

MICHEL DE OLIVEIRA DOS SANTOS

**COMPORTAMENTO REOLÓGICO E VIABILIDADE CELULAR DE
CULTIVOS DA MICROALGA *Scenedesmus acuminatus* SUBMETIDOS A
TENSÕES HIDRODINÂMICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2012

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S237c
2012

Santos, Michel de Oliveira dos, 1987-

Comportamento reológico e viabilidade celular de cultivos da microalga *Scenedesmus acuminatus* submetidos a tensões hidrodinâmicas / Michel de Oliveira dos Santos. – Viçosa, MG, 2012.

xí, 64f. : il. (algumas col.) ; 29cm.

Orientador: Márcio Arêdes Martins.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Reologia. 2. Alga. 3. Células - Membranas.
4. Biocombustíveis. 5. Fotobiologia. I. Universidade Federal de Viçosa. II. Título.

CDD 22. ed. 632.17

MICHEL DE OLIVEIRA DOS SANTOS

**COMPORTAMENTO REOLÓGICO E VIABILIDADE CELULAR DE
CULTIVOS DA MICROALGA *Scenedesmus acuminatus* SUBMETIDOS A
TENSÕES HIDRODINÂMICAS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de Magister Scientiae.

Aprovada: 16 de fevereiro de 2012

Antonio Teixeira de Matos

Eduardo Basílio de Oliveira

Adriano Nunes Nesi

Márcio Arêdes Martins
(Orientador)

*A Deus, à minha família, à minha namorada, e
aos meus amigos da igreja, da republica e do
CFDbio...*

*Se esta página está sendo lida, realmente é
por causa de vocês!*

“The mountains flowed from before the LORD, {even} that Sinai from before the LORD God of Israel.”

Judges 5:5, 1769 Oxford King James Bible, Authorized Version

AGRADECIMENTOS

À Deus, no geral, pela vida e saúde, e mais especificamente por me dar forças para aguentar as madrugadas em claro por causa da engenharia.

À minha família pelo apoio, compreensão e bons exemplos, como a vida do vovô Benício Belo (*In Memoriam*).

À Giuliana pelo carinho e cuidado comigo todo este tempo.

Ao professor Márcio Arêdes Martins pela orientação e pelos ensinamentos, profissionais e pessoais.

Aos professores conselheiros, Jane Sélia dos Reis Coimbra, Richard S. Gates e Rosane Maria de Aguiar Euclides (*In Memoriam*), pelos direcionamentos vitais ao desenvolvimento do trabalho.

Aos companheiros do CFDbio (Laboratório de Mecânica dos Fluidos Computacional Aplicada a Bioprocessos), pela prontidão em ajudar e pelo excelente ambiente de trabalho.

Aos colegas da UCP (Unidade de Crescimento de Plantas), pelo suporte nos pontos em que a biologia fala mais alto que a engenharia.

Aos professores Antonio Teixeira de Matos, Eduardo Basílio de Oliveira e Adriano Nunes Nesi, pela grande contribuição como membros da banca examinadora.

À Universidade Federal de Viçosa e ao Departamento de Engenharia Agrícola, pela oportunidade e suporte.

Ao Programa de Apoio a Planos de Reestruturação e Expansão das Universidades Federais – REUNI, pela concessão da bolsa e oportunidade execução do projeto de ensino.

À PETROBRAS, pelos recursos necessários a execução do trabalho.

MUITO OBRIGADO A TODOS!

BIOGRAFIA

MICHEL DE OLIVEIRA DOS SANTOS, filho de Ivo dos Santos e Áurea Beatriz de Oliveira dos Santos, nasceu em Manhuaçu, Estado de Minas Gerais, em 15 de junho de 1987.

Em março de 2005, iniciou o curso de Graduação em Engenharia Agrícola e Ambiental na Universidade Federal de Viçosa, graduando-se em janeiro de 2010.

Em março de 2010, iniciou o curso de Mestrado em Engenharia Agrícola na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Energia na Agricultura.

SUMÁRIO

RESUMO	viii
ABSTRACT	x
INTRODUÇÃO GERAL	1
1. Biocombustíveis.....	1
2. Microalgas	2
3. Sistemas de produção de biomassa algal	3
4. Reologia	5
4.1. Fluidos newtonianos	7
4.2. Fluidos não-newtonianos independentes do tempo.....	7
4.3. Modelos reológicos	8
4.3.1. Modelo Newtoniano	8
4.3.2. Modelo Ostwald-de Waele ou Lei de Potência	9
4.3.3. Modelo de Bingham	9
4.3.4. Modelo de Herschel-Bulkley.....	10
5. Efeitos das tensões hidrodinâmicas nos cultivos de microalgas.....	11
6. Referências Bibliográficas	13
ARTIGO 1.....	18
Comportamento reológico de cultivos de <i>Scenedesmus acuminatus</i> em diferentes concentrações de biomassa	18
RESUMO	18
ABSTRACT	19
1. Introdução	20
2. Material e métodos.....	22
2.1. Cultura e condições de cultivo	22
2.2. Determinação da biomassa seca.....	23
2.3. Adensamento da biomassa	24
2.4. Preparo das suspensões para a caracterização reológica.....	25
2.5. Caracterização reológica	26
2.6. Análise dos dados.....	28
3. Resultados e discussão	29

3.1. Biomassa seca	29
3.2. Teor de biomassa seca na biomassa adensada	29
3.3. Caracterização reológica	30
4. Conclusões	37
5. Referências Bibliográficas	38
ARTIGO 2.....	42
Viabilidade de cultivos de <i>Scenedesmus acuminatus</i> submetidos a tensões hidrodinâmicas	42
RESUMO	42
ABSTRACT	43
1. Introdução	44
2. Material e Métodos	47
2.1. Cultura e condições de cultivo	47
2.2. Determinação da biomassa.....	48
2.3. Adensamento da biomassa	49
2.4. Preparo das suspensões para os testes de viabilidade	50
2.5. Testes de viabilidade	51
2.6. Delineamento experimental e análise dos dados.....	55
3. Resultados e discussão.....	56
3.1. Biomassa nos fotobiorreatores	56
3.2. Teor de biomassa seca na biomassa adensada	56
3.3. Testes de viabilidade dos cultivos.....	57
4. Conclusões	60
5. Referências Bibliográficas	61
CONCLUSÕES GERAIS	64

RESUMO

SANTOS, Michel de Oliveira dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2012. **Comportamento reológico e viabilidade celular de cultivos da microalga *Scenedesmus acuminatus* submetidos a tensões hidrodinâmicas.** Orientador: Márcio Arêdes Martins. Coorientadores: Jane Sélia dos Reis Coimbra e Richard Stephen Gates.

A crescente demanda mundial por energia e a atual exigência de diminuição nos danos ambientais relativos ao uso de recursos não renováveis leva a busca por alternativas de fontes energéticas não convencionais e inovadoras. Entre as diversas fontes de energia renovável, os biocombustíveis tem se apresentado como uma alternativa técnica e economicamente viável. Atualmente, o biodiesel e o bioetanol são os biocombustíveis mais utilizados e disponíveis. Entretanto, ainda há necessidade de grande aumento na produção de biocombustíveis e a prospecção de novas fontes de biomassa deve ser feita. As microalgas são fontes promissoras, por serem muito eficientes na conversão de energia solar e compostos inorgânicos em biomassa. O dimensionamento, projeto e seleção de equipamentos para a produção e recuperação da biomassa microalgal depende da caracterização das propriedades reológicas do cultivo. Ainda, para otimizar a produção de biomassa em fotobiorreatores, torna-se importante conhecer a sensibilidade das células algais em relação às tensões de cisalhamento que ocorrem no escoamento. Assim, objetivou-se neste trabalho avaliar as propriedades reológicas de cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003 e avaliar a resposta desta espécie às tensões hidrodinâmicas características de fotobiorreatores, em termos da viabilidade celular. Para isso, a cepa foi cultivada em fotobiorreatores *airlift* e a biomassa produzida foi adensada por meio de centrifugação, para que concentrações de 1,09 a 8,71 kg m⁻³ pudessem ser avaliadas. As análises de viabilidade foram feitas com duas concentrações também preparadas a partir da biomassa adensada (5 e 8,71 kg m⁻³) e um cultivo (0,67 kg m⁻³) com adição de goma xantana como espessante, para que maiores tensões fossem alcançadas. Verificou-se que os cultivos submetidos a taxas de deformação elevadas apresentam comportamento não newtoniano, com características de fluido dilatante. Nos níveis de biomassa estudados, houve pouco efeito da concentração de biomassa sobre as viscosidades aparentes e sobre as tensões de cisalhamento. Quanto à

viabilidade, verificou-se que houve efeito das tensões na maior concentração avaliada ($8,71 \text{ kg m}^{-3}$) e no cultivo com adição de espessante. Observou-se também que o decréscimo na viabilidade depende mais do nível de tensão a que as células ficaram expostas do que do tempo de exposição.

ABSTRACT

SANTOS, Michel de Oliveira dos, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2012. **Rheological behavior and cell viability in *Scenedesmus acuminatus* microalgae cultures subjected to hydrodynamic stress.** Adviser: Márcio Arêdes Martins. Co-advisers: Jane Sélia dos Reis Coimbra and Richard Stephen Gates.

The world demand for energy and current requirement for reducing the environmental damage related to the use of non-renewable resources leads to search for alternative energy sources, unconventional and innovative. Among the various renewable energy sources, biofuels have been presented as a technically and economically feasible alternative. Currently, biodiesel and bioethanol are the most used and available biofuels. However, there is still great need for increase the biofuels production and the exploration of new sources of biomass must be made for this increase. Microalgae are a promising source of biomass for biofuel production because they are very efficient in the conversion of solar energy and inorganic compounds into biomass for various uses in the energy field. The sizing, design and selection of equipment for production and recovery of microalgal biomass depends on the characterization of the rheological properties of the culture. Furthermore, to optimize the production of biomass photobioreactors, it is important to know the sensitivity of the algal cells in relation to the shear stresses present in the flow. Thus, this study aimed to evaluate the rheological properties of cultures of *Scenedesmus acuminatus* BR003 and evaluate the effects of shear stress on cell viability. For this, the strain was cultivated in *airlift* photobioreactors and the biomass produced was condensed by centrifugation so that concentrations from 1.09 to 8.71 kg m⁻³ could be evaluated. The feasibility analyzes were performed with two concentrations also made through the condensed biomass (5 and 8.71 kg m⁻³) and a fresh culture (0.67 kg m⁻³) with the addition of xanthan gum as thickener, so that greater tensions were reached. It was found that cultures exposed to higher shear rates exhibit non-Newtonian behavior, with a shear-thickening fluid characteristic. In biomass levels studied there was a little effect of the concentration of biomass on the apparent viscosities and the shear stresses. About the viability, it was found that there was a effect of shear stress measured at the highest concentration (8.71 kg m⁻³) and

cultivation with addition of thickener. It was also observed that the decrease in viability is more dependent of the shear stress level at which cells are exposed than the exposure time.

INTRODUÇÃO GERAL

1. Biocombustíveis

Atualmente, cerca de 80 % da demanda energética mundial é atendida pela utilização de combustíveis fósseis (CHEN et al., 2011). Entretanto, a utilização intensiva destas fontes de energia não renováveis tem resultado em problemas sérios relacionados à degradação ambiental, às possíveis mudanças climáticas e à saúde da população. Assim, o uso de combustíveis fósseis apresenta alto custo quando considerados esses problemas, os quais dificilmente podem ser quantificados e, por isso, torna-se necessária a busca por novas alternativas de fontes de energia não convencionais e inovadoras, preferencialmente renováveis, de baixo custo e elevada disponibilidade.

Entre as diversas fontes de energia renovável, os biocombustíveis tem se apresentado como uma alternativa técnica e economicamente viável. Por meio dos biocombustíveis a energia solar armazenada durante a geração da biomassa é utilizada em diversas aplicações. Atualmente, o bioetanol, produzido a partir de cana-de-açúcar, milho e beterraba, e o biodiesel, produzido a partir de culturas oleaginosas, são os biocombustíveis mais utilizados e disponíveis (SCOTT et al., 2010). O biodiesel e o bioetanol são produzidos a partir de tecnologias convencionais e podem ser distribuídos utilizando-se a logística de distribuição já existente, tornando sua utilização ainda mais atrativa em comparação com outras opções de implementação mais complicada, como é o caso do hidrogênio (MATA et al., 2010).

O biodiesel possui alto potencial como biocombustível devido à possibilidade de utilização em motores de combustão de ciclo diesel, possuindo tecnologias de produção e utilização bastante consolidadas. O biodiesel de uso comercial tem sido produzido a partir de óleos vegetais, de óleos residuais de frituras de alimentos e de gorduras animais. Os óleos vegetais são fontes importantes de triacilglicerídeos para a produção de biodiesel, tanto pela qualidade quanto pela disponibilidade destes óleos. Porém, a produção de biodiesel a partir de óleos vegetais como de soja, de girassol e de algodão, compete com a produção de alimentos, uma vez que as principais culturas vegetais que fornecem esses óleos também fornecem outros produtos para a indústria alimentícia. Assim, além de qualidade, disponibilidade e

baixo custo, busca-se uma fonte de triacilglicerídeos que não seja de interesse de outros setores industriais, com o objetivo de se minimizar questões de competição com estes setores, garantindo a viabilidade da produção de biodiesel (MATA et al., 2010; CHEN et al., 2011).

2. Microalgas

As microalgas são fontes de biomassa promissoras para a produção de biocombustíveis (SINGH e GU, 2010; COSTA e MORAIS, 2011; JOHN et al., 2011). Assim como as plantas vasculares, as microalgas requerem quatro componentes básicos para o crescimento: luz, carbono, água e nutrientes. Fotossinteticamente, as microalgas são mais eficientes do que as plantas vasculares e podem ser produzidas em meios de cultivos simples, suplementados com nutrientes, e em larga escala. Sob condições específicas de cultivo, algumas espécies de microalgas podem apresentar até 70 % de óleo em massa seca (CHISTI, 2007).

As microalgas têm eficiência fotossintética muito maior do que as plantas vasculares, com crescimento e acúmulo rápido de biomassa vegetal, ou seja, produzem mais biomassa por hectare em menos tempo. A produtividade anual de óleo por hectare esperada com o cultivo de uma cepa de microalgas com 30 % de óleo por massa seca, excede em cerca de 10 vezes a produtividade da palma, considerada a espécie terrestre mais produtiva em óleo (CHISTI, 2007). Devido ao seu rápido crescimento, são fixadoras eficientes de carbono atmosférico, fixando mais carbono, via fotossíntese, em muito menos tempo. Estima-se que cada tonelada de biomassa algal produzida em determinado intervalo de tempo consome duas toneladas de CO₂ por meio da fotossíntese. Isso representa dez a vinte vezes mais do que o absorvido pelas culturas oleaginosas (BENEMANN, 1997).

A produção de biocombustíveis a partir das microalgas não compete com a indústria de alimentos, uma vez que esta requer áreas de cultivo menos extensas e pode ser conduzida em áreas que não são de interesse para a agricultura. Além disso, por atuarem naturalmente como fixadoras de CO₂, o cultivo pode ser conectado às linhas de emissão de gás carbônico das indústrias, tais como fábricas de cimento, de papel e celulose, usinas siderúrgicas e unidades de geração termoeletrica, que são as grandes emissoras de gás carbônico (DERMIBAS, 2011). A fixação de gás carbonico

por si já agregaria valor adicional a estas indústrias, por meio do mercado de crédito de carbono.

3. Sistemas de produção de biomassa algal

O projeto de sistemas de cultivos de microalgas em larga escala deve considerar vários fatores, incluindo intensidade de luz, temperatura, aspectos biológicos inerentes à alga, natureza do produto final, mistura e aeração adequadas, fontes de nutrientes e risco de contaminação (SASTRE et al., 2007).

A produção comercial de microalgas pode ser feita tanto em sistemas abertos como em sistemas fechados (ITOIZ et al., 2012). Os sistemas abertos são caracterizados principalmente por moderadas relações área superficial/volume (3 a $10 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$), enquanto os sistemas fechados são caracterizados por elevadas relações área superficial/volume (25 a $125 \text{ m}^2 \text{ m}^{-3}$). As principais vantagens de sistemas abertos são o baixo custo de operação e manutenção. As principais limitações são: elevado risco de contaminação; controle mais difícil das condições operacionais, deixando o sistema mais vulnerável às condições ambientais desfavoráveis; maior necessidade de área de instalação da unidade de produção para compensar a baixa profundidade dos tanques, devido à penetração de luz; elevadas taxas de evaporação nos tanques.

O principal tipo de sistema de cultivo aberto é o *raceway*, esquematizado na Figura 1a. Nesse sistema, o escoamento é mantido por um impulsor, geralmente na forma de um aerador de palheta motorizado, e há seções específicas no circuito para inserção de nutrientes e colheita da biomassa. O tamanho das unidades de cultivo vai geralmente de 0,1 ha a 0,5 ha (WANG & LAN, 2010). Uma unidade de cultivo tipo *raceway* com 150 m^3 de capacidade, instalada no San Diego Center for Algae Biotechnology (SD-CAB), localizado no California's Imperial Valley, EUA, é mostrada na Figura 1b.

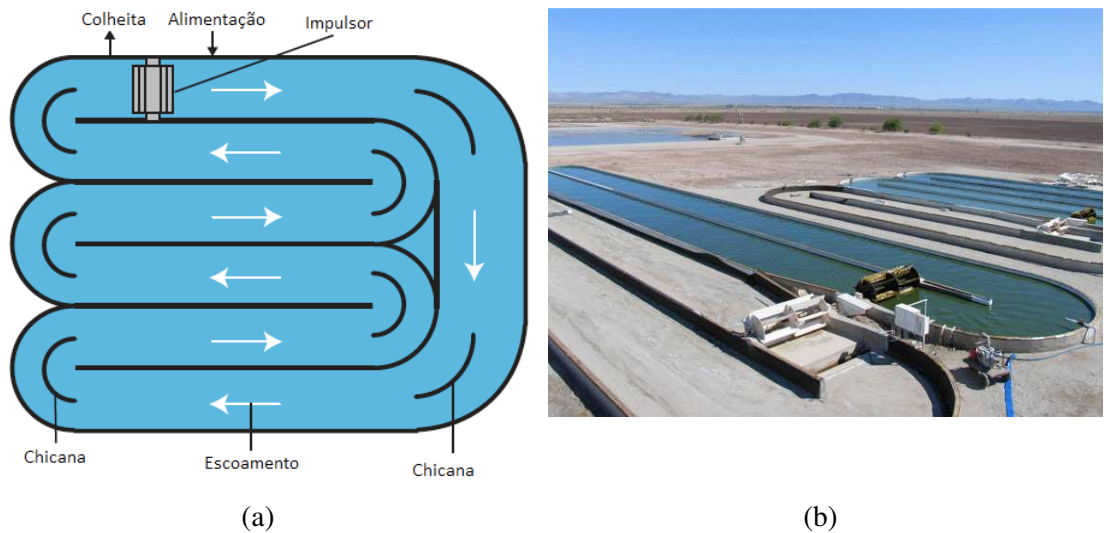


Figura 1. (a) Esquema de um sistema de cultivo aberto tipo *raceway* e (b) unidade de 150 m³ instalada no San Diego Center for Algae Biotechnology. Fontes: Chisti, 2007; SD-CAB, 2011.

Os sistemas fechados, denominados fotobiorreatores (Figura 2a), são sistemas em que não há contato direto entre o cultivo e o ar ambiente. Estes sistemas são constituídos basicamente de um arranjo que possibilita a captação da luz de determinada fonte, como tubos ou placas transparentes, uma entrada de nutrientes, uma saída para extração de biomassa, equipamentos que promovam força motriz para o escoamento, como bombas ou aeradores e, quando o fotobiorreator utiliza a luz solar, há também a necessidade de equipamentos para o resfriamento do meio de cultivo. Um fotobiorreator tubular de 3,5 m³, instalado no South Australian Research and Development Institute (SARDI) – Austrália, é apresentado na Figura 2b.

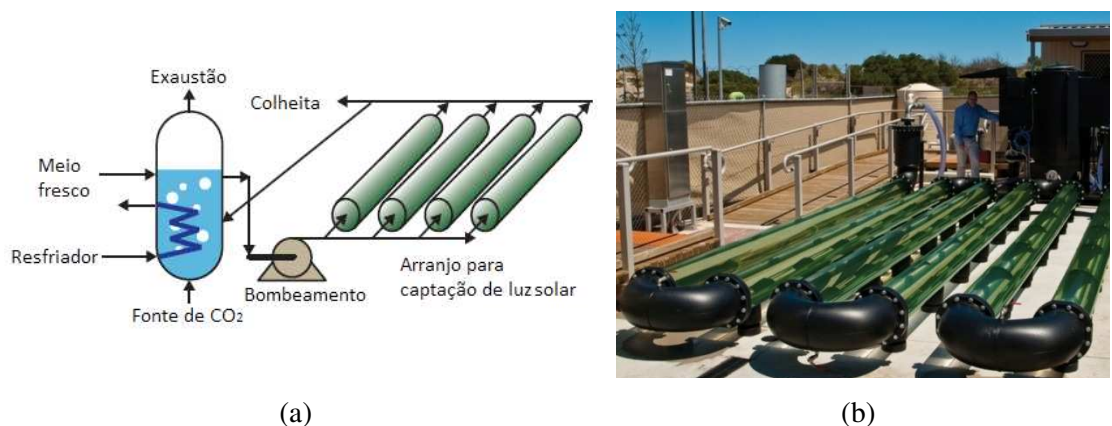


Figura 2. (a) Esquema de um fotobiorreator tubular e (b) unidade de 3500 L Fontes: Chisti, 2007; NCRIS, 2010.

As principais limitações dos fotobiorreatores são os custos de implantação e operação, que podem ser altos devido à qualidade dos materiais utilizados na construção dos mesmos, os equipamentos e a instrumentação necessária à operação adequada destes sistemas. Apesar disso, os estudos sobre cultivos de microalgas em altas concentrações de biomassa, que viabilizariam a produção de biocombustíveis, tem se voltado para os fotobiorreatores, pois nestes sistemas podem ser alcançadas elevadas taxas fotossintéticas e, conseqüentemente, elevada produtividade de biomassa (WANG et al., 2012). Além disso, os fotobiorreatores apresentam outras vantagens como:

- Maior controle das condições operacionais;
- Menor risco de contaminações;
- Menor área para a instalação da unidade de produção;
- Reduzida evaporação.

O dimensionamento, projeto e seleção de equipamentos utilizados nos sistemas de produção de biomassa microalgal dependem das informações acerca das propriedades reológicas dos cultivos, pois estas afetam as condições de agitação e mistura, o transporte de massa entre as fases líquida e gasosa, o requerimento de energia para movimentação durante o cultivo e o desempenho das operações unitárias da etapa de recuperação da biomassa (WILEMAN et al., 2012).

4. Reologia

A reologia é definida como a ciência da deformação e escoamento dos materiais, ou seja, é o estudo da resposta dos materiais à aplicação de uma tensão ou deformação (STEFFE, 1996; BARNES, 2000; TABILO-MUNIZAGA e BARBOSA-CÁSANOVAS, 2005). Todos os materiais possuem propriedades reológicas, tornando esta ciência muito importante em várias áreas do conhecimento como geologia (WU e WANG, 2008; van de WAL et al., 2010), mineração e mineralogia (NDLOVU et al.; 2011), tecnologia de concreto (WALLEWIK e WALLEWIK, 2011), mecânica dos solos (MARKGRAF et al., 2011), estudo de polímeros e compósitos (GOH et al., 2008; KAGARISE et al., 2010), indústria de alimentos

(FISCHER e WINDHAB, 2011), tratamento de águas residuárias (SEYSSIECQ et al., 2003; HAMMADI et al., 2011), entre outras.

Sob o ponto de vista reológico, os fluidos são materiais que se deformam continuamente sob a ação de uma tensão de cisalhamento (FOX et al., 2010). A classificação dos fluidos é feita de acordo com a resposta, em termos de tensão de cisalhamento, à aplicação de uma determinada taxa de deformação, ou gradiente de velocidade, que representa a quantidade de movimento que é aplicada ao fluido. Vários modelos matemáticos são utilizados para formalizar e quantificar a relações entre as tensões de cisalhamento e taxas de deformação. As categorias em que se classificam os fluidos e os modelos mais utilizados para descrever os comportamentos são apresentados na Figura 3.

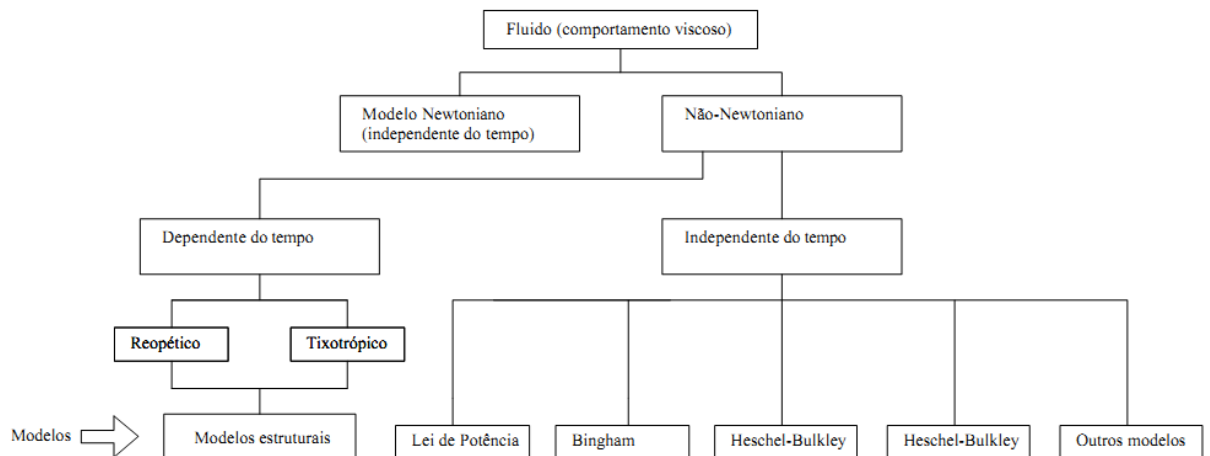


Figura 3. Comportamento reológico dos fluidos.

A viscosidade é uma das principais variáveis avaliadas no estudo do comportamento reológico dos fluidos. Ela representa a resistência à deformação do fluido quando submetido a uma tensão de cisalhamento (FOX et al., 2010). A viscosidade aparente de um fluido é definida como:

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} \quad (1)$$

em que:

η é a viscosidade aparente (Pa s);

τ é a tensão de cisalhamento (Pa);

$\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação ou gradiente de velocidade (s^{-1}).

O comportamento reológico dependente do tempo refere-se aos fluidos nos quais a viscosidade aparente e tensão de cisalhamento se alteram ao longo do tempo de aplicação de determinada taxa de deformação. Se a viscosidade e tensão diminuem com o tempo de aplicação da taxa de deformação, o fluido é denominado tixotrópico. Se a viscosidade e tensão aumentam com o tempo de aplicação da taxa de deformação, o fluido é denominado reopético. Se o comportamento é independente do tempo, alterações na viscosidade e tensão não ocorrem devido ao tempo de aplicação da taxa.

4.1. Fluidos newtonianos

Os fluidos newtonianos são materiais com comportamento reológico independente do tempo, nos quais a tensão de cisalhamento e viscosidade aparente também não variam com taxa de deformação aplicada e o escoamento ocorre sem a aplicação de uma tensão inicial.

Nos fluidos newtonianos a viscosidade dinâmica se altera em função da temperatura e da sua composição. Exemplos de fluidos newtonianos incluem água, óleos vegetais, gasolina, biodiesel (CANDEIA et al., 2009), caldo de cana-de-açúcar (ASTOLFI-FILHO et al. 2011), solventes orgânicos e gases.

4.2. Fluidos não-newtonianos independentes do tempo

Os fluidos não newtonianos independentes do tempo caracterizam-se principalmente pela dependência não linear entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação. Isto ocorre porque, para tais fluidos, a viscosidade também depende da taxa de deformação, além da temperatura e composição do fluido. Grande parte dos fluidos não newtonianos apresenta redução da viscosidade aparente com o aumento na taxa de deformação. Estes fluidos são denominados *pseudoplásticos* e são representados pelas polpas (VANDRESEN et al., 2009) e gomas espessantes (SIKORA et al., 2008).

Outra classe de fluidos não newtonianos, independentes do tempo, apresenta aumento da viscosidade aparente com aumento da taxa de deformação. Estes fluidos, bem mais incomuns que os pseudoplásticos, são denominados *dilatantes* e são representados por alguns tipos de mel, suspensões de amido e de areia. Segundo Barnes (2000), as suspensões podem apresentar o comportamento dilatante devido à ruptura de estruturas formadas durante o escoamento a partir de uma taxa de deformação crítica. Uma aplicação atual interessante de fluidos dilatantes é a incorporação destes em Klevar com intuito de melhorar a capacidade de proteção balística deste material (SRIVASTAVA et al., 2011).

Alguns fluidos não-newtonianos necessitam que determinada tensão inicial (τ_0) seja alcançada para que o escoamento ocorra. Abaixo desta tensão, o material se comporta como um sólido, e acima deste valor de tensão, ele escoar como um fluido newtoniano. Estes fluidos são denominados *plásticos de Bingham* e como exemplos tem-se suspensões de argila, lamas de perfuração e pasta dental (FOX et al., 2010).

4.3. Modelos reológicos

Os modelos reológicos são utilizados para fazer a representação matemática dos dados experimentais que relacionam a tensão de cisalhamento medida em fluido sob determinada taxa de deformação aplicada. Os principais modelos reológicos aplicados para o estudo de fluidos independentes do tempo serão apresentados a seguir.

4.3.1. Modelo Newtoniano

Os fluidos newtonianos são caracterizados por apresentar uma relação linear entre a taxa de deformação e a tensão de cisalhamento:

$$\tau = \mu \dot{\gamma} \quad (2)$$

em que:

μ é a viscosidade dinâmica (Pa s).

4.3.2. Modelo Ostwald-de Waele ou Lei de Potência

O modelo da Lei de Potência um dos modelos mais utilizados para descrever o comportamento de fluidos não-newtonianos, independentes do tempo, em amplas faixas de taxa de deformação. O comportamento é descrito matematicamente como:

$$\tau = k\dot{\gamma}^n \quad (3)$$

em que:

k é o índice de consistência do fluido (Pa s^n);

n é o índice de comportamento do fluido.

O valor do índice de comportamento determina o comportamento do fluido em relação à taxa de deformação. Se n é maior que a unidade, o fluido é dilatante. Se $0 < n < 1$, o fluido é pseudoplástico. Se n é igual a unidade, o modelo de Lei de Potência se reduz ao modelo newtoniano e k é igual a viscosidade dinâmica. De acordo com este modelo, a viscosidade aparente é calculada como:

$$\eta = \frac{\tau}{\dot{\gamma}} = k\dot{\gamma}^{n-1} \quad (4)$$

4.3.3. Modelo de Bingham

Fluidos independentes do tempo, que necessitam da aplicação de uma tensão inicial para o início do escoamento e, durante o escoamento, apresentam o comportamento semelhante ao de fluido newtoniano, podem ser modelados por meio do modelo de Bingham, expresso matematicamente como:

$$\tau = \tau_0 + \eta_b \dot{\gamma} \quad (5)$$

em que:

τ_0 é a tensão de cisalhamento inicial (Pa);
 η_b é viscosidade plástica de Bingham (Pa s).

De acordo com o modelo de Bingham, a viscosidade aparente é definida como:

$$\eta = \frac{\tau_0}{\dot{\gamma}} + \eta_b \quad (6)$$

4.3.4. Modelo de Herschel-Bulkley

Fluidos independentes do tempo, que necessitam da aplicação de uma tensão inicial para o início do escoamento e, durante o escoamento, apresentam o comportamento de fluido não-newtoniano, podem ser modelados por meio do modelo de Herschel-Bulkley, expresso matematicamente como:

$$\tau = \tau_{0h} + k_h \dot{\gamma}^{n_h} \quad (7)$$

em que:

τ_{0h} é a tensão de cisalhamento inicial do modelo de Herschel-Bulkley (Pa);
 k_h é o índice de consistência do fluido no modelo de Herschel-Bulkley (Pa sⁿ);
 n_h é o índice de comportamento do fluido no modelo de Herschel-Bulkley.

Este modelo é o mais completo, pois os modelos anteriores podem ser considerados como casos especiais deste:

- Modelo Newtoniano: $\tau_{0h} = 0$ e $n_h = 1$; $k_h = \mu$;
- Lei de Potência: $\tau_{0h} = 0$; $n_h = n$ e $k_h = k$;
- Bingham: $n_h = 1$; $\tau_{0h} = \tau_0$ e $k_h = \eta_b$;

De acordo com o modelo de Heschel-Bulkley, a viscosidade aparente é definida como:

$$\eta = \frac{\tau_{0h}}{\dot{\gamma}} + k_h \dot{\gamma}^{n_h-1} \quad (8)$$

5. Efeitos das tensões hidrodinâmicas nos cultivos de microalgas

As condições hidrodinâmicas estabelecidas nos fotobiorreatores para o cultivo de microalgas são necessárias ao crescimento da biomassa, mas inevitavelmente expõem as células às tensões de cisalhamento presentes no escoamento. Verifica-se que os materiais biológicos respondem das mais diversas formas quando são submetidos às tensões hidrodinâmicas (JOSHI et al., 1996). Dessa forma, as tensões presentes durante o cultivo em fotobiorreatores podem alcançar níveis que comprometam as taxas de crescimento da biomassa e mesmo levem as células algais à morte (LEBEAU e ROBERT, 2003; MICHELS et al., 2010).

De fato, vários trabalhos já demonstraram que as microalgas possuem sensibilidade às tensões hidrodinâmicas (GUDIN e CHAUMONT, 1991; CAMACHO et al., 2000; CAMACHO et al., 2007; HODAIFA et al., 2010), tendo sido observadas respostas no metabolismo das células, na viabilidade dos cultivos e na taxa de crescimento da biomassa. Apesar da dificuldade de comparação entre os trabalhos devido às diferenças nas metodologias de avaliação das tensões hidrodinâmicas nos sistemas utilizados, verifica-se que os níveis de sensibilidade variam muito com a espécie considerada.

Outros trabalhos também demonstram que os maiores níveis de danos às células e resposta negativa no crescimento são verificados em equipamentos e regiões dos sistemas de cultivo associados às maiores taxas de deformação do fluido (JOUEN et al., 1999; SCARSELLA et al., 2011). Desta forma, para otimizar a produção de biomassa em fotobiorreatores, torna-se importante tanto conhecer a sensibilidade das células algais em relação as tensões de cisalhamento presentes no escoamento, quanto caracterizar, da melhor forma possível, às condições hidrodinâmicas no sistema de cultivo, identificando regiões e condições de operação que possam trazer problemas aos cultivos, a fim de evitá-las.

Diante da necessidade destas informações, com o presente trabalho objetivou-se determinar o comportamento reológico de cultivos da microalga *Scenedesmus acuminatus* BR003 e estudar a sensibilidade desta espécie às tensões hidrodinâmicas, em níveis de taxa de deformação correspondentes as operações de agitação e mistura,

necessárias nas etapas de produção de biomassa algal, sendo os objetivos desenvolvidos em dois artigos.

6. Referências Bibliográficas

Astolfi-Filho, Z.; Telis, V. R. N.; Oliveira, E. B.; Coimbra, J. S. R.; Telis-Romero, J. Rheology and fluid dynamics properties of sugar cane juice. **Biochemical Engineering Journal**, v. 53, 260-265, 2011.

Barnes, H. A. **A Handbook of Elementary Rheology**. Aberystwyth: University of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, 2000. 200p.

Benemann, J. R. CO₂ mitigation with microalgal systems. **Energy Conversion and Management**, v. 38, p. 475-479, 1997.

Camacho, F. G.; Rodríguez, J. J. G. Mirón, A. S.; García, M. C. C.; Belarbi, E. H.; Grima, E. M. Determination of shear stress thresholds in toxic dinoflagellates cultured in shaken flasks. Implications in bioprocess engineering. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 1506-1515, 2007.

Candeia, R. A.; Silva, M. C. D.; Carvalho Filho, J. R.; Brasilino, M. G. A.; Bicudo, T. C.; Santos, I. M. G.; Souza, A. G. Influence of soybean biodiesel content on basic properties of biodiesel–diesel blends. **Fuel**, v. 88, n. 4, p. 738–743, 2009.

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

Chen, C. -Y.; Yeh, K. -L.; Aisyah, R.; Lee, D. -J.; Chang, J. -S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71-81, 2011.

Costa, J. A. V.; Morais, M. G. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 2-9, 2011.

Dermibas, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. **Applied Energy**, v. 88, p. 3541-3547, 2011.

Fischer, P.; Windhab, E. J. Rheology of food materials. **Current Opinion in Colloid & Interface Science**, v. 16, p. 36-40, 2011.

Fox, R. W.; McDonald, A. T.; Pritc, P. J. **Introdução à Mecânica dos Fluidos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2010. 728p.

Galindo-Rosales, F. J.; Rubio-Hernández, F. J.; Sevilla, A. An apparent viscosity function for shear thickening fluids. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, v. 166, n. 5-6, p. 321-325, 2011.

Goh, T. K.; Coventry, K. D.; Bleconwe, A.; Qiao, G. G. Rheology of core cross-linked star polymers. **Polymer**, v. 49, p. 5095-5104, 2008.

Gudin, C.; Chaumont, D. Cell Fragility – The Key Problem of Microalgae Mass Production in Closed Photobioreactors. **Bioresource Technology**, v. 38, p. 145-151, 1991.

Hammadi, L.; Ponton, A.; Belhadri, M. Rheological study and valorization of waste sludge from wastewater treatment plants in the dredging operation of hydraulic dams. **Energy Procedia**, v. 6, p. 302-309, 2011.

Hodaifa, G.; Martínez, M. E.; Órpez, R.; Sánchez, S. Influence of hydrodynamic stress in the growth of *Scenedesmus obliquus* using a culture medium based on olive-mill wastewater. **Chemical Engineering and Processing**, v. 49, p. 1161–1168, 2010.

Itoiz, E. S.; Fuentes-Grünwald, C.; Gasol, C. M.; Garcés, E.; Alacid, E.; Rossi, S.; Rieradevall, J. Energy balance and environmental impact analysis of marine microalgal biomass production for biodiesel generation in a photobioreactor pilot plant. **Biomass and Bioenergy**, doi:10.1016/j.biombioe.2012.01.026, 2012.

Jaouen, P.; Vandanjon, L.; Quéméneur, F. The shear stress of microalgal cell suspensions (*Tetraselmis suecica*) in tangential flow filtration systems: the role of pumps. **Bioresource Technology**, n. 68, p. 149-154, 1999.

John, R. P.; Anisha, G. S.; Nampoothiri, K. M.; Pandey, A. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 186-193, 2011.

Joshi, J. B.; Elias, C. B.; Patole, M. S. Role of hydrodynamic shear in the cultivation of animal, plant and microbial cells. **The Chemical Engineering Journal**, n. 62, p. 121-141, 1996.

Kagarise, C.; Xu, J.; Wang, Y.; Mahboob, M.; Koelling, K. W.; Bechtel, S. E. Transient shear rheology of carbon nanofiber/polystyrene melt composites. **Journal of Non-Newtonian Fluid Mechanics**, v. 165, n. 3-4, p. 98-109, 2010.

Markgraf, W.; Watts, C. W.; Whalley, W. R.; Hrkac, T.; Horn, R. Influence of organic matter on rheological properties of soil. **Applied Clay Science**, doi:10.1016/j.clay.2011.04.009, 2011.

Mata, T. M.; Martins, A. A.; Caetano, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 217-232, 2010.

Michels, M. H. A.; van der Goot, A. J.; Norsker, N. -H.; Wijffels, R. H. Effects of shear stress on the microalgae *Chaetoceros muelleri*. **Bioprocess Biosystems Engineering**, v. 33, p. 921-927, 2010.

NATIONAL COLLABORATIVE RESEARCH INFRASTRUCTURE STRATEGY (NCRIS). Manufacture of Biofuels. 2010. Disponível em: <<http://www.ncrisbiofuels.org/facilities>>. Acesso em: 06 de fevereiro de 2012.

Ndlovu, B.; Becker, M.; Forbes, E.; Deglon, D.; Franzidis, J. –P. The influence of phyllosilicate mineralogy on the rheology of mineral slurries. **Minerals Engineering**, v. 24, n. 12, p. 1314-1322, 2011.

Sastre, R. R.; Csögör, Z.; Perner-Nochta, I.; Fleck-Schneider, P.; Posten, C. Scale-down of microalgae cultivations in tubular photo-bioreactors – A conceptual approach. **Journal of Biotechnology**, v. 132, p. 127-133, 2007.

SAN DIEGO CENTER FOR ALGAE BIOTECHNOLOGY (SD-CAB). Algae Farm. 2010. Disponível em: <<http://algae.ucsd.edu/research/algae-farm.html>>. Acesso em: 06 de fevereiro de 2012.

Scott, S. A.; Davey, M. P.; Dennis, J. S.; Horst, I.; Howe, C. J.; Lea-Smith, D. J.; Smith, A. G. Biodiesel from algae: challengers and prospects. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, p. 277-286, 2010.

Seyssiecq, I.; Ferrasse, J. –H.; Roche, N. State-of-the-art: rheological characterisation of wastewater treatment sludge. **Biochemical Engineering Journal**, v. 16, n. 1, p. 41-56, 2003.

Singh, J.; Gu, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.14, n.9, p. 2596-2610, 2010.

Siroka, M.; Kowalski, S.; Tomasik, P. Binary hydrocolloids from starches and xanthan gum. **Food Hydrocolloids**, v. 22, n. 5, p. 943–952, 2008.

Srivastava, A.; Majundar, A.; Butola, B. S. Improving the impact resistance performance of Kevlar fabrics using silica based shear thickening fluid. **Materials Science and Engineering A**, v. 529, p. 224-229, 2011.

Steffe, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2nd ed. East Lansing: Freeman Press, 1996. 412p.

Tabilo-Munizaga, G.; Barbosa-Casanovas, G. V. Rheology for the food industry. **Journal of Food Engineering**, v. 67, p. 147–156, 2005.

van der Wal, W.; Wu, P.; Wang, H.; Sideris, M. G. Sea levels and uplift rate from composite rheology in glacial isostatic adjustment modeling. **Journal of Geodynamics**, v. 50, n. 1, p. 38-48, 2010.

Vandresen, S.; Quadri, M. G. N.; Souza, J. A. R.; Hotza, D. Temperature effect on the rheological behavior of carrot juices. **Journal of Food Engineering**, v. 92, p. 269–274, 2009.

Wang, B.; Lan, C. Q.; Horsman, M. Closed photobioreactors for production of microalgal biomasses. **Biotechnology Advances**, doi:10.1016/j.biotechadv.2012.01.019, 2012.

Wallevic, O. H.; Wallevic, J. E. Rheology as a tool in concrete science: The use of rheographs and workability boxes. **Cement and Concrete Research**, v. 41, v. 12, p. 1279-1288, 2011.

Wileman, A.; Ozkan, A.; Berberoglu, H. Rheological properties of algae slurries for minimizing harvesting energy requirements in biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 432-439, 2012.

Wu, P.; Wang, H. Postglacial isostatic adjustment in a self-gravitating spherical earth with power-law rheology. **Journal of Geodynamics**, v. 46, n. 3-5, p. 118-130, 2008.

ARTIGO 1

Comportamento reológico de cultivos de *Scenedesmus acuminatus* em diferentes concentrações de biomassa

Michel de O. dos Santos¹, Marcio A. Martins², Jane S. R. Coimbra³, Richard S. Gates⁴, Jimmy Soares⁵, Lucas de P. Corrêdo⁶.

¹ Engenheiro Agrícola e Ambiental, Pós-Graduando, Universidade Federal de Viçosa (UFV) – MG – Brasil, michel.santos@ufv.br

² Engenheiro Químico, D. Sc., Prof. Adjunto IV, UFV – MG – Brasil, aredes@ufv.br

³ Engenheira Química, PhD., Profa. Associada II, UFV – MG – Brasil, jcoimbra@ufv.br

⁴ Engenheiro Agrícola, PhD., Prof. Titular, University of Illinois – EUA, rsgates@illinois.edu

⁵ Biólogo, Pós-Graduando, UFV – MG – Brasil, motorhead_br@hotmail.com

⁶ Graduando em Engenharia Agrícola e Ambiental, UFV – MG – Brasil, lucas.corredo@ufv.br

RESUMO – Estudos envolvendo o uso de microalgas na produção de biocombustíveis cada vez mais se intensificam devido à necessidade de fontes renováveis de energia que não competem diretamente com a produção de alimentos e da redução das emissões de gás carbônico. A utilização de microalgas para a produção de biocombustíveis está diretamente associada à sua capacidade de ser produzida em larga escala e de ser extraída do meio de cultivo. Os estudos reológicos são essenciais para a geração de dados necessários no dimensionamento e projeto de equipamentos presentes nas diversas operações unitárias necessárias na produção e extração da biomassa algal. Foi estudado o comportamento reológico de cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003, na faixa de concentração de biomassa de 1,09 a 8,71 kg m⁻³. O modelo de Lei de Potência apresentou bom ajuste aos dados. Em todas as concentrações os cultivos apresentaram comportamento não newtoniano, com características de fluido dilatante. Verificou-se pouco efeito da concentração de biomassa na tensão de cisalhamento, na viscosidade aparente e nos índices de comportamento e de consistência das suspensões.

PALAVRAS CHAVE: Reologia, microalgas, biocombustíveis.

Rheological behavior of *Scenedemus acuminatus* cultures in different biomass concentrations

ABSTRACT – Studies involving the use of microalgae for biofuel production are intensified by the need for renewable energy sources that do not compete directly with food production and the reduction of carbon emissions. The use of microalgae for biofuel depends not only on the growing rates and oil contents, but also its potential to be produced on large scale systems and to be extracted from the culture medium. The rheological studies are essential for selection and design of equipment that compose the unit operations required for the production and extraction of algal biomass. Rheological behavior of *Scenedesmus acuminatus* BR003 cultures were studied, in the range of biomass concentration from 1.09 to 8.71 kg m⁻³. The Power Law model presented satisfactory fit to the data. The cultures were non-Newtonians, characterizing the cultures as shear-thickening fluids, for all biomass concentrations. There was little effect of biomass concentration in shear stress, apparent viscosity and consistency and behavior index of the cultures.

KEYWORDS: Rheology, microalgae, biofuels.

1. Introdução

Estudos envolvendo o uso de microalgas na produção de biocombustíveis têm sido intensificados em função da busca por fontes renováveis de energia que não competem diretamente com a produção de alimentos, e da emergencial necessidade de depleção e redução nas emissões de gás carbônico (SCOTT et al., 2010; MATA et al., 2010; DERMIBAS, 2011). As microalgas também são cultivadas para fornecimento de matéria prima para os setores de aquicultura (SPOLAORE et al., 2006; FERREIRA et al., 2008), de alimentos (GOUVEIA et al., 2007), de cosméticos e de produtos de alto valor agregado, como ácidos graxos poliinsaturados e pigmentos (HARUN et. al., 2010). Em aplicações ambientais, as microalgas são utilizadas em sistemas de tratamento de efluentes para aumentar o desempenho na degradação do material tratado, melhorar o balanço de CO₂, reduzir a demanda por oxigênio nos estágios de tratamento aeróbicos, remover metais pesados e compostos tóxicos recalcitrantes como o fenol (MUÑOZ e GUIEYSSE, 2006; GAO et al., 2011).

A utilização de microalgas para a produção de biocombustíveis está diretamente associada à sua capacidade de ser produzida em larga escala e de ser extraída do meio de cultivo (SCRAGG et al., 2002; MOLINA GRIMA et al., 2003). A viabilidade econômica da produção de biodiesel ou de qualquer outro subproduto a partir de microalgas depende da diminuição dos custos de produção e de separação da biomassa. Isto pode ser alcançado por meio do aumento da produtividade em biomassa e em óleo e da otimização das técnicas de separação. Em um estudo de caso sobre produção de ácido eicosapentaenoico (EPA) a partir da microalga *Phaeodactylum tricornutum*, Molina Grima et al. (2003) verificaram que 40 % do custo é relativo a produção de biomassa e 60 % é relativo aos processos de extração de biomassa e recuperação do produto final.

Os estudos reológicos são essenciais para a geração de dados necessários para a seleção, dimensionamento e projeto de equipamentos presentes nas diversas operações unitárias que compõem os processos industriais, como bombas, tubulações, misturadores, aeradores, extrusores, homogeneizadores e trocadores de calor, dentre outros (STEFFE, 1996; BARNES, 2000). Desta forma, o projeto dos

sistemas de cultivo de microalgas em larga escala, bem como o dimensionamento dos equipamentos utilizados nas técnicas de extração de biomassa e outros acessórios, deve ser precedido pela investigação das propriedades reológicas do cultivo.

Os cultivos de microalgas são suspensões complexas, compostas por uma fase líquida que contém água, células algais dispersas ou em colônias, polímeros biológicos e sais dissolvidos (WILEMAN et al., 2012). Assim, os cultivos de microalgas podem apresentar comportamento não newtoniano, com características pseudoplásticas atribuídas principalmente à presença de substâncias poliméricas extracelulares (MICHELS et al., 2010; MISHRA et al., 2011). Além disso, devido ao significativo aumento no teor de biomassa algal durante o período de cultivo, verifica-se que há alteração no comportamento reológico, apresentando aumento da viscosidade e até mesmo mudança de comportamento do fluido em maiores concentrações de biomassa (FERNANDES et al., 1991; WILEMAN et al., 2011).

No presente trabalho, comportamento reológico do cultivo de *Scenedesmus acuminatus* BR003 (Figura 1) foi investigado. A espécie estudada pertence a um gênero de microalgas que apresenta, em cultivo autotrófico, produtividade de biomassa na faixa de $0,06 \text{ kg m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$ a $0,26 \text{ kg m}^{-3} \text{ dia}^{-1}$ e teores de óleo em massa seca na faixa de 9,5 a 21,1 % (CHEN et al. 2011). Além disso, espécies do gênero *Scenedesmus* apresentam perfil de ácidos graxos adequado para a produção de biodiesel, sendo que este perfil pode ser alterado pelas condições de cultivo e de nutrição (GOUVEIA & OLIVEIRA, 2009; TAN e LIN, 2011; TANG et al., 2011; HO et al., 2011). As concentrações de biomassa de 1,09; 2,18; 4,36 e $8,71 \text{ kg m}^{-3}$ foram estudadas com o objetivo de prever as alterações deste comportamento durante as etapas de produção de biomassa e fornecer dados para a seleção, dimensionamento e projeto de equipamentos necessários ao desenvolvimento de uma linha de processamento de biomassa microalgal.

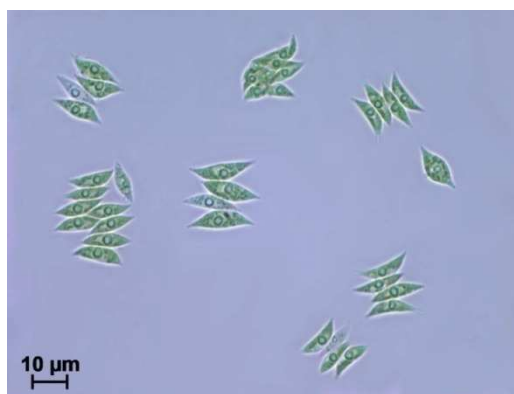


Figura 1. *Scenedesmus acuminatus* BR003. Fonte: Laboratório de Ficologia/UCP, UFV.

2. Material e métodos

2.1. Cultura e condições de cultivo

A cepa de microalgas *Scenedesmus acuminatus* BR003, pertencente ao banco de cepas Petrobrás/UFV, foi obtido no Laboratório de Ficologia/Unidade de Crescimento de Plantas (Universidade Federal de Viçosa – MG – Brasil). Esta cepa foi coletada em uma das represas da Unidade de Piscicultura da Universidade Federal de Viçosa e para o isolamento foram utilizadas as técnicas de diluição em série, estriamento sucessivo em meio sólido e lavagens com hipoclorito (LOURENÇO, 2007).

Os cultivos foram conduzidos em dois fotobiorreatores (A e B, Figura 2b) do tipo *airlift*, que consistiram de frascos em vidro borosilicato de 10 L (marca Laborglas, código 9116186, Brasil), com volume de meio de cultivo inicial de 8 L, previamente esterilizados em autoclave (marca Phoenix, modelo AV 75, Brasil) a 120 °C. Os cultivos foram realizados utilizando-se o meio BG11 com nitrogênio (ANDERSEN *et al.*, 2005) e a agitação foi promovida por injeção de ar atmosférico comprimido por um compressor (marca Motomil, modelo CMV-10/100, Brasil) de 1492 W de potência (2 hp). A linha de injeção de ar possuía um sistema de lavagem do gás para remoção de partículas e gotículas de óleo provenientes do compressor. Os fotobiorreatores foram instalados no interior de uma câmara de cultivo com dimensões 0,60 m x 0,60 m x 1,40 m (Figura 2a), utilizando-se um fotoperíodo de luz:escuro de 16:8 h e intensidade luminosa de $148 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por 9

lâmpadas fluorescentes tubulares (marca Osram, modelo L40 W LDE, Brasil), de 40 W de potência cada. Os cultivos foram mantidos por 20 dias, pois em experimentos anteriores, verificou-se que para as mesmas condições de cultivo e nutrição, neste período o crescimento da biomassa alcança a fase estacionária. Após este período, foi feita a determinação de biomassa, o adensamento do cultivo, as diluições para alcançar as concentrações desejadas e realização dos testes reológicos.



Figura 2. (a) Câmara de cultivo contendo os fotobiorreatores *airlift* e (b) detalhe nos fotobiorreatores *airlift* A e B, sistemas de injeção de ar, de iluminação e lavagem de gás.

2.2. Determinação da biomassa seca

Para a determinação de biomassa seca foram retiradas de cada fotobiorreator três amostras de 50 mL das culturas algais. Após a coleta, procedeu-se a centrifugação das amostras em centrífuga refrigerada (marca Thermo Scientific, modelo Heraeus Multifuge X3R, USA), a 10000g e a 4 °C, durante 10 minutos, para a separação da biomassa do meio de cultura. Após a primeira centrifugação, o meio de cultura sobrenadante foi retirado dos tubos e o *pellet* de biomassa úmida foi lavado com água deionizada para a retirada dos sais. A suspensão de biomassa em água foi novamente centrifugada a 10000g e a 4 °C, durante 10 minutos. O sobrenadante foi novamente retirado e o *pellet* de biomassa úmida foi colocado em placas de petri e transferido para uma estufa com circulação de ar (marca American Lab, modelo AL 102/150, Brasil), a 60 °C. Periodicamente a biomassa foi

quantificada em balança analítica (marca Shimadzu, modelo AY220, Japão) com precisão de 0,0001 g, até apresentar massa constante. A concentração de biomassa seca nos fotobiorreatores, expressa em kg m^{-3} , pode ser calculada como:

$$X = \frac{m_f}{Vol} \quad (1)$$

em que:

X é a concentração de biomassa no fotobiorreator (kg m^{-3} ou g L^{-1});

m_f é a massa final seca em estufa (g);

Vol é o volume de amostra centrifugado (L).

O valor de biomassa seca considerado para cada fotobiorreator é igual à média de três quantificações.

2.3. Adensamento da biomassa

Uma vez que as concentrações de biomassa desejadas para o estudo reológico não foram alcançadas nos fotobiorreatores, optou-se por fazer o adensamento da biomassa por meio de centrifugação. Níveis de concentração de biomassa acima dos valores alcançados em cultivos fotoautotróficos são verificados no processamento da biomassa algal, principalmente após as etapas iniciais das operações unitárias de separação. Foram reservados 500 mL dos cultivos (250 mL de cada fotobiorreator) para outros experimentos. O restante do volume foi centrifugado em centrífuga refrigerada (marca Thermo Scientific, modelo Heraeus Multifuge X3R, USA), a 4600g e a 4 °C, durante 10 minutos, utilizando-se um rotor (Thermo Scientific, modelo TX-750, EUA) com capacidade de acoplamento de 4 frascos de 750 mL cada. Após a primeira centrifugação, o sobrenadante foi retirado dos frascos e o *pellet* de biomassa úmida foi lavado com água deionizada para a retirada dos sais. A suspensão de biomassa em água foi novamente centrifugada a 4600g e a 4 °C, durante 10 minutos. O sobrenadante foi novamente retirado e a biomassa úmida foi colocada em placas de petri e armazenada em refrigerador (marca Metalfrio, modelo VB40W, Brasil) a 8 °C, para ser utilizada nos experimentos. Para determinar o teor de massa seca na biomassa úmida adensada resultante de cada fotobiorreator,

utilizou-se novamente o método de secagem em estufa com circulação de ar (marca American Lab, modelo AL 102/150, Brasil) a 60 °C até massa constante. Da biomassa resultante do fotobiorreator A, foram retiradas três amostras com massa média de 11,1391 g, e da biomassa resultante do fotobiorreator B, foram retiradas três amostras com massa média de 2,2854 g. A fração de massa seca, expressa em base úmida, pode ser calculado:

$$D = \frac{m_f}{m_a} \quad (2)$$

em que:

D é a fração de massa seca na biomassa adensada;

m_f é a massa final da amostra seca em estufa (g);

m_a é a massa inicial da amostra (g).

O valor da fração de massa seca na biomassa adensada considerado para cada fotobiorreator é igual à média de três quantificações.

2.4. Preparo das suspensões para a caracterização reológica

Para preparar as suspensões a serem utilizadas na caracterização reológica foi utilizada a biomassa previamente adensada. A biomassa adensada foi quantificada em balança analítica (marca Shimadzu, modelo AY220, Japão), e transferida para um balão volumétrico de 500 mL, onde foi diluída com o meio de cultura BG11 com nitrogênio. A concentração de biomassa seca na suspensão foi calculada considerando-se a fração de massa seca da biomassa adensada:

$$X = \frac{m_A \cdot D_A + m_B \cdot D_B}{Vol} \quad (3)$$

em que:

X é a concentração de biomassa (kg m^{-3} ou g L^{-1});

m_A é a quantidade utilizada de biomassa adensada do fotobiorreator A (g);

m_B é a quantidade utilizada de biomassa adensada do fotobiorreator B (g);

D_A é a fração de massa seca na biomassa adensada do fotobiorreator A;
 D_B é a fração de massa seca na biomassa adensada do fotobiorreator B;
 Vol é o volume do balão volumétrico (L).

2.5. Caracterização reológica

A avaliação do comportamento reológico dos cultivos foi realizada por meio de testes com taxa de deformação controlada e temperatura constante de 25 °C. Para tal, foi utilizado um reômetro rotacional (marca Rheotest, modelo RN 4.1, Alemanha), com um sistema de medida de cilindros coaxiais tipo Searle (marca Rheotest, modelo HS, Alemanha), indicado para as faixas de viscosidade aparente de $5 \cdot 10^{-4}$ a $2 \cdot 10^3$ Pa s e capaz de aplicar taxas de deformação na faixa de 0,67 a 6700 s^{-1} . Nos sistemas de medida baseados em cilindros axiais tipo Searle, o cilindro interno gira e o cilindro externo permanece estático. A temperatura dos testes foi controlada por um banho termostático (marca Lauda, modelo RE 304, Alemanha) com circulação interna e externa. Os dados dos testes foram transmitidos em tempo real para um computador (marca Dell, modelo Vostro 220, Alemanha), onde puderam ser visualizados e armazenados. Neste computador também foi efetuada a entrada dos parâmetros de controle dos testes, como a temperatura, a taxa de deformação a ser aplicada, a taxa de aquisição de dados, a duração total do teste, entre outros. O conjunto utilizado nos estudos é apresentado na Figura 3.

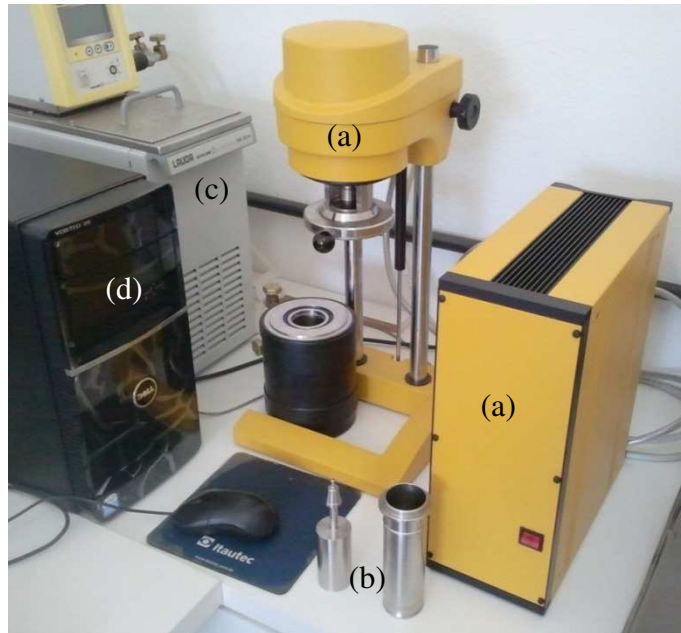


Figura 3. Equipamentos utilizados nos testes reológicos: (a) reômetro, (b) cilindros concêntricos, (c) banho termostático e (d) computador.

Os testes foram realizados sob taxas de deformação de 300 a 5000 s^{-1} , que são valores representativos de diversas aplicações no campo de mecânica dos fluidos de interesse industrial, como escoamento interno em tubulações e dutos, agitação e mistura (STEFFE, 1996; BARNES, 2000). Durante cada teste, a amostra foi submetida a uma taxa de deformação constante, definida em função da velocidade de rotação do cilindro interno e das características geométricas do sistema de medida. O torque aplicado no cilindro interno é medido e convertido em um valor de tensão de cisalhamento utilizando-se o software de interface do instrumento. Em cada teste utilizou-se 30 mL das suspensões preparadas a partir da biomassa adensada. Buscando uma melhor comparação do efeito da concentração de biomassa no comportamento reológico das suspensões, o meio BG11 com nitrogênio puro também foi avaliado. Todas as medidas foram feitas com três repetições e foram reportadas as médias aritméticas dos resultados. Os erros padrão máximos para os dados de taxa de deformação e tensão de cisalhamento foram $0,006 \text{ s}^{-1}$ e $27,7 \text{ mPa}$, respectivamente.

2.6. Análise dos dados

Os dados foram analisados estatisticamente e os modelos reológicos de Newton (eq. 4), de Lei de Potência (eq. 5), de Bingham (eq. 6) e de Herschel-Bulkley (eq. 7) foram ajustados (STEFFE, 1996; BARNES, 2000; CHIN et al., 2009):

$$\tau = \mu \dot{\gamma} \quad (4)$$

$$\tau = k \dot{\gamma}^n \quad (5)$$

$$\tau = \tau_{0b} + \eta_b \dot{\gamma} \quad (6)$$

$$\tau = \tau_{0h} + k_h \dot{\gamma}^{n_h} \quad (7)$$

em que:

τ é a tensão de cisalhamento (Pa);

$\dot{\gamma}$ é a taxa de deformação ou gradiente de velocidade (s^{-1});

μ é a viscosidade dinâmica do fluido newtoniano (Pa s);

k é o índice de consistência do fluido ($Pa\ s^n$);

n é o índice de comportamento do fluido;

τ_{0b} é a tensão de cisalhamento inicial do modelo de Bingham (Pa);

η_b é viscosidade plástica de Bingham (Pa s);

τ_{0h} é a tensão de cisalhamento inicial do modelo de Herschel-Bulkley (Pa);

k_h é o índice de consistência do fluido no modelo de Herschel-Bulkley ($Pa\ s^{n_h}$);

n_h é o índice de comportamento do fluido no modelo de Herschel-Bulkley.

As análises de variância (ANOVA) foram feitas e as significâncias das regressões foram testadas em nível de 1% de probabilidade.

3. Resultados e discussão

3.1. Biomassa seca

Os fotobiorreatores A e B apresentaram valores médios de concentração de biomassa seca de $0,7533 \pm 0,0042 \text{ kg m}^{-3}$ e $0,5153 \pm 0,0255 \text{ kg m}^{-3}$, respectivamente. A massa seca final foi obtida após 17 horas de secagem em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$. A partir deste tempo, verificou-se que as medições da biomassa seca apresentaram valores constantes em todas as amostras.

O fotobiorreator A apresentou maior valor de biomassa que o fotobiorreator B, que, por sua vez, apresentou maior coeficiente de variação no valor da biomassa. Estes dois resultados podem ser atribuídos à maior formação de biofilme na parede do fotobiorreator B, fato visualmente verificado durante a extração dos cultivos. O biofilme prejudica a distribuição de luz no interior do fotobiorreator, reduzindo a produtividade do cultivo. Quando flocos de biofilme permanecem em suspensão no cultivo, a exatidão na determinação da biomassa fica prejudicada, pois a distribuição celular não é mais uniforme, uma vez que o biofilme é um aglomerado de células e de material extracelular altamente organizado (FLORJANIČ e KRISTL, 2011).

3.2. Teor de biomassa seca na biomassa adensada

Os resultados da determinação do teor de biomassa seca na biomassa adensada para os fotobiorreatores A e B são $0,0313 \pm 0,0002 \text{ kg kg}^{-1}$ e $0,0689 \pm 0,0020 \text{ kg kg}^{-1}$, respectivamente. A massa final foi obtida após 17 horas de secagem em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$. A partir deste tempo, verificou-se que as pesagens da biomassa seca, apresentaram valores constantes em todas as amostras.

Parte da biomassa adensada foi utilizada para os experimentos de viabilidade dos cultivos submetidos às tensões hidrodinâmicas. Para o preparo das suspensões que foram utilizadas na caracterização reológica, utilizou-se 69,1283 g da biomassa adensada A e 31,8040 g da biomassa adensada B. Com estes valores, as frações de biomassa seca fornecida por cada cultivo foram semelhantes (2,1637 g do cultivo A e 2,1913 g do cultivo B).

3.3. Caracterização reológica

Os reogramas obtidos para os cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003, nas concentrações de biomassa de 1,09; 2,18; 4,36 e 8,71 kg m⁻³, e do meio BG11, são apresentados na Figura 4.

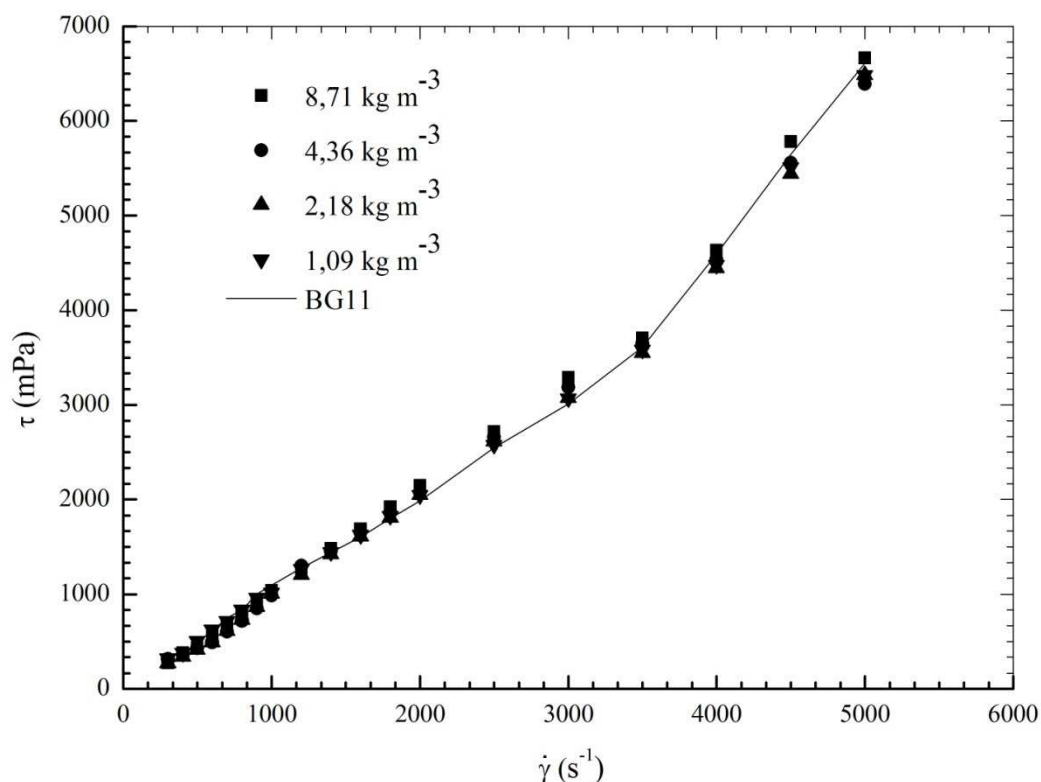


Figura 4. Comportamento reológico dos cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003.

Observa-se, na Figura 4, o aumento na tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação. Verifica-se, na prática, que há pequenas diferenças nos valores de tensão de cisalhamento em relação às diferentes concentrações de biomassa estudadas. Este comportamento também foi observado por Wileman et al. (2012), para outras cepas de microalgas (*P. tricornutum* e *C. vulgaris*), em níveis de concentração de biomassa semelhantes. As curvas de viscosidade aparente em função da taxa de deformação, obtidas para as suspensões de *Scenedesmus acuminatus* BR003, são apresentadas na Figura 5.

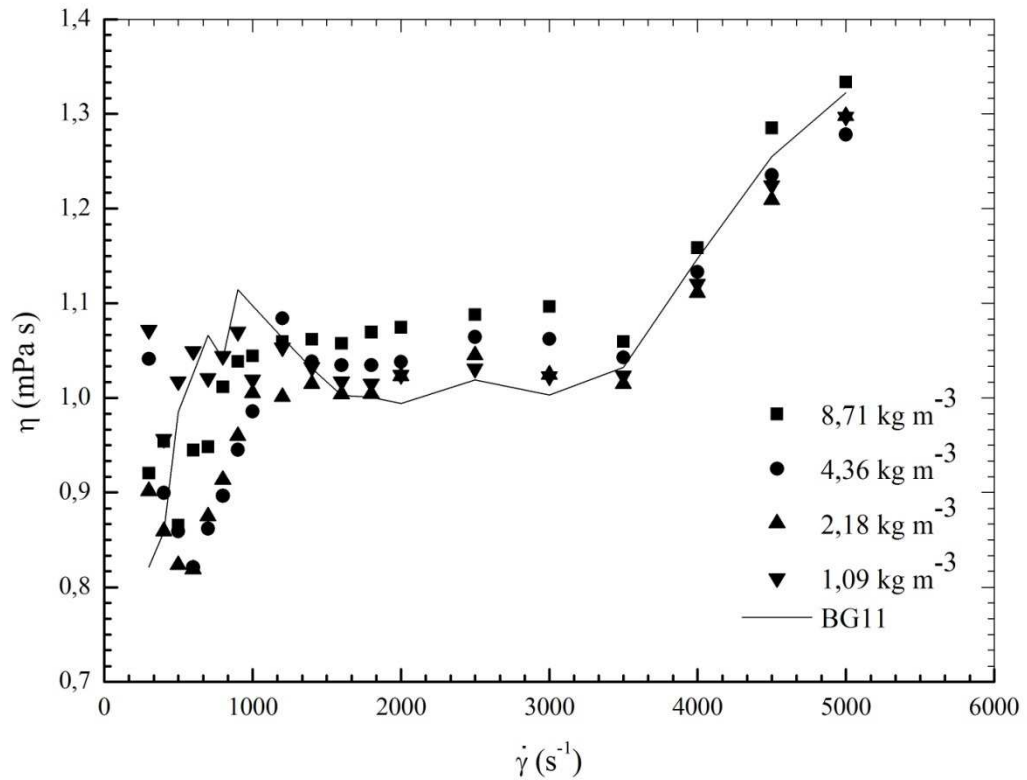


Figura 5. Viscosidade aparente dos cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003 em função das taxas de deformação aplicadas.

Verifica-se na Figura 5 que os cultivos de *S. acuminatus* BR003 podem apresentar valores de viscosidade aparente até 1,5 vezes o valor da viscosidade da água a mesma temperatura (0,89 mPa s a 25 °C; Fox et al., 2010). Observa-se que a viscosidade aparente varia pouco em relação às concentrações de biomassa estudadas, pois apesar da faixa de concentração de biomassa estudada neste trabalho contemplar valores considerados médios e altos para sistemas de produção de biomassa algal em fotobiorreatores, sob condições fotoautotróficas (CHEN et al, 2011), a quantidade de material suspenso e sua interação com a fase fluida não resulta em alteração significativa da viscosidade aparente do meio de cultura. A fase dispersa contribui para o aumento da viscosidade devido ao incremento da dissipação irreversível de energia mecânica pela divergência das linhas de corrente do escoamento ao redor das partículas (Barnes, 2000), porém, em baixas concentrações, o comportamento reológico da fase contínua é dominante sobre o comportamento reológico da suspensão. Em maiores níveis de biomassa (10 a 80 kg m⁻³) Wileman et al. (2012) verificaram que o aumento na tensão de cisalhamento e da viscosidade

aparente em relação à concentração é evidente, devido ao maior efeito dissipativo atribuído a fase dispersa.

Destacam-se ainda, na Figura 5, três comportamentos distintos da viscosidade aparente em função da taxa de deformação. O primeiro comportamento ocorre na faixa de taxa de deformação de 300 a 1000 s^{-1} , em que se verifica maior variabilidade nos valores medidos de viscosidade aparente. Isso pode ser atribuído à dificuldade de medida das tensões de cisalhamento gerada pela ocorrência de deslizamento do fluido no sistema de medida. O segundo comportamento é observado na faixa de taxa de deformação de 1000 a 3500 s^{-1} , em que se verifica que os valores de viscosidade aparente para cada concentração de biomassa são praticamente constantes. O terceiro comportamento observado ocorre na faixa de taxa de deformação de 3500 a 5000 s^{-1} , em que é evidente o aumento dos valores de viscosidade aparente com a taxa de deformação para todas as suspensões. A partir destas observações, optou-se pelo ajuste dos modelos reológicos em cada uma destas faixas, juntamente com o ajuste para a faixa total testada (300 a 5000 s^{-1}). Os parâmetros dos modelos reológicos de Newton, de Lei de Potência, de Bingham e de Herschel-Bulkley, ajustados aos dados, são apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3, juntamente como os valores dos erros padrão associados aos coeficientes e os valores de R^2 ajustados.

Tabela 1. Parâmetros dos modelos reológicos de Newton e de Lei de Potência para *Scenedesmus acuminatus* BR003.

Intervalo de $\dot{\gamma}$ (s ⁻¹)	Concentração de biomassa (kg m ⁻³)	Newton			Lei de Potência				
		μ (mPa s)		R ²	K (mPa s ⁿ)		n		R ²
		Valor	Erro		Valor	Erro	Valor	Erro	
300 – 1000	8,71	0,997	0,020	0,997	0,322	0,089	1,170	0,041	0,994
	4,36	0,920	0,022	0,996	0,430	0,234	1,114	0,081	0,972
	2,18	0,925	0,025	0,994	0,218	0,090	1,217	0,062	0,987
	1,09	1,036	0,010	0,999	0,897	0,212	1,022	0,036	0,994
	BG11	1,057	0,026	0,995	0,257	0,067	1,213	0,039	0,995
1000 – 3500	8,71	1,080	0,006	1,000	0,762	0,022	1,045	0,004	1,000
	4,36	1,051	0,007	1,000	0,808	0,118	1,034	0,019	0,998
	2,18	1,023	0,005	1,000	0,815	0,084	1,030	0,013	0,999
	1,09	1,025	0,003	1,000	1,069	0,083	0,995	0,010	0,999
	BG11	1,013	0,008	0,999	1,400	0,244	0,958	0,023	0,996
3500 – 5000	8,71	1,221	0,053	0,991	0,018	0,016	1,506	0,106	0,983
	4,36	1,181	0,046	0,992	0,026	0,018	1,458	0,082	0,989
	2,18	1,168	0,054	0,989	0,011	0,008	1,560	0,086	0,989
	1,09	1,174	0,054	0,990	0,011	0,007	1,555	0,075	0,992
	BG11	1,194	0,060	0,988	0,007	0,004	1,610	0,058	0,996
300 - 5000	8,71	1,186	0,027	0,99	0,25	0,073	1,191	0,035	0,992
	4,36	1,147	0,025	0,991	0,249	0,063	1,187	0,031	0,994
	2,18	1,133	0,028	0,988	0,203	0,063	1,211	0,038	0,991
	1,09	1,142	0,027	0,99	0,265	0,088	1,179	0,04	0,989
	BG11	1,156	0,03	0,987	0,212	0,079	1,208	0,046	0,987

Tabela 2. Parâmetros do modelo reológico de Bingham para *Scenedesmus acuminatus* BR003.

Intervalo de $\dot{\gamma}$ (s ⁻¹)	Concentração de biomassa (kg m ⁻³)	Bingham				R ²
		τ_{0b} (mPa)		η_b (mPa s)		
		Valor	Erro	Valor	Erro	
300 - 1000	8,71	-85,809	28,943	1,114	0,042	0,990
	4,36	-104,278	57,969	1,092	0,076	0,963
	2,18	-91,462	40,531	1,050	0,059	0,978
	1,09	-13,168	21,654	1,054	0,031	0,994
	BG11	-133,175	18,321	1,239	0,027	0,997
1000 - 3500	8,71	-87,177	11,714	1,123	0,006	1,000
	4,36	-64,567	37,054	1,082	0,019	0,998
	2,18	-55,805	25,165	1,050	0,013	0,999
	1,09	11,569	18,988	1,020	0,010	0,999
	BG11	91,466	38,279	0,968	0,020	0,997
3500 - 5000	8,71	-2248,214	588,391	1,766	0,145	0,974
	4,36	-1994,309	453,729	1,664	0,112	0,982
	2,18	-2370,494	522,910	1,743	0,129	0,979
	1,09	-2384,262	465,270	1,752	0,115	0,983
	BG11	-2694,983	388,451	1,848	0,096	0,989
300 - 5000	8,71	-273,419	87,264	1,278	0,037	0,985
	4,36	-270,827	76,071	1,239	0,032	0,988
	2,18	-287,885	88,487	1,23	0,038	0,984
	1,09	-214,076	93,491	1,215	0,04	0,981
	BG11	-252,606	105,15	1,241	0,045	0,977

Tabela 3. Parâmetros do modelo reológico de Herschel-Bulkley para *Scenedesmus acuminatus* BR003.

Intervalo de $\dot{\gamma}$ (s ⁻¹)	Concentração de biomassa (kg m ⁻³)	Herschel-Bulkley						R ²
		τ_{0h} (mPa)		K_h (mPa s ⁿ)		n_h		
		Valor	Erro	Valor	Erro	Valor	Erro	
300 - 1000	8,71	114,397	51,925	0,041	0,048	1,453	0,163	0,996
	4,36	252,068	11,359	3,77E-04	2,15E-04	2,097	0,081	0,999
	2,18	187,491	13,429	0,002	0,001	1,870	0,072	0,999
	1,09	-2,960	120,896	0,930	1,380	1,017	0,200	0,993
	BG11	-142,887	108,195	1,368	1,461	0,987	0,143	0,996
1000 - 3500	8,71	43,594	39,167	0,625	0,115	1,069	0,022	1,000
	4,36	18,550	222,361	0,742	0,769	1,044	0,121	0,997
	2,18	-36,275	162,480	0,961	0,705	1,010	0,086	0,999
	1,09	53,344	118,482	0,837	0,472	1,023	0,066	0,999
	BG11	436,529	106,407	0,121	0,094	1,246	0,092	0,999
3500 - 5000	8,71	2964,477	692,186	7,973E-13	1,22E-11	4,242	1,779	0,951
	4,36	2796,385	689,000	1,36E-11	1,87E-10	3,905	1,603	0,958
	2,18	1862,334	451,385	4,90E-07	2,04E-06	2,698	0,478	0,996
	1,09	2262,896	566,380	7,11E-09	5,13E-08	3,186	0,834	0,987
	BG11	1990,393	751,121	9,27E-08	7,00E-07	2,895	0,871	0,986
300 - 5000	8,71	257,803	96,53	0,06219	0,03946	1,352	0,074	0,994
	4,36	201,532	86,49	0,08433	0,04694	1,312	0,065	0,995
	2,18	248,705	94,647	0,04834	0,03228	1,377	0,078	0,993
	1,09	370,173	85,442	0,02915	0,01913	1,435	0,077	0,994
	BG11	390,818	92,843	0,01903	0,01414	1,487	0,087	0,992

Para todas as regressões, os valores de $F_{\text{calculado}}$ resultantes da ANOVA são superiores aos valores de F_{tabelado} , considerando os graus de liberdade próprios de cada regressão. Assim, pode-se afirmar que as equações de regressão explicam significativamente a variação da tensão de cisalhamento em função da taxa de deformação, segundo o modelo proposto, em nível de significância de 1%. Apesar de todos os modelos reológicos apresentarem um bom ajuste aos dados experimentais, os modelos de Newton e Lei de Potência são fisicamente mais apropriados para expressar o comportamento de suspensões com baixa concentração da fase dispersa, uma vez, na prática, estes fluidos não apresentam tensão de cisalhamento inicial (τ_0) ou, quando apresentam, o valor é baixo de maneira que, dificilmente pode ser

medido. Assim, os valores de tensão de cisalhamento inicial dos modelos de Bingham e Heschel-Bulkley, para as suspensões de *Scenedesmus acuminatus* BR003 avaliadas, apresentados nas Tabelas 2 e 3, são simplesmente resultados estatísticos.

Considerando-se o modelo reológico Newtoniano, verifica-se há um pequeno aumento da viscosidade dinâmica com o aumento da concentração de biomassa. A maior presença de material disperso resulta em maior dissipação irreversível de energia mecânica no escoamento, e este fato se expressa no aumento da viscosidade do fluido. Considerando-se o modelo reológico de Lei de Potência, os valores do índice de comportamento (n), determinados para cada concentração, indicam comportamento dilatante das suspensões, dentro do intervalo de valores utilizados para a taxa de deformação e para a concentração de biomassa. O comportamento dilatante em uma suspensão pode ser atribuído à perda da organização das partículas em relação ao campo de escoamento, quando taxas de deformação suficientemente altas são aplicadas ao fluido. A fase dispersa tende a se estruturar de acordo com o campo de escoamento estabelecido e quando esta estrutura é desfeita, há aumento na dissipação irreversível de energia mecânica aplicada ao fluido, que é expresso no aumento da viscosidade medida (Barnes, 2000). Seguindo o comportamento da tensão de cisalhamento e da viscosidade aparente, os índices de comportamento e de consistência dependem pouco da concentração de biomassa, dentro da faixa estudada. Estudos sobre o comportamento reológico em concentrações mais elevadas serão realizados posteriormente e novos modelos reológicos serão aplicados, verificando-se o ajuste aos dados experimentais, principalmente em taxas de deformação mais baixas (0 a 100 s^{-1}).

4. Conclusões

Os modelos reológicos de Newton, de Lei de Potência, de Bingham e de Herschel-Bulkley podem ser utilizados para caracterizar o comportamento reológico de cultivos de microalgas. Os modelos de Newton e de Lei de Potência são fisicamente mais adequados para descrever o comportamento reológico dos cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003, na faixa de concentração de biomassa de 1,09 a 8,71 kg m⁻³ e na faixa de taxa de deformação de 300 a 5000 s⁻¹. Na faixa de taxa de deformação de 3500 a 5000 s⁻¹, os cultivos apresentam comportamento não newtoniano, com características de fluido dilatante. Nas faixas de concentração de biomassa e taxa de deformação estudadas, há pouco efeito da concentração de biomassa sobre a viscosidade aparente das suspensões e, conseqüentemente sobre a tensão de cisalhamento.

5. Referências Bibliográficas

Andersen, R. A. (Editor). **Algal Culturing Techniques**. Burlington, MA, USA: Elsevier Academic Press, 2005. 596p.

Arogundade, L. A.; Eromosele, C. O.; Eromosele, I. C.; Ademuyiwa, O. Rheological properties of African yam bean (*Sphenostylis stenocarpa* Hochst. Ex A. Rich.) calcium proteinate and isoelectric protein isolates. **LWT – Food Science and Technology**, v. 44, 524-534, 2011.

Astolfi-Filho, Z.; Telis, V. R. N.; Oliveira, E. B.; Coimbra, J. S. R.; Telis-Romero, J. Rheology and fluid dynamics properties of sugar cane juice. **Biochemical Engineering Journal**, v. 53, 260-265, 2011.

Barnes, H. A. **A Handbook of Elementary Rheology**. Aberystwyth: University of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, 2000. 200p.

Chakrabandhu, K.; Singh, R. K. Rheological properties of coarse food suspensions in tube flow at high temperatures. **Journal of Food Engineering**, v. 66, n. 1, p. 117-128, 2005.

Chin, N.L.; Chan, S.M.; Yusof, Y.A.; Chuah, T.G.; Talib, R.A. Modelling of rheological behaviour of pummelo juice concentrates using master-curve. **Journal of Food Engineering**, v. 93, n. 2, p. 134-140, 2009.

Chen, C. -Y.; Yeh, K. -L.; Aisyah, R.; Lee, D. -J.; Chang, J. -S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71-81, 2011.

Dermibas, A. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. **Applied Energy**, v. 88, p. 3541-3547, 2011.

Fernandes, H. L.; Lupi, F.; Tomé, M. M.; Sá-Correia, I.; Novais, J. M. Rheological behaviour of the culture medium during growth of the microalga *Botryococcus braunii*. **Bioresource Technology**, v. 38, p. 133-136, 1991.

Ferreira, M.; Maseda, A.; Fábregas, J.; Otero, A. Enriching rotifers with “premium” microalgae. *Isochrysis* aff. *galbana* clone T-ISO. **Aquaculture**, v. 279, p. 126-130, 2008.

Florjanič, M.; Kristil, J. The control of biofilm formation by hydrodynamics of purified water in industrial distribution system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 405, n. 1–2, p. 16-22, 2011.

Fox, R. W.; McDonald, A. T.; Pritc, P. J. **Introdução à Mecânica dos Fluidos**. 7. ed. Rio de Janeiro: Editora LTC, 2010. 728p.

Gao, Q. T.; Wong, Y. S.; Tam, N. F. Y. Removal and biodegradation of nonylphenol by immobilized *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10230-10238, 2011.

Gouveia, L.; Nobre, B. P.; Marcelo, F. M.; Mjeren, S.; Cardoso, M. T.; Palavra, A. F.; Mendes, R. L. Functional food oil coloured by pigments extracted from microalgae with supercritical CO₂. **Food Chemistry**, v. 101, p. 717-723, 2007.

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

Harun, R.; Singh, M.; Forde, G. M.; Danquah, M. K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 1037-1047, 2010.

Ho, S. -H.; Chen, C. -Y.; Chang, J. -S. Effect of light intensity and nitrogen starvation on CO₂ fixation and lipid/carbohydrate production of an indigenous microalga *Scenedesmus obliquus* CNW-N. **Bioresource Technology**, doi:10.1016/j.biortech.2011.11.133, 2011.

Lourenço, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações**. São Carlos: RIMA Editora, 2007. 606p.

Manoi, K.; Rizvi, S. S. H. Rheological characterizations of texturized whey protein concentrate-based powders produced by reactive supercritical fluid extrusion. **Food Research International**, v. 41, n. 8, p. 786-796, 2008.

Martínez-Padilla, L. P.; Rivera-Vargas, C. Flow behavior of Mexican sauces using a vane-in-a-large cup rheometer. **Journal of Food Engineering**, v. 72, n. 2, p. 189-196, 2006.

Mata, T. M.; Martins, A. A.; Caetano, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 217-232, 2010.

Michels, M. H. A.; van der Goot, A. J.; Norsker, N. -H.; Wijffels, R. H. Effects of shear stress on the microalgae *Chaetoceros muelleri*. **Bioprocess Biosystems Engineering**, v. 33, p. 921-927, 2010.

Mishra, A.; Kavita, K.; Jha, B. Characterization of extracellular polymeric substances produced by micro-algae *Dunaliella salina*. **Carbohydrate Polymers**, v. 83, p. 852-857, 2011.

Molina Grima, E.; Belarbi, E. -H.; Fernández, A.; Medina, A. R.; Chisti, Y. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnology Advance**, v. 20, n. 7-8, p. 491-515, 2003.

Muñoz, R.; Guieysse, B. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. **Water Research**, v. 40, p. 2799-2815, 2006.

Scott, S. A.; Davey, M. P.; Dennis, J. S.; Horst, I.; Howe, C. J.; Lea-Smith, D. J.; Smith, A. G. Biodiesel from algae: challengers and prospects. **Current Opinion in Biotechnology**, v. 21, p. 277-286, 2010.

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, n. 1, p. 67-73, 2002.

Spolaore, P.; Joannis-Cassan, C.; Duran, E.; Isambert, A. Commercial applications of microalgae. **Journal of Biosciences and Bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

Steffe, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2nd ed. East Lansing: Freeman Press, 1996. 412p.

Tan, Y.; Lin, J. Biomass production and fatty acid profile of a *Scenedesmus rubescens*-like microalga. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 10131-10135, 2011.

Tang, D.; Han, W.; Li, P.; Miao, X.; Zhong, J. CO₂ biofixation and fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus* and *Chlorella pyrenoidosa* in response to different CO₂ levels. **Bioresource Technology**, v. 102, p. 3071-3076, 2011.

Torres, B.; Tiwari, B. K.; Patras, A.; Wijngaard, H. H.; Bruton, N.; Cullen, P. J.; O'Donnell, C. P. Effect of ozone processing on the colour, rheological properties and phenolic content of apple juice. **Food Chemistry**, v. 124, p. 712-726, 2011.

Wileman, A.; Ozkan, A.; Berberoglu, H. Rheological properties of algae slurries for minimizing harvesting energy requirements in biofuel production. **Bioresource Technology**, v. 104, p. 432-439, 2012.

ARTIGO 2

Viabilidade de cultivos de *Scenedesmus acuminatus* submetidos a tensões hidrodinâmicas

Michel de O. dos Santos¹, Marcio A. Martins², Jane S. R. Coimbra³, Richard S. Gates⁴, Jimmy Soares⁵, Lucas de P. Corrêdo⁶.

¹ Engenheiro Agrícola e Ambiental, Pós-Graduando, Universidade Federal de Viçosa (UFV) – MG – Brasil, michel.santos@ufv.br

² Engenheiro Químico, D. Sc., Prof. Adjunto IV, UFV – MG – Brasil, aredes@ufv.br

³ Engenheira Química, PhD., Profa. Associada II, UFV – MG – Brasil, jcoimbra@ufv.br

⁴ Engenheiro Agrícola, PhD., Prof. Titular, University of Illinois – EUA, rsgates@illinois.edu

⁵ Biólogo, Pós-Graduando, UFV – MG – Brasil, motorhead_br@hotmail.com

⁶ Graduando em Engenharia Agrícola e Ambiental, UFV – MG – Brasil, lucas.corredo@ufv.br

RESUMO – A manutenção das condições hidrodinâmicas necessárias ao cultivo de microalgas implica na exposição das células algais a tensões de cisalhamento. Em determinados níveis, estas tensões podem causar danos celulares, prejudicando ou até mesmo inviabilizando o crescimento do cultivo. Porém, cada espécie apresenta uma sensibilidade característica, podendo até mesmo responder positivamente à aplicação de certos níveis de tensão. É importante que os estudos dos efeitos das tensões hidrodinâmicas sobre os cultivos de microalgas possam associar, o mais precisamente possível, a resposta observada ao nível de tensão aplicado. Dispositivos como os cilindros coaxiais tipo Couette ou Searle, auxiliam nesta tarefa. Neste sentido, a alteração na viabilidade de cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003, submetidos a diferentes níveis de tensões hidrodinâmicas, foi investigada. Suspensões com concentrações de biomassa de 5 kg m^{-3} , $8,71 \text{ kg m}^{-3}$ e $0,67 \text{ kg m}^{-3}$ com 0,1 % de espessante goma xantana, foram submetidas a uma taxa de deformação de 5000 s^{-1} , por duas horas. A viabilidade foi afetada nas concentrações de $8,71 \text{ kg m}^{-3}$ e $0,67 \text{ kg m}^{-3}$ com espessante. A partir do momento em que viabilidade é afetada, os efeitos das tensões são independentes do tempo. O aumento da viscosidade do cultivo, verificado com a adição do espessante, resulta na diminuição da viabilidade, devido ao aumento da tensão de cisalhamento, em uma mesma taxa de deformação.

PALAVRAS CHAVE: Microalgas, danos celulares, fotobiorreatores.

Viability of *Scenedesmus acuminatus* cultures subjected to hydrodynamic stress

ABSTRACT – The application of hydrodynamic conditions necessary for the cultivation of microalgae involves the exposure of algal cells to shear stress. In certain levels, the shear stress can cause cell damage, leading to reduce growth or even cell death. However, each species presents a characteristic sensitivity, and even may respond positively to the application of certain shear stress levels. It is important that studies of the effects of shear stress in microalgae cultures can associate precisely the response of cells to the shear stress level applied. Devices such coaxial cylinders Couette or Searle, can assist in this task. The change in the viability of *Scenedesmus acuminatus* BR003 cultures at different levels of hydrodynamic stress was investigated. Suspensions with of biomass concentrations of 5 kg m^{-3} , 8.71 kg m^{-3} and 0.67 kg m^{-3} with 0.1 % of a xantan gum, were submitted to a shear rate value of 5000 s^{-1} during two hours. The viability was affected at concentrations of 8.71 kg m^{-3} and 0.67 kg m^{-3} with thickener. After the moment in which viability is affected, the effects of tensions are independent of time. The increase of culture viscosity, verified with the addition of thickener, results in decreased viability, due to increased shear stress, in a same shear rate.

KEYWORDS: Microalgae, cell damage, photobioreactors.

1. Introdução

A crescente demanda mundial por energia e a atual exigência de diminuição dos danos ambientais relativos ao uso de recursos não renováveis leva a busca por alternativas de fontes energéticas não convencionais e inovadoras (SINGH e GU, 2010; COSTA e MORAIS, 2011). As microalgas tem se destacado neste segmento por serem muito eficientes na conversão de energia solar e compostos inorgânicos em biomassa passível de diversas utilizações no campo energético: produção de biodiesel (ZENG et al., 2011), hidrogênio (HE et al., 2012), etanol (HARUN et al., 2010; LIAO et al., 2010), e biogás (AMIN, 2009).

Os sistemas de produção de biomassa algal são dimensionados para que todas as condições de cultivo estejam adequadas para o crescimento e reprodução das células. Os fotobiorreatores são os sistemas que permitem maior controle sobre as condições de cultivo e, por isso, apresentam as maiores produtividades reportadas na literatura (CHEN et al., 2011). Dentre as condições de cultivo mais importantes, destaca-se a hidrodinâmica, necessária para evitar a sedimentação das células, diminuir a formação de biofilme (FLORJANIČ e KRISTIL, 2011), homogeneizar a distribuição de nutrientes, maximizar as taxas de transferência de massa entre as fases líquida e gasosa e uniformizar a exposição das células a luz (SASTRE et al., 2007). Porém, a ocorrência de gradientes de velocidade elevados, principalmente nas regiões onde há fornecimento de força motriz ao escoamento, como bombas, impelidores e difusores, resulta em tensões hidrodinâmicas que podem comprometer a integridade das células (MICHELS et al., 2010; SCARSELLA et al., 2011). Os gradientes de velocidade, ou taxa de deformação, verificados para as operações de agitação, mistura e bombeamento, são da ordem de 10^0 a 10^3 s^{-1} (STEFFE, 1996; BARNES, 2000).

Os estudos de viabilidade de cultivos de microalgas tem demonstrado que as espécies apresentam níveis de sensibilidade às tensões muito distintos. Contreas et al. (1998) reportaram que a velocidade de crescimento máxima de *Phaeodactylum tricorutum* ocorreu na taxa de deformação de 7000 s^{-1} , que corresponde a uma tensão de cisalhamento média de 7500 mPa, enquanto Camacho et al. (2007) verificaram que a tensão crítica para a viabilidade de *Protoceratium reticulatum* é de

0,16 mPa. Outros trabalhos (JAOUEN et al., 1999; HODAIFA et al., 2010; SCARSELLA et al., 2011) também reportam dano devido às condições hidrodinâmicas para outras espécies, porém não apresentam os valores das tensões de cisalhamento associadas aos níveis de dano ou redução na taxa de crescimento.

Para melhor associação do dano celular, de redução na taxa de crescimento ou alterações no metabolismo celular às condições hidrodinâmicas, dispositivos que aplicam taxas de deformação ou tensões definidas podem ser utilizados (MICHELS et al., 2010). Um exemplo destes dispositivos são os cilindros coaxiais tipo Couette ou Searle, muito utilizados na caracterização reológica de fluidos (BARNES, 2000). Nestes dispositivos, um dos cilindros gira a uma determinada velocidade (externo: tipo Couette; interno: tipo Searle) enquanto o outro permanece estático e o fluido em estudo preenche o espaço entre as paredes dos cilindros. A taxa de deformação aplicada é definida pela velocidade angular e pelas características geométricas dos cilindros, enquanto o torque medido para manter o sistema em equilíbrio é convertido em tensão de cisalhamento. Estes dispositivos geralmente fazem parte de sistemas mais completos de caracterização do comportamento do reológico do fluido denominados reômetros.

As respostas à aplicação de tensões hidrodinâmicas em cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003, em três diferentes concentrações de biomassa, foram estudadas. A espécie estudada pertence a um gênero de microalgas que apresenta, em cultivo autotrófico, produtividade de biomassa na faixa de 0,06 a 0,26 kg m⁻³ dia⁻¹ e teores de óleo, em massa seca, na faixa de 9,5 a 21,1 % (CHEN et al. 2011). As alterações na viabilidade do cultivo ao longo do tempo de exposição a uma determinada taxa de deformação controlada foram investigadas com o objetivo de prever o comportamento em uma situação de cultivo em escala industrial, na qual as taxas de deformação que são aplicadas ao fluido durante as operações podem ser elevadas. A alteração na viabilidade foi avaliada quantificando-se o número de células mortas por unidade de volume do cultivo, após cada período de exposição à tensão hidrodinâmica aplicada. A concentração de biomassa nos cultivos foi determinada e com objetivo de se obter maiores valores concentração para os testes de viabilidade, fez-se o adensamento da biomassa por meio de centrifugação.

Para que maiores tensões fossem avaliadas neste estudo, uma vez que as viscosidades dos cultivos fotoautotróficos em fotobiorreatores é baixa, foi utilizada a goma xantana como espessante. Os espessantes são aditivos utilizados para aumentar

a viscosidade de um fluido. A goma xantana, um polissacarídeo de origem bacteriana, é um espessante de elevado interesse industrial, utilizado principalmente por indústrias de alimentos, farmacêuticas e de petróleo. O interesse deve-se às suas propriedades físico-químicas, que superam todas as dos outros polissacarídeos disponíveis no mercado. Dentre estas propriedades destacam-se a sua elevada viscosidade em baixas concentrações, bem como sua estabilidade em ampla faixa de temperatura e de pH, mesmo na presença de sais (BORGES e VENDRUSCOLO, 2008; LUVIELMO e SCAMPARINI, 2009).

2. Material e Métodos

2.1. Cultura e condições de cultivo

A cepa de microalgas *Scenedesmus acuminatus* BR003, pertencente ao banco de cepas Petrobrás/UFV, foi obtida no Laboratório de Ficologia/Unidade de Crescimento de Plantas (Universidade Federal de Viçosa, MG, Brasil). Esta cepa foi coletada em uma das represas da Unidade de Piscicultura da Universidade Federal de Viçosa e para o isolamento foram utilizadas as técnicas de diluição em série, estriamento sucessivo em meio sólido e lavagens com hipoclorito (LOURENÇO, 2007).

Os cultivos foram conduzidos em fotobiorreatores (A e B, Figura 1b) do tipo *airlift*, que consistiram de frascos em vidro borosilicato de 10 L (marca Laborglas, código 9116186, Brasil), com volume de meio de cultivo inicial de 8 L, previamente esterilizados em autoclave (marca Phoenix, modelo AV 75, Brasil) a 120 °C. Foi utilizado o meio BG11 com nitrogênio (ANDERSEN et al., 2005). A agitação foi promovida por injeção de ar atmosférico comprimido em um compressor (marca Motomil, modelo CMV-10/100, Brasil) de 1492 W de potência (2 hp). A linha de injeção de ar possuía um sistema de lavagem do gás para remover de partículas e gotículas de óleo provenientes do compressor, além de umidificar o ar e evitar a evaporação de água nos cultivos. Os fotobiorreatores foram instalados no interior de uma câmara de aço para proteção com dimensões 0,60 m x 0,60 m x 1,40 m (Figura 2a), utilizando-se um fotoperíodo de luz:escuro de 16:8 h e intensidade luminosa de $148 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, fornecida por 9 lâmpadas fluorescentes tubulares (marca Osram, modelo L40 W LDE, Brasil), de 40 W de potência cada. Os cultivos foram mantidos por 20 dias, uma vez que em experimentos anteriores, verificou-se que para as mesmas condições de cultivo e nutrição, neste período o crescimento da biomassa alcança a fase estacionária. Após o período de 20 dias, foi feita a determinação de biomassa, o adensamento do cultivo, as diluições para alcançar as concentrações desejadas e realização dos testes de aplicação de tensões hidrodinâmicas.



Figura 1. (a) Câmara de cultivo contendo os fotobiorreatores *airlift* e (b) detalhe nos fotobiorreatores *airlift* A e B, sistemas de injeção de ar, de iluminação e lavagem de gás.

2.2. Determinação da biomassa

Para a determinação de biomassa seca, foram retiradas de cada fotobiorreator três amostras de 50 mL das culturas algais. Após a coleta, procedeu-se a centrifugação das amostras em centrífuga refrigerada (marca Thermo Scientific, modelo Heraeus Multifuge X3R, USA), a 10000 g e a 4 °C, durante 10 minutos, para a separação da biomassa do meio de cultura. Após a primeira centrifugação, o sobrenadante foi retirado dos tubos e o *pellet* de biomassa úmida foi lavado com água deionizada para a retirada dos sais do meio de cultura. A biomassa foi ressuspensa em água deionizada e novamente centrifugada a 10000 g e a 4 °C, durante 10 minutos. O sobrenadante foi novamente retirado e o *pellet* de biomassa úmida foi colocado em placas de petri previamente secas e mantidas em dessecador, de massa média igual a 4,2731 g e transferido para uma estufa com circulação de ar (marca American Lab, modelo AL 102/150, Brasil), a 60 °C. Periodicamente a biomassa foi quantificada em balança analítica (marca Shimadzu, modelo AY220, Japão) com precisão de 0,0001 g, até apresentar massa constante. O tempo de secagem verificado foi de 17 horas. A concentração de biomassa seca nos fotobiorreatores, expressa em kg m^{-3} , é calculada como:

$$X = \frac{m_f}{Vol} \quad (1)$$

em que:

X é a concentração de biomassa no fotobiorreator (kg m^{-3});

m_f é a massa final de biomassa seca em estufa (g);

Vol é o volume de amostra centrifugado (L).

Os valores de biomassa seca considerados são iguais à média de três quantificações feitas para cada fotobiorreator.

2.3. Adensamento da biomassa

Uma vez que as concentrações de biomassa acima de 4 kg m^{-3} não são usualmente alcançadas nos fotobiorreatores, foi efetuado o adensamento da biomassa por meio de centrifugação. É importante destacar que níveis de concentração acima de 4 kg m^{-3} são verificados no processamento da biomassa algal, sobretudo após as etapas iniciais das operações unitárias de separação.

Foram reservados 500 mL dos cultivos (250 mL de cada fotobiorreator) para os testes de viabilidade com adição do espessante. O restante do volume dos fotobiorreatores foi centrifugado em centrífuga refrigerada (marca Thermo Scientific, modelo Heraeus Multifuge X3R, USA), a 4600 g e a 4 °C, durante 10 minutos, utilizando-se um rotor (Thermo Scientific, modelo TX-750, EUA) com capacidade de acoplamento de 4 frascos de 750 mL cada. Após a primeira centrifugação, o sobrenadante foi retirado dos frascos e o *pellet* de biomassa úmida foi lavado com água deionizada para a retirada dos sais. A suspensão de biomassa em água foi novamente centrifugada a 4600 g e a 4 °C, durante 10 minutos. O sobrenadante foi novamente retirado e a biomassa úmida foi acondicionada em placas de petri e armazenada em refrigerador (marca Metalfrio, modelo VB40W, Brasil) a 8 °C até sua utilização nos experimentos. Para determinar o teor de massa seca na biomassa úmida adensada resultante de cada fotobiorreator, utilizou-se novamente o método de secagem em estufa com circulação de ar (marca American Lab, modelo AL 102/150, Brasil) a 60 °C até massa constante. Da biomassa resultante do fotobiorreator A, foram retiradas três amostras com massa média de 11,1391 g, e da biomassa

resultante do fotobiorreator B, foram retiradas três amostras com massa média de 2,2854 g. O teor de massa seca, expresso em base úmida, é calculado como:

$$D = \frac{m_f}{m_a} \quad (2)$$

em que:

D é a fração de massa seca na biomassa adensada;

m_f é a massa final da amostra seca em estufa (g);

m_a é a massa inicial da amostra (g).

O valor da fração de massa seca na biomassa adensada foi considerado como a média de três quantificações.

2.4. Preparo das suspensões para os testes de viabilidade

Para preparar as suspensões a serem utilizadas nos testes de viabilidade em função da tensão de cisalhamento, foi utilizada a biomassa previamente adensada. A biomassa adensada foi pesada em balança analítica (marca Shimadzu, modelo AY220, Japão), e transferida para um balão volumétrico de 500 mL, onde foi diluída com o meio de cultura BG11 com nitrogênio. A concentração de biomassa seca na suspensão foi calculada considerando-se o teor de massa seca da biomassa adensada:

$$X = \frac{m_A \cdot D_A + m_B \cdot D_B}{Vol} \quad (3)$$

em que:

X é a concentração de biomassa na suspensão (kg m^{-3});

m_A é a quantidade utilizada de biomassa adensada do fotobiorreator A (g);

m_B é a quantidade utilizada de biomassa adensada do fotobiorreator B (g);

D_A é a fração de massa seca na biomassa adensada do fotobiorreator A;

D_B é a fração de massa seca na biomassa adensada do fotobiorreator B;

Vol é o volume do balão volumétrico (L).

Para que a viabilidade fosse avaliada em maiores tensões das que foram alcançadas nos testes das suspensões, sob a mesma taxa de deformação, foi utilizada a goma xantana (fornecedor M. Cassab, Brasil) como espessante. Para a avaliação da viabilidade do cultivo com adição de espessante, utilizou-se o cultivo não adensado separado previamente. Uma solução de goma xantana 0,2% foi preparada previamente, pesando-se 0,5 g e diluindo-se com água deionizada até o volume de 250 mL, em um balão volumétrico. Esta solução foi transferida para um balão volumétrico de 500 mL, juntamente com 250 mL de meio de cultivo fresco proveniente dos fotobiorreatores, resultando em uma suspensão do cultivo diluída 2 vezes e com 0,1 % de goma xantana, que foi utilizada nos testes.

2.5. Testes de viabilidade

Os testes de viabilidade dos cultivos submetidos a aplicação das tensões hidrodinâmicas consistiram na aplicação da taxa de deformação de 5000 s^{-1} , sob temperatura constante de $25 \text{ }^\circ\text{C}$, por um período de 120 minutos, em 30 mL das suspensões preparadas a partir da biomassa adensada e no cultivo com espessante. Para a aplicação da taxa de deformação e medição da tensão de cisalhamento resultante, foi utilizado um reômetro rotacional (marca Rheotest, modelo RN 4.1, Alemanha), com um sistema de medida de cilindros coaxiais tipo Searle (marca Rheotest, modelo HS, Alemanha). A temperatura dos testes foi controlada por um banho termostático (marca Lauda, modelo RE 304, Alemanha) com circulação interna e externa. Os dados dos testes foram transferidos em tempo real para um computador (marca Dell, modelo Vostro 220, Alemanha), onde puderam ser visualizados e armazenados. O conjunto utilizado nos estudos é apresentado na Figura 2.

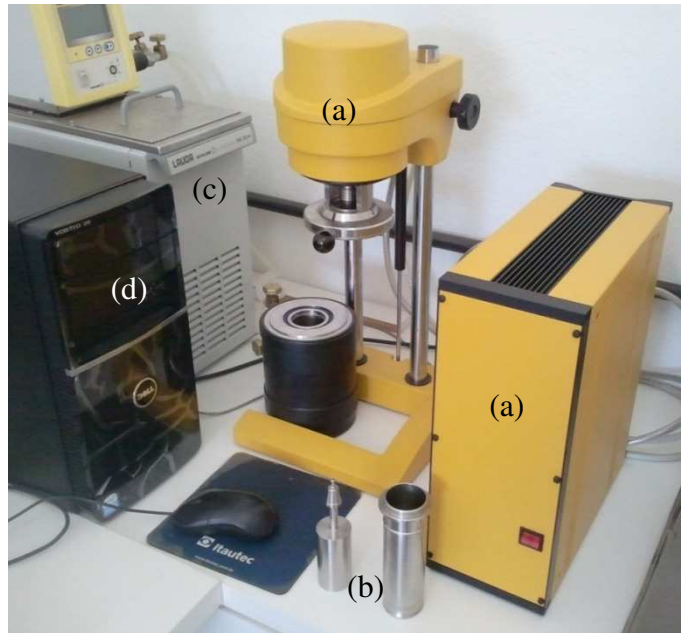


Figura 2. Equipamentos utilizados nos testes reológicos: (a) reômetro, (b) cilindros coaxiais, (c) banho termostático e (d) computador.

Dividiu-se o teste em intervalos de tempo de 10, 20, 30, 60, 90 e 120 minutos. Ao final de cada intervalo de tempo, uma alíquota foi retirada para análise de viabilidade das células em microscópio (marca Leica, modelo CME, USA). Devido às diferentes concentrações utilizadas, as alíquotas retiradas e as diluições aplicadas nas análises de viabilidade também foram diferentes. Os valores dos volumes das alíquotas e das diluições em função da concentração de biomassa são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Alíquotas e diluições utilizadas nos testes.

Biomassa	5 kg m ⁻³	8,7 kg m ⁻³	0,63 kg m ⁻³ com xantana 0,1%
Alíquota (μL)	20	10	100
Diluição	50	100	20

A viabilidade foi avaliada utilizando-se o corante eritrosina (Sigma Aldrich, USA) para a coloração das células mortas (MARKELOVA et al., 2000). A alíquota retirada do reômetro foi transferida para um tubo contendo 500 μL da solução aquosa do corante eritrosina 0,5%, preparada previamente. O volume foi completado com água deionizada até 1 mL. A suspensão resultante foi homogeneizada em agitador

vortex (marca Arsec, modelo TS200, Brasil) por 30 segundos, e deixada em repouso por 1 hora, para que o processo de coloração das células mortas ocorresse.

Após o período de 1 hora, a suspensão foi novamente agitada em vortex por 30 segundos e analisada em microscópio (marca Leica, modelo CME, USA) onde foram feitas as contagens de células (LOURENÇO, 2007). Utilizou-se para a contagem uma câmara de Neubauer (marca Solidor, modelo Dupla Melhorada, China – Figura 3). As regiões da câmara consideradas para contagem possuem 1 mm^2 de área cada (Figura 4), e como a profundidade é igual a $0,1 \text{ mm}$, o número de células contado na em cada região considerada corresponde ao número de células em $0,1 \text{ mm}^3$, sendo o valor adotado a média das quatro regiões.

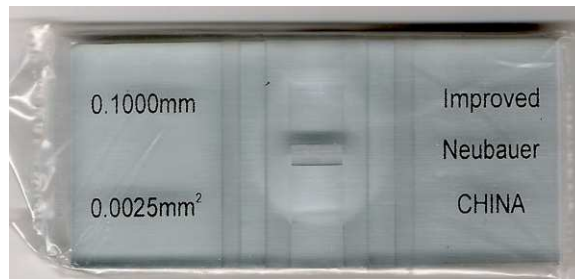


Figura 3. Câmara de Neubauer.

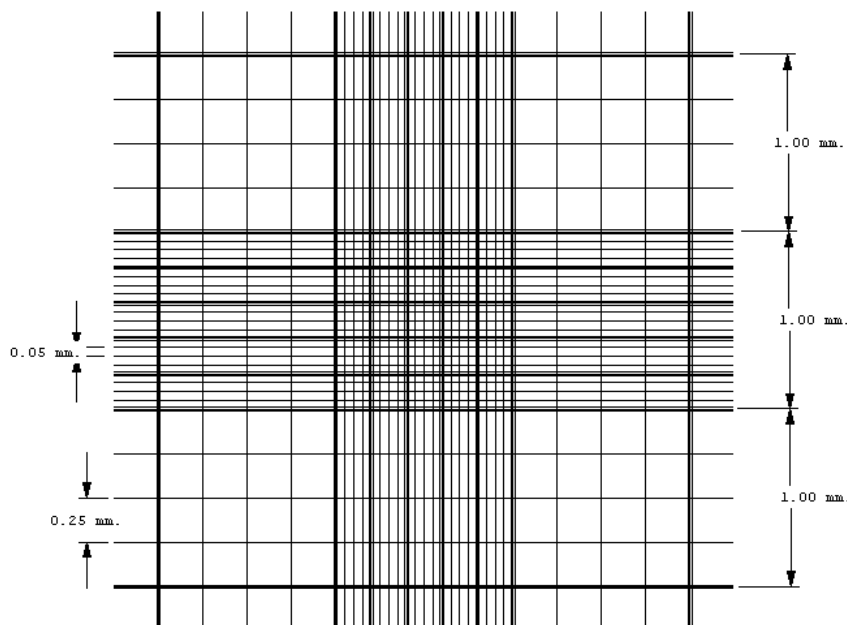


Figura 4. Esquema de divisão das regiões de contagem na câmara de Neubauer

O número de células em 1 mL foi calculado considerando-se a diluição prévia da amostra e fator de multiplicação utilizado para converter o número de células em $0,1 \text{ mm}^3$ para 1 mL ($1 \text{ mL} = 1 \text{ cm}^3 = 1000 \text{ mm}^3$):

$$N = 10000 \cdot \bar{n} \cdot f \quad (4)$$

em que:

N é o número de células totais em 1 mL (cel. mL^{-1});

\bar{n} é o número médio de células contadas em cada região;

f é o fator de diluição inicial da amostra.

Fez-se a contagem de células convencional, considerando coradas e não coradas, e a contagem apenas das células coradas. O número de células totais e o número de células coradas por mL foram calculados utilizando-se a Eq. 4. Assim, o índice de células inviáveis para cada tempo avaliado foi calculado pela relação entre o número de células coradas e o número de células totais:

$$I = \frac{n_d}{N} \quad (5)$$

em que:

I é o índice de células inviáveis;

n_d é o número de células coradas (cel. mL^{-1});

A viabilidade (V) é calculada considerando-se a fração total de células menos o índice de células inviáveis:

$$V = 1 - I \quad (6)$$

Todos os testes foram feitos em três repetições e são reportadas as médias aritméticas dos resultados. O erro padrão máximo para as tensões de cisalhamento medidas foi de 12,39 mPa.

2.6. Delineamento experimental e análise dos dados

Os experimentos foram conduzidos utilizando-se o delineamento inteiramente casualizado, avaliando-se os fatores tempo de exposição à tensão de cisalhamento e concentração de biomassa. O fator tempo de exposição foi constituído de 7 níveis: 0, 10, 20 30, 60, 90 e 120 minutos. O fator concentração de biomassa foi constituído de 3 níveis: 5; 8,71 e 0,63 kg m⁻³, este último com 0,1 % de goma xantana. Foi feita a análise de variância (ANOVA) dos dados, para a avaliação do efeito dos diferentes níveis de tempo de exposição à tensão e do efeito dos diferentes níveis de concentração de biomassa sobre a viabilidade celular dos cultivos, em nível de 5 % de significância. A interação entre os fatores tempo de exposição à tensão e concentração de biomassa também foi testada.

3. Resultados e discussão

3.1. Biomassa nos fotobiorreatores

Os fotobiorreatores A e B apresentaram valores médios de concentração de biomassa seca de $0,7533 \pm 0,0042 \text{ kg m}^{-3}$ e $0,5153 \pm 0,0255 \text{ kg m}^{-3}$, respectivamente. A massa seca final foi obtida após 17 horas de secagem em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$. A partir deste tempo, verificou-se que as medições da biomassa seca apresentaram valores constantes em todas as amostras.

O fotobiorreator A apresentou maior valor de biomassa que o fotobiorreator B que, por sua vez, apresentou maior coeficiente variação no valor da biomassa. Estes dois resultados podem ser atribuídos à maior formação de biofilme na parede do fotobiorreator B, fato visualmente verificado durante a extração dos cultivos. O biofilme prejudica a distribuição de luz no interior do fotobiorreator, reduzindo a produtividade do cultivo. Quando flocos de biofilme permanecem em suspensão no cultivo, a exatidão na determinação da biomassa fica prejudicada, pois a distribuição celular não é mais uniforme, uma vez que o biofilme é um aglomerado de células e de material extracelular altamente organizado (FLORJANIČ e KRISTL, 2011).

3.2. Teor de biomassa seca na biomassa adensada

Os resultados da determinação do teor de biomassa seca na biomassa adensada para os fotobiorreatores A e B são $0,0313 \pm 0,0002 \text{ kg kg}^{-1}$ e $0,0689 \pm 0,0020 \text{ kg kg}^{-1}$, respectivamente. A massa final foi obtida após 17 horas de secagem em estufa a $60 \text{ }^\circ\text{C}$. A partir deste tempo, verificou-se que as pesagens da biomassa seca, apresentaram valores constantes em todas as amostras.

Para o preparo da suspensão de 5 kg m^{-3} , utilizou-se 39,9400 g da biomassa adensada A e 18,1561 g da biomassa adensada B. Para o preparo da suspensão de $8,71 \text{ kg m}^{-3}$, utilizou-se 69,1283 g da biomassa adensada A e 31,8040 g da biomassa adensada B. Com estes valores, as frações de biomassa seca fornecida por cada cultivo no preparo das duas suspensões foram semelhantes.

3.3. Testes de viabilidade dos cultivos

Os índices de células inviáveis verificados durante os testes de aplicação das tensões hidrodinâmicas nas suspensões com concentração de biomassa de 5 kg m^{-3} e $8,71 \text{ kg m}^{-3}$, e na suspensão de $0,63 \text{ kg m}^{-3}$ com 0,1 % de goma xantana, são apresentados na figura 4.

Tabela 4. Valores dos índices de células inviáveis (*I*) em função do tempo de exposição as tensões hidrodinâmicas.

Tempo (minutos)	<i>I</i>					
	5 kg m^{-3}		$8,71 \text{ kg m}^{-3}$		$0,63 \text{ kg m}^{-3}$ *	
	Média	Desv. Pad.	Média	Desv. Pad.	Média	Desv. Pad.
0	0,00	0,00	0,0022	0,0033	0,0448	0,0357
10	0,0022	0,0029	0,0062	0,0038	0,0348	0,0103
20	0,0087	0,0107	0,0027	0,0041	0,0468	0,0342
30	0,0094	0,0082	0,0045	0,0034	0,0455	0,0304
60	0,0029	0,0033	0,0040	0,0043	0,0261	0,0112
90	0,0036	0,0023	0,0067	0,0040	0,0542	0,0212
120	0,0103	0,0094	0,0080	0,0004	0,0268	0,0153

* Com adição de 0,1 % de goma xantana.

Não foi observada alteração significativa na viabilidade do cultivo, em termos de ocorrência de células mortas, na concentração de 5 kg m^{-3} . Para a concentração de $8,71 \text{ kg m}^{-3}$, foi observada alteração significativa na viabilidade, a partir de 90 minutos de exposição à tensão aplicada, porém os índices de células mortas são baixos, sendo menores que 1 %, ou seja, a viabilidade do cultivo é maior que 99 %.

Os maiores índices de células mortas ocorreram para o cultivo com 0,1 % de goma xantana, sendo que valores significativos já foram observados com 10 minutos de exposição a tensão. Isso pode ser explicado pelo aumento da viscosidade da suspensão com adição do espessante, o que resultou no aumento da tensão de cisalhamento diante da taxa de deformação aplicada. Quanto maiores as tensões em um campo de escoamento, maiores as forças resultantes sobre uma superfície imersa nesse escoamento, e considerando-se as células de microalgas, estes esforços podem comprometer a parede celular ou outras estruturas necessárias ao desenvolvimento

do organismo. As tensões de cisalhamento e as viscosidades aparentes medidas em cada teste são apresentadas na Tabela 5.

Tabela 5. Tensões de cisalhamento e viscosidades aparentes medidas ($\dot{\gamma} = 5000 \text{ s}^{-1}$).

Suspensão	Tensão (mPa)	Visc. Ap. (mPa s)
5 kg m ⁻³	6603,60	1,32
8,71 kg m ⁻³	6617,20	1,32
0,63 kg m ⁻³ , 0,1 % xantana	10100,08	2,02

A tensão de cisalhamento aplicada nas células presentes na suspensão com 0,1 % de goma xantana foi 54 % maior que a tensão de cisalhamento aplicada nas células presentes nas suspensões com 5 kg m⁻³ e 8,71 kg m⁻³ de biomassa, que não apresentaram diferença significativa nos valores de tensão e viscosidade aparente. Nos testes em que houve alteração significativa na viabilidade, não foi observada diferença significativa entre os índices de células mortas em cada tempo, indicando que viabilidade depende mais do nível de tensão de cisalhamento aplicado do que do tempo de aplicação da tensão. Isto pode ser explicado pela existência prévia de células mais sensíveis e susceptíveis às tensões, além de células mais resistentes, que não são afetadas, mesmo em um longo período de exposição às tensões (MICHELS et al., 2010). Deve-se considerar também que a formação do cenóbio pode ajudar as células a resistir às tensões hidrodinâmicas, pois foi observado que ao final dos testes havia menor número destas estruturas e maior número de células dispersas. A desagregação das células e redução do número de cenóbios devido ao efeito das tensões hidrodinâmicas também foram observadas suspensões contendo *Scenedesmus dimorphus*, por Scarsella et al. (2011). Estes autores ainda reportam que a ruptura do cenóbio resultou em aumento na atividade fotossintética desta espécie, explicado pela diminuição do sombreamento entre as células.

É importante enfatizar que a alteração da viabilidade foi avaliada em termos da ocorrência de células mortas, ou seja, unidades que definitivamente não são capazes de se reproduzir. Métodos que possuem maior sensibilidade em diferenciar um estado de injúria nas células, mesmo nas vivas, são mais desejáveis, pois expressam melhor a resposta do cultivo à condição de stress hidrodinâmico.

Antes de morrerem, as células podem passar por diversos estágios de perda de funções, que podem ser reversíveis, caso a condição adversa cesse (MARKELOVA

et al., 2000). Porém, até que as condições normais do metabolismo sejam reestabelecidas, é natural que as funções de crescimento e reprodução fiquem prejudicadas, o que é indesejado na produção de biomassa em escala industrial. Por isso, alguns autores, utilizando estas metodologias, reportam decréscimo na viabilidade celular quando as cepas foram submetidas a valores de tensão de cisalhamento diferentes das aplicadas neste trabalho. Utilizando microscopia de fluorescência, com diacetado de fluoresceína (FDA) como corante, Michels et al. (2010) reportam viabilidade de cultivo de *Chaetoceros muelleri* entre 60 e 75 % para tempos de exposição maiores que 8 minutos sob uma tensão de cisalhamento de 5,89 Pa. Estes autores também observam que o efeito da tensão na viabilidade foi praticamente independente do tempo. A utilização da microscopia de fluorescência com FDA não faz distinção entre células mortas e vivas, e sim de células com danos que permitam a penetração da molécula de FDA através da parede celular.

Camacho et al. (2001) estudou os efeitos do stress hidrodinâmico em *P. tricornutum*, cultivado em fotobiorreatores *airlift* por 1 mês, avaliando a viabilidade com o teste de exclusão com azul tripan e analisando diretamente as curvas de crescimento, porém não reportou os valores de tensão associados às velocidades superficiais aplicadas nos fotobiorreatores. A viabilidade dos cultivos também foi sempre maior que 70 %. O teste de exclusão com azul tripan também distingue somente células mortas, devido ao rompimento da membrana, e células vivas.

Quanto à espécie estudada, as relações entre as tensões aplicadas e a viabilidade podem ser muito diferentes, devido à maior sensibilidade apresentada por certas espécies. Dinoflagelados, como *G. polyedra* e *P. reticulatum* são extremamente sensíveis às tensões hidrodinâmicas, com valores de tensão crítica para a viabilidade de 2 mPa (JUHL et al., 2000) e 0,16 mPa (CAMACHO et al., 2007), respectivamente.

4. Conclusões

A viabilidade cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003 com concentrações de biomassa de até 5 kg m^{-3} não foi afetada pelas tensões hidrodinâmicas que ocorrem durante o cultivo em fotobiorreatores. Para concentrações próximas a $8,71 \text{ kg m}^{-3}$, a viabilidade é levemente afetada somente em maiores períodos de exposição as tensões. O aumento na viscosidade do cultivo resulta em maiores tensões hidrodinâmicas e, conseqüentemente, decréscimo na viabilidade. Observou-se que, para o maior valor de tensão aplicado (10,1 Pa), partir de um período inicial de exposição (10 minutos), o decréscimo na viabilidade é independente do tempo. Na análise dos resultados e comparação com outros trabalhos, é importante considerar a metodologia de avaliação da viabilidade, as formas de aplicação das tensões hidrodinâmicas e às espécies estudadas, devido as diferenças entre os níveis de sensibilidade que estas possuem.

5. Referências Bibliográficas

Amin, S. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. **Energy Conversion and Management**, v. 50, p. 1834–1840, 2009.

Andersen, R. A. (Editor). **Algal Culturing Techniques**. Burlington, MA, USA: Elsevier Academic Press, 2005. 596p.

Barnes, H. A. **A Handbook of Elementary Rheology**. Aberystwyth: University of Wales, Institute of Non-Newtonian Fluid Mechanics, 2000. 200p.

Borges, C. D.; Vendruscolo, C. T. Goma xantana: características e condições operacionais de produção. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, Londrina, v. 29, n. 2, p. 171-188, 2008.

Camacho, F. G.; Grima, E. M.; Mirón, A. S.; Pascual, V. G.; Chisti, Y. Carboxymethyl cellulose protects algal cells against hydrodynamic stress. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 29, p. 602-610, 2001.

Camacho, F. G.; Rodríguez, J. J. G. Mirón, A. S.; García, M. C. C.; Belarbi, E. H.; Grima, E. M. Determination of shear stress thresholds in toxic dinoflagellates cultured in shaken flasks. Implications in bioprocess engineering. **Process Biochemistry**, v. 42, p. 1506-1515, 2007.

Chen, C. -Y.; Yeh, K. -L.; Aisyah, R.; Lee, D. -J.; Chang, J. -S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71-81, 2011.

Contreras, A.; García, F.; Molina, E.; Merchuk, J. C. Interaction between CO₂-mass transfer, light availability, and hydrodynamic stress in the growth of *Phaeodactylum tricorutum* in a concentric tube *airlift* photobioreactor. **Biotechnology and Bioengineering**, v. 60, n. 3, p. 317–325, 1998.

Costa, J. A. V.; Morais, M. G. The role of biochemical engineering in the production of biofuels from microalgae. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 2-9, 2011.

Florjanič, M.; Kristil, J. The control of biofilm formation by hydrodynamics of purified water in industrial distribution system. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 405, n. 1–2, p. 16-22, 2011.

Harun, R.; Singh, M.; Forde, G. M.; Danquah, M. K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 1037-1047, 2010.

He, M.; Li, L.; Liu, J. Isolation of wild microalgae from natural water bodies for high hydrogen producing strains. **International Journal of Hydrogen Energy**, doi:10.1016/j.ijhydene.2011.11.089, 2012.

Hodaifa, G.; Martínez, M. E.; Órpez, R.; Sánchez, S. Influence of hydrodynamic stress in the growth of *Scenedesmus obliquus* using a culture medium based on olive-mill wastewater. **Chemical Engineering and Processing**, v. 49, p. 1161–1168, 2010.

Jaouen, P.; Vandanjon, L.; Quéméneur, F. The shear stress of microalgal cell suspensions (*Tetraselmis suecica*) in tangential flow filtration systems: the role of pumps. **Bioresource Technology**, n. 68, p. 149-154, 1999.

Juhl, A. R.; Velasquez, V.; Latz, M. I. Effect of growth conditions on flow-induced inhibition of population growth of a red-tide dinoflagellate. **Limnology and Oceanography**, v. 45, n. 4, p. 905-915, 2000.

Liao, S; Li, F.; Yao, C. H.; Bai, F. W. The progress of ethanol production from microalgae (Review). **Journal of Biotechnology**, v. 150, suplemento, p. 570, 2010.

López, M. C. G-M.; Sánchez, E. D. R.; López, J. L. C.; Fernández, F. G. A.; Sevilla, J. M. F.; Rivas, J.; Guerrero, M. G.; Molina Grima, E. Comparative analysis of the

outdoor culture of *Haematococcus pluvialis* in tubular and bubble column photobioreactors. **Journal of Biotechnology**, v. 123, n. 3, p. 329-342, 2006.

Lourenço, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações**. São Carlos: RIMA Editora, 2007. 606p.

Luvielmo, M. M.; Scamparini, A. R. P. Goma xantana: produção, recuperação, propriedades e aplicação. **Estudos tecnológicos**, v. 5, n. 1, p. 50-67, 2009.

Markelova, A. G.; Vladmirova, M. G.; Kupstova, E. S. A Comparison of cytochemical methods for the rapid evaluation of microalgal viability. **Russian Journal of Plant Physiology**, v. 47, n. 6, p. 815–819, 2000.

Michels, M. H. A; van der Goot, A. J.; Norsker, N. -H.; Wijffels, R. H. Effects of shear stress on the microalgae *Chaetoceros muelleri*. **Bioprocess Biosystems Engineering**, v. 33, p. 921-927, 2010.

Sastre, R. R.; Csögör, Z.; Perner-Nochta, I.; Fleck-Schneider, P.; Posten, C. Scale-down of microalgae cultivations in tubular photo-bioreactors – A conceptual approach. **Journal of Biotechnology**, v. 132, p. 127-133, 2007.

Scarsella, M.; Torzillo, G.; Cicci, A.; Belotti, G.; De Filippis, P.; Bravi, M. Mechanical stress tolerance of two microalgae. **Process Biochemistry**, doi:10.1016/j.procbio.2011.07.002, 2011.

Singh, J.; Gu, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.14, n.9, p. 2596-2610, 2010.

Steffe, J. F. **Rheological Methods in Food Process Engineering**. 2nd ed. East Lansing: Freeman Press, 1996. 412p.

Zeng, X.; Danquah, M.; Chen, X. D.; Lu, Y. Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, p. 3252-3260, 2011.

CONCLUSÕES GERAIS

No estudo das propriedades reológicas dos cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003, na faixa de concentração de 1,09 a 8,71 kg m⁻³ e em taxas de deformação variando de 300 a 5000 s⁻¹, as análises dos resultados permitem concluir que os modelos reológicos de Newton, de Lei de Potência, de Bingham e de Herschel-Bulkley podem ser utilizados para caracterizar o comportamento reológico de cultivos de microalgas, porém os modelos de Newton e de Lei de Potência são fisicamente mais adequados para descrever o comportamento reológico dos cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003. Nas faixas de concentração de biomassa e taxa de deformação estudadas, há pouco efeito da concentração de biomassa sobre a viscosidade aparente das suspensões e, conseqüentemente sobre a tensão de cisalhamento.

Na avaliação dos efeitos das tensões hidrodinâmicas sobre os cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003, verificou-se em concentrações de biomassa de até 5 kg m⁻³, a viabilidade não foi afetada pelas tensões hidrodinâmicas que ocorrem durante o cultivo em fotobiorreatores. Em tempos de exposição a tensões de 6,6 Pa acima de 90 minutos, e cultivos com biomassa próxima a 8,71 kg m⁻³, a viabilidade é levemente afetada. Quando são aplicadas tensões acima de 10 Pa, a viabilidade já é afetada significativamente com 10 minutos de exposição. Este comportamento indica que a resposta na viabilidade de cultivos de *Scenedesmus acuminatus* BR003 depende mais do valor de tensão aplicado do que do tempo de aplicação da mesma.