0,02:0,005:0,02 kg L⁻¹), nas mesmas condições. Os parâmetros monitorados foram pH e turbidez do meio. Os resultados obtidos apontaram que para as condições estudadas a vinhaça na concentração de 30% se mostrou mais eficiente do que o cultivo com N:P:K (controle) na produção de biomassa.

Palavras-chave: Microalgas, Monitoramento, Vinhaça, Cultivo, Biocombustíveis.

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Atualmente, um dos maiores problemas enfrentados pelas regiões produtoras de cana-de-açúcar é a geração em grandes quantidades de vinhaça pois, este efluente, se descartado ou utilizado de maneira indevida, pode acarretar danos ambientais ao solo ou a água. Essa é a realidade enfrentada pelo estado de Mato Grosso do Sul desde que a produção de cana cresceu visando à obtenção de etanol, a fim de substituir combustíveis fósseis por combustíveis renováveis e atender a demanda energética no país.

Nos dias atuais, é perceptível a busca crescente pela substituição de combustíveis fósseis por combustíveis mais limpos e renováveis, como é o caso não só do etanol, mas também do biodiesel.

Em 1975 o governo federal brasileiro estimulou a produção de álcool (etanol) como combustível, com o Programa Nacional do Álcool (Proálcool), mas foi somente na década de 80, após o segundo choque do petróleo, que foi possível observar o crescimento e investimento nessa área, aumentando também a produção de vinhaça, que é um efluente da fabricação do etanol. Essa geração de resíduo é estimada entre dez a dezoito litros de vinhaça para cada litro de etanol produzido (SILVA *et al.*, 2007).

Uma das destinações atribuídas à vinhaça é como adubo para o solo, visando melhoria na fertilidade do mesmo, porém, a dosagem é muito difícil de ser definida, e por isso, muitas vezes, resulta na contaminação desse compartimento ambiental, alteração de suas características, podendo ainda chegar aos lençóis subterrâneos contaminando-os (SILVA *et al.*, 2007; CRUZ *et al.*, 2008). Em menor escala, a vinhaça também vem sendo utilizada para a produção de biogás e ração animal, e recentemente, utilizada principalmente em pesquisas como meio de cultivo para microalgas (SANTOS, 2010).

Novos estudos com intuito de viabilizar a produção de biocombustíveis através do óleo extraído de microalgas ganharam destaque devido à capacidade desses organismos em se duplicar em curtos períodos de tempo, ocupando espaços menores em relação a outras culturas utilizadas para produção de biodiesel, podendo ainda ser produzido o ano todo, e não competindo com a cadeia alimentícia (LIRA *et al.*, 2012).

Os autores afirmam ainda que as microalgas são também micro-organismos importantes para o meio ambiente, pois realizam fixação de dióxido de carbono (CO₂), minimizando a poluição atmosférica. Além disso, são fontes de energias renováveis, e após a extração do óleo presente em sua biomassa, é possível utilizar os resíduos gerados para a produção de biogás por digestão anaeróbica, e posteriormente promover a geração de energia elétrica para ser utilizada em seu próprio processo de cultivo.

No cultivo de microalgas, Borghetti (2009) afirma que se tratando de microalgas *Chlorella* sp., os valores nutricionais que esses micro-organismos adquirem variam conforme suas condições de cultivo. Além disso, o autor afirma que o crescimento das algas é influenciado por diversos fatores, como o pH, salinidade do meio, luminosidade, temperatura, presença de contaminantes, fontes de nitrogênio e íons bicarbonato presentes no meio, tipo de biorreator utilizado, concentração inicial de biomassa, densidade populacional, aeração e idade do inóculo.

Ante o exposto, o presente trabalho teve por objetivo avaliar o crescimento da microalga *Chlorella sorokiniana* em cultivo enriquecido com vinhaça e realizar o monitoramento de alguns parâmetros durante o cultivo, a fim de buscar a relação destes com o desenvolvimento celular das microalgas, e para estudar a potencialidade deste meio de cultivo para que futuramente, microalgas cultivadas com vinhaça em condições ideais possam servir como matéria-prima para a produção de biodiesel.

2. METODOLOGIA

A microalga utilizada no experimento realizado é a *Chlorella sorokiniana*, que foi previamente isolada e multiplicada para suprir a demanda de microalgas utilizada.

O cultivo foi realizado na diluição de 30% de vinhaça, em triplicata, tendo como controle e padrão de comparação o adubo químico N:P:K (0,02:0,005:0,02 kg L⁻¹) (HARDY & CASTRO, 2000; SIPAUBA-TAVARES & ROCHA, 2003; SIPAUBA-TAVARES & PEREIRA, 2008; CARVALHO *et al.*, 2012) na concentração de 1%, também em triplicata. Esta fonte de nutriente foi escolhida em função de ser o adubo químico utilizado no cultivo da cana-de-açúcar.

Ambos foram cultivados em garrafas transparentes de 4 litros tipo PET, em sistema de cultivo estático não axênico, aeração constante, fotoperíodo de 12 h luz/12 h escuro e temperatura ambiente. O experimento foi conduzido em um total de 60 dias.

Como o intuito era analisar o crescimento das microalgas, em ambos os ensaios o volume de inóculo de microalgas adicionado foi o mesmo. A Tabela 1, a seguir, apresenta os volumes de cada um dos componentes utilizados para se iniciar o experimento.

Tabela 1 - Diluições utilizadas para o experimento realizado com vinhaça 30% e com o controle N:P:K 1%.

Experimento	Água (L)	Inóculo* (L)	N:P:K (L)	Vinhaça (L)
N:P:K 1%	3,80	0,16	0,04	-
Vinhaça 30%	2,64	0,16	-	1,20

* Inóculo da microalga *Chlorella sorokiniana*.

O N:P:K utilizado no experimento refere-se a uma solução estoque composta de 0,07 kg de N:P:K (0,02:0,005:0,02 kg L⁻¹) triturado para cada 1 L de água.

Durante o experimento, os parâmetros monitorados foram pH, temperatura, turbidez e densidade celular. Para isso utilizou-se de pHmetro modelo SED-12500 da marca Hanna, na determinação do pH e turbidímetro da marca Tecnon, modelo Tb – 1000, para a determinação de turbidez.

A determinação de densidade celular foi realizada através de contagem na câmara de Neubauer. As amostras para a contagem de células na câmara de Neubauer (0,001 L) foram retiradas em triplicata, a cada 15 dias, com exceção das duas primeiras semanas de cultivo, onde foram coletadas a cada 7 dias. A contagem foi realizada em microscópio de marca Carl Zeiss, modelo Axiostar plus.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os ensaios realizados com diluição de vinhaça 30% e adubo químico N:P:K 1% (controle) demonstraram um crescimento contínuo da microalga durante os 15 primeiros dias de cultivo, como mostra Figura 1. Após, para o cultivo contendo 30% de vinhaça foi possível observar o decréscimo contínuo da densidade celular, enquanto o N:P:K, embora tenha apresentado oscilação para a multiplicação de células, também seguiu a tendência de decréscimo.

Por meio da Figura 1 é possível observar que mesmo adicionando o mesmo volume de inóculo para o início dos experimentos, uma quantidade maior de microalgas foi identificada no cultivo com vinhaça 30%. Porém, mesmo considerando essa diferença e a

mortandade de células após os 15 primeiros dias de cultivo, os ensaios com 30% de vinhaça tiveram um aumento do número de organismos muito superior, se comparados com o de N:P:K 1%, sendo esse aumento muito mais pronunciado nos 7 primeiros dias de cultivo.

O excelente desempenho da vinhaça como fonte nutricional é promissor e esperado pois, segundo Andrade e Costa (2008), as microalgas necessitam de nutrição relativamente simples. Além disso, a composição da vinhaça varia conforme o processo de produção do etanol, mas em geral apresenta grande quantidade de matéria orgânica, e elementos como nitrogênio, fósforo e potássio, além de outros macro e micronutrientes (CABELLO *et al.*, 2009), contemplando portanto, entre outros, o grupo N:P:K.

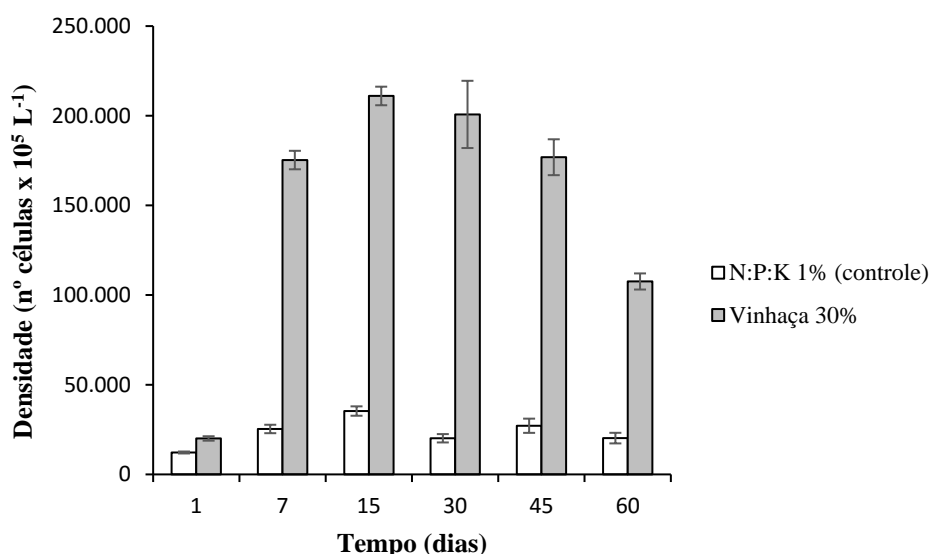


Figura 1 - Densidade celular (média \pm erro padrão) da microalga *Chlorella sorokiniana* em meio de cultivo com diluição de 1% de N:P:K e 30% de vinhaça.

Sabe-se que as condições de cultivo, como por exemplo a aeração, influenciam no crescimento celular. Além disso, fatores físico-químicos também podem influenciar, positiva ou negativamente a multiplicação de células, pois como todo micro-organismo, as microalgas possuem condições de cultivo que as favorecem e condições as quais são sensíveis negativamente. Desta forma, realizou-se o monitoramento de temperatura, pH e turbidez do meio de cultivo.

A Figura 2 apresenta os dados obtidos no monitoramento do meio de cultivo realizado com um 1% de N:P:K e com 30% de vinhaça para o pH durante os 60 dias de cultivo.

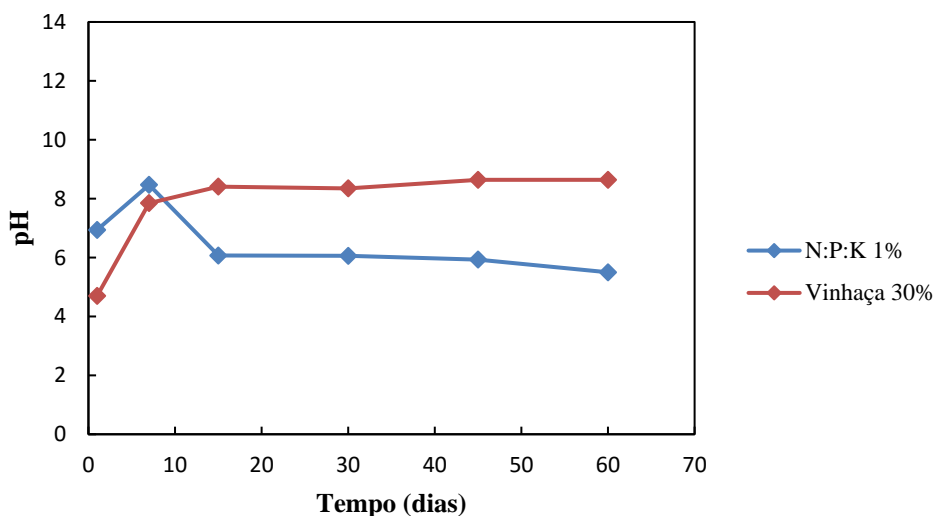
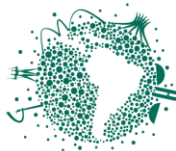


Figura 2 – Monitoramento do pH do meio com N:P:K 1% e vinhaça 30% ao longo dos 60 dias de cultivo.

Analisando o comportamento do pH, temos que para a vinhaça o mesmo inicia-se ácido, na faixa de 4,7 e que após os primeiros 7 dias de cultivo, tende a aumentar, finalizando em pH alcalino de 8,6 aos 60 dias de cultivo. Já o cultivo com N:P:K inicia-se próximo de neutro (6,9) e aos 7 dias de cultivo atinge um pico de pH 8,5, apresentando após esse pico, decréscimo contínuo até finalizar, aos 60 dias de cultivo, com pH de 5,5. Porém, deve-se salientar que, o pH dos dois meios de cultivo permaneceu aproximadamente constante a partir do 15º dia de experimento, ou seja, após a adaptação das microalgas com a nova condição de cultivo.

Segundo Ribeiro (2007), no cultivo com algas, a elevação do pH pode estar associado a atividade fotossintética, onde ao passo que esses organismo consomem CO₂ dissolvido do meio, liberam íons hidroxila, aumentando consequentemente seu pH. Isso explica porque o cultivo com vinhaça apresentou valores de pH mais elevados, pois seu crescimento celular foi significativamente maior que o crescimento celular do cultivo com N:P:K, onde este segundo, ao final do experimento, estava além de decrescendo, com um número bem reduzido de microalgas.

Durante todo o experimento a temperatura permaneceu aproximadamente constante, variando de 299,6 a 302,8 K.

A Figura 3 apresenta o resultado do monitoramento da turbidez. Nota-se que o ensaio contendo vinhaça apresentou valores bem elevados aos comparados com os do N:P:K, pois a vinhaça é um fluido extremamente turvo, mesmo na diluição utilizada. Embora os picos da turbidez da vinhaça sejam exatamente nos picos de maior densidade celular até o 15º dia, podemos observar que essa relação não pode ser confirmada nas medições subsequentes. O mesmo ocorre com o N:P:K, pois a densidade celular foi decrescente após os primeiros 15 dias de experimento, fato não confirmado na turbidez. Isso ocorre porque a turbidez mede os sólidos em suspensão, mas esses não se referem apenas as microalgas presentes no meio.

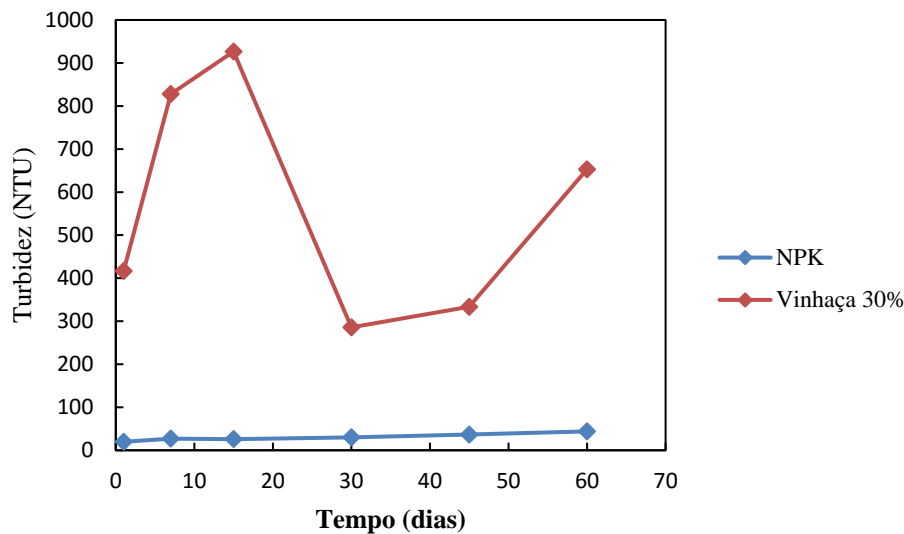


Figura 3 - Monitoramento da turbidez do meio com N:P:K 1% e com vinhaça 30% ao longo dos 60 dias de cultivo.

Além disso, a microalga *Chlorella sorokiniana*, organismo utilizado no experimento é uma microalga de água doce utilizada em tratamentos de águas residuais em condições heterotróficas e aeróbicas escuras (ASHA *et al.*, 2011 *apud* LÚCIO, 2013), o que explica porque ela é capaz de se multiplicar em cultivos com turbidez elevada, como é o caso do cultivo com diluição de 30% de vinhaça.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os experimentos utilizando diluição de vinhaça a 30% obtiveram desempenho muito superior aos realizados com N:P:K 1%, considerando a multiplicação de células, mesmo que após os 15 primeiros dias de cultivo, ambos tenderam a mortandade de células. Esse resultado é promissor, pois demonstra a capacidade da microalga *Chlorella sorokiniana* em se desenvolver em um meio de cultivo turvo, ácido e alternativo como a vinhaça, que além de proporcionar um crescimento de células favorável, por ser um efluente, considerando uma produção em escala industrial, iria baratear os custos do cultivo.

Em relação ao monitoramento do pH e turbidez do meio de cultivo, para o pH observou-se que sua tendência a alcalinidade ou acidez está intimamente relacionada com a maior ou menor presença de microalgas. Para a turbidez, em alguns picos foi possível considerar que a mesma aumenta com o aumento do número de células, entretanto, os resultados foram inconclusivos e para tal confirmação é necessário a realização de novos estudos.

Agradecimentos

O presente trabalho foi realizado com apoio da UEMS/FUNDECT-MS, Brasil, Programa de Iniciação Científica.

Ao Centro de Pesquisa em Biodiversidade (CPBio) pelo empréstimo dos microscópios para a realização das contagens de microalgas.

5. REFERÊNCIAS E CITAÇÕES

ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutriente. **Ciênc. agrotec.** Lavras, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 2008.

BORGHETTI, I. A. **Avaliação do crescimento da microalga *Chlorella minutissima* em meio de cultura com diferentes concentrações de manipueira.** Curitiba, 103 p., 2009. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.

CABELLO, P. E.; SCOGNAMIGLIO, F. P.; TERÁN, F. J. C. Tratamento de vinhaça em reator anaeróbio de leito fluidizado. **Engenharia Ambiental** – Espírito Santo do Pinhal, v. 6, n. 1, p. 321-338, 2009.

CARVALHO, E. M.; OTTONELLI, F.; ANSILAGO, M.; GODOY, H. C.; NAKAGAKI, J. M.; RAMIRES, I. Growth kinetics of the microalga *Pseudokirchneriella subcapitata* (Korshikov) Hindak (Chlorophyceae) in natural water NPK fertilizer. **Biochemistry and Biotechnology Reports**, v.1, n.2, p. 14-18, 2012.

CRUZ, J. I.; PORTUGAL, R. S.; LUCENDO, M. C. H.; ELIS, V. R.; FACHIN, S. J. S.; USTRA, A. T.; BORGES, W. R. Detecção de contaminação de solo por vinhaça através de análise de dados de eletrorresistividade. **Revista Brasileira de Geofísica**, v.26, n.4, p: 481-492, 2008.

HARDY, E. R.; CASTRO, J. G. D. Qualidade nutricional de três espécies de Clorofícias cultivadas em laboratório. **Acta Amazônica**, v.30, n.1, p.39-47, 2000.

LIRA, R. A.; MARTINS, M. A.; MACHAMO, M. F., CORRÊDO, L. P.; MATOS, A. T. As microalgas como alternativa à produção de biocombustíveis. **Engenharia na agricultura**, Viçosa- MG, v. 20, n.50, p. 389-403, 2012.

LÚCIO, M. J. **Cultivo de microalgas *Chlorella vulgaris* com efluente doméstico como meio de cultura alternativo.** Florianópolis, 71 p., 2014. Monografia (Graduação) – Universidade Federal de Santa Catarina.

RIBEIRO, P. C. **Análise de fatores que influenciam a proliferação de cianobactérias e algas em lagoas de estabilização.** Campina Grande – PB, 106 p., 2007. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Campina Grande.

SANTOS, J. D. **Utilização da vinhaça como componente de solução nutritiva para hidroponia.** Curitiba, 69 p., 2010. Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná.

SILVA, M. A.; GRIEBELER, N. P.; BORGES, L. C. Uso de vinhaça e impactos nas propriedades do solo e lençol freático. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, Campina Grande – PB, v.11, n.1, p.108-114, 2007.

SIPAUBA-TAVARES, L. H.; PEREIRA, A. M. L. Large scale laboratory cultures of *Ankistrodesmus gracilis* (Reisch) Korsikov (Chlorophyta) and *Diaphanosoma birgei* Korinek, 1981 (Cladocera). **Brazilian Journal of Biology**, v.68, n.4, p.875-883, 2008.



SIPAUBA-TAVARES, L. H.; ROCHA, O. **Produção de plâncton (fitoplâncton e zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos**. 2. ed. São Carlos: Rima, 2003.