

Área: Tecnologia de Alimentos

ANÁLISE DAS EMISSÕES DE DIÓXIDO DE CARBONO DO BIODIESEL 3G PRODUZIDO A PARTIR DE *PHORMIDIUM* *AUTUMNALE*

**Washington Henrique Vilas Boas; Paola Lasta; Stefania Fortes
Siqueira; Mariany Costa Deprá; Leila Queiroz Zepka; Eduardo Jacob-Lopes ***

*Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria
(UFSM), 97105-900, Santa Maria, RS, Brasil*

e-mail: jacoblopes@pq.cnpq.br

RESUMO – A crescente demanda mundial por energia, aliada à dependência do petróleo para a produção de combustíveis, tem levado muitos países a investir na busca por novas matrizes energéticas, preferencialmente a partir de fontes renováveis, pensando na redução de gases do efeito estufa. Assim, o objetivo deste trabalho foi realizar uma análise das emissões de dióxido de carbono do biodiesel 3G produzido a partir do cultivo heterotrófico de *Phormidium autumnale*. O estudo centrou-se na otimização dos parâmetros do processo e na análise das emissões de CO₂ em diversos cenários baseados em microalgas. Os resultados demonstraram uma maior produção de biomassa (6,17 m³/kg) e lipídeos (1,23 m³/kg) no cenário C40. Por outro lado, uma menor emissão de CO₂ foi alcançada no cenário C20 com 6,58 kg CO₂-eq/kg.

Palavras-chave: microalgas / cianobactérias; cultivo heterotrófico; dióxido de carbono; biodiesel (3G).

1 INTRODUÇÃO

A atual preocupação mundial com as mudanças climáticas ocorre principalmente devido ao aumento dos níveis de dióxido de carbono (CO₂) na atmosfera, que tem sido considerado como um dos principais gases do efeito estufa. Em função da necessidade latente de reduzir as emissões de carbono, têm sido procuradas e desenvolvidas tecnologias alternativas que possam mitigar este problema (LOOR et al., 2016).

As microalgas têm atraído grande interesse como ferramentas potenciais para a conversão de poluentes em uma vasta gama de produtos. As microalgas possuem um grande potencial para a produção de biocombustíveis, como o biodiesel de 3ª geração, devido a sua diversidade metabólica (autotrófico, heterotrófico e mixotrófico) e a possibilidade de acumularem lipídios que vem sendo utilizado como ferramenta alternativa para a produção de óleos e obtenção de biocombustíveis (QUEIROZ et al., 2011; RASHID et al., 2014). Esses recursos permitem que as microalgas apresentem diversas vantagens sobre culturas oleaginosas convencionais como o milho, soja e girassol. Em contrapartida, o sucesso de qualquer sistema de produção de biocombustíveis dependerá dos custos

ambientais. (HLAVOVA et al., 2015). Segundo Zah et al., 2007, as emissões de gases de efeito estufa do biodiesel de soja varia entre 51-101 kg CO₂-eq/kg

Assim, a estratégia de suportar a geração desta biomassa em meio de cultivo sintético adicionado de uma fonte de carbono orgânico, poderá contribuir para o avanço da viabilidade ambiental deste tipo de processo. Nesse sentido, o objetivo deste trabalho foi realizar uma análise das emissões de dióxido de carbono do biodiesel 3G produzido a partir do cultivo heterotrófico de *Phormidium autumnale*. O estudo centrou-se na otimização dos parâmetros do processo e na análise das emissões de CO₂ em diversos cenários baseados em microalgas.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Definição de meta e escopo

Os dados experimentais foram obtidos a partir de experimentos realizados em laboratório, onde foram selecionados os requisitos necessários para o processo e para o inventário. Posteriormente, os dados foram normalizados para uma unidade funcional de 1 kg de biodiesel.

Como a indústria de biocombustíveis de microalgas ainda é um processo recente, faltam dados sobre a produção de microalgas em grande escala. No presente estudo, foram utilizadas observações laboratoriais combinadas com dados publicados de processos industriais conhecidos (PRAGYA et al, 2016; XU et al, 2011; ADESANYA et al, 2014).

2.2 Cultivo e colheita de biomassa de microalgas

As culturas de *Phormidium autumnale* foram originalmente isoladas do deserto de Cuatro Ciénegas (26°59'N, 102°03'W-México). As culturas de estoque foram propagadas e mantidas em ágar-ágar solidificado (20 g/L) contendo meio BG11 sintético (RIPPKA et al, 1979). As condições de incubação utilizadas foram a temperatura de 25°C, uma densidade de fluxo de fótons de 15 μmol/m²/s e um fotoperíodo de 12:12 h (luz: escuro). Para obter os inóculos na forma líquida, utilizou-se 1 mL de meio sintético estéril onde ficaram inclinados, as colônias foram raspadas e depois homogeneizadas com a ajuda de tubos misturadores. Todo o procedimento foi realizado de forma asséptica.

2.3 Descrição do processo

Os experimentos foram realizados em um biorreator, alimentado com 2,0 L de meio de cultura. As condições experimentais foram as seguintes: concentração inicial de inóculo de 100 mg/L, temperatura de 30°C, pH ajustado para 7,6, aeração de 1 VVM (volume de ar por volume de cultura por minuto) e ausência de luz. O meio de cultura consistiu em meio sintético BG11 modificado e suplementado com diferentes concentrações de sacarose para obter relações carbono/nitrogênio de 20 (C20), 30 (C30), 35 (C35), 40 (C40), 50 (C50), 60 (C60), 70 (C70) e 80 (C80). A concentração de sacarose foi ajustada estequiometricamente de acordo com a metodologia proposta por Francisco et al, 2015.

As amostragens foram realizadas de forma asséptica a cada 24 horas durante a fase de crescimento do micro-organismo. A dinâmica do pH para o cultivo em biorreator, foi determinada por potenciômetro e a concentração celular através de gravimetria por meio da filtração de um volume conhecido em filtro 0,45µm de diâmetro. A concentração celular e a quantidade de lipídeos foram determinadas através de gravimetria.

Para a extração de lipídeos totais da biomassa, foi utilizado o método de Bligh e Dyer (1959) modificado, levando-se em conta as proporções entre os solventes metanol, clorofórmio e água destilada (2:1:0.8). A quantidade de lipídeos foi determinada por gravimetria a partir do extrato total de clorofórmio, evaporando-se o solvente em atmosfera de nitrogênio e posteriormente seco em estufa e submetido a peso constante.

A saponificação (metilação) foi realizada através de proporções entre metanol, ácido clorídrico e clorofórmio (10:1:1), seguida da esterificação do extrato lipídico, a partir da reação entre o hexano e o clorofórmio (4:1), através do método de Hartman e Lago (1976) modificado. A análise qualitativa e quantitativa do biodiesel foi realizada por cromatografia gasosa (CG) utilizando-se o cromatógrafo Varian 3400CX (Varian, Palo Alto, CA, EUA).

2.4 Emissões de CO₂

O gás de emissão foi calculado de acordo com a equação.

$$E = \sum_i M_i \cdot P_i$$

onde M_i é a massa da substância i que contribui para impactar E , e P_i são os fatores de caracterização das substâncias i , expressas em kg CO₂-eq.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Emissões de CO₂

O impacto ambiental das emissões de dióxido de carbono foi analisado em todas as etapas da cadeia produtiva do biodiesel. Neste sentido a Tabela I mostra as emissões de CO₂ em oito cenários de produção de biodiesel pela microalga *Phormidium autumnale*.

Tabela I

Produção de biomassa, lipídeos e emissões de CO₂ em oito cenários de produção de biodiesel por microalga.

Cenário	Biomassa (kg/m ³)	Lipídeos (kg/m ³)	Emissões de CO ₂ (kg CO ₂ -eq/kg biodiesel)
C20	2,7 ^a ±0,03	0,54 ^a ±0,01	6,58 ^a ±0,01
C30	5,26 ^b ±0,03	1,05 ^b ±0,01	8,23 ^b ±0,01
C35	5,6 ^c ±0,03	1,12 ^c ±0,01	27,12 ^c ±0,01
C40	6,17 ^d ±0,03	1,23 ^d ±0,01	18,09 ^d ±0,01
C50	5,33 ^b ±0,03	1,06 ^b ±0,02	7,71 ^e ±0,01
C60	2,9 ^e ±0,03	0,58 ^f ±0,01	10,51 ^f ±0,01
C70	1,9 ^f ±0,03	0,38 ^g ±0,02	10,62 ^g ±0,01
C80	1,68 ^g ±0,03	0,33 ^h ±0,01	16,47 ^h ±0,01

Dentro da mesma coluna, letras iguais não apresentam diferença ($p < 0,05$) pelo teste de Tukey

O melhor desempenho do processo foi evidenciado entre os cenários C30-C50, com produção máxima de biomassa e lipídeos no cenário C40. Nessa condição, a produção média de biomassa foi de 6,17 kg/m³ resultando em uma produção de lipídeos de 1,23 kg/m³. Estes resultados mostram que no metabolismo heterotrófico, a produção de lipídeos intracelulares pela microalga *Phormidium autumnale* é criticamente afetado pela relação carbono / nitrogênio no meio de cultura.

Conforme mostrado na Tabela I, o cenário C20 apresentou uma baixa taxa de emissão de CO₂ por kg de biodiesel, seguido pelo cenário C50. Já os cenários C35 seguidos pelos C60 e C80 alcançaram as maiores emissões de CO₂. Estes resultados sugerem que quanto menos sacarose é adicionada à cultura, menos energia é necessária para a conversão do carbono no cultivo heterotrófico da microalga. Assim, durante a respiração, haverá pouca liberação de CO₂, uma vez que o uso de carboidratos no cultivo heterotrófico serve como uma fonte única de energia.

A fim de se obter a sustentabilidade do processo, as emissões do CO₂ do processo de produção do biodiesel de microalgas foram comparadas com as emissões de dióxido de carbono para a produção de biodiesel de soja. De acordo com Zah et al., 2007, as emissões de CO₂ alcançadas na produção de biodiesel de soja varia entre 51-101 kg CO₂-eq/kg, considerando as emissões de CO₂ durante a extração do óleo da soja e na transesterificação para obtenção do biodiesel.

Por outro lado, a utilização do bioetanol no Brasil deve incluir todo o sistema agroindustrial. Segundo Khatiwada et al. (2007), as emissões de CO₂ são estimadas em 19,1 kg CO₂-eq/kg de bioetanol. Esses dados também foram apoiados por Souza e Sansone (2015), que conduziram uma ACV de uma biorrefinaria integrada de cana-de-açúcar brasileira com uma estrutura semelhante. Os resultados das emissões de CO₂ apresentadas foram entre 20 kg CO₂-eq/kg e 37 kg CO₂-eq/kg. Estes valores de emissões de CO₂ são mais elevados quando comparados com todos os cenários em estudo.

4 CONCLUSÃO

A análise de emissões de dióxido de carbono do biodiesel de terceira geração produzido a partir do cultivo heterotrófico de *Phormidium autumnale* demonstraram uma maior produção de biomassa (6,17 m³/kg) e lipídeos (1,23 m³/kg) no cenário C40. Por outro lado, uma menor emissão de CO₂ foi alcançada no cenário C20 com 6,58 kg CO₂-eq/kg. Assim, o biodiesel produzido a partir do cultivo heterotrófico da microalga *Phormidium autumnale* torna-se uma fonte alternativa competitiva, pois todos os cenários estudados emitem menos CO₂ quando comparada as fontes convencionais de produção, fomentando a sustentabilidade desta rota tecnológica.

5 REFERÊNCIAS

- BLIGH, E.G.; DYER, J.W. **A rapid method of total lipid extraction and purification.** *Can. J. Biochem. Physiol.*, v.37, p.911–917, 1959.
- FRANCISCO, Érika. C.; NEVES, Débora B.; JACOB-LOPES, Eduardo.; FRANCO, Telma. T. **Microalgae as feedstock for biodiesel production: Carbon dioxide sequestration, lipid production and biofuel quality.** *J. Chem. Technol. Biotechnol.* 85, p. 395-403, 2010.
- FRANCISCO, Érika. C.; FRANCO, Telma. T.; ZEPKA, Leila. Q.; JACOB-LOPES, Eduardo. **From waste-to-energy: The process integration and intensification for bulk oil and biodiesel production by microalgae.** *J. Environ. Chem. Eng.* 3, p. 482-487, 2015.
- FRANCISCO, Érika. C.; FRANCO, Telma. T.; WAGNER, Roger.; JACOB-LOPES, Eduardo. **Assessment of different carbohydrates as exogenous carbon source in cultivation,** *Bioprocess Biosyst. Eng.* 37, p. 1497-1505, 2014.
- HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. **A rapid preparation of fatty acid methyl esters from lipids.** *Lab. Pract.*, v. 22, p. 475-476, 1976.
- HLAVOVA, M.; TUROCZY, Z.; BISOVA, K. **Improving microalgae for biotechnology - From genetics to synthetic biology.** *Biotechnology Advances*, v.33, p. 1194-1203, 2015.
- HOEGH-GULDBERG, Ove; JOHN, Bruno, F. **The Impact of Climate Change on the World's Marine Ecosystems.** *Science* 328, p. 1523-1528, 2010.
- KHOO, H.H.; KOH, C.Y.; SHAIK, M.S.; SHARRATT, P.N. **Bioenergy co-products derived from microalgae biomass via thermochemical conversion – Life cycle energy balance and CO₂ emissions.** *Bioresour. Technol.* 143, p. 298-307, 2013.
- LI, Y., HAN, D., HU, G., DAUVILLEE, D., SOMMERFELD, M., BALL, S., **Chlamydomonas starchless mutant defective in ADP-glucose pyrophosphorylase hyper-accumulates triacylglycerol.** *Metab. Eng.* 12, p. 387-391, 2010.
- LOOR, A.; ORTEGA, D.; LODEIROS, C.; SONNENHOLZNER, S. **Early life cycle and effects of microalgal diets on larval development of the spiny rock-scallop, *Spondylus limbatus* (Sowerby II, 1847).** *Aquaculture*, v. 450, p. 328-334, 2016.
- NASCIMENTO, Iracema, A.; CABANELAS, Iago, T. D.; SANTOS, Jacson, N.; NASCIMENTO, Mauricio, A.; SOUSA, Leandro; SANSONE, Giovanni. **Biodiesel yields and fuel quality as criteria for algal-feedstock selection: effects of CO₂ supplementation and nutrient levels in cultures.** *Algal Res* 8, p. 53-60, 2015.
- O'NEILL, Brian, C.; OPPENHEIMER, Michael. **Dangerous Climate Impacts and the Kyoto Protocol.** *Science* 296, p. 1971-1972, 2002.
- PACKER, Aaron; LI, Yantao; ANDERSEN, Tom; HU, Qiang; KUANG, Yang; SOMMERFELD, Milton. **Growth and neutral lipid synthesis in green microalgae: a mathematical model.** *Bioresour. Technol.* 102, p. 111-117, 2011.

POSADA, John, A.; BRENTNER, Laura, B.; RAMIREZ, Andrea; PATEL, Martin K. **Conceptual design of sustainable integrated microalgae biorefineries: Parametric analysis of energy use, greenhouse gas emissions and techno-economics.** *Algal Res* **17**, p. 113-131, 2016.

PRAGYA, Namita; PANDEY, Krishan, K. **Life cycle assessment of green diesel production from microalgae.** *Renew. Energ* **86**, p. 623-632, 2016.

QUEIROZ, M. I.; HORNES, M.O.; DA SILVA-MANETTI, A.G.; JACOB-LOPES, E. **Single-cell oil production by cyanobacterium *Aphanothece microscopica* Nägeli cultivated heterotrophically in fish wastewater.** *Applied Energy*, V.88, p. 3438-3443, 2011.

RASHID, N.; REHMAN, M.; SADIQ, M. **Current status, issues and developments in microalgae derived biodiesel production.** *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.40, p. 760-778, 2014.

RIPPKA, Rosmarie; DERUELLES, Josette; WATERBURY, B. John; HERDMAN, Michael; STANIER, Roger, Y. **Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria.** *J. Gen. Microbiol*, **111**, p. 1-61, 1979.

WINCK, Flavia, V.; PÁEZ, David, O. M.; RIAÑO-PACHÓN, Diego, M.; MARTINS, Mariana, C.M.; CALDANA, Camila; GONZÁLEZ BARRIOS, Andrés, F. **Analysis of Sensitive CO₂ Pathways and Genes Related to Carbon Uptake and Accumulation in *Chlamydomonas reinhardtii* through Genomic Scale Modeling and Experimental Validation.** *Plant Sci*, p. 7:43, 2016.

XU, Lixian; BRILMAN, D. W.; WITHAG, Jan, A. M.; BREM, Gerrit; KERSTEN, Sascha. **Assessment of a dry and a wet route for the production of biofuels from microalgae: Energy balance analysis.** *Bioresour. Technol* **8**, p. 5113-5122, 2011.