



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

MODELAGEM APLICADA AO PROCESSO DE BIOFIXAÇÃO DE CO<sub>2</sub> POR  
MICROALGAS

M. Sc. Felipe Vieira Camerini

Tese apresentada como parte dos  
requisitos para obtenção do título de  
Doutor em Engenharia e Ciência de  
Alimentos

Prof Dr. Jorge Alberto Vieira Costa  
Orientador

Rio Grande, RS  
2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE  
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE ALIMENTOS

MODELAGEM APLICADA AO PROCESSO DE BIOFIXAÇÃO DE CO<sub>2</sub> POR  
MICROALGAS

M. Sc. Felipe Vieira Camerini

Prof Dr. Jorge Alberto Vieira Costa  
Orientador

Rio Grande, RS  
2012

## ÍNDICE

ÍNDICE .....	I
LISTA DE FIGURAS .....	IV
1. INTRODUÇÃO.....	5
2. OBJETIVOS.....	4
2.1 OBJETIVO GERAL .....	4
2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS.....	4
3. JUSTIFICATIVA.....	5
4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	7
4.1 EFEITO ESTUFA.....	7
4.2 MICROALGAS.....	9
4.3 BIOFIXAÇÃO DE CO <sub>2</sub> POR MICROALGAS .....	16
4.4. <i>SPIRULINA</i> .....	20
5. DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO.....	23
5.1 ARTIGO 1: CINÉTICA DE CRESCIMENTO MICROALGAL: ILUMINÂNCIA COMO FATOR LIMITANTE .....	23
5.2 ARTIGO 2: RELAÇÃO ENTRE A INJEÇÃO E TRANSFERÊNCIA DE CO <sub>2</sub> E O PH DO MEIO .....	33
5.3 ARTIGO 3: PERDA DE CARBONO INORGÂNICO DO MEIO NA FORMA DE CO <sub>2</sub> .....	45
6. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	55
7. CONCLUSÕES GERAIS .....	56
8. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS .....	57
9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	58

## LISTA DE FIGURAS

Figura 5.1.1: Iluminância em função do tempo de cultivo.....	27
Figura 5.1.2: Crescimento celular de <i>S. platensis</i> em função do tempo de cultivo.....	27
Figura 5.1.3: Crescimento celular de <i>S. platensis</i> em função do tempo de cultivo.....	28
Figura 5.1.4: Crescimento celular em função do tempo (valores preditos pelo modelo, linha contínua e observados, círculos pretos) .....	30
Figura 5.1.5: Valores preditos em função dos valores observados experimentalmente para a concentração celular em função do tempo .....	30
Figura 5.2.1: Sistema de suprimento de CO <sub>2</sub> .....	38
Figura 5.2.2: Concentração de CO <sub>2</sub> no meio em função do tempo.....	40
Figura 5.2.4: Valores preditos pela Equação 5.2.13 em função dos valores observados experimentalmente para o pH .....	42
Figura 5.2.5: pH em função do tempo (valores simulados a partir da Equação 13) .....	42
Figura 5.3.1: Valores obtidos a partir da Equação 1 para a diferença entre a concentração de CO <sub>2</sub> e a concentração de CO <sub>2</sub> inicial em função do tempo em meio contendo, inicialmente, NaHCO <sub>3</sub> 16 g.L <sup>-1</sup> em pH 8,5 .....	49
Figura 5.3.2: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 e observados experimentalmente para o pH em função do tempo em meios contendo, inicialmente, NaHCO <sub>3</sub> 16 g.L <sup>-1</sup> .....	50
Figura 5.3.3: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 em função dos valores observados experimentalmente para o pH em meios contendo, inicialmente, NaHCO <sub>3</sub> 16 g.L <sup>-1</sup> .....	50
Figura 5.3.4: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 e observados experimentalmente para o pH em função do tempo de transferência em meios contendo, inicialmente, NaHCO <sub>3</sub> 5 g.L <sup>-1</sup> (a) e NaHCO <sub>3</sub> 1 g.L <sup>-1</sup> (b).....	51
Figura 5.3.5: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 em função dos valores observados experimentalmente para o pH em meios contendo, inicialmente, NaHCO <sub>3</sub> 5 g.L <sup>-1</sup> (a) e NaHCO <sub>3</sub> 1 g.L <sup>-1</sup> (b) .....	52
Figura 5.3.7: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 para o pH em função do tempo em meios contendo, inicialmente, NaHCO <sub>3</sub> 16, 5 e 1 g.L <sup>-1</sup> .....	53

## 1. INTRODUÇÃO

Pesquisas científicas e tecnológicas focadas na redução das emissões de dióxido de carbono têm sido estimuladas com a intenção de reduzir as consequências do efeito estufa no clima mundial.

As microalgas são microrganismos fotossintéticos que podem ser empregados para capturar dióxido de carbono, contribuindo com a redução do efeito estufa no planeta. A biomassa pode ser utilizada como alimento ou para a produção de biocombustíveis, entre outras aplicações.

A fixação biológica de dióxido de carbono por microalgas é considerada uma eficiente forma de fixar CO<sub>2</sub>, pelo fato de a utilização da energia solar ser superior a de plantas terrestres, as quais desempenham sua máxima capacidade fotossintética por um curto período. Tecnologias para o cultivo microalgal têm sido estudadas durante as últimas décadas, no contexto da mitigação das emissões de gases de efeito estufa.

A produção de biomassa microalgal apresenta potencial para a obtenção de vários produtos como biomassa alimentícia de alto valor nutricional (elevado teor protéico e conteúdo em ácidos graxos poliinsaturados), biocorantes (clorofila, ficocianina, astaxantina e carotenóides) e a possibilidade da obtenção de combustíveis renováveis (biogás, biodiesel e biomassa), além de sua aplicação no tratamento de efluentes líquidos e gasosos, como gases de combustão, através do consumo biológico do CO<sub>2</sub> produzido em processos térmicos de geração de energia.

O sucesso do emprego da tecnologia microalgal, em qualquer uma de suas aplicações, depende da viabilização técnica, econômica, social e ambiental de sua implantação. O cultivo de *Spirulina* tem sido objeto de diversos estudos durante as últimas décadas pela relativa simplicidade de operação apresentada por suas plantas de produção e pelas propriedades nutricionais da biomassa produzida.

Cerca de 50% da biomassa microalgal é composta por carbono, assim, o fornecimento deste nutriente aos cultivos representa um importante componente dos custos de produção, seja gasoso, na forma de dióxido de carbono, ou sólido, principalmente na forma de bicarbonato.

Durante a produção de *Spirulina* o meio de cultivo comumente utilizado apresenta o bicarbonato de sódio como fonte de carbono, o qual representa 60% do custo total em nutrientes. A fonte de carbono, uma vez dissolvida no meio de cultivo, participa do equilíbrio químico  $\text{CO}_{2(\text{aq})} \leftrightarrow \text{H}_2\text{CO}_3 \leftrightarrow \text{HCO}_3^- \leftrightarrow \text{CO}_3^{2-}$ , onde a distribuição entre as espécies químicas é determinada pelo pH.

Quando em fase de projeto, algumas ferramentas como a utilização de modelos e simulações pode auxiliar na previsão de custos e na escolha das condições ideais para a implantação de processos como o de biofixação de dióxido de carbono por microalgas.

Os modelos convencionais de cinética de crescimento microalgal não levam em consideração a fase de decréscimo na concentração celular, mesmo quando o cultivo não está em limitação de nutrientes. A cinética de crescimento de microrganismos fotossintetizantes cultivados sob iluminação natural ou artificial envolve a periodicidade da irradiação solar ou de alguma fonte artificial de luz. No entanto, este fato não é considerado durante o equacionamento do crescimento destes microrganismos.

Em função do crescimento, o consumo de carbono inorgânico por microrganismos fotoautotróficos só ocorre durante a fase iluminada (clara). Durante o período não iluminado a ausência de luz impede a realização da fotossíntese, ativando o metabolismo heterotrófico da microalga que passa a consumir o carbono orgânico formado durante a fase clara, provocando redução na concentração celular e aumento na concentração de  $\text{CO}_2$  dissolvido no meio.

A transferência de  $\text{CO}_2$  da fase gasosa para o meio líquido é uma das principais barreiras na utilização de gases de combustão ou outra fonte gasosa de  $\text{CO}_2$  em cultivos microalgais. A transferência é afetada pelo sistema de difusão de gases, a profundidade do tanque e a vazão de injeção de gás empregada.

A solubilização de  $\text{CO}_2$  em meio aquoso passa pela formação de ácido carbônico, provocando a redução do pH do meio. Tão logo o  $\text{CO}_2$  é transferido ao meio de cultivo passa a ser convertido, através do sistema de equilíbrio do ácido carbônico, a uma de suas espécies químicas as quais podem ser encontradas quando o carbono inorgânico encontra-se em solução. Portanto, a determinação do pH e da concentração de carbono inorgânico que devem ser mantidos no meio é fundamental para o dimensionamento de sistemas biológicos de fixação de  $\text{CO}_2$  eficientes.

Pouca atenção tem sido dada ao fato de que o meio comumente empregado para o crescimento de *Spirulina* é instável, devido ao fato de possuir uma pressão parcial de CO<sub>2</sub> excedendo a de equilíbrio com a atmosfera, causando uma evasão do CO<sub>2</sub> do meio para a atmosfera.

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo Geral**

O objetivo principal deste trabalho foi estudar as principais etapas que compõem o balanço de carbono durante o processo de biofixação de CO<sub>2</sub> por microalgas.

### **2.2 Objetivos Específicos**

- Estabelecer um modelo cinético no qual a iluminância é o fator limitante para o crescimento da microalga *Spirulina*.
- Validar o equacionamento proposto para a transferência de CO<sub>2</sub> durante o suprimento deste gás no meio líquido e estabelecer uma relação entre a variação da concentração de CO<sub>2</sub> e o pH do meio em um processo de biofixação de dióxido de carbono.
- Estabelecer um equacionamento para a perda de CO<sub>2</sub> em biorreatores abertos e aplicar o modelo estabelecido para a variação do pH em função da variação da concentração de CO<sub>2</sub> do meio.



### 3. JUSTIFICATIVA

Este século será caracterizado por grandes transformações, em que os combustíveis fósseis serão parcialmente substituídos por novas fontes de energia capazes de suprir as necessidades atuais, apresentando menor impacto ambiental. Enquanto as previsões mais otimistas prevêem que as reservas atuais de petróleo não durem mais que 100 anos, o estoque de carvão é estimado em 300 anos. No entanto, a viabilidade ambiental da utilização do carvão está vinculada à redução das emissões gasosas originadas de sua queima, em especial do CO<sub>2</sub>, uma vez que para SO<sub>x</sub>, NO<sub>x</sub> e particulados existem soluções técnicas disponíveis.

Mundialmente, poucas alternativas viáveis têm sido apresentadas para a eliminação ou redução da emissão de CO<sub>2</sub>, propõem-se a injeção deste gás a grandes profundidades ou no mar, restringindo-se a compensar a emissão, com uma fixação “extra situ”. A fixação biológica do gás carbônico presente em gases de combustão é um mecanismo possível e as microalgas são um dos agentes capazes de viabilizar tal alternativa. A energia fixada pela fotossíntese, principalmente sob a forma de ligação carbono-carbono, é de  $3 \times 10^{21}$  joules/ano, o que representa 0,1% da energia solar recebida e dez vezes a energia total consumida no planeta.

Microalgas, crescendo em tanques abertos, aparentam ser o sistema biológico mais apreciável que requer uma fonte enriquecida de CO<sub>2</sub> e poderia plausivelmente ser desenvolvido como um método de utilização de gases de combustão. Microalgas têm o potencial para altas produtividades e ser convertidas em combustíveis líquidos ou gasosos ou, se possível, em alimento. As maiores barreiras no emprego de microalgas em tais aplicações são as relativamente grandes áreas e recursos hídricos próximos a usinas termelétricas e a restrição a regiões climaticamente favoráveis. No entanto, tais recursos são apenas uma pequena fração daqueles necessários para outras opções de produção de biomassa para a mitigação de CO<sub>2</sub>, tais como florestamento.

O uso de microrganismos para produzir uma variedade de compostos utilizando fontes de nutrientes de baixo custo é economicamente interessante. A fotossíntese é o único meio de produzir compostos orgânicos primários utilizando ar, luz e água, e as microalgas apresentam um eficiente processo de conversão de energia solar em biomassa. A produção em grande escala de microrganismos fotossintéticos, teoricamente, é de menor custo que a de microrganismos heterotróficos, uma vez que não necessita a adição de nutrientes orgânicos.

A viabilidade da utilização de microalgas para fixação de carbono passa pela aplicabilidade da grande quantidade de biomassa gerada durante o processo. *Spirulina* é a microalga mais estudada no planeta, em função das propriedades associadas à sua biomassa. Além das características nutricionais da biomassa de *Spirulina*, sua capacidade de crescer em meios alcalinos (onde CO<sub>2</sub> é absorvido com alta eficiência) colabora com a sua aplicação neste tipo de processo.

Associando a utilização de dióxido de carbono proveniente da geração térmica de energia com a produção de uma biomassa potencialmente aplicável e de tecnologia simples como o cultivo de *Spirulina* é possível se estabelecer um processo de produção de alimento de alto valor nutricional e, paralelamente, a redução das emissões de gases de efeito estufa.

Entretanto, os sistemas baseados na biomassa microalgal não são a única tecnologia disponível. Uma diversidade grande de sistemas baseados em biofixação ou redução das emissões já foram propostos e, em alguns casos, implantados. Existe no Brasil um crescente interesse em desenvolver mecanismos de desenvolvimento limpo (MDL) visando à entrada no mercado de carbono. Neste sentido, investimentos em pesquisa e desenvolvimento de tecnologias biológicas são justificados, mesmo que reduzindo apenas uma parcela da emissão total de gases de CO<sub>2</sub>.

## 4. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 4.1 Efeito Estufa

O fluxo de radiação emitida pelo Sol que atinge a Terra por unidade de área de superfície é, atualmente, de  $432 \text{ W/m}^2$ . A radiação é distribuída do seguinte modo: 31% é refletida pelas nuvens, aerossóis, atmosfera e superfície terrestre de volta para o espaço; 17 % é retida pela atmosfera terrestre e 49 % é retida pela superfície terrestre. A radiação que é absorvida pela Terra é posteriormente reenviada na forma de radiação de longo comprimento de onda (infravermelho), de calor latente e de calor sensível (LAGES, 2001).

Em regime estacionário, a energia emitida pela Terra deve igualar a energia recebida; assim, a radiação emitida tomará o valor de  $235 \text{ W/m}^2$  e a temperatura efetiva será  $-19^\circ\text{C}$ . Todavia, a temperatura média à superfície da Terra é de cerca de  $14^\circ\text{C}$  (IPCC, 2001). Esta diferença de temperaturas é explicada pela presença de certos gases naturalmente presentes na atmosfera – vapor de água, dióxido de carbono, metano e óxido nitroso (Tabela 4.1) – cujo comportamento radiativo se caracteriza por absorverem radiação na região dos infravermelho. A radiação emitida pela superfície terrestre que está dentro das regiões espectrais de absorção destes gases é capturada e reemitida em todas as direções. Deste modo, o calor é retido na atmosfera terrestre, que aquece (IPCC, 2001).

O efeito estufa é um fenômeno que ocorre naturalmente na atmosfera e que consiste na absorção da radiação de longo comprimento de onda (infravermelho) refletida pela Terra por determinados gases presentes na atmosfera terrestre. É graças a este fenômeno, que eleva a temperatura terrestre em  $32^\circ\text{C}$ , que existe vida na Terra. O efeito estufa que atualmente causa preocupações, não é o fenômeno natural referido anteriormente, mas a interferência antropogênica no fenômeno (IPCC, 2001).

As atividades humanas têm vindo a libertar para a atmosfera quantidades significativas de gases de efeito estufa. Além dos gases de efeito estufa (GEE) naturalmente presentes na atmosfera, também são emitidos gases “artificiais” como os compostos halogenados (clorofluorcarbonetos, CFC, hidrofluorcarbonetos, HFC, e perfluorcarbonetos, PFC). O aumento das concentrações destes gases na atmosfera, conjuntamente com o fato de alguns destes gases terem tempos de residência na atmosfera bastante longos, potencializa um aquecimento do planeta. A influência

humana no aumento da concentração destes gases iniciou a partir da Revolução Industrial (LAGES, 2001).

A capacidade de retenção de calor é diferente para os diversos gases. Para efeitos de comparação define-se potencial de aquecimento global (*GWP – Global Warming Potential*), que corresponde à capacidade de retenção de calor de um dado GEE à do dióxido de carbono, num determinado intervalo de tempo (Tabela 4.1); este potencial depende das propriedades radiativas do gás em questão e também do tempo de residência na atmosfera.

Tabela 4.1: Tempos de residência na atmosfera e potenciais de aquecimento global para diferentes GEE

GEE	Tempo de residência na atmosfera	Potencial de aquecimento global		
		Horizonte de 20 anos	Horizonte de 100 anos	Horizonte de 500 anos
CO <sub>2</sub>	5 a 200 anos	1	1	1
CH <sub>4</sub>	12 anos	62	23	7
N <sub>2</sub> O	114 anos	275	296	156

Fonte: Intergovernmental Panel on Climate Change (2001)

A concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera elevou de 280 ppm, durante o período pré-industrial, para mais de 360 ppm na atualidade, sendo assim, o aquecimento global se torna uma realidade perigosa para um futuro próximo (MIYAMOTO et al. 1996). Os Estados Unidos (EUA) são responsáveis por, aproximadamente, 22% das emissões antropogênicas de CO<sub>2</sub> (5,7 Gt). Deste valor, um terço (1,7 Gt) são emitidos por usinas termelétricas (KADAM, 2002).

O Protocolo de Quioto à Convenção Quadro das Nações Unidas sobre Alterações Climáticas (*Kyoto Protocol to the United Nations Framework Convention on Climate Change*) operacionalizou a convenção quadro, ao definir uma série de compromissos (*binding commitments*). O Protocolo, aprovado em 1997, compromete os países industrializados a uma redução das emissões combinadas de gases de efeito de estufa em pelo menos 5% abaixo dos níveis de 1990, até ao período de 2008/2012 (UNFCCC, 1997).

O termo Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL) foi definido no Artigo 12 do Protocolo de Quioto e regulamentado pelos Acordos de Marrakech. Este termo tem como proposta permitir e incentivar os países não pertencentes ao Anexo I no

desenvolvimento de tecnologias alternativas para a redução das emissões de gases de efeito estufa, obtendo créditos para serem negociados no mercado de carbono e auxiliando os países pertencentes ao Anexo I a alcançarem seus compromissos em relação às suas metas de redução de emissões de gases de efeito estufa (UNFCCC, 1997).

## **4.2 Microalgas**

Biomassa é um termo usado no contexto de energia para uma gama de produtos. Os produtos podem ser classificados como resíduos de áreas urbanas e processos florestais e agrários, especialmente plantações como árvores e cana, plantas aquáticas e algas. Portanto, tudo que é derivado da fotossíntese é um potencial suprimento de energia, já que é um sistema de conversão de energia solar (RICHMOND, 1990).

A fotossíntese, na natureza, é o principal processo no qual a fixação de  $\text{CO}_2$  é observada. Isto ocorre através de plantas superiores e algas. A fixação biológica de  $\text{CO}_2$  por microalgas é considerada uma forma eficiente de fixar  $\text{CO}_2$ , visto que o aproveitamento da energia solar é superior ao de plantas terrestres, as quais desempenham sua máxima capacidade fotossintética apenas por um curto período do cultivo. Além desta, outras vantagens das microalgas frente a plantas superiores são observadas, como a possibilidade de isolamento e cepas com alta eficiência fotossintética e resistentes a elevadas concentrações de  $\text{CO}_2$ , a necessidade de uma área relativamente pequena para uma grande fixação (DOUCHA et al., 2005).

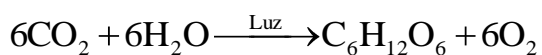
Muitos trabalhos têm sido realizados no sentido de promover a fixação de  $\text{CO}_2$  através de microalgas e enfatizando a possibilidade da redução das emissões deste gás para a atmosfera através de sistemas biológicos para a fixação de  $\text{CO}_2$ , porém, pouco se sabe sobre os mecanismos utilizados por estes microrganismos para transportar o  $\text{CO}_2$  para dentro de célula (RICHMOND, 1990).

A produção de carbono orgânico via fotossíntese representa aproximadamente a metade da biomassa formada, portanto, o suprimento da fonte de carbono deve ser muito superior ao dos demais nutrientes. Desta forma, torna-se imprescindível o estudo de métodos alternativos para suprir o sistema da fonte de carbono (GUTERMAN & BEM-YAAKOV, 1987).

Existe outro aspecto da fotossíntese que deve ser ressaltado. A existência da nossa biosfera e nossa atmosfera é totalmente dependente do processo da fotossíntese. A cada 300 anos todo o CO<sub>2</sub> da atmosfera é reciclado, assim, ocorre para o oxigênio, a cada 2000 anos, e para a água a cada 2 milhões de anos. Estes 3 ingredientes chave da nossa atmosfera possuem seu ciclo dependente do processo de fotossíntese (RICHMOND, 1990).

A luz utilizada na fotossíntese é absorvida por uma série de pigmentos. Cada pigmento absorve determinados comprimentos de onda, refletindo os que não absorve. A cor do pigmento é dada pelo comprimento de onda refletido, podendo-se determinar o espectro de absorção de cada pigmento através de um espectrofotômetro. Os tipos de pigmentos utilizados na fotossíntese variam de acordo com os diferentes grupos de organismos fotossintetizantes. Nos vegetais superiores, os pigmentos mais importantes são a clorofila *a* e a clorofila *b*, pigmentos que absorvem a luz no violeta, no azul e no vermelho, refletindo no verde. Em certos organismos aquáticos, como as microalgas, outros pigmentos como a ficocianina também absorvem a luz eficientemente, auxiliando a absorção da energia luminosa no processo de fotossíntese (VONSHAK, 1997).

A equação tradicional da fotossíntese é:



A fotossíntese, no entanto, não ocorre em apenas uma reação química. Existem várias reações que podem ser divididas em duas etapas: a primeira, fotoquímica, em que há necessidade de energia luminosa, e a segunda química, na qual não há necessidade de luz. As reações que ocorrem na etapa fotoquímica são chamadas de fase clara da fotossíntese, e as que ocorrem na etapa química são chamadas de fase escura da fotossíntese (VONSHAK, 1997)

O processo da fotossíntese envolve duas das mais importantes reações na vida. A primeira é a reação de rompimento da molécula de água, que envolve oxigênio como co-produto. Toda a vida depende desta reação. A segunda é a fixação de CO<sub>2</sub> em compostos orgânicos. Quando um processo envolvendo energia é analisado, é necessário que se compreenda o quão eficiente ele será, tanto em relação à eficiência do ciclo completo quanto na eficiência relacionada à fotossíntese, especificamente no que diz respeito à conversão da radiação solar em um produto final armazenado (RICHMOND, 1990).

Em um sistema de equilíbrio químico, onde o  $\text{CO}_2$  encontra-se dissolvido em meio aquoso, existem três diferentes espécies químicas possivelmente encontradas em solução,  $\text{CO}_{2(\text{aq})}$ ,  $\text{HCO}_3^-$  e  $\text{CO}_3^{-2}$ , sendo que a capacidade de utilizar essas fontes de carbono é intrínseca de cada microalga. De acordo com Richmond (1990), microalgas, quando crescendo quimio ou fotoautotroficamente, usam  $\text{CO}_2$  ou uma de suas formas hidratadas para a síntese de compostos orgânicos. Na água,  $\text{CO}_2$  pode aparecer como  $\text{H}_2\text{CO}_3$ ,  $\text{HCO}_3^-$  ou  $\text{CO}_3^{-2}$ , dependendo do pH

Na maioria das águas encontradas em ambientes naturais o principal sistema tampão é o  $\text{CO}_{2(\text{aq})}/\text{H}_2\text{CO}_3/\text{HCO}_3^-/\text{CO}_3^{-2}$ , o qual é também um usual sistema tampão para cultivos microalgais mantidos a pH alcalinos (GUTERMAN & BEM-YAAKOV, 1987).

A concentração total de carbono inorgânico dissolvido é dada por:

$$C_T = \text{CO}_{2(\text{aq})} + \text{H}_2\text{CO}_3 + \text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{-2}$$

Onde  $C_T$  = concentração total de carbono inorgânico dissolvido.

As concentrações relativas das espécies de carbono inorgânico determinam o pH e, em contrapartida, são determinadas pelo pH do meio. No equilíbrio, a concentração de  $\text{CO}_{2(\text{aq})}$  é muito maior do que a concentração de  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , e a concentração de  $\text{CO}_{2(\text{aq})}$  pode ser considerada como a representação da soma das formas hidratadas e não hidratadas de  $\text{CO}_2$ . Assim, a relação

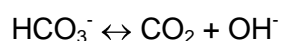
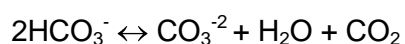
$$C_T = \text{H}_2\text{CO}_3^* + \text{HCO}_3^- + \text{CO}_3^{-2}$$

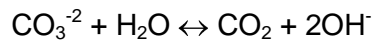
onde

$$\text{H}_2\text{CO}_3^* = \text{CO}_{2(\text{aq})} + \text{H}_2\text{CO}_3$$

é considerada válida.

O sistema de equilíbrio  $\text{CO}_2/\text{H}_2\text{O}$  pode fornecer  $\text{CO}_2$  através das interconversões a seguir:





Tanto na conversão de bicarbonato quanto de carbonato a  $\text{CO}_2$ , ocorre produção de  $\text{OH}^-$ , aumentando o pH do meio. Por este motivo, em um cultivo intensivo de microalgas, não é possível atingir-se um consumo total do substrato presente no meio sem uma correção do pH, visto que o mesmo atingiria valores próximos a 14, inibindo o crescimento das microalgas (RICHMOND, 1990).

O consumo de carbono inorgânico através da fotossíntese resulta em uma alteração das condições de equilíbrio, elevando o pH. Esta alteração no pH causa uma redistribuição das diversas espécies químicas de carbono inorgânico dissolvido, os quais podem provocar um efeito adverso no processo de crescimento (GUTERMAN & BEM-YAAKOV, 1987).

A forma de carbono que aparentemente entra na célula é o  $\text{CO}_2$ , e muitos estudos (MARCUS et al., 1984; MORONEY et al., 1985; AIZAWA & MIYACHI, 1986) apontam para o  $\text{CO}_2$  como a única molécula que pode ser usada diretamente na condensação do  $\text{CO}_2$  e ribulose bifosfato para produzir duas moléculas de ácido fosfoglicérico na reação catalisada pela ribulose bifosfato carboxilase (RUBPcase). Não existe ainda um consenso sobre a utilização de  $\text{HCO}_3^-$ , que poderia entrar na célula por transporte ativo ou poderia ser dissociado por uma anidrase carbônica situada na superfície da célula, a qual catalisa a dissociação do  $\text{HCO}_3^-$  a  $\text{CO}_2$  e  $\text{H}_2\text{O}$  (MILLER & COLMAN, 1980).

Grande parte dos estudos direcionados para a disponibilidade e consumo de carbono inorgânico em processos fotossintéticos estão baseados nas propriedades físico-químicas do  $\text{CO}_2$ , tais como difusividade e solubilidade. No entanto, sabe-se que apenas uma pequena porção do carbono inorgânico dissolvido (DIC) no meio de cultivo encontra-se na forma de  $\text{CO}_2$ , sendo que grande parte do DIC encontra-se sob a forma de bicarbonato ( $\text{HCO}_3^-$ ) (MILLER & COLMAN, 1980).

O transporte de  $\text{HCO}_3^-$  através da membrana celular tem sido reportado em diversos estudos (COLMAN et al, 2002; MILLER & COLMAN, 1980) os quais evidenciam o consumo de carbono sob a forma de  $\text{HCO}_3^-$ . O acúmulo de carbono através de um fenômeno conhecido como mecanismo de concentração de carbono (carbon concentration mechanism – CCM) é o principal foco dos estudos desta ordem. Diversos autores apontaram para concentrações de carbono extracelular muitas vezes inferior à concentração de carbono intracelular, evidenciando o consumo de  $\text{HCO}_3^-$ ,



principalmente através da comprovação do consumo de carbono inorgânico em taxas muitas vezes superiores às taxas de formação de  $\text{CO}_2$  a partir da dissociação de  $\text{CO}_2$  proveniente da desidratação do  $\text{HCO}_3^-$ .

Algumas microalgas têm desenvolvido um mecanismo que eleva ativamente a concentração de carbono inorgânico intracelular, o que favorece a reação da carboxilase frente a relação da oxigenase. Este mecanismo de concentração de carbono requer a ação da enzima Anidrase Carbônica (CA) e bombas metabólicas, ou transportadores, os quais presumivelmente usam ATP para o transporte ativo de  $\text{HCO}_3^-$  e/ou  $\text{CO}_2$  para dentro da célula. É geralmente aceito que o CCM requer o *input* adicional de energia comparado aquele requerido para a função do Ciclo de Calvin. Parece claramente que a fotossíntese provê a energia adicional para o CCM, toda via, o mecanismo de obtenção de energia não está ainda bem compreendido (COLMAN et al., 2002).

Existem algumas evidências de que cianobactérias possuem a habilidade de utilizar  $\text{HCO}_3^-$  como substrato inorgânico, visto que este tipo de microalga apresenta, geralmente, eficiência fotossintética ótima em pH alcalino. Isto pode ser observado nos estudos realizados por Miller e Colman (1980), que avaliaram a cianobactéria *Coccochloris peniocyctis* em função da sua capacidade de utilizar  $\text{HCO}_3^-$  como fonte de carbono, e concluíram que a fixação de carbono ocorria fundamentalmente através da utilização de  $\text{HCO}_3^-$  exógeno.

O tamponamento do sistema de carbonatação, com respeito aos sistemas de injeção de  $\text{CO}_2$ , depende da faixa de variação do pH. A capacidade de tamponamento encontra-se a um valor mínimo em torno de pH de 8,3 onde o bicarbonato é a espécie dominante. Ele aumenta em ambos acima e a baixo desta região, porém, a uma taxa mais elevada na região ácida. Assim, algas as quais podem crescer em pH de 6 à 7,5 requerem menos alcalinidade para a mesma estocagem de carbono. Além disso, a fração do carbono total inorgânico na forma de carbonato decresce aproximadamente a um fator de 10 para cada decréscimo de uma unidade de pH (entre pH de 10 à 7). Por outro lado, a fração de  $\text{CO}_2$  decresce 10 vezes com cada incremento no pH nesta faixa, tendendo a minimizar os problemas de perda de  $\text{CO}_2$  para a atmosfera em pH elevado (BENEMANN et al., 1978).

Além da alcalinidade, o parâmetro de maior importância com relação a estocagem de carbono é a profundidade do tanque. A produtividade da biomassa, e conseqüentemente de  $\text{CO}_2$ , são na maioria dos casos independentes da profundidade.

A relação da estocagem de carbono com a profundidade do tanque é inversa, com uma constante de proporcionalidade unitária, para uma boa aproximação. Assim, quanto menor a profundidade maior o número de inputs de CO<sub>2</sub> ou quatro vezes maior deverá ser a alcalinidade, mas isso aumentaria os níveis de CO<sub>2</sub> dissolvido aproximadamente quatro vezes com o aumento similar na força motriz provocando transferência do CO<sub>2</sub> do meio para a atmosfera. (BENEMANN et al., 1978).

Certas espécies químicas dissolvidas nas águas não são diretamente quantificáveis por análises químicas. Isto depende em grande parte da cinética das reações. Quando se trata de reações ácido-base e de formação de complexos, caracterizados por cinéticas rápidas, a simples adição de reagentes de análise é suficiente para modificar os equilíbrios. O simples ajuste do pH, modifica as razões das concentrações das espécies químicas dissolvidas. Normalmente o que é determinado analiticamente é a soma das concentrações destas espécies. Esta soma é chamada de concentração elementar. No entanto, as reações químicas que ocorrem, tanto nas águas quanto nos organismos, são controladas pelas concentrações das espécies químicas efetivamente presentes no meio e não pelas concentrações elementares (CARMOUZE, 1994).

Em um biosistema ocorrem continuamente produção de matéria orgânica através dos processos de fotossíntese e de biossíntese e mineralização de matéria orgânica através dos processos de respiração e fermentação. A evolução deste conjunto de processos define o metabolismo do sistema (CARMOUZE, 1994).

Em uma escala de 24 h, durante o período claro, os processos de produção superam, em geral, os de mineralização, enquanto que durante o período escuro, na ausência de fotossíntese, ocorre o inverso. Isto quer dizer que de dia, a produção de matéria orgânica é maior que seu consumo, enquanto a noite consome mais do que produz. Conseqüentemente, em uma escala diária, definem-se taxas de produção líquida no período claro e de mineralização líquida durante a fase escura. (CARMOUZE, 1994).

O conceito por trás dos sistemas projetados com base na fotossíntese é simples. Mesmo que o CO<sub>2</sub> seja uma molécula razoavelmente estável, é a base para a formação de açúcares complexos (alimento) por plantas verdes com a fotossíntese. O índice relativamente elevado do CO<sub>2</sub> no gás de combustão de usinas termelétricas (aproximadamente 14% comparado aos 350 ppm no ar ambiental) potencializa significativamente as taxas de crescimento de determinadas espécies de microalgas.

Conseqüentemente, esta aplicação é ideal para um sistema projetado para usar cepas especialmente selecionadas de microalgas a fim de maximizar a conversão do CO<sub>2</sub> em biomassa algal e evitar assim a emissão de gases de efeito estufa para a atmosfera. Neste caso, a biomassa das microalgas representa um dissipador natural para o seqüestro de carbono (REDDY, 2002).

Uma das vantagens das culturas de microalgas é que têm o potencial para atingir produtividades muito elevadas. Entretanto, tais projeções são baseadas, freqüentemente, em experimentos seletivos de dados limitados, com curta duração e operações em pequena escala, geralmente em laboratório. Entretanto, as culturas de microalgas apresentam algumas características que apontam para uma potencialização de produtividades mais elevadas. A produção contínua evita os períodos de adaptação dos processos convencionais; a possibilidade de fornecer os níveis nutrientes ótimos (por exemplo, C, N, P, etc.); ausência de estruturas de suporte (raízes, hastes, frutas, etc.) e a possibilidade de ajustar taxas de colheita para manter o cultivo em níveis ótimos de densidade (BENEMANN, 1997).

Processos de exploração de células fotossintéticas para a produção de metabólitos ou conversão de CO<sub>2</sub> em biomassa requerem fotobiorreatores eficientes. O fator crítico no “design” de fotobiorreatores é a superfície de exposição à luz por unidade de volume (razão A/V) (OGBONNA & TANAKA, 1996). A seleção do fotobiorreator depende da sua habilidade de maximizar a produtividade e a eficiência fotossintética (TREDICI & ZITELLI, 1998). Cada tipo de fotobiorreator possui vantagens e desvantagens em termos de potencial utilização da energia solar, transferência de massa efetiva de oxigênio e dióxido de carbono, fácil limpeza e aumento de escala.

Pulz & Gross (2004) relacionaram o produto obtido no cultivo e sua aplicação com o tipo de biorreator utilizado no processo. Os autores apontaram a utilização de tanques tipo “Raceway” (Open Ponds) para a maioria dos casos (produção de biocorantes, biomassa alimentícia, ácidos graxos, etc), com exceção dos fármacos que exigem pureza elevada que foram relacionados com fotobiorreatores tubulares. Deve-se levar em consideração que o custo de processo neste caso não é uma barreira para a utilização de uma tecnologia, visto que o preço do produto final é muito elevado devido a sua alta pureza e qualidade.

Culturas de *Spirulina* (*Arthrospira*), *Chlorella* e *Dunaliella* têm sido realizadas em tanques abertos tipo “raceway” a mais de 30 anos, apresentando baixo custo

operacional. Os principais países produtores de biomassa algal são USA, China, Tailândia, Japão, Israel, República Tcheca, Índia, Vietnam, Indonésia e Chile (BOROWITZKA, 1999).

### 4.3 Biofixação de CO<sub>2</sub> por Microalgas

De acordo com Benemann (1997) a redução da concentração de CO<sub>2</sub> na atmosfera pode ser atingida, basicamente, através da redução do uso de combustíveis fósseis, da sua remoção da atmosfera ou através da captura e seqüestro, ou utilização do CO<sub>2</sub> antes da sua entrada na atmosfera.

A primeira pode ser realizada, por exemplo, através do aumento da eficiência da geração de energia, diminuindo a demanda ou substituindo combustíveis fósseis pelas fontes de energia não geradoras de CO<sub>2</sub> (nuclear, biocombustíveis ou outras formas de energias renováveis). A segunda opção, remover o CO<sub>2</sub> da atmosfera, é somente realizada pelas plantas superiores, por exemplo, árvores acumulando o carbono presente na biosfera, principalmente em florestas e em solos. Estas opções “indiretas” de biofixação são o foco da maioria dos projetos em desenvolvimento tecnológico atual em atividades de redução das concentrações de CO<sub>2</sub>. Entretanto, é provável, ou mesmo certo, que estes não serão bastante para estabilizar suficientemente níveis atmosféricos do CO<sub>2</sub> para evitar o aumento do efeito estufa (BENEMANN & HUGHES, 1997).

Assim, a terceira opção, o seqüestro ou captura do CO<sub>2</sub> das plantas de geração térmica de energia elétrica e dos outros sistemas de combustão de combustíveis fósseis, o foco do tratado de Quioto, necessitarão também ser considerados em breve. Entretanto, a maioria das tecnologias “diretas” de fixação de CO<sub>2</sub> são caras, comparadas às opções indiretas. Uma destas tecnologias é o uso dos biossistemas de fixação de CO<sub>2</sub> proveniente de usinas termelétricas e a utilização da biomassa gerada na obtenção de energia renovável (biocombustíveis) (BENEMANN, 1997).

De todos os organismos fotossintéticos, as microalgas são os maiores usuários de CO<sub>2</sub> e podem fixar grandes quantidades deste composto. Comparado às árvores, que tem capacidade de fixação de CO<sub>2</sub> estimada em cerca de 1 t.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, podendo chegar a 3,5 t.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> em florestas tropicais (OTSUKI, 2001), o uso da microalga *Spirulina* é vantajoso, pois esta pode fixar 6,3 t.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>, alcançando 16,2 t.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup> em regiões tropicais, que constituem a maior parte do Brasil (HENRIKSON, 1994).

As microalgas, ao utilizarem o CO<sub>2</sub>, se multiplicam e produzem uma série de componentes, o carbono orgânico gerado fornece o esqueleto carbônico para a biossíntese de compostos mais complexos como as proteínas e lipídios, além de ser fonte de energia metabólica, que move todos os processos bioquímicos (LEHNINGER et al., 1995). Os ácidos graxos e proteínas produzidos podem ser extraídos, beneficiando o aproveitamento da biomassa.

Otsuki (2001) projetou um sistema de biofixação de CO<sub>2</sub> através de cultivos intensivos de microalgas em fotobiorreatores de placas, determinando um balanço positivo para a fixação de CO<sub>2</sub> e para o consumo energético do sistema e a produção de energia a partir da síntese bioquímica.

Doucha (2005) utilizou o gás de combustão de usinas termelétricas para o cultivo da microalga *Chlorella* em sistemas abertos. Este autor relatou que, do total do CO<sub>2</sub> injetado nos cultivos 51% não foi absorvido pelo sistema e outros 10,3% foram perdidos secundariamente durante o tempo de cultivo, sendo então perdidos para a atmosfera. Sendo assim, apenas 38,7% do total injetado no cultivo foi disponibilizado para o consumo microalgal. Embora a eficiência de absorção do sistema não tenha sido alta o objetivo de reduzir as emissões de CO<sub>2</sub> na geração térmica de energia foi alcançado. Quando comparados, cultivos com gases de combustão e CO<sub>2</sub> comercial, as produtividades foram equivalentes. A presença de NO<sub>x</sub> não inibiu o crescimento, indicando que esta substância pode ser utilizada como nutriente no meio decultivo.

Yun et al. (1997) utilizaram águas residuárias no cultivo de *Chlorella vulgaris* para a biofixação de CO<sub>2</sub> proveniente de usinas de geração térmica de energia. Os cultivos atingiram taxas de fixação de CO<sub>2</sub> de 26 g CO<sub>2</sub>.m<sup>-3</sup>.h<sup>-1</sup>, além da fixação do CO<sub>2</sub> proveniente do gás de combustão a cultura microalgal promoveu uma remoção da amônia presente no meio (água residuária) em uma taxa de 0,92 g NH<sub>3</sub> m<sup>-3</sup>.h<sup>-1</sup>, desta forma, o emprego de águas residuárias nos cultivos reduziria os custos do processo e as emissões com efluentes de processos industriais.

As propostas iniciais deste conceito das microalgas para a o consumo do CO<sub>2</sub> e da conversão da biomassa em biocombustíveis datam de cinquenta anos e foi desenvolvida experimental e conceitualmente por Golueke e Oswald (1959). A idéia inicial era de grandes lagoas de crescimento localizadas próximas a usinas termelétricas, com a biomassa convertida a metano pela digestão anaeróbia. Águas residuárias (que contêm N, P e outros nutrientes) seriam utilizadas para reciclar a

água das lagoas de cultivo intensivo de microalgas, juntamente com o CO<sub>2</sub> do processo de geração de energia.

O dióxido de carbono requerido para a produção de biomassa algal pode ser provido por uma variedade de fontes incluindo resíduos orgânicos, digestores ou gases de combustão provenientes de qualquer combustível de origem fóssil ou não, ou qualquer outro tipo de dióxido de carbono gerado a partir de processo industrial (BENEMANN et al., 1978).

Em todos os casos, o dióxido de carbono deve estar disponível na forma de rejeito ou co-produto ou a muito baixo custo. Qualquer gás de combustão deve conter aproximadamente 10% de dióxido de carbono, com significantes quantidades de NO<sub>x</sub> e SO<sub>x</sub>, e outros poluentes. O efeito de tais poluentes sobre o crescimento algal é ainda incerto, no entanto, o procedimento de carbonatação pode ser benéfico, eliminando alguns destes poluentes do gás. Para uma planta de produção muito grande a fonte de carbono deve estar localizada próxima aos tanques de cultivo, preferencialmente centralizada, a fim de gerar o menor custo de tubulações de distribuição (BENEMANN et al., 1978).

Em sistemas de produção de biomassa algal o requerimento de carbono é usualmente suprido através de CO<sub>2</sub>, contínua ou intermitentemente (GRIMA et al. 1999) seguido de um inicial suprimento de bicarbonato de sódio 0,2 M no comumente utilizado meio Zarrouk (VONSHAK & RICHMOND, 1988). A eficiência máxima de conversão de CO<sub>2</sub> em biomassa obtida em reatores comerciais de *Spirulina* é de, aproximadamente, 80%. Esta alta eficiência pode ser obtida em unidades relativamente pequenas de operação (0,1 – 0,2 ha), nos quais um monitoramento e controle exato do sistema pode ser realizado. Na maioria das plantas de produção, onde um sistema de carbonatação é utilizado para grandes tanques (0,3 – 0,5 ha), menores eficiências são obtidas. Quando *Spirulina* cresce em níveis de pH maiores que 9,6, parte do requerimento de carbono é suprido pelo CO<sub>2</sub> atmosférico (VONSHACK & RICHMOND, 1988).

Transferir carbono até as algas é o maior problema no projeto de sistemas de cultivos de biomassa. Diferentemente das fermentações típicas, as quais possuem uma produtividade média de 15 g.L<sup>-1</sup>.h<sup>-1</sup>, o cultivo de microalgas possui 500-1000 vezes menores taxas de produtividade (BENEMANN et al., 1978).

A transferência de  $\text{CO}_2$  para o meio de cultivo é um fator que vem ganhando atenção em estudos na área da química e da engenharia bioquímica. Teorias e correlações experimentais estão bem desenvolvidas. No entanto, elas fornecem apenas estimativas aproximadas e/ou relativas de taxas de transferência. Na análise final, estas taxas devem ser empiricamente determinadas a partir de protótipos e pilotos. Isto é especialmente verdade para a carbonatação de tanques abertos (open ponds), onde ocorrências de superfícies irregulares são freqüentes devido à turbulência, vento e bolhas. Estes distúrbios podem provocar um efeito significativo na transferência de gás em tanques (BENEMANN et al., 1978).

Durante a produção de biomassa microalgal em um sistema gás-líquido, se o modo de operação com respeito ao meio de cultura é ignorado, as cinéticas de suprimento de  $\text{CO}_2$  (na zona de aeração) podem ser consideradas como em um reator bem agitado de vazão contínua. Em tais sistemas, uma fase descontínua de bolhas de gás move-se através da fase contínua líquida. Culturas algais aeradas podem ser então, consideradas como coluna de bolhas (*bubble columns*). A aeração/agitação das colunas de borbulhamento pode ser descrita de dois pontos de vista: a transferência de um gás dissolvido a partir de bolhas de gás até o meio de cultura e a utilização biológica do gás pelos microrganismos. Uma série de processos físicos e fisiológicos está inserida na demanda de gás pelos microrganismos, onde a transferência a partir das bolhas de gás é um processo puramente químico ou físico, dependendo da situação. De acordo com as teorias da penetração e da camada limite, estas resistências a transferência estão localizadas nas finas camadas adjacentes às interfaces entre as duas fases (TALBOT et al., 1990).

A explicação mais simples para o mecanismo de transferência de gás é dado pela teoria do duplo-filme. De acordo com esta teoria, existem dois filmes, um líquido e um gasoso, na interface gás-líquido a qual promove maior parte da resistência à passagem das moléculas de gás do seio da fase gasosa ao da fase líquida. Para gases de alta solubilidade na fase líquida, por exemplo, absorção de  $\text{SO}_2$  em água, a principal resistência a absorção é aquela oferecida pelo filme gasoso. Para gases de baixa solubilidade na fase líquida, por exemplo, absorção de oxigênio e  $\text{CO}_2$  em soluções aquosas, o qual é o caso em estudo neste trabalho, a resistência é limitada pelo filme líquido. Para gases de solubilidade intermediária, ambos os filmes podem oferecer resistência significativa (RAMALHO, 1983).

Para gases com baixa solubilidade, tal como  $\text{O}_2$  e  $\text{CO}_2$ , a constante de Henry (H) é grande, assim, a transferência é basicamente controlada pela resistência do lado

líquido. Assim, o coeficiente global volumétrico de transferência de massa ( $k_La$ ), pode ser considerado igual ao coeficiente volumétrico de transferência de massa da fase líquida (TALBOT et al., 1990).

Idealmente, as taxas de transferência de  $CO_2$ , assim como na transferência de  $O_2$ , devem ser medidas em reatores biológicos, os quais incluem a concentração de nutrientes e a população celular de interesse. No entanto, os cuidados com o inóculo, contaminações e as interferências destes fatores sobre o valor do  $k_La$  tornam esta prática inconveniente. Consequentemente, uma estratégia comum é a utilização de sistemas sintéticos os quais aproximam as condições do biorreator sem as complicações de uma cultura viva. Em tais aproximações, o principal objetivo é elucidar a dependência do  $K_La$  na hidrodinâmica (BAILEY & OLLIS, 1986).

O projeto e as metodologias para a ampliação de escala de fotobiorreatores (painéis ou tubulares) continuam necessitando de atenção em pesquisa e desenvolvimento (GRIMA, 1999). Quanto ao suprimento de carbono, a minimização das perdas de  $CO_2$  é o fator que deve receber maior atenção (WEISSMAN et al., 1988).

Para reatores tipo *open-ponds* (*raceway*) alguns modelos foram desenvolvidos para prever alterações decorrentes dos fenômenos de transferência de massa em sistemas de culturas algais (LIVANSKY, 1990, 1982; LIVANSKY & BARTOS, 1986; MARKL & MATHER, 1985)

Talbot et al. (1991) concluíram que as condições físico-químicas apresentadas em meios de cultura de biomassa algal (presença de  $OH^-$ ,  $H_2O$  e  $NH_3$ ) não afetam significativamente no coeficiente de transferência de massa de  $CO_2$ , podendo suas reações ser negligenciadas. Sendo assim, determinou que o coeficiente volumétrico de transferência de massa de  $CO_2$   $k_{LaCO_2}$  pode ser calculado a partir do  $k_{LaO_2}$  através de um fator de correção envolvendo a difusividade em água de ambos os gases.

#### **4.4. *Spirulina***

*Spirulina* é uma cianobactéria da família das *Oscillatoriaceae*, contendo filamentos helicoidais multicelulares podendo variar ter de 50-300  $\mu m$  de comprimento e 10  $\mu m$  de diâmetro (VONSHAK et al., 1982). Sua biomassa apresenta alto valor nutricional e é objeto de diversos estudos científicos (VONSHAK, 1997; FOX, 1993; RICHMOND, 1990). Possui ainda o certificado GRAS (*Generally Recognized As Safe*)



concedido pelo FDA (*Food and Drug Administration*), o qual garante a sua utilização como alimento. A Tabela 4.2 apresenta a composição da biomassa de algumas espécies de microalgas.

Tabela 4.2 Composição da biomassa de algumas espécies de microalgas

Espécie	Proteínas	Carboidratos	Lipídios	Ácidos Nucléicos
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14	3-6
<i>Scenedesmus quadricauda</i>	47	-	1.9	-
<i>Scenedesmus dimorphus</i>	8-18	21-52	16-40	-
<i>Chlamydomonas reinhardii</i>	48	17	21	-
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22	4-5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	57	26	2	-
<i>Spirogyra</i> sp.	6-20	33-64	11-21	-
<i>Dunaliella bioculata</i>	49	4	8	-
<i>Dunaliella salina</i>	57	32	6	-
<i>Euglena gracilis</i>	39-61	14-18	14-20	-
<i>Prymnesium parvum</i>	28-45	25-33	22-38	1-2
<i>Tetraselmis maculata</i>	52	15	3	-
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14	-
<b><i>Spirulina platensis</i></b>	<b>46-63</b>	<b>8-14</b>	<b>4—9</b>	<b>2-5</b>
<b><i>Spirulina máxima</i></b>	<b>60-71</b>	<b>13-16</b>	<b>6-7</b>	<b>3-4,5</b>
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11	5
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7	-

Fonte: BECKER, (1994).

Dentre as vantagens de se cultivar *Spirulina* destaca-se a sua capacidade de duplicar a sua biomassa em 2 a 5 dias, além de possibilitar a obtenção da mesma quantidade de proteína que as culturas tradicionais em áreas muito menores, conforme apresentado na Tabela 4.3. Outra vantagem dos cultivos de *Spirulina* frente as culturas tradicionais é a quantidade de água utilizada. Segundo Bu'Lock e Kristiansen (1991) o cultivo de *S. platensis* utiliza somente 33% da água requerida para o cultivo do soja, para obter a mesma quantidade de proteína, ou 2% da água requerida para a obtenção da mesma quantidade de proteína bovina. A Tabela 4.3 apresenta a produtividade de algumas fontes de proteína.

Tabela 4.3 Produtividade de diferentes fontes de proteína

<b>Fonte de Proteínas</b>	<b>Produção (kg.ha<sup>-1</sup>.ano<sup>-1</sup>)</b>
Carne	60
Leite	100
Milho	805
Soja	1170
<i>Chlorella</i>	15700
<i>Spirulina (Arthrospira)</i>	24300

Fonte: HENRIKSON (1994)

Além das características apresentadas pela sua biomassa, *Spirulina* é capaz de fixar dióxido de carbono em taxas elevadas e em biorreatores de diferentes configurações. Estudos anteriores demonstraram que esta microalga possui diversas vantagens frente aos microrganismos estudados até o momento, tanto pela sua velocidade de crescimento quanto pelas condições que é capaz de suportar e que favorecem o processo de biofixação de dióxido de carbono (MORAIS & COSTA, 2007).

## 5. DESENVOLVIMENTO DO TRABALHO

### 5.1 Artigo 1: Cinética de Crescimento Microalgal: Iluminância como Fator Limitante

#### RESUMO

A fixação biológica de dióxido de carbono por microalgas é considerada a melhor forma de fixar CO<sub>2</sub>. Dentre os microrganismos utilizados destaca-se *Spirulina platensis* devido às suas altas taxas de fixação de CO<sub>2</sub> e variedade de aplicações da biomassa gerada. A aplicação de modelos e simulações pode auxiliar na previsão de custos e na escolha das condições ideais de cultivo. Este trabalho teve como objetivo estabelecer um modelo cinético no qual a iluminância é o fator limitante para o crescimento da microalga *Spirulina platensis*. A fim de validar o modelo proposto foi utilizada a microalga *S. platensis*, cultivada em meio Zarrouk modificado (NaHCO<sub>3</sub> 1,0 g.L<sup>-1</sup>), em biorreator aberto tipo raceway de 200L, mantido a 30°C, sob iluminação natural. A concentração celular variou de 0,19 a 0,34 g.L<sup>-1</sup> e a velocidade específica de crescimento celular obtida a partir da regressão exponencial das curvas de crescimento de cada período iluminado variou de 0,55 a 0,59 d<sup>-1</sup>. O modelo proposto gerou dados estimados satisfatórios (r<sup>2</sup>=0,97). De acordo com os dados obtidos 16,2% da biomassa é consumida durante o período não iluminado.

## ABSTRACT

The fixation of carbon dioxide by microalgae is considered the best way to fix CO<sub>2</sub>. Among the microorganisms used *Spirulina platensis* stands out because of its high rate of CO<sub>2</sub> fixation and variety of biomass applications. The application of models and simulations can help to predict costs and choice of ideal growing conditions. This study aimed to establish a kinetic model in which the illuminance is the limiting factor for the growth of *Spirulina platensis*. In order to validate the proposed model microalga *S. platensis* was cultivated in modified Zarrouk (NaHCO<sub>3</sub> 1.0 gL<sup>-1</sup>), in a 200L open raceway type bioreactor, maintained at 30°C under natural lighting. The cell concentration ranged from 0.19 to 0.34 gL<sup>-1</sup> and the specific cell growth rate obtained from regression of the exponential growth curves from each illuminated period ranged from 0.55 to 0.59 d<sup>-1</sup>. The proposed model has generated satisfactory estimated data ( $r^2 = 0.97$ ). According to the data obtained 16.2% of the biomass is consumed during unlighted.

## INTRODUÇÃO

Tecnologias para o cultivo microalgal têm sido estudadas durante as últimas décadas no contexto da mitigação das emissões de gases de efeito estufa. A fixação biológica de dióxido de carbono por microalgas crescendo em condições ambientais é considerada a melhor forma de fixar CO<sub>2</sub>, devido ao fato de a utilização da energia solar ser maior do que em plantas terrestres, as quais desempenham sua máxima capacidade fotossintética por um curto período (DOUCHA et al., 2005).

Dentre os microrganismos utilizados em estudos de biofixação de dióxido de carbono destacam-se as cianobactérias fotoautotróficas, como *Spirulina platensis*, as quais permitem mais rápida fixação de CO<sub>2</sub> do que organismos eucarióticos. *S. platensis* é uma cianobactéria filamentosa capaz de formar colônias em águas superficiais tropicais ou sub-tropicais contendo altos níveis de carbonatos e bicarbonatos (BINAGHI et al., 2003).

A biomassa gerada no processo de fixação de CO<sub>2</sub> possui características físico-químicas que lhe atribuem elevado potencial de aplicabilidade, podendo ser utilizada na alimentação humana ou animal (FOX, 1993), para a extração de biocompostos (MINKOVA et al., 2003) e para a obtenção de biocombustíveis (MIAO E WU, 2006). *Spirulina* é a microalga mais estudada com reconhecida habilidade para fixar carbono inorgânico (TOMASELLI, 1993). Esta microalga destaca-se por possuir o certificado GRAS (Generally Recognized As Safe) concedido pelo FDA (Food and Drug Administration), o que garante seu uso como alimento e fármaco. Sua biomassa apresenta alto conteúdo de proteínas (64 – 74%), ácidos graxos poliinsaturados, pigmentos e vitaminas (COHEN, 1997; BECKER, 1981).

Diversos modelos tem sido propostos para relacionar a cinética de crescimento microalgal com a concentração de substrato limitante e a iluminância (ZHANG et al., 1999). Dentre os modelos cinéticos utilizados destaca-se o modelo descrito por Monod (MONOD, 1949), apresentado na Equação 5.1.1.

$$\frac{dX}{dt} = X * e^{\mu} \quad \text{Equação 5.1.1}$$

$$\mu = \frac{\mu_{\text{máx}} S}{K_s + S} \quad \text{Equação 5.1.2}$$

A cinética de Monod vem sendo amplamente aplicada em processos biotecnológicos. No entanto, o efeito inibitório provocado por fatores limitantes sobre os parâmetros cinéticos foi evidenciado no estudo de Andrews (1968).

Este trabalho teve como objetivo estabelecer um modelo cinético no qual a Iluminância é o fator limitante para o crescimento da microalga *Spirulina platensis*.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Microrganismo e condições de cultivo**

Foi utilizada a microalga *Spirulina platensis*, cultivada em meio Zarrouk (ZARROUK, 1966) modificado ( $\text{NaHCO}_3$  1,0 g.L<sup>-1</sup>). Os cultivos foram realizados em biorreatores abertos tipo raceway de 200 L, mantidos a 30°C e sob iluminação natural. O inóculo foi previamente filtrado e lavado para remoção do  $\text{NaHCO}_3$  proveniente da sua propagação (realizada em meio Zarrouk padrão, 16,8 g.L<sup>-1</sup>  $\text{NaHCO}_3$ ). O  $\text{CO}_2$  foi injetado no meio a uma vazão específica de 0,05 min<sup>-1</sup> durante 1 min a cada 1 h da fase clara (definida como o período diário entre 8 e 17 h).

### **Determinação dos parâmetros cinéticos**

A concentração de biomassa foi determinada pela relação do peso seco com a densidade óptica dos cultivos a 670 nm (COLLA et. al., 2007). A velocidade específica de crescimento celular ( $\mu$ ) foi determinada a partir do coeficiente de regressão exponencial da curva de crescimento celular.

### **Obtenção do modelo**

O equacionamento proposto foi estabelecido a partir dos parâmetros cinéticos obtidos experimentalmente a cada período iluminado.

## **RESULTADOS E DISCUSSÃO**

A Figura 5.1.1 apresenta a intensidade luminosa incidente sobre os cultivos em função do tempo de cultivo e a Figura 5.1.2 apresenta a concentração celular em função do tempo de cultivo.

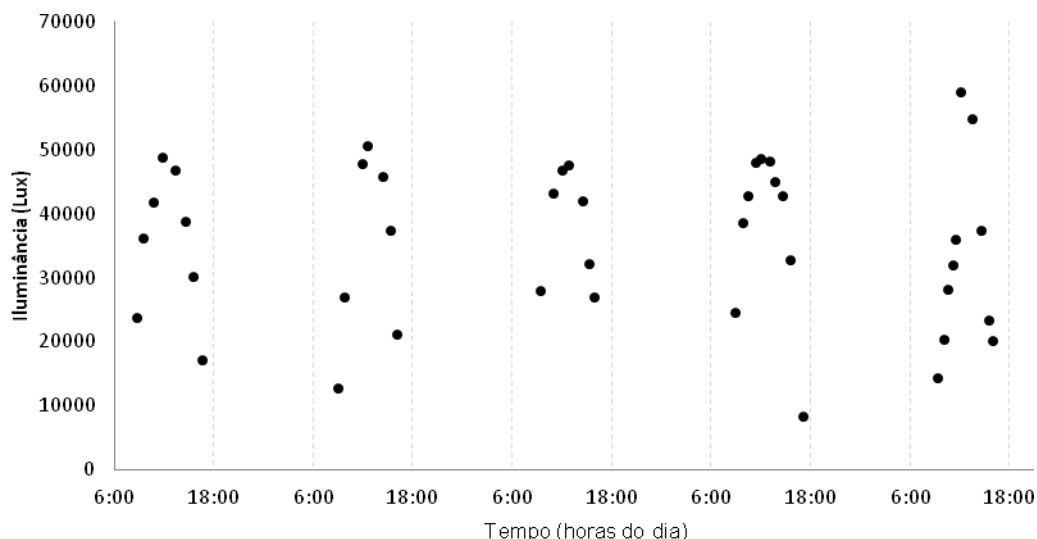


Figura 5.1.1: Iluminância em função do tempo de cultivo

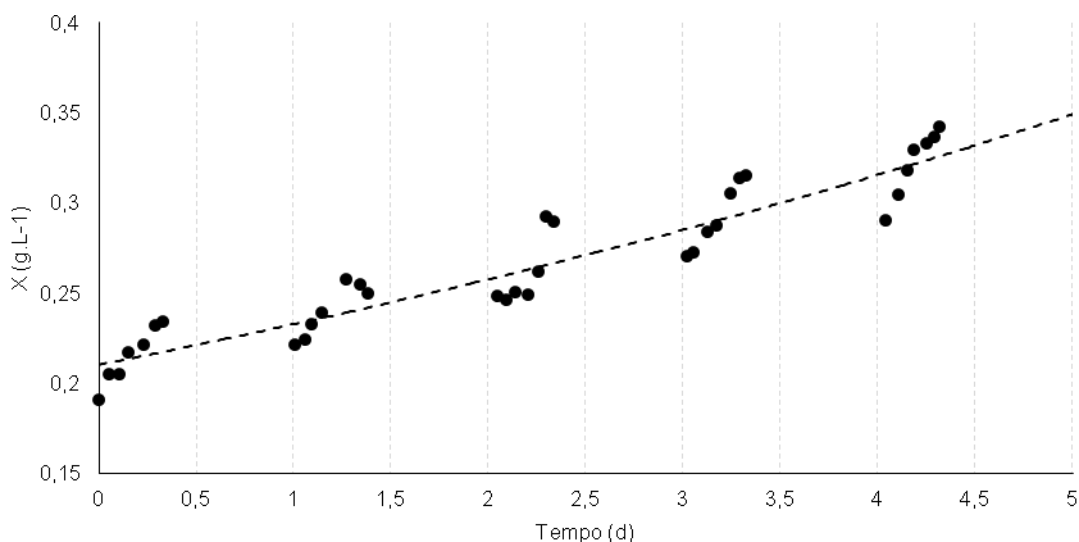


Figura 5.1.2: Crescimento celular de *S. platensis* em função do tempo de cultivo

A cinética de crescimento exponencial convencionalmente utilizada leva em consideração os períodos de crescimento e decréscimo da concentração celular. A Figura 5.1.2 apresenta o crescimento celular e a curva de ajuste exponencial dos pontos que contemplam todo o período avaliado ( $\mu=0,10 \text{ d}^{-1}$ ). Estes valores estão de acordo com os resultados obtidos em estudos anteriores por Moraes e Costa (2007) e Costa et al. (2002). No entanto, analisando o comportamento cinético dos cultivos a cada dia, observa-se que o crescimento celular ocorre em uma velocidade superior à estimada pela regressão exponencial dos pontos amostrais de todo o período do

experimento. A Figura 5.1.3 apresenta as curvas de crescimento obtidas durante períodos iluminados.

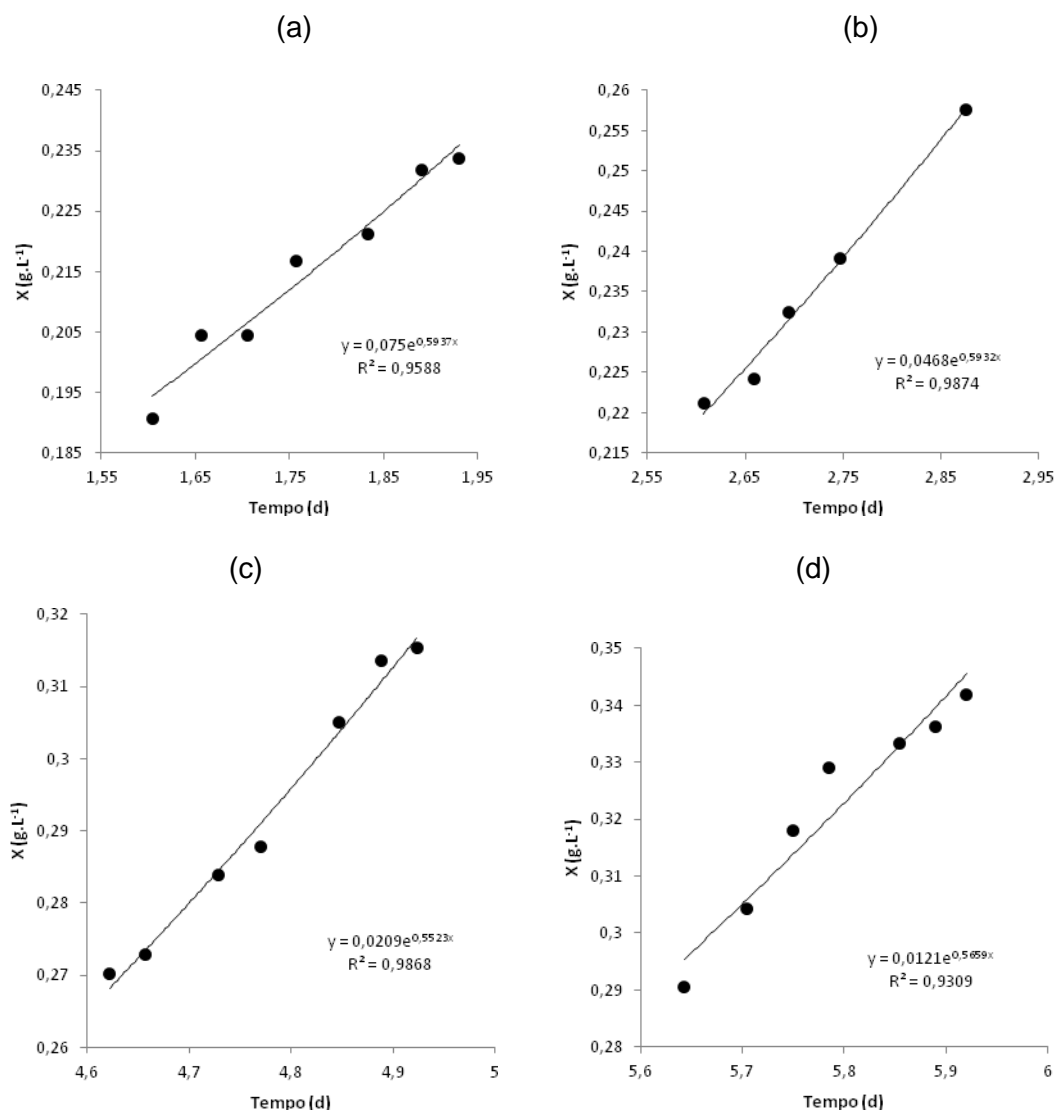


Figura 5.1.3: Crescimento celular de *S. platensis* em função do tempo de cultivo

Na Figura 5.1.3 são apresentadas quatro curvas de crescimento celular geradas em períodos iluminados distintos. As velocidades específicas de crescimento celular ( $\mu$ ) obtidas variaram de 0,55 a 0,59  $\text{d}^{-1}$  e a concentração celular variou de 0,19 a 0,34  $\text{g.L}^{-1}$ .

Chanawongse et al. (1994) estudaram a produtividade de cepas de *Spirulina platensis* sob condições naturais de iluminação. Estes autores observaram que a velocidade específica de crescimento celular aumentou desde o período da manhã,



atingindo valores máximos na ordem de  $0,037 \text{ h}^{-1}$  ( $0,88 \text{ d}^{-1}$ ), e ao final da tarde apresentou uma redução para  $0,011 \text{ h}^{-1}$  ( $0,26 \text{ d}^{-1}$ ).

Zhang et al. (1999) estudaram o efeito da iluminância sobre a velocidade específica de crescimento e a concentração de ficocianina em cultivos de *Spirulina platensis*. Estes autores verificaram que ocorreu um aumento na velocidade específica de crescimento quando a iluminância passou de 0,5 para 2 klx, se mantendo estável quando a iluminância variou de 2 para 4 klx.

Considerando que não existe limitação de nutrientes, que apenas a iluminância é fator limitante para o crescimento celular e adotando valores conhecidos de  $\mu_{\text{máx}}$  (velocidade específica máxima de crescimento celular), chega-se à Equação 5.1.3.

$$\mu = \mu_{\text{máx}} * \frac{I_t}{I_t + K_I} - \mu_D * \frac{K_I}{I_t + K_I} \quad \text{Equação 5.1.3}$$

Na Equação 2,  $K_I$  é a iluminância necessária para que se obtenha metade da velocidade específica máxima de crescimento,  $I_t$  é a iluminância e  $\mu_D$  é a velocidade específica máxima de decréscimo da concentração celular

Substituindo  $\mu$  na Equação 5.1.1 chega-se à Equação 5.1.4.

$$\frac{dX}{dt} = X * e^{\left( \mu_{\text{máx}} * \frac{I_t}{I_t + K_I} - \mu_D * \frac{K_I}{I_t + K_I} \right) * t} \quad \text{Equação 5.1.4}$$

A Figura 5.1.4 apresenta os dados gerados a partir da Equação 5.1.4 e os dados obtidos experimentalmente em função do tempo.

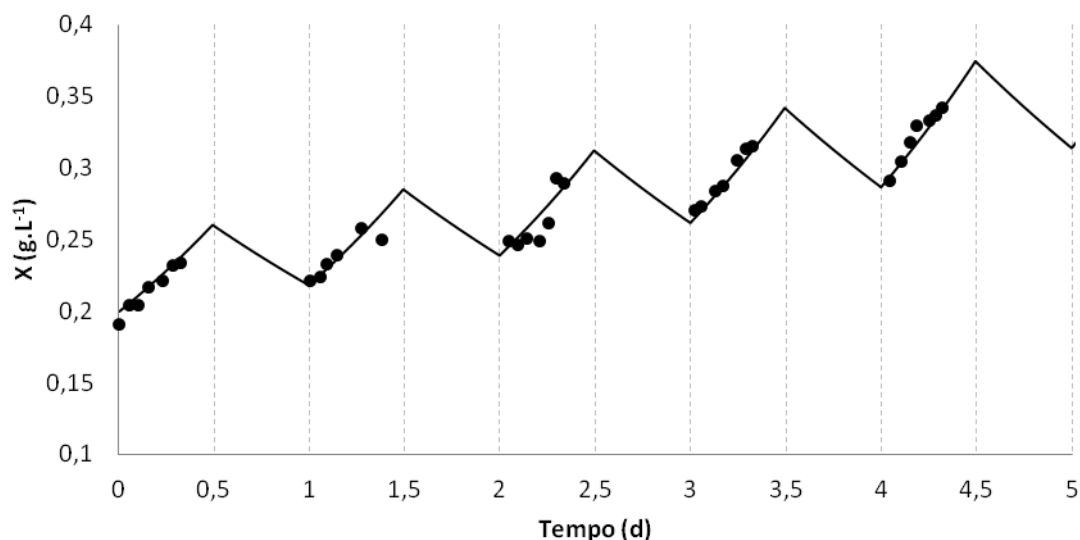


Figura 5.1.4: Crescimento celular em função do tempo (valores preditos pelo modelo, linha contínua e observados, círculos pretos)

A Figura 5.1.5 apresenta os valores preditos pelo modelo proposto em função dos valores observados experimentalmente

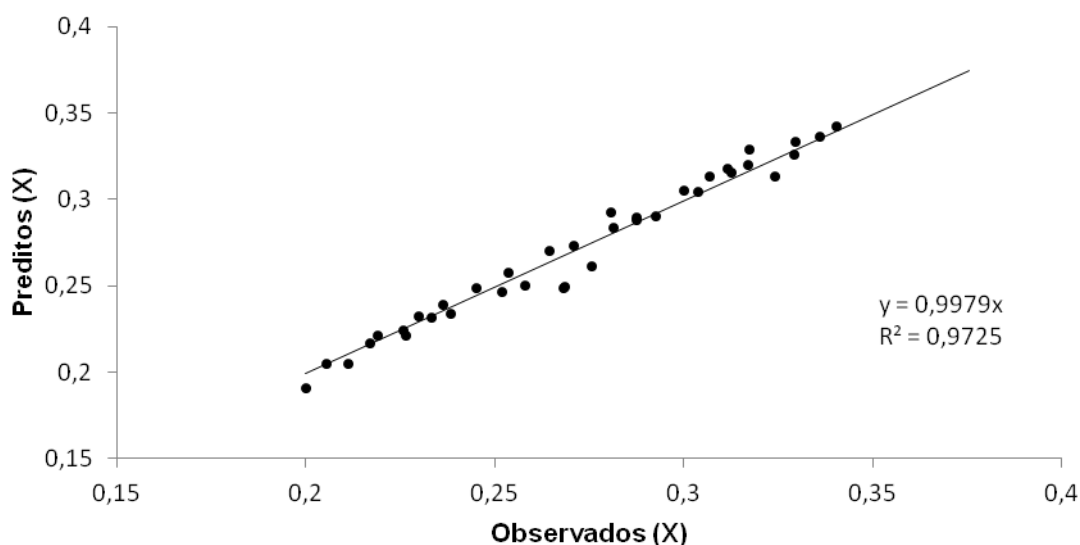


Figura 5.1.5: Valores preditos em função dos valores observados experimentalmente para a concentração celular em função do tempo

A partir da análise da Figura 5 observa-se que o equacionamento proposto gerou dados satisfatórios para sua validação ( $r^2=0,97$ ). De acordo com a simulação gerada a partir do modelo cinético proposto 16,2% da biomassa é consumida durante o período não iluminado. O consumo noturno da biomassa foi reportado por Torzillo et al. (1991).

## CONCLUSÕES

Nos cultivos não iluminados continuamente a cinética de crescimento celular pôde ser descrita como uma função da iluminância. Os parâmetros cinéticos determinados para cada período iluminado foram superiores àqueles determinados a partir de curvas que consideram períodos iluminados e não iluminados. As velocidades específicas de crescimento celular ( $\mu$ ) obtidas variaram de 0,55 a 0,59 d<sup>-1</sup>. De acordo com os dados gerados a partir do modelo proposto 16,2% da biomassa é consumida durante o período não iluminado. O modelo cinético proposto é uma ferramenta que pode ser utilizada no dimensionamento de processos de biofixação utilizando microalgas.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDREWS, J. F., **A mathematical model for continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates.** *Biotechnology and Bioengineering*, 10, 707 - &, 1968.

BECKER E. W. **Algae mass cultivation, production and utilization.** *Process Biochem.* 16, 10-14, 1981.

BINAGHI, L. ; DEL BORGHI, A.; LODI, A.; CONVERTI, A.; DEL BORGHI, M. **Batch and fed-batch uptake of carbon dioxide by *Spirulina platensis*.** *Process Biochem.* 38, 1341-1346, 2003.

CHANAWONGSE, L.; LEE, Y. K.; BUNNAG, B.; TANTICHAROEN, M. **Productivity of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in cultures using sunlight,** *Bioresearch Tchnology*, 48, 143 – 148, 1994.

COHEN Z. **The chemicals of *Spirulina*.** In: Vonshak A. ed. ***Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology.*** Taylor and Francis; London, 175-204, 1997.

COLLA, L. M., FURLONG, E. B., COSTA, J. A. **Antioxidant properties os *Spirulina (Arthrospira) platensis* cultivated in different temperatures and nitrogen regimes** *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 50, 161 – 167 (2007)

COSTA, J. A. V., COLLA, L. M., FILHO, P. D, ***Spirulina platensis* growth in open ponds using fresh water supplemented with carbon, nitrogen and metal ions**, Z. Naturforsch, 58, 76 – 80, 2002.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LIVANSKY, L. **Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor**. J. Appl. Phycol 17, 403–412, 2005.

FOX, R. D. **Health benefits of *Spirulina* and proposal for a nutrition test on children suffering from Kwashiorkor**. In: *Spirulina* Algue de Vie – Bulletin de Institut Océanographique, Monaco, 12, 1993.

MIAO, X.; WU, Q. **Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil** Bioresour. Technol. 97, 841–846, 2006.

MINKOVA, K. M.; TCHERNOV, A. A.; TCHORBADJIEVA, M. I.; FOURNADJIEVA, S. T.; ANTOVA, R. E.; BUSHEVA, M. C. H. **Purification of C-phycoyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*** J. Biotechnol. 102, 55-59, 2003.

MONOD, J. **The Growth of Bacterial Cultures** Annu. Rev. Microbiol., 3, 371 – 394, 1949.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A., **Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor** J. Biotechnol., 3: 439 – 445, 2007.

TOMASELLI, L.; GIOVANNETTI, L.; TORZILLO, G. **Physiology of stress response in *Spirulina* spp.**, Bulletin de l'Institut Océanographique, Monaco, 12, 63, 1993.

TORZILLO, G.; SACCHI, A; MATERASSI, R. **Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors**, Journal of Applied Phycology, 3, 103 – 109, 1991.

ZARROUK, C. – **Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthèse de *Spirulina maxima* geitler**. Ph.D. Thesis, Université de Paris, 1966.

## 5.2 Artigo 2: Relação entre a injeção e transferência de CO<sub>2</sub> e o pH do Meio

### RESUMO

De todos os organismos fotossintéticos, as microalgas são os maiores usuários de CO<sub>2</sub> e podem fixar grandes quantidades deste composto. Em sistemas de produção de biomassa algal o requerimento de carbono é usualmente suprido através de CO<sub>2</sub>, contínua ou intermitentemente. As concentrações relativas das espécies de carbono inorgânico determinam o pH e, em contrapartida, são determinadas pelo pH do meio. Este trabalho teve como objetivo estabelecer uma relação entre a variação da concentração de CO<sub>2</sub> e o pH do meio e validar o equacionamento proposto para a transferência de CO<sub>2</sub> durante o suprimento deste gás no meio líquido em um processo de biofixação de dióxido de carbono, em biorreator aberto tipo *raceway*, provido de sistema de injeção de dióxido de carbono. Os experimentos foram conduzidos em biorreator aberto tipo *raceway* de 200 L, no qual foi empregado um sistema de injeção de gases onde ar enriquecido com 12% no meio a uma vazão específica de 0,05 min<sup>-1</sup>. Foi estabelecido um equacionamento para determinar a variação do pH a partir da variação da concentração de CO<sub>2</sub> do meio. Os dados obtidos a partir do equacionamento proposto foram satisfatoriamente explicados pelos dados obtidos experimentalmente ( $r^2=0,90$ ).

## ABSTRACT

In all of the photosynthetic organisms, microalgae are the largest users of CO<sub>2</sub> and can fix large amounts of this compound. In systems of algal biomass production the required CO<sub>2</sub> is usually supplied using CO<sub>2</sub> continuously or intermittently. The relative concentrations of inorganic carbon species determine the pH and, in turn, are determined by the pH. This study aimed to establish a relationship between the change in CO<sub>2</sub> concentration and pH of the medium and validate the proposed equation for the transfer of CO<sub>2</sub> in the supply of this gas in the liquid medium in a biofixação carbon dioxide biofixation process in open raceway type bioreactor provided with an CO<sub>2</sub> injection system. The experiments were conducted in a 200 L open raceway type bioreactor, which a gas injection system was used where air enriched with 12% with a specific flow rate of 0.05 min<sup>-1</sup>. An equation was established to determine the change in pH from varying the concentration of CO<sub>2</sub> the medium. The data obtained from the equation proposed been satisfactorily explained by the experimentally obtained data ( $r^2=0.90$ ).

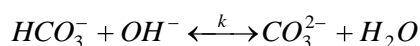
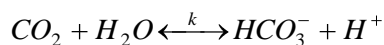
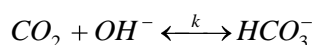
## INTRODUÇÃO

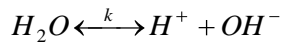
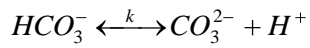
O crescimento fotoautotrófico de microalgas requer o suprimento de CO<sub>2</sub> como fonte de carbono. Ao mesmo tempo, o suprimento de CO<sub>2</sub> contribui para o controle do pH da cultura. Análises químicas da biomassa demonstram que a biomassa microalgal contém de 40 a 50% de carbono, o que sugere que aproximadamente 1,5 a 2,0 kg de dióxido de carbono são necessários para produzir 1,0 kg de biomassa (SOBCZUK et al., 2000).

A transferência de CO<sub>2</sub> para o meio de cultivo é um fator que vem ganhando atenção em estudos na área da química e da engenharia bioquímica. Teorias e correlações experimentais estão bem desenvolvidas. No entanto, elas fornecem apenas estimativas aproximadas e/ou relativas de taxas de transferência. Na análise final, estas taxas devem ser empiricamente determinadas a partir de protótipos e pilotos. Isto é especialmente verdade para a carbonatação de tanques abertos (open ponds), onde ocorrências de superfícies irregulares são freqüentes devido à turbulência, vento e bolhas. Estes distúrbios podem provocar um efeito significativo na transferência de gases em tanques (BENEMANN et al., 1978).

A explicação geralmente utilizada para o mecanismo de transferência de gás é a teoria do duplo-filme. De acordo com esta teoria, existem dois filmes, um líquido e um gasoso, na interface gás-líquido a qual promove maior parte da resistência à passagem das moléculas de gás do seio da fase gasosa ao da fase líquida. Para gases de alta solubilidade na fase líquida, por exemplo, absorção de SO<sub>2</sub> em água, a principal resistência à absorção é aquela oferecida pelo filme gasoso. Para gases de baixa solubilidade na fase líquida, por exemplo, absorção de oxigênio e CO<sub>2</sub> em soluções aquosas, a resistência é limitada pelo filme líquido. Para gases de solubilidade intermediária, ambos os filmes podem oferecer resistência significativa (RAMALHO, 1983).

As reações químicas predominantes no meio de cultivo utilizado para obtenção de biomassa microalgal são apresentadas abaixo:





A relação entre as espécies químicas de carbono inorgânico e o pH do meio pode ser expressa pelas constantes de dissociação  $K_1$  e  $K_2$ , apresentadas nas Equações 5.2.1 e 5.2.2.

$$K_1 = \frac{H^+ \cdot HCO_3^-}{H_2CO_3^*} \quad \text{Equação 5.2.1}$$

$$K_2 = \frac{H^+ \cdot CO_3^{2-}}{HCO_3^-} \quad \text{Equação 5.2.2}$$

Onde, conforme Carmouze (1994):

$$K_1 = 4,4361 \times 10^{-7}$$

$$K_2 = 4,6881 \times 10^{-11}$$

$$\alpha_0 = \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{K_1}{H^+}\right) + \frac{K_1 K_2}{H^{+2}}\right)} \quad \text{Equação 5.2.3}$$

$$\alpha_1 = \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{H^+}{K_1}\right) + \frac{K_2}{H^+}\right)} \quad \text{Equação 5.2.4}$$

$$\alpha_2 = \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{H^{+2}}{K_1 K_2}\right) + \frac{H^+}{K_2}\right)} \quad \text{Equação 5.2.5}$$

$$CO_2 = \alpha_0 * CT \quad \text{Equação 5.2.6}$$

$$HCO_3^- = \alpha_1 * CT \quad \text{Equação 5.2.7}$$

$$CO_3^{2-} = \alpha_2 * CT \quad \text{Equação 5.2.8}$$



Onde  $CT_i$  é a concentração total de carbono inorgânico no meio ( $HCO_3^-$ ,  $H_2CO_3$ ,  $CO_3^{2-}$  e  $CO_2$ )

Tanto na conversão de bicarbonato quanto de carbonato a  $CO_2$ , ocorre produção de  $OH^-$ , aumentando o pH do meio. Por este motivo, em um cultivo intensivo de microalgas, não é possível atingir-se consumo total do substrato presente no meio sem correção do pH, visto que o mesmo atingiria valores próximos a 14, inibindo o crescimento das microalgas (RICHMOND, 1990).

Este trabalho teve como objetivo estabelecer uma relação entre a variação da concentração de  $CO_2$  e o pH do meio e validar o equacionamento proposto para a transferência de  $CO_2$  durante o suprimento deste gás no meio líquido em um processo de biofixação de dióxido de carbono, em biorreator aberto tipo *raceway*, provido de sistema de injeção de dióxido de carbono.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

### **Sistema de suprimento de $CO_2$**

As determinações do coeficiente global de transferência de  $CO_2$  ( $k_{LaCO_2}$ ) foram realizadas em biorreator aberto tipo *raceway* (2,50 x 0,70 x 0,40 m), com volume útil de 200 L, no qual foi empregado um sistema de injeção de gases (Figura 5.2.1) onde ar enriquecido com 12% de  $CO_2$  foi injetado no meio a uma vazão específica de 0,05  $min^{-1}$ . Este sistema foi utilizado a fim de proporcionar a distribuição homogênea da massa de gás a ser transferida ao meio líquido, através de uma tubulação provida de difusores de material sinterizado ao longo do fotobiorreator.

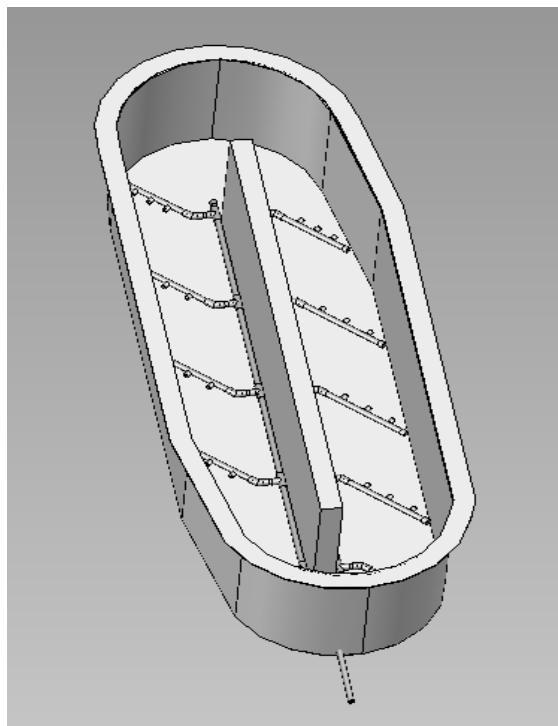


Figura 5.2.1: Sistema de suprimento de CO<sub>2</sub>

A determinação do coeficiente volumétrico de transferência de oxigênio ( $k_L a_{O_2}$ ) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Schmidell (2001). O método baseia-se na redução da concentração de oxigênio dissolvido através da adição de sulfito de sódio ( $Na_2SO_3$ ). Posteriormente é realizada a injeção de ar nas condições a serem avaliadas e acompanha-se a medida da concentração de oxigênio dissolvido

A determinação do coeficiente volumétrico de transferência de dióxido de carbono ( $k_L a_{CO_2}$ ) foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Talbot (1990). Este autor determinou a relação entre o  $k_L a_{CO_2}$  e o  $k_L a_{O_2}$  através da Equação 5.2.9.

$$k_L a_{CO_2} = k_L a_{O_2} * \sqrt{\frac{D_{O_2}}{D_{CO_2}}} \quad \text{Equação 5.2.9}$$

### Determinações analíticas

O pH foi determinado com pHmetro digital (QUIMIS Q400H, Brasil).

As medidas da concentração de oxigênio dissolvido foram conduzidas através de um medidor de oxigênio dissolvido (ORION modelo 510A, USA) a 25°C.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Isolando  $H^+$  na Equação 5.2.10:

$$K_1 = \frac{H^+ \cdot HCO_3^-}{H_2CO_3^*} \quad \text{Equação 5.2.10}$$

Onde:

$$HCO_3^- = \alpha_1 * CT \quad \text{Equação 5.2.11}$$

Na qual:

$$\alpha_1 = \frac{1}{\left(1 + \left(\frac{H^+}{K_1}\right) + \frac{K_2}{H^+}\right)} \quad \text{Equação 5.2.12}$$

Relacionando a variação do pH com a variação da concentração de  $CO_2$  no meio (através das equações das constantes de equilíbrio), considerando que a concentração de  $HCO_3^-$  não varia significativamente a cada intervalo de tempo e que  $H_2CO_3^*$  representa a soma da concentração de  $CO_2$  e  $H_2CO_3$ , sendo que a concentração de  $CO_2$  é, aproximadamente 250 vezes maior que a de  $H_2CO_3$  (Carmouze 1994), sendo assim,  $H_2CO_3^*$  foi considerado como a concentração de  $CO_2$  no meio líquido. Assim, substituindo o lado direito das Equações 5.2.11 e 5.2.12 na Equação 5.2.10 chega-se à Equação 5.2.13:

$$H_t^+ = H_0^+ + \frac{K_1 * (CO_2 - CO_2^0)}{\left(\frac{1}{\left(1 + \frac{H_0^+}{K_1}\right) + \frac{K_2}{H_0^+}}\right)} * CT_t \quad \text{Equação 5.2.13}$$

Considerando que, durante a injeção de  $CO_2$  no meio líquido o balanço de massa para este componente pode ser dado pela Equação 5.2.14, foram plotados os valores de  $CO_2$  em função do tempo (Figura 5.2.2).

$$\frac{dCO_2}{dt} = kla \cdot (CO_2^{Sat} - CO_2) \quad \text{Equação 5.2.14}$$

Onde:

$k_L a = 96 \text{ d}^{-1}$  (determinado experimentalmente)

$CO_2^{Sat}$  - Concentração de  $CO_2$  na saturação com a fase gasosa que representa partes de  $CO_2$  em partes de  $H_2O$  (Perry, 1999.)

$$CO_2^{Sat} = \left( \frac{x_{CO_2}}{1 - x_{CO_2}} \right) * \left( \frac{M_{CO_2}}{M_W} \right) \quad \text{Equação 5.2.15}$$

Onde:

$x_{CO_2}$  - Fração molar de  $CO_2$  no meio saturado

$$x_{CO_2} = \frac{p_{CO_2}}{H_{CO_2}} \quad \text{Equação 5.2.16}$$

$p_{CO_2}$  - Pressão parcial de  $CO_2$  no meio saturado (atm)

$H_{CO_2}$  - Constante de Henry para  $CO_2$  a temperatura do meio ( $\text{atm}^{-1}$ )

$M_{CO_2}$  - Massa molar do  $CO_2$  (44)

$M_W$  - Massa molar da água (18)

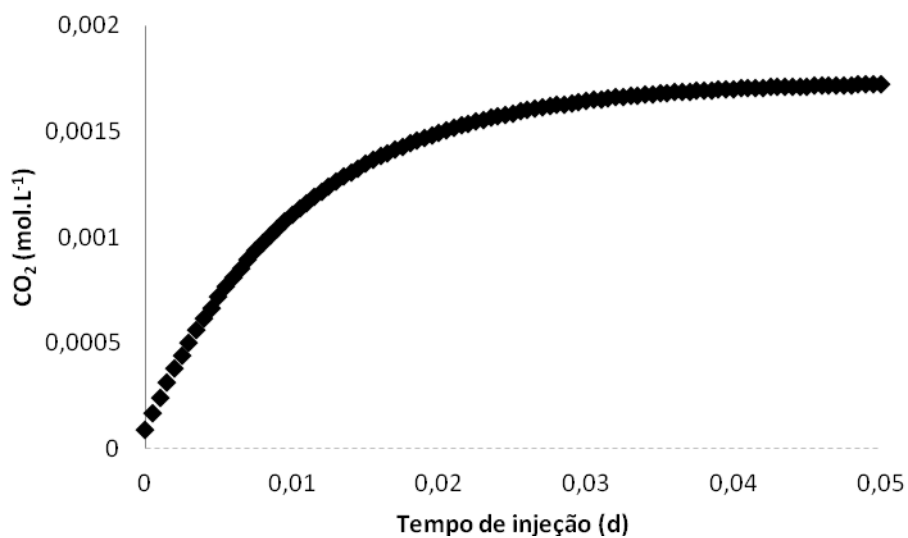


Figura 5.2.2: Concentração de  $CO_2$  no meio em função do tempo

A fim de validar o equacionamento proposto foram plotados os valores de pH em função do tempo obtidos a partir da Equação 5.2.13 e os valores obtidos experimentalmente, durante a injeção de CO<sub>2</sub> no meio. A Figura 5.2.3 apresenta os valores simulados a partir da Equação 5.2.13 e observados experimentalmente para o pH em função do tempo.

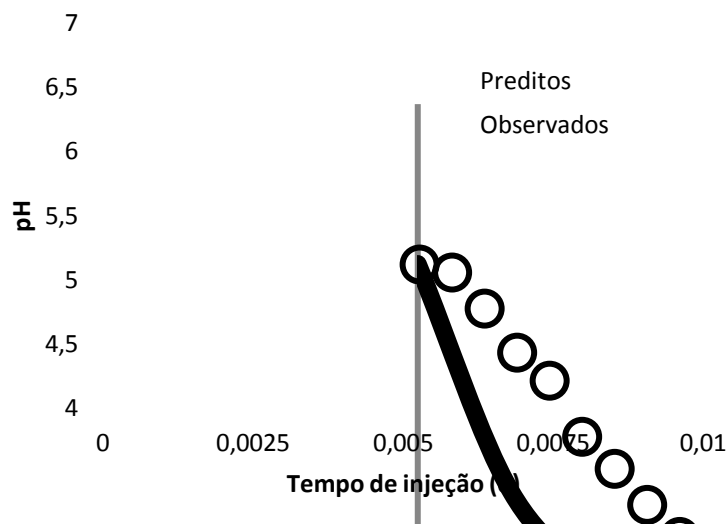


Figura 5.2.3: Valores de pH em função do tempo durante o suprimento de CO<sub>2</sub> no meio

Grima et al. (1999) estabeleceram um equacionamento para a transferência de CO<sub>2</sub> em fotobiorreatores tubulares. Estes autores confirmaram a aplicação da teoria da película líquida quando CO<sub>2</sub> é injetado em água do mar através de um sistema air-lift de suprimento de CO<sub>2</sub>.

Talbot et al. (1991) concluíram que as condições físico-químicas apresentadas em meios de cultura de biomassa algal (presença de OH<sup>-</sup>, H<sub>2</sub>O e NH<sub>3</sub>) não afetaram significativamente no coeficiente de transferência de massa de CO<sub>2</sub>, podendo suas reações ser negligenciadas. Sendo assim, determinaram que o coeficiente volumétrico de transferência de massa de CO<sub>2</sub>  $k_L a_{CO_2}$  pode ser calculado a partir do  $k_L a_{O_2}$  através de um fator de correção envolvendo a difusividade em água de ambos os gases.

Putt et al. (2011) desenvolveram uma coluna de absorção com o objetivo de absorver 90% do CO<sub>2</sub> suprido. Estes autores concluíram que os melhores resultados obtidos (82%) ocorreram em meios contendo baixa alcalinidade (pH 8-9).

A Figura 5.2.4 apresenta os valores preditos pela Equação 13 em função dos valores observados experimentalmente

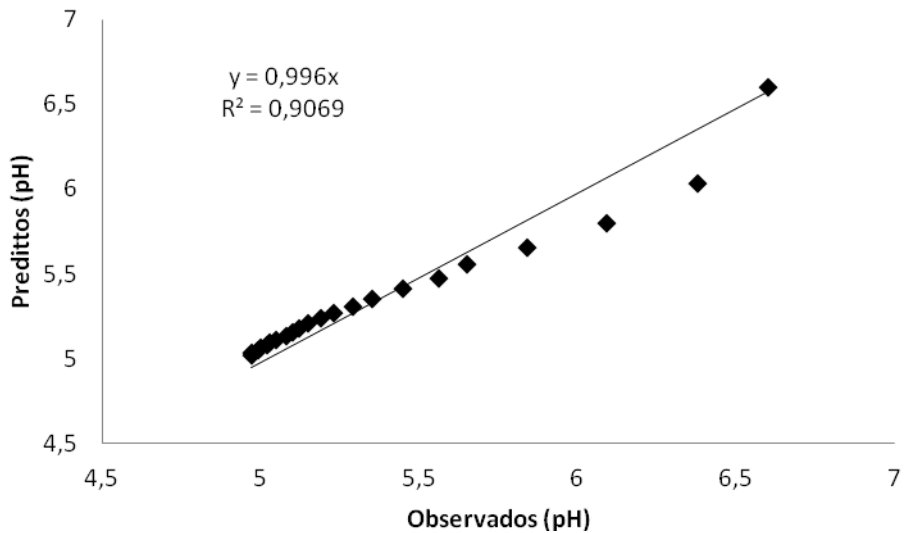


Figura 5.2.4: Valores preditos pela Equação 5.2.13 em função dos valores observados experimentalmente para o pH

A Figura 5.2.5 apresenta valores simulados para pH em função do tempo em diferentes condições iniciais de carbono inorgânico dissolvido total, pH e CO<sub>2</sub>.

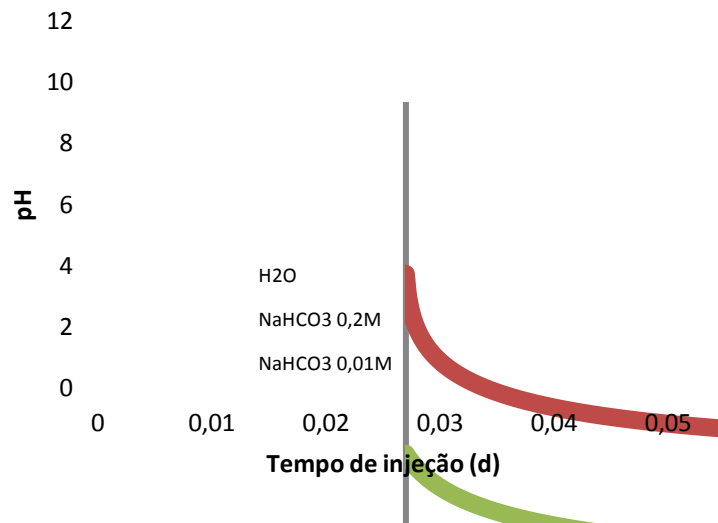


Figura 5.2.5: pH em função do tempo (valores simulados a partir da Equação 13)

Para viabilizar o crescimento microalgal em taxas satisfatórias é necessário manter o pH dentro da faixa ideal, específica para cada microrganismo. De acordo com Benemann et al., (1978) o tamponamento do sistema, com respeito aos sistemas de injeção de CO<sub>2</sub>, depende da faixa de variação do pH. A capacidade de tamponamento encontra-se a um valor mínimo em torno de pH 8,3 onde o bicarbonato é a espécie dominante. Ele aumenta em ambos acima e a baixo desta região, porém, a uma taxa mais elevada na região ácida. Assim, algas que possuem a capacidade de

crescer em meios com pH entre 6 e 7,5 requerem menos alcalinidade para a mesma estocagem de carbono. Além disso, a fração do carbono total inorgânico na forma de carbonato decresce aproximadamente a um fator de 10 para cada decréscimo de uma unidade de pH (entre pH de 10 à 7). Por outro lado, a fração de CO<sub>2</sub> decresce 10 vezes com cada incremento no pH nesta faixa, tendendo a minimizar os problemas de perda de CO<sub>2</sub> para a atmosfera em pH elevado.

## CONCLUSÕES

Os resultados obtidos comprovam que é possível determinar o comportamento do pH do meio a partir dos valores de CO<sub>2</sub>. Em processos de biofixação de CO<sub>2</sub> a relação entre a variação de CO<sub>2</sub> e a variação do pH do meio possibilita estabelecer o controle destes fatores.

A determinação do coeficiente volumétrico de transferência de massa para o sistema de injeção de gases utilizado em processos de biofixação de CO<sub>2</sub> pode ser realizada com base nos valores obtidos para o oxigênio.

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BENEMANN, J. R.; WEISSMAN, J. C.; KOOPMAN, B. L.; EISENBERG, D. M.; GOEBEL, R. P.; OSWALD, W. J.; **Large-Scale Freshwater Microalgal Biomass Production for Fuel and Fertilizer** – U.S. Department of Energy - Draft Final Report, 1978.

CARMOUZE, J. P. **O Metabolismo dos Ecossistemas Aquáticos: Fundamentos teóricos, Métodos de estudo e análises Químicas**, Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 11, 183-200, 1994.

GRIMA, E. M.; FERNANDEZ, A. F. G.; CAMACHO, G.; CHISTI, Y. **Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup** J. Biotechnol. 70, 231 – 247, 1999.

PERRY, R. H. **Chemical Engineers Handbook**. 7ª ed. McGraw-Hill, New York, 2350 p., 1999.

PUTT, R.; SINGH, M.; CHINNASAMY, S.; DAS, K. C. **An efficient system for carbonation of high-rate algae pond water to enhance CO<sub>2</sub> mass transfer**, *Bioresource Technology*, 102, 3240 – 3245, 2011.

RAMALHO, R. S. **Introduction to Wastewater Treatment Processes** 2<sup>a</sup> Edição, Academic Press, New York, 580 p., 1983.

RICHMOND A. **Handbook of algal mass culture**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 566 p., 1990.

SCHMIDELL, W.; LIMA, A. U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial** vol.2. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, p.96, 2001.

SOBCZUK, T. M.; CAMACHO, F.G.; RUBIO, F.C; **Carbon dioxide uptake efficiency by outdoor microalgal cultures in tubular airlift photobioreactors**, *Biotechnology and Bioengineering*, 67, 465 – 475, 2000.

TALBOT, P; LENCKI, R. W.; DE LA NOUE, J. **Carbon dioxide absorption characterization of a bioreactor for biomass production of *Phormidium bohneri*: comparative study of three types of diffuser**. *J. Appl. Phycol* 2, 341-350, 1990.

TALBOT, P; GORTARES, M. P.; LENCKI, R. W.; DE LA NOUE, J. **Absorption of CO<sub>2</sub> in Algal Mass Culture Systems: A Different Characterization Approach**. *Biotechnol. Bioeng.*, 37, 834-842, 1991.



### 5.3 Artigo 3: Perda de carbono inorgânico do meio na forma de CO<sub>2</sub>

#### RESUMO

As microalgas consomem, durante seu crescimento, CO<sub>2</sub> do meio, sendo a reposição da fonte de carbono feita através da adição de CO<sub>2</sub> proveniente de correntes gasosas ou de bicarbonato. Pouca atenção tem sido dada ao fato de que o meio comumente empregado para o crescimento de *Spirulina* é instável, devido ao fato de possuir uma pressão parcial de CO<sub>2</sub> excedendo a de equilíbrio com a atmosfera, causando uma evasão do CO<sub>2</sub> do meio para a atmosfera. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um equacionamento para a perda de CO<sub>2</sub> em biorreatores abertos e aplicar o modelo estabelecido para a variação do pH em função da variação da concentração de CO<sub>2</sub> do meio. Os experimentos foram realizados em reatores tipo raceway de 5 L, em estufa termostatizada a 30°C, modificado, onde foram adicionadas diferentes quantidades de NaHCO<sub>3</sub> (1; 5; e 16,8 g.L<sup>-1</sup>) na ausência de microrganismos fotossintetizantes. O objetivo deste trabalho foi estabelecer um equacionamento para a perda de CO<sub>2</sub> em biorreatores abertos e aplicar o modelo estabelecido para a variação do pH em função da variação da concentração de CO<sub>2</sub> do meio. Os valores gerados a partir do modelo foram corroborados pelos dados obtidos experimentalmente nas concentrações de NaHCO<sub>3</sub> 1 g.L<sup>-1</sup> (r<sup>2</sup>=0,92), 5 g.L<sup>-1</sup> (r<sup>2</sup>=0,96) e 16,8 g.L<sup>-1</sup> (r<sup>2</sup>=0,98) demonstrando que pode ser aplicado a fim de prever a variação na concentração de carbono inorgânico e a variação do pH no meio durante decorrente da perda de CO<sub>2</sub>.

## ABSTRACT

Microalgae consume, during its growth, CO<sub>2</sub> from the medium, being the replacement of the carbon source made by addition of CO<sub>2</sub> from a gas streams or bicarbonate. Little attention has been given to the fact that the medium commonly employed for the *Spirulina* growth is unstable, due to the fact of having a CO<sub>2</sub> partial pressure exceeding the equilibrium with the atmosphere, causing an escape of CO<sub>2</sub> from the medium to the atmosphere. The objective of this study was to establish an equation for the loss of CO<sub>2</sub> in open bioreactors and apply the model established for the change in pH as a function of the CO<sub>2</sub> concentration variation in the medium. The experiments were performed in a 5 L raceway type reactors, at 30 °C, in modified Zarrouk medium, which were added different amounts of NaHCO<sub>3</sub> (1, 5, and 16.8 gL<sup>-1</sup>) in the absence of photosynthetic microorganisms. The values generated from the model were corroborated by data obtained experimentally in concentrations of NaHCO<sub>3</sub> 1 gL<sup>-1</sup> (r<sup>2</sup>=0,92), 5 gL<sup>-1</sup> (r<sup>2</sup>=0,96) and 16.8 g.L<sup>-1</sup> (r<sup>2</sup>=0,98) demonstrating that can be applied to predict the change in concentration of inorganic carbon and pH variation in the medium due to the CO<sub>2</sub> loss.

## INTRODUÇÃO

As microalgas são micro-organismos fotossintéticos que podem ser empregados para capturar dióxido de carbono, contribuindo com a redução do efeito estufa no planeta. A biomassa pode ser utilizada como alimento ou para a produção de biocombustíveis, entre outras aplicações.

Durante a produção de *Spirulina* o meio de cultivo geralmente utilizado possui a composição fornecida por Zarrouk (ZARROUK, 1966), apresentando o bicarbonato de sódio como fonte de carbono, o qual representa 60% do custo total em nutrientes. A redução da concentração original  $16,8 \text{ g.L}^{-1}$  de  $\text{NaHCO}_3$ , tal como descrita por Zarrouk, é uma das alternativas para reduzir o custo com nutrientes.

As microalgas consomem, durante seu crescimento,  $\text{CO}_2$  do meio, sendo a reposição da fonte de carbono feita através da adição de  $\text{CO}_2$  proveniente de correntes gasosas ou de bicarbonato. O consumo de  $\text{CO}_2$ , assim como descrito por Jimenez et al. (1995), é no mínimo 2-3 vezes mais alto do que o teoricamente necessário, calculado a partir do conteúdo de carbono nas algas. Soluções ricas em bicarbonato, geralmente utilizadas para cultivo de microalgas, estão longe do equilíbrio e tendem a perder carbono inorgânico na forma de  $\text{CO}_2$ , com simultâneo aumento do pH do meio (ALAVA et al., 1997).

Segundo Alava et al. (1997) pouca atenção tem sido dada ao fato de que o meio comumente empregado para o crescimento de *Spirulina* é instável, devido ao fato de possuir uma pressão parcial de  $\text{CO}_2$  excedendo a de equilíbrio com a atmosfera, causando uma evasão do  $\text{CO}_2$  do meio para a atmosfera. Estes autores reportaram ainda que a agitação em tanques com pás rotativas (*paddle wheels*) provocam uma perda relativamente lenta, enquanto a agitação através de bolhas de ar ou *air-lift* causam uma perda acelerada.

Doucha et al. (2005) estimou que do  $\text{CO}_2$  total suprido 51% é perdido durante a injeção. Dos 49% restantes, 10,3% é perdido devido à transferência do meio para a atmosfera após a sua dissolução. Desta forma, apenas 38,7% do  $\text{CO}_2$  suprido é disponibilizado às células.

Rodríguez-Maroto et al. (2005) estudaram a perda de carbono em meios de cultivo enriquecidos com bicarbonato agitados por borbulhamento de ar, determinando as variações nas concentrações das espécies químicas de carbono inorgânico

dissolvido ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ ,  $\text{CO}_3^{2-}$ ) e as variações do pH do meio decorrente da alteração do equilíbrio químico. Verificaram que as perdas de carbono ocorrem em função da concentração de carbono inorgânico dissolvido (devido ao aumento da concentração de  $\text{CO}_2$ ) e do sistema de agitação utilizado, sendo que o borbulhamento de ar acelera o fenômeno de transferência de  $\text{CO}_2$  do meio para a atmosfera.

O objetivo deste trabalho foi estabelecer um equacionamento para a perda de  $\text{CO}_2$  em biorreatores abertos e aplicar o modelo estabelecido no Artigo 2 para a variação do pH em função da variação da concentração de  $\text{CO}_2$  do meio.

## MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram realizados em reatores tipo raceway de 5 L (0,680 X 0,187 0,075 m), em estufa termostaticada a 30°C, em meio Zarrouk (ZARROUK, 1966) modificado, onde foram adicionadas diferentes quantidades de  $\text{NaHCO}_3$  (1; 5; e 16,8  $\text{g.L}^{-1}$ ) na ausência de microrganismos fotossintetizantes.

O pH foi determinado com pHmetro digital (QUIMIS Q400H, Brasil).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A transferência de  $\text{CO}_2$  do meio líquido para o meio externo (perda de  $\text{CO}_2$ ), analogamente à Equação 5.2.14 (Artigo 2), porém considerando que a transferência é limitada pela resistência na película de gás estagnado formada na superfície do biorreator, pode ser descrita pela equação Equação 5.3.1:

$$-\frac{d\text{CO}_2}{dt} = k_G a \cdot (\text{CO}_2^{EQ} - \text{CO}_2) \quad \text{Equação 5.3.1}$$

Onde:

$k_G a$  é o coeficiente de global de transferência  $\text{CO}_2$ , determinado experimentalmente ( $2,5 \text{ d}^{-1}$ )

$\text{CO}_2^{EQ}$  é a concentração de equilíbrio do  $\text{CO}_2$  dissolvido com o  $\text{CO}_2$  do meio externo (Perry, 1999).

A Figura 5.3.1 apresenta os valores obtidos a partir da Equação 5.3.1, considerando as condições iniciais de equilíbrio do meio contendo  $\text{NaHCO}_3$  16 g.L<sup>-1</sup> em pH 8,5.

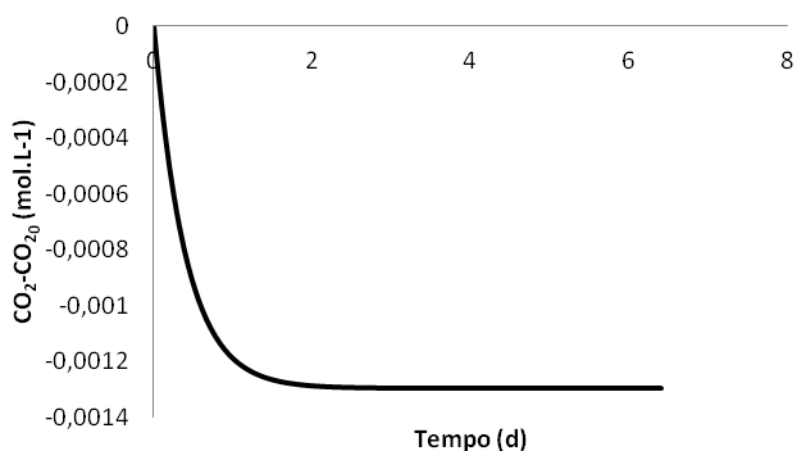


Figura 5.3.1: Valores obtidos a partir da Equação 1 para a diferença entre a concentração de  $\text{CO}_2$  e a concentração de  $\text{CO}_2$  inicial em função do tempo em meio contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$  16 g.L<sup>-1</sup> em pH 8,5

Alava et al. (1997) verificaram que o meio Zarrouk tende a perder parte do carbono total dissolvido até que atinja a condição de equilíbrio, apontando que o ajuste do pH inicial do meio para a condição de equilíbrio evitaria estas perdas.

Considerando a relação proposta para a variação do pH em função da variação da concentração de  $\text{CO}_2$  no meio é possível estimar os valores de pH durante o período avaliado. A Figura 5.3.2 apresenta os valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 (Artigo 2) e observados experimentalmente para o pH em função do tempo em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$  16 g.L<sup>-1</sup> (0,2 M).

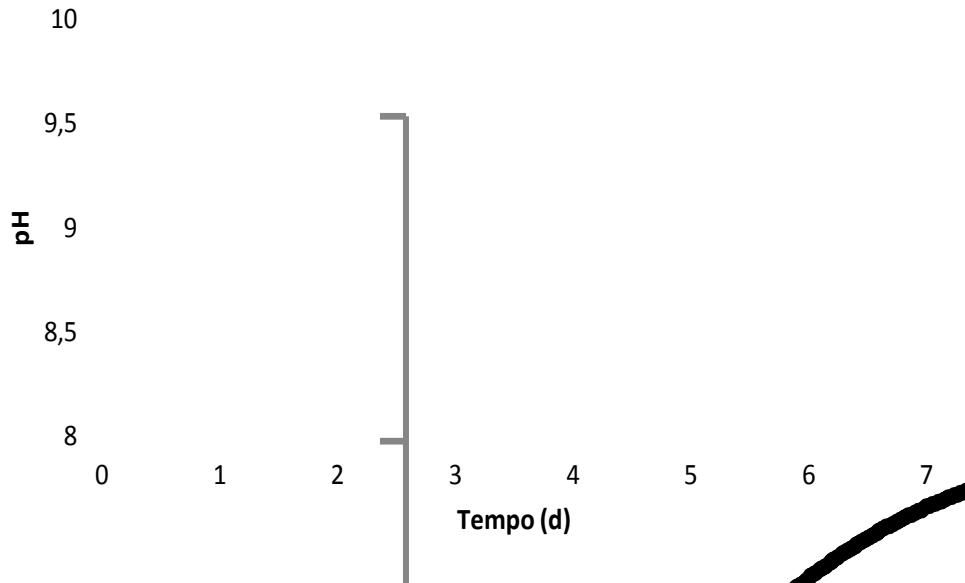


Figura 5.3.2: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 e observados experimentalmente para o pH em função do tempo em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$   $16 \text{ g.L}^{-1}$

A Figura 5.3.3 apresenta os valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 em função dos valores observados experimentalmente para o pH em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$   $16 \text{ g.L}^{-1}$ .

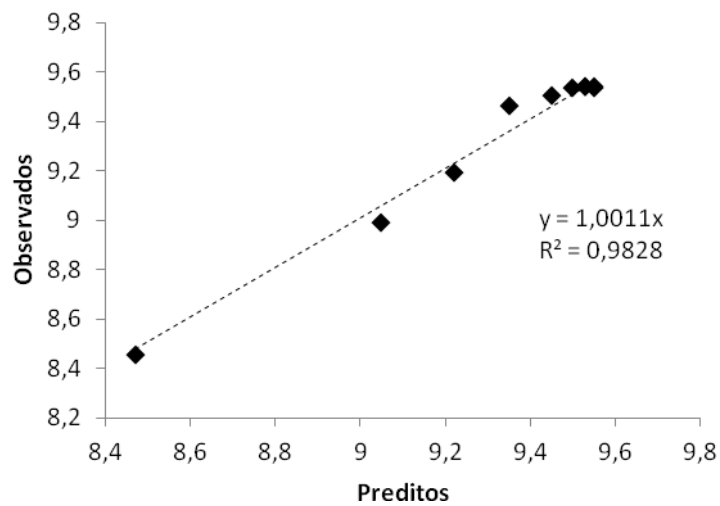


Figura 5.3.3: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 em função dos valores observados experimentalmente para o pH em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$   $16 \text{ g.L}^{-1}$

Na Figura 5.3.3 os valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 são corroborados pelos valores obtidos experimentalmente ( $r^2=0,98$ ). A Figura 5.3.4 apresenta os valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 e observados experimentalmente para o pH em função do tempo em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$  5 e 1  $\text{g.L}^{-1}$ . Novamente verificou-se que os valores obtidos a partir do equacionamento proposto foram validados pelos dados obtidos experimentalmente (Figura 5.3.5), tanto para  $\text{NaHCO}_3$  5  $\text{g.L}^{-1}$  ( $r^2=0,96$ ) quanto para  $\text{NaHCO}_3$  1  $\text{g.L}^{-1}$  ( $r^2=0,92$ ).

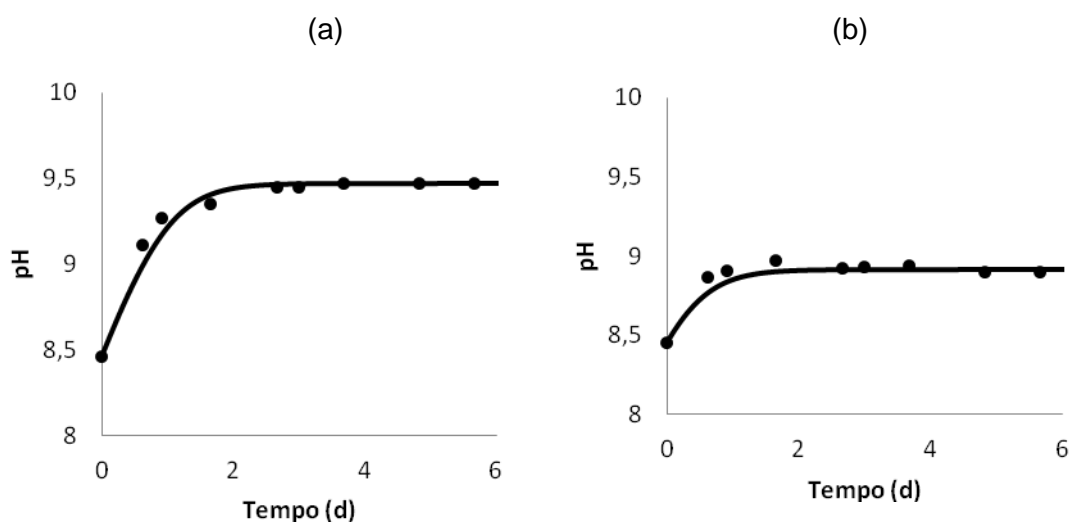


Figura 5.3.4: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 e observados experimentalmente para o pH em função do tempo de transferência em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$  5  $\text{g.L}^{-1}$  (a) e  $\text{NaHCO}_3$  1  $\text{g.L}^{-1}$  (b)

A Figura 5.3.5 apresenta os valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 em função dos valores observados experimentalmente para o pH em meios contendo, inicialmente  $\text{NaHCO}_3$  5 e 1  $\text{g.L}^{-1}$ .

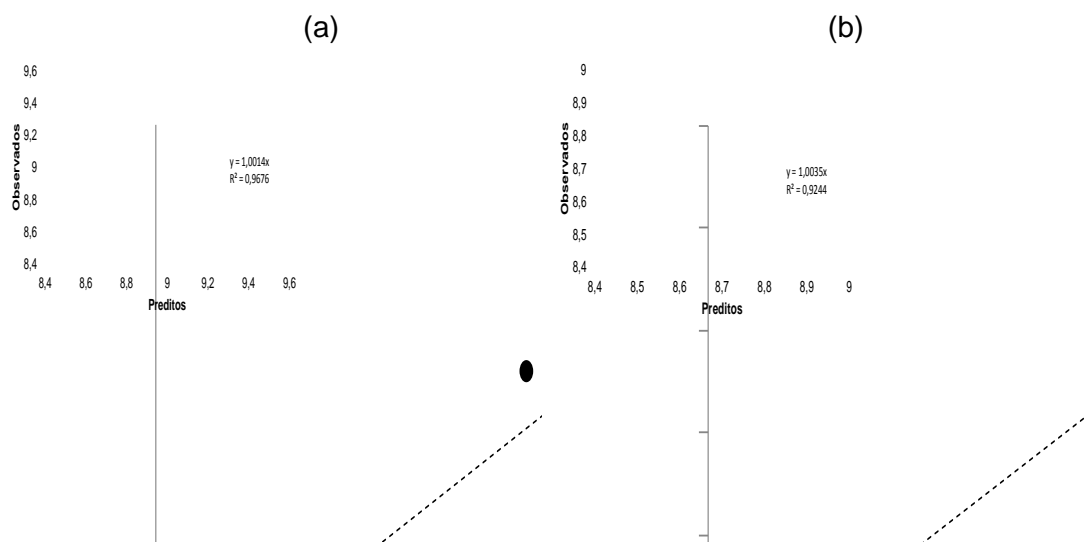


Figura 5.3.5: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 em função dos valores observados experimentalmente para o pH em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$   $5 \text{ g.L}^{-1}$  (a) e  $\text{NaHCO}_3$   $1 \text{ g.L}^{-1}$  (b)

A Figura 5.3.6 apresenta a diferença entre a concentração de  $\text{CO}_2$  e a concentração de  $\text{CO}_2$  inicial em função do tempo em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$  16, 5 e  $1 \text{ g.L}^{-1}$  em pH 8,5.

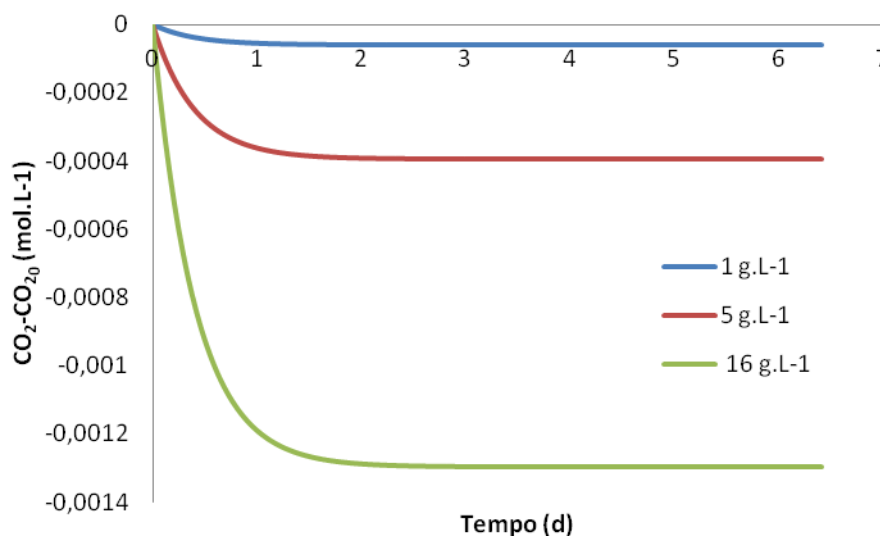


Figura 5.3.6: Valores obtidos a partir da Equação 5.3.1 para a diferença entre a concentração de  $\text{CO}_2$  e a concentração de  $\text{CO}_2$  inicial em função do tempo em meio contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$  16, 5 e  $1 \text{ g.L}^{-1}$  em pH 8,5

Tal como observado por Rodríguez-Maroto et al. (2005), as perdas de carbono, na forma de dióxido de carbono, dependem da concentração de carbono inorgânico dissolvido. Da mesma forma o aumento do pH do meio depende da quantidade de dióxido de carbono perdido. A Figura 5.3.7 apresenta os valores obtidos a partir da



Equação 5.2.13 para o pH em função do tempo em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$  16, 5 e 1  $\text{g.L}^{-1}$

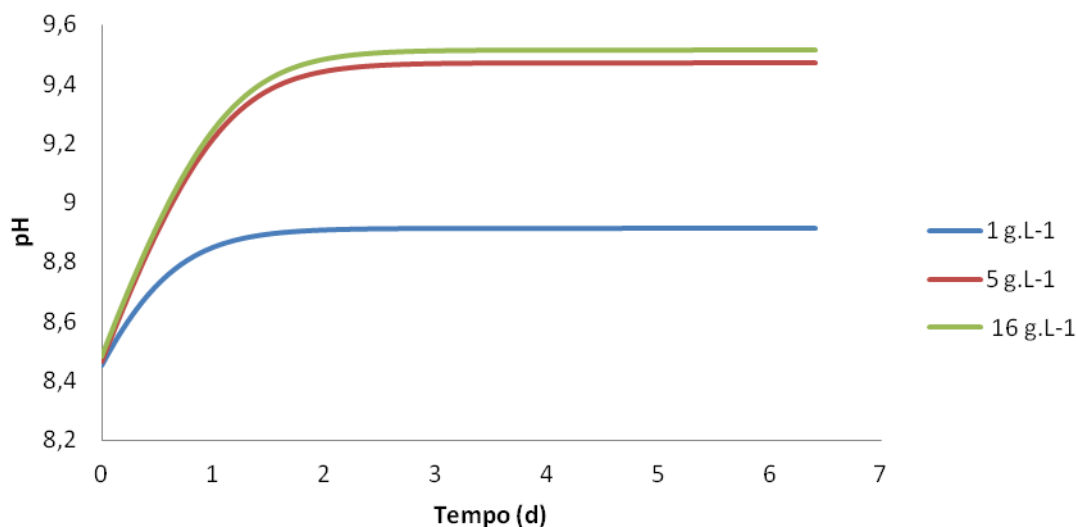


Figura 5.3.7: Valores obtidos a partir da Equação 5.2.13 para o pH em função do tempo em meios contendo, inicialmente,  $\text{NaHCO}_3$  16, 5 e 1  $\text{g.L}^{-1}$

Andrade et. al (2008) avaliaram a perda de carbono inorgânico em biorreatores abertos na presença e na ausência de microalgas. Os resultados obtidos por estes autores indicaram que o aumento da concentração de carbono inorgânico dissolvido no meio, além de provocar um aumento das perdas de  $\text{CO}_2$ , não promove um aumento dos parâmetros cinéticos dos cultivos. Neste sentido, os dados gerados a partir do equacionamento proposto possibilitam prever a variação do pH decorrente das perdas de  $\text{CO}_2$  e controlá-las de acordo com os parâmetros do processo utilizado.

## CONCLUSÕES

O equacionamento proposto pode ser aplicado a fim de prever a variação na concentração de carbono inorgânico na forma de  $\text{CO}_2$ , bem como a variação do pH no meio. Através das simulações geradas a partir do modelo é possível estabelecer controles para o processo e reduzir ou eliminar perdas de carbono inorgânico na forma de  $\text{CO}_2$ .

## REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALAVA, D.; MELLO, P. C.; WAGENER, K. **The Relevance of the CO<sub>2</sub> Partial Pressure of Sodium Bicarbonate Solutions for the Mass Cultivation of the Microalga *Spirulina***. J. Braz. Chem. Soc., 8, 447-450, 1997.

ANDRADE, M. R.; CAMERINI, F. V.; COSTA, J. A. V.; **Chemical Carbon Losses and Growth Kinetics in *Spirulina* Cultures**, Quim. Nova, 31, 2031 – 2034, 2008.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LIVANSKY, L. **Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor**. J. Appl. Phycol 17, 403–412, 2005.

JIMENEZ, C.; MERCADO, J.; AGUILERA, J.; RODRIGUEZ-MAROTO, J. M.; NIELL, F. X. **Effect of turbulence and inorganic carbon supply on growth of *Dunaliella viridis* Teodoresco**. Int. J. Salt Lake Res. 4, 223-232, 1995.

PERRY, R. H. **Chemical Engineers Handbook**. 7<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill, New York, 2350 p., 1999.

RODRÍGUEZ-MAROTO A.; JIMÉNEZ, C.; AGUILERA, J.; NIELL, F. X. **Air bubbling results in carbon loss during microalgal cultivation in bicarbonate-enriched media: experimental data and process modeling**. Aquacultural Engineering. 32, 493 – 508, 2005.

ZARROUK, C. – **Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthèse de *Spirulina maxima* geitler**. Ph.D. Thesis, Université de Paris, 1966.

## 6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A quantidade de dióxido de carbono emitida pela geração térmica de energia elétrica demanda a aplicação de sistemas com capacidade de fixar toneladas de carbono por dia. Isto só será possível através de tecnologias simples e de baixo custo, tal como biorreatores abertos.

A utilização de microalgas para a fixação biológica de dióxido de carbono parece ser a opção mais atrativa, econômica e ambientalmente. No entanto, o processo deve estar completamente estabelecido e testado em escala industrial. Neste sentido, a viabilidade da sua aplicação, considerando custos de biorreatores e sistemas de injeção de gases, se faz necessária.

A utilização de modelos, simulações e a automação do processo são ferramentas que devem ser estudadas e aplicadas a fim de reduzir as perdas de produtividade durante o processo.

Atualmente, a cianobactéria *Spirulina* se destaca frente aos microrganismos com potencial para serem utilizados nos processos de biofixação de carbono por apresentar altas taxas de crescimento, tolerar as condições de cultivo necessárias para aplicação em grandes volumes e pelas diversas possibilidades de aplicação da biomassa gerada durante o processo.

## 7. CONCLUSÕES GERAIS

Nos cultivos não iluminados continuamente a cinética de crescimento celular pôde ser descrita como uma função da iluminância. Os parâmetros cinéticos determinados para cada período iluminado foram superiores àqueles determinados a partir de curvas que consideram períodos iluminados e não iluminados. As velocidades específicas de crescimento celular ( $\mu$ ) obtidas variaram de 0,55 a 0,59  $d^{-1}$ . De acordo com os dados gerados a partir do modelo proposto 16,2% da biomassa é consumida durante o período não iluminado. O modelo cinético proposto é uma ferramenta que pode ser utilizada no dimensionamento de processos de biofixação utilizando microalgas.

Os resultados obtidos comprovam que é possível determinar o comportamento do pH do meio a partir dos valores de  $CO_2$ . Em processos de biofixação de  $CO_2$  a relação entre a variação de  $CO_2$  e a variação do pH do meio possibilita estabelecer o controle destes fatores.

A determinação do coeficiente volumétrico de transferência de massa para o sistema de injeção de gases utilizado em processos de biofixação de  $CO_2$  pode ser realizada com base nos valores obtidos para o oxigênio.

O equacionamento proposto pode ser aplicado a fim de prever a variação na concentração de carbono inorgânico na forma de  $CO_2$ , bem como a variação do pH no meio. Através das simulações geradas a partir do modelo é possível estabelecer controles para o processo e reduzir ou eliminar perdas de carbono inorgânico na forma de  $CO_2$ .

## **8. SUGESTÕES DE TRABALHOS FUTUROS**

Aprofundar o desenvolvimento de modelos para o processo de biofixação de CO<sub>2</sub>.

Aplicar sistemas automatizados de injeção de CO<sub>2</sub>, baseado no pH do meio de cultivo, em processos de biofixação de CO<sub>2</sub>.

Avaliar a viabilidade técnica e econômica do emprego de iluminação artificial nos cultivos.

## 9. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIZAWA, K., MIYACHI, S. **Carbonic anhydrase and CO<sub>2</sub> concentrating mechanisms in microalgae and cyanobacteria.** FEMS Microbiol. Rev. 39, 215 –233, 1986.

ALAVA, D.; MELLO, P. C.; WAGENER, K. **The Relevance of the CO<sub>2</sub> Partial Pressure of Sodium Bicarbonate Solutions for the Mass Cultivation of the Microalga *Spirulina*.** J. Braz. Chem. Soc., 8, 447-450, 1997.

ANDRADE, M. R.; CAMERINI, F. V.; COSTA, J. A. V.; **Chemical Carbon Losses and Growth Kinetics in *Spirulina* Cultures,** Quim. Nova, 31, 2031 – 2034, 2008.

ANDREWS, J. F., **A mathematical model for continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates.** Biotechnology and Bioengineering, 10, 707 - &, 1968.

BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals.** 2<sup>a</sup> ed, McGraw-Hill, Singapore, pp. 397-398, 1986.

BECKER E. W. **Algae mass cultivation, production and utilization.** Process Biochem. 16, 10-14, 1981.

BECKER, E. W., In "**Microalgae: biotechnology and microbiology**" Ed. Baddiley, J. et al. Cambridge Univ. Press, Cambridge, New York, 186-187, 1994.

BENEMANN, J. R; WEISSMAN, J. C; KOOPMAN, B. L.; EISENBERG, D. M.; GOEBEL, R. P.; OSWALD, W. J.; **Large-Scale Freshwater Microalgal Biomass Production for Fuel and Fertilizer – U.S. Department of Energy - Draft Final Report,** 1978.

BENEMANN, J. R. **CO<sub>2</sub> Mitigation With Microalgae Systems.** Energy Convers. Mgmt, 38, 475-479, 1997.

BENEMANN, J. R.; HUGHES, E. **Biological Fossil CO<sub>2</sub> Mitigation.** Energy Convers. Mgmt. 38, 467-473, 1997.

BINAGHI, L. ; DEL BORGHI, A.; LODI, A.; CONVERTI, A.; DEL BORGHI, M. **Batch and fed-batch uptake of carbon dioxide by *Spirulina platensis*.** Process Biochem. 38, 1341-1346, 2003.

BOROWITZKA, M. A. **Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters.** J. Biotechnol. 70, 313 – 321, 1999.

BU'LOCK, J. and KRISTIANSEN, B. **Biotecnologia Basica** Editorial Acribia, Zaragoza, Espana, 1991.

CARMOUZE, J. P. **O Metabolismo dos Ecossistemas Aquáticos: Fundamentos teóricos, Métodos de estudo e análises Químicas**, Edgard Blücher Ltda, São Paulo, 11, 183-200, 1994.

CHANAWONGSE, L.; LEE, Y. K.; BUNNAG, B.; TANTICHAROEN, M. **Productivity of the cyanobacterium *Spirulina platensis* in cultures using sunlight**, Bioresearch Tchnology, 48, 143 – 148, 1994.

COHEN Z. **The chemicals of *Spirulina***. In: Vonshak A. ed. ***Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology***. Taylor and Francis; London, 175-204, 1997.

COLMAN, B.; HUERTAS, E.; BHATTI, S.; DASON, J. S. **The diversity of inorganic carbon acquisition mechanisms in eukaryotic microalgae.** Functional Plant Biology 29, 261 – 270, 2002.

COLLA, L. M., FURLONG, E. B., COSTA, J. A. **Antioxidant properties os *Spirulina (Arthospira) platensis* cultivated in different temperatures and nitrogen regimes** Brazilian Archives of Biology and Technology, 50, 161 – 167 (2007)

COSTA, J. A. V., COLLA, L. M., FILHO, P. D, ***Spirulina platensis* growth in open ponds using fresh whater supplemented with carbon, nitrogen and metal ions**, Z. Naturforsch, 58, 76 – 80, 2002.

DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LIVANSKY, L. **Utilization of flue gas for cultivation of microalgae (*Chlorella* sp.) in an outdoor open thin-layer photobioreactor.** J. Appl. Phycol 17, 403–412, 2005.

FOX, R. D. **Health benefits of *Spirulina* and proposal for a nutrition test on children suffering from Kwashiorkor.** In: *Spirulina* Algue de Vie – Bulletin de Institut Océanographique, Monaco, 12, 1993.

GOLUEKE, C. G.; OSWALD, W. J. **Biological Conversion of Light Energy to the Chemical Energy of Methane** Appl. Microbiol., 4, 219 – 227, 1959.

GRIMA, E. M.; FERNANDEZ, A. F. G.; CAMACHO, G.; CHISTI, Y. **Photobioreactors: light regime, mass transfer, and scaleup** J. Biotechnol. 70, 231 – 247, 1999.

GUTERMAN, H, BEN-YAAKOV, S. **Exchange Rates of O<sub>2</sub> and CO<sub>2</sub> Between an Algal Culture and Atmosphere.** Wat. Res. 21, 25 – 34, 1987.

HENRIKSON, R. **Microalga *Spirulina* – Superalimento del Futuro.** Ediciones S.A. Urano, Barcelona, ISBN: 84-7953-047-2, 1994.

IPCC, Intergovernmental Panel on Climate Change, 2001.

JIMENEZ, C.; MERCADO, J.; AGUILERA, J.; RODRIGUEZ-MAROTO, J. M.; NIELL, F. X. **Effect of turbulence and inorganic carbon supply on growth of *Dunaliella viridis* Teodoresco.** Int. J. Salt Lake Res. 4, 223-232, 1995.

KADAM, K. L. **Environmental implications of power generation via coal-microalgae cofiring.** Energy, 27, 905 – 922, 2002.

LAGES, P. I. A. G. **Efeito Estufa – Quantificações e Relações com a Economia Portuguesa** Dissertação de Mestrado, Instituto Superior Técnico, Lisboa, 2001.

LEHNINGER, A. L.; NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de Bioquímica.** 2a. ed. São Paulo: Sarvier, 1995.

MARCUS, Y., VOLOKITA, M., KAPLAN, A. **The location of the transporting system for inorganic carbon and the nature of the form translocated in *Chlamydomonas reinhardtii*.** J. Exp. Bot. 35, 1136–1144, 1984.

MIAO, X.; WU, Q. **Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil** Bioresour. Technol. 97, 841–846, 2006.

MILLER, A. G., COLMAN, B. **Evidence for HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> Transport by the Blue-Green Alga (Cyanobacterium) *Coccochloris peniocyctis*.** Plant Physiol. 65, 397 – 402, 1980.



MINKOVA, K. M.; TCHERNOV, A. A.; TCHORBADJIEVA, M. I.; FOURNADJIEVA, S. T.; ANTOVA, R. E.; BUSHEVA, M. C. H. **Purification of C-phycocyanin from *Spirulina (Arthrospira) fusiformis*** J. Biotechnol. 102, 55-59, 2003.

MIYAMOTO, K., YOSHIHARA, K.-I., NAGASE, H., EGUCHI, K., HIRATA, K. , **Biological Elimination of Nitric Oxide and Carbon Dioxide from Flue Gas Marine Microalga NOA-113 Cultivated in a Long Tubular Photobioreactor** J. Ferment. Bioeng., 82, 4, 351 – 354, 1996.

MONOD, J. **The Growth of Bacterial Cultures** Annu. Rev. Microbiol., 3, 371 – 394, 1949.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A., **Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor** J. Biotechnol., 3: 439 – 445, 2007.

MORONEY, J. V., HUSIC, H. D., TOLBERT, N. E., **Effect of carbonic anhydrase inhibitors on inorganic carbon accumulation by *Chlamydomonas reinhardtii***. Plant Physiol. 79, 177–183, 1985.

OGBONNA, J. C.; TANAKA, H. **Night Biomass Loss and Changes in Biochemical Composition of Cells During Light/Dark Cyclic Culture of *Chlorella pyrenoidosa***. J. Ferment. Bioeng., 82 (6), 558- 564, 1996.

OTSUKI, T. **A study for the biological CO<sub>2</sub> fixation and utilization system**. The Science of the Total Environment, 277 21 – 25, 2001.

PERRY, R. H. **Chemical Engineers Handbook**. 7<sup>a</sup> ed. McGraw-Hill, New York, 2350 p., 1999.

PULZ, O., GROSS, W. **Valuable products from biotechnology of microalgae** Appl. Microbiol. Biotechnol, 65, 635 – 648, 2004.

PUTT, R.; SINGH, M.; CHINNASAMY, S.; DAS, K. C. **An efficient system for carbonation of high-rate algae pond water to enhance CO<sub>2</sub> mass transfer**, Bioresource Technology, 102, 3240 – 3245, 2011.

RAMALHO, R. S. **Introduction to Wastewater Treatment Processes** 2<sup>a</sup> Edição, Academic Press, New York, 580 p., 1983.

REDDY, M. H. **Application of Algal Culture Technology for Carbon Dioxide and Flue Gas Emission Control** Master of Science Thesis , Arizona State University, 2002.

RICHMOND A. **Handbook of algal mass culture**. CRC Press, Boca Raton, FL, USA, 566 p., 1990.

RODRÍGUEZ-MAROTO A.; JIMÉNEZ, C.; AGUILERA, J.; NIELL, F. X. **Air bubbling results in carbon loss during microalgal cultivation in bicarbonate-enriched media: experimental data and process modeling**. *Aquacultural Engineering*. 32, 493 – 508, 2005.

SCHMIDELL, W.; LIMA, A. U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial** vol.2. São Paulo: Edgard Blücher LTDA, p.96, 2001.

SOBCZUK, T. M.; CAMACHO, F.G.; RUBIO, F.C; **Carbon dioxide uptake efficiency by outdoor microalgal cultures in tubular airlift photobioreactors**, *Biotechnology and Bioengineering*, 67, 465 – 475, 2000.

TALBOT, P; LENCKI, R. W.; DE LA NOUE, J. **Carbon dioxide absorption characterization of a bioreactor for biomass production of *Phormidium bohneri*: comparative study of three types of diffuser**. *J. Appl. Phycol* 2, 341-350, 1990.

TALBOT, P; GORTARES, M. P.; LENCKI, R. W.; DE LA NOUE, J. **Absorption of CO<sub>2</sub> in Algal Mass Culture Systems: A Different Characterization Approach**. *Biotechnol. Bioeng.*, 37, 834-842, 1991.

TOMASELLI, L.; GIOVANNETTI, L.; TORZILLO, G. **Physiology of stress response in *Spirulina* spp.**, *Bulletin de l'Institut Océanographique*, Monaco, 12, 63, 1993.

TORZILLO, G.; SACCHI, A;MATERASSI, R. **Effect of temperature on yield and night biomass loss in *Spirulina platensis* grown outdoors in tubular photobioreactors**, *Journal of Applied Phycology*, 3, 103 – 109, 1991.

TREDICI, M. R.; ZITTELLI, G. C. **Efficiency of sunlight utilization: Tubular versus flat photobioreactors**. *Biotechnol. Bioeng.* 57 (2): 187 – 197, 1998.

UNFCCC, United Nations Framework Convention on Climate Change, United Nations, 1997

VONSHAK, A. – ***Spirulina platensis (Arthrospira)***. London: Taylor and Francis Ltd., ISBN 0-7484-0674-3, 1997.

VONSHAK, A. RICHMOND, A. **Mass Production of the Blue-green Alga *Spirulina*: An Overview** Biomass, 15, 233-247, 1988.

YUN, Y-S., LEE, S. B., PARK, J. M., LEE, C-I., YANG, J-W **Carbon Dioxide Fixation by Algal Cultivation Using Wastewater Nutrients** J. Chem. Tech. Biotechnol, 69, 451 – 455, 1997.

WEISSMAN, J.C.; GOEBEL, R.P.; BENEMANN, J.R. **Photobioreactor design: mixing, carbon utilization, and oxygen accumulation.** Biotechnol. Bioen. 31, 336-344, 1988.

ZARROUK, C. – **Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthese de *Spirulina maxima* geitler.** Ph.D. Thesis, Université de Paris, 1966.

ZHANG, X.-W.; ZHANG, Y. –M; CHEN, F. **Application of mathematical models to the determination optimal glucose concentration and light intensity for mixotrophic culture of *Spirulina platensis*,** Process Biochemistry, 34, 477 – 481, 1999.