

RECUPERAÇÃO E PURIFICAÇÃO DE BIOMASSA DAS MICROALGAS *CHLORELLA SP.* E *DUNALIELLA TERTIOLECTA* UTILIZANDO MICROFILTRAÇÃO TANGENCIAL

A.B. CARVALHO¹, R. RECH², N.R. MARCILIO¹ e I.C. TESSARIO¹

¹ Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

² Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul

E-mail para contato: alex@enq.ufrgs.br, isabel@enq.ufrgs.br

RESUMO – A produção das microalgas envolve as etapas de cultivo, recuperação e purificação da biomassa, sendo a recuperação um gargalo da produção, devido ao pequeno tamanho das células e às baixas concentrações obtidas no cultivo. Uma alternativa é a concentração das microalgas no próprio meio de cultura. Este trabalho teve como objetivo a aplicação da técnica de microfiltração (MF) para a recuperação e purificação de duas diferentes biomassas de microalgas, uma composta pela *Chlorella sp.* e a outra pela *Dunaliellatertiolecta*. Inicialmente foram definidos os parâmetros operacionais para o processo de microfiltração: pressão transmembrana, velocidade de escoamento da solução, fator de concentração e as condições para operar no modo diafiltração. O percentual de *fouling* nas diferentes velocidades estudadas ficou em torno de 15 % para *Chlorellasp.* e 6 % para *D. tertiolecta*. A velocidade selecionada foi 0,6 ms⁻¹ para ambas as microalgas e a pressão transmembrana (PTM) de 0,5 bar para *Chlorellasp.* e 0,15 bar para *D. tertiolecta*. O fator de concentração volumétrico médio foi de 2,6 para *Chlorellasp.* e 2,5 para *D. tertiolecta*. Foi proposta a utilização do permeado obtido da recuperação da biomassa como meio de cultivo e pode-se concluir que o permeado da *D. tertiolecta* apresentou maior potencial de reuso. A diafiltração (DF) foi capaz de reduzir o teor salino em 42 % para o concentrado da *Chlorellasp.* e 38 % para o concentrado de *D. tertiolecta*.

1. INTRODUÇÃO

O desenvolvimento de processos envolvendo o uso de microalgas é foco de diversas pesquisas devido à capacidade das microalgas de sintetizar uma ampla gama de produtos (vitaminas, proteínas, pigmentos, lipídeos); desta forma o seu campo de atuação é muito amplo, envolvendo aplicações no tratamento de efluentes, na produção de biocombustíveis, e nas indústrias de alimentos e farmacêutica, entre outros.

As etapas de recuperação e purificação dos produtos gerados representam um custo elevado para o processo além de, em alguns casos, comprometer a integridade das microalgas. Entre os possíveis métodos de concentração de biomassa citam-se a sedimentação, a centrifugação, a flotação e

a filtração convencional; a utilização de processos com membranas representa uma alternativa promissora devido às vantagens inerentes a estes processos, uma vez que a concentração é realizada de forma seletiva, além de apresentarem baixo custo energético, não necessitarem de adição de compostos químicos (VANDAMME *et al.*, 2011 apud BILAD *et al.*, 2012; CHEN *et al.*, 2011; WICAKSANA *et al.*, 2012), possuírem modelo de escoamento e condições operacionais que, quando selecionadas adequadamente, respeitam a integridade das células.

O objetivo principal deste trabalho consiste em estudar o processo de microfiltração tangencial para a concentração e purificação de biomassas de duas espécies de microalgas, *Dunaliellatertiolecta* e *Chlorellasp.* e avaliar a utilização do permeado obtido da recuperação da biomassa como meio de cultivo. Neste estudo foram realizados experimentos para caracterizar a membrana, definir as melhores condições de operação do processo de MF e, desta forma avaliar o fluxo permeado, a retenção da membrana, a tendência ao *fouling* e a integridade das microalgas. Também foram avaliados o fator de concentração e a eficiência da diafiltração na purificação das soluções.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Microalgas e sistema de cultivo

Neste trabalho foram utilizadas duas espécies de microalgas marinhas unicelulares, a *Chlorellasp.* de geometria esférica, globular ou elipsoidal, não móvel e *Dunaliellatertiolecta*, dinoflagelada (móvel) de geometria elipsoidal. O meio de cultura base para ambas as microalgas foi o meio Guillard- “f1/2” (LOURENÇO, 2006). Os cultivos foram realizados em fotobiorreatores do tipo *airlift*, confeccionados em acrílico, com volume útil de 2,4 L, providos de camisa de aquecimento/resfriamento interna, conectada a um banho termostático, para manter a temperatura em 28 °C e lâmpadas fluorescentes para fornecer uma intensidade luminosa de 17,5 klx. Para obter a solução das microalgas, os cultivos foram encerrados ao término da fase exponencial de crescimento.

Para avaliar a possibilidade de utilizar o permeado, obtido do processo de MF, como meio de cultivo, 100 mL do permeado foi adicionado a 10 mL da cultura-mãe, e 30 mg de nitrato de sódio (NaNO_3) foi acrescido, uma vez que este macronutriente é totalmente consumido no cultivo. Os experimentos foram realizados em duplicata, sendo os frascos dispostos em estufa rotatória a $3,0 \pm 1,0$ klx e 30 °C. A biomassa foi medida por densidade ótica a 750 nm.

2.2. Sistema de filtração

O sistema de microfiltração utilizado está esquematizado na Figura 1. Água destilada ou a solução de microalgas é bombeada do tanque de alimentação (1) para o módulo para membrana plano de aço inoxidável (área de membrana de 0,0058 m²) (3) através de uma bomba diafragma (2), marca SHURFLO[®]. A configuração de escoamento é tangencial, onde a corrente de alimentação é dividida em duas, sendo uma a corrente de retido ou concentrado e a outra a corrente de permeado. O fluido

foi resfriado por um sistema de serpentina, disposto no interior do tanque de alimentação, para manter a temperatura de trabalho em $27 \pm 1^\circ\text{C}$. O sistema de serpentina foi conectado ao banho termostático modelo RM 12 da LAUDA.

O estudo foi realizado com membrana de fluoreto de polivinilideno (PVDF) com suporte de poliéster, tamanho nominal de poro de $0,22 \mu\text{m}$, informado pelo fabricante SYNDER FILTRATION. Foram utilizadas membranas novas para a realização de cada experimento.

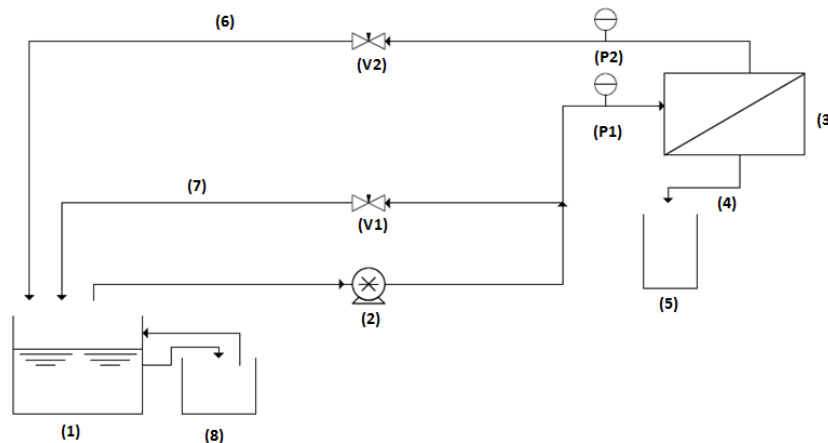


Figura 1 - Esquema do sistema de bancada, onde: tanque de alimentação (1); bomba diafragma (2); módulo plano (3); corrente de permeado (4) recipiente para coleta de permeado (5); corrente de concentrado (6) corrente de recirculação (7) e banho termostático (8). V1-V2 Válvulas agulha, P1-P2 Manômetros.

2.3. Procedimento experimental

Inicialmente foi realizada a compactação da membrana na pressão transmembrana (PTM) de 4,5 bar e temperatura de $27 \pm 1^\circ\text{C}$ até atingir fluxo constante com o tempo; a seguir a membrana foi caracterizada em relação a sua permeância hidráulica, que representa uma medida de controle para avaliar a sua eficiência e o *fouling* associado; esta medida foi realizada antes e após os experimentos com as biomassas.

Foram realizados três tipos de experimentos de filtração com membranas para as biomassas conforme descrito a seguir.

a) O primeiro experimento, com o objetivo de determinar as melhores condições de operação foi conduzido no modo de reciclo total, onde as correntes de retido e permeado retornam para o tanque de alimentação; nestes experimentos variou-se a pressão transmembrana e a velocidade de escoamento da corrente de alimentação. Para ambas as biomassas foram testadas duas velocidades

tangenciais (0,6 e 0,8 m s⁻¹) que correspondem a uma taxa de cisalhamento de 4800 s⁻¹ e 6400 s⁻¹, respectivamente, em quatro pressões transmembranas (0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 bar) para *Chlorellasp.* e cinco pressões transmembranas (0,15; 0,25; 0,50; 0,75 e 1,0 bar) para *D. tertiolecta*.

b) Os experimentos de recuperação de biomassa foram conduzidos no modo batelada, onde a corrente de retido ou concentrado retorna ao tanque de alimentação e a corrente de permeado é retirada. O objetivo destes experimentos foi determinar o fator de concentração e avaliar o *fouling* com o tempo de operação. O experimento foi iniciado após a compactação da membrana e o cultivo das microalgas atingirem uma concentração de 0,9±0,1 g L⁻¹, sendo conduzido à temperatura de 27±1 °C. As condições de pressão transmembrana e velocidade de escoamento para etapa foram 0,5 bar para a *Chlorellasp.* e 0,15 bar para a *D. tertiolecta*. A velocidade de 0,6 m s⁻¹ foi selecionada para ambas as microalgas. O permeado obtido nesta etapa foi recolhido e avaliado como meio de cultivo para ambas as microalgas.

c) Os experimentos de concentração e diafiltração foram realizados em três etapas para ambas as soluções de microalgas: pré-concentração seguido de duas diafiltrações e uma etapa final de concentração. A diafiltração foi utilizada para purificar a solução de microalgas, uma vez que a membrana é permeável aos microsolutos e, desta forma ocorre à diminuição da concentração salina do meio.

Em todos os experimentos o fluxo permeado foi medido a cada 10 min e foram retiradas amostras do concentrado e do permeado para determinação de pH com fita indicadora (Merck) e condutividade elétrica com condutivímetro DIGIMED DM-32, realizando-se leituras diretamente nas amostras. A condutividade elétrica (mS cm⁻¹) foi relacionada com a concentração salina (g L⁻¹) através de uma curva padrão.

2.4. Equações utilizadas

O fluxo permeado representa a vazão de permeado por unidade de área da membrana, sendo calculado através da Equação 1.

$$J = \frac{V}{A t} \quad (1)$$

onde J é o fluxo permeado (L m⁻²h⁻¹), V é o volume de permeado coletado (L) num tempo t (h) e A é a área de permeação (m²).

O *fouling* foi avaliado a partir da determinação da permeância hidráulica (água destilada) antes e após a passagem da solução de microalgas pela membrana, conforme a Equação 2.

$$\%Fouling = \left(1 - \frac{DWP_a}{DWP_b}\right) \times 100 \quad (2)$$

Os valores de permeância hidráulica antes (DWP_b) e após (DWP_a), ambas em $L m^{-2} h^{-1} bar^{-1}$ a passagem da solução são obtidos a partir do coeficiente angular da reta de fluxo de água *versus* pressão transmembrana.

O fator de concentração volumétrico (FCV) foi calculado através da Equação 3.

$$FCV = \frac{V_o}{V_R} \quad (3)$$

onde V_o é o volume inicial da solução de alimentação (L) e V_R é o volume do retido (L).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Compactação e permeância da membrana

A compactação das membranas foi realizada em PTM de 4,5 bare temperatura de 27 ± 1 °C em tempo médio de 2 h até alcançar três valores iguais de fluxo permeado com o tempo, sendo posteriormente, na mesma temperatura de operação, obtida a permeância inicial com a passagem de água destilada em uma faixa de pressão transmembrana de 0,1 bar até 1 bar. A permeância inicial para todos os experimentos, utilizando membranas novas, apresentou valor médio de $78 \pm 7 L m^{-2} h^{-1} bar^{-1}$.

3.2 Determinação das condições de operação - modo reciclo total

Os experimentos de filtração das soluções de *Chlorella* sp. e *Dunaliella tertiolecta* foram realizados em modo de reciclo total. A Figura 2 mostra o fluxo permeado em função da PTM em duas velocidades de escoamento ($0,6 m s^{-1}$ e $0,8 m s^{-1}$) das soluções de *Chlorella* sp. (2a) e *Dunaliella tertiolecta* (2b). É possível observar pela Figura 2a que a microalga *Chlorella* sp. apresentou um aumento do fluxo permeado com o aumento de pressão, sem demonstrar claramente um valor de fluxo crítico e de fluxo limite. Entretanto, a microalga *D. tertiolecta* apresentou um comportamento diferente, neste caso foram observados os valores de fluxo crítico ($19 \pm 2 L m^{-2} h^{-1}$ em 0,15 bar) e fluxo limite ($31 \pm 1 L m^{-2} h^{-1}$ em 0,75 bar) na velocidade de $0,8 m s^{-1}$ e para a velocidade de $0,6 m s^{-1}$ o valor de fluxo crítico de $20 \pm 2 L m^{-2} h^{-1}$ em 0,15 bar e fluxo limite de $27 \pm 2 L m^{-2} h^{-1}$ em 0,75 bar.

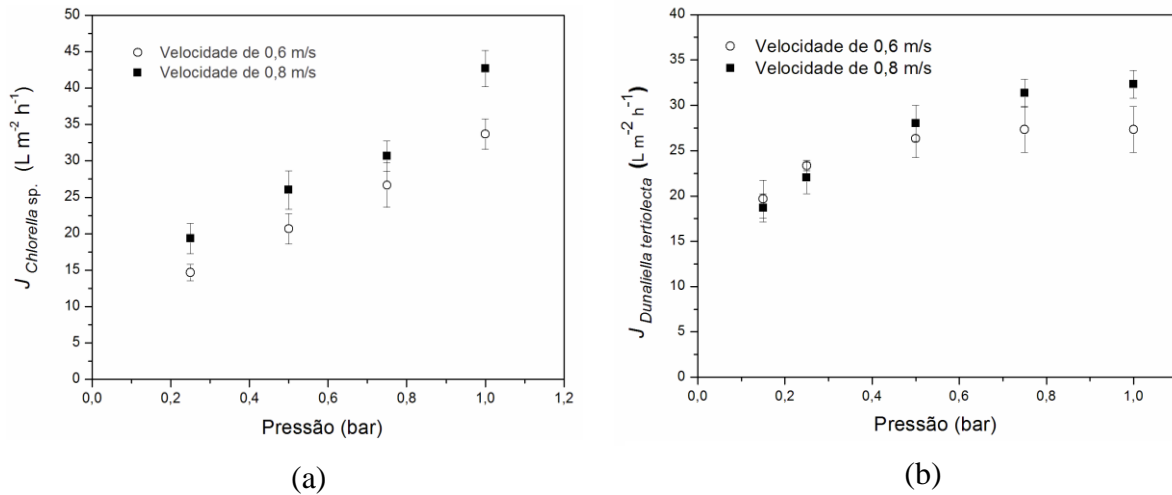


Figura 2 – Fluxo permeado em função da pressão transmembrana para duas velocidades de escoamento da corrente de alimentação para as soluções de microalgas: (a) *Chlorellasp.* e (b) *Dunaliellatertiolecta*.

Esta diferença no comportamento pode ser atribuída às diferentes características morfológicas de cada espécie, pois as condições operacionais foram iguais para as duas microalgas. A *Chlorellasp.* é uma microalga de geometria esférica, sem mobilidade, diferentemente da *D. tertiolecta* de geometria elipsoidal, que apresenta dois flagelos, portanto, alta mobilidade. Não foi observado, através de microscopia ótica, células no permeado de ambas as microalgas, demonstrando a alta retenção da membrana.

3.2 Estudo defouling

Através da comparação da permeância de água destilada antes e após a passagem da solução pelo sistema, foi possível determinar a tendência a *fouling* das microalgas, e os resultados são demonstrados na Tabela 1.

Tabela 1 – Valores de permeância hidráulica e percentagem de *fouling* para as soluções de microalgas.

Microalga	Velocidade tangencial (m s ⁻¹)	Permeância antes (L m ⁻² h ⁻¹ bar ⁻¹)	Permeância após (L m ⁻² h ⁻¹ bar ⁻¹)	% <i>Fouling</i>
<i>Chlorella sp.</i>	0,6	68 ± 2	58 ± 4	15 ± 4
	0,8	78 ± 5	66 ± 2	15 ± 4
<i>D. tertiolecta</i>	0,6	81 ± 8	76 ± 7	6 ± 1
	0,8	84 ± 1	79 ± 1	6 ± 1

Conforme a Tabela 1 é possível fazer um comparativo da tendência ao *fouling* cada velocidade testada para cada microalga, sendo possível observar que não ocorreu diferença significativa, apresentando teste de t ($p = 0,91$ para *Chlorellasp.* e $p = 0,80$ para *D.tertiolecta*). Entretanto, na comparação entre as microalgas ocorreu diferença significativa, sendo $p = 0,02$ nas duas velocidades.

3.3 Concentração de biomassa – experimentos em modo batelada

Os experimentos para determinação do fator de concentração volumétrico e comportamento do fluxo permeado com o tempo foram realizados em modo batelada e de acordo com os resultados do estudo em modo de reciclo total foram selecionadas a pressão de 0,15 bar para *D.tertiolecta*, porque este ponto mostrou-se abaixo da pressão crítica de trabalho e 0,5 bar para *Chlorella sp.*

Tabela 2 – Valores de fluxos permeados inicial e final dos experimentos de concentração das soluções de microalgas.

Microalga	Etapa do experimento	Fluxo ($L\ m^{-2}\ h^{-1}$) Experimento 1	Fluxo ($L\ m^{-2}\ h^{-1}$) Experimento 2	Fluxo ($L\ m^{-2}\ h^{-1}$) Experimento 3	% Redução média do fluxo
<i>Chlorella sp.</i>	Início	84	80	82	74
	Fim	23	19	23	
<i>D. tertiolecta</i>	Início	30	24	29	40
	Fim	16	16	17	

Foram realizados três experimentos, o fator de concentração volumétrico (FCV) médio encontrado para a *Chlorellasp.* foi de 2,6 com tempos de experimento de 5, 6 e 5,3 horas, respectivamente para os três experimentos. Para a *D.tertiolecta* o fator de concentração volumétrico médio foi de 2,5 e para alcançá-lo foi necessário maior tempo de operação, sendo aproximadamente 7 h, 9 h e 9,3 h para o primeiro, o segundo e o terceiro experimento, respectivamente. O maior tempo de operação ocorreu devido às características da solução e também devido às diferenças na pressão de operação (0,15 bar). Outro fator importante que deve ser mencionado é o comportamento do fluxo permeado com o tempo de operação, observou-se que para a *D.tertiolecta* não houve uma queda brusca (40%), quando comparada com a ocorrida para a *Chlorellasp.* (74%).

3.4 Purificação da biomassa – experimentos no modo batelada combinado com modo diafiltração

Os experimentos foram realizados visando a purificação das biomassas através de redução do teor salino e de microsolutos, portanto foi adotada a seguinte estratégia: primeiramente a solução de microalgas foi pré-concentrada retirando um volume inicial de solução de 500 mL dos 1500 mL iniciais (volume do tanque de alimentação + volume morto), seguido de duas diafiltrações (DF) com a adição de 250 mL de água destilada e retirada de mesmo volume, e por fim a etapa de concentração

final; para a solução de *Chlorellasp.* foram retirados, em média, 857 ± 39 mL de permeado e para a de *D.tertiolecta* 830 mL. Os experimentos foram realizados em duplicata.

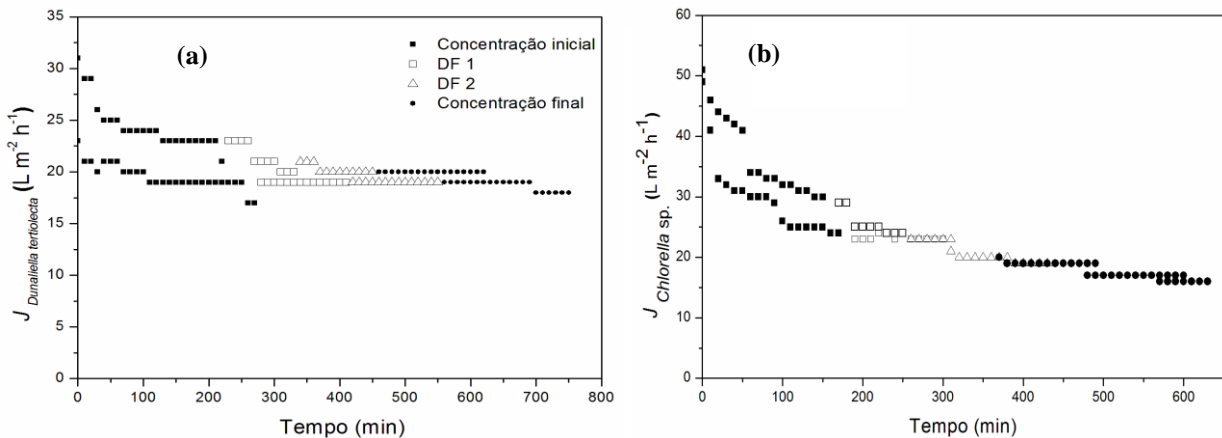


Figura 5 – Comportamento do fluxo permeado versus tempo para (a) *D. tertiolecta* (b) *Chlorella sp.*

Conforme apresentado na Figura 5, os experimentos com a solução de *Chlorellasp.* apresentaram valores de fluxo permeado semelhantes, principalmente nas etapas de diafiltração e observa-se que o fluxo permeado para esta microalga apresentou maior queda durante a operação. A solução de *D. tertiolecta* mostrou comportamento mais estável do fluxo permeado, mas apresentou uma diferença maior nos valores de fluxo permeado para os dois experimentos realizados; sendo que o primeiro iniciou com maior fluxo permeado e consequentemente o tempo de operação menor (10 h).

O comportamento do pH durante os três experimentos manteve-se constante, com valor igual a 7,0 tanto para amostras de concentrado e permeado de ambas as microalgas. Para o concentrado de *Chlorellasp.*, as duas diafiltrações foram responsáveis por uma redução de 42 % no teor salino, e como a técnica de microfiltração apresenta retenção salina igual a zero, este valor de percentagem também é válido para a amostra de permeado. No início da primeira DF, assim como na etapa de pré-concentração, a concentração salina era igual a 34 g L^{-1} e ao final da segunda diafiltração o valor apresentou queda para 19 g L^{-1} . *AD. tertiolecta* utiliza meio de cultivo com a adição de 17 g L^{-1} de cloreto de sódio (NaCl), portanto a concentração inicial foi de 39 g L^{-1} e ao final da segunda DF foi de 24 g L^{-1} , demonstrando uma redução de 38 %.

3.5 Utilização do permeado como meio de cultivo

Esse experimento realizado em duplicata testou a capacidade do permeado de ambas as microalgas como meio de cultivo, visando uma redução do consumo de água e nutrientes necessários para o processo. A adição de 300 mg L^{-1} de nitrato de sódio (NaNO_3) é devida ao consumo total desse macronutriente durante o cultivo das microalgas, sendo esse valor de concentração utilizado por garantir maior concentração de biomassa em estudos que estão sendo realizados pelo grupo de pesquisa deste trabalho.

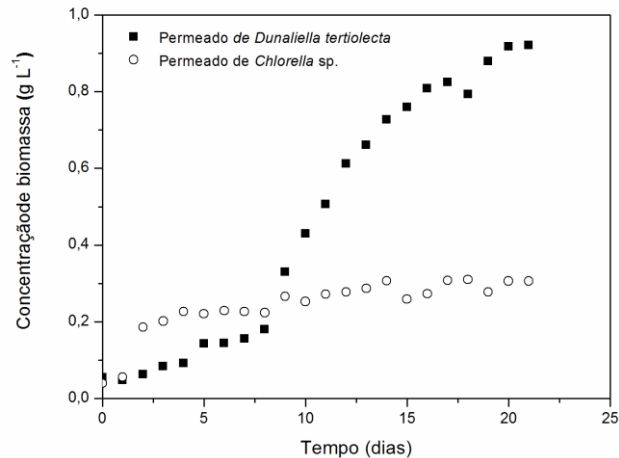


Figura 4 – Curva de crescimento de *Dunaliellatertiolecta* e *Chlorellasp.* utilizando o permeado como meio de cultivo.

Conforme os resultados apresentados na Figura 4 é possível observar que o permeado da microalga *Dunaliellatertiolecta* mostrou capacidade como meio de cultura, apresentando valor máximo de concentração de biomassa de $0,92 \pm 0,03 \text{ g L}^{-1}$ em um período de 21 dias. Entretanto, o permeado da *Chlorellasp.* não demonstrou a mesma capacidade, alcançando rapidamente o estado estacionário, com obtenção de valor máximo de concentração de biomassa de $0,31 \pm 0,10 \text{ g L}^{-1}$.

4. Conclusão

O principal objetivo do presente trabalho foi aplicar a microfiltração para concentração de biomassa das microalgas *Chlorellasp.* e *Dunaliellatertiolectae* concluímos que o sistema de membranas alcançou o objetivo proposto, sendo maior o tempo de operação para *D. tertiolecta* em consequência da menor pressão de operação (0,15 bar). Em termos de velocidade tangencial, foi utilizado o mesmo valor ($0,6 \text{ m s}^{-1}$) para ambas as microalgas devido a menor taxa de cisalhamento aplicada (4800 s^{-1}) e menor custo energético. A utilização do permeado da *D. tertiolecta* mostrou-se mais eficaz para o crescimento desta microalga e o mododiafiltração foi capaz de reduzir a concentração salina das duas microalgas.

REFERÊNCIA BIBLIOGRÁFICA

BILAD, M.R.; VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MUYLAERT, K., VANKELECOM, I.F.J. Harvesting microalgal biomass using submerged microfiltration membranes. *Bioresource Technology*, v. 111, p. 343-352, 2012.

CHEN, C.-Y.; YEH, K.-L.; AISYAH, R.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. *Bioresource Technology*, v. 102, p. 71-81, 2011.

LOURENÇO, S. O. *Cultivo de microalgas marinhas: Princípios e Aplicações*. São Carlos: RiMa, 2006.

VANDAMME, D.; PONTES, S.C.V.; GOIRIS, K.; FOUBERT, I.; PINOY, L.J.J.; MUYLAERT, K. Evaluation of electro-coagulation–flocculation for harvesting marine and freshwater microalgae. *Biotechnology and Bioengineering*, v.108, p. 2320-2329, 2011.

WICAKSANA, F.; FANE, A.G.; PONGPAIROJ, P.; FIELD, R. Microfiltration of algae (*Chlorella sorokiniana*): Critical flux, fouling and transmission. *Journal of Membrane Science*, v. 387–388, p. 83-92, 2012.