

BIOFIXAÇÃO DE CO₂ POR *Spirulina* sp. LEB 18 CULTIVADA EM DIFERENTES BIORREACTORES

J. H. DUARTE¹, E. G. MORAIS¹, B. S. VAZ¹, J. B. MOREIRA¹, A. L. M. TERRA¹, J. CORÁ¹, M. G. MORAIS¹ e J. A. V. COSTA¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos
E-mail para contato: jorgealbertovc@terra.com.br

RESUMO – A biofixação de CO₂ por microalgas é uma tecnologia baseada na fotossíntese, para obtenção de carbono orgânico, gerando biomassa aplicável na produção de diversos bioprodutos. O objetivo do trabalho foi avaliar parâmetros cinéticos do cultivo, bem como a biofixação de CO₂ por *Spirulina* sp. LEB 18 em biorreatores dos tipos erlenmeyer, *raceway* e tubular, utilizando-se como fonte de carbono CO₂ comercial. A microalga foi cultivada em meio Zarrouk, com substituição da fonte de carbono por 10% (v/v) de CO₂, nos diferentes biorreatores. Os máximos valores de concentração celular 1,60 g. L⁻¹ e taxa de biofixação (274,5 mg. L⁻¹.d⁻¹) foram obtidos nos cultivos em biorreator tubular, substituindo-se a fonte de carbono original do meio de cultivo por 10% (v/v) de CO₂ comercial. O uso de fontes alternativas para o cultivo de microalgas, como CO₂, pode reduzir custos de produção da biomassa, além de contribuir com a redução da emissão de efluentes gasosos para a atmosfera.

1. INTRODUÇÃO

O aquecimento global, induzido pela elevada concentração de gases de efeito estufa (GEE) na atmosfera, tem sido tema de grande preocupação. Projeções indicam que, em 2030, a concentração de CO₂ atmosférico poderá alcançar 55% das emissões registradas no ano de 2004. Diante disso, tecnologias vêm sendo aplicadas a fim de promover a mitigação destes gases poluentes. O planeta Terra possui cerca de 70% de água, sendo que 97% dessa encontram-se nos oceanos. Nos oceanos, é onde ocorre cerca de 50% da fixação do CO₂ devido às microalgas (Ohse *et al.*, 2007).

Em relação à capacidade fotossintética, as microalgas são mais eficientes que as plantas vasculares e podem ser produzidas em meios de cultivos relativamente simples e em larga escala (Scragg *et al.*, 2002). Atributos desejáveis para a fixação de CO₂ incluem altas taxas de crescimento, tolerância a constituintes dos gases de combustão, tais como SO_x, NO_x, materiais particulados e possibilidade de produção de bioprodutos, como biodiesel e bioetanol, Facilidade de colheita, associados à sedimentação espontânea ou características de biofloculação, tolerância a altas

temperaturas para minimizar o custo de resfriamento de gases de combustão e capacidade de utilizar águas residuais também devem ser considerados (Brennan e Owende, 2010).

Os sistemas de produção de microalgas são baseados em biorreatores abertos e fechados. A configuração do biorreator é um dos principais fatores para controlar a produtividade da biomassa de culturas fotossintéticas. A eficiência de transmissão de luz por unidade de volume de cultivo, capacidade fotossintética, trocas gasosas e a utilização de substratos são afetadas pela geometria do biorreator e pela forma como ele é operado (Luo *et al.*, 2003). A tarefa de projetar um biorreator com adequado sistema de transferência de gás reside em obter uma eficiente dissolução do substrato no meio líquido, não limitando o crescimento das células (Morais e Costa, 2007a).

Nos biorreatores a fonte de carbono deve ser suficientemente fornecida para evitar limitação do crescimento, sendo assim a transferência de CO₂ no meio de cultivo deve ser eficiente, já que o CO₂ não dissolvido é perdido. Outra consideração importante é a transferência de O₂ no sistema, devido à necessidade de remover o oxigênio formado na fotossíntese antes que alcance concentrações inibitórias (Babcock *et al.*, 2002). Um biorreator economicamente viável pode ser projetado, incorporando as seguintes características: proporcionar maior proporção área de superfície/ volume; estabilizar CO₂ absorvido; fornecer tempo suficiente para a absorção de fótons; manter a concentração ótima de microalgas correspondentes a maior taxa; manter o nível desejado de nutrientes (Vasumathi *et al.*, 2012).

O objetivo do trabalho foi avaliar parâmetros cinéticos do cultivo, bem como a biofixação de CO₂ por *Spirulina* sp. LEB 18 em biorreatores dos tipos erlenmeyer, *raceway* e tubular, utilizando-se como fonte de carbono CO₂ comercial.

2. MATERIAL E MÉTODOS

A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foi cultivada em meio Zarrouk contendo (g L⁻¹): NaHCO₃, 16,8; NaNO₃, 2,5; K₂HPO₄, 0,5; K₂SO₄, 1,0; NaCl, 1,0; Mg.SO₄.7H₂O, 0,2; CaCl₂, 0,04; FeSO₄.7H₂O, 0,01; EDTA, 0,08 e micronutrientes. A fonte de carbono do meio foi substituída por CO₂ comercial a uma concentração de 10 % (v/v) em uma mistura com ar. A injeção de CO₂ nos experimentos foi realizada durante a fase clara do cultivo durante 10 min a cada 2 h. Os cultivos tiveram concentração inicial de 0,2 g.L⁻¹ e duração de 10 d.

Em biorreatores do tipo erlenmeyer e *raceway*, a injeção foi realizada a 0,05 vvm, já em biorreatores tubulares verticais, a vazão de ar foi de 0,3 vvm. A Tabela 1 apresenta o valor em mL_{ar}.min⁻¹ injetados nos cultivos durante os experimentos realizados.

Tabela 1 – Valores utilizados de vazão total, de CO₂ e ar em mL_{ar}.min⁻¹ injetados nos experimentos realizados em diferentes biorreatores

Biorreator	Vazão total	Vazão CO ₂	Vazão Ar
Erlenmeyer	90	9	81
Tubular vertical	450	45	405
<i>Raceway</i>	250	25	225

O cultivo em biorreatores fechados do tipo erlenmeyer e tubulares verticais foram conduzidos em estufa termostatizada a 30° C sob condições de luminosidade controladas (43,2 μmol.m⁻².s⁻¹), fotoperíodo 12 claro/escuro sendo que o volume útil dos biorreatores de 1,8 e 1,5 L, respectivamente. Os experimentos realizados em biorreatores abertos *raceway* (volume útil de 5 L) ocorreram sem controle de fatores ambientais em estufa externa com cobertura plástica.

Diariamente foi realizado o monitoramento do crescimento das microalgas, através da medida da concentração celular, determinada pela densidade ótica das culturas em espectrofotômetro digital a 670 nm. A concentração celular foi obtida através de curva padrão, relacionando massa seca e densidade ótica (Costa *et al.*, 2002). Também a cada 24 h foi realizada a medida do pH dos cultivos em pHmetro digital.

Os ensaios realizados foram comparados quanto à concentração celular máxima (X_{máx}), produtividade máxima (P_{máx}) e velocidade específica máxima de crescimento (μ_{máx}). A produtividade (P, g.L.d⁻¹) foi calculada segundo a equação $P=(X-X_0)/(t-t_0)$, onde X (g.L⁻¹) é a concentração celular final, X₀ (g.L⁻¹) é a concentração celular inicial do cultivo, t (d) é o tempo final e t₀ é o tempo inicial do cultivo. A velocidade específica de crescimento (μ_{máx}) foi obtida por regressão exponencial na fase logarítmica de multiplicação celular.

A biofixação de CO₂ foi calculada a partir da equação $F_{CO_2}=1,88 \times P$, onde F_{CO₂} (mg.L⁻¹.d⁻¹) é a taxa de fixação de CO₂; 1,88 é valor que deriva da fórmula típica da biomassa microalgal (CO_{0,48}H_{1,83}N_{0,11}P_{0,01}) e P é a produtividade de biomassa obtida nos experimentos (Chisti, 2007).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os maiores valores de crescimento celular máximo, produtividade máxima e biofixação de CO₂ foram obtidos nos ensaios em biorreatores do tipo tubular (Tabela 2). A área de exposição à luz neste tipo de biorreator é maior, quando comparado a biorreatores dos tipos erlenmeyer e *raceway*. Deste modo, uma maior quantidade de células é capaz de captar energia luminosa, excitando pigmentos fotossintéticos e produzindo, conseqüentemente, maior quantidade de biomassa microalgal. Nos biorreatores dos tipos erlenmeyer e *raceway*, o fenômeno de sombreamento pode ter ocorrido nos ensaios, devido à área reduzida do cultivo exposta à luz, diminuindo-se a atividade fotossintética e, conseqüentemente, a produtividade de biomassa nos cultivos (Alabi *et al.*, 2009).

Tabela 2 – Resultados de crescimento celular máximo ($X_{\text{máx}}$, g. L⁻¹), produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$, g. L⁻¹. d⁻¹), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$, d⁻¹) e biofixação máxima de CO₂ (F_{CO_2} , mg.L⁻¹.d⁻¹) para as diferentes fontes de carbono e biorreatores utilizados

Fonte de carbono	$X_{\text{máx}}$	$P_{\text{máx}}$	$\mu_{\text{máx}}$	F_{CO_2}
Erlenmeyer				
NaHCO ₃	0,573±0,006	0,044±0,006	0,095±0,021	-
CO ₂ comercial	0,543±0,058	0,051±0,001	0,105±0,007	95,9
Raceway				
NaHCO ₃	0,952±0,144	0,107±0,025	0,187±0,057	-
CO ₂ comercial	0,946±0,006	0,075±0,004	0,102±0,009	141,0
Tubular				
NaHCO ₃	1,389±0,003	0,194±0,023	0,180±0,017	-
CO ₂ comercial	1,598±0,012	0,146±0,006	0,160±0,010	274,5

Estudos anteriores mostraram que concentrações superiores a 5% (v/v) de CO₂ foram prejudiciais aos cultivos de microalgas, inibindo seu crescimento celular (Chiu *et al.*, 2008; Ho *et al.*, 2010; Yoo *et al.*, 2010). Porém, para *Spirulina* sp. LEB 18, cultivada com 10% CO₂ (v/v), este fato não foi observado durante os 10 d de ensaio, atingindo-se concentrações celulares máximas (g. L⁻¹) de 0,543, 0,946 e 1,598 nos biorreatores do tipo erlenmeyer, *raceway* e tubular, respectivamente.

Morais e Costa (2007b) cultivaram *Spirulina* sp. LEB 18, com 12% de CO₂ (v/v), em biorreatores do tipo tubular em série, obtendo-se velocidade específica máxima de crescimento de 0,33 d⁻¹ e produtividade máxima de 0,17 g. L⁻¹. d⁻¹. No 10^o d de cultivo, foi alcançada concentração celular de aproximadamente 1,5 g.L⁻¹, resultado semelhante ao encontrado no presente estudo. Rosa *et al.* (2011) cultivaram *Spirulina* sp. LEB 18 em biorreatores do tipo *raceway*, sob condições não controladas de temperatura, luminosidade e pH, com 12% (v/v) de CO₂, alcançando concentração celular máxima em torno de 1,4 g.L⁻¹ no 10^o d de cultivo. Este resultado indica que, elevando a concentração de CO₂ no meio de cultivo, pode acarretar em aumento no crescimento celular.

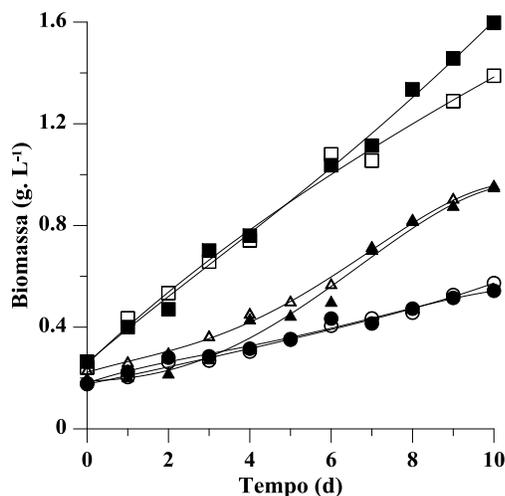


Figura 1 – Curvas de crescimento celular nos ensaios realizados com *Spirulina* sp. LEB 18, utilizando-se as respectivas fontes de carbono e biorreatores: (○) NaHCO₃, erlenmeyer; (●) CO₂ comercial, erlenmeyer; (Δ) NaHCO₃, raceway; (▲) CO₂ comercial, raceway; (□) NaHCO₃, tubular; (■) CO₂ comercial, tubular.

A partir das curvas de crescimento, Figura 1, observa-se que não houve fase de adaptação (lag) em nenhuma das condições estudadas para *Spirulina* sp. LEB 18. Os cultivos foram mantidos durante 10 d e finalizados ainda na fase exponencial de crescimento celular. Verifica-se que o comportamento de *Spirulina* sp. LEB 18 em cada biorreator, quanto ao crescimento celular, foi semelhante em ambas as fontes de carbono utilizadas. Desse modo, é possível substituir a fonte de carbono do meio Zarrouk nos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 (NaHCO₃) por CO₂ comercial, reduzindo-se os custos de produção de biomassa microalgal em grande escala, visto que a fonte de carbono é dominante no meio de cultivo (45 – 50%) (Doucha *et al.*, 2005). Além disso, a microalga estudada pode ser utilizada na mitigação de gases poluentes, biofixando CO₂ e produzindo, paralelamente, biomassa aplicável na produção de biocombustíveis, produtos farmacêuticos, entre outros.

4. CONCLUSÃO

A microalga *Spirulina* sp. LEB 18 apresentou crescimento celular durante os 10 d de cultivo em todos os biorreatores estudados. Os maiores valores de concentração celular, produtividade máxima e biofixação de CO₂ foram obtidos quando *Spirulina* sp. LEB 18 foi cultivada em biorreatores do tipo tubular. O uso de fontes alternativas, como CO₂, no cultivo de microalgas pode reduzir custos de produção da biomassa, contribuindo também com a redução das emissões de efluentes gasosos para a atmosfera. No entanto, na escolha do biorreator adequado, é necessário avaliar outros parâmetros do processo e custos envolvidos para produção desses micro-organismos, verificando-se a viabilidade para cultivos em grande escala.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem a CAPES e a CGTEE – Companhia de Geração Térmica de Energia Elétrica – pelo apoio financeiro.

6. REFERÊNCIAS

- ALABI, A. O.; TAMPIER, M.; BIBEAU, E. *Microalgae technologies & processes for biofuel/bioenergy production in british columbia*. Editora Seed Science, 2009.
- BABCOCK, R. W. MALDA, J. RADWAY, J. C. Hydrodynamics and mass transfer in a tubular airlift photobioreactor. *J. Appl. Phycol.* v. 14, p. 169-184, 2002.
- BRENNAN, L; OWENDE, P. Biofuels from microalgae – a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and coproducts. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, v. 14, p. 557-577, 2010.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. New Zeland, v. 25, p. 294-306, 2007.
- CHIU, S.Y., KAO, C.Y., CHEN, C.H., KUAN, T.C., ONG, S.C., LIN, C.S. Reduction of CO₂ by a high-density culture of *Chlorella* sp. in a semicontinuous photobioreactor. *Bioresour. Technol.*, v. 99, 3389–3396, 2008.
- COSTA, J. A. V., COLLA, L. M., DUARTE FILHO, P., KABKE, K., WEBER, A. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. *World J Microb Biot.*, v.18, p. 603-607, 2002.
- DOUCHA, J.; STRAKA, F.; LÍVANSKÝ, K. Utilization of flue gas for cultivation of microalgae *Chlorella* sp. in an *outdoor* open thin-layer photobioreactor. *J. Appl. Physiol.*, v. 17, p. 403-412, 2005.
- HO, S. H.; CHEN, W. M.; CHANG, J. S. *Scenedesmus obliquus* CNW-N as potencial candidate for CO₂ mitigation and biodiesel production. *Bioresour. Technol.*, v. 101, p. 8725-8730, 2010.
- LUO, H. P. KEMOUN, A. AL-DAHMAN, M. H. SEVILLA, J. M. F. SÁNCHEZ, J. L. G. CAMACHO, F. G. GRIMA, E. M. Analysis of photobioreactors for culturing high-value microalgae and cyanobacteria via an advanced diagnostic technique: CARPT. *Chen. Eng. Sci.* v. 58, p. 2519-2527, 2003.
- MORAIS, M. G. COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *J. Biotechnol.* v. 129, p. 439–445, 2007b.

- MORAIS, M. G. COSTA, J. A. V. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. *Energ. Convers. Manage.*, v. 48, p. 2169-2173, 2007a.
- OHSE, S.; DERNER, R. B.; OZÓRIO, R. A.; CUNHA, P. C. R.; LAMARCA, C. P.; SANTOS, M. E.; MENDES, L. B. B. Revisão: Sequestro de Carbono Realizado por Microalgas e Florestas e a Capacidade de Reprodução de Lipídios Pelas Microalgas. *Insula*, p. 39-74. 2007.
- ROSA, A. P. C.; CARVALHO, L. F.; GOLDBECK, L. COSTA, J. A. V. Carbon dioxide fixation by microalgae cultivated in open bioreactors. *Energ. Convers. Manage.*, v. 52, p. 3071–3073, 2011.
- SCRAGG, A. H.; ILLMAN, A. M.; CARDEN, A.; SHALES, S. W. Growth of microalgae with increased calorific values in a tubular bioreactor. *Biomass and Bioenergy*, v. 23, p. 67-73, 2002.
- VASUMATHI, K. K.; PREMALATHA. M.; SUBRAMANIAN, P. Parameters influencing the design of photobioreactor for the growth of microalgae. *Renew. Sust. Energ. Rev.*, v. 16, p. 5443–5450, 2012.
- YOO, C., JUN, S.Y., LEE, J.Y., AHN, C.Y., OH, H.M. Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. *Bioresour. Technol.* v. 101, p. S71–S74, 2010.