

CURSO DE ENGENHARIA QUÍMICA

Jennifer Julich

**UTILIZAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGA *Arthrospira platensis* PARA
PRODUÇÃO DE ETANOL COM AUMENTO DE ESCALA**

Santa Cruz do Sul

2019

Jennifer Julich

**UTILIZAÇÃO DE BIOMASSA DE MICROALGA *Arthrospira platensis* PARA
PRODUÇÃO DE ETANOL COM AUMENTO DE ESCALA**

Trabalho de conclusão apresentado ao Curso de Engenharia Química da Universidade de Santa Cruz do Sul para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Química.

Orientadora: Profa. Dra. Rosana de Cassia de Souza Schneider

Santa Cruz do Sul
2019

RESUMO

As tecnologias empregando organismos fotossintéticos surgem como método promissor para minimização dos impactos gerados pela queima de combustíveis fósseis não renováveis. As microalgas são microrganismos fotossintéticos e adaptam-se facilmente as condições ambientais, e as condições de cultivo mais comuns utilizam luz como fonte de energia e carbono inorgânico como fonte de carbono, para acumular moléculas energéticas através da fotossíntese, produzindo lipídios, proteínas e carboidratos em grandes quantidades e produzem matéria-prima potencial para a produção de biocombustíveis. Portanto, este trabalho vem propor a otimização da produção de etanol a partir da microalga *Arthrospira platensis*, considerando um aumento de escala nas etapas de hidrólise e fermentação. Para tanto, empregou-se na hidrólise uma sequência de enzimas composta de duas amilases e um complexo de celulase. Para a sacarificação o resultado alcançado na hidrólise enzimática foi de 69 % de rendimento. Os percentuais de etanol encontrados nos experimentos foram semelhantes produzindo em média 5,5 g por 100 g de biomassa de etanol em todos os volumes testados e considerando o valor teórico esperado para esta biomassa foi possível encontrar aproximadamente 52 % de conversão, independente da massa de biomassa utilizada nos experimentos em escala laboratorial. Portanto, considerando o aumento de escala de 20 até 120 g de biomassa não houve diferença significativa no teor de etanol obtido. Desta forma foi possível concluir que a conversão dos polissacarídeos contidos na biomassa em etanol foi possível, no entanto, algumas melhorias ainda podem ser realizadas na fermentação e hidrólise visando um aumento na eficiência do processo.

Palavras-chave: *Arthrospira platensis*, Hidrólise enzimática, Fermentação, Bioetanol.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	7
2	OBJETIVOS	Erro! Indicador não definido.
2.1	Objetivo geral	Erro! Indicador não definido.
2.2	Objetivos específicos	Erro! Indicador não definido.
3	FUDAMENTAÇÃO TEÓRICA	Erro! Indicador não definido.
3.1	Microalgas	Erro! Indicador não definido.
3.1.1	Microalga Arthrospira platensis	Erro! Indicador não definido.
3.2	Produção de etanol	Erro! Indicador não definido.
3.2.1	Hidrólise enzimática	Erro! Indicador não definido.
3.2.2	Fermentação	Erro! Indicador não definido.
4	METODOLOGIA	Erro! Indicador não definido.
4.1	Delineamento da pesquisa	Erro! Indicador não definido.
4.2	Equipamentos	Erro! Indicador não definido.
4.3	Materiais e reagentes	Erro! Indicador não definido.
4.4	Procedimentos	Erro! Indicador não definido.
4.4.1	Pré-tratamento da biomassa	Erro! Indicador não definido.
4.4.2	Caracterização da biomassa	Erro! Indicador não definido.
4.4.2.1	Determinação de Carboidratos Totais	Erro! Indicador não definido.
4.4.2.2	Determinação de Proteínas	Erro! Indicador não definido.
4.4.2.3	Determinação de Cinzas	Erro! Indicador não definido.
4.4.2.4	Determinação do teor de Lipídios	Erro! Indicador não definido.
4.4.3	Determinação da atividade enzimática	Erro! Indicador não definido.
4.4.4	Hidrólise enzimática	Erro! Indicador não definido.
4.4.5	Fermentação	Erro! Indicador não definido.
4.4.6	Aumento de escala laboratorial	Erro! Indicador não definido.
4.4.7	Análise estatística	Erro! Indicador não definido.
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	Erro! Indicador não definido.
5.1	Caracterização da biomassa	Erro! Indicador não definido.

5.2	Determinação da atividade enzimática	Erro! Indicador não definido.
5.3	Hidrólise enzimática	Erro! Indicador não definido.
5.4	Fermentação	Erro! Indicador não definido.
5.5	Aumento da escala laboratorial.....	Erro! Indicador não definido.
5.6	Perspectivas futuras	Erro! Indicador não definido.
6	CONSIDERAÇÕES FINAIS	Erro! Indicador não definido.
	REFERÊNCIAS	9

1 INTRODUÇÃO

A maior demanda de energia, o aumento da população mundial e a modernização, estão vinculados a crescente demanda por combustíveis fósseis. Várias fontes de energia renováveis são cada vez mais importantes como alternativas aos combustíveis fósseis, sendo mais sustentáveis. (CHEW et al., 2017; SUMPRASIT et al., 2017; CHEN et al., 2018; VO et al., 2018)

Os materiais que têm sido investigados como fontes alternativas para suprir essas necessidades, incluem biomassa de microalga, resíduos de culturas, dejetos e biomassa lignocelulósica (CHEW et al., 2017; CHEN et al., 2018). A biomassa de algas, mais especificamente, é uma excelente fonte de desenvolvimento de produtos e energia e pode fornecer matéria-prima para vários tipos diferentes de combustíveis renováveis, como biodiesel, metano, hidrogênio, etanol, entre outros (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010; SUMPRASIT et al., 2017).

Além disso, o uso de fontes de energia fóssil também resulta em maior liberação de gases de efeito estufa, impactando assim na mudança climática e aumentando o risco considerável para a saúde humana. Assim, tecnologias de remediação, empregando organismos fotossintéticos surgem como um método promissor para minimização do impacto do CO₂ gerado na queima dos combustíveis, uma vez que, a emissão deste gás é neutra devido à captura dele durante a etapa de produção de biomassa (SUMPRASIT et al., 2017; VO et al., 2018).

Um dos principais interesses para o cultivo de microalgas é devido à capacidade desses microrganismos de produzir e acumular moléculas de energia em suas células. Apesar das várias vantagens associadas às microalgas sobre plantas superiores (como soja, girassol, cana-de-açúcar e óleo de palma) em relação à produção de biocombustíveis, sendo que o produzido a partir da biomassa de microalgas ainda não representa uma parcela significativa do suprimento mundial de combustíveis líquidos (MORENO-GRACIA et al., 2017).

O esgotamento das reservas mundiais de petróleo e o impacto da poluição ambiental pelo aumento das emissões de gases de escape levaram à procura de combustíveis alternativos adequados para motores a diesel, por exemplo, sendo o biodiesel uma alternativa ao diesel, que é produzido a partir de óleos via transesterificação. É necessário procurar matérias-primas alternativas não baseadas

em alimentos para a produção de biodiesel, tendo o óleo de microalgas potencial de substituir o combustível, diesel convencional (MAHMOUD et al., 2015).

Os desafios da implantação de biocombustíveis de algas são numerosos e dificultam a obtenção de uma produção sustentável de biocombustível a partir de microalgas que competem com o petróleo. Esforços estão sendo feitos pelos setores acadêmico, industrial e governamental para superar esses desafios, que resultaram em um fluxo constante de novas informações em termos de tecnologias inovadoras para biorreatores, novas fontes de nutrientes e estratégias de cultivo (MORENO-GRACIA et al., 2017).

Atualmente, o bioetanol é produzido em escala comercial via fermentação de diferentes matérias-primas ricas em carboidratos, como milho, cana-de-açúcar e beterraba, sendo os Estados Unidos e o Brasil os principais países produtores. O bioetanol é particularmente importante, uma vez que pode substituir a gasolina em motores de combustão, o que o torna um dos biocombustíveis mais promissores. No entanto, as preocupações com a segurança alimentar e a demanda humana por alimentos representam um grande desafio para o uso de estoques agrícolas, sendo assim, alternativas de produção de combustíveis mais sustentáveis são necessárias para superar esses problemas (HERNÁNDEZ et al., 2015).

Embora os biocombustíveis ainda sejam mais caros do que os combustíveis fósseis, sua produção está aumentando em países do mundo todo. A principal alternativa ao diesel na União Europeia é o biodiesel, que representa 82% da produção total de biocombustíveis e continua crescendo na Europa, no Brasil e nos Estados Unidos, com base em objetivos políticos e econômicos (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Diante destas considerações, este trabalho vem propor a produção de etanol de microalga considerando o aumento de escala da produção laboratorial, uma vez que a conversão foi elevada nas condições testadas para uma condição de partida de 100 mg de amostra e a potencialidade de estudo em escala piloto depende de um novo estudo com mais biomassa, em escala laboratorial. Para tanto, será realizada a produção de bioetanol a partir de biomassa de microalga *Arthrospira platensis* otimizando a hidrólise enzimática e a fermentação.

REFERÊNCIAS

- ABOMOHRRA, A. E.-F. et al. Microalgal biomass production as a sustainable feedstock for biodiesel: Current status and perspectives. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 64, p. 596-606, 2016.
- ADNEY, B.; BAKER, J. Measurement of cellulose activities: chemical analysis and testing task. **Laboratory analytical procedure, LAP-006**, 1996.
- AINAS, M. et al. Hydrogen production with the cyanobacterium *Spirulina platensis*. International **Journal of Hydrogen Energy**, v. 42, n. 8, p. 4902-4907, 2017.
- AL ABDALLAH, Q.; NIXON, B. T.; FORTWENDEL, J. R. The enzymatic conversion of major algal and cyanobacterial carbohydrates to bioethanol. **Frontiers in Energy Research**, v. 4, p. 1-15, 2016.
- ANACKER, Leonardo Amonte. **Processo de obtenção de bioetanol a partir de resíduos lignocelulósicos da cultura do tabaco**. 2014. 92 f. Dissertação (Programa de Pós-Graduação em Tecnologia Ambiental - Mestrado e Doutorado) – Universidade de Santa Cruz do Sul, Santa Cruz do Sul, 2014.
- AZEVEDO, A. de et al. Análise do ciclo de vida aplicada à produção de bioetanol a partir de material lignocelulósico remanescente em dejetos bovinos. **Tecno-Lógica**, v. 20, n. 2, p. 118-128, 2016.
- BAO, J. et al. Mixed fermentation of *Spirulina platensis* with *Lactobacillus plantarum* and *Bacillus subtilis* by random-centroid optimization. **Food chemistry**, v. 264, p. 64-72, 2018.
- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v. 37, n. 8, p. 911-917, 1959.
- CAMPBELL, P. K.; BEER, T.; BATTEN, D. Life cycle assessment of biodiesel production from microalgae in ponds. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 50-56, 2011.
- CHEN, W.-H. et al. Thermal degradation of carbohydrates, proteins and lipids in microalgae analyzed by evolutionary computation. **Energy Conversion and Management**, v. 160, p. 209-219, 2018.
- CHEW, K. W. et al. Microalgae biorefinery: High value products perspectives. **Bioresource Technology**, v. 229, p. 53-62, 2017.
- DEMIRBAS, M. Fatih. Biofuels from algae for sustainable development. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3473-3480, 2011.
- DE SOUZA, M. P. et al. As Microalgas Como Uma Alternativa Para a Produção De Biocombustíveis Parte I: Bioetanol. **Tecno-Lógica**, v. 16, n. 2, p. 108-116, 2012.

DOWE, N.; MCMILLAN, J. SSF Experimental Protocols - Lignocellulosic Biomass Hydrolysis and Fermentation (NREL/TP-510-42630). **Golden, Colorado: National Renewable Energy Laboratory (NREL)**, 2008.

EL-MASHAD, Hamed M. Biomethane and ethanol production potential of *Spirulina platensis* algae and enzymatically saccharified switchgrass. **Biochemical Engineering Journal**, v. 93, p. 119-127, 2015.

ENAMALA, M. K. et al. Production of biofuels from microalgae - A review on cultivation, harvesting, lipid extraction, and numerous applications of microalgae. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 94, p. 49-68, 2018.

FERNANDES, B. et al. Starch determination in *Chlorella vulgaris* - a comparison between acid and enzymatic methods. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 5, p. 1203-1208, 2012.

FERNÁNDEZ-SANDOVAL, M. T. et al. Laboratory metabolic evolution improves acetate tolerance and growth on acetate of ethanologenic *Escherichia coli* under non-aerated conditions in glucose-mineral medium. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 96, n. 5, p. 1291-1300, 2012.

HARUN, R.; DANQUAH, M. K. Enzymatic hydrolysis of microalgal biomass for bioethanol production. **Chemical Engineering Journal**, v. 168, n. 3, p. 1079-1084, 2011.

HERNÁNDEZ, D. et al. Saccharification of carbohydrates in microalgal biomass by physical, chemical and enzymatic pre-treatments as a previous step for bioethanol production. **Chemical Engineering Journal**, v. 262, p. 939-945, 2015.

LEE, J.-Y. et al. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 1, p. S75-S77, 2010.

LI, X. et al. Effect of nitrogen limitation on biochemical composition and photosynthetic performance for fed-batch mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 263, p. 555-561, 2018.

MAHMOUD, E. A. et al. Evaluation of the potential for some isolated microalgae to produce biodiesel. **Egyptian Journal of Petroleum**, v. 24, n. 1, p. 97-101, 2015.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.

MORENO-GARCIA, L. et al. Microalgae biomass production for a biorefinery system: Recent advances and the way towards sustainability. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 76, p. 493-506, 2017.

PARRA-RAMÍREZ, D.; MARTINEZ, A.; CARDONA, C. A. Technical and economic potential evaluation of the strain *Escherichia coli* MS04 in the ethanol production from glucose and xylose. **Biochemical Engineering Journal**, v. 140, p. 123-129, 2018.

SCHNEIDER, R. de C. de S. et al. Bioethanol production from broken rice grains. **Interciencia**, v. 43, n. 12, p. 846-851, 2018.

SLUITER, A. et al. Determination of Structural Carbohydrates and Lignin in Biomass (NREL/TP-510-42618). **Golden, Colorado: National Renewable Energy Laboratory (NREL)**, 2012.

SOO, C.-S. et al. Co-production of hydrogen and ethanol by *Escherichia coli* SS1 and its recombinant. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 30, p. 64-70, 2017.

SUMPRASIT, N. et al. Biodiesel and biogas recovery from *Spirulina platensis*. **International Biodeterioration & Biodegradation**, v. 119, p. 196-204, 2017.

TEMPLETON, D. W.; LAURENS, L. M. L. Nitrogen-to-protein conversion factors revisited for applications of microalgal biomass conversion to food, feed and fuel. **Algal Research**, v. 11, p. 359-367, 2015.

VO, H.-N.-P. et al. Effects of nutrient ratios and carbon dioxide bio-sequestration on biomass growth of *Chlorella sp.* in bubble column photobioreactor. **Journal of Environmental Management**, v. 219, p. 1-8, 2018.

ZHOU, T. et al. Characterization of additional zinc ions on the growth, biochemical composition and photosynthetic performance from *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 269, p. 285-291, 2018.