

MODELAGEM MATEMÁTICA E VALIDAÇÃO EXPERIMENTAL DA GERAÇÃO DE NUTRIENTES A PARTIR DA BIOMASSA DA MICROALGA *Acutodesmus obliquus*

F.R. Lírio, frlirio@hotmail.com¹

P.P. Dario, priscila_dario@hotmail.com¹

J.G.B. Martinez, johana0202@hotmail.com¹

D.M. Taher, dhvogomt@hotmail.com¹

J.V.C. Vargas, vargasjvcv2@gmail.com¹

W. Balmant, wbalmant@gmail.com¹

¹Universidade Federal do Paraná, Rua Cel. Francisco Heráclito dos Santos, 100, Npdeas, Centro Politécnico, CEP: 81531-980, Curitiba, Brasil

Resumo: O uso da biomassa de microalga como suplemento alimentar, na dieta humana ou animal, vem sendo amplamente estudado. Uma das motivações para as pesquisas sobre o tema é o fato de se tratar de uma fonte alternativa e natural, apresentando, em grande parte das espécies estudadas, alto teor de proteínas, lipídeos e carboidratos, conforme literatura citada na introdução. Este estudo apresenta uma proposta de modelo matemático dinâmico, com base no balanço de massa da célula, visando quantificar e gerenciar as concentrações de biomassa, lipídeos, proteínas e carboidratos, obtidas a partir da biomassa da microalga *Acutodesmus obliquus*, cultivada em escala laboratorial utilizando o meio autotrófico CHU. O valor nutricional da biomassa pode variar de acordo com as condições de cultivo, sendo assim, mantendo a incidência de luz e temperatura constante foi possível obter um conjunto de equações diferenciais representativas das taxas de fluxo de entrada e saída, considerando as mesmas condições para os meios intra e extracelular. O modelo foi validado por meio dos dados experimentais, e apresentou desempenho preditivo satisfatório, podendo ser utilizado como ferramenta de gerenciamento na produção de biomassa de microalga com alto valor nutritivo.

Palavras-chave: Biomassa, *Acutodesmus obliquus*, Modelagem, Nutrientes

1. INTRODUÇÃO

As microalgas apresentam alta eficiência fotossintética e alta capacidade de duplicação de biomassa em um curto período de tempo, podendo ser cultivadas em pequenas extensões territoriais. Neste contexto, estes micro-organismos apresentam potencial para produção de lipídeos, carboidratos e proteínas, sendo que os teores destes compostos variam de acordo com a espécie. Desta maneira, as microalgas apresentam-se como substitutas de produtos industrializados e comercializados, como por exemplo, o óleo de peixe e diversas fontes proteicas e vegetais (Santos, 2016).

Sendo assim, trabalhos científicos envolvendo a modelagem de nutrientes e fontes proteicas referentes à biomassa microalgal, vem sendo amplamente desenvolvidos. Neste contexto, os autores Mairet *et al.* (2010) propõe um modelo dinâmico para a produção de lipídeos, no qual o carbono intracelular é dividido entre um depósito funcional e dois depósitos de armazenamento para açúcares e lipídeos neutros. Neste trabalho o modelo foi validado com dados experimentais provindos do cultivo da microalga *Isochrysis affinis galbana*, submetida a diferentes condições de limitação do nitrogênio. O modelo foi formulado com um grau mínimo de complexidade para que possa ser analisado matematicamente, porém conseguiu representar as fases transitórias e a histerese das várias condições fisiológicas.

Ainda Mairet *et al.* (2011) propuseram um modelo dinâmico para simular o crescimento de microalgas em fotobioreatores visando prever a produção de hidratos de carbono, lipídeos neutros e biomassa, bem como as condições ótimas de operação. Na elaboração do modelo foram considerados os efeitos da incidência de luz e concentração de nitrogênio, sobre os fluxos de carbono intracelular entre um depósito funcional (proteínas, membranas e ácidos nucleicos) e dois depósitos de armazenamento, sendo um de carboidrato e outro de lipídeos. O modelo proposto foi avaliado com dados experimentais do cultivo da microalga *Isochrysis affinis galbana* em ciclos diurno e noturno e conseguiu descrever o crescimento das microalgas e sua composição bioquímica sobre limitações de luz e nitrogênio.

Deschênes e Wouwer (2015) fizeram uma modelagem dinâmica para a produção de biomassa proveniente da microalga *I. galbana*, porém utilizando a intensidade de luz como variável manipulada. Neste estudo foram utilizados

dois modelos matemáticos, de diferentes complexidades, para representar o crescimento da microalga, os parâmetros da espécie foram obtidos na literatura e para o controle de filtragem e adaptação dos parâmetros foi utilizado um algoritmo de otimização em tempo real. Os resultados obtidos mostraram bom desempenho na otimização apesar da variação dos parâmetros e presença de ruído nas medições.

Pesquisas recentes como dos autores He *et al.* (2016) propõe um modelo matemático cinético, baseado em dados experimentais do cultivo em fotobioreatores, referente a microalga *I. galbana*, sobre diferentes condições de concentração de nitrato de sódio, considerando os ciclos noite e dia e incidência de luz. Neste estudo o modelo alcançou excelente relação com os dados experimentais indicando que em baixas concentrações de nitrato de sódio e alta intensidade de luz ocorre aumento da produção de lipídeos.

Sendo assim, este trabalho apresenta um modelo matemático dinâmico que, diferente dos encontrados na literatura consultada, busca avaliar separadamente as produções dos nutrientes lipídeos, carboidratos e proteínas, com base nos dados experimentais provindos do cultivo da microalga *Acutodesmus obliquus*. Para simplificar a análise matemática, foram feitas considerações tais como incidência de luz e temperatura constantes, além das mesmas condições para os meios intra e extracelular.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Procedimento experimental

O inoculo foi cultivado em escala laboratorial utilizando erleymeyers, com CHU modificado (Santos, 2016), num volume de 1,6 L. A temperatura, luminosidade e vazão de ar foram mantidas constantes, sendo 22 ± 2 °C, 720 a 760 Lux (lx) e $1,5 \text{ m}^3 \text{ s}^{-1}$, respectivamente. O meio foi inoculado com 200 cell mL^{-1} e as coletas para análises foram realizadas a cada três dias durante um período total de 15 dias. A biomassa foi armazenada em refrigerador a aproximadamente -4 °C e, ao final do experimento, foi dado prosseguimento as análises para identificação e quantificação dos lipídios totais (Blight e Dyer, 1959), carboidratos (Dubois *et al.*, 1956) e proteínas de acordo conforme AOAC (1995). Todos os experimentos foram realizados em duplicata e a biomassa seca, em cada dia da coleta, foi mensurada por método gravimétrico.

2.2 Modelo matemático

Modelos clássicos tais como de Monod, têm sido utilizados para descrever o crescimento das microalgas e explicar a maioria dos processos biológicos. No entanto, estes modelos não representam bem os processos de crescimento dos microorganismos em diversas situações, uma vez que um dos pressupostos geralmente utilizados é que a taxa de crescimento está associada ao conteúdo de um único substrato limitante, He *et al.* (2016).

Sendo assim, neste trabalho foram considerados três fluxos metabólicos intracelulares e os fluxos de entrada e saída da célula com seus correspondentes fatores de inibição. A Figura 1 apresenta um diagrama esquemático do processo proposto para desenvolvimento do modelo, sendo as vias metabólicas 1, 2 e 3 motivadas pelos complexos fotossintéticos presentes no processo de produção da biomassa. A biomassa, representada por x , é considerada como a soma da concentração de lipídeos, proteínas e carboidratos.

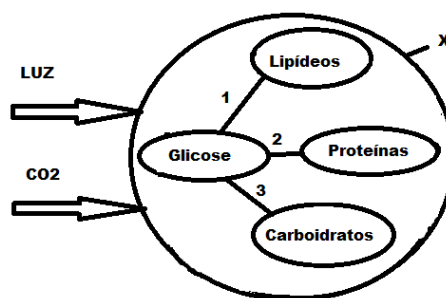


Figura 1: Representação esquemática dos fluxos intra e extracelulares, modificado de Mairé *et al* (2011).

A equação cinética para representar a taxa de crescimento da biomassa foi baseada na equação de Haldane (Bekirogullari *et al.*, 2017), porém acrescida com os efeitos inibidores das altas concentrações de CO_2 e intensidade da luz. A inclusão destes termos tem como objetivo melhorar a aproximação em relação aos dados experimentais baseados no cultivo autotrófico fotossintético, como mostrado na Eq. (1).

$$\mu_{\text{Foto}} = \mu_{\text{max}} \left(\frac{I(L)}{K_{sI} + I(L) + \frac{(I(L))^2}{K_{iI}}} \right) \left(\frac{[CO_2]}{K_{sCO_2} + [CO_2] + \frac{[CO_2]^2}{K_{iCO_2}}} \right) \quad (1)$$

Onde μ_{Foto} é a taxa específica de crescimento, dia^{-1} ; μ_{max} é a taxa específica máxima de crescimento, dia^{-1} , que depende da intensidade de incidência da luz local (I , Lux) e da concentração de $[CO_2]$, mg L^{-1} . Sendo K_{sI} e K_{sCO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, os coeficientes de saturação da luz e gás carbônico, enquanto K_{iI} e K_{iCO_2} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, são os coeficientes de inibição para o crescimento da biomassa com base na intensidade da luz e na concentração de gás carbônico. A intensidade da luz será considerada constante.

As taxas de acumulação lipídica, proteica e de carboidratos são dadas pelas equações Eq. (2), Eq. (3) e Eq. (4):

$$\mu_{\text{Lip}} = q_{\text{Lipmax}} \left(\frac{[C_6H_{12}O_6]}{K_{sLip} + [C_6H_{12}O_6]} \right) \quad (2)$$

$$\mu_{\text{Carb}} = q_{\text{Carbmax}} \left(\frac{[C_6H_{12}O_6]}{K_{sCarb} + [C_6H_{12}O_6]} \right) \quad (3)$$

$$\mu_{\text{Prot}} = q_{\text{Protmax}} \left(\frac{[C_6H_{12}O_6]}{K_{sProt} + [C_6H_{12}O_6]} \right) \left(\frac{[NH_3]}{K_{sNH_3} + [NH_3]} \right) \quad (4)$$

Sendo q_{Lipmax} , q_{Carbmax} e q_{Protmax} , g g^{-1} as taxas máximas de acumulação da concentração de lipídeos, carboidratos e proteínas. As constantes de saturação da concentração de lipídeos, carboidratos e proteínas são K_{sLip} , K_{sCarb} e K_{sProt} , $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$. A concentração de glicose $[C_6H_{12}O_6]$, mg L^{-1} , é a fonte para produção de lipídeos, carboidratos e proteínas motivadas pelos respectivos complexos enzimáticos. Sendo que, especificamente, para a produção de proteínas é necessária à presença de amônia $[NH_3]$, mg L^{-1} .

2.3 Sistema de Equações diferenciais

O modelo dinâmico elaborado neste estudo consiste de um conjunto de equações diferenciais ordinárias (EDOs) desenvolvidas com base no balanço de massa na célula e na lei de conservação da massa (processo ilustrado na Figura 1). Sendo assim, a equação diferencial que representa a taxa de consumo do CO_2 é dada pela Eq. (5):

$$\frac{dCO_2}{dt} = CO_2^{\text{in}} - (1,5 \mu_{\text{Foto}} \frac{y_{CO_2}}{y_{C_6H_{12}O_6}})X \quad (5)$$

A concentração de entrada do gás carbônico no sistema foi identificadas como CO_2^{in} , mg L^{-1} , sendo $y_{CO_2}/y_{C_6H_{12}O_6}$ a razão entre as massas moleculares dos compostos que multiplica a biomassa (X , mg L^{-1}).

Lembrando que o meio é diluído, então parte da concentração de gás carbônico na entrada do sistema é diluída e outra parte (que neste caso foi desprezada devido ao seu baixo valor) retorna ao ar ambiente. A Figura 2 mostra este processo.

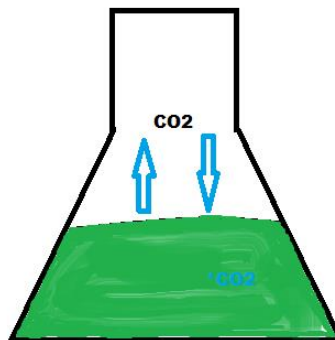


Figura 2: Fluxos de gás carbônico na entrada e saída do meio de cultivo.

Sendo assim, o fluxo de gás carbônico na entrada foi calculado com base no processo de transferência de massa, sendo Kla_{CO_2} o coeficiente de transferência de massa (adimensional), como mostra a Eq. (6).

$$CO_2^{\text{in}} = Kla_{CO_2} (C_{CO_2}^* - C_{CO_2}) \quad (6)$$

A concentração do gás carbônico diluída, denotada como $C_{CO_2}^*$, $mg\ L^{-1}$, foi calculada a partir da lei de Henry, apresentada na Eq. (7):

$$C_{CO_2}^* = H_{CO_2} \times P_{CO_2}^0 \quad (7)$$

Onde H_{CO_2} é a constante de Henry para o gás carbônico em determinada temperatura e $P_{CO_2}^0$ a pressão parcial, atm, do gás carbônico. As equações diferenciais que representam a taxa de produção de lipídeos, carboidratos e proteínas são representados pelas equações Eq. (8), Eq. (9) e Eq. (10):

$$\frac{d[Lip]}{dt} = \mu_{Lip} \frac{y_{Lip}}{y_{C_6H_{12}O_6}} X \quad (8)$$

$$\frac{d[Carb]}{dt} = \mu_{Carb} \frac{y_{Carb}}{y_{C_6H_{12}O_6}} X \quad (9)$$

$$\frac{d[Prot]}{dt} = \mu_{Prot} \frac{y_{Prot}}{y_{C_6H_{12}O_6}} X \quad (10)$$

As taxas de acumulação μ_{Lip} , μ_{Carb} e μ_{Prot} , $g\ g^{-1}$ são calculadas conforme as equações Eq. (2), Eq. (3) e Eq. (4), sendo y_{Lip} , y_{Carb} e y_{Prot} as massas molares de lipídeos, carboidratos e proteínas, sobre $y_{C_6H_{12}O_6}$ que é a massa molar da glicose, sendo as equações multiplicadas pela concentração de biomassa X , $mg\ L^{-1}$. Para fechar o balanço, as taxas de consumo de glicose e amônia são calculadas pelas equações Eq. (11), Eq. (12) e Eq. (13), onde y_{Prot} , y_{NH_3} e y_x representam os rendimentos referentes a proteína, amônia e biomassa.

$$\frac{d[C_6H_{12}O_6]}{dt} = (\mu_{Foto} - \mu_{Lip} - \mu_{Carb} - \mu_{Prot}) X \quad (11)$$

$$\frac{d[NH_3]}{dt} = - \mu_{Prot} y_{NH_3} X \quad (12)$$

$$\frac{d[X]}{dt} = (\mu_{Lip} + \mu_{Carb} + \mu_{Prot} y_{Prot}) y_x X \quad (13)$$

Os parâmetros e definição de variáveis utilizadas para os cálculos são apresentados na Tabela 1. Para a solução do sistema de equações diferenciais foi utilizado o softwares Matlab, versão 2017.

Tabela 1. Valores dos parâmetros de modelagem.

Parâmetro	Valor
I (Lux)	700
H_{CO_2} ($mol\ L^{-1}\ atm^{-1}$)	0,034
$P_{CO_2}^0$ (atm)	0,0004
y_{Prot}	1,25
y_{NH_3}	0,25
μ_{max} (dia^{-1})	7,64082733
K_{sI} ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	1,21631808
K_{sII} ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	6,11618045
K_{sCO_2} ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	0,00000012
K_{iCO_2} ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	0,16821798
q_{Lipmax} ($g\ g^{-1}$)	0,01021636
K_{sLip} ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	0,00050150
$q_{Carbmax}$ ($g\ g^{-1}$)	0,87461420
K_{sCarb} ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	0,44153024
$q_{Protmax}$ ($g\ g^{-1}$)	0,03317236
K_{sProt} ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	0,00000005
K_{sNH_3} ($\mu mol\ m^{-2}\ s^{-1}$)	0,00000018
Kla_{CO_2}	2,95789911
y_x	1,51820871

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados experimentais foram utilizados na validação do modelo matemático, bem como para definir os valores iniciais da simulação, o modelo foi então ajustado para a melhor condição de representatividade das variáveis de interesse biomassa seca, lipídeos, carboidratos e proteínas. Sendo assim, a Fig. 3 apresenta a curva experimental do aumento da concentração de biomassa durante o período total de 15 dias, com pontos de coleta a cada 3 dias, incluindo a curva teórica do modelo. Uma linha de tendência foi traçada com base nos dados experimentais, porém com comportamento próximo a curva da modelagem obtendo-se o grau de confiabilidade $R^2 = 0,9084$, portanto pode ser utilizado como uma referência quanto à capacidade preditiva do modelo.

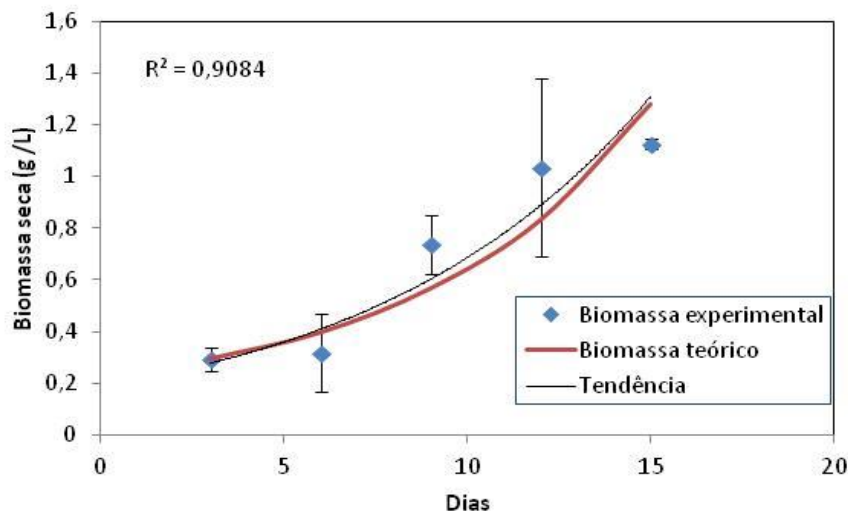


Figura 3. Representação do resultado da modelagem para a biomassa seca.

A Fig. 4 apresenta a curva experimental do aumento da porcentagem de lipídeos identificada nas amostras coletadas, bem como a curva teórica do modelo matemático. A linha de tendência traçada com base nos dados experimentais apresentou grau de confiabilidade $R^2 = 0,8979$, podendo ser utilizado como referência à capacidade preditiva do modelo.

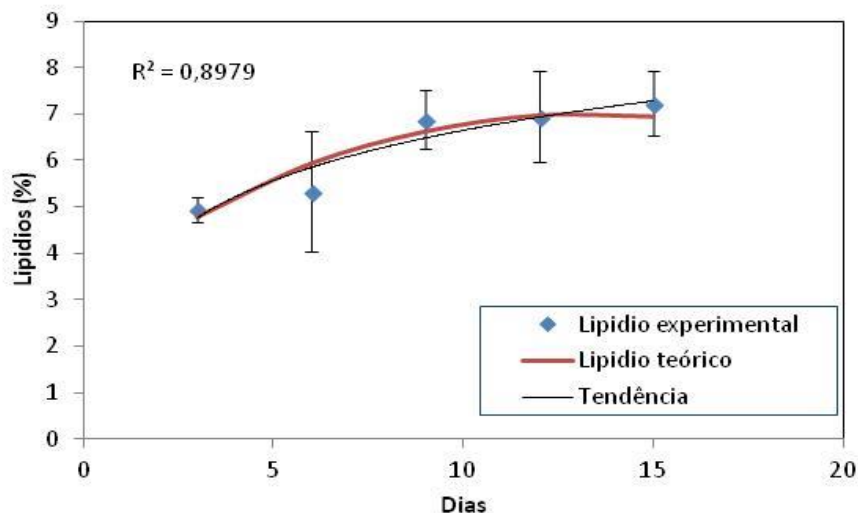


Figura 4. Representação do resultado da modelagem da porcentagem de lipídeos na biomassa coletada.

A Fig. 5 mostra o aumento da porcentagem de carboidrato identificada nas amostras coletadas, onde a curva teórica do modelo matemático apresenta capacidade preditiva satisfatória com relação aos dados experimentais. A linha de tendência traçada apresentou grau de confiabilidade $R^2 = 0,9357$, podendo ser utilizado como referência para a representatividade do modelo.

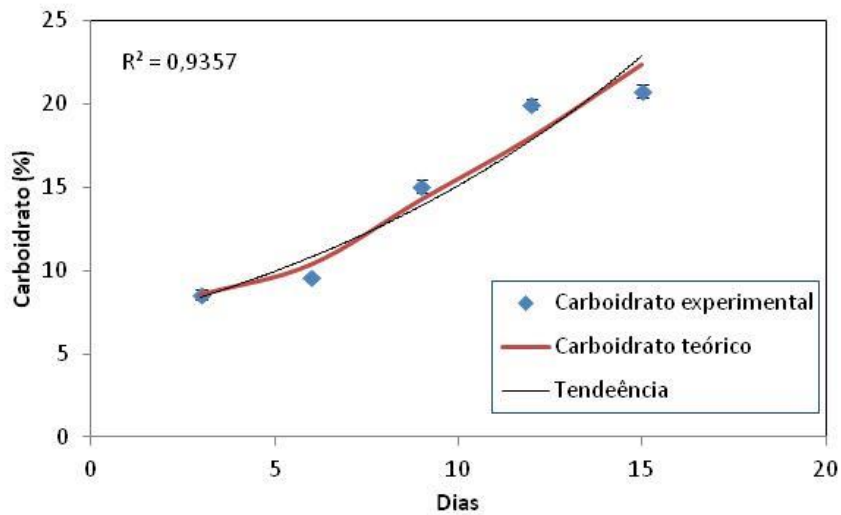


Figura 5. Representação do resultado da modelagem da porcentagem de carboidratos na biomassa coletada.

Finalmente, a porcentagem de proteína contida nas amostras coletadas foi representada pelo modelo conforme mostra a Figura 6. A linha de tendência que melhor se aproxima do comportamento do resultado teórico é a linear com confiabilidade de $R^2 = 0,7491$, portanto indicando que o modelo representou satisfatória capacidade preditiva.

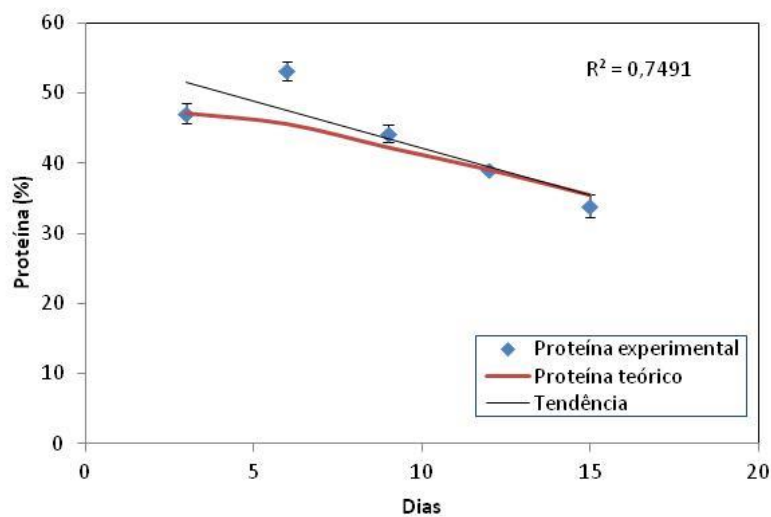


Figura 6. Representação do resultado da modelagem da porcentagem de proteína na biomassa coletada.

4 CONCLUSÃO

Portanto, conforme resultados obtidos, podemos concluir que o modelo matemático proposto neste trabalho representou, de maneira satisfatória, a produção de biomassa, lipídeos, carboidratos e proteínas, nas condições experimentais consideradas. O índice de confiabilidade médio foi de aproximadamente 0,87 indicando elevada capacidade preditiva, podendo ser utilizado como ferramenta no gerenciamento da produção de nutrientes provindos do cultivo de microalgas nas condições propostas. O modelo matemático pode ter sua robustez melhorada com a inclusão de novas situações experimentais, tais como variação na concentração de nitrogênio no meio de cultivo, ou ainda agregar os ciclos de incidência de luz, entre outras.

5 AGRADECIMENTOS

Os resultados experimentais deste trabalho foram obtidos por meio da estrutura disponibilizada no NPDEAS (Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Autossustentável) da Universidade Federal do Paraná, centro especializado no cultivo de microalgas em fotobiorreatores compactos.

6 REFERÊNCIAS

- Association of the Official Analytical Chemistry - AOAC, 1995, "Official and tentative methods of analysis", 16. ed., Arlington, Virginia: AOAC International.
- Bekirogullari, M., Fragkopoulou, I.S., Pittman, J.K., Theodoropoulos, C., 2017, "Production of lipid-based fuels and chemicals from microalgae: Na integrated experimental and model-based optimization study", *Algal Research*, Vol. 23, pp. 78-87.
- Blight, E.G., Dyer, W.J., 1959, "A rapid method for total lipid extraction and purification", *Can. J. Biochem.*, Vol. 37, pp. 911-917.
- Deuchênes, J.S., Wouwer, A.V., 2015, "Dynamic optimization of biomass in continuous cultures of microalgae *Isochrysis galbana* through modulation of the light intensity", *PapersOnline, IFAC*, Vol. 48, No. 8, pp. 1093-1099.
- Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A., Smith, F., 1956, "Colorimetric method for determination of sugars and related substances", *Analytical Chemistry*, Vol. 28, No. 3, pp. 350-356.
- Santos, B., 2016, "Estratégia para aumentar a produtividade de biomassa com carbon orgânico", dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.
- Mairet, F., Bernard, O., Masci, P., Lacour, T., Sciandra, A., 2010, "Modelling lipid production in microalgae", 9th International Symposium on Dynamics and Control of Process System, IFAC, Leuven, Belgium.
- Mairet, F., Bernard, O., Lacour, T., Sciandra, A., 2011, "Modelling microalgae growth in nitrogen limited photobioreactor for estimating biomass, carbohydrate and neutral lipid productivities", *Proceedings of the 18th World Congress, IFAC*, Milano, Italy.
- He, Y., Chen, L., Zhou, Y., Chen, H., Zhou, X., Cai, F., Huang, J., Wang, M., Chen, B., Guo, Z., 2016, "Analysis and model delineation of marine microalgae growth and lipid accumulation in flat-plate photobioreactor", *Biochemical Engineering Journal*, Vol. 111, pp. 108-116.

7 RESPONSABILIDADE AUTORAL

Os autores Fabiana Rosa de Lirio; Priscila Paola Dario; Johana Guadalupe Blanco Martinez, Dhyogo Miléo Taher; Wellington Balmant; José Viriato Coelho Vargas e André Bellin Mariano são os únicos responsáveis pelo conteúdo deste trabalho.

MATHEMATICAL MODELING AND EXPERIMENTAL VALIDATION OF NUTRIENT GENERATION FROM MICROALGAE BIOMASS *Acutodesmus obliquus*

F.R. Lirio, frlirio@hotmail.com¹
 P.P. Dario, priscila_dario@hotmail.com¹
 J.G.B. Martinez, johana0202@hotmail.com¹
 D.M. Taher, dhyogomt@hotmail.com¹
 J.V.C. Vargas, vargasjvcv2@gmail.com¹
 W. Balmant, wbalmant@gmail.com¹

¹Federal University of Paraná, Rua Cel. Francisco Heráclito dos Santos, 100, Npdeas, Centro Politécnico, CEP: 81531-980, Curitiba, Brazil

Abstract. The use of microalgae biomass as a dietary supplement in the human or animal diet has been extensively studied. One of the motivations for the research on the subject is the fact that it is an alternative and natural source, presenting, in most of the species studied, high content of proteins, lipids and carbohydrates. This study presents a proposal of a dynamic mathematical model, based on the mass balance of the cell, aiming to quantify and manage the concentrations of biomass, lipids, proteins and carbohydrates obtained from the biomass of the microalgae *Acutodesmus obliquus*, cultivated in a laboratory scale using like autotrophic CHU medium. The nutritional value of the biomass can vary according to the cultivation conditions, thus, keeping the incidence of light and temperature constant, it was possible to obtain a set of differential equations representative of the flow rates in and out from cell, considering the same conditions for the medium intra and extracellular. The model was validated through experimental data. It presented satisfactory predictive performance and could be used as a management tool at the production of microalgae biomass with high nutritive value.

Keywords: Biomass, *Acutodesmus obliquus*, Modeling, Nutrients