



Estudo da Taxa de Crescimento de Microorganismos e Proposta de Modelo para Produção de Biomassa de *Haematococcus pluvialis*

R. M. Galvão ^{a,b}, T. S. Santana ^a, C. H. O. Fontes ^a, E. A. Sales ^a

a. Universidade Federal da Bahia, UFBA, Escola Politécnica, Laboratório de Bioenergia e Catálise (LABEC) Rua Aristides Novis, n° 2 – Federação. CEP 40210-630 Salvador, Bahia, BRASIL

b. Corresponding author: rosamgalvao@gmail.com

Resumo

O uso de microalgas como matéria-prima para produção de biocombustíveis tem sido apontado, por muitos pesquisadores, como essencial para reduzir as emissões dos gases que provocam o efeito estufa, visto que o cultivo de microalgas pode atuar no processo de sequestro de CO₂ e a biomassa formada pode ser utilizada na substituição de combustíveis fósseis. Dessa forma o interesse pela otimização do cultivo de microalga não está somente na fonte de produtos de alto valor agregado, mas na formação de um novo subproduto, o biocombustível. Neste trabalho foi avaliado o crescimento da microalga *Haematococcus pluvialis* nas condições de luminosidade de 10000 lux, temperatura 298 ± 1 K e pH na faixa de 7,0 a 9,0. Foi possível avaliar a produção da biomassa por um modelo com comportamento exponencial, onde os parâmetros foram ajustados de forma a descrever o desempenho do crescimento da microalga ao longo do tempo.

Palavras-chave: *Biomassa microalgal, taxa de crescimento, Haematococcus pluvialis, modelagem.*

1 Introdução

O uso de microalgas como matéria-prima para produção de biocombustíveis tem sido apontado, por muitos pesquisadores, como essencial para reduzir as emissões dos gases que provocam o efeito estufa.

Atualmente, os biocombustíveis são produzidos a partir de plantas oleaginosas como soja, girassol, mamona, dendê, entre outras. Porém, as microalgas são consideradas uma alternativa adequada para uma nova geração de biodiesel por apresentarem um alto conteúdo de óleo (Gouveia and Oliveira, 2009). O biodiesel de microalgas é tecnicamente viável e é o único combustível renovável que apresenta o potencial de substituir completamente os combustíveis derivados de petróleo. Como as plantas, as microalgas usam luz solar para produzir óleo e ainda o fazem de forma mais eficiente que as plantas oleaginosas (Chisti, 2007) (Tab. 1).

Tab. 1: Comparação de algumas fontes de produção biodiesel.
(Chisti, Y., 2007)

Fonte	Rendimento de óleo (L/ha)
Milho	172
Soja	446
Canola	1.190
Jatropha (pinhão manso)	1.892
Côco	2.689
Palma	5.950
Microalga ^a	136.900
Microalga ^b	58.700

a: 70% de óleo (por peso) em biomassa

b: 30% de óleo (por peso) em biomassa

O cultivo em massa de microalgas tem despertado interesse na área de bioenergia, mas já é praticado há muitos anos como fonte de produtos de química fina, alimentos e tratamento de efluentes. Atualmente, a fotossíntese das microalgas é considerada significativa para redução das emissões de dióxido de carbono (Yun and Park, 2003).

As microalgas produzem corantes, ácidos graxos, polissacarídeos e vitaminas que são de grande interesse para indústrias farmacêuticas, de alimentos, têxteis, entre outras. Assim, o biodiesel de microalgas pode ser considerado um subproduto no contexto de produtos de alto valor agregado.

Com o aumento do interesse do cultivo em massa de microalgas, a modelagem cinética do crescimento tem se tornado importante, uma vez que um modelo adequado é necessário para projetar fotobiorreatores eficientes, prever o desempenho do processo e otimizar as condições de operação (Yun et al., 2003).

Neste trabalho foi avaliado o crescimento da *Haematococcus pluvialis* nas condições de luminosidade média de 10000 lux, temperatura 298 ± 1 K e pH no intervalo de 7,0 a 9,0. Esta microalga além de possuir considerável concentração de lipídeos, ainda produz o pigmento astaxantina, o qual, devido à sua coloração atrativa e funcionalidade biológica, é utilizado como suplemento alimentar, corante em alimentos e fonte de pigmento em aquicultura (V. Ghiggi, 2007).

1.1 Estudo da taxa crescimento de microorganismos

A taxa de crescimento de microorganismos pode ser descrita em função de diversos parâmetros que podem influenciar o crescimento. A Equação de Monod (ver Eq. 1) descreve o crescimento de bactérias em função da concentração de um único substrato limitante.

$$\mu_x = \frac{\mu_m S}{K_s + S} \quad (1)$$

Onde μ_x (h^{-1}) é a velocidade específica de crescimento, μ_m (h^{-1}) é a velocidade máxima de crescimento (parâmetro cinético), K_s é a constante de Monod e S é a concentração de insumo limitante.

Moser (1958) e Cantois (1959) também estudaram a taxa de crescimento de

microrganismos em função de único substrato limitante. Já Dunn et al. (1992), Megge et al. (1972) e Tsao e Hanson (1975) estudaram o crescimento em função de múltiplos substratos limitantes. Andrews (1968) e Wu et al. (1988) avaliaram o crescimento de microrganismos num único substrato limitante e na presença de um inibidor (Schimidell et al., 2001).

Carlozzi e Pinzani (2005) avaliaram o crescimento de *Arthrospira* em um reator fechado do tipo bobina e com a incorporação de um manto para controle de temperatura. Concluiu-se que o sistema airlift é bastante adequado para o reciclo de cultura e que deve ser feito um estudo sobre a injeção de CO₂ para melhor aproveitamento deste gás.

Pérez et al. (2008) desenvolveram um modelo cinético para estudar a taxa específica de crescimento da *Phaeodactylum tricornutum* em culturas em batelada. Para este estudo os fatores avaliados foram pH, temperatura e irradiância. As Eqs. 2, 3 e 4 apresentam o efeito destes parâmetros para o microorganismo citado.

$$\mu = \frac{\mu_{\max}}{1 + \left(\frac{[H^*]}{K_1} \right) + \left(\frac{K_2}{[H^*]} \right)} \quad (2)$$

μ é a taxa ou velocidade específica de crescimento (h⁻¹), μ_{\max} é o coeficiente cinético de taxa máxima (h⁻¹), $[H^*]$ corresponde a concentração de prótons (mol/L) e K_1 e K_2 são constantes cinéticas (mol/L).

$$\mu = A \cdot \exp\left(-\frac{E_a}{RT}\right) - B \cdot \exp\left(-\frac{E_b}{RT}\right) \quad (3)$$

μ é a taxa específica de crescimento (h⁻¹), E_a e E_b correspondem à energia de ativação do crescimento e da degradação celular (mol/L), R é a constante universal dos gases (kcal/mol), T é a temperatura (K), e A e B são fatores de frequência (h⁻¹).

$$\mu = \frac{\mu_{\max} I}{I + K_I} \quad (4)$$

Onde μ (h⁻¹) é a taxa específica de crescimento, I é a média da irradiância (lux), e μ_{\max} (h⁻¹) e K_I (lux) são parâmetros da equação de Monod.

Merchuk e Wu (2003) estudaram a modelagem de fotobioreatores aplicando uma simulação de um reator do tipo *bubble column*. Neste trabalho os autores relacionam alguns trabalhos que consideram a distribuição de luz dentro do volume do reator, o fenômeno de fotoinibição e o efeito positivo da alternância de luminosidade.

Yokota et al. (1994) propuseram uma nova relação entre a taxa de crescimento específico e a taxa de absorção específica de energia luminosa, verificando dados experimentais para cultura de *Chlorella ellipsoidea* assim como dados publicados para culturas de *Spirulina sp.* e *Oscillatoria agardhii*. Um actinômetro foi usado para medir a intensidade luminosa e a análise dos parâmetros do modelo proposto foi feita. Dos três parâmetros, apenas um depende da intensidade luminosa e os resultados obtidos mostraram uma correspondência satisfatória com os valores medidos.

Neste trabalho a produção da biomassa da *Haematococcus pluvialis* foi ajustada por um modelo exponencial e os parâmetros foram ajustados a partir dos dados experimentais de forma a descrever o comportamento do crescimento da microalga ao longo do tempo.

2 Metodologia

O inóculo da microalga *Haematococcus pluvialis* (Fig. 1) foi mantido em uma câmara de fotoperíodo nas condições de temperatura de 298 ± 1 K e luminosidade de cerca 10000 lux. O meio de cultura utilizado foi o meio de Rudic (RM) citado em E. Imamoglu et al., 2007. A composição dos nutrientes está apresentada na Tabela 2 a seguir.



Fig. 1: Microalga *Haematococcus pluvialis*

Tab. 2: Composição dos nutrientes para o meio de cultura RM.

Nutriente	RM (mg/L)
NaNO ₃	300
K ₂ HPO ₄	80
KH ₂ PO ₄	20
MgSO ₄ .7H ₂ O	10
CaCl ₂ .2H ₂ O	58,5
EDTA	7,5
NaCl	20
H ₃ BO ₃	0,3
MnSO ₄ H ₂ O	1,5
ZnSO ₄ .7H ₂ O	0,1
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,3
CuSO ₄ .5 H ₂ O	0,08
Co(NO ₃) ₂ .6H ₂ O	0,26
FeCl ₃ .6H ₂ O	17

Os experimentos foram realizados em um reator tipo placa plana (ver Fig. 2), com dimensões 0,08 x 0,2 x 0,3 m. O volume reacional foi de 3,5 L, tendo-se 10% deste correspondente ao inóculo. A intensidade de luz estudada foi de 10000 lux, a temperatura foi mantida em 298 ± 1 K e o pH ficou na faixa de 7,0 a 9,0.

Para análise do aumento da biomassa microalgal foi utilizado o método de contagem em câmara de Neubauer (Lourenço, 2006) e utilizou-se um microscópio (Carl Zeiss – Axiostar Plus).

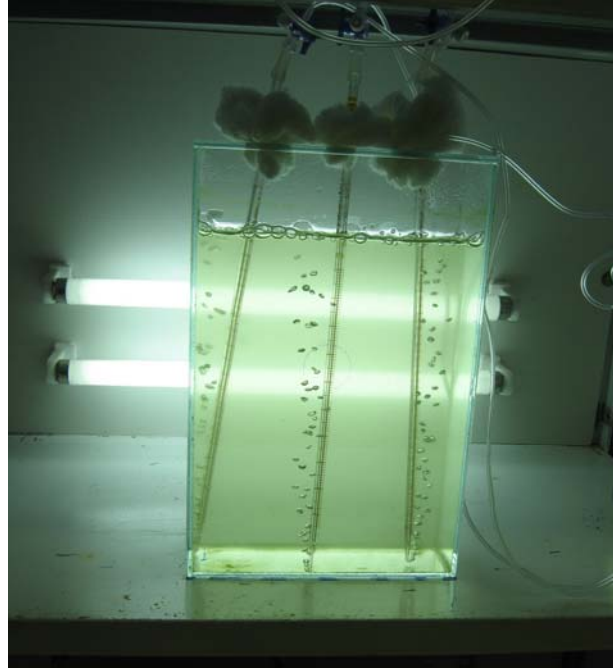


Fig. 2: Reator Placa Plana

3 Resultados e Discussão

Verificou-se que a curva de crescimento da biomassa possui um comportamento de uma curva exponencial, similar a um modelo dinâmico de um sistema de 2^a ordem com característica criticamente amortecido (Sthephanopoulos, 1984). Tendo-se a existência de um tempo morto, conforme se constata através dos dados, chegou-se a uma curva de ajuste para o crescimento da biomassa descrita pela Equação 5.

$$\begin{cases} y(t) = y_0 + A \cdot \left[1 - \left(1 + \frac{t - t_m}{B} \right) \cdot e^{-\frac{t - t_m}{B}} \right] & \text{para } t > t_m \\ y(t) = y_0 & \text{para } t \leq t_m \end{cases} \quad (5)$$

Onde y corresponde a concentração de biomassa microalgal (células/mL), A (células/mL) e B (horas) são parâmetros da equação, t_m é tempo morto (horas), t é tempo (horas) e y_0 corresponde a concentração de biomassa inicial (células/mL).

Com base nos dados experimentais da Fig. 3, os valores estimados para A e B foram de 60476 células/mL e 30,9 horas, respectivamente. Estes valores foram estimados com a utilização do software Matlab, considerando o tempo morto pré-fixado diretamente a partir dos dados experimentais no valor de 21 horas. Este

ajuste da curva foi feito através da resolução de um algoritmo de mínimos quadrados não linear fixando-se uma região de busca (restrições de desigualdade) para os parâmetros.

Dessa forma, para o caso do cultivo da *Haematococcus pluvialis* na média de luminosidade de 10000 lux e temperatura de 298 ± 1 K, a Eq. 5 pode ser reescrita como apresentado na Eq. 6.

$$\begin{cases} y(t) = 1250 + 60476 \cdot \left[1 - \left(1 + \frac{t-21}{30,9} \right) \cdot e^{-\frac{t-21}{30,9}} \right] & \text{para } t > t_m \\ y(t) = 1250 & \text{para } t \leq t_m \end{cases} \quad (6)$$

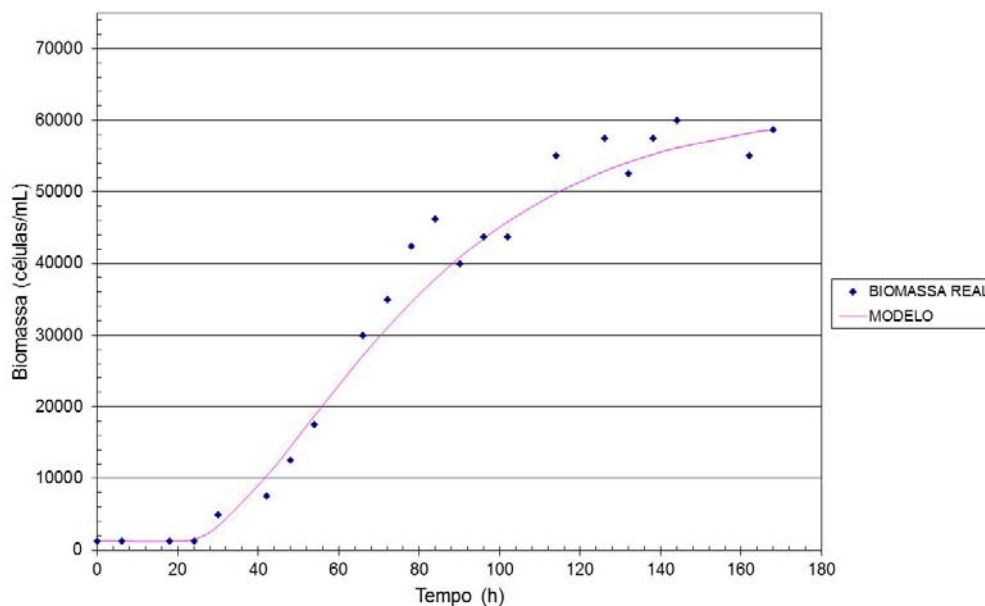


Fig. 3: Curva da biomassa formada (células/mL) versus tempo (h).

Nota-se que o modelo exponencial proposto descreve de forma satisfatória o crescimento da biomassa para a faixa de luz analisada, onde o coeficiente de correlação foi de 0,98. O estudo deste modelo pode ser expandido para outras faixas de luz, nas quais não ocorre a excitação da microalga que resulta na modificação metabólica da mesma. A realização de experimentos em outras faixas de intensidade de luz permitirá uma revisão do modelo obtido (Eq. 6) viabilizando a identificação de um termo adicional que contemple o efeito do valor da intensidade luminosa sobre o crescimento da microalga.

4 Conclusões

Neste trabalho foi possível avaliar as equações que descrevem a taxa de crescimento de microorganismos e examinar um modelo para descrever o crescimento da microalga *Haematococcus pluvialis*. Para temperatura de 298 ± 1 K e luminosidade de 10000 lux, a curva de crescimento da biomassa segue um modelo exponencial. De acordo com dados experimentais, foi possível determinar

os parâmetros para este modelo que conseguiu descrever o comportamento do crescimento da microalga em estudo. O estudo para o cultivo em outras faixas de intensidade luminosa viabilizará a previsão do efeito desta variável sobre o crescimento da *Haematococcus pluvialis*.

5 Referências

Andrews, J.F., 1968, A mathematical model for the continuous culture of microorganisms utilizing inhibitory substrates, *Environmental Systems Engineering*, 707-723, Clemson.

Chisti, Y., 2007, Biodiesel from microalgae: *Biotechnology Advances*, 25, 294-306.

Carlozzi P. e Pinzani E., 2005, Growth characteristics of *Arthorspira platensis* cultured inside a new close-coil photobioreactor incorporating a mandrel to control culture temperature, *Biotechnology and bioengineering*, 90, 6, 675- 684, Firenze.

Gouveia, L., and A. C. Oliveira, 2009, Microalgae as a raw material for biofuels production: *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology*, 36, 269-274.

Imamoglu, E., Sukan F.V., Dalay, M.C., 2007, Effect of different culture media and light intensities on growth of *Haematococcus pluvialis*, *International Journal of Natural and Engineering Sciences*, 3, 5 - 9, Turquia.

Lourenço, S.O., 2006, *Cultivo de microalgas marinhas - princípios e aplicações*, Rima Editora, São Carlos.

Merchuk, J. C., e Wu X., 2003, Modeling of photobioreactors, Application to bubble column simulation, *Journal of Applied Phycology*, 15, 163-170, Beer Sheva.

Perez, E. B., I. C. Pina, and L. P. Rodriguez, 2008, Kinetic model for growth of *Phaeodactylum tricornutum* in intensive culture photobioreactor, *Biochemical Engineering Journal*, 40, 520-525.

Schmidell, W., Lima, U.A., Aquarone, E., Borzani, W. 2001. *Biotechnologia Industrial*, 2, Blucher, São Paulo.

Sthephanopoulos, G., 1984, *Chemical Process Control*, Prentice-Hall.

V. Ghiggi, 2007, Estudo do Crescimento de e indução da produção do pigmento astaxantina por *Haematococcus pluvialis*. Curitiba.

Yun, Y. S., and J. M. Park, 2003, Kinetic modeling of the light-dependent photosynthetic activity of the green microalga, *Chlorella vulgaris*, *Biotechnology and Bioengineering*, 83, 303-311.

Yokota, T., Hizume, M., Ohtake, T., 1994, Takahashi, K., A new growth kinetic model for phot-autrophic microalgae culture, 27, Yonezawa.