

## DESENVOLVIMENTO DE SENSOR DE DENSIDADE ÓPTICA PARA MONITORAMENTO DE FOTOBIOREATORES

Bruna B. Buffon<sup>1</sup>, Thomás Shulze<sup>2</sup>, Ricardo Laste<sup>3</sup>, Marcelo Farenzena<sup>4</sup>

1. Estudante de IC do Departamento de Engenharia Química da UFRGS

2. Estudante de IT do Departamento de Engenharia Química da UFRGS

3. Graduado do Departamento de Engenharia Química da UFRGS

4. Pesquisador do Departamento de Engenharia Química - UFRGS / Orientador

### Resumo:

O crescente interesse em matérias-primas ditas “sustentáveis”, além do alto teor lipídico, tornam as microalgas um produto proeminente. Entretanto, seu atual cultivo é laborioso e pouco eficiente, visto que não é automatizado e feito de forma batelada. Sendo assim, este trabalho objetiva o desenvolvimento e produção, por meio da plataforma Arduino, de um sensor de densidade ótica, automatizado, de baixo custo, para o monitoramento do cultivo de microalgas *Scenedesmus sp* em fotobiorreatores. Ao longo do estudo dois sensores foram produzidos, baseado na lei de Lambert-Beer. O primeiro era alimentado continuamente por uma bomba peristáltica, o segundo teve a utilização da bomba descartada e conseqüente imersão do sensor para a reposição de amostra. Nos dois casos a plataforma de microprocessamento Arduino foi utilizada, bem como um sensor óptico TSL 2561, uma lâmpada LED azul, uma cubeta plástica e uma tela LCD. O custo final do sensor, utilizando materiais importados, foi inferior a R\$50,00. Com materiais adquiridos no Brasil, o custo subiria, porém se daria inferior a R\$100,00. Quanto aos sensores, o primeiro apresentou R<sup>2</sup> de 0,9699, contudo sua operação era continuamente interrompida graças ao mau funcionamento da bomba e conseqüente sedimentação da microalga dentro da cubeta. O primeiro protótipo podia ainda ser homogeneizado manualmente, mas era em concepção pouco robusto, tornando os dados coletados pouco confiáveis. O segundo sensor apresentou um R<sup>2</sup> de 0,9362, um pouco inferior ao primeiro protótipo, mas muito mais robusto.

**Palavras-chave:** controle de processos; *Scenedesmus sp.*; sensor óptico.

**Apoio financeiro:** FAPERGS.

**Trabalho selecionado para a JNIC pela instituição:** UFRGS.

### Introdução:

Unicelulares e fotossintetizantes, as microalgas são seres microscópicos que se encontram diluídas nos mais diversos meios. O tamanho diminuto, contudo, não reflete o tamanho de seu potencial: com um teor lipídico variando de 10 a 30% de sua massa, as microalgas concentram uma quantidade de óleo superior às oleaginosas normalmente encontradas no mercado. Esse alto teor reflete na possibilidade de aplicação dessa matéria prima na produção de combustíveis, (CHISTI, 2007).

Há uma crescente preocupação com os malefícios dos combustíveis fósseis, por isso a produção de combustíveis renováveis ganha cada vez mais visibilidade. Refletindo, então, no alto teor lipídico e na possibilidade de cultivo em terras não aráveis, as microalgas despontam, com grande potencial, como uma matéria-prima capaz de suprir as necessidades mercadológicas deste tipo de produção, (CHISTI, 2007). Tendo em vista, portanto, o suprimento de uma demanda em escala industrial, a eficiência torna-se um adjetivo fundamental.

Uma produção de biomassa microalgal mais eficiente pode ser advinda de controle e automação dos cultivos, o que não ocorre atualmente, principalmente em situações de pequeno e médio porte, (BENAVIDES *et al.*, 20015). Hoje, neste contexto, cultivos em batelada e controles off-line são a realidade de operação. Além de laborioso e custoso em termos de tempo e recursos, este tipo de controle dos cultivos mostra-se pouco eficiente visto a impossibilidade de otimização do processo (BENAVIDES *et al.*, 20015).

Este trabalho tem por objetivo principal, portanto: o desenvolvimento de um sensor óptico em linha de baixo custo para medição em tempo real de biomassa em fotobiorreatores. Os objetivos secundários são considerados: a validação deste sensor; a utilização deste sensor para o monitoramento da densidade óptica de um cultivo; a implementação de um sistema contínuo regulado por densidade óptica, com o auxílio do sensor on-line.

### Metodologia:

Neste trabalho, foram realizados dois cultivos da microalga *Scenedesmus sp.*, sendo que em cada um deles o protótipo de sensor foi testado e avaliado. A cepa utilizada ao longo dos testes foi fornecida pela UFRGS/DEQUI, em forma de inóculo, mantida a 25 +/- 1 °C. O inóculo foi cultivado ao longo de 14 dias, em

meio Guillard Modificado (RAMIREZ; FARENZENA; TRIERWEILER, 2014), com fotoperíodo de 24 horas e intensidade luminosa de 10.000 lux. Ao longo dos experimentos, pipetas exclusivas a esta cepa foram utilizadas, visando evitar o risco de contaminações. Também com o intuito de evitar contaminações, todos os objetos e soluções passíveis deste método foram autoclavados (20 min, 2 atm). Os fotobiorreatores utilizados, garrafas de água PET comercial de 5 L, foram esterilizados com o auxílio de água sanitária, na proporção de 1 mL/L de água, ao longo de 15 minutos. A neutralização foi feita com tiosulfato de sódio, mantendo as mesmas proporções da água sanitária.

A inoculação dos fotobiorreatores utilizados neste estudo se deu mantendo as características do inóculo, com exceção do tempo de cultivo, que se deu ao longo de 28 dias. Com o intuito de iniciar o experimento com uma densidade óptica no cultivo de 0,1, a densidade óptica do inóculo, a 570 nm, foi medida, com o auxílio de um espectrofotômetro UV-1600 da Pró-Análise.

A conversão da densidade óptica obtida em concentração de microalgas no cultivo, em g/L, pode ser obtida com o auxílio da equação a seguir, com  $R^2 = 0,91$ . A seguinte correlação foi desenvolvida especificamente para uso em microalgas *Scenedesmus sp.*:

$$x = 0,406 * ABS_{570} - 0,0114 \quad (1)$$

onde  $ABS_{570}$  é a densidade óptica do cultivo, medida em um comprimento de onda de 570 nm; e x é a concentração de *Scenedesmus sp.*, em g/L.

O primeiro sensor confeccionado tinha como ideia inicial a simulação de uma câmara escura. Dentro desta câmara, uma cubeta de plástico era alimentada constantemente com o auxílio de uma bomba peristáltica. Perpendicular à cubeta, um LED e um sensor TSL 2561 (Adafruit) foram posicionados em faces opostas e alinhados entre si. O controle do sensor foi realizado com o auxílio de um Arduino Uno e a visualização dos dados pertinentes foi feita com a instalação de uma tela LCD. Os dados foram medidos de minuto a minuto e, além de apresentados em tela, armazenados em um cartão SD.

O segundo sensor sofreu alterações na concepção do protótipo, levando ao descarte da operação constante da bomba peristáltica e conseqüente imersão do sensor. Para que isso fosse possível, todo o aparato eletrônico foi acomodado dentro de um tubo de PVC. Assim como no primeiro protótipo uma cubeta plástica foi inserida com um sensor TSL 2561 e um LED perpendiculares a cubeta. A face superior aberta da cubeta foi posicionada ao fundo do tubo, permitindo a entrada meio apenas neste ponto. Visto que o sensor encontra-se imerso, a renovação de meio dentro da cubeta é constante e não necessita de intervenção mecânica. Para evitar que bolhas de ar ficassem presas a cubeta e as leituras fossem comprometidas, um furo conectado a uma mangueira dava acesso à atmosfera, permitindo a liberação das bolhas pelo sensor.

A implementação do cultivo contínuo se deu por meio da alteração do software do microcontrolador, no segundo protótipo, e da reinserção da bomba peristáltica para a alimentação do cultivo. O cultivo contínuo se deu em volume constante e por estratégia de controle por turbidez, (KIM JEONG, 2017). Ou seja, um limite de obstrução luminosa foi estabelecido, e a medição constante deste aumento resulta na adição de meio de cultivo fresco. Para que o volume do sistema fosse mantido constante, a inserção de cultivo ocasionava um transbordo que era levado para fora do sistema com o auxílio de uma mangueira.

A escolha do LED utilizado nos protótipos foi realizada medindo a resposta de diferentes LED's, emissores de diferentes comprimentos de onda, e verificando a sensibilidade da curva de resposta dos mesmos. Foram testados quatro tipos: amarelo (570 - 590 nm), verde (495 - 570 nm), azul (450 - 495 nm) e vermelho (620 - 750 nm). Para os testes, um esquema parecido ao primeiro protótipo, descrito anteriormente, foi montado, excetuando contudo a bomba peristáltica. A mesma amostra medida pelo conjunto montado tinha a sua absorvância verificada no espectrofotômetro e seus resultados correlacionados.

### Resultados e Discussão:

A seleção do LED a ser utilizado na confecção dos sensores foi realizada comparando as quatro curvas obtidas e avaliando sua sensibilidade à variação da densidade óptica e seu índice de correlação (utilizando interpolação logarítmica). A Figura 1 apresenta as duas melhores curvas, dos LED's de cor azul e vermelha.

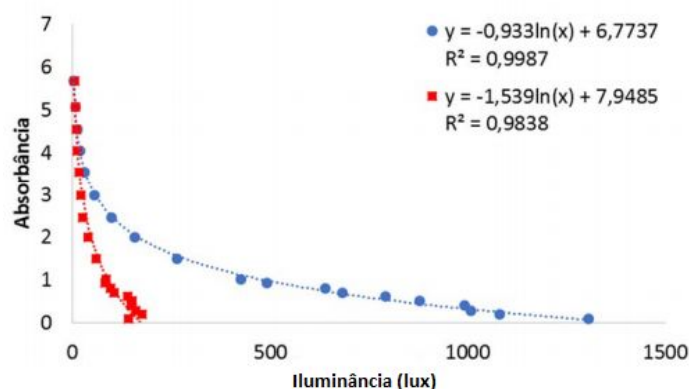


Figura 1: Correlação entre iluminância e absorvância dos LED's azul (círculo) e vermelho (quadrado).

A análise da Figura 1 permite afirmar que as duas cores de luz têm potencial para a medida de densidade óptica em meio de cultivo de *Scenedesmus sp.*. Vale ressaltar que além de um monitoramento mais preciso ao longo do processo, possibilitado pela fabricação do sensor, este tipo de projeto não necessita da diluição da amostra para a obtenção de valores ( $ABS > 1$ ), o que incorre em uma vantagem frente a alguns métodos mais tradicionais de quantificação, inclusive ao espectrofotômetro utilizado. Apesar de as duas curvas apresentarem índice de correlação elevado, o LED azul apresentou maior sensibilidade quanto a variação de absorbância no cultivo, além de mais adequado para a interpolação de valores de iluminância mais elevados, característicos dos primeiros dias de um cultivo. Deste modo, o LED de cor azul foi o selecionado para a confecção do sensor.

Após sua produção, o primeiro protótipo foi testado por 28 dias. Os dados retidos na memória do sensor e a interpolação e índice de correlação do sensor estão apresentados na Figura 2.

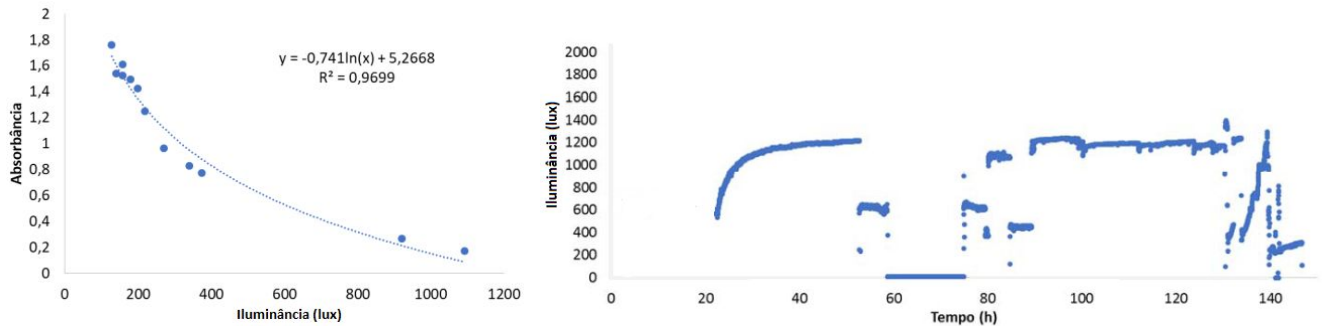


Figura 2: Correlação do protótipo 1 entre a absorbância medida em espectrofotômetro e a iluminância, além do desempenho do protótipo ao longo de 6 dias.

Analisando o gráfico que apresenta os dados de iluminância coletados pelo sensor e relacionados aos valores de densidade óptica medidos no espectrofotômetro, é possível afirmar, com o auxílio da interpolação e grau de correlação obtido ( $R^2 = 0,9699$ ), que o sensor retorna valores confiáveis de absorbância e que a equação empírica obtida é representativa deste sistema. Entretanto, quando é analisado o gráfico que apresenta os dados obtidos ao longo dos primeiros 6 dias de cultivo, é possível perceber uma grande variação dos valores armazenados. As primeiras 20 horas se dão com um desenvolvimento e medições homogêneas do cultivo. Isso muda transcorrido este período, com um declínio vertiginoso da iluminância medida, o que indicaria um aumento mais do que improvável da densidade óptica.

A causa desta variação brusca de valores está atrelada à bomba peristáltica, que interrompia seu funcionamento mesmo em constante alimentação pelo microcontrolador. A parada do bombeamento de meio à cubeta resultava na sedimentação de microalgas dentro da mesma, obstruindo a passagem de luz e invalidando as leituras. Uma homogeneização manual do sensor, por meio de agitação, era capaz de desobstruir a cubeta. Contudo, a constante interrupção de funcionamento da bomba impedia um monitoramento constante do cultivo, invalidando o objetivo desta pesquisa.

Tendo em mente a confecção de um sensor mais robusto e confiável, a bomba peristáltica foi descartada da concepção do mesmo. Conseqüentemente, para que fosse possível a renovação constante de meio de cultivo dentro da cubeta, sem o auxílio da bomba, o sensor foi imerso. A Figura 3 apresenta a relação entre os dados de iluminância coletados e os de absorbância medidos com o auxílio do espectrofotômetro, e também a operação do sensor, em regime contínuo, ao longo de cerca de 3 dias.

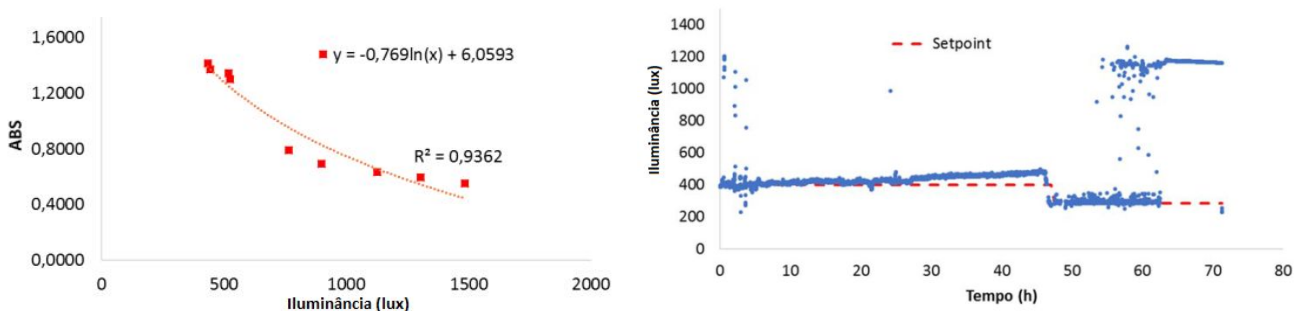


Figura 3: Correlação do protótipo 2 entre a absorbância medida em espectrofotômetro e a iluminância, além do desempenho do protótipo em regime contínuo.

Como pode ser observado, com o auxílio do índice de correlação, o segundo protótipo obteve um índice satisfatório de correlação, superior a 0,9, contudo este é inferior ao obtido no protótipo 1. Isso pode ser atribuído à aderência de bolhas à cubeta, obstruindo a passagem de luz. Além disso, o protótipo 2, apesar da estrutura mais simples e excetuando partes mecânicas, apresentou-se difícil de vedar. Ainda sim, o segundo protótipo se apresentou mais robusto ao longo de sua operação, com poucas falhas e interrupções, como se vê na Figura 3.

Assim sendo, o segundo protótipo, assumido como final, teve custo de confecção inferior a R\$ 50,00. Visto que teve todo o aparato eletrônico utilizado adquirido de revendedores internacionais. Os custos com o

Arduino, o sensor TSL 2561, as lâmpadas LED, os cabos de conexão e o visor LCD somaram cerca de R\$ 35,00, e os custos com tubo e isolamento somaram cerca de R\$ 10,00. Entretanto, uma busca rápida possibilitou afirmar que os custos de adquirir os aparatos eletrônicos no Brasil não tornaria a produção do sensor inacessível, sendo: um Arduino NANO R\$ 25,00, uma tela LCD R\$ 12,00, um sensor TSL 2561 R\$ 21,00, um conjunto de cabos de conexão R\$ 5,00 e um conjunto de lâmpadas LED R\$ 5,00. Totalizando um valor inferior a R\$ 100,00.

### **Conclusões:**

Após realizados os testes, foi possível concluir que tanto os LED de cor vermelha quanto azul são adequados para a produção do sensor, mas que o de cor azul tem uma melhor correlação com altos valores de iluminância, que caracterizam a fase inicial do cultivo, justificando a utilização deste no projeto. A plataforma Arduino, utilizada neste estudo para o controle do sensor, mostrou-se robusta e bem adaptada às funções de monitoramento de um cultivo de *Scenedesmus sp.*, bem como à implementação de um regime de produção contínuo. O regime de produção contínuo, portanto, também foi bem sucedido em grande parte, excetuando o período de obstrução da mangueira de escape da cubeta.

Os sensores produzidos ao longo do trabalho apresentaram índice de correlação satisfatório ( $R^2 > 0,9$ ), significando que a variação de iluminância medida pelo sensor foi satisfatoriamente relacionada à densidade óptica do sistema. Provando, assim, que os sensores confeccionados são capazes de monitorar o cultivo de microalgas e a implementar um regime de produção contínuo. A imersão do sensor, como foi realizada no segundo protótipo, trouxe mais simplicidade e robustez ao sensor, apesar de introduzir o desafio de vedar o mesmo.

Finalmente, os materiais utilizados para a produção do sensor tinham em mente a confecção dos protótipos com o menor custo possível. Com um valor inferior a R\$ 50,00 e atestada sua funcionalidade, é possível concluir afirmativamente quanto a possibilidade de construção de um sensor óptico para o monitoramento e controle de cultivos de *Scenedesmus sp.*

### **Referências bibliográficas**

- BENAVIDES, M. et al. Design and test of a low-cost RGB sensor for online measurement of microalgae concentration within a photo-bioreactor. *Sensors (Switzerland)*, 2015. v. 15, n. 3, p. 4766–4780.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Trends in Biotechnology*, 2008. v. 26, n. 3, p. 126–131.
- KIM, J. H.; JEONG, S. H. A study on the automatic harvest by on-off control for a combined system of continuous culture of microalgae and ultrasonic separation devices. *Journal of Mechanical Science and Technology*, 2017. v. 31, n. 4, p. 1581–1586.
- RAMIREZ, N. N. V.; FARENZENA, M.; TRIERWEILER, J. O. Growth of Microalgae *Scenedesmus sp* in Ethanol Vinasse. 2014. v. 57, n. October, p. 630–635.