Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais
06 a 10 de Novembro de 2022 | Águas de Lindóia – SP – Brasil

PRODUÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE BIOPOLÍMERO VISCOSIFICANTE UTILIZANDO *CHLORELLA VULGARIS* CULTIVADA EM EFLUENTE DA INDÚSTRIA DO PETRÓLEO

Luiggi C. Pessôa[1,2*], Natália S. Carvalho[1], Fernanda A.S. Parga[3,] Saulo N. Mata[4], Jania B.A. da Silva[1,5], Carolina de Souza[,4,6], Denilson J. Assis[1,3*]

1 – Pós-graduação de Engenharia Química (PPEQ), Universidade Federal da Bahia (UFBA), BA. - luiggi.pessoa@ufba.br
2 - Departamento de Meio Ambiente, Centro Universitário Senai Cimatec, BA.
3 – Escola de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Salvador (UNIFACS), BA - denilson.assis@unifacs.br
4 - Programa de Pós-Graduação em Ciência de Alimentos, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, Brasil.
5 - Centro de Ciências Exatas e Tecnológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB), BA.
6 - Departamento de Análises Bromatológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador-BA, Brasil.

RESUMO

A indústria de exploração e produção de petróleo no mundo (IEPP) vem adotando medidas para minimizar os seus passivos ambientas ao mesmo tempo em que almejam aumentar a produtividade dos poços, através de aditivos viscosificantes empegados nos fluidos de perfuração. Entretanto, há um desafio em encontrar um viscosificante sustentável e de baixo custo. Nesse contexto, a aplicação das microalgas como vetores de produção para os biopolímeros viscosificantes pode contribuir para o desenvolvimento sustentável das petrolíferas. O maior efluente gerado pelas IEPP consiste na água produzida (AP), cuja composição complexa é repleta de substâncias perniciosas que podem ser utilizadas como nutrientes para as microalgas, juntamente com o CO_2 atmosférico. Assim, o objetivo desse trabalho foi estudar o crescimento da Chlorella vulgaris na AP, bem como avaliar o potencial das propriedades reológicas do biopolímero extracelular como um aditivo viscosificante. Dividiu-se a metodologia em três partes: (i) aclimatação da microalga; (ii) cultivos em câmara incubadora e (iii) extração e caracterização do biopolímero. Os microrganismos foram previamente aclimatados em 10% de AP esterilizada (v/v) com o remanescente em meio sintético (BG-11). Os cultivos foram realizados em duplicata em fotobiorreatores erlenmeyer de 250 mL, durante 24 dias, com 15% de AP esterilizada (v/v). O biopolímero extraído foi submetido a um reômetro em taxas de cisalhamento entre 16 e 800 (1/s). O biopolímero produzido obteve resultados reológicos promissores: índice de consistência de (506,4 Pa.s^n), índice de fluxo de (0,46) e viscosidade aparente de (90,67 mPa.s *no valor referencial de 25°C e 25 1/s); demonstrando um perfil de escoamento pseudoplástico. Evidências iniciais sugerem que o produto extracelular da C. vulgaris em 15% de AP apresenta características reológicas similares ao aditivo oneroso e tradicionalmente empregado nas IEPS, a goma xantana.*

Palavras-chave: *Microalgas; Economia circular; Aditivos; Petróleo; Viscosidade.*

INTRODUÇÃO

Mundialmente as indústrias de exploração e produção de petróleo (IEPs) estão buscando alternativas para tornarem as suas cadeias produtivas mais sustentáveis, visando atender às agendas globais[1]. Nessas indústrias, em especial nas *offshores,* dois passivos ambientais são comumente gerados: expressivas emissões de CO_2 e descarte de água produzida (AP) ao mar. Por um lado, estudos apontam que as empresas petrolíferas são responsáveis por um terço da emissão mundial de CO_2[2]; por outro, no contexto brasileiro, a Petrobras foi multada em 2017 em 14 milhões de reais pelo IBAMA por exceder o limite de concentração permitido ao descarte de AP no mar[3]. Embora sua composição específica dependa de sua origem geológica, a AP é geralmente constituída por componentes tóxicos como benzeno, tolueno, etilbenzeno e xileno (BTEX); hidrocarbonetos aromáticos policíclicos (HAPs), metais pesados, sais inorgânicos, gases dissolvidos e até mesmo material radioativo [(4-6)].

Uma solução tecnológica para a transição verde nas IEPS consiste na utilização das microalgas como agentes de biorremediação dos efluentes, haja vista a capacidade destas de biofixação de CO_2 para a realização de fotossíntese, superior às plantas [7], bem como a possibilidade de utilizar parte dos componentes perniciosos da AP como nutrientes para a síntese de uma biomassa e um meio extracelular ricos em produtos de alto valor agregado[8]. Como resposta adaptativa e de proteção ao estresse causado por um efluente tóxico, as microalgas produzem biopolímeros extracelulares (EPS) [(9,10)] que podem apresentar um comportamento pseudoplástico, sendo esta uma propriedade reológica-chave e de interesse comercial para os viscosificantes. Dentre as inúmeras aplicações industriais possíveis para este composto, tem-se a recuperação avançada de petróleo (RAP) que necessita de aditivos viscosificantes para os seus fluídos de perfuração[11]. Em geral, faz-se necessário que estes aditivos apresentem, em baixas concentrações, uma viscosidade aparente elevada, demonstrando um comportamento pseudoplástico [(11,12)]. Por apresentar ditas características, a goma xantana é o biopolímero amplamente utilizado para o mercado do petróleo; entretanto, apresenta um inconveniente que vem a ser o seu alto custo comercial[13]. Pela busca de uma alternativa, objetiva-se neste trabalho avaliar o potencial tecnológico dos biopolímeros extracelulares advindos do cultivo de *Chlorella vulgaris* em AP como aditivos viscosificantes para as IEPPs, comparando-os com a goma xantana sigma (GXS) comercial.

MATERIAIS E MÉTODOS

Coletou-se a AP no município de Santo Amaro das Brotas (latitude 10º46’44’’ sul; 37º3’30’’ Oeste), sendo fornecida por uma empresa de exploração de petróleo da região. A AP foi transportada para a Universidade Federal da Bahia (UFBA) e posteriormente esterilizada em vapor úmido (121 ºC, 15 minutos).

Obtenção e aclimatação da microalga

A cepa de *Chlorella vulgaris* foi obtida do pelo Banco de Microalgas do Instituto de Biologia da Universidade Federal da Bahia (UFBA), cultivando-a em erlenmeyer de 1L com meio sintético BG-11[14] numa câmara incubadora (TECNAL 371/240L). O ar foi provido mediante bombas de injeção de ar, sendo filtrado por fibra de vidro. A iluminação artificial foi fornecida por lâmpadas fluorescentes com 41,60 μ_{mol} fótons $m^{-2}s^{-1}$. Para o processo de aclimatação, o inóculo da *Chlorella vulgaris* foi transferido para um erlenmeyer de 500 mL preparado com 10% (v/v) de AP.

Cultivo

A partir da microalga aclimatada, iniciou-se os experimentos em duplicata com 250 mL de AP 15% (v/v) nas condições análogas às apresentadas no subtópico anterior. Alíquotas dos cultivos foram retiradas diariamente e lidas em triplicata no espectrofotômetro (PerkinElmer Lambda 35 UV/VIS).

Extração e caracterização do EPS

Quando se atingiu o início da fase estacionaria, o cultivo foi encerrado e a biomassa recuperada via centrifugação (Eppendorf 5702 R). O sobrenadante, por sua vez, foi separado para posterior extração de EPS. A Figura 1 sintetiza os passos metodológicos.

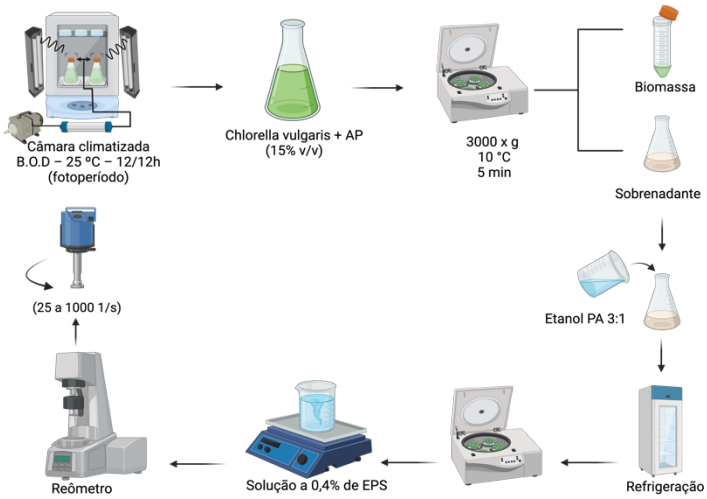

Figura 1: Esquema das etapas de cultivo das microalgas, separação, extração e caracterização de EPS microalgal.

A extração e caracterização do EPS foram baseadas em De Jesus et al. (2019)[9]. Utilizou-se o reômetro *Haake Rheotest* com dispositivo de cilindros concêntricos. Avaliou-se a influência da taxa de cisalhamento (de 25 a 1000 1/s) na viscosidade aparente da solução de EPS. Aplicou-se aos dados de tensão cisalhante o modelo matemático de Ostwald-de Waele ou "*power-law*"[11].

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nota-se, na Figura 2 abaixo, que a fase *lag* do microrganismo foi inexistente devido à etapa de aclimatação prévia que favorece o crescimento da microalga para o segundo experimento[15]. Conforme demonstrado por De Jesus et al., (2019), a síntese de EPS pelas microalgas ocorre durante todo o crescimento microbiano, podendo alcançar, no final do cultivo, a concentrações de até dez vezes mais deste biopolímero em relação à biomassa[9].

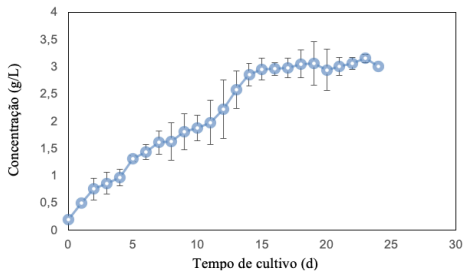

Figura 2: Curva de crescimento da *Chlorella vulgaris* em 15% (v/v) em AP.

A Figura 3 ilustra a tensão cisalhante *versus* o gradiente de velocidade (i.e., taxa de cisalhamento) para o EPS produzido pelas *Chlorella vulgaris* e a GXS comercial. Como o comportamento gráfico é não linear, tem-se a presença de dois fluídos não-newtonianos nos quais os índices de fluxo são (n<1), caracterizando-os, portanto, como fluídos pseudoplásticos. Essa categoria de fluidos apresenta uma diminuição da viscosidade à medida que se aumenta a taxa de cisalhamento (vazão), o que é interessante para o fluido de perfuração, uma vez que menores valores de viscosidades implicam em menores perdas de carga no poço[16].

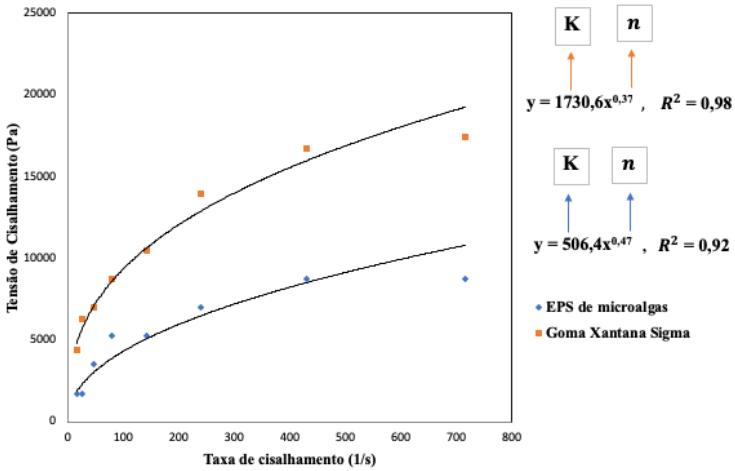

Figura 3: Comparação entre as curvas de escoamento dos fluídos não-newtonianos EPS e a GXS, aplicando o modelo de potência "*power-law*".

A equação de Ostwald-de Waele modelou com precisão os dados experimentais, pois o coeficiente de determinação foi maior que > 0,9 para ambos os polímeros. Embora os valores de índice de fluxo se aproximaram para ambos biopolímeros (0,37 e 0,47), o índice de consistência (K) da GXS (1730,6) apresentou um valor quase 3,5 vezes superior em relação ao do EPS (506,4). Enquanto baixos valores de "n" são almejados para facilitar a injeção do fluido e melhorar a taxa de perfuração, altos valores de "K" implicam numa melhor performance dos fluidos de perfuração e recuperação terciária de petróleo, haja vista que uma alta viscosidade é necessária para manter em suspensão os cascalhos gerados durante a perfuração[11]. A Figura 4 demonstra uma comparação entre a viscosidade aparente de ambos os biopolímeros para diferentes taxas de cisalhamento.

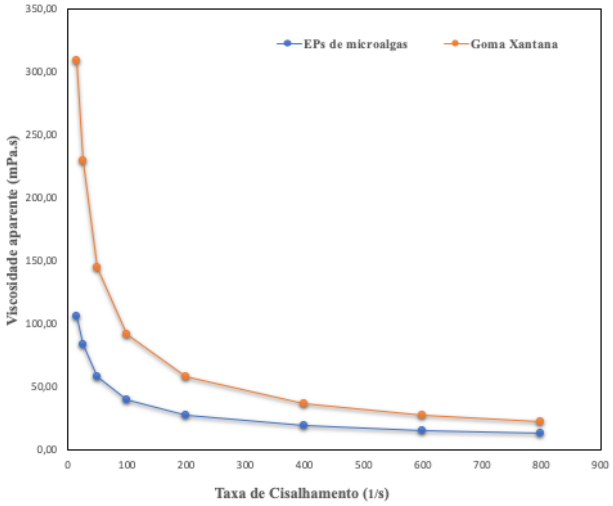

Figura 4: Comparação entre a viscosidade aparente dos biopolímeros (EPS e GXS), aplicando o modelo de potência "*power-law*".

Para um valor comumente empregado como referencial[11] de 25 1/s, a viscosidade aparente (ŋ) da GXS é de 230,3 mPa.s enquanto o valor para o EPS é de 90,7 mPa.s, isto é, aproximadamente 2,5 vezes inferior ao biopolímero comercial. Essa diferença pode ser justificada sob três aspectos: (i) os biopolímeros provêm de diferentes origens microbianas; (ii) a GXS empregada é um biopolímero comercial e purificado; (iii) a GXS advém de cepas melhoradas geneticamente. Portanto, embora os perfis reológicos sejam semelhantes e promissores, como o EPS não passou por um processo de diálise (i.e., purificação) e foi produzido mediante um microrganismo natural (i.e., isento de modificação genética), os seus valores tendem a ser inferiores em comparação aos da GXS.

CONCLUSÕES

A *Chlorella vulgaris* cultivada em 15% (v/v) em água produzida (AP) sintetizou um biopolímero extracelular (EPS) com características reológicas promissoras para um potencial aditivo viscosificante. Assim, a produção de EPS de microalgas acoplada ao tratamento de efluentes pode ser uma alternativa sustentável à onerosa e importada GXS, ensejando uma produção nacional mediante uma indústria do petróleo mais competitiva, sustentável e circular.

AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de agradecer a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo financiamento da pesquisa (código 001), bem como ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) - (bolsa de doutorado 142415/2019).

REFERÊNCIAS

1. MOJARAD, A. A. S.; ATASHBARI, V.; TANTAU, A. Challenges for sustainable development strategies in oil and gas industries. **Proceedings of the International Conference on Business Excellence**, 2018. v. 12, n. 1, p. 626–638.
2. HEEDE, Richard. Carbon majors: update of top Twenty companies 1965–2017. **Climate Accountability Institute**, v. 9, 2019.
3. Petrobras pagará multa de 14,2 milhões por poluição no mar. **<https://exame.com/negocios/petrobras-pagara-multa-de-r-142-mi-por-poluicao-no-mar/>** Acessado em 2 de agosto de 2022.
4. JIMÉNEZ, S. *et al.* State of the art of produced water treatment. **Chemosphere**, 2018. v. 192, p. 186–208.
5. ALSARAYREH, M. *et al.* Biological-Based Produced Water Treatment Using Microalgae: Challenges and Efficiency. **Sustainability (Switzerland)**, 2022. v. 14, n. 1, p. 1–32.
6. AL-GHOUTI, M. A. *et al.* Produced water characteristics, treatment and reuse: A review. **Journal of Water Process Engineering**, 2019. v. 28, n. February, p. 222–239. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jwpe.2019.02.001>.
7. PETER, Angela Paul et al. Microalgae's prospects in attaining sustainable economic and environmental development. **Journal of Biotechnology**, 2022.
8. PESSÔA, Luiggi et al. A review of microalgae-based biorefineries approach for produced water treatment: Barriers, pretreatments, supplementation, and perspectives. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, p. 108096, 2022.
9. DE JESUS, Cristiane Santos et al. Pilot-scale isolation and characterization of extracellular polymeric substances (EPS) from cell-free medium of Spirulina sp. LEB-18 cultures under outdoor conditions. **International journal of biological macromolecules**, v. 124, p. 1106-1114, 2019.

10. MORAIS, M. G. et al. Exopolysaccharides from microalgae: Production in a biorefinery framework and potential applications. **Bioresource Technology Reports**, p. 101006, 2022.
11. BRANDÃO, L. Goma xantana obtida por fermentação da glicerina bruta residual do biodiesel: produção, caracterização e aplicação para fluido de perfuração de poços de petróleo. 2012, 185p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Federal da Bahia, UFBA/BA, Salvador.
12. THOMAS, J. E. Fundamentos de Engenharia de Petróleo. 2ªed. Rio deJaneiro: Interciência, 271p, 2001.
13. BRANDÃO, Líllian Vasconcellos et al. Bioconversion from crude glycerin by Xanthomonas campestris 2103: xanthan production and characterization. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, p. 737-746, 2013.
14. RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J.; HERDMAN, M.; STANIER, R. **Generic Assignments, Strain Histories and Properties of Pure Cultures of Cyanobacteria.** *Journal of General MicrobioZogy* (1979), 111, 1-61.
15. AMMAR, Saad H.; KHADIM, Hussein J.; MOHAMED, Ahmed Isam. Cultivation of Nannochloropsis oculata and Isochrysis galbana microalgae in produced water for bioremediation and biomass production. **Environmental Technology & Innovation**, v. 10, p. 132-142, 2018.
16. SOUZA, Gabriel Sahade de; LUPORINI, Samuel; RIGOLI, Isabel Cristina. Caracterização reológica de suspensões argilosas salinas com goma xantana para fluidos de perfuração de poços de petróleo. **Matéria (Rio de Janeiro)**, v. 22, 2017.

PRODUCTION AND CHARACTERIZATION OF VISCOSIFIER BIOPOLYMER USING CHLORELLA VULGARIS CULTIVATED IN EFFLUENT FROM THE OIL INDUSTRY

ABSTRACT

The oil exploration and production industry in the world (OEPI) has been adopting measures to minimize its environmental liabilities while aiming to increase the productivity of wells, through viscosifier additives used in drilling fluids. However, there is a challenge in finding a low-cost, sustainable viscosifier. In this context, the application of microalgae as production vectors for viscosifier biopolymers can contribute to the sustainable development of oil companies. The largest effluent generated by OEPI comprises produced water (PW), whose complex composition is full of harmful substances that can be used as nutrients for microalgae and atmospheric CO2. Thus, the objective of this work was to study the growth of Chlorella vulgaris in PW and evaluate the potential of the rheological properties of the extracellular biopolymer as a viscosifier additive. The methodology was divided into three parts: (i) microalgae acclimatization; (ii) cultures in an incubator chamber, and (iii) extraction and characterization of the biopolymer. The microorganisms were previously acclimatized in 10% sterile AP (v/v) with the remainder in synthetic medium (BG-11). The cultures were duplicated in 250 mL Erlenmeyer flask photobioreactors, for 24 days, with 15% sterile PW (v/v). The extracted biopolymer was subjected to a rheometer at shear rates between 16 and 800 (1/s). The biopolymer produced obtained promising rheological results: consistency index of (506.4 Pa.s^n), flow index of (0.46), and apparent viscosity of (90.67 at the reference value of 25°C and 25 1/s); demonstrating a pseudoplastic flow behavior. Initial evidence suggests that the extracellular product of C. Vulgaris in 15% of PA has rheological characteristics similar to the expensive additive traditionally used in OEPI, xanthan gum.

Keywords: *Microalgae; Circular economy; Additive; Petroleum; Viscosity.*