



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



ENG07053 - TRABALHO DE DIPLOMAÇÃO EM ENGENHARIA QUÍMICA

**INFLUÊNCIA DA VAZÃO DE ENTRADA DE AR NO CRESCIMENTO
DE MICROALGAS EM REATOR DO TIPO AIR-LIFT**

ANDRÉ JARENKOW

Orientador: Eng. Química, M.Sc. Nicéia Chies da Fré

Co-Orientador: Prof^a Dr^a Rosane Rech

Porto Alegre, Julho de 2011

ANDRÉ JARENKOW

**INFLUÊNCIA DA VAZÃO DE ENTRADA DE AR NO CRESCIMENTO
DE MICROALGAS EM REATOR DO TIPO AIR-LIFT**

Estudo apresentado como requisito
parcial à obtenção do grau de
Engenheiro Químico na Universidade
Federal do Rio Grande do Sul.

Orientador: Eng. Química, M.Sc. Nicéia Chies da Fré

Co-Orientador: Prof^a Dr^a Rosane Rech

Porto Alegre, 2011

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, Pedro Henrique Jarenkow e Norma Lima Jarenkow por sempre darem prioridade à minha educação, além de sempre darem apoio, carinho e compreensão em relação às minhas escolhas.

Ao meu irmão, Carlos Jarenkow, que é a própria definição da palavra “irmão”.

A todos do laboratório 117 do ICTA que proporcionaram ensinamentos e risadas compartilhadas no ambiente de trabalho.

À professora Rosane Rech, que me deu a oportunidade de trabalhar em seu grupo de pesquisa, acreditando na minha capacidade.

À minha namorada, Marja de Sordi, pela compreensão e pelo afeto, respeito e carinho que me fazem sorrir diariamente.

RESUMO

Atualmente, a preocupação com o meio ambiente aumentou muito devido às variações climáticas que ocorreram no planeta, por isso é importante que novas tecnologias atentem à diminuição da emissão de gases poluentes na atmosfera. As microalgas são excelentes receptoras de CO₂ e uma boa alternativa como fonte de biodiesel. O presente trabalho tem como objetivo avaliar o crescimento das espécies *Chlorella minutissima* e *Dunaliella tertiolecta* em fotobiorreator do tipo *air-lift* com a variação da vazão de entrada de ar. Os experimentos foram realizados em duplicata, com quatro vazões diferentes para a *D. tertiolecta* (0,5; 1,0; 1,5 e 2,0 L/min) e três para a *C. minutissima* (0,5; 1,25 e 2,0 L/min), com temperaturas de 30°C e 28°C respectivamente, e salinidades de 34 g/L. As medidas de crescimento foram realizadas por absorvância utilizando um espectrofotômetro no comprimento de onda de 570 nm, cuja correlação com a biomassa é conhecida. Os resultados mostraram que o aumento da vazão de ar não tem influência significativa no crescimento para a *C. minutissima*, e, para a *D. tertiolecta*, faz com que a biomassa flote, dificultando a circulação e mistura homogênea no fotobiorreator. Houve evaporação significativa do meio de cultivo nas vazões mais elevadas. Pode-se concluir que não é necessária uma vazão maior do que 0,5 L/min, visto que este fator não é limitante no crescimento para estas duas espécies de microalgas.

Palavras-chave: microalga, fotobiorreator, *air-lift*, *Chlorella minutissima*, *Dunaliella tertiolecta*.

LISTA DE FIGURAS

TABELA 1: COMPARAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE BIODIESEL (HUANG, CHEN, <i>ET AL.</i> , 2009).	4
TABELA 2: TEOR LIPÍDICO DE ALGUMAS MICROALGAS (CHISTI, 2007).	5
FIGURA 1: ESQUEMA CONCEITUAL PARA O PROCESSO INTEGRADO DA PRODUÇÃO DE BIODIESEL POR MICROALGAS (CHISTI, 2008).....	6
FIGURA 2: RESISTÊNCIAS ASSOCIADAS À DISSOLUÇÃO E AO CONSUMO DE CO ₂ (GARCIA-OCHOA, GOMEZ, <i>ET AL.</i> , 2010)	7
FIGURA 3: DIFERENTES TIPOS DE SEPARADOR DE GÁS.	9
FIGURA 4: ESQUEMA DE UM REATOR AIR-LIFT GENÉRICO. O AR É INJETADO NO RISER PERIFÉRICO, O FLUXO DO LÍQUIDO É NO SENTIDO HORIZONTAL, EM DIREÇÃO AO FUNDO PELO TUBO NO CENTRO (DOWNCOMER). (CHISTI, 1989)	10
FIGURA 5: TIPO DE REATORES AIR-LIFT: (A) CILINDRO DIVIDIDO COM LOOP INTERNO; (B) TUBO INTERNO CONCÊNTRICO DE LOOP INTERNO; (C) TUBO INTERNO COM DIVISÓRIA VERTICAL; (D) LOOP EXTERNO (CHISTI, 1989).	11
FIGURA 6: FATOR KLA EM FUNÇÃO DA VAZÃO DE ENTRADA DE AR (KOCHEM, 2010).....	12
FIGURA 7: TEMPO DE MISTURA EM FUNÇÃO DA VAZÃO DE ENTRADA DE AR (KOCHEM, 2010).	13
FIGURA 8: TEMPO DE CIRCULAÇÃO EM FUNÇÃO DA VAZÃO DE ENTRADA DE AR (KOCHEM, 2010).	13
FIGURA 9: VISTA LATERAL DO FOTOBIOREATOR UTILIZADO (KOCHEM, 2010).	14
FIGURA 10: FOTO DOS BIORREATORES EM START-UP.	15
FIGURA 11: ESTUFA ROTATÓRIA COM OS PRÉ-INÓCULOS DAS MICROALGAS <i>D. TERTIOLECTA</i>	16
FIGURA 12: RELAÇÃO DA BIOMASSA EM G/L E DENSIDADE ÓTICA A 570 NM PARA <i>C. MINUTÍSSIMA</i> (REDAELLI E RECH, 2010).	17
FIGURA 13: RELAÇÃO DA BIOMASSA EM G/L E DENSIDADE ÓTICA A 570 NM PARA <i>D. TERTIOLECTA</i>	17
FIGURA 14: CRESCIMENTO DE <i>C. MINUTÍSSIMA</i> COM DIFERENTES VAZÕES DE ENTRADA DE AR.	18
FIGURA 15: BIOMASSA FINAL PARA <i>C. MINUTÍSSIMA</i> EM DIFERENTES VAZÕES DE AR.....	18
FIGURA 16: CRESCIMENTO DE <i>D. TERTIOLECTA</i> EM DIFERENTES VAZÕES DE AR.....	19
FIGURA 17: BIOMASSA FINAL PARA <i>D. TERTIOLECTA</i> EM DIFERENTES VAZÕES DE AR.	20
FIGURA 18: FLOTAÇÃO DA <i>D. TERTIOLECTA</i> EM DIFERENTES FOTOBIOREATORES	21
FIGURA 19: TEOR DE LIPÍDIOS PARA AS MICROALGAS <i>C. MINUTÍSSIMA</i> E <i>D. TERTIOLECTA</i>	21

LISTA DE TABELAS

TABELA 1: COMPARAÇÃO DE DIFERENTES FONTES DE BIODIESEL (HUANG, CHEN, <i>ET AL.</i> , 2009).	4
TABELA 2: TEOR LIPÍDICO DE ALGUMAS MICROALGAS (CHISTI, 2007).	5

Sumário

1. Introdução.....	1
2. Revisão bibliográfica.....	2
2.1 Microalgas.....	2
2.1.1 Uso de microalgas para o biodiesel.....	3
2.2 Transferência de dióxido de carbono	6
2.3 Reator <i>air-lift</i>	8
2.4 Caracterização do fotobiorreator utilizado	12
3. Materiais e métodos	14
3.1 Fotobiorreator.....	14
3.2 Meio de cultivo.....	15
3.3 Microrganismos e metodologia de cultivo	15
3.4 Análise do teor de lipídios.....	17
4. Resultados e discussões.....	18
4.1 Cultivo <i>C. minutissima</i>	18
4.2 Cultivo <i>D. tertiolecta</i>	19
4.3 Extração de lipídios.....	21
5. Conclusões	22
6. Trabalhos futuros.....	23
7. Referências bibliográficas	24

1. Introdução

Um dos principais marcos na história da humanidade foi a revolução industrial, que transformou a vida de praticamente todos os seres humanos. Tal desenvolvimento, exigiu que novas formas de energia fossem utilizadas para suprir o crescimento industrial. Mas com a alta demanda de energia, combustíveis fósseis foram amplamente utilizados nas recém criadas máquinas a vapor. A partir daí, a maioria dos equipamentos produzidos utilizava os mesmos combustíveis para seu funcionamento, não havendo preocupação com os futuros danos ao meio ambiente. Hoje em dia, o efeito desse crescimento industrial é sentido em várias partes do mundo.

No entanto, novas fontes de energia já estão sendo pesquisadas, a fim de diminuir tais efeitos e buscar uma nova forma de convívio com o meio ambiente, sem que a exploração deste seja tão excessiva ao ponto de ser irreparável. Uma das propostas é a utilização do biodiesel, que é um óleo para queima proveniente de biomassa, como diversas sementes oleaginosas, microalgas entre outros (HUANG, *et al.*, 2009).

O cultivo de microalgas tem sido usado há alguns anos para diversas finalidades, incluindo: ração animal, complemento alimentar e produção de carotenóides de alto valor agregado. Mais recentemente, elas têm sido alvo de pesquisas visando a produção de óleos que podem ser utilizados como fonte de energia. Porém, de acordo com as condições de crescimento, tais como, salinidade do meio de cultivo, temperatura, pH e aeração, as microalgas podem variar os produtos do seu metabolismo, além de crescerem mais ou menos rapidamente.

A limitação do crescimento devido aos fatores citados é um aspecto importante a ser analisado. A aeração influencia no coeficiente de transferência de massa da fase líquida (k_{La}), sendo esta uma das possíveis condições limitantes dos cultivos.

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar o crescimento das microalgas *Chlorella minutissima* e *Dunaliella tertiolecta* de acordo com a vazão de entrada de ar e, conseqüentemente, com o parâmetro k_{La} em um fotobiorreator do tipo *air-lift*, reator que possui agitação ascendente, produzida pela introdução de corrente gasosa no fundo, com recirculação.

2. Revisão bibliográfica

2.1 Microalgas

Microalgas são microrganismos fotossintetizantes, eucariontes ou procariontes (MATA, *et al.*, 2010) que possuem alta capacidade de absorção de CO₂, sendo as principais responsáveis por esta atividade nos oceanos, uma vez que estão presentes em grande número na coluna de água (FAKOWSKI, 1997 apud BORGES *et al.*, 2007).

As microalgas que compõe o fitoplâncton realizam seus diversos papéis ecológicos e processos biológicos fundamentais com eficiências distintas (LOURENÇO, 2006).

Estes microrganismos possuem crescimento rápido devido à sua estrutura unicelular ou multicelular e podem ser cultivadas em água salobra e/ou salgada, não necessitando do uso de água doce, destinada ao consumo humano e à agricultura. Além disso, possuem alta capacidade de adaptação e tolerância em condições ambientais consideradas extremas, podendo ser cultivados em espaços pequenos e regiões impróprias para atividades agrícolas, como por exemplo, desertos (KURANO *et al.*, 1995 apud BORGES *et al.*, 2007).

As microalgas estão presentes em todos os ecossistemas da Terra, não apenas aquáticos, mas também terrestres, representando uma enorme variedade de espécies vivendo em uma ampla gama de condições ambientais (MATA, *et al.*, 2010).

Muitas coleções de microalgas foram criadas nos últimos anos, uma das maiores é a da Universidade de Coimbra, em Portugal, contendo mais de 4000 cepas e 1000 espécies. Esta coleção confere uma larga variedade de diferentes microalgas disponíveis a serem selecionadas para diversos usos, como aumentar ou acrescentar algum valor a produtos farmacêuticos, alimentícios para o consumo humano e fontes de energia (MATA, *et al.*, 2010).

Existem diversas aplicações para as microalgas, tais como:

- Remoção de CO₂ de efluentes gasosos industriais pela biofixação, reduzindo a emissão dos gases causadores do efeito estufa liberados na queima de combustíveis (WANG *et al.*, 2008 apud MATA *et al.*, 2010);
- Tratamento de água residuária, utilizando os contaminantes NH₄⁺, NO₃⁻ e PO₄⁻³ como nutrientes (WANG *et al.*, 2008 apud MATA *et al.*, 2010);

- Após a extração do óleo, a biomassa restante pode ser processada em etanol, metano, alimentação na pecuária, fertilizante, devido ao seu alto teor de N:P, ou simplesmente queimada para cogeração de energia (WANG, *et al.*, 2008);
- A habilidade de crescer em condições adversas e a necessidade reduzida de *nutrientes* fazem com que as áreas não cultiváveis, independente da mudança climática, possam ser utilizadas para o cultivo de microalgas, não concorrendo com a agricultura, além de poderem aproveitar águas residuárias (MATA, *et al.*, 2010);

2.1.1 Uso de microalgas para o biodiesel

O biodiesel é feito de óleos derivados de biomassa, na maioria das vezes, óleo vegetal. Ele parece ser uma fonte de energia atrativa por diversas razões: é uma fonte renovável que pode ser estabelecida de maneira sustentável; aparenta ter diversas propriedades favoráveis ao meio ambiente, resultando em nenhum aumento da liberação de dióxido de carbono e conteúdo muito baixo de enxofre (SHEEHAN *et al.*, 1998 apud HUANG *et al.*, 2009)

Com o intuito de buscar outras fontes para compor o biodiesel, materiais biológicos ricos em lipídios tiveram sua pesquisa vista com outros interesses. Microrganismos oleaginosos são favoravelmente levados em conta pelo seu curto tempo de crescimento, alto conteúdo lipídico e facilidade de modificação por meios biotecnológicos (HUANG, *et al.*, 2009).

As microalgas têm sido sugeridas como potenciais candidatas para a o biodiesel, devido à eficiência fotossintética, maior produção de biomassa e maior taxa de crescimento, comparadas a outras fontes (HUANG, *et al.*, 2009). Os teores lipídicos das microalgas comumente ficam entre valores de 20 a 50%, vide Tabela 2, o que mostra um enorme potencial para as microalgas se tornarem a principal fonte de biodiesel.

Porém, é importante ressaltar que o custo de produção da microalga ainda é muito alto. Segundo CHISTI (2007), o preço do biodiesel proveniente de microalgas gira em torno de US\$2,80 por litro, enquanto que derivados de petróleo custam US\$0,49 por litro. Assim sendo, o preço almejado para o biodiesel de microalgas é US\$0,48/L, para que seja competitivo no mercado. Uma das alternativas é produzir a biomassa algal em fotobiorreatores com espécies com teor lipídico de 70%, o que acarretaria na redução do preço para US\$0,72/L.

Outra maneira de reduzir o custo é estudando melhores condições de cultivo das microalgas, direcionando a rota metabólica para a produção de lipídios e utilizando subprodutos de alto valor agregado, como pigmentos, para tornar rentável a produção de microalgas.

Tabela 1: Comparação de diferentes fontes de biodiesel (HUANG, *et al.*, 2009).

Origem do biodiesel	Vantagens	Desvantagens
Microalga	<ul style="list-style-type: none"> • Composição dos ácidos graxos similar ao óleo vegetal comum; • Pode chegar a 85% do peso seco na forma de óleos sob as circunstâncias específicas; • Crescimento rápido; 	<ul style="list-style-type: none"> • A maioria dos lipídios possui baixo valor energético como combustível; • O custo do cultivo é mais alto se comparado com cultivos de sementes;
Bactéria	<ul style="list-style-type: none"> • Alta taxa de crescimento. 	<ul style="list-style-type: none"> • A maioria das bactérias não produz lipídios, mas sim, lipóides complexos.
Leveduras e mofos	<ul style="list-style-type: none"> • Recursos abundantes na natureza; • Alto teor de óleos em algumas espécies; • Tempo curto de ciclo de crescimento. • Alta capacidade de crescimento em diferentes condições de crescimento; 	<ul style="list-style-type: none"> • Filtração e cultivo de leveduras e mofos com alto teor de lipídios são necessários; • A extração de óleos a partir de leveduras e mofos oleaginosos é complexa e uma nova tecnologia deveria ser explorada para lidar com este problema; • O custo do cultivo é mais alto se comparado com cultivos de sementes.
“waste oil”	<ul style="list-style-type: none"> • É mais barato do que os outros métodos de obtenção. 	<ul style="list-style-type: none"> • Contém alto teor de gordura saturada, que são de difícil conversão em biodiesel por catálise.

Tabela 2: Teor lipídico de algumas microalgas (CHISTI, 2007).

Espécie de microalga	Teor lipídico(% em peso seco)
<i>Botryococcus braunii</i>	25–75
<i>Chlorella sp.</i>	28–32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16–37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris sp.</i>	20–35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31–68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35–54
<i>Nitzschia sp.</i>	45–47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20–30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50–77
<i>Tetraselmis sueica</i>	15–23

Um processo conceitual para a produção de óleo microalgal para o biodiesel é mostrado na Figura 1. Água, nutrientes inorgânicos, dióxido de carbono e luz são fornecidos para a cultura de microalgas durante a fase de produção da biomassa. Na fase de recuperação da biomassa, as células em suspensão no meio são separadas da água e dos nutrientes residuais e ambos são reciclados para o estágio anterior. A biomassa recuperada é utilizada para se extrair o óleo, que será convertido em biodiesel em um processo separado.

Parte da biomassa gasta pode ser destinada à ração animal e para a recuperação de outros produtos de alto valor agregado que ainda podem estar presentes. O restante sofre a digestão anaeróbica, que produz biogás para gerar eletricidade. Efluentes do digestor anaeróbico são usados como fertilizante rico em nutrientes e como água de irrigação. A maior parte da energia gerada a partir do biogás é consumido dentro do processo de produção de biomassa e qualquer excesso de energia é vendido às concessionárias de energia elétrica. Emissões de dióxido de carbono a partir da fase de geração de energia são alimentados para a produção de biomassa (CHISTI, 2008).

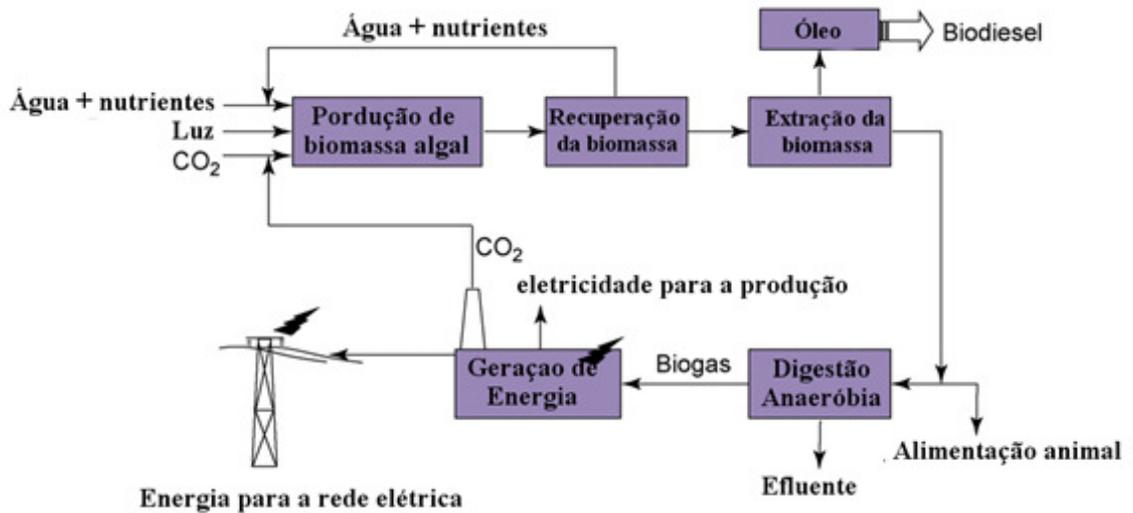


Figura 1: Esquema conceitual para o processo integrado da produção de biodiesel por microalgas (CHISTI, 2008)

2.2 Transferência de dióxido de carbono

Tendo em vista como principal objetivo do presente trabalho avaliar a variação do crescimento da microalga de acordo com a aeração, é necessário conhecer o modelo utilizado para a transferência do CO_2 da fase gasosa para o meio de cultivo, e do meio de cultivo para a célula (SCHMIDELL, *et al.*, 2001).

As resistências ao transporte de massa da bolha de ar até a célula pode ser esquematizada como mostra a Figura 2. A primeira delas é devido a uma película gasosa estagnada dentro da bolha de ar pela qual a molécula deve se deslocar (resistência 1 – Figura 2), Em seguida, existe uma na interface gás-líquido (resistência 2) e outra relacionada à película de líquido estagnada na superfície da bolha (resistência 3), que pode ser explicada com a existência da camada limite.

Em geral, as resistências 1 e 2 são desprezadas, uma vez que, dentro da bolha de ar, as moléculas de gás estão bastante agitadas e não existe nenhuma substância (ex: antiespumante) na interface líquido-gás que dificulte a difusão através desta. Assim, a única resistência que será considerada do lado da bolha de ar, será aquela devido à camada limite líquida existente ao redor desta, que é função da difusividade do CO_2 no líquido e da espessura da película.

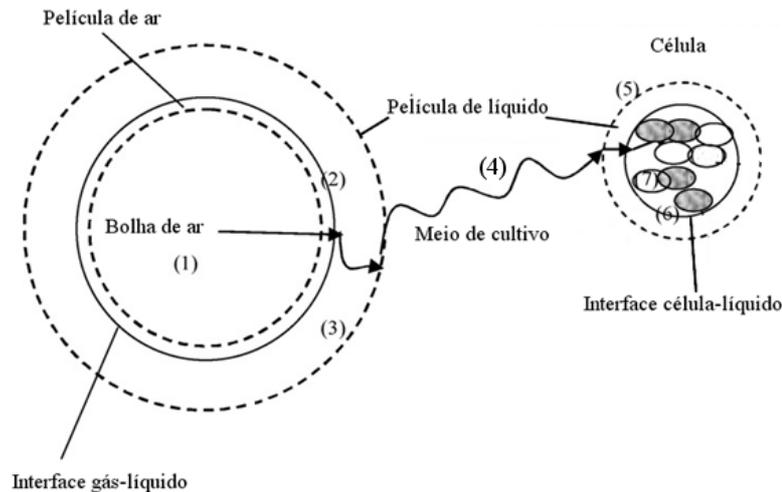


Figura 2: Resistências associadas à dissolução e ao consumo de CO₂ (GARCIA-OCHOA, *et al.*, 2010)

Ao considerar o meio de cultivo suficientemente agitado, a resistência da convecção (resistência 4) também é desconsiderada. Somente se a fase líquida é muito viscosa essa suposição não é válida. Este não é o caso aqui estudado.

Quando se analisa o lado do consumo do dióxido de carbono, por analogia, é possível imaginar resistências devido a uma película de líquido em torno da célula (resistência 5), à difusão do CO₂ através da membrana celular (resistência 6) e através do citoplasma (resistência 7). Estas resistências são consideradas pouco significativas no modelo utilizado, uma vez que a célula possui dimensões muito pequenas, área exposta ao meio líquido e o fato de que o transporte do CO₂ na membrana celular é dado por simples difusão.

Definidas as resistências importantes no transporte do gás, faz-se necessário equacionar o fluxo de CO₂ no meio. Como visto, a única que será considerada é aquela devido à película de líquido ao redor da bolha de ar, ela é definida como o inverso do coeficiente de transporte na película líquida (k_L). A força motriz para o transporte é a diferença entre de concentração de dióxido de carbono na interface (C_S) e no meio de cultivo (C). Assim:

$$n_{CO_2} = \frac{\text{gradiente}}{\text{resistência}} \quad (1)$$

onde: n_{CO_2} = fluxo de dióxido de carbono por unidade de área interfacial
(gCO₂/m².h)

resistência = inverso do coeficiente de transferência

Tendo em vista que esse fluxo de CO₂ está definido por unidade de área interfacial de troca de massa, área essa de difícil quantificação quando se tem um enorme número de bolhas suspensas em um líquido, pode-se definir:

$$a = \frac{\text{área interfacial de transferência de massa (m}^2\text{)}}{\text{volume total de líquido (m}^3\text{)}} \quad (2)$$

Assim, pode-se escrever:

$$n_{CO_2} = k_L a (C_s - C) \quad (3)$$

onde: n_{CO_2} = velocidade de transferência de CO₂ (gCO₂/m³.h)

$k_L a$ = coeficiente volumétrico de transferência de CO₂ (h⁻¹)

Caso a vazão da entrada de ar no sistema aumente, é possível compreender que haveria um maior acúmulo de bolhas de ar no seio do líquido (aumento de a), ao mesmo tempo em que se promove um maior arraste do CO₂ consumido.

2.3 Reator *air-lift*

Reatores *air-lift* (ALR) consistem em um vaso com líquido dividido em duas zonas distintas, onde em apenas uma é injetado o gás normalmente. Essa injeção de gás causa uma diferença de densidades entre as fases onde o gás é injetado e onde ele não é, o que resulta na circulação do fluido dentro do reator, fenômeno chamado de *air-lift*, ou, “suspensão de ar”, traduzindo-se literalmente.

Todos os ALR, apesar das diferentes configurações e designs, possuem quatro seções distintas (MERCHUK, *et al.*, 1999):

- *Riser* – o gás é injetado no fundo desta seção, e o fluxo do gás é predominantemente ascendente;
- *Downcomer* – esta seção, que é paralela ao *riser*, é conectada a este no fundo e no topo. O fluxo do gás e do líquido é predominantemente descendente. A força motriz para a circulação é a diferença de densidade entre as duas seções, que gera o gradiente de pressão necessário para a recirculação do líquido;
- *Base* – na maioria dos modelos dos ARL, a zona de conexão do fundo entre o *riser* e o *downcomer* é bastante simples. Normalmente não se acredita que a *base* tenha um efeito significativo no restante do reator, mas o design desta

seção pode influenciar no *gas holdup*, na velocidade do líquido e no fluxo da fase sólida;

- *Separador do gás* – esta seção fica no topo do reator e liga o *riser* ao *downcomer*, permitindo a circulação do líquido e facilitando a liberação do gás. Designs que favorecem que o tempo de residência do gás no separador seja maior do que o requerido para as bolhas se desprenderem irão minimizar a fração de gás recirculando pelo *downcomer*. A Figura 3 mostra como esta zona pode ser projetada, dependendo da finalidade do reator.

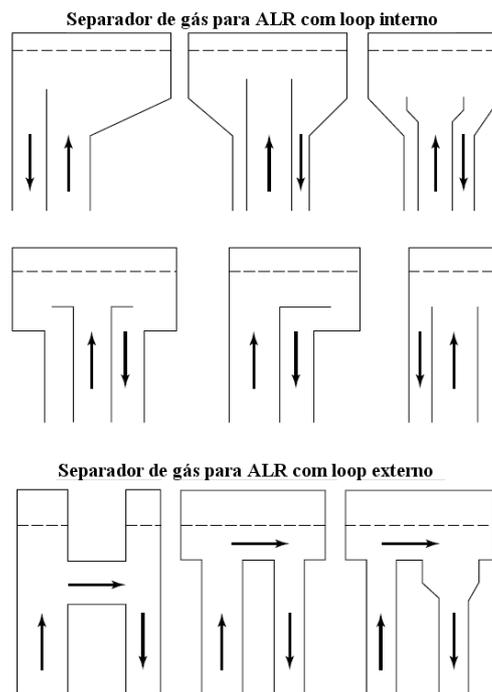


Figura 3: Diferentes tipos de separador de gás.

A simplicidade no modelo e na construção, os modelos de fluxo bem definidos e os custos relativamente baixos de mistura fazem desse tipo de reator uma ótima escolha. A baixa taxa de cisalhamento, boa mistura e o longo período de assepsia de operação são devidos à eliminação da hélice de agitação (CHISTI, 1989).

A taxa de aeração é restrita devido à sensibilidade da célula quanto ao cisalhamento. Existe um limite superior máximo dentro dos níveis de turbulência, porque as espécies de algas são afetadas diferentemente pelo estresse hidrodinâmico (MIRON *et al*, 2000 apud XU *et al*, 2009).

Geralmente, aumentando-se a taxa de aeração, aumenta-se a mistura, a circulação do líquido e a transferência de massa no reator. Enquanto a alta velocidade superficial do gás aumenta a mistura, também ajuda a evitar o acúmulo de oxigênio e dá

uma boa transferência de massa entre as fases gás e líquido para o uso eficiente do CO₂ (MIRON *et al.*, 2000 apud XU *et al.*, 2009). No entanto, algumas espécies de microalgas podem sofrer efeitos negativos devido à tensão de cisalhamento causado pela alta aeração (XU, *et al.*, 2009).

Determinou-se que a tensão de cisalhamento devido ao ar é diferente no reator de acordo com o raio da coluna e aumenta consideravelmente com a velocidade superficial do gás no *riser*, enquanto que, no *downcomer*, o cisalhamento é mais uniforme e mais fraco (XU, *et al.*, 2009).

Danos causados pela tensão de cisalhamento também foram observados nas regiões de topo e fundo, e mudando-se o tamanho destas regiões alteram-se também as linhas de corrente atenuando este efeito (LUO, DAHHAN, 2008 apud XU, WEATHERS *et al.*, 2009). Estas mudanças podem afetar significativamente o desempenho do biorreator, particularmente em aplicações envolvendo microalgas sensíveis à tensão de cisalhamento.

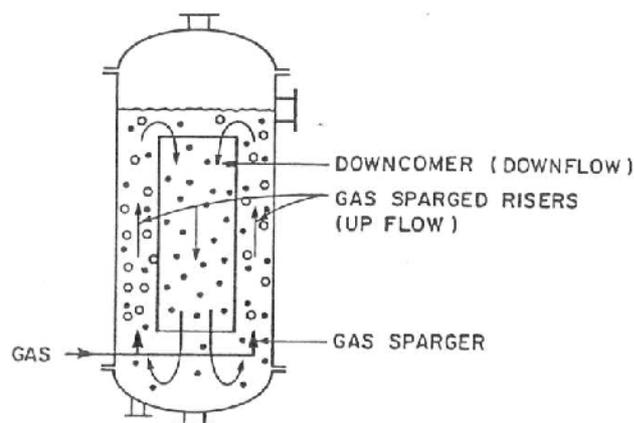


Figura 4: Esquema de um reator air-lift genérico. O ar é injetado no riser periférico, o fluxo do líquido é no sentido vertical, em direção ao fundo pelo tubo no centro (downcomer). (CHISTI, 1989)

Existe uma larga variedade de configurações para o modelo do reator *air-lift*, as duas principais classificações são:

- *Air-lift com loop interno* – uma variação de um reator do tipo coluna de bolhas, onde existe uma divisória entre o *riser* e o *downcomer* por uma parede interna;
- *Air-lift com loop externo* – neste tipo, o *riser* e o *downcomer* são dois tubos separados conectados por seções horizontais próximas do topo e do fundo do reator.

Esses dois tipos ainda podem ser subdivididos dependendo de suas peculiaridades. Como por exemplo, reatores de *loop* interno, podem possuir formato cilíndrico dividido ou ter um tubo concêntrico internamente. Os reatores com *loop* externo possuem uma menor variedade, mas muitos *designs* para a ligação horizontal entre o *riser* e o *downcomer*, mais precisamente na conexão de topo. A Figura 5 mostra exemplos de tipos de reatores *air-lift*.

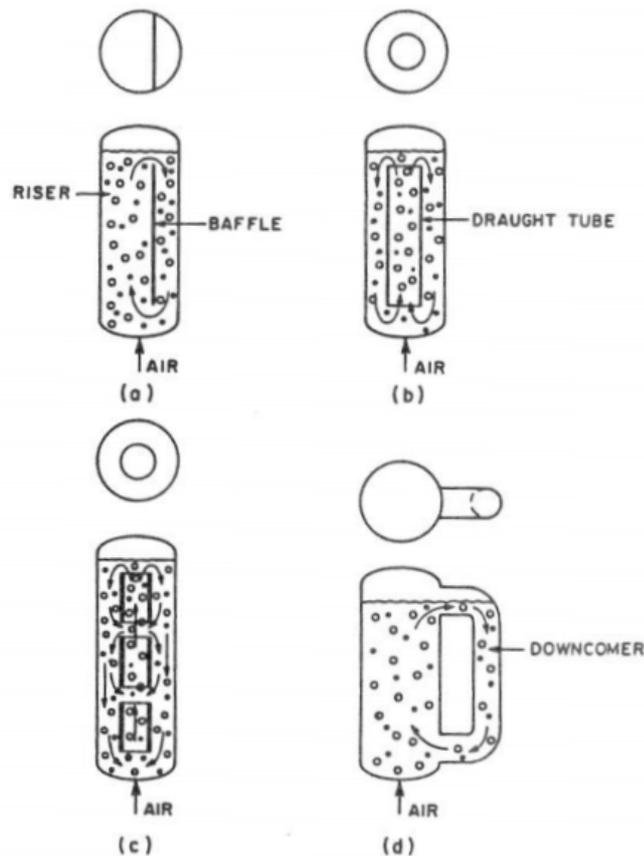


Figura 5: Tipo de reatores *air-lift*: (a) cilindro dividido com loop interno; (b) tubo interno concêntrico de loop interno; (c) tubo interno com divisória vertical; (d) loop externo (CHISTI, 1989).

O principal objetivo dos reatores *air-lift* é facilitar a troca de massa entre as fases, como por exemplo, possibilitando a dissolução do CO_2 da fase gasosa para a líquida, bem como a remoção do O_2 produzido da fotossíntese da fase líquida para a gasosa.

A superioridade dos reatores *air-lift* sob os mecanicamente agitados em termos de transferência de massa para uma determinada energia inserida no sistema é demonstrada por Legrys (1978). A comparação da eficiência da transferência de oxigênio, ou seja, a massa de oxigênio absorvida por unidade de energia investida por unidade de tempo, mostrou que a eficiência do *ALR* está entre as mais altas dos sistemas

agitados. A desvantagem de trabalhar com sistemas de inserção de gás é a facilitação da evaporação do líquido do meio de cultivo. Esse fenômeno é bastante freqüente e causa o abaixamento do nível dentro do reator, podendo deixar partículas de biomassa aderida nas paredes.

2.4 Caracterização do fotobiorreator utilizado

O presente trabalho preocupa-se em avaliar a da vazão de entrada de ar no fotobiorreator sobre o cultivo, a fim de verificar a condição ideal de crescimento. Outros parâmetros deste sistema de cultivo já foram estudados por Kochem (2010), alguns de extrema importância para este trabalho, como tempo de mistura (t_m), tempo de circulação (t_c) e o coeficiente de transferência de massa (k_{La}) para diferentes vazões de ar.

A medida dos tempos de mistura e de circulação de um reator *air-lift* é importante, porque caracterizam o reator do ponto de vista dinâmico e de homogeneização. O tempo de circulação é o tempo que parte do fluido leva para completar o movimento em torno da camisa, enquanto que o tempo de mistura é igual a 95 % do tempo necessário para se atingir a homogeneidade do sistema, ou seja, para que em qualquer ponto do reator se observe a mesma concentração de determinada substância (CHISTI, 1989).

Os resultados obtidos segundo Kochem (2010) estão representados nas Figura 6, Figura 7 e Figura 8:

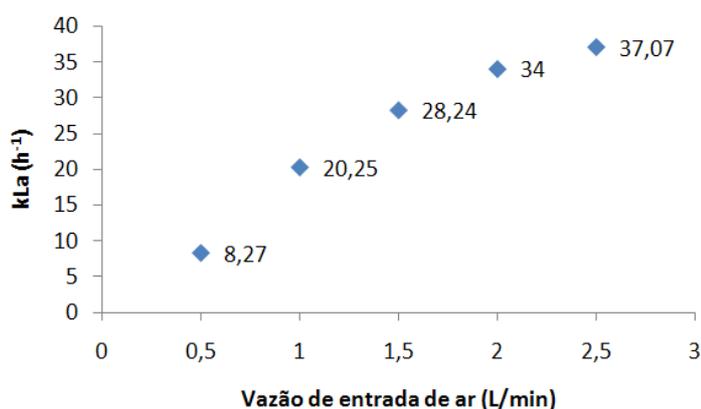


Figura 6: fator k_{La} em função da vazão de entrada de ar (KOCHEM, 2010).

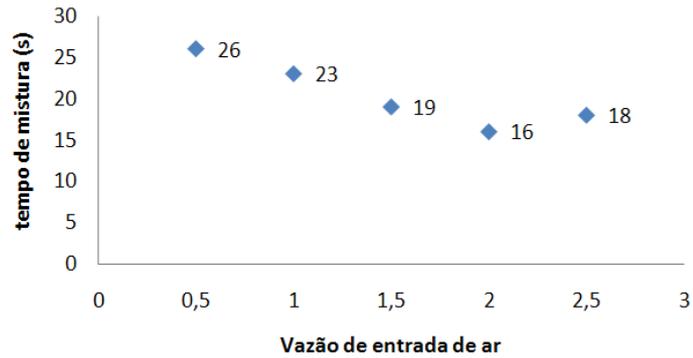


Figura 7: Tempo de mistura em função da vazão de entrada de ar (KOCHEM, 2010).

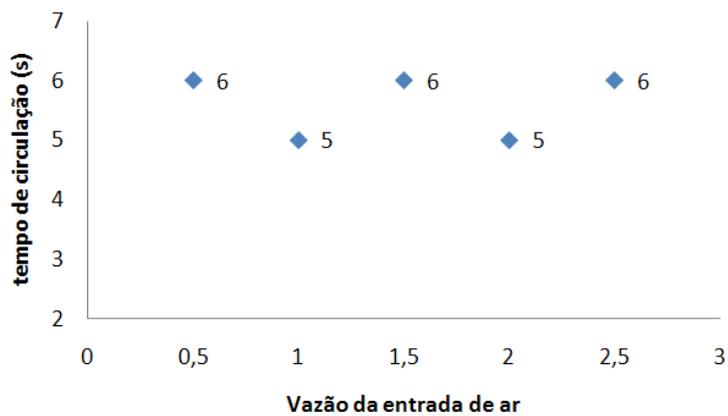


Figura 8: Tempo de circulação em função da vazão de entrada de ar (KOCHEM, 2010).

Os dados de k_La obtidos mostram que há uma mudança grande nos valores partindo de 0,5 L/min até 2,5 L/min, chegando a ficar quase quatro vezes maior. Também é possível prever uma tendência dos valores a ficarem constantes em uma vazão de ar muito grande. O tempo de mistura também é menor para vazões altas, o que é esperado. O tempo de circulação mantém-se praticamente constante, sendo possível atribuir a diferença entre eles a algum possível erro experimental.

Analisando os resultados, é impulsivo que se prefira projetar um fotobiorreator para trabalhar com a maior vazão, para obter uma transferência de massa mais efetiva. No entanto, é possível que não haja necessidade de utilizar a vazão máxima, uma vez que outros fatores podem ser os limitantes do cultivo, e valores menores podem ser mais adequados.

3. Materiais e métodos

3.1 Fotobiorreator

Neste trabalho, foram realizados experimentos em fotobiorreatores do tipo *air-lift* com loop externo feitos de acrílico, cujo volume útil é de 2,89 L; também possuem uma camisa interna para a troca de calor com o banho termostático que mantém o fotobiorreator a temperatura de 30 °C para a *C. minutíssima* e 30 °C para a *D. tertiolecta*. As dimensões úteis externas do reator são as seguintes: altura, 450 mm; largura, 108 mm; profundidade, 80 mm; como mostra a Figura 9.

A assepsia dos biorreatores foi realizada com uma solução de 5 mL/L de solução comercial de hipoclorito de sódio. Após quinze minutos, o cloro ativo foi neutralizado com 2,5 mL/L de solução de tiosulfato de sódio 250 g/L. Essa água de lavagem foi descartada e os meios de cultivo foram colocados nos reatores.

Uma corrente de ar comprimido filtrado com membrana de 0,22 µm Midisart®2000 da Sartorius Stedim Biotech é distribuída e medida por rotâmetros individuais para cada reator. Os filtros de ar foram usados para que possíveis sujeiras presentes na tubulação não contaminassem o cultivo.

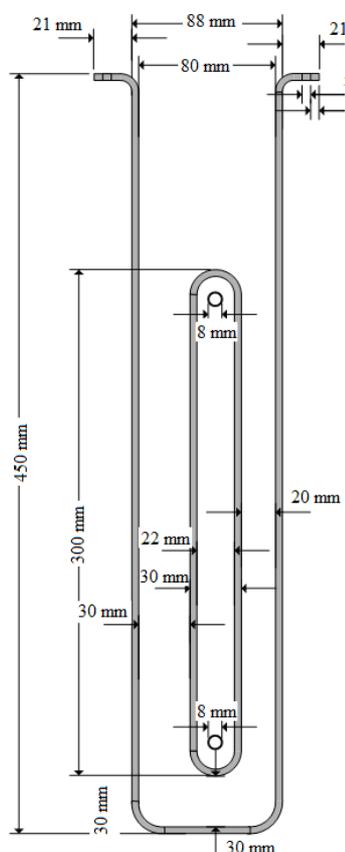


Figura 9: Vista lateral do fotobiorreator utilizado (KOCHEM, 2010).

A Figura 10 mostra os biorreatores no primeiro dia de cultivo. Ainda bastante diluídas, com um verde claro, as microalgas encontram-se na fase de adaptação ao meio de cultivo.

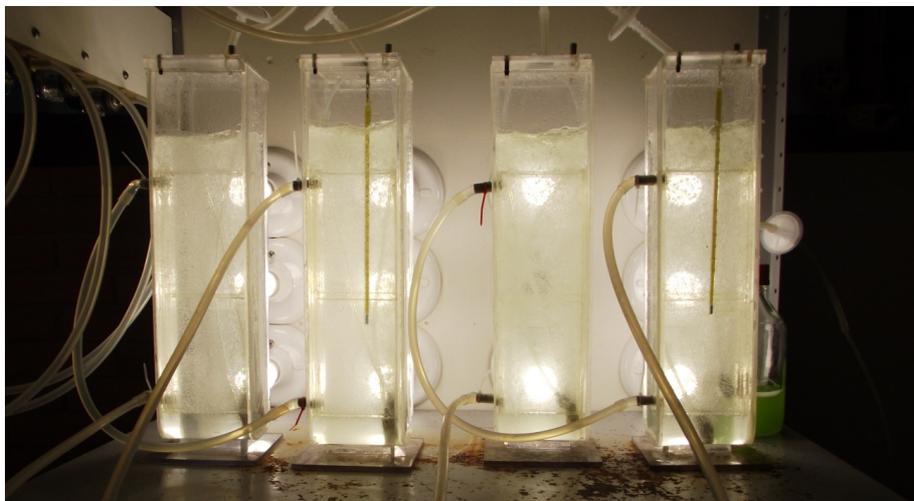


Figura 10: Foto dos biorreatores em start-up.

3.2 Meio de cultivo

O meio de cultivo utilizado é o meio Guillard - “f1/2” (LOURENÇO, 2006) utilizando água do mar artificial contendo (por litro): 34 g de sal marinho (Red Sea), 75 mg de nitrato de sódio, 5 mg de fosfato de sódio, 30 mg de silicato de sódio, 1 mL de solução de metais-traço, 1 mL de solução de vitaminas e 1 mL de solução-tampão de pH. A solução de metais-traço contém (por litro): 9,8 mg de $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, 22 mg de $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 1 mg de $\text{CoCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, 180 mg de $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 6,3 mg de $\text{Na}_2\text{MoO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, 4,36 g de Na_2EDTA e 3,15 g de $\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. A solução de vitaminas contém (por litro): 100 mg de tiamina, 0,5 mg de cianocobalamina e 0,5 mg de biotina. A solução tampão de pH serve para manter o pH entre 7,5 e 8,5 e foi feita com 50 g de TRIS, aproximadamente 30 mL de ácido clorídrico para ajustar o pH em valor de 7,1 a 7,3 e água destilada, sendo o volume total da solução de 200 mL.

3.3 Microrganismos e metodologia de cultivo

Neste trabalho foram utilizadas as microalgas *Chlorella minutissima* e *Dunaliella tertiolecta*. As microalgas foram pré-inoculadas em frascos Erlenmeyer de 500 mL, sendo utilizados 10 mL de cultura estoque da microalga e 100 mL de meio de cultivo, e colocadas em estufa rotatória (Figura 11) com agitação de 90 rpm e temperatura e 30 °C com iluminação constante por lâmpadas eletrônicas totalizando 64 W (aproximadamente 1000 lux) . Após 7 dias, foram adicionados mais 100 mL de meio de cultivo. Para a inoculação dos biorreatores, o conteúdo dos frascos Erlenmeyer foi

homogeneizado em um recipiente estéril, a fim de erradicar variações devido à diferença no crescimento entre as microalgas na estufa rotatória.



Figura 11: Estufa rotatória com os pré-inóculos das microalgas *D. tertiolecta*.

O cultivo de *D. tertiolecta* foi realizado em oito fotobiorreatores, com quatro diferentes vazões de entrada de ar em duplicata: 0,5 L/min, 1,0 L/min, 1,5 L/min e 2,0 L/min. A alga *C. minutissima* foi cultivada em seis reatores, com três vazões de entrada de ar em duplicata: 0,5 L/min, 1,25 L/min e 2,0 L/min. A vazão de ar foi controlada através de rotômetros (Dwyer). Os ensaios foram feitos em duplicata.

A temperatura dos cultivos foi medida através de termômetros, e a intensidade luminosa foi monitorada através de luxímetro digital MS6610 da Akso. O pH foi medido através de fita indicadora de pH Alkalit® da marca Merck, que mede na faixa de 7,5 a 14.

O crescimento das algas foi monitorado através de medida de densidade ótica da cultura a 570 nm com espectrofotômetro Amersham Biosciences modelo Ultrospec 3100 pro e relacionada com biomassa (X) por medida de peso-seco. A curva padrão, da biomassa relacionada com a densidade ótica para *C. minutissima* e *D. tertiolecta* estão mostradas nas Figura 12 e Figura 13.

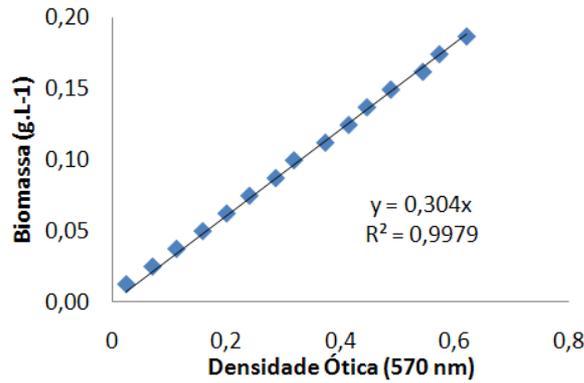


Figura 12: Relação da biomassa em g/L e densidade ótica a 570 nm para *C. minutissima* (REDAELLI, et al., 2010).

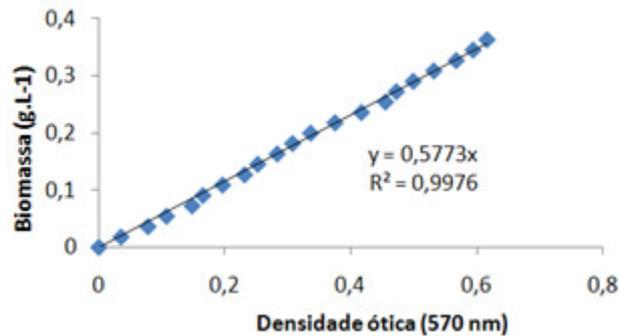


Figura 13: Relação da biomassa em g/L e densidade ótica a 570 nm para *D. tertiolecta*.

Alíquotas de aproximadamente 2 mL para a medida de crescimento eram coletadas três vezes ao dia, com intervalos de aproximadamente 6 horas entre cada uma, totalizando 12 pontos. O volume total perdido nas coletas pode ser desconsiderado, visto que representa cerca de 1,0% do volume do reator.

3.4 Análise do teor de lipídios

A fim de determinar se a vazão de entrada de ar influencia na produção de lipídios, é necessário analisar o teor deste na microalga. Após o cultivo, as amostras foram centrifugadas e a biomassa foi liofilizada. A análise foi feita pesando-se cerca de 0,1 g da biomassa seca e depois colocada em um aparelho extrator do tipo Soxhlet Soxtec Avanti Foss. O solvente utilizado na extração foi éter de petróleo P.A. da marca Dinâmica, sendo necessários três ciclos de recirculação e lavagem da amostra, cada um com 100 mL de solvente para extração completa dos lipídios. Este método foi condicionado previamente em outros experimentos, verificando a extração final através da não variação da massa da amostra final.

4. Resultados e discussões

4.1 Cultivo *C. minutissima*

Para a microalga *C. minutissima*, a curva de crescimento e a biomassa final estão representados nas Figura 14 e Figura 15 respectivamente:

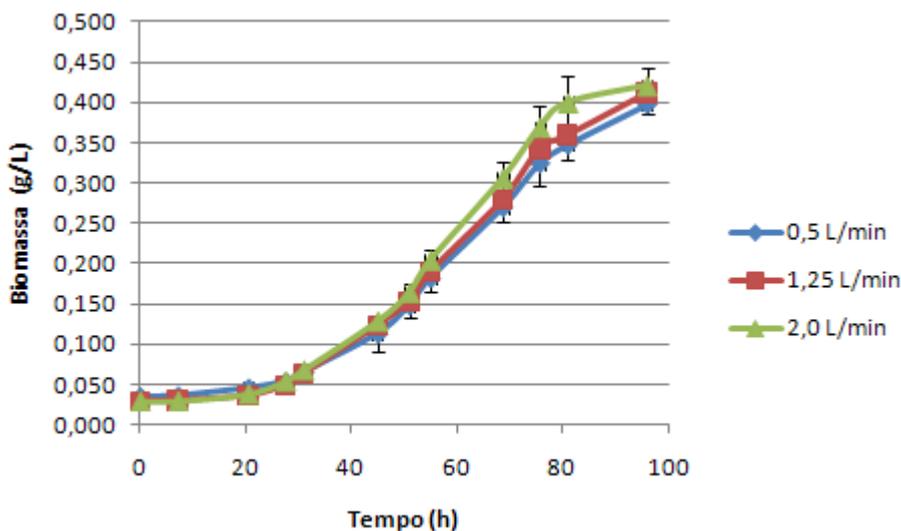


Figura 14: Crescimento de *C. minutissima* com diferentes vazões de entrada de ar.

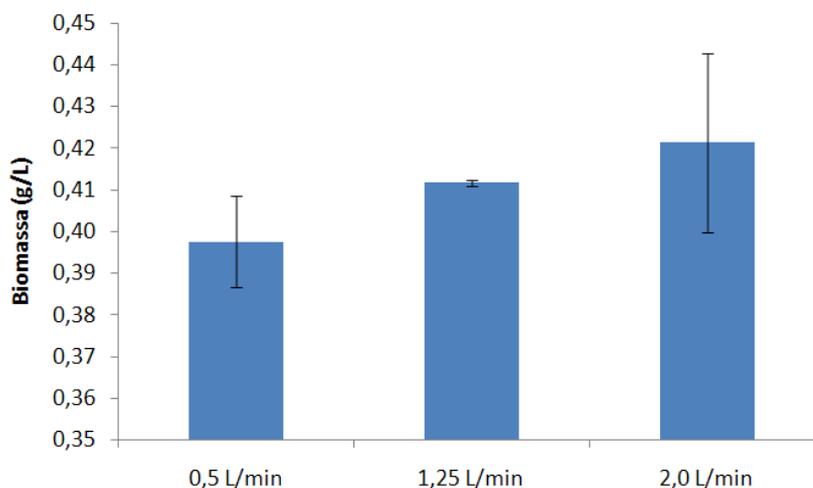


Figura 15: Biomassa final para *C. minutissima* em diferentes vazões de ar.

Observa-se que não houve variação significativa de crescimento entre os cultivos, uma vez que todos alcançaram praticamente a mesma biomassa final. A única diferença entre eles foi a velocidade específica de crescimento na fase log, sendo maior para vazões de ar superiores.

Ao final do experimento, foram medidos os volumes de cada reator e percebeu-se que, para vazões de entrada de ar altas, há uma perda muito grande de água por

evaporação, chegando a mais de 10% do volume inicial nos reatores com vazão de 2,0 L/min. Os reatores com vazão de 0,5 L/min quase não apresentaram perdas.

A evaporação de água dos reatores pode explicar a aparente diferença nos resultados experimentais: Para uma mesma quantidade de biomassa, se o volume da solução for menor, ela será mais concentrada. Como o crescimento é acompanhado por espectrometria, que mede a concentração dos reatores indiretamente pela obstrução do feixe de luz, esta causa de erro deve ser considerada.

A única forma de confirmar se esta diferença é verdadeira, seria pesar previa e posteriormente o biorreator, e comparando com a curva de crescimento da biomassa, ou utilizar outra técnica para o acompanhamento do crescimento, como contagem de células.

4.2 Cultivo *D. tertiolecta*

Para a microalga *D. tertiolecta*, a curva de crescimento e a biomassa final estão representados nas Figuras 16 e 17 respectivamente:

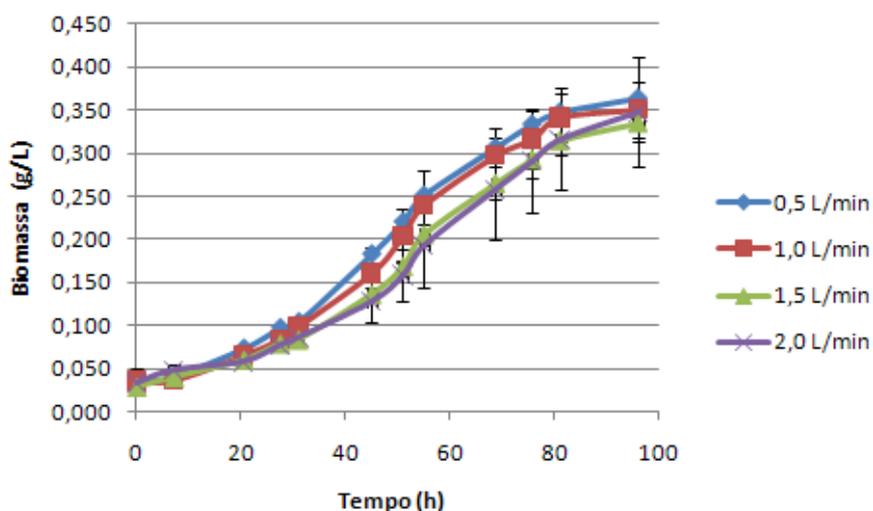


Figura 16: Crescimento de *D. tertiolecta* em diferentes vazões de ar

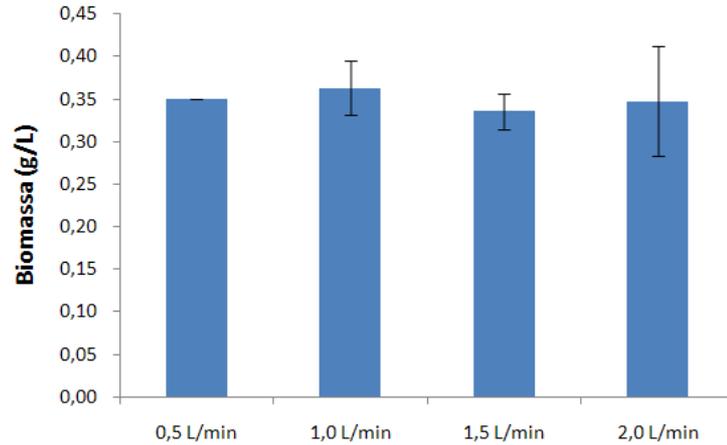


Figura 17: Biomassa final para *D. tertiolecta* em diferentes vazões de ar.

A *D. tertiolecta* comporta-se de maneira contrária ao previsto, pois há uma diminuição do crescimento quando a vazão de entrada de ar é aumentada. Mas a concentração de biomassa final foi praticamente a mesma para todas as vazões.

Foi observado que há flotação da microalga para as vazões de 1,0 L/min; 1,5 L/min e 2,0 L/min, ocorrendo com mais intensidade para as maiores. Isso pode ter ocorrido pois, devido à natureza da espécie de microalga, foram estabelecidas condições para que ocorresse a flotação no sistema. Este fato acaba diminuindo a concentração e a circulação da biomassa útil dentro do biorreator, o que leva a um cultivo deficiente e ineficaz. Isso pode explicar porque houve crescimento diferenciado entre os biorreatores.

A Figura 18 mostra a flotação da biomassa nos biorreatores.

A variação de volume foi considerável para os reatores com vazões superiores a 0,5 L/min, aumentando o erro da medida de concentração por espectrofotometria para mais. Ou seja, os biorreatores com 1,0 L/min; 1,5 L/min e 2,0 L/min tiveram um crescimento de biomassa muito menor em comparação ao reator com a menor vazão, demonstrando que estas vazões, além de desnecessárias, causam distúrbios que levam à inutilização de biomassa.

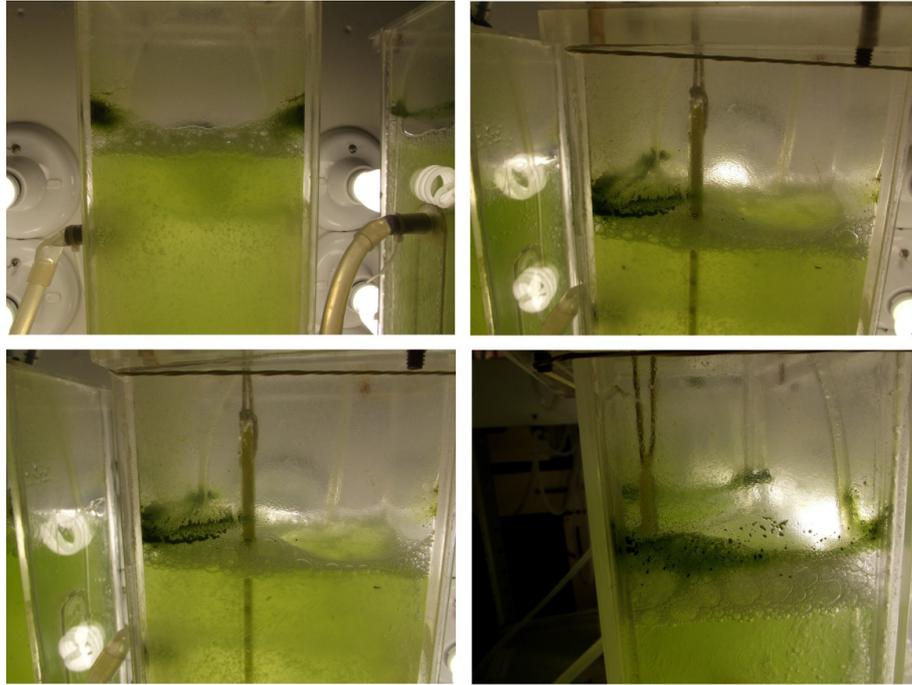


Figura 18: Flotação da *D. tertiolecta* em diferentes fotobiorreatores

4.3 Extração de lipídios

Os resultados obtidos para o teor de lipídios para as diferentes vazões estão apresentados nas Figura 19 e 20.

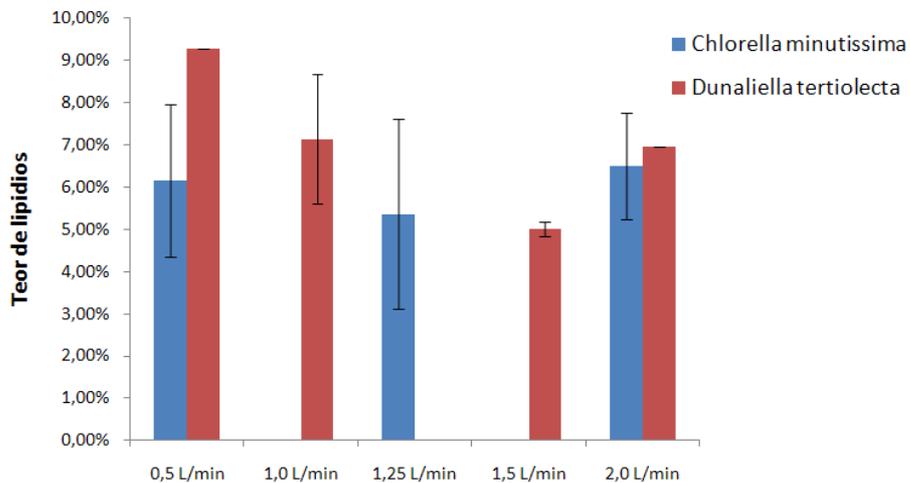


Figura 19: Teor de lipídios para as microalgas *C. minutissima* e *D. tertiolecta*.

É possível identificar que os maiores níveis de lipídios encontram-se na vazão de 0,5 L/min para a *D. tertiolecta*, demonstrando que esta espécie de microalga possa ser sensível à tensão de cisalhamento, havendo danos celulares devido à alta velocidade do gás é injetado no biorreator.

Os níveis de teor lipídico da *C. minutissima* ficaram todos dentro da mesmo intervalo de valores, mostrando que esta espécie de microalga não é afetada pela variação da velocidade das bolhas de ar, sendo aparentemente mais resistente.

5. Conclusões

O uso de biorreatores *air-lift* para a produção de microalgas é bastante promissor, visto que ela se reproduz muito bem nas condições de cultivo estudadas. Além disso, a injeção de ar possui duas finalidades que se mostraram altamente eficazes no experimento: a mistura do reator e a introdução da fonte de carbono utilizada pelo microrganismo.

O crescimento da *C. minutissima* não sofreu alterações significativas quanto à rapidez ou concentração da biomassa final nas diferentes condições de cultivo, mostrando-se capaz de crescer sem problemas com tensões de cisalhamento mais altas. O teor lipídico não sofreu alteração devido às mudanças nos parâmetros de vazão de ar.

A *D. tertiolecta* demonstrou ser sensível a velocidades do ar muito altas, uma vez que o seu crescimento foi retardado naquelas vazões mais altas, embora tenha chegado a uma concentração final parecida. O teor lipídico também foi afetado pela tensão de cisalhamento, observando-se uma maior concentração de óleos nos cultivos de 0,5 L/min.

Houve perda excessiva de água nos fotobiorreatores com causa das altas vazões de ar nos cultivos de ambas as espécies de microalgas. A alta velocidade do ar arrastou o vapor d'água para fora do sistema nos experimentos. Esta alta vazão de ar também foi responsável por fazer a biomassa de *D. tertiolecta* flotar, dificultando o crescimento e inutilizando biomassa útil.

É correto afirmar que a vazão de 0,5 L/min no biorreator indica ser a melhor dentre as testadas para o crescimento pleno das microalgas, uma vez que ela não ocasionou evaporação do meio de cultivo e vazões superiores a esta não se mostraram mais eficientes para o crescimento.

Portanto, o parâmetro $k_L a$ não é o fator limitante para o cultivo das microalgas, podendo-se utilizar uma vazão de entrada de ar de 0,5 L/min, que é suficiente para o seu cultivo pleno, sem danos à biomassa e à sua composição.

6. Trabalhos futuros

Avaliar os parâmetros nutritivos do fotobiorreator, como as fontes de Nitrogênio e Carbono, por exemplo, para determinar o fator limitante de crescimento das espécies de microalgas do trabalho.

7. Referências bibliográficas

BORGES, L.; DE FARIA, B. M.; ODEBRECHT, C.; ABREU, P. C. Potencial de absorção de carbono por espécies de microalgas usadas na aquicultura: primeiros passos para o desenvolvimento de um "mecanismo de desenvolvimento limpo". *Atlântica*, Rio Grande, n. 29, p. 35-46, 2007.

CHISTI, Y. **Airlift Bioreactors**. Londres: Elsevier Applied Science, 1989.

CHISTI, Y. Research review paper Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances** **25**, 2007. 294–306.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends in Biotechnology**, v. 26, n. 3, p. 126-131, 2008.

FALKOWSKI, P. G.; RAVEN, J. A. **Aquatic Photosynthesis**. Oxford: Blackwell Scientific Publishers, 1997. 374 p.

GARCIA-OCHOA, F.; GOMEZ, E.; SANTOS, V. E.; MERCHUK, J. C. Oxygen uptake rate in microbial processes: An overview. **Biochemical Engineering Journal** **49**, 2010. 289-307.

GUILLARD, R. L. L. **Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates**. New York: Plenum Publishing, 1975.

HUANG, G.; CHEN, F.; FEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalga biotechnology. **Appl Energy**, 2009.

KOCHEM, L. H. **Caracterização de fotobiorreator air-lift**. Porto Alegre: Trabalho de conclusão do curso de Engenharia Química, 2010.

KURANO, N.; IKEMOTO, H.; MIYASHITA, H.; HASEGAWA, T.; H HATA, H.; S MIYACHI, S. Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis. **Energy Convers. Mgmt. Vol. 36, nº 6-9: 689-692**, 1995.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. São Carlos, SP: RiMa, 2006.

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

MERCHUK, J. C.; GLUTZ, M. Bioreactors, air-lift reactors. **Encyclopedia of Bioprocess Technology: Fermentation, Biocatalysis and Bioseparation**, p. 320-324, 327, 340-344, 1999.

REDAELLI, C.; RECH, R. **Absorção de gás carbônico por microalgas em fotobiorreatores**. IX Oktoberforum - Programa de Pós-graduação de Engenharia Química UFRGS. Porto Alegre: [s.n.]. 2010.

SCHMIDELL, W.; LIMA, U. D. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial Volume 2 - Engenharia Bioquímica**. [S.l.]: [s.n.], 2001. 560 p.

SHEEHAN, J.; DUFFIELD, J.; GRABOSKI, M.; SHAPOURI, H. An overview of biodiesel and petroleum diesel life cycles. **US Department of agriculture and Energy Report**, 1998. 1-35.

WANG, B.; LI, Y.; WU, N.; LAN, C. CO₂ bio-mitigation using microalgae. **Applied Microbiology and Biotechnology** **79**, 2008. 707-718.

XU, L.; WEATHERS, P. J.; XUE, R. X.; CHUN, Z. L. Microalgal bioreactors: Challenges and opportunities. **Eng. Life Science**, **9**, 2009. 178-179.