



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

## **MODELAGEM DA PRODUÇÃO DE LIPÍDIOS EM MICROALGAS**

CAUÃ BRUM BORGES

Orientador: Prof. Dr. Marcelo Farenzena

Porto Alegre  
Dezembro de 2010

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE DO SUL  
ESCOLA DE ENGENHARIA  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA

**TÍTULO**

MODELAGEM DA PRODUÇÃO  
DE LIPÍDIOS EM MICROALGAS

**AUTOR**

CAUÃ BRUM BORGES

**ORIENTADOR**

MARCELO FARENZENA

Professor do Departamento de Engenharia Química  
da Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Trabalho de conclusão de curso de graduação,  
apresentado como requisito parcial para a  
obtenção do grau de Engenheiro Químico.

PORTO ALEGRE, DEZEMBRO DE 2010.

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar aos meus pais, Andréa e Luis, pelo o amor incondicional e pelo apoio que cada um meu deu a sua maneira, nunca medindo esforços para suprir às minhas necessidades.

À minha Tia Graça por todo o seu apoio e pelos conselhos diários que sempre contribuíram para meu crescimento pessoal e a toda a minha família que sempre esteve ao meu lado.

À minha amiga e ex-orientadora, a mestra Fernanda Trombetta da Silva, pela amizade e ensinamentos. Às colegas do Departamento de química.

À minha amiga, a mestranda Lara Regina Soccol Gris, pela amizade e pelo o apoio na bolsa de iniciação científica no DEQUI e no prêmio Jovem Pesquisador UFRGS 2010. Aos novos amigos do GIMSCOP por fazerem deste um lugar tão legal de trabalhar: Cassiano Ranzan, Rodrigo Paulo Silveira, Anderson Paim, Lúcio Benelli e todos os outros.

Ao meu orientador Marcelo Farenzena pela orientação 24/7 na confecção deste trabalho e na pesquisa.

Ao professor Jorge Otávio Trierweiler pela dedicação a criação de oportunidades que engrandecem o nome da nossa Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Aos grandes amigos pelo convívio, risadas, apoio e conselhos: Ana Luísa Andueza dos Santos Carvalho de Araújo, Carlo Gottardo Morandi, Matheus de Souza Escobar, Renan Pereira Gerber, Raquel Redivo Pinto e André Jarenkow.

Aos D'Almeida que considero como uma segunda família e que sempre vão estar no meu coração: Alice, Zaíra e Antônio.

Aos professores do instituto de química que admiro Michèle Oberson de Souza, Roberto Fernando de Souza e Emilse Maria Agostini.

Ao pessoal da extinta COPESUL (Braskem UNIB-RS) pelos ensinamentos de engenharia e economia.

Also thanking the folks from TU Dortmund, Heiko, Andrew, Hanna, Yelena, Natalie (and her family), Eric, Amy, Johanna for the new perspectives and experiences.

## SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	iii
SUMÁRIO.....	iv
LISTA DE FIGURAS.....	v
LISTA DE TABELAS.....	vi
LISTA DE SÍMBOLOS.....	vi
RESUMO.....	viii
1. INTRODUÇÃO.....	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	2
2.1. MICROALGAS.....	3
2.1.1. CLASSIFICAÇÃO.....	3
2.1.2. CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO.....	6
2.1.3. A FOTOSSÍNTESE EM MICROALGAS.....	7
2.1.4. LIMITE TEÓRICO DA PRODUTIVIDADE DE MICROALGAS.....	8
2.2. FOTOBIOREACTORES.....	9
2.2.4. LAGOAS ABERTAS.....	9
2.2.5. FOTOBIOREACTORES FECHADOS (FBR).....	11
2.3. PROCESSAMENTO DA BIOMASSA.....	14
2.4. MODELOS EXISTENTES NA LITERATURA.....	16
2.4.1. MODELO DE DROOP.....	16
2.4.2. MODELO MODIFICADO PARA ACÚMULO DE LIPÍDIOS.....	19
3. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS.....	25
3.1.1. METABOLISMO INTRACELULAR.....	25
3.1.2. ANÁLISE DO MODELO.....	27
3.1.3. SIMULAÇÃO DO MODO DE OPERAÇÃO.....	32
4. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	34
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Potenciais da biomassa algal: matérias-prima, fontes de energia, produtos e aplicações Extraído de: Becker (1994) .....	6
Figura 2 - Reações de claro e escuro da fotossíntese.....	8
Figura 3 - Cultivo de microalgas em lagoas "raceway" .....	10
Figura 4 – Conjunto de fotobiorreatores tubular em Klötze, Alemanha.....	12
Figura 5 - (a) um painel alveolar na Universidade de Florença, Itália (Tredici, 2004) (b) FBR no Institut für Getreideverarbeitung em Bergholz-Rehrbrücke, Alemanha (c) reatores de vidro na Universidade de Negev, Israel .....	13
Figura 6 - Fotobiorreator de coluna de bolhas no MIT (Massachusetts Institute of Technology) .....	13
Figura 7 - Esquema das rotas de processamento das microalgas .....	15
Figura 8 - Diagrama esquemático do crescimento de microalgal dependente sob limitação e excesso de nutrientes.....	19
Figura 9 - Condições operacionais utilizadas por Mairet et al. para a calibração e a validação de seus experiemntos .....	20
Figura 10 - Fluxo completo de carbono intracelular proposto por Mairet et al. (2011) .....	23
Figura 11 - Fluxo simplificado de carbono intracelular proposto por Mairet et al. (2010).....	23
Figura 12 - Comportamento dinâmico das células .....	26
Figura 13 - Produtividade de biomassa para um reator contínuo .....	27
Figura 14 - Produtividade de lipídios para um reator contínuo .....	28
Figura 15 - Quota lipídica para concentrações de substrato dentro da faixa validada do modelo .....	29
Figura 16 - concentração da biomassa produzida para concentrações de substrato dentro da faixa validada do modelo .....	30
Figura 17 - Concentração de lipídios produzidos para concentrações de substrato dentro da faixa validada do modelo .....	31
Figura 18 - Produtividade de lipídios para concentrações de substrato dentro da faixa validada do modelo .....	31
Figura 19 - Produtividade de lipídios para concentrações de substrato acima da aplicabilidade do modelo .....	32
Figura 20 - Esquema de dois reatores em série para a produção de microalgas .....	32

## LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Conteúdos lipídico e produtividades de diversas espécies de microalgas	.5
Tabela 2 - Valores dos parâmetros estimados por Mairet et al. (2010)	.....24

## LISTA DE SÍMBOLOS

AGL - Ácidos graxos livres

FBR - Fotobiorreator

F - Vazão (L/dia)

$\rho$  - Massa específica (mg/L)

D,d - Taxa de diluição (1/d)

V - Volume (L)

x - Concentração de biomassa (mg/L)

s - Concentração de substrato (nutriente) limitante (mg/L)

$\rho$  - Taxa de absorção de nutrientes (mg/mg/d)

$q_m, Q_0$  - Quota de subsistência (ou mínima) (mg/mg)

$Q_m$  - Quota máxima de nitrogênio (mg/mg)

r - Nutriente armazenado (mg/L)

b - Biomassa orgânica (mg/L)

t - Tempo de cultivo (d)

$\bar{\mu}$  - Taxa teórica máxima de crescimento (1/dia)

$\mu_m$  - Taxa máxima de crescimento (1/d)

$\rho_m$  - Taxa máxima da absorção de nutrientes (mg/mg/d)

$\alpha$  - Coeficiente da síntese de proteínas (mg/mg)

$\beta$  - Coeficiente da síntese de ácidos graxos (mg/mg)

$\gamma$  - Coeficiente da transformação dos ácidos graxos (mg/mg)

$K_s$  - Constante de meia saturação (mg/L)

$L$  - Concentração de lipídios neutros (mg/L)

$g$  - Concentração da reserva de açúcares (mg/L)

$n$  - Concentração de nitrogênio celular (mg/L)

$f$  - Concentração de carbono funcional (mg/L)

$s_{in}$  - Concentração de entrada de nutriente (mg/L)

$q_L$  - Quota de lipídio neutro (mg/mg)

$q_n$  - Quota de nitrogênio (mg/mg)

$q_f$  - Quota de carbono funcional (mg/mg)

## RESUMO

O interesse pelos microrganismos chamados microalgas vem crescendo no mundo, pois estas são uma fonte renovável de biomassa que pode ser convertida em biocombustíveis. Elas são consideradas o futuro dos biocombustíveis, pois podem ser cultivadas em terras não férteis, com o uso do fotobiorreatores, e têm uma produtividade algumas vezes maior que os vegetais estruturados. Neste trabalho foram feitas simulações e otimizações de um modelo que descreve o metabolismo da produção de lipídios em microalgas. Além disso, apresenta-se uma revisão bibliográfica onde serão descritos conceitos relativos ao tema de produção de lipídios a partir de microalgas, tais como: como se dá a classificação destes organismos, como se processa o seu crescimento, como funciona a fotossíntese. Além destes conceitos ligados a microbiologia, são elucidadas questões de engenharia, como uma introdução dos tipos de reatores existentes hoje, bem como os tipos de processos para a utilização da biomassa produzida. Para a simulação do modelo escolhido foi utilizado o software Matlab, neste foram implementadas as equações que envolvem as principais variáveis do cultivo de microalgas tais como: concentração de biomassa, conteúdo de lipídios, concentração de entrada de nutrientes e taxa de diluição. Utilizou-se o modelo de Mairet et al. (2010) para as simulações de um e dois reatores contínuos com a espécie *Isochrysis aff. galbana*. Foram realizadas simulações estacionárias e dinâmicas com taxas de diluição variando entre 0 e 1 ( $d^{-1}$ ) e Concentrações de entrada de substrato nos reatores na faixa de 0 a 5 (mg/L). Os resultados para o comportamento de estado estacionário para um reator mostrou uma produtividade máxima tanto de lipídios quanto de biomassa justamente em um dos limites de aplicabilidade do modelo. Ainda, foi proposto um modo de produção com dois reatores em série, com estes obtivemos respostas semelhantes às encontradas para um reator. A idéia proposta tem validade quando se objetiva uma máxima concentração de lipídios nos produtos, massa de lipídios por volume de meio de cultivo, pois esta obteve diferentes valores de taxa de diluição para cada um dos reatores. No entanto, a produtividade de lipídios (mg/L/dia) não é a máxima nas condições de maior concentração o que leva a necessidade da análise dos custos de todo o processo para que se possa determinar qual o objetivo principal.

## 1. INTRODUÇÃO

A elevação da temperatura média do planeta, é resultante do acúmulo de gases capazes de reter calor. Rápido aumento níveis de CO<sub>2</sub> tem sido observado desde o começo da revolução industrial (Ohse et al., 2007). Os níveis de dióxido de carbono flutuaram entre 180 e 300 ppm nos últimos 150.000 anos. Em 1950, foram emitidos 6,4 bilhões de toneladas de metros cúbicos de CO<sub>2</sub> e o nível de CO<sub>2</sub> no ambiente era de 306 ppm. Em 1975 as emissões triplicaram para cerca de 18 bilhões de metro cúbicos e os níveis de CO<sub>2</sub> passaram para quase 330 ppm. Estima-se que cerca de 50% do CO<sub>2</sub> emitido por fontes antropogênicas permanece na atmosfera. O restante é presumidamente absorvido nos oceanos ou incorporado à biosfera. O efeito estufa resulta da habilidade dos gases atmosféricos em absorver energia radiante da terra.

O Brasil ocupa o 16º lugar entre os países que mais emitem gás carbônico para gerar energia. Entretanto, se forem considerados também os gases do efeito estufa liberados pelas queimadas e pela agropecuária, o país é estimado como o quarto maior poluidor.

A biofixação de carbono tem como significado adotar medidas que visem à absorção do excesso de CO<sub>2</sub> da atmosfera, fixando-o na forma orgânica. Embora a fixação de carbono seja realizada por todos os seres fotossintetizantes é, nos oceanos, que se dá em maior intensidade, pelas microalgas. Por essa razão, buscou-se fazer um levantamento sobre a capacidade de seqüestro de carbono por microalgas, tanto de água doce quanto de ambiente marinho, comparando-a com as florestas. Também ao seu potencial de produção de lipídios, uma vez que, há grande preocupação em encontrar fontes potenciais para produzir biodiesel, visando minimizar o uso de combustíveis fósseis, buscando com isso reduzir as emissões de CO<sub>2</sub>.

As microalgas vêm sendo consideradas como possível fonte para a produção de biodiesel, pois sua produtividade supera a de qualquer vegetal comercialmente produzido no mundo (Mata, 2010). Além disso, diversas espécies apresentam elevadas concentrações de lipídios, característica importante para a produção de combustíveis.

As microalgas se alimentam, geralmente, através de fotossíntese, mas podem, ainda, atuar no tratamento de efluentes com a remoção de NH<sub>4</sub><sup>+</sup>, NO<sub>3</sub><sup>-</sup> e PO<sub>4</sub><sup>3-</sup>. Elas podem ser cultivadas, com o uso de fotobiorreatores, em áreas não férteis e, no caso das espécies marinhas, sem o uso de água doce.

O objetivo de deste trabalho é buscar, baseado no modelo estudado, as melhores condições operacionais para uma máxima produção de lipídios e biomassa microalgal. No que diz respeito à concentração de nutrientes injetados no reator. Além disso, faz-se uma análise do melhor modo de produção de acordo com os objetivos operacionais, sejam eles a maior concentração de lipídios, ou a maior produtividade destes.

O presente trabalho é segmentado da seguinte forma: o Capítulo 2 consiste numa revisão bibliográfica onde serão descritos importantes conceitos relativos ao tema de produção de lipídios a partir de microalgas, tais como: como se dá a classificação destes organismos, como se processa o seu crescimento, como funciona a fotossíntese. Além destes conceitos ligados à microbiologia, são elucidadas questões de engenharia como uma introdução dos tipos de reatores existentes hoje, bem como os tipos de processos para a utilização da biomassa produzida.

Após essa explanação de conhecimentos básicos sobre a produção de microalgas, tem-se a apresentação dos modelos que foram estudados. Procurou-se apresentar a evolução desde o modelo mais simplificado e já estabelecido de Droop (1968) apud Lemesle e Mailleret (2008), a dedução do modelo de Mairet et al. (2010) que modela a produção de lipídios sob limitação de nitrogênio.

No Capítulo 3, são apresentados os resultados das simulações realizadas com o modelo, bem como da análise de sensibilidade de modo a identificar a sua aplicabilidade e limitações. Após a análise de sensibilidade foi observado que o mesmo poderia ser modificado para modelar uma série de reatores e, com isso, poder-se-ia utilizar duas taxas de diluição diferentes objetivando um maior crescimento de microalgas no primeiro reator, seguido de um processo de aumento de conteúdo lipídico no segundo reator.

No Capítulo 4, são apresentadas as conclusões obtidas a partir dos resultados apresentados, como, por exemplo, a operação em dois estágios. Ainda, são propostas novas pesquisas que ainda precisam ser realizadas nesse tópico, como por exemplo a validação de um modelo para concentrações mais altas de injeção de nutrientes. Em seguida, são apresentadas as referências bibliográficas utilizadas para a confecção deste trabalho.

## **2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

Para este trabalho foram analisados diversos modelos matemáticos representativos tanto da produção bruta de biomassa quanto da produção específica de lipídios nesta

biomassa. Segue nos próximos parágrafos uma descrição detalhada do que são microalgas, como podem ser produzidas e as possíveis formas de processamento conhecidas.

## 2.1. MICROALGAS

### 2.1.1. CLASSIFICAÇÃO

O termo microalgas não tem valor taxonômico, engloba microrganismos com clorofila *a* e outros pigmentos fotossintéticos, os quais são capazes de realizar a fotossíntese oxigênica, e sua caracterização sistemática implica numa série de critérios. Segundo Tomaselli (2004) apud Derner et al. (2006) como os tipos de pigmentos, a natureza química dos produtos de reserva e pelos constituintes da parede celular. Além destes são considerados aspectos citológicos e morfológicos, como a ocorrência de células flageladas, a estrutura dos flagelos, os processos de formação do núcleo e da divisão celular, a presença e a caracterização de envoltório dos cloroplastos e a possível conexão entre o retículo endoplasmático e a membrana celular. Ohse et al. (2007) cita as características das quatro classes mais importantes em termos de abundância, a seguir descritas.

i - Diatomáceas (*Bacillariophyceae*): são as algas dominantes nos oceanos, sendo também encontradas em água salobra e doce. Aproximadamente 100.000 espécies são conhecidas. Possuem paredes celulares impregnadas com sílica polimerizada (frústulas). Todas as células armazenam carbono, na forma de óleo natural ou na forma de um polímero de carboidratos conhecido como crisolaminarina. São células eucarióticas, forma de vida unicelular cocóide, colônia filamentosa e outras formas. O complexo coletor de luz engloba clorofilas *a* e *c*, beta-caroteno e xantofilas, tendo assim uma coloração dourado-amarronzada. Reprodução por divisão binária ou sexuada com formação e auxósporos.

ii – Algas verdes (*Chlorophyceae*): este grupo é especialmente abundante em água doce. Podem ser unicelulares ou formam colônias, tendo como principal forma de reserva o amido. Porém, sob certas condições, podem armazenar óleo. Possuem coloração verde, devido aos pigmentos clorofila *a* e *b*, beta-caroteno e xantofilas. A reprodução pode ser por divisão binária, esporos assexuais e reprodução sexual.

iii – Algas verde-azuladas (*Cyanophyceae*): células procarióticas, possuem estrutura e organização idêntica às bactérias. Forma de vida unicelular, colonial e filamentosa. Apresentam como reserva o amido das cianofíceas, glicogênio e cianoficina. Coloração verde-azulada, verde, violeta, vermelha e castanho. Estas algas desempenham um papel

muito importante na fixação do nitrogênio atmosférico. Aproximadamente 2.000 espécies são conhecidas e encontradas nos mais variados habitats.

iv – Algas douradas (*Chrysophyceae*): este grupo de algas é similar às diatomáceas, principalmente pela pigmentação e composição bioquímica. Elas possuem um sistema de pigmentos mais complexo, podendo ser de coloração amarela, marrom ou laranja. Células eucarióticas, tendo como reservas: óleos naturais e crisolaminarina. Aproximadamente 1.000 espécies são conhecidas, principalmente em sistemas de água doce.

Muitas espécies de microalgas podem ser induzidas a acumular quantidades substanciais de lipídios, o que permitiria uma significativa produção de óleo diesel por exemplo. O conteúdo médio de lipídios em microalgas varia de 1 a 70% em peso seco. A Tabela 1, mostra o conteúdo lipídico e a produtividade de biomassa e lipídios em microalgas marinhas e de água doce.

Tabela 1 - Conteúdos lipídico e produtividades de diversas espécies de microalgas

Marine and freshwater microalgae species	Lipid content (% dry weight biomass)	Lipid productivity (mg/L/day)	Volumetric productivity of biomass (g/L/day)	Areal productivity of biomass (g/m <sup>2</sup> /day)
<i>Ankistrodesmus</i> sp.	24.0-31.0	-	-	11.5-17.4
<i>Botryococcus braunii</i>	25.0-75.0	-	0.02	3.0
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33.6	21.8	0.07	-
<i>Chaetoceros calatrans</i>	14.6-16.4/39.8	17.6	0.04	-
<i>Chlorella emersonii</i>	25.0-63.0	10.3-50.0	0.036-0.041	0.91-0.97
<i>Chlorella protothecoides</i>	14.6-57.8	1214	2.00-7.70	-
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19.0-22.0	44.7	0.23-1.47	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	5.0-58.0	11.2-40.0	0.02-0.20	0.57-0.95
<i>Chlorella</i> sp.	10.0-48.0	42.1	0.02-2.5	1.61-16.47/25
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	2.0	-	2.90-3.64	72.5/130
<i>Chlorella</i>	18.0-57.0	18.7	-	3.50-13.90
<i>Chlorococum</i> sp.	19.3	53.7	0.28	-
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20.0-51.1	-	10	-
<i>Dunaliella salina</i>	6.0-25.0	116.0	0.22-0.34	1.6-3.5/20-38
<i>Dunaliella primolecta</i>	23.1	-	0.09	14
<i>Dunaliella tertiolecta</i>	16.7-71.0	-	0.17	-
<i>Dunaliella</i> sp.	17.5-67.0	33.5	-	-
<i>Ellipsoidia</i> sp.	27.4	47.3	0.17	-
<i>Euglena gracilis</i>	14.0-20.0	-	7.70	-
<i>Haematococcus pluvialis</i>	25.0	-	0.05-0.06	10.2-36.4
<i>Isochrysis galbana</i>	7.0-40.0	-	0.32-1.60	-
<i>Isochrysis</i> sp.	7.1 33	37.8	0.08 0.17	-
<i>Monodus subterraneus</i>	16.0	30.4	0.19	-
<i>Monancthis salina</i>	20.0 22.0	-	0.08	12
<i>Nannochloris</i> sp.	20.0-56.0	60.9-76.5	0.17-0.51	-
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22.7 29.7	84.0 142.0	0.37 0.48	-
<i>Nannochloropsis</i> sp.	12.0-53.0	37.6-90.0	0.17-1.43	1.9-5.3
<i>Neochloris oleabundans</i>	29.0-65.0	90.0-134.0	-	-
<i>Nitzschia</i> sp.	16.0-47.0	-	-	8.8-21.6
<i>Oocystis pusilla</i>	10.5	-	-	40.6-45.8
<i>Pavlova salina</i>	30.9	49.4	0.16	-
<i>Pavlova lutheri</i>	35.5	40.2	0.14	-
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18.0-57.0	44.8	0.003-1.9	2.4-21
<i>Porphyridium cruentum</i>	9.0-18.8/90.7	34.8	0.36-1.50	25
<i>Scenedesmus obliquus</i>	11.0-55.0	-	0.004-0.74	-
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	1.9-18.4	35.1	0.19	-
<i>Scenedesmus</i> sp.	19.6-21.1	40.8-53.9	0.03-0.26	2.43-13.52
<i>Skeletonema</i> sp.	13.3-31.8	27.3	0.09	-
<i>Skeletonema costatum</i>	13.5-51.3	17.4	0.08	-
<i>Spirulina platensis</i>	4.0-16.6	-	0.06-4.3	1.5-14.5/24-51
<i>Spirulina maxima</i>	4.0-9.0	-	0.21-0.25	25
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	20.6	17.4	0.08	-
<i>Tetraselmis suecica</i>	8.5-23.0	27.0-36.4	0.12-0.32	19
<i>Tetraselmis</i> sp.	12.6-14.7	43.4	0.30	-

extraído de: Mata et al. (2010),

Como se pode observar na Tabela 1, o conteúdo lipídico pode chegar em 75% em peso seco, mas este valor está associado com uma baixa produtividade na espécie *Botryococcus braunii*. As algas mais comuns, como *Chlorella*, *Dunaliella*, *Nannochloris*, *Nannochloropsis*, possuem conteúdos oleaginosos que variam entre 2 e 71%, associada com produtividades mais altas.

Além do conteúdo lipídico total, também é importante considerar a composição dos ácidos graxos das diferentes espécies, pois eles podem ter influência nas características do Biodiesel produzido. Além do Biodiesel, as microalgas possuem diversas aplicações, as quais são sintetizadas na Figura 1.

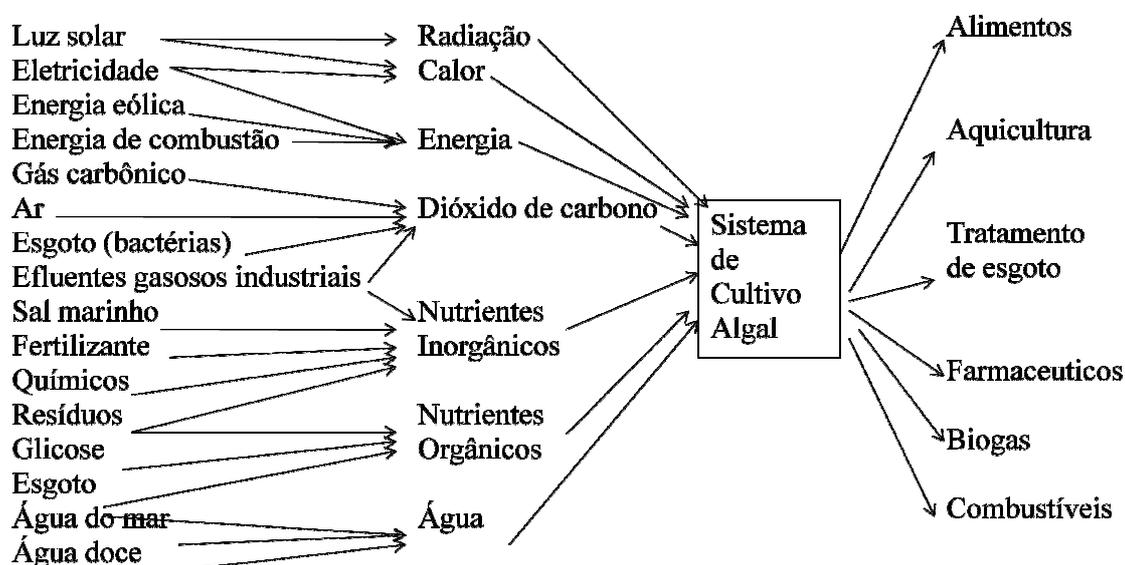


Figura 1 - Potenciais da biomassa algal: matérias-primas, fontes de energia, produtos e aplicações  
Extraído de: Becker (1994)

### 2.1.2. CRESCIMENTO E DESENVOLVIMENTO

Crescimento é definido como um incremento de substância viva. Usualmente o número de células para organismos unicelulares ou massa total de células para organismos multicelulares, conforme Tomaselli (2004). O parâmetro mais utilizado para medir uma mudança no número de células ou na massa de células por unidade de tempo é a taxa de crescimento.

O ciclo de vida de uma microalga unicelular, geralmente, consiste na duplicação de seu tamanho e, em seguida, a célula se divide em duas células-filhas que aumentam seu tamanho. O ciclo de vida de algas eucarióticas engloba duas fases: Mitose e Interfase. Durante a Interfase a célula cresce e todos os constituintes celulares aumentam em número, de forma que cada célula-filha receba um conjunto completo do DNA replicado da molécula e cópias suficientes de todos os outros constituintes e organelas. Durante a Mitose ocorrerá, então, a divisão nuclear.

O crescimento microbiológico é influenciado por diversos fatores físico-químicos, tais como temperatura, concentração de nutrientes, luminosidade (organismos fototróficos) e concentração de oxigênio. A concentração do substrato ou outros fatores podem causar a inibição do metabolismo celular, por exemplo, alta concentração de oxigênio no sistema de produção de microalgas causa a morte de dessas por foto-oxidação e a taxa de crescimento diminui. Quando a energia não é mais produzida para a manutenção celular, a célula diminui e morre. Em alguns casos esse processo é acompanhado pela formação de esporos, ou estruturas similares, os quais podem sobreviver e superar as condições adversas, gerando o crescimento de novos indivíduos quando condições favoráveis são repostas.

### **2.1.3. A FOTOSÍNTESE EM MICROALGAS**

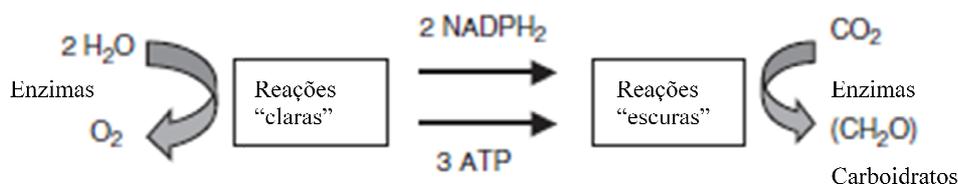
*"It's not love or money that makes the world go round, it's photosynthesis."* (Torzillo, G.)

Fotossíntese é um processo que consiste na conversão de compostos inorgânicos e energia luminosa em matéria orgânica por organismos fototróficos. Direta ou indiretamente, quase todas as formas de vida dependem da fotossíntese para o suprimento de energia dos seus metabolismos e crescimento, com a exceção dos microrganismos quimiossintetizantes (Masojídek et al., 2004).

Os organismos fototróficos primordiais, bactérias fotossintetizantes anoxigênicas, apareceram 3,5 bilhões de anos atrás. Eles utilizavam energia luminosa para extrair prótons e elétrons de uma variedade de moléculas, tais como  $H_2S$ , para reduzir o  $CO_2$  formando moléculas orgânicas. Os microrganismos fotossintetizantes produtores de oxigênio surgiram mais tarde; são eles as cianobactérias (procarióticas) e as algas (eucarióticas), sendo responsáveis pela atmosfera oxigênica.

A fotossíntese oxigênica pode ser expressa como uma reação Redox governada pela energia luminosa (absorvida pelas moléculas de clorofila), nas quais o dióxido de carbono e a água são convertidos em carboidratos e oxigênio. A conversão é tradicionalmente dividida em dois estágios, as chamadas reações de claro e escuro (Figura 2). Nas reações de claro,

que ocorrem nas regiões clorofiladas dos cloroplastos, a energia luminosa é convertida em energia química produzindo redutores bioquímicos,  $\text{NADPH}_2$ , e um composto de grande energia, ATP. Nas reações de escuro, que ocorrem no estroma, a  $\text{NADPH}_2$  e o ATP são utilizados na sequência de reações bioquímicas do dióxido de carbono a carboidratos. (Masojídek et al., 2004).



**Figura 2 - Reações de claro e escuro da fotossíntese**

#### 2.1.4. LIMITE TEÓRICO DA PRODUTIVIDADE DE MICROALGAS

O entendimento da fotossíntese é fundamental para a biotecnologia de microalgas. Culturas em massa de microalgas representam um ambiente especial, onde pode haver uma suspensão densa de células, colônias, aglomerados ou filamentos. Tais cultivos são realizados sob condições de baixa radiação por célula, alta concentração de oxigênio dissolvido e suprimentos limitados de carbono inorgânico. Por isso, o crescimento depende da interação de diversos parâmetros, tais como: radiação média por célula, agitação, transferência de massa dos gases e temperatura (Masojídek et al., 2004).

No caso ideal, a taxa máxima de crescimento de uma cultura algal é igual à taxa máxima de fotossíntese, conforme Masojídek et al. (2004). As unidades de produção de microalgas devem buscar maximizar a conversão de luz, ou seja, usar de culturas densas que absorvam completamente a luz entregue ao sistema. Como existe um grande gradiente de luz nesses sistemas é preciso buscar sanar essa limitação com uma boa agitação, geometria adequada e alterações nas propriedades óticas das células através de modificações genéticas.

Além do fator luminosidade, outros aspectos fazem com que não seja observada a produtividade teórica máxima para as microalgas, tais como: transferência de massa, períodos de claro escuro e variações de temperatura. Por essa razão são necessários desenvolvimentos objetivando aperfeiçoar os sistemas de produção.

## 2.2. FOTOBIORREADORES

Fotobiorreatores (FBR) são reatores utilizados para o cultivo de organismos fototróficos ou para uma reação fotobiológica. Em um sentido mais amplo as bacias abertas também podem ser vistas como fotobiorreatores. Neste trabalho como FBR são considerados somente os sistemas fechados, no sentido termodinâmico que considera não haver entrada e saída de massa.

Atualmente, a produção de microalgas geralmente é mais cara que os cultivos de culturas de plantas oleaginosas (Chisti, 2007). O crescimento de organismos fotossintetizantes necessita de luz, dióxido de carbono, água e sais inorgânicos. Além disso, a temperatura deve se manter entre 20 e 30 °C. O meio de cultivo deve prover os elementos inorgânicos constituintes das microalgas. Os elementos essenciais são nitrogênio (N), fósforo (P), ferro (Fe) e, em alguns casos, silício (Si). A necessidade nutricional mínima desses nutrientes pode ser estimada usando a fórmula molecular aproximada, que é  $CO_{0,48}H_{1,83}N_{0,11}P_{0,01}$ . Esta fórmula foi mostrada por Grobbelaar (2004) apud Chisti (2007). Fósforo, deve ser suprido em excesso, pois os fosfatos adicionados complexam com íons metálicos, portanto nem todo o P adicionado estará disponível. Os meios de cultivos não representam uma parcela significativa dos custos de produção de microalgas.

Depois do carbono, o nitrogênio é o nutriente mais importante para a produção de biomassa. Respostas típicas a limitação de nitrogênio são a descoloração da célula (diminuição das clorofilas e aumento dos carotenóides) e o acúmulo de carbono orgânico na forma de polissacarídeos e lipídios (Becker, 1994).

A produção de 100 t de biomassa algal fixa, aproximadamente, 183 t de dióxido de carbono na forma de orgânica. A alimentação de dióxido de carbono, quando controlada pela medição do pH, minimiza perdas de dióxido de carbono e variações de pH. A produção de Biodiesel pode utilizar o  $CO_2$  exausto de plantas de geração de energia baseada em combustíveis fósseis (Usui e Ikenouchi, 1996).

### 2.2.4. LAGOAS ABERTAS

O cultivo de microalgas para uso comercial é feito, com poucas exceções, em lagoas abertas. A principal razão para isso é que grandes lagoas abertas são mais fáceis de operar que fotobiorreatores fechados. Um grande número de tipos de lagoas foram projetados e experimentados para o cultivo de microalgas (Tredici, 2004). Elas variam em formato,

tamanho, material usado, tipo de agitação e inclinação. Apesar de diversas formas terem sido propostas, somente três tipos são utilizados em larga escala: sistemas inclinados, lagoas circulares com braço rotatório e lagoas "raceway". Além destes, são utilizadas lagoas naturais.

As lagoas naturais servem para o cultivo de espécies que sejam favorecidas pelas condições do meio, como por exemplo, alto pH e alta salinidade. Nesses casos é possível encontrar produções de microrganismos que são naturalmente selecionados, gerando assim produções de determinadas espécies.

Nos sistemas inclinados a turbulência é criada pela gravidade e a cultura vai do topo para o fundo de uma superfície inclinada. Como vantagens estão um fluxo altamente turbulento e possibilidade de uso de finas camadas que facilitam concentrações maiores. Porém, como desvantagens, apresentam altas taxas de evaporação, sedimentação de células em pontos de baixa turbulência e um elevado consumo de energia para o bombeamento da cultura para o topo da superfície.

As lagoas "raceway" (ou circuito) são as mais utilizadas em plantas comerciais. A Figura 3 mostra as lagoas da empresa Earthrise Farms, California, USA. Um dos maiores produtores de microalgas, com uma área de 150.000 m<sup>2</sup> para a produção de *Arthrospira* com o uso de lagoas com agitação feita por pás giratórias.



**Figura 3 - Cultivo de microalgas em lagoas "raceway"**

As lagoas abertas têm muitas desvantagens (Richmond, 1992). Grandes lagoas têm uma grande perda evaporativa, ausência de controle de temperatura e baixas concentrações, até 30 vezes menor do que os fotobiorreatores fechados. Além disso, as lagoas abertas estão mais propensas à contaminação por outras espécies de microalgas e por microrganismos que se alimentem das mesmas (Chisti, 2007).

### 2.2.5. FOTOBIORREACTORES FECHADOS (FBR)

Fotobiorreatores fechados podem ser definidos como sistemas de cultura nos quais uma grande parte da luz (> 90%) não impacta diretamente sobre a superfície de cultura, mas passa através das paredes transparentes do reator. Com isso, os FBR não permitem, ou limitam fortemente, troca direta de gases e contaminantes, como poeira e microrganismos, entre o cultivo e a atmosfera.

Os FBR são classificados tanto pela geometria como pelo modo de operação. As principais categorias são:

- tubulares ou planos;
- horizontais, inclinados, verticais ou em espiral;
- múltiplos tubos ou serpentina;
- agitados a ar ou mecanicamente;
- única fase ou dupla fase;
- rígidos ou flexíveis.

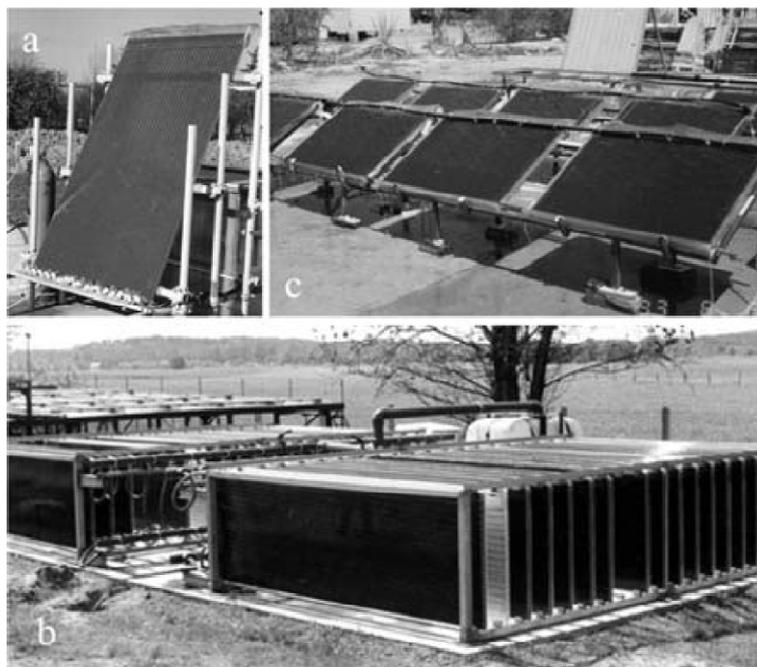
Os reatores mais comuns são os tubulares, os de placas planas e os de colunas de bolhas segundo Brennan (2010). Cada um deles apresenta vantagens e limitações apresentadas a seguir.

Os fotobiorreatores tubulares apresentam como vantagens: uma boa superfície iluminada, ser adequado para cultivos externos, ser relativamente barato e ter boa produtividade de biomassa. Como limitações citam-se a deposição nas paredes, grandes gradientes de pH e oxigênio dissolvido. A Figura 4 mostra uma instalação industrial em Klötze, Alemanha (Spolaore, 2006). Eles consistem uma seção onde ocorre a troca de gases e uma seção tubular como a da Figura 4 onde ocorre a fotossíntese.



**Figura 4 – Conjunto de fotobiorreatores tubular em Klötze, Alemanha**

Os fotobiorreatores de placas planas foram amplamente estudados, desde 1953 (Tredici, 2004). Pesquisas realizadas na Itália, Alemanha e Israel indicam que os FBR de placas planas são promissores, tendo como vantagens: alta produtividade de biomassa, fáceis de esterilizar, bom caminho ótico, ampla área iluminada e são adequados para o cultivo externo. Como desvantagens citam-se a dificuldade do aumento de escala e algum grau de deposição. A Figura 5 mostra algumas instalações de pesquisa no mundo:



**Figura 5 - (a) um painel alveolar na Universidade de Florença, Itália (Tredici, 2004) (b) FBR no Institut für Getreideverarbeitung em Bergholz-Rehrbrücke, Alemanha (c) reatores de vidro na Universidade de Negev, Israel**

O terceiro tipo de fotobiorreator que também tem sido objeto de estudos é o FBR de coluna de bolhas. Este apresenta com vantagens: ser compacto, ter uma alta transferência de massa, uma boa agitação com baixa taxa de cisalhamento e reduzida foto-inibição e foto-oxidação. Porém tem como limitação: uma pequena área iluminada em relação ao volume (Posten, 2009). Um exemplo de pesquisa avançada utilizando esses reatores é essa unidade de produção de microalgas do Massachusetts Institute of Technology (MIT), apresentado na Figura 6. Essa unidade já utiliza o exausto da chaminé de uma planta de geração de energia a combustíveis fósseis.



**Figura 6 - Fotobiorreator de coluna de bolhas no MIT (Massachusetts Institute of Technology)**

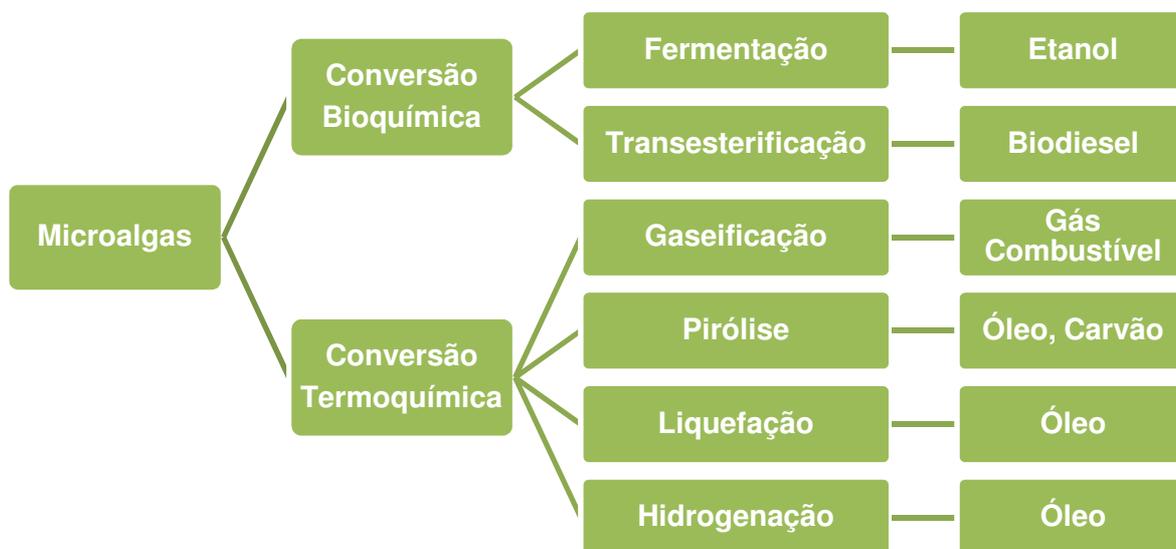
A escolha de qual é o melhor tipo de reator passa, muitas vezes, pelas condições climáticas da região de produção. Além disso, muitas pesquisas estão sendo realizadas no mundo na busca do aperfeiçoamento destes FBR. Uma ferramenta muito valiosa que deve ser utilizada é a otimização do projeto, já que os FBR fechados têm um preço mais elevado e a viabilidade do seu uso passa por uma redução deste custo.

### **2.3. PROCESSAMENTO DA BIOMASSA**

Os custos com a recuperação da biomassa podem ser significativos, podendo representar de 20 a 30% dos custos totais da biomassa. Os processos utilizados convencionalmente são (Borges, 2010):

- filtração;
- centrifugação;
- fracionamento de Espuma;
- floculação;
- filtração por Membrana;
- separação por Ultrasom.

Existem diversas rotas para a utilização de microalgas, como mostra a Figura 7.



**Figura 7 - Esquema das rotas de processamento das microalgas**

Para cada aplicação têm-se requisitos, principalmente de umidade, mas também de características fisiológicas das microalgas como a quantidade de lipídios e a quantidade de carboidratos, para que a sua utilização seja viável num ou noutro processo.

Para exemplificar, cita-se que, para a combustão direta, é necessário um teor de umidade abaixo de 50% para ser viável. Já outras rotas permitem um uso da biomassa úmida como a liquefação. A liquefação utiliza o precipitado da centrifugação das microalgas que possui elevada umidade. Estudos mostram que o óleo produzido através da liquefação apresenta problemas que ainda devem ser superados, como a alta concentração de nitrogênio, maior que a encontrada no petróleo.

Outra possibilidade é a pirólise (que pode ser rápida ou lenta) que consiste na conversão da biomassa em bio-óleo, carvão e uma fração gasosa. Alenta é realizada pelo aquecimento da biomassa na ausência de ar e com temperatura de aproximadamente 500 °C. A pirólise rápida consiste em um aquecimento na presença ou ausência de um catalisador, a altas taxas de aquecimento,  $10^3$  a  $10^4$  K/s, e com tempo reduzido de residência do gás, para quebra em cadeias moleculares menores. As revisões bibliográficas publicadas recentemente apontam o processo de pirólise rápida como sendo um dos processos mais promissores no processamento de microalgas (Borges, 2010).

Alguns desafios ainda devem ser superados para a sua aplicação em processos de biorrefinaria, sendo esses relacionados com a tecnologia, tais como: desenvolvimento do reator, transferência de calor, melhoria da modelagem, entre outros (Borges, 2010).

Ainda são necessários estudos nessas áreas, mas as microalgas se mostram tecnicamente viáveis, sendo necessária ainda uma diminuição dos custos associados a sua produção. Para isso é importante uma ferramenta de modelagem destes processos, de forma a obter-se o máximo aproveitamento dos sistemas com o aperfeiçoamento dos equipamentos e dos modos de operação.

## 2.4. MODELOS EXISTENTES NA LITERATURA

O modelo utilizado para as simulações deste trabalho foi o de Mairet et al. (2010), que baseia-se no modelo de Droop (1968). Este último já foi extensamente validado, porém modela apenas o crescimento algal, não considerando as diferentes formas de armazenamento celular. O modelo mais recente descreve a composição básica da célula em lipídios, ácidos graxos livres, reserva de carbono funcional e açúcares.

### 2.4.1. MODELO DE DROOP

#### a) introdução

O modelo de produção de biomassa algal mais antigo é o modelo de Droop (1968) apud Lemesle e Mailleret (2008) que consiste na explicação da produção de microalgas pelo uso da quota celular. O equipamento utilizado por ele foi o Quemostato, que consiste em um recipiente que é atravessado por um fluxo constante de uma solução com nutrientes, ou seja, um reator contínuo. O balanço de massa para o sistema contínuo resulta em:

$$\frac{d(pV)}{dt} = Fp_{in} - Fp \Leftrightarrow \frac{dp}{dt} = dp_{in} - dp$$

Onde  $p$  é a concentração (ou massa específica) da mistura,  $F$  é a vazão e  $d$  é a taxa de diluição, dada por  $\frac{F}{V}$ , sendo  $V$  o volume do reator.

Os experimentos foram realizados com a espécie *Monochrysus lutheris* e se utilizou como nutriente limitante a vitamina B12, sendo esta marcada com  $^{57}\text{Co}$ . A quantidade intracelular de vitamina foi medida com a coleta de uma amostra do cultivo, onde as microalgas eram colhidas e filtradas. A cota  $q$  era então computada como a massa de vitamina B12 dividida pela biomassa, pois essa manipulação era fácil e rápida. O objetivo de Droop era construir um modelo preditivo do crescimento algal. Em virtude disso a sua

escolha de variáveis priorizou aquelas que eram facilmente mensuráveis e não necessariamente variáveis com um significado biológico. Foram escolhidas Biomassa ( $x$ ) e substrato limitante ( $s$ ), ambas com significado biológico, e quota celular ( $q$ ), que é o grande advento deste modelo.

Um dos resultados experimentais de Droop foi que a taxa de crescimento das algas depende unicamente da cota intracelular de nutriente. Ainda, ele identificou um valor limite abaixo do qual as microalgas não cresciam, denominado como este valor de cota de subsistência  $q_m$ . Droop propôs o seguinte modelo para a taxa de crescimento das algas( $\mu$ ):

$$\mu(q) = \mu_m \left(1 - \frac{q_m}{q}\right) \quad (1)$$

Com isso, a evolução da biomassa ( $x$ ):

$$\dot{x} = \mu(q)x \quad (2)$$

A evolução da cota celular devido por um lado à absorção de nutrientes e por outro ao consumo para a multiplicação celular  $\mu(q)$  leva a seguinte equação:

$$\dot{q} = \rho(s) - \mu(q)q \quad (3)$$

Onde  $\rho(s)$  é a taxa de absorção de nutrientes. Então, definindo como coeficiente de produção como o recíproco da cota celular, isto é, a quantidade de substrato ( $s$ ) consumido para a produção de biomassa ( $x$ ). Completa-se a parte biológica do modelo:

$$\dot{x} = -\frac{1}{q}\dot{s} \quad \text{i.e.} \quad \dot{s} = -q\dot{x} = -\mu(q)qx \quad (4, 5)$$

Como em todos os experimentos de Droop, a parte biológica foi considerada em estado estacionário para a cota celular ( $\dot{q} = 0$  i.e.  $\rho(s) = \mu(q)q$ ), a seguinte equação para o substrato é obtida:

$$\dot{s} = -\rho(s)x \quad (6)$$

Finalmente, o modelo completo de Droop considerando a parte biológica, equações 1-6, e o balanço de massa para um reator contínuo fica:

$$\dot{s} = -\rho(s)x - ds + ds_{in} \quad (7)$$

$$\dot{q} = \rho(s) - \mu(q)q \quad (8)$$

$$\dot{x} = \mu(q)x - dx \quad (9)$$

A partir deste modelo, Lemesle e Mailleret realizaram um estudo com o objetivo de apresentar um significado físico do modelo de Droop. Para isso, primeiramente, eles identificaram as falhas no modelo sendo elas:

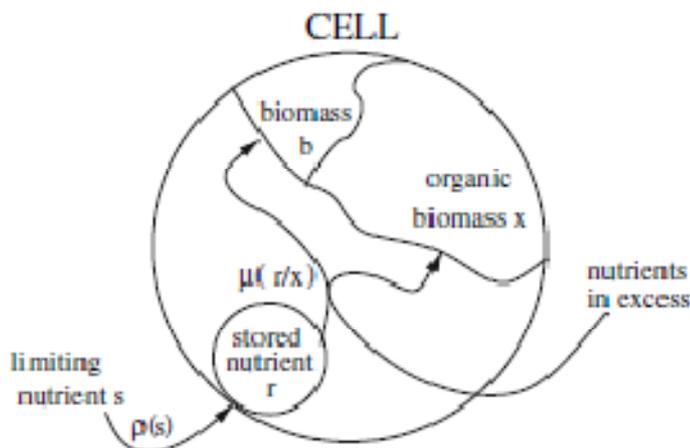
- o método de medição intracelular de vitamina B12 não faz distinção entre a vitamina intracelular nas formas orgânica e inorgânica;

- a existência de uma cota mínima  $q_m$  não se baseia em argumentos bioquímicos, mas nos resultados experimentais e não se dá um sentido biológico a esse limite. Identificadas essas falhas no modelo de Droop, eles propuseram um modelo físico para explicar melhor os fenômenos envolvidos.

#### b) Avaliação física do modelo

Nos experimentos realizados em reator contínuo, as células crescem pela absorção de um dos nutrientes limitantes extracelulares (chamado  $s$ ) e outros nutrientes em excesso. Este nutriente limitante será armazenado pela célula. No modelo de Droop foi utilizada a vitamina B12, mas outros experimentos já foram utilizados como: fósforo, nitrogênio, silício, amônia ou ferro. Todos estes experimentos mostraram que no crescimento limitado por estes nutrientes, a concentração intracelular está mais associada com a taxa de crescimento do que com a concentração extracelular de acordo com Droop apud Lemesle (2008).

O primeiro passo foi modelar a transformação do nutriente extracelular ( $s$ ) em biomassa celular em dois passos: armazenamento e metabolização. O nutriente armazenado é denominado  $r$  e a parte de biomassa relacionada é denominada  $b$ . A medida usual de biomassa orgânica é o carbono orgânico, chamado  $x$ , e não  $b$ , como pode ser visto na Figura 8.



**Figura 8 - Diagrama esquemático do crescimento de microalgal dependente sob limitação e excesso de nutrientes**

A velocidade de absorção de nutrientes é modelada como  $\rho(s)x$ ; A velocidade de metabolização de nutrientes é  $\mu\left(\frac{r}{x}\right)x$  (as funções  $\rho$  e  $\mu$  são supostas como do tipo Monod). De fato, o crescimento celular depende da variável  $\frac{r}{x}$  que representa o nutriente limitante armazenado por unidade de biomassa orgânica. A absorção de nutrientes extracelulares não-limitantes se dá diretamente em biomassa  $x$ . De acordo com a definição de nutriente limitante Monod apud Lemesle e Mailleret (2008). Com isso os fenômenos podem ser representados pelas seguintes equações, armazenamento do nutriente limitante:

$$s \xrightarrow{\rho(s)x} r \quad (10)$$

$$\alpha r + (\text{reagente não-limitante}) \xrightarrow{\mu\left(\frac{r}{x}\right)x} \alpha b + x \quad (11)$$

Utilizando-se dessas equações Lemesle e Mailleret (2008) conseguiram provar que para as mesmas condições experimentais utilizadas por Droop, eles conseguiram a mesma formulação.

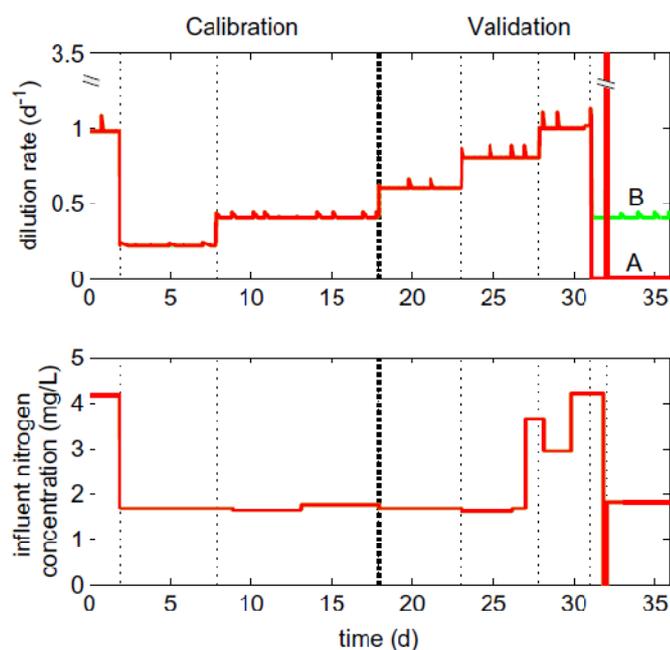
#### 2.4.2. MODELO MODIFICADO PARA ACÚMULO DE LIPÍDIOS

##### a) introdução

Vários microrganismos fotossintetizantes mostraram a habilidade de sintetizar e acumular quantidades consideráveis de lipídios (Chisti, 2007). Porém, a produção de lipídios em microalgas não tem um comportamento trivial e sofre de várias limitações. Por exemplo,

a escassez de nitrogênio aumenta o conteúdo lipídico da célula, mas, ao mesmo tempo, reduz a taxa de crescimento. O objetivo do trabalho de Mairet et al. (2010) é propor um modelo para a produção de lipídios sob estresse de nitrogênio para guiar a pesquisa de uma estratégia de otimização. O modelo tem um compromisso entre a representatividade, mostrando a influência das variáveis-chave do processo, e a simplicidade, para que possa ser utilizado adequadamente na resolução de problemas de controle. O modelo mais simples que descreve o crescimento de uma população de microalgas limitadas por um nutriente é o de Droop (1968). Modelos mais precisos foram propostos para lidar com outras variáveis do sistema, mas nenhum prediz a concentração de lipídios.

A espécie utilizada para a validação do modelo foi a *Isochrysis affinis galbana*, e durante os experimentos foram mantidos constantes o volume, a luminosidade, e o pH. Foram medidos a concentração de nitrato, a concentração de particulado de carbono e nitrogênio, a concentração de carboidratos totais e a quantidade de lipídios neutros. A Figura 9 mostra as condições operacionais utilizadas nos experimentos.



**Figura 9 - Condições operacionais utilizadas por Mairet et al. para a calibração e a validação de seus experimntos**

Os degraus aplicados na taxa de diluição foram mantidos até que o estado estacionário fosse aparentemente atingido.

#### b) Descrição do modelo

Mairet et al. (2010) considerou que o Carbono orgânico pode se dividir de duas formas: como reserva funcional e de armazenamento. A parte funcional (f) inclui sistema

biosintético (proteínas e ácidos nucleicos) e a parte estrutural (membranas principalmente feitas de glicolipídios e fosfolipídios). Este artigo ainda subdivide a reserva de armazenamento em compartimento de reserva de açúcar (g) e compartimento de lipídios neutros (l).

A absorção de nutrientes e o crescimento da biomassa são processos desacoplados, nos levando a variação na quota interna de nutrientes. O nutriente é absorvido pela microalga para fazer nitrogênio celular (n) a uma taxa  $\rho(s)$ . Este fluxo de nitrogênio pode ser resumido nas seguintes reações, as quais representam o fluxo de massa entre compostos inorgânicos e orgânicos:



A taxa de absorção é tida como uma função do tipo Michaelis-Menten:

$$\rho(s) = \rho_m \left( \frac{s}{s+K_s} \right) \quad (13)$$

Com  $K_s$  sendo a constante de meia-saturação para o substrato e  $\rho_m$  a taxa máxima de absorção.

Seguindo as diretrizes de Droop, foi considerado que a taxa específica de crescimento  $\mu$ , ou seja, a incorporação líquida de  $CO_2$  é uma função da quota interna de nutriente ( $q_n = \frac{n}{x}$ ). Assumiu-se que o carbono inorgânico é primeiro incorporado numa reserva de açúcares g:



As reações (12) e (14) resumem o que ocorre na fase escura da fotossíntese, e que levam, através do ciclo de Calvin, a produção de carboidratos, tais como glicose 6-fosfato, (Falkowski e Raven, 2007 apud Mairet, 2010). A expressão matemática para a taxa específica de crescimento utilizada foi a do modelo de Droop (1968):

$$\mu(q_n) = \bar{\mu} \left( 1 - \frac{Q_0}{q_n} \right) \quad (15)$$

Onde  $\bar{\mu}$  e  $Q_0$  representam a taxa teórica máxima de crescimento e a quota mínima de nitrogênio, ou quota de subsistência.

A reserva de açúcares  $g$  é, em seguida, utilizada em um segundo estágio para a síntese de elementos funcionais da biomassa  $f$ :



Esta reação corresponde, basicamente, a síntese de proteínas e ácidos nucleicos, os quais dependem da disponibilidade de nitrogênio. Foi considerado por Mairet et al. (2010) que a taxa de síntese é proporcional à taxa de absorção de nitrogênio, como em Ross e Geider (2009).

A reserva de açúcares é também utilizada em um caminho paralelo para a síntese de ácidos graxos livres (AGL):



Foi assumido que essa taxa de síntese de ácidos graxos livres depende da taxa de fotossíntese  $\mu(q_n)$ , mas também sofre influência da quota de nitrogênio. Essa hipótese está baseada no trabalho de Sukenik e Livne (1991) apud Mairet et al. (2010). No trabalho citado foi explorada a relação entre a taxa de crescimento e a produção de lipídios em culturas com nitrogênio limitado da espécie *Isochrysis aff. galbana*.

Estes ácidos graxos livres são, então, direcionados para a produção de carbono funcional (principalmente membranas):



A taxa dessa reação é assumida como proporcional à síntese de proteínas e ácidos nucleicos.

Finalmente, como os ácidos graxos não são armazenados pelas células, lipídios neutros (L), principalmente triglicerídeos, são usados para armazenar ou para prover ácidos graxos quando ocorrer um desequilíbrio entre a síntese de ácidos graxos (reação 17) e a produção de carbonos funcionais (reação 18).

Foi assumido que a reação 19 é muito rápida em comparação às outras envolvendo os AGL, de forma a manter a quota constante.



Ainda, foi considerado que a reserva de AGL tem um tamanho negligenciável, por isso o modelo não descreve sua dinâmica.

A representação do fluxo de carbono é dada pela Figura 10.

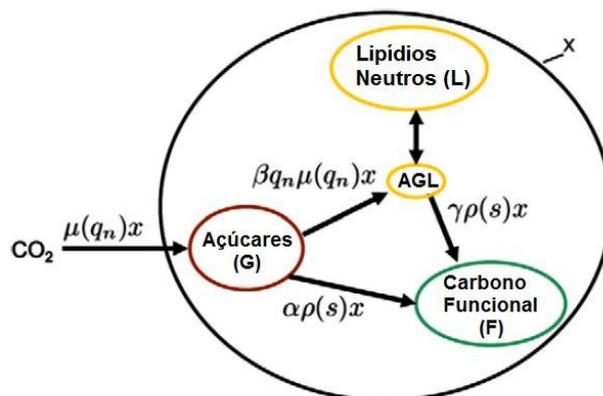


Figura 10 - Fluxo completo de carbono intracelular proposto por Mairet et al. (2011)

O esquema mostrado na Figura 10 pode ser simplificado utilizando as considerações já citadas de uma quota negligenciável e constante de ácidos graxos livres, resultando na Figura 11.

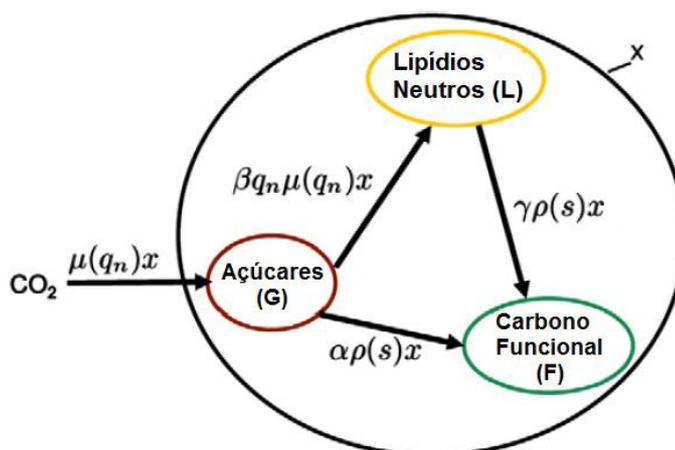


Figura 11 - Fluxo simplificado de carbono intracelular proposto por Mairet et al. (2010)

Considerando que as transferências de carbono e nitrogênio podem ser resumidas pelas reações anteriormente descritas (equações 12-16), as equações diferenciais do comportamento das variáveis no tempo para um reator contínuo e homogêneo são dadas por:

$$\dot{s} = Ds_{in} - \rho(s)x - Ds \quad (20)$$

$$\dot{n} = \rho(s)x - Dn \quad (21)$$

$$\dot{g} = (1 - \beta q_n)\mu(q_n)x - \alpha\rho(s)x - Dg \quad (22)$$

$$\dot{L} = \beta q_n \mu(q_n) x - \gamma \rho(s) x - DL \quad (23)$$

$$\dot{f} = (\alpha + \gamma) \rho(s) x - Df \quad (24)$$

Onde D é a taxa de diluição (razão entre a vazão de entrada sobre o volume do fotobiorreator) e  $s_{in}$  a concentração de nutriente na que entra no reator.

A partir das equações 17-21 é possível deduzir a dinâmica da quota de nitrogênio  $q_n$  e a biomassa que é dada pela soma das três reservas de carbono, ou seja:

$$x = f + g + L \quad (25)$$

Ainda, as quotas de lipídio neutro ( $q_L = \frac{L}{x}$ ) e carbono funcional ( $q_f = \frac{f}{x}$ ), levando às seguintes equações:

$$\dot{s} = -\rho(s)x - ds + ds_{in} \quad (26)$$

$$\dot{q} = \rho(s) - \mu(q)q \quad (27)$$

$$\dot{x} = \mu(q)x - dx \quad (28)$$

$$\dot{q}_L = (\beta q_n - q_L) \mu(q_n) x - \gamma \rho(s) \quad (29)$$

$$\dot{q}_f = q_f \mu(q_n) x + (\alpha + \gamma) \rho(s) \quad (30)$$

Vale a pena mencionar que as primeiras três equações correspondem exatamente ao modelo de Droop (1968). Este modelo já foi extensivamente estudado e validado. Ainda, o sistema tem uma estrutura em cascata: a dinâmica das frações  $q_L$  e  $q_f$  não são envolvidas nas primeiras três equações.

Os parâmetros estimados por Mairet et al. (2010), e utilizados neste trabalho, para a espécie estudada e as condições mencionadas são apresentados na Tabela 2:

**Tabela 2 - Valores dos parâmetros estimados por Mairet et al. (2010)**

VALORES DOS PARÂMETROS	
Quota mínima de nitrogênio, $Q_0$	0,05 mg[N].mg[C] <sup>-1</sup>
Quota máxima de nitrogênio, $Q_m$	0,095 mg[N].mg[C] <sup>-1</sup>
Taxa máxima de crescimento, $\mu_m$	1 d <sup>-1</sup>
Coeficiente da síntese de proteínas, $\alpha$	2,6 mg[C].mg[N] <sup>-1</sup>
Coeficiente da síntese de ácidos graxos, $\beta$	4,8 mg[C].mg[N] <sup>-1</sup>
Coeficiente da transformação dos ácidos graxos, $\gamma$	3,0 mg[C] mg[N] <sup>-1</sup>
Half-saturation constant, $K_S$	0,018 mg[N] .L <sup>-1</sup>
Taxa teórica máxima de crescimento, $\bar{\mu}$	1,83 d <sup>-1</sup>

---

Taxa máxima da absorção de nutrientes, $\rho_m$	$0,095 \text{ mg[N].mg[C]}^{-1} \text{ d}^{-1}$
---	---

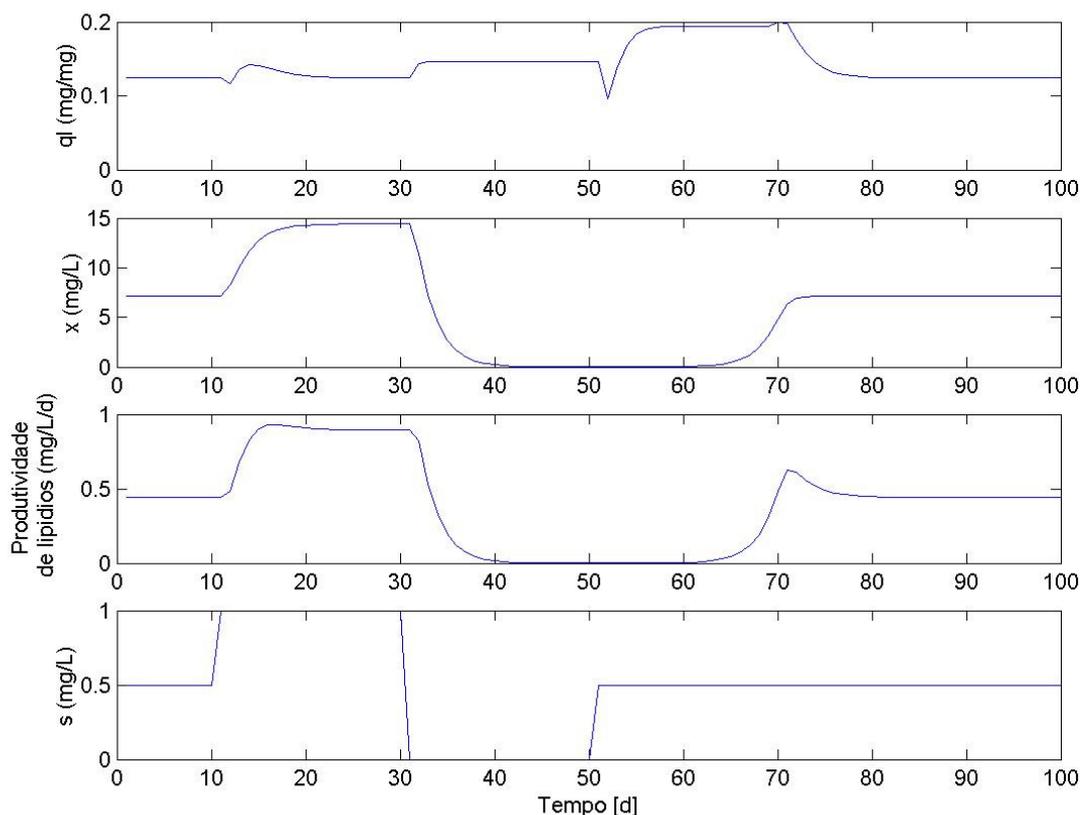
---

### 3. APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

Para a simulação do modelo escolhido foi utilizado o software Matlab. Neste foram implementadas as equações 20 à 24 extraídas do modelo de Mairet et al. (2010). Este modelo conforme descrito acima computa as variáveis: concentração de biomassa ( $x$ ) e quota de lipídios ( $q_l$ ), para uma dada concentração de entrada de nutrientes ( $S_{in}$ ) e uma dada taxa de diluição ( $D$ ).

#### 3.1.1. METABOLISMO INTRACELULAR

As primeiras simulações tiveram como objetivo verificar a modelo. Foram avaliadas a quota lipídica e a concentração da biomassa produzida para valores constantes de taxa de diluição, no caso  $0,5 \text{ d}^{-1}$ , sendo variada a concentração dos nutrientes na entrada do reator. Estes resultados podem ser vistos na Figura 12:



**Figura 12 - Comportamento dinâmico das células**

O transiente inicial foi retirado para uma melhor visualização do comportamento das células quando sujeitas as alterações executadas. Pode-se notar que no 10º dia foi aumentada a concentração de nutriente na entrada ( $s$ ) e ocorreu um transiente onde os lipídios foram consumidos e, em seguida, produzidos novamente de forma a voltar ao mesmo valor de quota lipídica ( $ql$ ). No 30º dia foi retirada a injeção de substrato, com isso a quota celular foi para um novo patamar, ou seja, a célula armazenou os lipídios no momento de limitação de substrato. Um comportamento interessante predito pelo modelo ocorre no 50º dia, ao ser re-iniciada a injeção de nutrientes a célula cria um novo patamar de quota lipídica, ou seja, ela armazena os nutrientes na forma de lipídios, ao invés de se reproduzir. Isso ocorre por um período de 10 dias, até que, sem alterações externas no sistema, as microalgas iniciam a sua reprodução e o conteúdo lipídico volta ao patamar inicial, idêntico ao anterior às perturbações. Os valores mínimos de concentração de biomassa foram 0,00028 mg/L, não chegando a zero.

Esse comportamento observado indica a potencialidade de um controle dinâmico do sistema de forma a realizar a colheita no momento adequado que seria no maior patamar de conteúdo lipídico nas microalgas.

### 3.1.2. ANÁLISE DO MODELO

Outra análise realizada foi a da produtividade máxima para condições constantes de alimentação. A figura 13 mostra um comportamento dinâmico da produtividade de biomassa, concentração de biomassa multiplicada pela taxa de diluição, bastante influenciado pela taxa de diluição. Nota-se que o estado estacionário não é atingido no maior valor de taxa de diluição. O maior valor de produtividade de biomassa foi encontrado para a taxa de diluição  $D = 0,82$  (1/dia) e não para a maior taxa utilizada  $D = 0,92$  (1/dia)

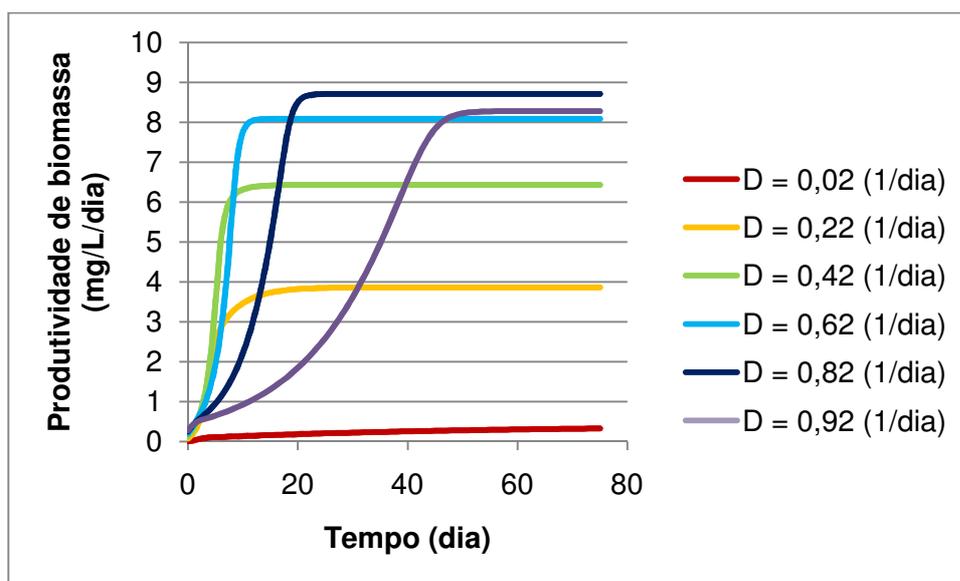
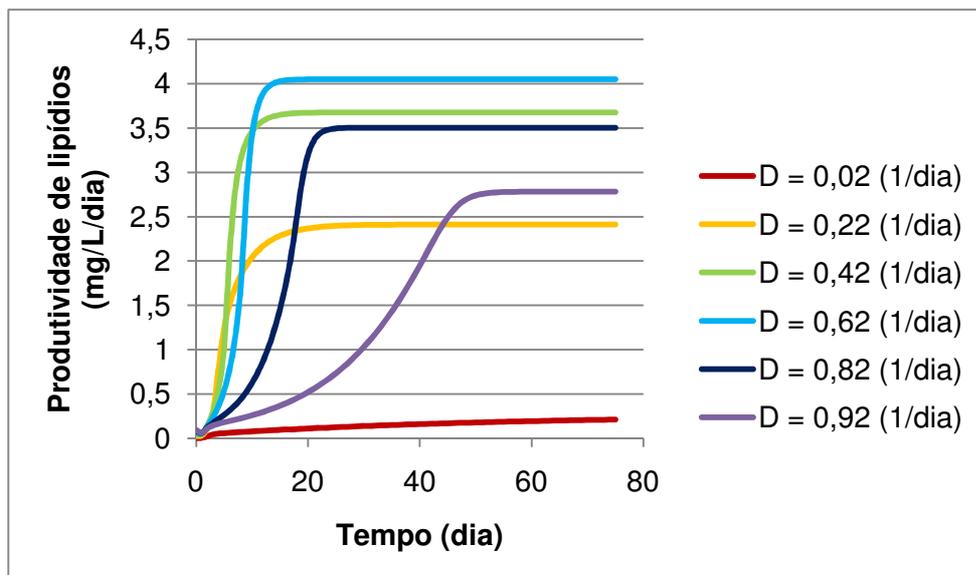


Figura 13 - Produtividade de biomassa para um reator contínuo

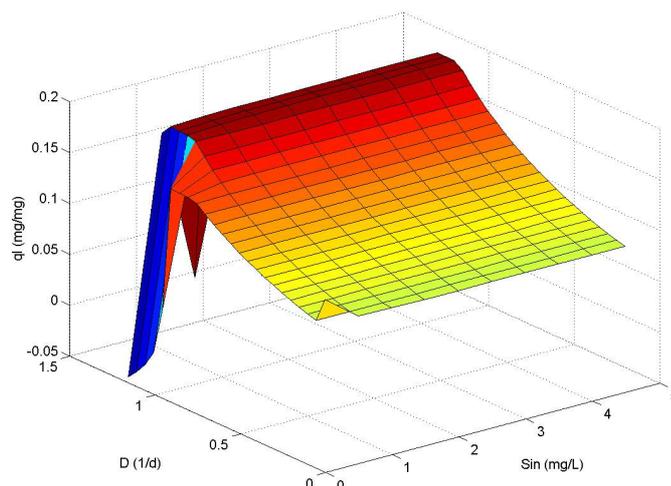
A produtividade de lipídios, Figura 14, mostra um comportamento semelhante ao da produtividade de biomassa, porém o máximo ocorre para valores distintos. No caso a maior produtividade de biomassa ocorre em  $D = 0,62$  (1/dia).



**Figura 14 - Produtividade de lipídios para um reator contínuo**

Para a análise do modelo foi realizada uma análise de sensibilidade, a partir de um algoritmo que calculava os valores de estado estacionário das variáveis estudadas para uma matriz de diversos valores. Foi feita um algoritmo para o Matlab realizar as simulações do modelo variando de os valores de taxa de diluição e de concentração de entrada de nutrientes, sendo que após a simulação de uma condição o software armazenava o último valor, o valor de estado estacionário (garantido pelo tempo de simulação maior do que as dinâmicas das Figuras 13 e 14).

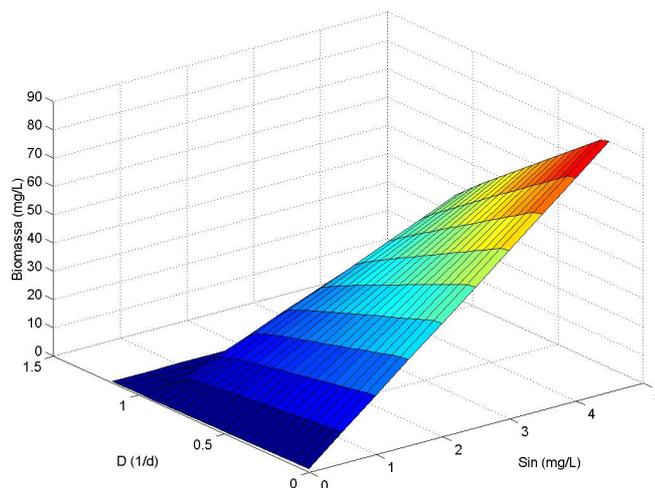
A partir da resposta para a quota de lipídios produzida, observou-se que o modelo não contempla concentrações altas de nutrientes na entrada, esta é uma das limitações do modelo. Por isso, ele foi validado somente para valores baixos de nitrogênio. A concentração de entrada de nutrientes não pode ser superior a 25 mg/l para que o modelo consiga descrever o sistema, caso contrário a solução do modelo produz valores sem sentido físico (negativos, por exemplo). Ainda, a validação do modelo por Mairet et al. (2010) não utiliza valores de concentração de entrada de nutrientes maiores que 5 mg/l, por isso as simulações foram realizadas considerando esta limitação do modelo, resultando na Figura 15, a seguir.



**Figura 15 - Quota lipídica para concentrações de substrato dentro da faixa validada do modelo**

Analisando a Figura 15 acima, nota-se que próximo ao valor de taxa de diluição de  $1 \text{ d}^{-1}$  o modelo apresenta uma descontinuidade. Para entender esse fenômeno faz-se necessária a superfície de resposta para a concentração de biomassa produzida nessas condições.

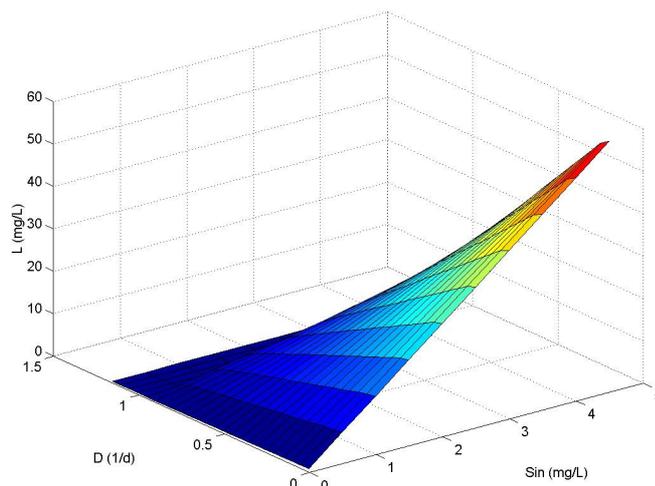
A seguir, na Figura 16, este gráfico onde fica claro que o modelo prediz o fenômeno de lavagem do reator (wash out), situação na qual a taxa de diluição é mais alta que a taxa de crescimento das microalgas e, com isso, os microrganismos começam a serem retirados mais rapidamente do que se reproduzem. Isto faz com que para valores acima de  $1 \text{ d}^{-1}$  o sistema não possa trabalhar em um modo contínuo simples, sem reciclo de células. Esta não é uma limitação do modelo, mas um fenômeno esperado que ocorra com o sistema e o modelo de Mairet et al. (2010) consegue reproduzir adequadamente.



**Figura 16 - concentração da biomassa produzida para concentrações de substrato dentro da faixa validada do modelo**

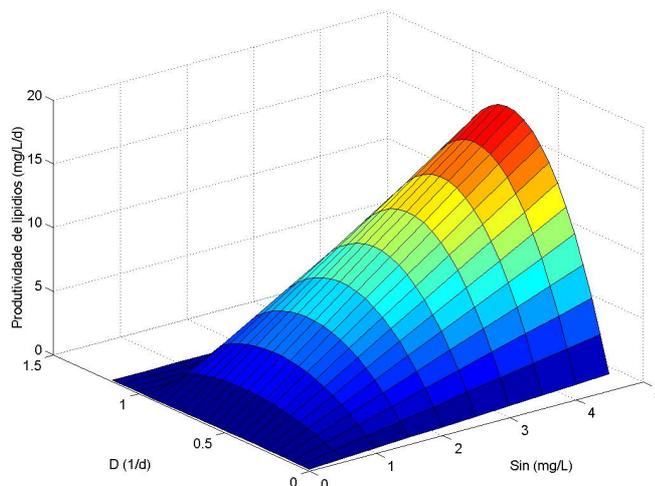
Após essa análise de sensibilidade foi possível determinar as limitações do modelo de maneira exata. A partir deste conhecimento já se pode analisar a resposta das curvas obtidas. Para a quota de lipídios, no estado estacionário, nota-se que esta não sofre alteração significativa com a concentração de nutrientes na entrada do reator, os valores da quota de lipídios na faixa que o reator é lavado não possuem significação física, já que não é produzida biomassa. Ainda, a quota de lipídios tem um aumento com o aumento da taxa de diluição até um máximo, próximo a  $0,82 \text{ d}^{-1}$ , portanto pode-se concluir que, caso o objetivo de produção seja uma microalga com uma concentração celular de lipídios alta devemos utilizar valores próximos a esse.

Para a concentração de biomassa tem-se um comportamento antagônico, com relação à taxa de diluição, pois com a diminuição da taxa tem-se um aumento linear da concentração de biomassa. Com relação à concentração de nutrientes na entrada do reator verifica-se, novamente, um comportamento diferente, pois esta apresenta uma relação diretamente proporcional com a concentração de biomassa produzida. Portanto, para que se tenha a produção adequada das microalgas devem-se definir quais são os parâmetros desejados, por exemplo, é mais vantajoso obter uma produção mais concentrada em biomassa com maior concentração de lipídios ou uma produção de biomassa com maior concentração de lipídios é mais vantajosa, mesmo que com uma produtividade menor (mg/L/dia). A Figura 17 mostra a concentração de lipídios na saída do reator:



**Figura 17 - Concentração de lipídios produzidos para concentrações de substrato dentro da faixa validada do modelo**

Considerando um reator tem-se como resultado em relação à produtividade de lipídios o comportamento apresentado pela Figura 18.



**Figura 18 - Produtividade de lipídios para concentrações de substrato dentro da faixa validada do modelo**

Onde pode-se notar que quando o objetivo é a maior produção de lipídios, não se levando em conta a sua concentração nas células, os melhores valores seriam um valor intermediário de taxa de diluição e a maior concentração de nutrientes possível. Esse último fato levou a desenvolver um maior interesse em validar um modelo para mais altas concentrações de nutriente já que o resultado está demonstrando que a maior produtividade está justamente no limite de aplicabilidade do modelo.

Caso o modelo fosse considerado válido para valores maiores de concentração de entrada de nutrientes, seria válida a Figura 19. Contudo, não se pode garantir que esse comportamento seria o correto, já que o modelo foi validado somente para valores menores que 5 mg/l.

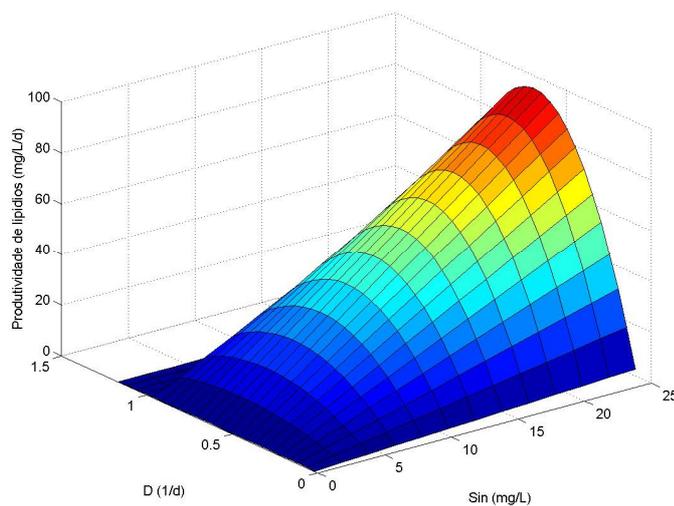


Figura 19 - Produtividade de lipídios para concentrações de substrato acima da aplicabilidade do modelo

### 3.1.3. SIMULAÇÃO DO MODO DE OPERAÇÃO

Outra análise é da utilização de mais de um reator como mostrado na Figura 20.

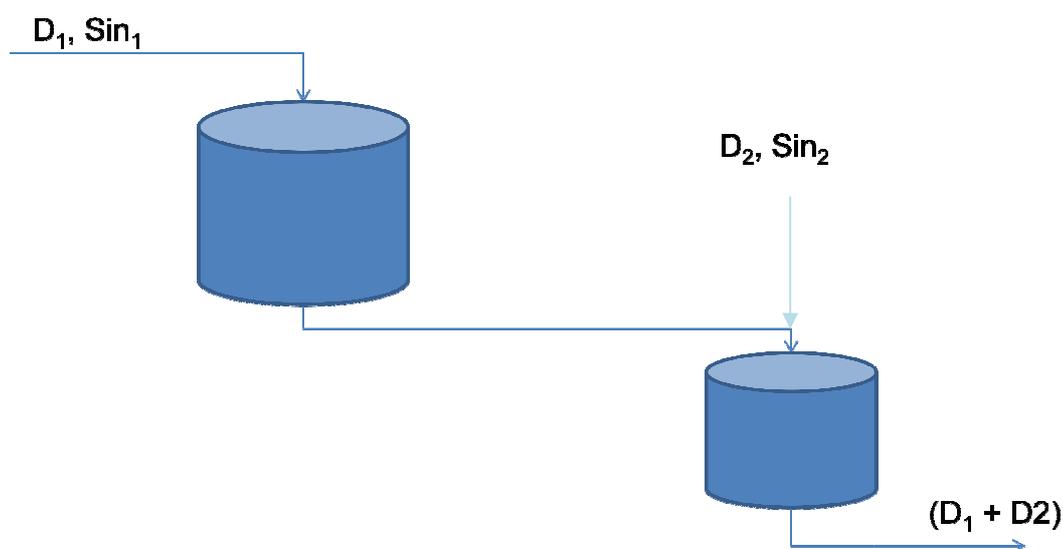


Figura 20 - Esquema de dois reatores em série para a produção de microalgas

Essa conformação de reatores foi pensada para que o sistema tenha liberdade de produzir no primeiro estágio uma maior concentração de biomassa o que se obteria com uma menor taxa de diluição e no segundo com uma taxa de diluição menor uma biomassa com maior concentração de lipídios, levando assim a uma produção otimizada de células com alta concentração de lipídios.

Para a aplicação desta conformação de reatores o modelo de Mairet et al (2010) teve que ser modificado de forma a contemplar entrada de células no segundo reator, resultando nas equações (31) a (35).

$$\dot{s}_2 = D_1 s_1 + D_2 s_{in2} - \rho(s)x_2 - (D_1 + D_2)s_2 \quad (31)$$

$$\dot{n}_2 = D_1 n + \rho(s)x_2 - (D_1 + D_2)n_2 \quad (32)$$

$$\dot{g}_2 = D_1 g + (1 - \beta q_n)\mu(q_n)x_2 - \alpha\rho(s)x_2 - (D_1 + D_2)g_2 \quad (33)$$

$$\dot{L}_2 = D_1 L + \beta q_n \mu(q_n)x_2 - \gamma\rho(s)x_2 - (D_1 + D_2)L_2 \quad (34)$$

$$\dot{f}_2 = D_1 f + (\alpha + \gamma)\rho(s)x_2 - (D_1 + D_2)f_2 \quad (35)$$

Sendo que os índices 1 e 2 foram colocados para identificar como propriedades relativas ao primeiro ou ao segundo reator.

As restrições utilizadas para a otimização foram:

$$0 \leq D_1 \leq 1 \quad (36)$$

$$0 \leq S_{in} \leq 5 \quad (37)$$

$$0 \leq D_2 \leq 1 \quad (38)$$

$$0 \leq S_{in2} \leq 5 \quad (39)$$

O resultado da otimização para maximização da produtividade de lipídios foi:

$$D_1 = 0,9390 \frac{1}{d}; S_{in} = 5 \frac{mg}{L}, D_2 = 0,8103 \frac{1}{d} \text{ e } S_{in2} = 5 \frac{mg}{L}$$

Com uma produção lipídica de 16,97 (mg/L/d) e de biomassa igual a 87,95 (mg/L/d), com uma quota lipídica de 0,19.

Contudo, esse objetivo não é algo definido, pois pode ser vantajosa uma produção de lipídios com uma concentração menor desde que essa compense o custo de separação

associado ao processo. Por exemplo, para um máximo de produtividade de biomassa tem-se os seguintes valores:

$$D_1 = 0,8815 \frac{1}{d}; S_{in} = 5 \frac{mg}{L}, D_2 = 0,8471 \frac{1}{d} \text{ e } S_{in2} = 5 \frac{mg}{L}$$

Com uma produção de biomassa igual a 90,29 (mg/L/d) e de lipídios 15,67 (mg/L/d) e uma quota lipídica 0,17.

Para a uma máxima concentração lipídica média na corrente de produto tem-se um máximo para os valores:

$$D_1 = 0,9384 \frac{1}{d}; S_{in} = 5,00 \frac{mg}{L}, D_2 = 0,2 \frac{1}{d} \text{ e } S_{in2} = 3,1772 \frac{mg}{L}$$

Nesse caso obtve-se uma quota lipídica de 0,20 e uma produção de biomassa de 77,46 (mg/L/d) e de lipídios 15,29 (mg/L/d).

#### 4. CONCLUSÕES E SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com a análise dos modelos estudados pode-se construir uma base de conhecimentos quanto ao comportamento das microalgas em reatores contínuos exposta a uma limitação de nutrientes, especificamente nitrogênio. Foram realizadas análises de sensibilidade do modelo, identificando suas limitações e aplicabilidade.

O comportamento observado no sistema demonstrou que este é adequado para a um controle dinâmico das variáveis de modo a obter-se um máximo conteúdo lipídico. Conforme foi simulado, ao serem expostas a uma limitação de nutrientes as células armazenam energia na forma de lipídios e, após esse estado, ao se alimentar o sistema novamente com nutrientes as células tendem a armazenar mais lipídios ainda. Isso acrescenta outras variáveis à determinação do melhor método de produção, não se devendo considerar somente o comportamento do estado estacionário.

O comportamento de estado estacionário mostrou uma produtividade máxima justamente em um dos limites de aplicabilidade do modelo. Um fato interessante foi o resultado da taxa de diluição, cujo valor influencia diretamente proporcional à quota lipídica e inversamente à concentração de biomassa. Isto acabou mostrando um máximo intermediário quando se objetiva a produtividade de lipídios.

Na proposta otimizada do modo de produção obtve-se respostas semelhantes às encontradas para um reator. A idéia proposta tem validade quando se objetiva uma máxima concentração de lipídios nos produtos, massa de lipídios por volume de meio de cultivo, pois

esta obteve diferentes valores de taxa de diluição para cada um dos reatores. No entanto, a produtividade de lipídios (mg/L/dia) não é a máxima nas condições de maior concentração o que leva a necessidade da análise dos custos de todo o processo para que se possa determinar qual o objetivo principal.

Os resultados deste trabalho levam a algumas propostas para trabalhos futuros. Quanto à aplicabilidade do modelo devem ser feitos experimentos com concentrações maiores de lipídios de modo a estabelecer se a relação apresentada pelo modelo também será válida para a região onde apresentou uma maior produtividade. Caso os resultados não correspondam ao esperado deverão ser feitas modificações, ou, até mesmo, a criação de um novo modelo.

Uma análise definitiva do melhor esquema de produção passa por uma análise apurada dos custos de cada um dos tipos de processamento de microalgas como pirólise, fermentação, gaseificação e liquefação. Para cada uma destas aplicações tem-se um valor de umidade adequado, sendo alguns mais permissivos que outros à presença de água no produto.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BECKER, E. W., *Microalgae: biotechnology na microbiology*. Cambridge University Press, 1994, p. 293.

BORGES, F. *Proposta de um modelo conceitual de biorrefinaria com estrutura descentralizada*, Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2010, P. 121.

BRENNAN, L., OWENDE, P. *A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products*. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 14, p. 557-577, 2010.

CHISTI, Y. *Biodiesel from microalgae*. Biotechnology Advances, v. 25, p. 294-306, 2007.

DERNER, R. B., OHSE, S. O., VILLELA, M., DE CARVALHO, S. M., FETT, R. *Microalgas, produtos e aplicações*. Ciência Rural, v.36, n.6, p.1959-1967, Nov./Dez. 1992.

LEMESLE, V., MAILERET, L., *A mechanistic Investigation of the algae growth "Droop" model*. Acta Biotheor, v. 58, p. 87–102, 2008.

MAIRET, F., BERNARD, O., MASCI, P., LACOUR, T., SCIANDRA, A., *Modelling lipid production in microalgae*. In: Proceedings of the 9<sup>th</sup> international Symposium on Dynamics and Control of Process Systems, Leuven, Bélgica, Julho 5-7, 2010.

MAIRET, F., BERNARD, O., MASCI, P., LACOUR, T., SCIANDRA, A., *Modelling neutral lipid production by the microalga Isochrysis aff. galbana under nitrogen limitation*. Bioresource Technology, v. 102, p. 142-149, 2011.

MASOJÍDEK, j., KOBLÍZEK, M., TORZILLO, G., *Photosynthesis in microalgae*. In: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, 1 ed., Oxford, Ed. Blackwell Science Ltd., 2004, p. 20-19.

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, p. 217-232, 2010.

OHSE, S., DERNER, R. B., OZÓRIO, R. A., CUNHA, P. C. R., LAMARCA, C. P., DOS SANTOS, M. E., MENDES, L. B. B., *Revisão: sequestro de carbono realizado por microalgas e florestas e a capacidade de produção de lipídios pelas microalgas*. INSULA, v.36, p. 39-74, 2007.

POSTEN, C., *Review: design principles of photobioreactors for cultivation of microalgae*. Engineering in Life Sciences, v. 9, n. 3, p. 165-177, 2009.

RICHMOND, A., *Open systems for the mass production of photoautotrophic microalgae outdoors: physiological principles*. Journal of Applied Phycology, v. 4, p. 281-286, 1992.

ROSS, O., GEIDER, R., 2009. *New cell-based model of photosynthesis and photoacclimation: accumulation and mobilisation of energy reserves in phytoplankton*. Marine Ecology Progress Series, n. 383, p. 53-71.

SPOLAORE, P., JOANNIS-CASSAN, C., DURAN, E., ISAMBERT, A., *Review: commercial applications of microalgae*. Journal of Applied Phycology, v. 4, p. 281-286, 1992.

TOMASELI, L., *The microalgal cell*. In: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, 1 ed., Oxford, Ed. Blackwell Science Ltd., 2004, p. 2-19.

TREDICI, M. R., *Mass production of microalgae: photobioreactors*. In: Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology, 1 ed., Oxford, Ed. Blackwell Science Ltd., 2004, p. 178-214.

USUI, N., IKENOUCI, M., *The biological CO<sub>2</sub> fixation and utilization project by RITE(1) – highly-effective photobioreactor system*. Energy Conversion and Management, v. 38, p. S487-S492, 1997.