



DENSIFICAÇÃO DE *SYNECHOCOCCUS SUBSALSUS* POR COAGULAÇÃO/FLOCULAÇÃO

Laura Benevides dos Santos (*), Isabelli Dias Bassin, Magali Christe Cammarota

* Universidade Federal do Rio de Janeiro, Pós-Graduação em Engenharia Ambiental, Escola Politécnica & Escola de Química. E-mail para contato: laura_benevides@poli.ufrj.br.

RESUMO

A utilização de biocombustíveis, enquanto alternativa energética aos combustíveis fósseis tradicionais, tem sido motivo de diversos estudos. Biocombustíveis de terceira geração, como o biogás obtido a partir da digestão anaeróbia de biomassas de microalgas e cianobactérias, tem se mostrado um campo de estudo promissor. No entanto, como os cultivos de microalgas e cianobactérias apresentam baixas concentrações de biomassa, para que o balanço energético da produção de metano por digestão anaeróbia se torne viável deve-se estabelecer uma etapa eficiente de concentração da biomassa. A fim de concentrar suspensões da cianobactéria *Synechococcus subsalsus*, este estudo avaliou diferentes condições de densificação por coagulação/floculação com o coagulante $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Maior densificação foi obtida a pH 6 e 400 mg/L de FeCl_3 , condição na qual a biomassa foi concentrada 7,3 vezes.

PALAVRAS-CHAVE: Coagulação/floculação, cloreto férrico, densificação, *Synechococcus subsalsus*, biogás.

ABSTRACT

The use of biofuels as an energy alternative to traditional fossil fuels has been the subject of several studies. Third-generation biofuels, such as biogas obtained from the anaerobic digestion of microalgae and cyanobacterial biomass, have shown to be a promising field of study. However, as the microalgae and cyanobacteria cultures have low biomass concentrations, an efficient stage of concentration of the biomass must be established to viable an energy balance for the methane production by anaerobic digestion. To concentrate suspensions of the cyanobacterium *Synechococcus subsalsus*, this study evaluated different densification conditions by coagulation/flocculation with the coagulant $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Higher densification was obtained at pH 6 and 400 mg/L of FeCl_3 , a condition in which the biomass was concentrated 7.3 times.

KEY WORDS: Coagulation/flocculation, ferric chloride, densification, *Synechococcus subsalsus*, biogas.

INTRODUÇÃO

A preocupação da população mundial com o aumento das emissões atmosféricas antropogênicas e seus efeitos na qualidade da vida humana é um assunto recorrente nos dias de hoje. Estima-se que uma elevação acima de 2 °C da temperatura da Terra possa causar mudanças dramáticas nos ecossistemas terrestres e aquáticos, tais como elevação do nível do mar, desertificação, mudanças no uso do solo, além de uma série de eventos em cadeia, que culminariam no empobrecimento das populações mais vulneráveis, no aumento da insegurança alimentar, na perda de biodiversidade e no surgimento de novas pandemias (IPCC, 2019). Neste contexto, a adoção de fontes de energia renováveis como os biocombustíveis, em substituição aos combustíveis fósseis tradicionais, é uma alternativa interessante.

Os biocombustíveis de terceira geração, derivados de biomassas de microalgas e cianobactérias, representam uma fonte potencial de energia com soluções para as desvantagens encontradas na produção de biocombustíveis de primeira e segunda geração (SHUBA & KIFLE, 2018). Diversas pesquisas têm investigado o potencial de microalgas e cianobactérias para a captura de CO_2 e a produção de biocombustíveis. Dentre essas pesquisas está a produção de biogás por digestão anaeróbia de biomassas de microalgas e cianobactérias. Isso é possível devido à alta concentração de matéria orgânica disponível nas biomassas (JANKOWSKA *et al.*, 2017).

Em geral, o cultivo de microalgas em lagoas abertas e fotobiorreatores fechados atinge um conteúdo de sólidos secos de 0,5 e 5-10 g/L, respectivamente. Para a produção de biodiesel, os processos de concentração da biomassa precisam garantir altas concentrações de lipídeos, bem como a integridade das células para a etapa de transesterificação. Entretanto, na produção de biogás em via úmida, por digestão anaeróbia, todas as frações da célula (carboidratos, proteínas e lipídeos) participam da rota de conversão (TRAN *et al.*, 2013; MILLEDGE *et al.*, 2019). Portanto, a necessidade de concentração da biomassa para a produção de biogás é menor. Ainda assim, a produção de biogás depende diretamente da concentração de matéria orgânica disponível para os microrganismos anaeróbios.



O tamanho das células (3-30 μm) dificulta o processo de concentração da biomassa e, em alguns casos, o uso de uma ou mais etapas de separação das fases sólida e líquida são necessárias para uma concentração eficiente. A centrifugação é o método de concentração de biomassa mais amplamente usado devido a sua capacidade de processamento de grandes volumes, proporcionando alta eficiência de concentração de cultivos de microalgas. Entretanto, apresenta alto consumo de energia. Outros métodos incluem a filtração, que tem como desvantagem o maior tempo de processo, bem como o constante entupimento da membrana de filtração; e a sedimentação, que muitas vezes requer um estágio anterior de coagulação/floculação para se atingir elevada eficiência (RAS *et al.*, 2011; BARROS *et al.*, 2015).

A coagulação, seguida de floculação, também está entre os principais métodos de densificação de microalgas e cianobactérias. A floculação química é induzida através da adição de um coagulante ao cultivo de microalgas. Os mecanismos envolvidos na floculação de microalgas em uma suspensão estão relacionados à interação entre o coagulante e às cargas negativas presentes na superfície das células, que formam uma força eletrostática de repulsão. O coagulante tem a capacidade de neutralizar estas cargas e, desta forma, as células algáceas podem aderir umas às outras, formando flocos que sedimentam (MOLINA GRIMA *et al.*, 2003).

A fim de viabilizar a produção de biogás via digestão anaeróbia da biomassa de microalgas e/ou cianobactérias, é essencial que um método eficiente e de baixo custo de concentração celular seja empregado. Nesse sentido, o uso de processos envolvendo coagulação/floculação/sedimentação é muito promissor. Além da eficiência e do baixo custo, para o uso do concentrado na digestão anaeróbia é crucial que o coagulante utilizado na concentração não seja tóxico ou inibitório para os microrganismos anaeróbios (PUGAZHENDHI *et al.*, 2019).

Diversos estudos têm provado que a coagulação/floculação proporciona alta eficiência de concentração de uma ampla variedade de espécies de microalgas e cianobactérias, sejam elas marinhas ou de água doce (LAMA *et al.*, 2016). Portanto, este estudo tem como objetivo avaliar a densificação de uma suspensão da cianobactéria *Synechococcus subsalsus* por coagulação/floculação/sedimentação para que posteriormente a biomassa concentrada obtida seja submetida à digestão anaeróbia para produção de biogás.

OBJETIVO

Este trabalho tem como objetivo principal avaliar a densificação de uma suspensão da cianobactéria *Synechococcus subsalsus* por coagulação/floculação/sedimentação com o coagulante cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$), indicando o melhor pH e concentração do coagulante.

METODOLOGIA

A cepa de cianobactéria *Synechococcus subsalsus* utilizada foi doada pelo Banco de Microrganismos Aidar & Kutner do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (BMAK 164). A cianobactéria foi cultivada em frascos erlenmeyer de 500 mL contendo 300 mL de meio BG-11 estéril, mantidos em shaker rotatório a 150 rpm com controle de temperatura (23 °C) e iluminação (fotoperíodo 12:12 h). O meio BG-11 é composto de: 1,5 g NaNO_3 ; 0,04 g K_2HPO_4 ; 0,075 g $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,036 g $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,006 g ácido cítrico; 0,006 g citrato férrico de amônio; 0,001 g EDTA (sal dissódico); 0,02 g Na_2CO_3 ; 1 ml solução de elementos-traço; 1 L água destilada. A solução de elementos-traço é composta por: 2,86 g H_3BO_3 ; 1,81 g $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$; 0,222 g $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$; 0,39 g $\text{NaMoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$; 0,079 g $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$; 49,4 mg $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$; 1 L água destilada. O crescimento foi monitorado em espectrofotômetro por medida de densidade óptica a 750 nm. Após atingir a máxima concentração, a suspensão foi caracterizada em termos de concentração de biomassa (g/L, peso seco).

Os experimentos de densificação da suspensão foram realizados em equipamento *Jar Test* (NOVA ÉTICA, modelo 218/6) para se obter o melhor pH e concentração de coagulante na coagulação/floculação com um coagulante tradicional - cloreto férrico ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, PROQUIMIOS). Em cada ensaio, 300 mL de amostra da suspensão foram introduzidos em béqueres de 600 mL. O pH foi ajustado para os valores desejados com ácido (H_2SO_4 2,18 N) ou álcalis (NaOH 1 N) e a concentração de coagulante ajustada diretamente no béquer pela adição do volume necessário de uma solução de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ a 200 mg/L. A mistura foi mantida sob agitação de 100 rpm durante 1 minuto (tempo de mistura rápida - TMR), seguida de agitação a 40 rpm por 15 minutos (tempo de mistura lenta - TML). Em seguida, a sedimentação dos flocos formados ocorreu por 45 minutos em repouso (tempo de sedimentação - TS). Passado este período, drenou-se o sobrenadante e recolheu-se o concentrado para análises posteriores.

Diferentes valores de pH (entre 4 e 9) foram avaliados, fixando-se a concentração do coagulante (400 mg/L). Utilizando



o pH que resultou na melhor concentração no teste anterior, realizou-se a avaliação da concentração de coagulante (80 - 480 mg/L). A eficiência de concentração foi medida a partir da demanda química de oxigênio da suspensão inicial (DQO_i g/L) e do sobrenadante após coagulação (DQO_{sobr} g/L) e dos volumes da suspensão inicial ($V_i = 0,3$ L), do sobrenadante (V_{sobr} L) e do concentrado ($V_{conc} = V_i - V_{sobr}$ L), empregados no cálculo de um fator de concentração (FC), conforme Equação 1.

$$FC = \{[(DQO_i * V_i) - (DQO_{sobr} * V_{sobr})] / V_{conc}\} / DQO_i \quad \text{equação (1)}$$

Valores de DQO da biomassa concentrada foram convertidos a peso seco (SST – sólidos suspensos totais) por meio de curvas-padrão preparada com amostra da suspensão obtida ao final do cultivo. DQO e SST foram medidos pelos métodos de refluxo fechado colorimétrico e gravimétrico, respectivamente, empregando-se métodos padrão (Standard Methods).

RESULTADOS

Foram realizados seis cultivos da cianobactéria, verificando-se um pH de 8,7-9,5 e concentrações de 703-767 mg SST/L após, aproximadamente, 30 dias a 23 °C, o que está em concordância com Oliveira *et al.* (2019), que obteve valores entre 345 e 738 mg SST/L para a mesma espécie. A Figura 1 mostra a curva de crescimento de *Synechococcus subsalsus* nos 15 primeiros dias de cultivo, com valores médios e desvio-padrão da densidade óptica (D.O.) medida nos diferentes cultivos realizados. Observou-se que, ao longo do tempo, a disposição dos cultivos dentro dos *shakers* provocou mudanças na coloração das suspensões e eventual turvação, o que proporcionou variação nas leituras de densidade óptica e aumento do desvio-padrão.

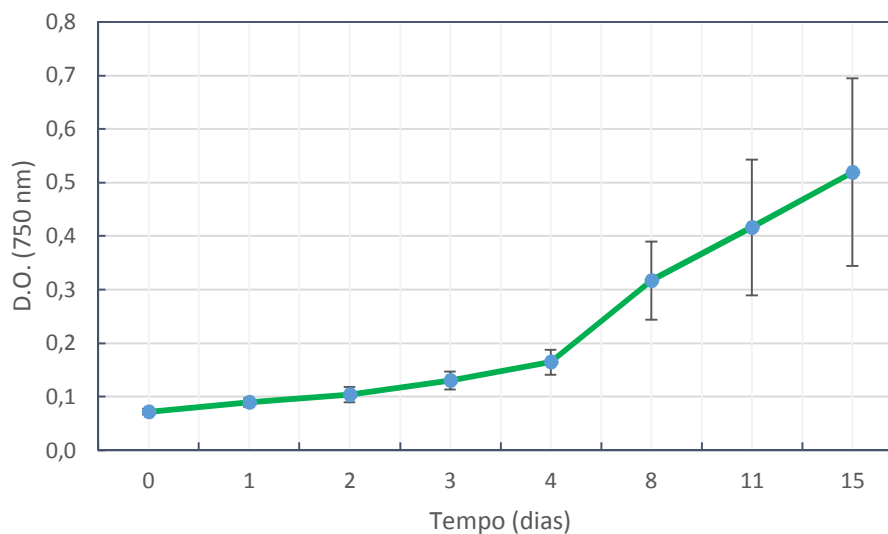


Figura 1: Curva de crescimento de *Synechococcus subsalsus*. Fonte: Autor do Trabalho.

Os resultados dos ensaios conduzidos sob variação de pH e concentração do coagulante encontram-se na Figura 2. Mantendo-se a concentração do coagulante em 400 mg/L e variando o pH inicial, verificou-se maior fator de concentração da biomassa a pH 6,0 nos três experimentos realizados ($3,14 \pm 1,38$, Fig. 1A). Com o pH ajustado em 6,0 foi possível confirmar que o fator de concentração aumentava até 400 mg/L de $FeCl_3$ (Fig. 1B). Na condição de pH 6 e 400 mg/L de $FeCl_3$ a eficiência de coleta da biomassa foi, em média, de 98,6%. A biomassa foi concentrada em $7,32 \pm 0,56$ vezes, aumentando a concentração de SST da suspensão de 703-767 mg/L para 3297-3942 mg/L com menor consumo de álcalis para ajuste do pH da suspensão para 6,0 (0,2 mL de NaOH 1 N, em média – cerca de 27 mg/L). As concentrações de sódio e ferro acumuladas na biomassa concentrada (teoricamente cerca de 27 e 138 mg/L, respectivamente) estão abaixo de níveis inibitórios em uma etapa subsequente de digestão anaeróbia (CHEN *et al.*, 2008).

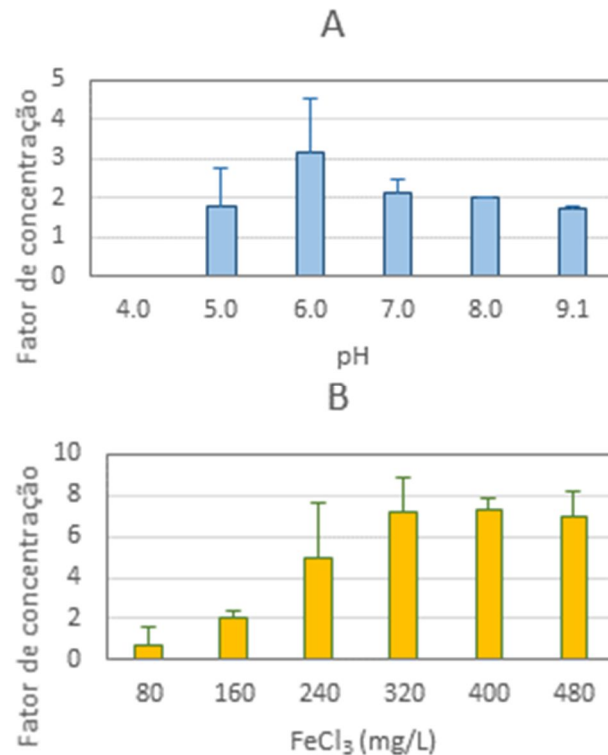


Figura 2: Fator de concentração (em DQO) de suspensões da cianobactéria *S. subsalsus* na coagulação/floculação com cloreto férrico mediante diferentes valores de pH (A) a 400 mg/L de FeCl₃ e diferentes concentrações de FeCl₃ a pH 6 (B). Fonte: Autor do Trabalho.

Apesar da alta eficiência de coagulação/floculação, observou-se que na condição ótima de pH e concentração de coagulante, houve uma diferença acentuada nos valores de Fator de Concentração. Isto se deve, principalmente, ao tempo de cultivo da cianobactéria e seus efeitos na coloração e DQO inicial do meio de cultivo. Os cultivos com mais de 35 dias apresentaram coloração mais escura, maior densidade de células de cianobactérias, maior DQO e menores valores de Fator de Concentração, quando comparados aos cultivos com menos de 30 dias. Essas diferenças proporcionaram flutuações nas médias e desvios-padrão, o que pode ser notado na Figura 2.

Na Figura 3 são apresentadas correlações entre a remoção de DQO da suspensão na coagulação/floculação (que equivale à concentração da biomassa no sedimentado) e as variáveis finais dos cultivos (que equivalem às condições iniciais no Jar Test) de sete experimentos de coagulação/floculação conduzidos na melhor condição apontada no estudo (pH 6, 400 mg/L FeCl₃). A remoção de DQO não apresentou correlação com o pH final do cultivo, que apresentou variação de apenas 1,1 unidades, entre 9,1 e 10,2 (Fig. 3A). A temperatura final do cultivo apresentou uma baixa correlação com a remoção de DQO, indicando aumento da remoção de DQO com a temperatura, que variou entre 22,5 e 26,9 °C (Fig. 3B). Já a DO e a DQO, ambas relacionadas ao crescimento celular e correlacionadas entre si (Fig. 3E), apresentaram forte correlação negativa com a remoção de DQO, ou seja, maiores valores de DO e DQO ao final dos cultivos resultaram em menor remoção de DQO na coagulação/floculação (Fig. 3C e 3D). Uma explicação seria a menor relação mássica entre o coagulante e a biomassa suspensa (medida como DQO) nos cultivos com maior crescimento. Para uma mesma concentração de 400 mg/L de FeCl₃, a relação mássica variou entre 0,39 e 0,81 g FeCl₃/g DQO, resultando em remoções de DQO de 73,3 e 91,1% (Fig. 3F).

Vários estudos têm investigado a coagulação/floculação de diferentes espécies com FeCl₃. Ainna *et al.* (2015) observaram comportamento similar na floculação de uma mistura de microalgas (com 550 mg SST/L), a eficiência de coleta aumentava com a concentração do coagulante de 50 a 200 mg/L, atingindo 88,3% na maior concentração. Valdés *et al.* (2008) avaliaram a floculação da microalga *Nannochloropsis* sp., obtendo eficiência de coleta em torno de 90% a partir de 70 mg/L e pH 6,5. Após 180 min de adição de 400 mg/L do coagulante a uma suspensão da microalga marinha *Nannochloropsis oculata*, a eficiência de coleta foi de 93,8%. No entanto, esta concentração induzia a completa lise celular, o que não ocorreu com *Synechococcus subsalsus*, visto que a coloração das microalgas permaneceu a mesma e o sobrenadante estava límpido ao final do processo. Portanto, os resultados diferem de espécie para espécie e com as condições de cultivo e de precipitação, devendo-se avaliar as melhores condições de coleta para cada espécie estudada.

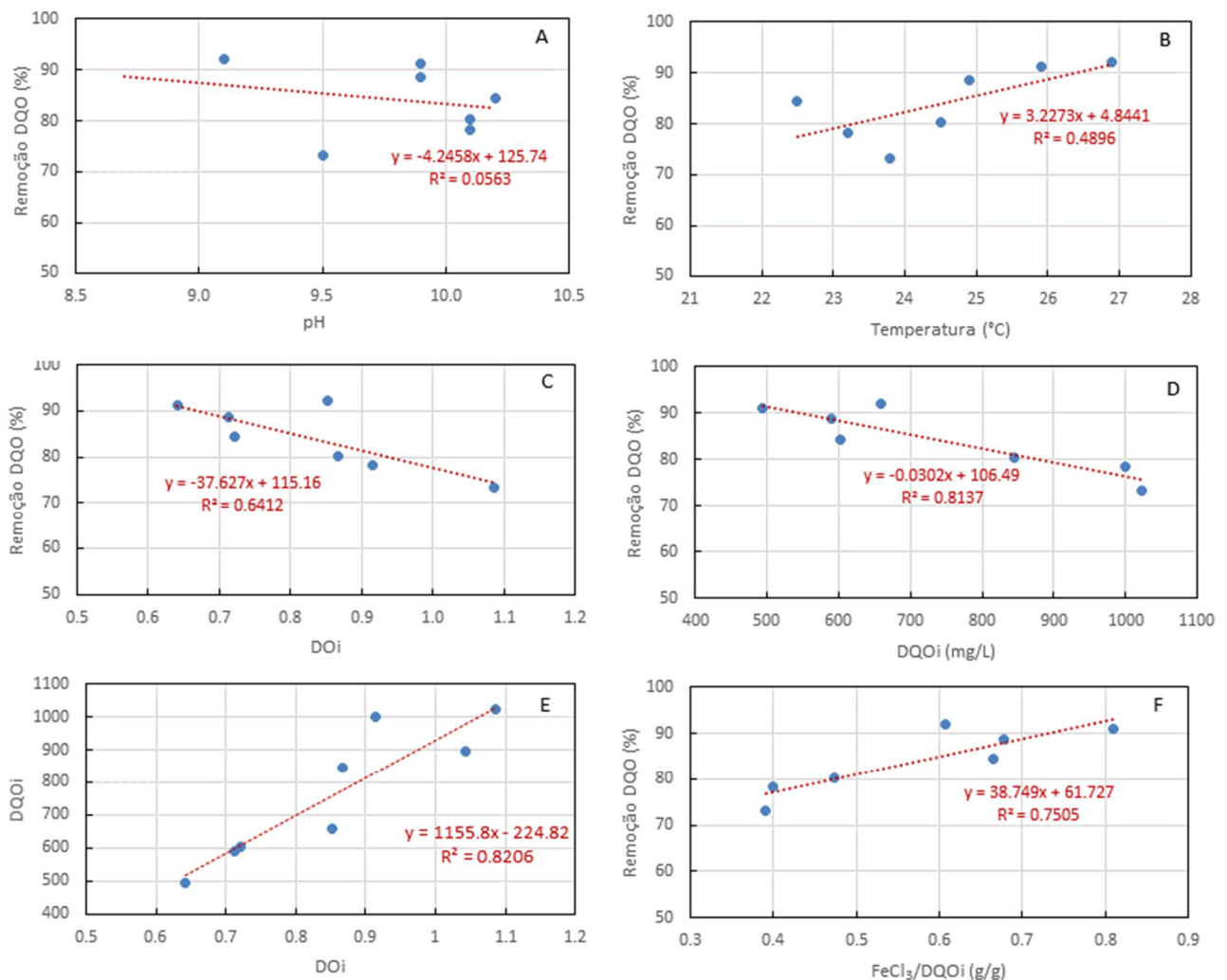


Figura 3: Correlação entre remoção de DQO de suspensões da cianobactéria *S. subsalsus* na coagulação/floculação com cloreto férrico na melhor condição (pH 6, 400 mg/L FeCl₃) e as variáveis iniciais pH, temperatura, DO e DQO, e a relação mássica FeCl₃/DQO. Fonte: Autor do Trabalho.

Na Figura 4 podem ser visualizados a curva de sedimentação, mostrando que aos 30 minutos de sedimentação a biomassa atinge o máximo de compactação (Fig. 4A), e o aspecto da suspensão antes e após 45 minutos de sedimentação na melhor condição de coagulação/floculação (Fig. 4B).

Para que a etapa de sedimentação dos flocos de microalgas seja eficiente, a velocidade de sedimentação precisa ser superior a 0,36 m/h, velocidade praticada nas unidades de sedimentação (GRANADOS *et al.*, 2012). Gutiérrez *et al.* (2015) avaliou as velocidades de sedimentação de um consórcio de microalgas e bactérias, com os floculantes de polímeros naturais *Ecotan* e *Tanfloc*, obtendo dosagem ótima para floculação de 90% da biomassa de 10 mg/L e 50 mg/L, respectivamente. Nestas condições, as velocidades de sedimentação em uma coluna com 40 cm de profundidade foram de 2,016 m/h para o floculante *Ecotan* e 1,26 m/h para *Tanfloc*. No presente estudo, para a condição ótima de 400 mg/L de FeCl₃ e pH 6, na etapa de sedimentação obteve-se uma velocidade de sedimentação de 0,14 m/h, bem abaixo do ideal. Portanto, deve-se avaliar o emprego de polieletrólitos na etapa de floculação a fim de aumentar o tamanho/densidade dos flocos e consequentemente a velocidade de sedimentação.

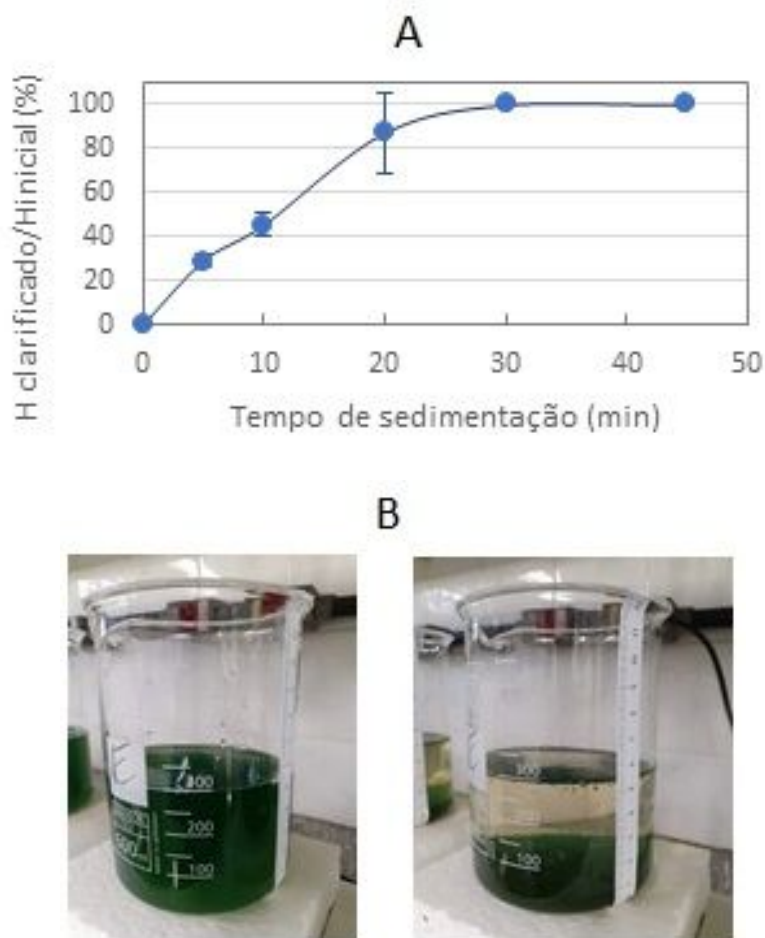


Figura 4: Curva de sedimentação (A) e suspensão da cianobactéria *S. subsalsus* antes e após coagulação/floculação na melhor condição de coagulação/floculação, pH 6 e 400 mg/L FeCl₃ (B). Fonte: Autor do Trabalho.

Considerando o aumento dos sólidos suspensos totais da biomassa de 767 para 3942 mg SST/L (na condição ótima de 400 mg/L de FeCl₃ e pH 6), para a obtenção de uma tonelada de biomassa floculada seria necessária 0,102 tonelada do coagulante FeCl₃.6H₂O. Lama *et al.* (2016) reportou uma dosagem similar de 0,12 ton FeCl₃/ton de biomassa para concentração da microalga *Chlorella vulgaris*, e uma dosagem inferior, de 0,03 ton FeCl₃/ton biomassa para concentrar *Nannochloropsis oculata*, ambas com fator de concentração de 31. Desta forma, verifica-se que a dosagem de coagulante varia de acordo com as diferentes espécies e as concentrações iniciais das suspensões de células.

CONCLUSÕES

Neste estudo, o coagulante cloreto férrico (FeCl₃.6H₂O) foi utilizado na densificação da cianobactéria *Synechococcus subsalsus*. Verificou-se um maior fator de concentração, de 7,32±0,56, para pH 6,0 e 400 mg/L de FeCl₃. Nesta condição, os flocos formados sedimentaram a uma velocidade de sedimentação de 0,14 m/h. Ambos, fator de concentração e velocidade de sedimentação são baixos, devendo-se avaliar o emprego de flocculantes e/ou outros coagulantes para maior densificação e velocidade de sedimentação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Ainna T., Amar M., Omar H., Ismail A. **Flocculation of mixed microalgae using ferric (III) chloride and Aspergillus-based flocculant**. Seminario de Ecología de Malasia, 2015.



2. Barros, A.I., Gonçalves, A.L., Simões, M., Pires, J.C. **Harvesting techniques applied to microalgae: a review.** *Renew. Sust. Energ. Rev.*, v. 41, p.1489-1500, 2015.
3. Chen Y., Cheng J.J., Creamer, K.S. **Inhibition of anaerobic digestion process: a review.** *Bioresour. Technol.*, v. 99, p. 4044-4064, 2008.
4. Intergovernmental Panel on Climate Change (IPCC). **Special Report. Special Report on Climate Change and Land. Chapter 2: Land – Climate interactions.** Disponível em: <https://www.ipcc.ch/site/assets/uploads/sites/4/2021/02/05_Chapter-2-V5.pdf>. Acessado em: 21/04/21.
5. Granados, M.R., Acién, F.G., Gómez, C., Fernández-Sevilla, J.M., Molina Grima, E. **Evaluation of flocculants for the recovery of freshwater microalgae.** *Bioresource Technology*, v. 118, p. 102 – 110, 2012.
6. Gutiérrez, R., Passos, F., Ferrer, I., Uggeti, E., García, J. **Harvesting microalgae from wastewater treatment system with natural flocculants: Effect on biomass settling and biogás production.** *Algal Research*, v. 9, p. 204 – 211, 2015.
7. Jankowska, E., Sahu, A.K., Oleskowicz-Popiel, P. **Biogas from microalgae: Review on microalgae's cultivation, harvesting and pretreatment for anaerobic digestion.** *Renew. Sust. Energ. Rev.*, v. 75, p. 692-709, 2017.
8. Lama, S., Muylaert, K., Karki, T.B., Foubert, I., Henderson, R.K., Vandamme, D. **Flocculation properties of several microalgae and cyanobacterium species during ferric chloride, chitosan and alkaline flocculation.** *Bioresour. Technol.*, v. 220, p. 464 – 470, 2016.
9. Milledge, J.J., Nielsen, B.V., Maneein, S., Harvey, P.J. **A brief review of anaerobic digestion of algae for bioenergy.** *Energies*, v. 12, p. 1166, 2019.
10. Molina Grima, E., Belarbi, E.H., Acién Fernández, F.G., Robles Medina, A., Chisti, Y. **Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics.** *Biotechnology Advances*, v. 20, p. 491 – 512, 2003.
11. Oliveira, H.R., Bassin, D.B., Cammarota, M.C. **Bioflocculation of cyanobacteria with pellets of *Aspergillus niger*: Effects of carbon supplementation, pellet diameter, and Other factors in biomass densification.** *Bioresource Technology*, v. 294, p. 122167, 2019.
12. Pugazhendhi, A., Shobana, S., Bakonyi, P., Nemestóthy, N., Xia, A., Kumar, G. **A review on chemical mechanism of microalgae flocculation via polymers.** *Biotechnol. Reports*, p.e00302, 2019.
13. Ras, M., Lardon, L., Sialve, B., Bernet, N., Steyer, J.P. **Experimental study on a coupled process of production and anaerobic digestion of *Chlorella vulgaris*.** *Bioresour. Technol.*, v. 102, p. 200-206, 2011.
14. Shuba, E.S., Kifle, D. **Microalgae to biofuels: 'Promising' alternative and renewable energy, review.** *Renew. Sust. Energ. Rev.*, v. 81, p.743-755, 2018.
15. Tran, D.T., Le, B.H., Lee, D.J., Chen, C.L., Wang, H.Y., Chang, J.S. **Microalgae harvesting and subsequent biodiesel conversion.** *Bioresour. Technol.*, v.140, p.179-183, 2013.
16. Valdés F.J., Hernández M.D., Gómez A., Marcilla A., Chápuli E. **Study of the efficiency of different flocculants for effective microalgae harvesting.** In 11th Mediterranean Congress of Chemical Engineering, Barcelona, 2008.