

CONEM 2016
CONGRESSO NACIONAL DE
ENGENHARIA MECÂNICA

21 - 25
AGOSTO DE 2016
FORTALEZA - CEARÁ

INFLUÊNCIA DE VARIÁVEIS DE PROCESSO SOBRE O CRESCIMENTO CELULAR E A SÍNTESE DE LIPÍDEOS DE MICROALGA VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Carla Cristina Almeida Loures, ccaloures@hotmail.com^{1,2}
Mateus Souza Amaral, msouzaamaral86@gmail.com³
Félix Monteiro Pereira, felix@dequi.eel.usp.br^{2,3}
Marcela Aparecida Guerreiro Machado, marcela@feg.unesp.br²
Messias Borges Silva, messias@dequi.eel.usp.br^{2,3}

¹ Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, R. do Areal, 522, Parque Perequê, Angra dos Reis - RJ, 23953-030, Brasil.

² Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, Avenida Doutor Ariberto Pereira da Cunha, 333, Bairro Alto da Colina, Guaratinguetá - SP, 12516-410, Brasil.

³ Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Rua do Campinho s/n, Bairro Campinho, Lorena - SP, 12602-810, Brasil.

Resumo: A procura por fontes energéticas renováveis e viáveis economicamente cresce cada vez mais na sociedade atual devido aos problemas ambientais ocasionados pelas emissões dos gases ocasionadores do efeito estufa provenientes de combustíveis fósseis, em especial o dióxido de carbono (CO₂). Uma alternativa promissora à substituição, parcial ou total, dos combustíveis fósseis são os biocombustíveis provenientes de biomassa microbiana, que compreendem a terceira geração de matérias-primas renováveis, e podem ser empregadas na obtenção de biodiesel. Diante deste contexto, há a necessidade de vencer uma série de desafios, tais como, a otimização da velocidade de produção de biomassa microalgal e da produtividade em lipídios. Neste contexto, a modelagem matemática vem sendo usada como uma ferramenta essencial para a redução dos custos do sistema de produção do biodiesel de microalgas. Nesse trabalho foram realizados experimentos planejados pela metodologia de Taguchi a fim de indicar as melhores condições operacionais de fotobiorreatores tubulares descontínuos, tipo coluna de bolhas, para o crescimento celular e a produção de lipídeos pela microalga *Chlorella minutissima* em função das variáveis de processo: fluxo de CO₂ na alimentação, concentração inicial de nitrato, concentração inicial de fosfato, suplementação, temperatura e salinidade. Para a avaliação da velocidade de crescimento populacional das microalgas foi considerado o modelo cinético de crescimento logístico. A partir desta investigação, verificou-se que o crescimento celular e a produtividade de lipídeos são significativamente dependentes da concentração inicial de nitrato, do fluxo de dióxido de carbono, da concentração de fosfato, da suplementação e da temperatura. Foram obtidos melhores valores, tanto para o crescimento quanto para a produtividade de lipídeos, para a concentração de nitrato no nível alto e os demais parâmetros significativos no nível baixo. Dessa forma, a metodologia e os resultados apresentados neste trabalho podem ser úteis na busca pela viabilização econômica da produção de biodiesel de microalgas.

Palavras-chave: biodiesel, Taguchi, microalgas, *Chlorella minutissima*, fotobiorreator, modelagem.

1. INTRODUÇÃO

O crescimento e a melhoria do padrão sócio-econômico da população mundial têm levado a uma crescente demanda por energia. Uma grande parcela da energia atualmente utilizada é proveniente de fontes não renováveis, como os combustíveis fósseis. Porém, a energia gerada a partir de fontes não renováveis, por definição, não é sustentável ao longo do tempo, além disso, a geração de energia pela queima de combustíveis fósseis acarreta em efeitos negativos ao futuro da população como, por exemplo, a alteração climática associada ao aquecimento global

ocasionado pelo efeito estufa que consiste no acúmulo de gases, em especial o dióxido de carbono (CO_2), na atmosfera terrestre. Neste sentido, existe um esforço mundial pelo avanço das tecnologias associadas à produção de energia com baixa emissão de gás carbônico, como a energia solar, a fotovoltaica, a hidrelétrica, a geotérmica, a eólica, e a obtida a partir de combustíveis renováveis, como os biocombustíveis (NETRAVALI e CHABBA, 2003; MUTANDA et al., 2011; NEJAT et al., 2015).

Uma alternativa promissora à substituição dos combustíveis fósseis são os biocombustíveis provenientes de biomassa microbiana (MUBARAK et al., 2015), que compreendem a terceira geração de matérias-primas empregadas na obtenção de biodiesel.

As microalgas são organismos microscópicos fotossintéticos encontrados em ambientes marinhos e de água doce e se destacam perante os outros microrganismos que fazem parte dessa classe por possuir como características: um acúmulo significativo de material lipídico; uma elevada taxa de crescimento; uma grande eficiência fotossintética; e uma eficiente biomitigação de CO_2 . Os principais componentes da fração lipídica das microalgas são os triglicerídeos e os ácidos graxos livres que podem ser convertidos em biodiesel (TAN et al., 2015; ZHU, 2015).

A viabilização da produção de biodiesel a partir de microalgas depende, principalmente, de estudos envolvendo a otimização da velocidade de produção de biomassa e a ampliação de escala de processo (YANG et al. 2011).

As condições de cultivo das microalgas também influenciam na produtividade de biomassa e no teor de lipídeos acumulado pelas células microbianas, sendo assim, os reatores tubulares do tipo coluna de bolhas surgem como um dos modelos mais promissores para o cultivo de microalgas (MERCHUK, 2004), pois apresentam um alto potencial para cultivos em larga escala, facilidade de esterilização e redução de fotoinibição da fotoxidação (CHAGAS, 2010).

Diante deste contexto, apesar de as microalgas apresentarem um elevado potencial para a produção de biodiesel, existe a necessidade de se realizar vários estudos a fim de melhorar a viabilidade econômica do processo de produção de biodiesel de microalgas. Esses estudos envolvem: a otimização na produção de biomassa microalgal e de sua porcentagem em lipídios; o aprimoramento das tecnologias visando o processamento adequado da biomassa gerada; a melhoria dos processos de separação e de cultivo. Em geral, esses estudos envolvem a obtenção de dados experimentais e seu posterior tratamento matemático, por meio de ferramentas matemático-computacionais capazes de extrair o maior número possível de informações do conjunto de dados experimentais obtido.

A técnica de planejamento experimental vem sendo amplamente utilizada para melhorar o desempenho e reduzir a variabilidade de processos (FAROOQ et al, 2015). Baseada em fundamentos estatísticos é uma ferramenta que permite chegar às condições otimizadas de bioprocessos ou avaliar os efeitos ou impactos que os fatores, ou variáveis, exercem nas respostas desejadas. A utilização desta ferramenta para a avaliação de sistemas biológicos é relativamente recente, principalmente na área de produção de biocombustíveis de microalgas.

Além da técnica de planejamento experimental, modelos cinéticos de crescimento celular, de consumo de substrato e de formação de produtos vêm sendo estudados em bioprocessos com a finalidade de simular a dinâmica de crescimento da biomassa e da produção de lipídios por microalgas. A obtenção de um modelo cinético confiável auxilia na previsão do desempenho e na otimização das condições operacionais do fotobiorreator (JALALIZADEH, 2012).

O objetivo do presente trabalho consiste na utilização conjunta das técnicas de planejamento experimental e de modelagem cinética do crescimento das microalgas a fim de se indicar as melhores condições de cultivo em um fotobiorreator tipo coluna de bolhas, colaborando dessa forma com os estudos que buscam a viabilização da produção de biodiesel a partir de microalgas.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Procedimento experimental

Neste estudo foi utilizada a linhagem da microalga marinha *Chlorella minutissima*, pertencente ao Banco de Algas Marinhas do Instituto Oceanográfico da USP, gentilmente doada pelo Departamento de Oceanografia Biológica do Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (SP, São Paulo, Brasil) a qual foi cultivada no Laboratório de Meio Ambiente da Escola de Engenharia de Lorena – USP. Todos os reagentes utilizados são de padrão analítico.

Os fotobiorreatores tipo coluna de bolhas foram construídos em escala de bancada, compostos por 3 tubos de material acrílico com diâmetro interno de 13,5cm de diâmetro e 120 cm de altura um volume de 18L por fotobiorreator. O sistema de aeração foi mantido utilizando um difusor (do tipo “pedra porosa”) localizado na base do centro do tubo, conectado por mangueira de silicone a um compressor de ar diafragmático com vazão de 2 vvm (volume de ar por volume de meio por minuto) para dispersão de microbolhas de ar no sistema. A alimentação do CO_2 do meio foi de 4,0% em relação à vazão de ar do meio (2,0 vvm), introduzida no sistema através de fluxômetro para controle de vazão do gás. Foi utilizada uma válvula solenóide para controle da injeção de CO_2 no sistema.

Para avaliar o desempenho do fotobiorreator construído para o cultivo de microalgas foi utilizado o planejamento de experimentos, matriz ortogonal L8 de Taguchi, com objetivo de checar a influência dos fatores nas respostas concentração celular, teor lipídico e parâmetros cinéticos (variáveis dependentes), já as variáveis independentes (fatores) propostas para esta etapa foram: fluxo de CO_2 ; concentração de nitrato, NO_3^- ; concentração de fosfato, PO_4^{3-} ; suplementação, temperatura e salinidade.

Os níveis experimentais utilizados para as variáveis independentes são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Níveis experimentais para as variáveis independentes

Variável	Codificação	Nível Baixo (1)	Nível Alto (2)
CO ₂ (%)	A	0	2
NO ₃ ⁻ (g/L)	B	0.25	0.50
PO ₄ ⁻³ (g/L)	C	0.35	0.65
Suplementação (mL)	D	1	2
Temperatura (°C)	E	20	30
Salinidade (g/L)	F	15	30

A matriz ortogonal L8 de Taguchi é apresentada na Tabela 2.

Tabela 2. Matriz experimental L8 de Taguchi

Experimento	Fatores codificados					
	A	B	C	D	E	F
1	2	2	1	2	1	1
2	2	2	1	1	2	2
3	2	1	2	2	1	2
4	2	1	2	1	2	1
5	1	2	2	2	2	1
6	1	2	2	1	1	2
7	1	1	1	2	2	2
8	1	1	1	1	1	1

Os experimentos, em triplicata, foram realizados em fotobiorreatores tipo coluna de bolha, com volume 18 L, contendo meio de cultura Guillard f/2, durante um período de 7 dias. Em cada reator foi utilizado 10% v/v de inóculo.

Ao final da etapa de cultivo, a biomassa foi recuperada por coagulação com uma solução de sulfato de alumínio (1 mol/L) e submetida a uma etapa de filtração, sendo posteriormente submetida a uma lavagem com solução de formiato de amônio (0,6 mol/L) para remover o excesso de sal.

Os teores de lipídios totais foram quantificados segundo metodologia de Bligh & Dyer modificada, (Aelson et al., 2009; Patil et al., 2011) após uma etapa prévia de rompimento da parede celular por banho ultrassônico.

2.2. Modelagem Matemática

Com a finalidade de verificar a influência dos parâmetros de processo sobre o crescimento da microalga, foi considerada a cinética de crescimento logístico descrita na Equação 1.

$$\frac{dX}{dt} = \mu_{\max} X \left(1 - \frac{X}{X_{\max}} \right) \quad (1)$$

Na Equação 1: X é a concentração de microalgas (g/L) no interior do fotobiorreator no instante de tempo t (dias); $\mu_{\max}$ é a velocidade máxima de crescimento; e $X_{\max}$ é a concentração máxima de microalgas possível de ser atingida no fotobiorreator.

No processo de produção de biodiesel de microalgas, ambos os parâmetros cinéticos, $\mu_{\max}$ e $X_{\max}$ devem ser maximizados uma vez que a produtividade em células, e por consequência em biodiesel de microalgas, é proporcional a velocidade de crescimento celular.

A estimativa dos parâmetros cinéticos foi realizada utilizando-se o método de Marquardt, disponível na função *lsqrsolve* do software *Scilab* pela minimização dos quadrados dos resíduos entre os valores experimentais e os estimados pelo modelo. A significância estatística dos parâmetros, para o nível de confiança de 95%, foi verificada utilizando-se o teste “*t*” de Students e a validação estatística do modelo, também para o nível de confiança de 95%, foi feita utilizando-se o teste “*F*” de Fischer. Na avaliação do modelo foram considerados os gráficos de ajuste e de distribuição dos resíduos.

A produtividade em células, P_X , pode ser obtida pela Equação 2.

$$P_X = \frac{X - X_0}{t} \quad (2)$$

Na Equação 2, X_0 é a concentração inicial de microalgas no fotobiorretator. A produtividade em células consiste em uma variável que deve ser maximizada no processo, pois está associada à obtenção da maior concentração de células no menor tempo possível. A maximização da produtividade em células foi realizada utilizando o algoritmo de Nelder-Mead, disponibilizado na função *fminsearch* do *Scilab*.

A produtividade em lipídeos, P_L , é obtida por meio do produto entre a concentração de células e o teor de lipídeos (em razão mássica) nas células (T), como mostrado na Equação 3.

$$P_L = \frac{TX}{t} \quad (3)$$

A Equação 3 indica que a melhoria da produtividade pode ser obtida aumentando-se o produto entre o teor de lipídeos, que depende das condições do meio, e a concentração de células, tudo isso no menor tempo possível. Nesse caso, a produtividade em lipídeos dependerá tanto das condições de cultivo que maximizem o teor de lipídeos quanto das que maximizem a produção de células, que podem estar ou não diretamente relacionadas.

A investigação dos melhores valores para as variáveis independentes do processo para o cultivo de microalgas foi realizada por meio da análise da variância (ANOVA) para avaliar a significância de cada parâmetro de processo ou efeito, e pela análise do gráfico de efeitos principais para a média e para a razão sinal-ruído (SN) para avaliar o comportamento das variáveis de resposta em função da variação desses efeitos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Cinética de crescimento

A Tabela 3 apresenta os resultados da regressão não linear do modelo cinético de crescimento logístico aos dados experimentais, onde estão incluídos: os valores dos parâmetros e seus respectivos desvios-padrão calculados para o nível de confiança de 95% de acordo com a distribuição “*t*” de *Students*; os valores *p* obtidos por meio da análise da variância (ANOVA) da regressão, sendo considerada a regressão significativa para o nível de confiança de 95% para valores de *p* menores que 0,025, de acordo com a distribuição *F* de Fischer; e os coeficientes de correlação da regressão, R^2 e R^2_{max} , os quais fornecem uma idéia da qualidade do ajuste, sendo melhor o ajuste quanto mais próximo for o R^2 do valor de R^2_{max} .

Tabela 3. Resultados da regressão não linear do modelo logístico aos dados experimentais.

Experimento	μ_{max}	X_{max}	<i>p</i>	R^2	R^2_{max}
1	$1,0 \pm 0,2$	$0,33 \pm 0,02$	$9,5 \times 10^{-20}$	0,9499	0,9660
2	$0,7 \pm 0,2$	$0,24 \pm 0,02$	$9,5 \times 10^{-15}$	0,8987	0,9212
3	$0,5 \pm 0,1$	$0,20 \pm 0,01$	$9,1 \times 10^{-18}$	0,9668	0,9906
4	$0,7 \pm 0,2$	$0,21 \pm 0,02$	$1,5 \times 10^{-16}$	0,9570	0,9905
5	$1,0 \pm 0,3$	$0,22 \pm 0,02$	$1,5 \times 10^{-18}$	0,9389	0,9865
6	$1,0 \pm 0,3$	$0,37 \pm 0,03$	$1,1 \times 10^{-16}$	0,9011	0,9216
7	$0,52 \pm 0,06$	$0,30 \pm 0,01$	$3,5 \times 10^{-17}$	0,9892	0,9974
8	$0,3 \pm 0,1$	$0,5 \pm 0,3$	$6,9 \times 10^{-12}$	0,9682	0,9936

Na Tabela 3 observa-se que: ambos os parâmetros, μ_{max} e X_{max} são significativos para o nível de confiança de 95%, de acordo com a distribuição “*t*” de *Students*, uma vez que os valores dos parâmetros são maiores que de seus respectivos desvios-padrão; a regressão foi significativa para todos os experimentos realizados para o nível de confiança de 95%, considerando a distribuição *F* de Fischer, uma vez que os valores de *p* obtidos foram menores que 0,025; e os coeficientes de correlação R^2 obtidos são próximos dos valores de R^2_{max} indicando uma boa qualidade de ajuste.

Os gráficos de ajuste e de resíduos para os experimentos foram analisados a fim de verificar a qualidade do ajuste. Em termos de qualidade de ajuste, os gráficos para todos os experimentos apresentaram comportamento similar ao do apresentado na Figura 1 (experimento 1).

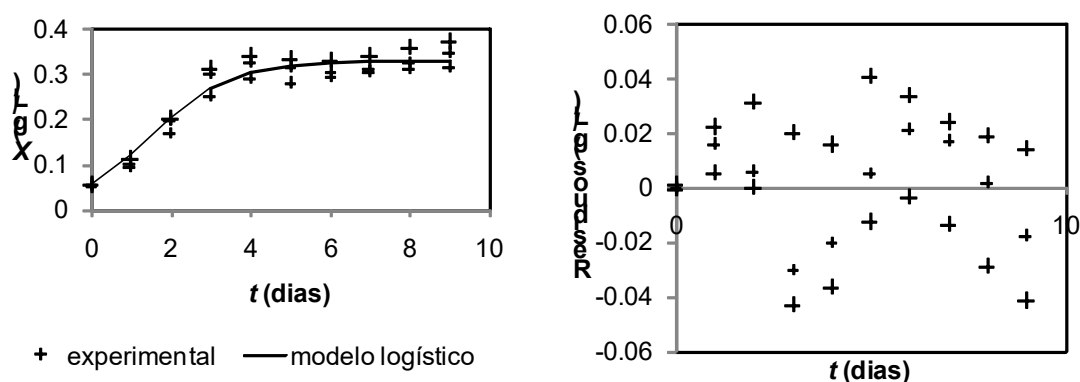


Figura 1. Gráficos de ajuste e de resíduos obtidos pela regressão não linear do modelo logístico aos dados experimentais para o experimento 1.

A Figura 1 mostra que o modelo logístico consegue representar bem os dados experimentais de crescimento de microalgas no fotobiorreator, com a curva obtida pelo modelo passando próxima aos pontos experimentais e com uma distribuição aleatória de resíduos. As produtividades de microalgas e de lipídeos no fotobiorreator são diretamente

proporcionais aos parâmetros cinéticos μ_{max} e X_{max} , pois quanto maior o valor de μ_{max} mais rápido será o crescimento da microalga, reduzindo o tempo da batelada e aumentando a produtividade em células e, quanto maior for a concentração máxima possível de células no reator, maior será a quantidade de lipídeos possível de ser estocada por essas células. Portanto, para a obtenção das melhores condições de cultivo, podem ser consideradas as seguintes variáveis de resposta: velocidade máxima de crescimento (μ_{max}), concentração máxima de microalgas (X_{max}), concentração de lipídeos em 7 dias de cultivo (P_7), produtividade de lipídeos em 7 dias de cultivo (PR_7) e concentração de células em 7 dias de cultivo (X_7).

3.2. Efeitos Principais

A avaliação dos efeitos principais sobre as variáveis de resposta foi realizada por meio da análise de gráficos de efeitos principais e da tabela ANOVA.

Os valores de p para a análise da variância dos efeitos sobre as variáveis de resposta são apresentados na Tabela 4, sendo considerados significantes, no nível de confiança de 95%, os efeitos com valores de p menores ou iguais a 0,05.

Tabela 4. Resultados da análise da variância dos efeitos sobre as variáveis de resposta.

Efeitos	Variáveis de resposta (valores de p)				
	μ_{max}	X_{max}	P_7	X_7	PR_7
CO ₂	0,583	0,000	0,000	0,008	0,297
NO ₃ ⁻	0,000	0,162	0,560	0,007	0,006
PO ₄ ⁻	0,070	0,000	0,228	0,014	0,147
Suplementação	0,706	0,045	0,000	0,325	0,000
Temperatura	0,989	0,002	0,294	0,003	0,000
Salinidade	0,252	0,617	0,102	0,588	0,093

Os resultados mostrados na Tabela 4 indicam que, para o intervalo experimental considerado: a constante cinética μ_{max} é significativamente dependente da concentração de nitrato (NO₃⁻); X_{max} é dependente do fluxo de CO₂, da concentração de fosfato (PO₄⁻³), da suplementação e da temperatura; a concentração de lipídeos é dependente do fluxo de CO₂ e da suplementação; a concentração de células em 7 horas de cultivo é dependente do fluxo de CO₂, das concentrações de NO₃⁻ e PO₄⁻³, e da temperatura; e a produtividade de lipídeos para um cultivo de 7 dias é dependente da concentração de nitrato (NO₃⁻), da suplementação e da temperatura. Cabe ressaltar que foram verificados também os gráficos de probabilidade normal e a distribuição de resíduos para todas as variáveis significativas, sendo obtidos resultados semelhantes ao apresentado para a variável μ_{max} em função de NO₃⁻, apresentado na Figura 2.

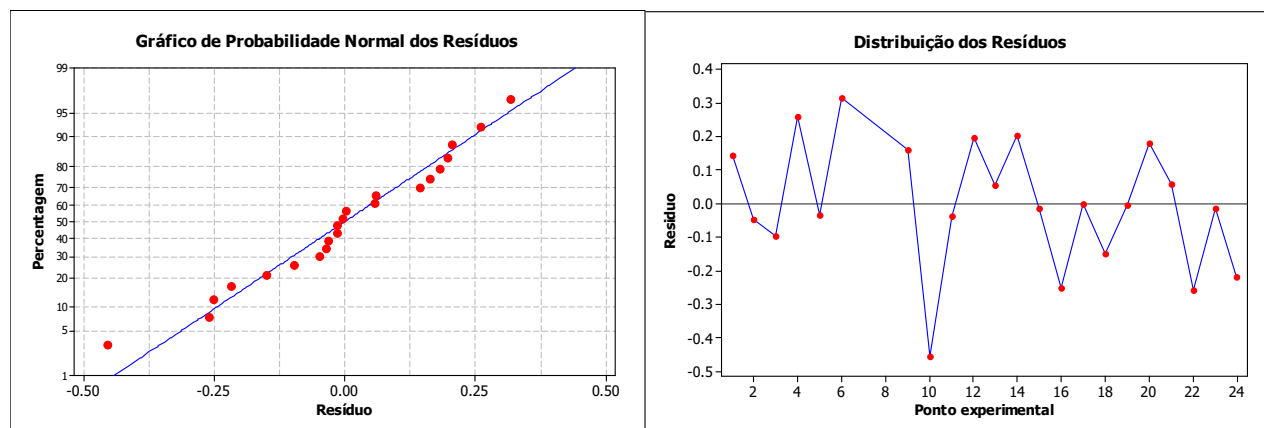


Figura 2. Gráficos de probabilidade normal dos resíduos e de distribuição dos resíduos para a variável μ_{max} em função de NO₃⁻.

Na Figura 2, observa-se que os resíduos seguem uma distribuição normal e aleatória. Os mesmos tipos de resultados foram observados para todas as variáveis dependentes em função das variáveis independentes significativas.

Os gráficos de efeitos para as variáveis dependentes são apresentados como segue: velocidade máxima de crescimento, μ_{max} , (Figura 3); concentração máxima de microrganismos, X_{max} , (Figura 4); percentagem de lipídeos, P_7 , (Figura 5); concentração de células, X_7 , (Figura 6) e produtividade em lipídeos, PR_7 , (Figura 7).

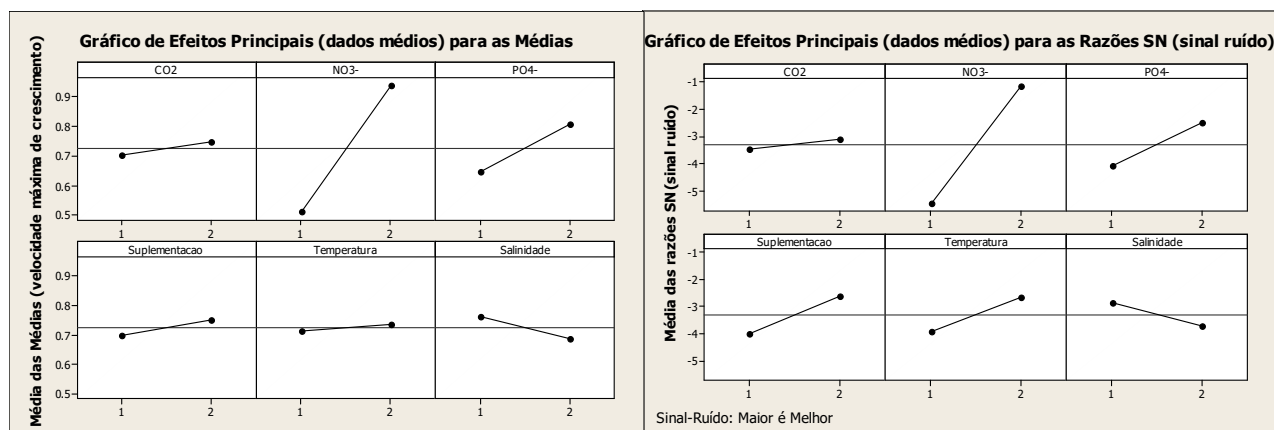


Figura 3. Gráficos de efeitos principais para a variável velocidade máxima de crescimento.

A Figura 3 indica que μ_{max} é maior para o NO_3^- (variável significativa) no nível máximo, com relação às médias das médias e para a razão sinal-ruído.

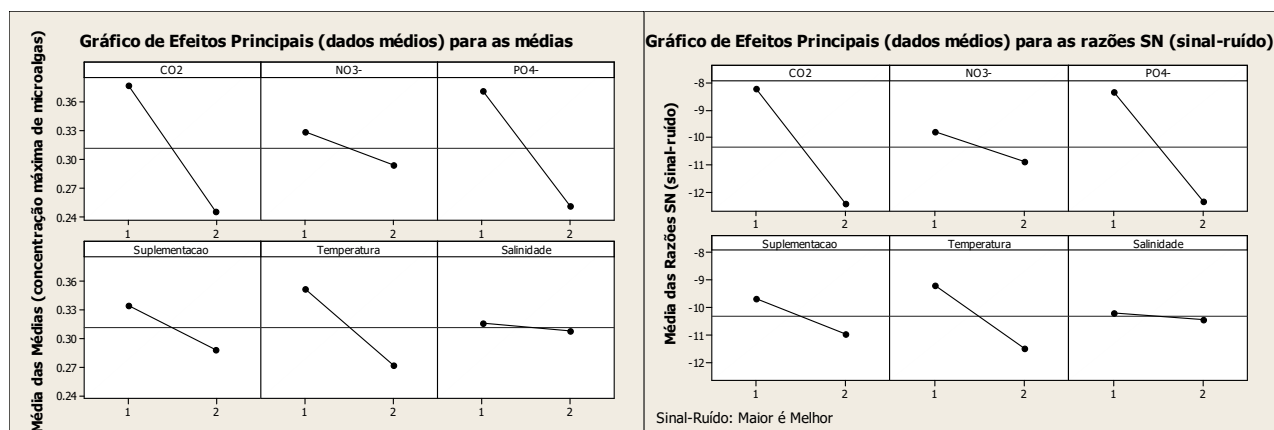


Figura 4. Gráfico de efeitos principais para a variável concentração máxima de microalgas.

A Figura 4 indica que X_{max} é maior para todos os parâmetros significativos (fluxo de CO_2 , concentração de PO_4^{-3} , suplementação e temperatura) no nível mínimo com relação às médias das médias e para a razão sinal-ruído.

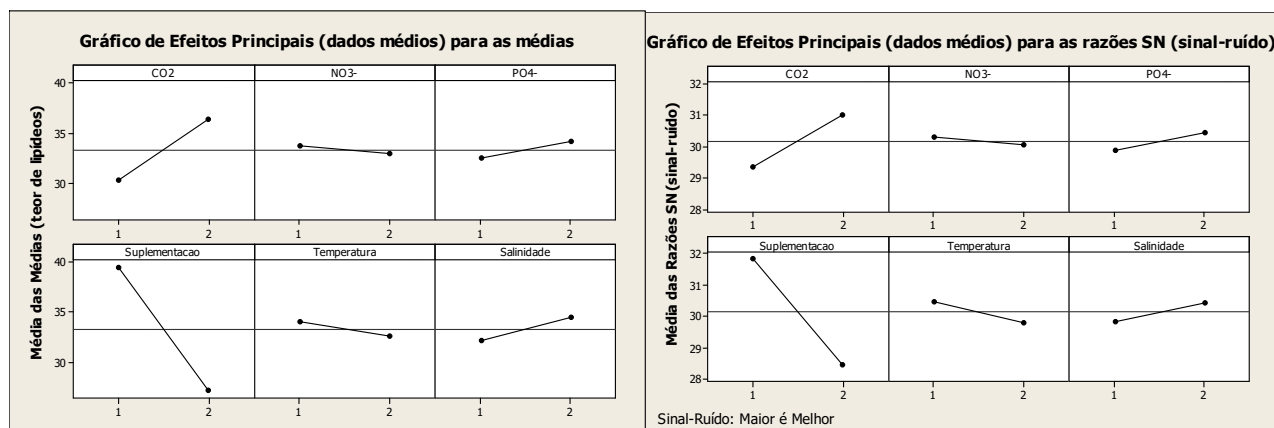


Figura 5. Gráfico de efeitos principais para a variável percentagem de lipídeos.

A Figura 5 indica que a percentagem de lipídeos, P_7 , é maior para o fluxo de CO_2 no nível máximo e a suplementação no nível mínimo com relação às médias das médias e para a razão sinal-ruído.

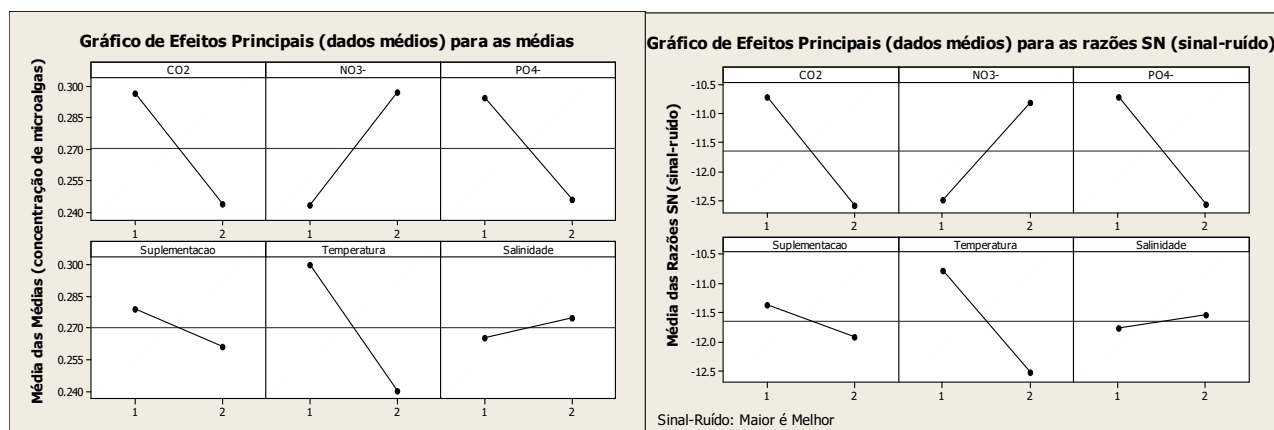


Figura 6. Gráficos de efeitos principais para a variável concentração de microalgas.

A Figura 6 indica que a concentração de microalgas é maior para a concentração de NO_3^- no nível máximo e os demais parâmetros significativos (fluxo de CO_2 , concentração de PO_4^{3-} e temperatura) no nível mínimo com relação às médias das médias e para a razão sinal-ruído.

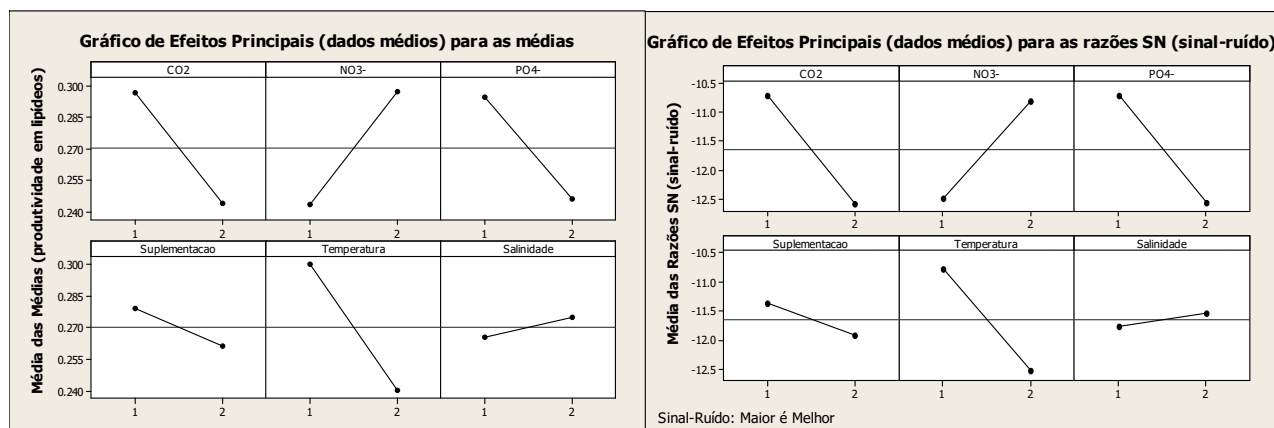


Figura 7. Gráficos de efeitos principais para a variável produtividade em lipídeos.

A Figura 7 mostra que a produtividade em lipídeos é maior para a concentração de NO_3^- no nível máximo e os demais parâmetros significativos (temperatura e suplementação) no nível mínimo com relação às médias das médias e para a razão sinal-ruído.

3.3. Indicação das melhores condições de cultivo

A indicação das melhores condições de cultivo consiste, nesse caso em estudo, em tentar maximizar as variáveis de resposta: velocidade máxima de crescimento (μ_{max}); concentração máxima de microrganismos (X_{max}); percentagem de lipídeos após 7 dias de cultivo (P_7); concentração de células após 7 dias de cultivo (X_7), e produtividade em lipídeos, (PR_7) em função das variáveis de processo. Para realizar a análise foram considerados os resultados apresentados anteriormente para os parâmetros significativos apresentados nos gráficos de efeitos. As condições que maximizam os valores das variáveis de resposta são sumarizadas na Tabela 4.

Tabela 4. Condições que maximizam as variáveis de resposta

Efeitos	Níveis que maximizam as variáveis de resposta (só significativos)				
	μ_{max}	X_{max}	P_7	X_7	PR_7
CO_2		1	2	1	
NO_3^-	2			2	2
PO_4^-		1		1	
Suplementação		1	1		1
Temperatura		1		1	1
Salinidade					

Os resultados obtidos na Tabela 4 mostram que, para maximizar as variáveis de resposta são indicadas as condições de concentração de nitrato (NO_3^-) no nível máximo, concentração de fosfato (PO_4^{3-}) no nível mínimo, suplementação e temperatura também no nível mínimo. O fluxo de CO_2 foi a única variável que gerou conflito entre as concentrações de microalgas ($X_{\max}$ e X_7) e a concentração de lipídeos (P_7). Levando em conta que a produção de lipídeos é intracelular, considerou-se como melhor condição aquela que fornece maior valor de $X_{\max}$, pois, uma vez obtida uma massa de células com o máximo de eficiência, pode-se então sugerir variações no processo a fim de se produzir lipídeos por essas células. Nesse sentido, visando a possibilidade de, em trabalhos futuros, se produzir células em uma etapa separada da produção de lipídeos, foi realizada a otimização da produtividade em microalgas para cada experimento, obtendo-se um valor de produtividade máximo ($P_{\max}$) em função das condições de cultivo.

3.4. Otimização da produtividade em células

Os resultados obtidos na otimização da produtividade em células no fotobiorreator em batelada, para cada experimento, são apresentados na Tabela 5, onde $P_{\max}$ é a máxima produtividade em células, t_{ot} é o tempo de cultivo necessário para que se atinja $P_{\max}$ e X_{ot} é a concentração de células para o tempo de cultivo igual a t_{ot} .

Tabela 5. Resultados obtidos na otimização da produtividade em células no fotobiorreator em batelada.

Experimento	$P_{X,Max}$ (g/L dia)	t_{ot} (dias)	X_{ot} (g/L)
1	0,0746	2,30	0,225
2	0,0412	1,73	0,146
3	0,0231	0,0002	0,112
4	0,0378	1,40	0,123
5	0,0513	1,20	0,131
6	0,0815	2,31	0,253
7	0,0368	3,04	0,191
8	0,0314	8,11	0,336

Na Tabela 5 observa-se que, na maioria dos casos estudados, o tempo de cultivo para obter a produtividade ótima em células é menor que 7 dias, sugerindo que o estudo do processo em duas etapas, uma de crescimento e outra de produção de lipídeos, pode ser uma alternativa interessante para aumentar a produtividade em lipídeos no processo por meio da diminuição do tempo total da batelada.

A análise da variância para a produtividade máxima de células indicou como significativos, para o nível de confiança de 95%, os parâmetros: concentração de nitrato, NO_3^- , com um valor de $p=0,001$. Os parâmetros não significativos foram: fluxo de CO_2 com $p=0,367$; concentração de fosfato PO_4^{3-} com $p=0,684$; suplementação com $p=0,483$; temperatura com $p=0,074$ e salinidade com $p=0,563$.

Os gráficos de efeitos para a produtividade de células são apresentados na Figura 8.

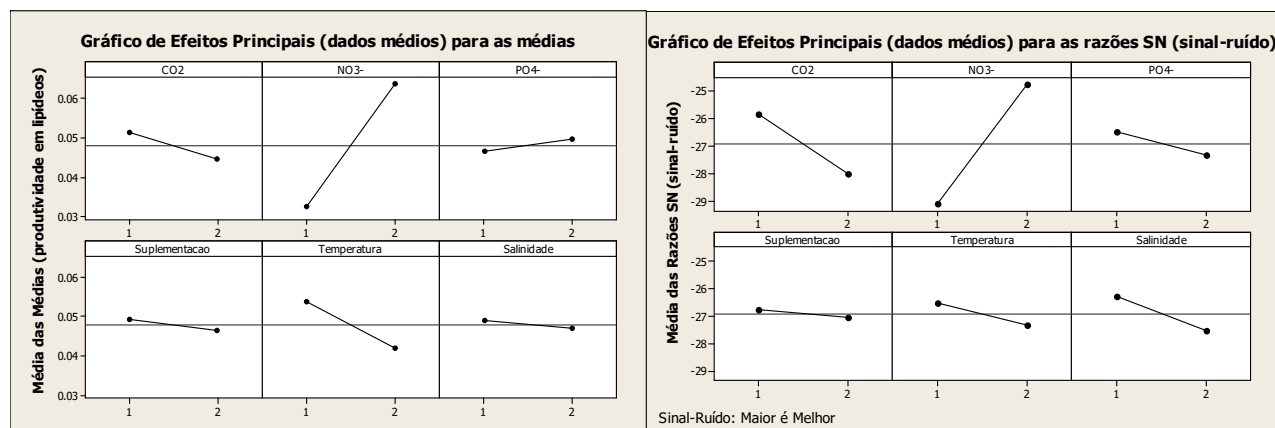


Figura 8. Gráficos de efeitos principais para a média das médias e para o a razão sinal-ruído, maior é melhor, para a variável produtividade máxima de microalgas.

A Figura 8 indica que a produtividade em células é maior para o NO_3^- (variável significativa) no nível máximo, com relação às médias das médias e para a razão sinal-ruído.

Os resultados obtidos indicam alguns caminhos possíveis para maximizar a produtividade de biodiesel de microalgas, uma delas consiste em realizar processos em etapas distintas, uma primeira visando a produção de biomassa

e uma segunda etapa visando a produção de lipídeos pela biomassa gerada, outra possibilidade é ampliar o planejamento experimental utilizado a fim de se maximizar tanto a produção de biomassa, quanto a de lipídeos em uma única etapa, levando em consideração as melhores condições apresentadas no presente trabalho.

4. CONCLUSÕES

Em função dos resultados obtidos e considerando o intervalo experimental utilizado neste trabalho é possível concluir que:

- O modelo logístico foi capaz de representar a cinética de crescimento para a microalga *Chlorella minutissima*, sendo obtidos parâmetros significativos para o nível de confiança de 95% segundo o teste *t* de Students, a regressão foi significativa segundo o teste *F* de Fischer para o nível de confiança de 95%;
- A partir da metodologia empregada, utilizando o planejamento L8 de Taguchi e o modelo cinético logístico foi possível indicar as melhores condições de cultivo para o processo;
- As melhores condições de cultivo indicadas sugerem a utilização da concentração de nitrato no nível máximo, e as demais variáveis significativas: concentração de fosfato, suplementação e temperatura, no nível mínimo;
- O fluxo de CO₂ foi a única variável que gerou conflito entre as concentrações de microalgas (X_{max} e X_7) e a concentração de lipídeos (P_7). Considerando que a produção de lipídeos é intracelular, sugere-se como melhor condição aquela que fornece maior valor de X_{max} , pois, uma vez obtida uma massa de células com o máximo de eficiência, com fluxo de CO₂ no nível mínimo, pode-se sugerir variações no processo a fim de se produzir lipídeos por essas células;
- A produtividade ótima em células é menor que 7 horas, sugerindo que o estudo do processo em duas etapas, uma de crescimento e outra de produção de lipídeos, pode ser uma alternativa interessante para aumentar a produtividade em lipídeos no processo por meio da diminuição do tempo total da batelada.
- A produtividade em células é maior para o NO₃⁻ (variável significativa) no nível máximo.

A metodologia utilizada e os resultados obtidos nesse trabalho podem contribuir com a busca de se viabilizar a produção de biodiesel de microalgas.

5. AGRADECIMENTOS

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior pelo suporte financeiro.

Ao Departamento de Oceanografia Biológica do Instituto Oceanográfico da USP, pela doação da Cepa da microalga.

6. REFERÊNCIAS

- Aelson, A.S., Brum, L.F.A, Marisa, A.B., Regitano-d'arce., 2009, "Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal". Química Nova.
- Farooq, M. A., Nóvoa, H., Araújo, A.T., Sergio, M.O., 2015, "An innovative approach for planning and execution of pre-experimental runs for design of experiments". Investigaciones Europeas de Dirección y Economía de la Empresa.
- Chagas, B.M.E., 2010, "Influenciado estresse nutricional programado na composição da microalga marinha *isochrysis galbana*", Dissertação Mestrado, Natal, 128f.
- Jalalizadeh, M., 2012, "Development of an integrated process model for algae growth in a photobioreactor", Master's Thesis, Florida, 76f.
- Mubarak, M., Shaija, A., Suchithra, T.V., 2015, "A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production", Algal Res., v. 7, p. 117-123.
- Mutanda, t. et al., 2011, "Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production", Bioresource Technology, v. 102, n. 1, p. 57-70.
- Merchuk, J.C., Wu, X., 2004, "Simulation of algae growth in a bench scale internal loop airlift reactor". Chemical Engineering Science, n. 59. p. 2899–2912.
- Nejat, Payam, Fatemeh, J., Mohammad, M .T., Mohammad, G., Muhd, Z. A. M., 2015, "A global review of energy consumption, CO₂ emissions and policy in the residential sector (with an overview of the top ten CO₂ emitting countries)", Renewable and Sustainable Energy Reviews v. 43, p. 843–62.
- Netravali, A.N., Chabba., 2003, "Composites get greener", Mater Today, v. 6, n. 4, p. 22-9.

Patil P.D., Gude V.G., Mannarswamy A., Deng S., Cooke P., Munson-McGee S., Rhodes I., Lammers P., Nirmalakhandan N. 2011, "Optimization of direct conversion of wet algae to biodiesel under supercritical methanol conditions", *Bioresource Technology*, v. 102, n. 1, p. 118–122.

Tan, C.H., Show, P.L., Chang, J.S., Ling, T.C. Lan, J.C.W., 2015, "Novel Approaches of Producing Bioenergy from Microalgae: A recent review", *Bioethanol Adv.*, v. 33, p. 1219-1227.

Zhu, L., 2015, "Biorefinery as a promising approach to promote microalgae industry: an innovative framework", *Renew. Sustain. Energy Rev.* 41, 1376-1384.

Yang, J., Rasa, E., Tantayotai, P., Scow, K.M, Yuan, H., Hristova, K.R., 2011, "Mathematical Model of *Chlorella minutissima* utex2341 growth and lipid production under photoheterotrophic fermentation conditions", *Bioresource technology*, v.102, p. 3077–3082.

7. RESPONSABILIDADE AUTORAL

"Os autores são os únicos responsáveis pelo conteúdo deste trabalho".

EVALUATION OF PROCESS PARAMETERS FOR THE GROWTH AND THE LIPID PRODUCTION OF MICROALGAE AIMING AT BIODIESEL PRODUCTION

Carla Cristina Almeida Loures, ccaloures@hotmail.com^{1,2}

Mateus Souza Amaral, msouzaamaral86@gmail.com³

Félix Monteiro Pereira, felix@dequi.eel.usp.br^{2,3}

Marcela Aparecida Guerreiro Machado, marcela@feg.unesp.br²

Messias Borges Silva, messias@dequi.eel.usp.br^{2,3}

¹ Centro Federal de Educação Tecnológica Celso Suckow da Fonseca, R. do Areal, 522, Parque Perequê, Angra dos Reis - RJ, 23953-030, Brasil.

² Faculdade de Engenharia de Guaratinguetá, Universidade Estadual Paulista, Avenida Doutor Ariberto Pereira da Cunha, 333, Bairro Alto da Colina, Guaratinguetá - SP, 12516-410, Brasil.

³ Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Rua do Campinho s/n, Bairro Campinho, Lorena – SP, 12602-810, Brasil.

Abstract. The demand for renewable and sustainable energy sources grows due to environmental problems caused by greenhouse-gases emissions from fossil fuels, particularly the carbon dioxide (CO₂). A promising alternative to fossil fuels are the biofuels from microbial, which are called third generation biofuels. In this sense, there is a need to overcome several challenges, such as the optimization of both, microalgal production rate, and lipid productivity. For this hand, the mathematical modeling is used as a tool to reduce the production costs of the microalgae biodiesel. In this work, experiments designed by Taguchi method were carried out to indicate the best operating conditions of an batch bubble column photobioreactor, in order to maximize both, the cell growth, and the lipids content for the microalgae *Chlorella minutissima*. Thus, the following independent variables were taken into account: feed flow of CO₂, nitrate initial concentration, phosphate initial concentration, supplementation, temperature and salinity. The logistic kinetics model was used to evaluate the microalgae growth. From this study, it was found that cell growth and lipid productivity are dependent on the initial nitrate concentration, carbon dioxide flow, phosphate concentration, supplementation and temperature. The best values were attained for both growth rate and lipid productivity for the initial nitrate concentration on the upper level and the other significant parameters in the lower level. Thus, the methodology and the results presented in this study may be useful for further studies aiming for economic feasibility of microalgae biodiesel production.

Keywords: biodiesel, Taguchi, microalgae, *Chlorella minutissima*, photobioreactor, modeling.