

Modelagem matemática das rotas metabólicas de produção de hidrogênio por microalgas .

Orlando Jorquera ^a,
Emerson A. Sales^b,
Maria Ghirardi ^c,
Asher Kiperstok ^d,
Marcelo Embiruçu^e

a,d Depto. Engenharia Ambiental, TECLIM, Universidade Federal da Bahia, Salvador-Bahia Brasil.

b, Instituto de Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador-Bahia, Brasil.

c, National Renewable Energy Laboratory, Golden, Co. USA.

e, Depto. Engenharia Química, Universidade Federal da Bahia, Salvador-Bahia Brasil

Resumo

No presente trabalho são descritas as rotas metabólicas para o processo de produção de hidrogênio sob condições de anaerobioses e em ausência de enxofre no meio de cultura. As rotas metabólicas descritas foram modeladas matematicamente usando o sistema S como base na formulação das equações. Os resultados do modelo do processo, deram uma geração transiente de oxigênio na fase inicial diminuindo a zero e começando a geração de hidrogênio chegando este a um estado estacionário depois de 100 horas. Esses resultados indicam um comportamento dinâmico similar aos resultados experimentais descritos na literatura para o processo de produção de hidrogênio por microalgas.

Abstract

In the present work are described the metabolic pathway for the process of hydrogen production under anaerobic conditions and in sulphur deprivation in the culture medium. The described metabolic pathway had been modeled mathematically using S-system as base in the formularization of the equations. The results of the model of the process, had given a transient generation of oxygen in the initial phase diminishing the zero and starting the hydrogen generation arriving this at a stationary state after 100 hours. These results indicate a similar dynamic behavior to the described experimental results in literature for the process of hydrogen production for microalgae.

Palavras chaves. Rotas metabólicas, hidrogênio, microalgas, modelo matemático

Correspondencia .

E-mail: ojorquer24@yahoo.com, Tel: 55-71-32839459; Fax: 55-71-32839892

1.Introdução

A poluição ambiental está alterando significativamente a vida na terra, acelerando as mudanças climáticas, como o aquecimento global e agravando uma ampla gama de problemas na saúde pública. Dentre os combustíveis alternativos (biodiesel, etanol, metanol, eletricidade, LPG, energia solar) o hidrogênio tem um rol importante no desenvolvimento sustentável. O gás hidrogênio oferece grandes vantagens por: ser renovável, ter uma combustão limpa (só gera água como resíduo), uma grande relação energia peso e simplicidade de conversão em energia elétrica para atendimento as demandas instantâneas, mediante células de combustível sem combustão ou poluição.

Dentre as diferentes formas de produzir hidrogênio a via biofotolítica oferece uma grande vantagem já que o processo consome CO₂, e gera hidrogênio usando diretamente energia solar.

Pesquisadores da Universidade de Califórnia, Berkeley e o Laboratório Nacional de Energia Renovável (NREL) descobriram uma via fisiológica para manipular cultivos de algas para produzir hidrogênio sem a necessidade de remover o oxigênio (inibidor irreversível da hidrogenase). Sob condições de limitação de nutrientes, especificamente num meio livre de enxofre (como sulfato) e em condições anaeróbicas algumas microalgas como *Chlamydomonas reinhardtii* podem produzir hidrogênio de maneira constante no tempo. [1,2,3,5,6,7,8,9]. O procedimento foi baseado no efeito seletivo da privação de sulfato do meio de cultivo e a produção de oxigênio sem alterar as funções celulares. Essa demonstração despertou o interesse em produção de hidrogênio por algas como um possível meio no futuro para produzir gás hidrogênio em forma comercial [2].

Dito processo biológico se caracteriza por ter uma grande quantidade de componentes, grande numero de processos não lineares e câmbios quantitativos nos parâmetros causam câmbios quantitativos na sua resposta. A teoria de sistemas bioquímicos permite uma formulação para esse tipo de sistemas complexos. No sistema-S, o cambio em cada componente do sistema é descrito como uma diferencia entre dois termos, um descreve todos os aportes que aumentam a variável e ou outro descreve todos os aportes que diminuem a variável [10].

$$\frac{d\chi_i}{dt} = \alpha_i \prod_{j=1}^{n+m} \chi_j^{g_{ij}} - \beta_i \prod_{j=1}^{n+m} \chi_j^{h_{ij}} \quad (2)$$

Cada termo é representado como o produto de uma função de potencia e contem as variável que tem efeitos diretos, outros sem efeitos tem expoente zero. Com α_1 , β_1 como constantes cinéticas e g_{ij} , h_{ij} a ordem da reação.

2. Objetivos

O objetivo deste trabalho é fazer uma descrição das rotas metabólicas que estão relacionadas com fotossínteses oxigênica normal e produção de hidrogênio em condições anaeróbicas, modelando-as matematicamente utilizando o sistema-S.

3. Metodologia

3.1 Modelo das rotas metabólicas para produção de hidrogênio.

O modelo das rotas metabólicas foi montado seguindo os fluxos descritos na literatura para fotossínteses em condições anaeróbica (<http://www.genome.jp/kegg/pathway.html>), adaptado segundo a experiência pessoal da Dra Maria Ghirardi, para o processo de produção de hidrogênio sob condições de conteúdo de enxofre limitante no meio de cultura.

3.2 Modelo matemático.

O modelo matemático das redes metabólicas de fotossínteses oxigênica e de geração de hidrogênio foi baseado no modelo descrito por Savageau (1969,1970) usando sistema-S.

O curso temporal das equações descritas foi estimado temporalmente usando o programa plas® (<http://www.dqb.fc.ul.pt/docentes/aferreira/plas.html>).

4. Resultados

4.1 Rotas metabólicas que descrevem o processo de produção de hidrogênio por microalgas

O processo metabólico de geração de hidrogênio por microalgas é representado na figura 1. A maquinaria fotossintética encontrada na membrana dos tilacoides consiste de uma série de proteínas e compostos que transportam os elétrons desde a água até as moléculas como nicotinamida adenina bifosfato (NADPH) e Hidrogênio (H₂). As proteínas encontradas sob condições aeróbicas são: Foto sistema II (PSII); Complexo b6f (Cyt b6f); Foto sistema I (PSI); Ferredoxine (Fd); NADPH reductase (FNR); Transportadores associados como: Plastoquinone (Q); Plastocianina (PC); Pigmentos: Clorofila a (PSII) e b (PSI).

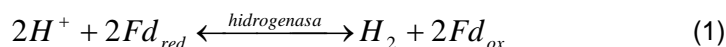
O centro de reação da clorofila b, que capta os fótons e gera uma transferência de energia ao PSII. A energia da luz absorvida é liberada como um elétron desde o PSII a um receptor de elétrons (plastiquinona, Q). Esta proteína aceita um segundo elétron liberado pelo PSII seguido de um segundo fóton de luz, agregando dois prótons desde o estroma (QH₂). O complexo que produz oxigênio no PSII remove os elétrons da água um de cada vez e os transfere ao PSII restaurando o centro de reação da clorofila a um estágio basal e gerando oxigênio. Os prótons resultantes da dissociação da água ficam no lúmen contribuindo a força eletromotriz.

A QH₂ difunde através da membrana até o citocromo b6f onde este simultaneamente libera dois elétrons a um lugar próximo do lúmen e seus dois prótons dentro do lúmen. Os elétrons podem ser transportados através do complexo b6f durante um ciclo da Q, transportando prótons adicionais através da membrana ao lúmen tilacoidal.

Enquanto ao PSI, cada elétron liberado depois da absorção de luz, é transportado por uma série de transportadores desde o centro de reação até a superfície do estroma onde a ferredoxine solúvel (proteína F_s-S) transfere os elétrons ao FAD e finalmente ao NADP⁺. Dois elétrons com um próton removido desde o estroma convertem NADP⁺ a NADPH. O PSI é restaurado a sua condição original pela adição de um elétron desde o PSII via plastocianina (Lodish, H., et.al., 2000; Akkerman, I., et.al., 2002, Antal, T.K. et.al., 2003).

Em condições aeróbicas, parte do fluxo de elétrons é utilizado para gerar poder redutor expressado na molécula do NADPH que é usado no microorganismo para fixar CO₂ com a consequente produção de carboidratos e biomassa. Simultaneamente o transporte de elétrons permite o fluxo através da membrana tilacoidal de prótons que posteriormente são utilizados por uma ATP-asa gerando ATP (mediante o gradiente eletroquímico gerado pelos prótons) utilizado para transfosforilações de outras proteínas.

Sob condições anaeróbicas se expressa uma enzima chamada hidrogenase que se une a ferredoxine para catalisar a conversão de dois prótons (2H⁺) a hidrogênio gasoso (H₂) (reação 1).



O fotosistema considerado no modelo consiste de PSII, PQ (conformado pela plastoquinona e pelo citocromo b6f) e PSI. Os aceptores finais dos elétrons são a FNR e H₂ase. Os níveis de expressão da H₂ase é indicado via expressão da H₂ase modulado em forma negativa pela concentração de oxigênio. O oxigênio produzido inicialmente é consumido pela mitocôndria gerando H₂O e é função da concentração de amido e acetato no meio, este ultimo gerado mediante fermentação do amido

oxidado sendo regulado pela concentração de oxigênio. O gradiente de prótons movimenta a produção de ATP mediante a ATPase sendo consumida por “outros consumidores”. No modelo um fator de competência pelos elétrons forma parte da geração de NADPH e hidrogênio. A produção de hidrogênio é modulada pelo nível de expressão que no final é controlado pelo oxigênio presente no sistema.

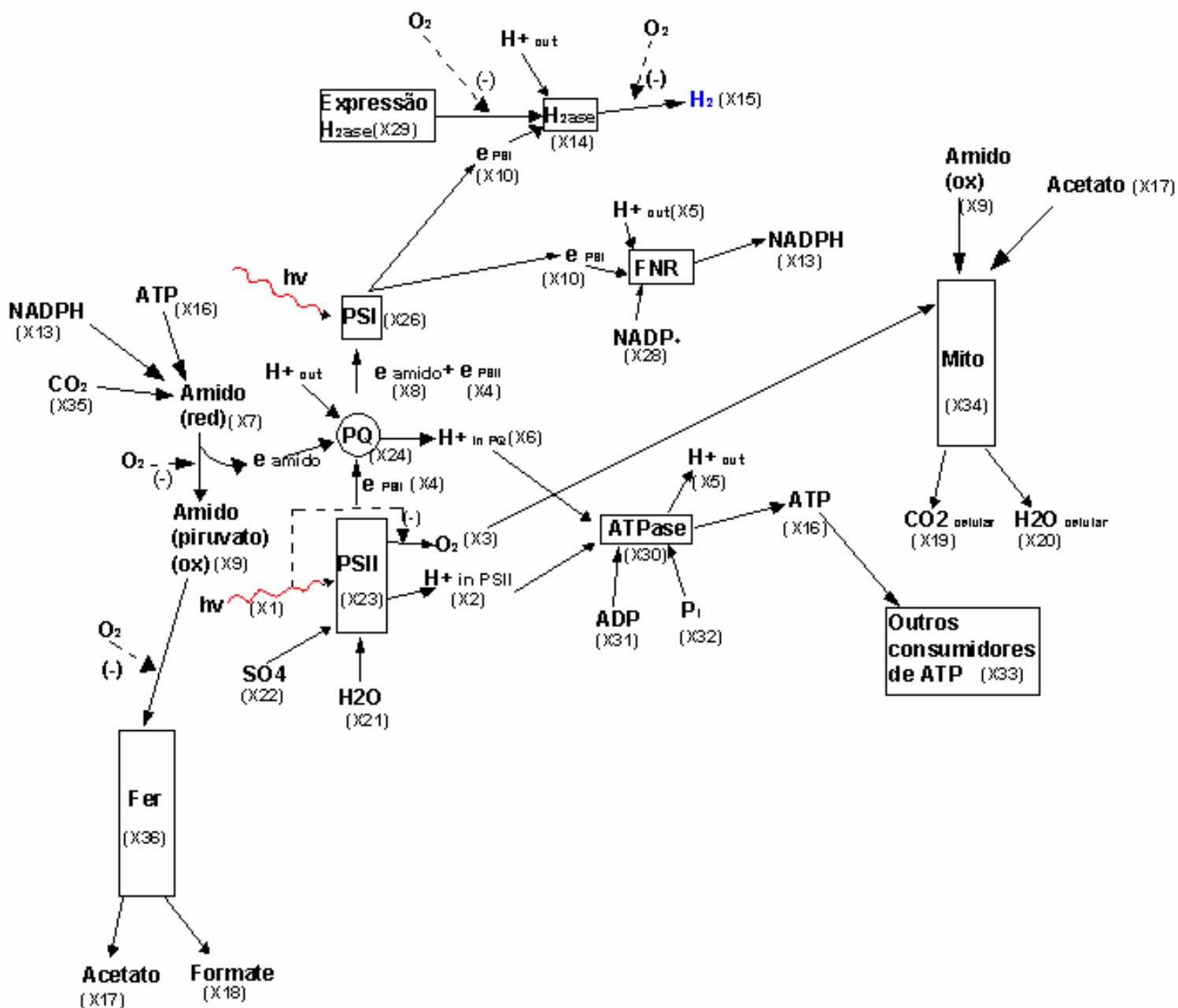


Figura 1: Representação esquemática do processo de geração de hidrogênio mediante microalgas em condições anaeróbicas e em ausência de enxofre. PSII: fotosistema II; PSI: fotosistema I; PQ: plastoquinona; PC: plastocianina; Cytb6f: citocromo b6f; NADPH: ; NADP: ; FNR: ; H2: hidrogênio; O2: oxigênio; H2ase: hidrogenase; Mit: mitocondria;

4.2 Modelo matemático das rotas metabólicas fase anaeróbica

O processo de geração de hidrogênio por microalgas segundo as rotas metabólicas descritas pode ser modelado com 18 equações diferenciais que considera como parâmetros 34 constantes cinéticas e 71 ordem de reação.

$$X_2^* = \alpha_2 X_{21}^{g221} X_{23}^{g223} X_1^{g21} - \beta_2 X_2^{h22} X_{30}^{h230} X_1^{h21} \quad (3)$$

$$X_3^* = \alpha_3 X_{21}^{g321} X_{23}^{g323} X_1^{g31} - \beta_3 X_3^{h33} X_{34}^{h334} X_1^{h31} \quad (4)$$

$$X_4^* = \alpha_4 X_1^{g41} X_{23}^{g423} - \beta_4 X_4^{h44} X_{26}^{h426} \quad (5)$$

$$X_6^* = \alpha_6 X_4^{g64} X_8^{g68} X_5^{g65} - \beta_6 X_6^{h66} X_{30}^{h630} \quad (6)$$

$$X_7^* = \alpha_7 X_{13}^{g713} X_{16}^{g716} X_{35}^{g735} - \beta_7 X_7^{h77} X_9^{h79} \quad (7)$$

$$X_8^* = \alpha_8 X_7^{g87} - \beta_9 X_8^{h88} X_{26}^{h826} \quad (8)$$

$$X_9^* = \alpha_9 X_7^{g97} X_3^{g93} - \beta_9 X_9^{h99} X_{36}^{h936} X_{34}^{h934} \quad (9)$$

$$X_{10}^* = \alpha_{10} X_1^{g101} X_{26}^{g1026} X_4^{g104} X_8^{g108} - \beta_{10} X_{10}^{h1010} X_{11}^{h1011} X_{14}^{h1014} \quad (10)$$

$$X_{13}^* = \alpha_{13} X_5^{g135} X_{28}^{g1328} X_{10}^{g1310} - \beta_{13} X_{13}^{h1313} \quad (11)$$

$$X_{14}^* = \alpha_{14} X_{29}^{g1429} X_3^{g143} - \beta_{14} X_{14}^{h1414} \quad (12)$$

$$X_{15}^* = \alpha_{15} X_{14}^{g1514} X_5^{g155} X_{10}^{g1510} X_3^{g153} - \beta_{15} X_{15}^{h1515} \quad (13)$$

$$X_{16}^* = \alpha_{16} X_6^{g166} X_2^{g162} X_{31}^{g1631} X_{32}^{g1632} - \beta_{16} X_{16}^{h1616} X_{33}^{h1633} \quad (14)$$

$$X_{17}^* = \alpha_{17} X_{36}^{g1736} X_3^{g173} - \beta_{17} X_{17}^{h1717} X_{34}^{h1734} \quad (15)$$

$$X_{18}^* = \alpha_{18} X_{36}^{g1836} X_3^{g183} - \beta_{18} X_{18}^{h1818} \quad (16)$$

$$X_{19}^* = \alpha_{19} X_9^{g199} X_3^{g193} - \beta_{19} X_{19}^{h1919} \quad (17)$$

$$X_{23}^* = \alpha_{23} X_1^{g231} - \beta_{23} X_{23}^{h2323} X_{22}^{h2322} \quad (18)$$

$$X_{26}^* = \alpha_{26} X_1^{g261} - \beta_6 X_{26}^{h2626} \quad (19)$$

O curso temporal da produção de oxigênio e hidrogênio do modelo descrito esta representado na figura 2. Pode se observar um aumento transiente no oxigênio na primeira fase do tempo diminuindo a zero onde é ativada a hidrogenase começando a produzir hidrogênio em forma constante chegando a um estado estacionário depois de 100 horas.

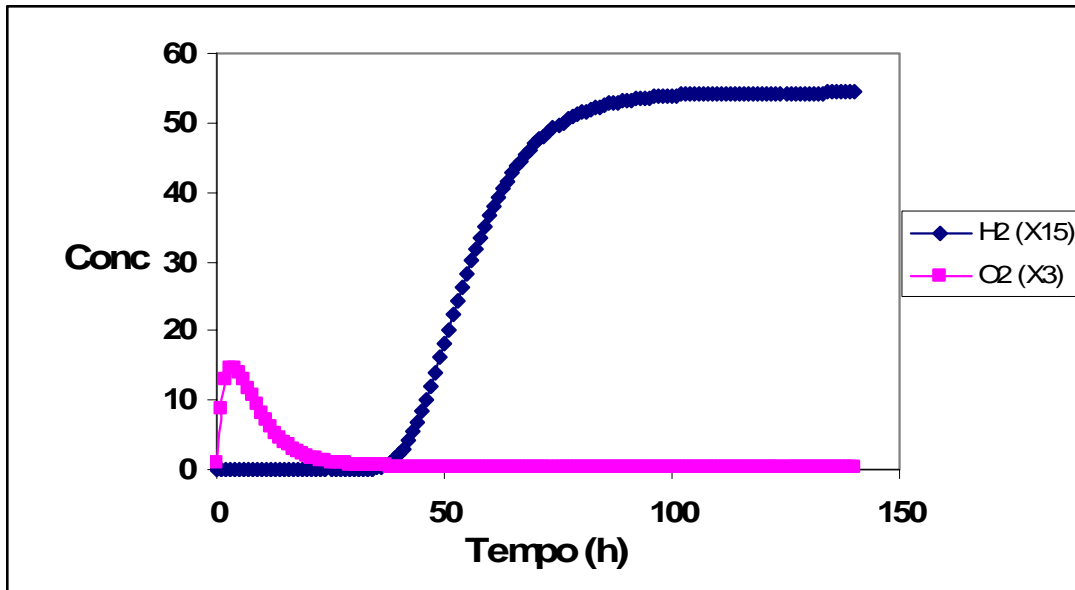


Figura 2: Gráfica que amostra o curso temporal na produção de oxigênio e hidrogênio sob restrições como anaerobioses e limitação de enxofre.

6. Discussão

Na figura 4 pode-se observar a tendência de produção de oxigênio e hidrogênio, resultados que são similares aos descritos na literatura [4]. O oxigênio nas primeiras horas aumenta produto da dissociação da água pelo PSII, a produção é pequena devido a falta do enxofre. Depois o oxigênio diminui até chegar a um valor quase zero produto da respiração pela mitocôndria. Quando o oxigênio chega a zero a hidrogenase não pode ser inibida expressando-se e começando a produzir hidrogênio de forma constante.

A elaboração de modelos metabólicos e matemáticos é de grande importância já que permite prever o comportamento ou tendência das variáveis em estudo frente a câmbios nos parâmetros. No caso da produção de hidrogênio, uns dos principais problemas enfrentados nos modelos descritos é a estimação de parâmetros. Como não se dispõe de dados experimentais para todas as variáveis dependentes sua estimação se faz dificultosa. No sistema estudado foram ajustados os parâmetros dentro das faixas descritas na literatura para processos biológicos. No caso do modelo apresentado a faixa das ordens de reação foi considerada entre -2 e 2 e para as constantes cinéticas de 0 -10.

Em futuros trabalhos serão feitos análises de sensibilidade dos parâmetros e estimação deles mediante algoritmos adequados que comparem os resultados experimentais com os teóricos.

7. Conclusões

O modelo apresentado descreve a produção de hidrogênio segundo as rotas metabólicas descritas. O modelo segue a conduta dinâmica descrita na literatura para o processo de produção de hidrogênio.

Referencias

- [1] Fedorov A.S., Kosourov S., Ghirardi M.L. , And Seibert M., **Continuous Hydrogen Photoproduction by *Chlamydomonas reinhardtii* Using a Novel Two-Stage, Sulfate-Limited Chemostat System**, Applied Biochemistry and Biotechnology v 403;p 121–124;2005
- [2] Ghirardi M.L., **Renewable Hydrogen from Green Algae**, BioCycle, v 45;p 59; 2004
- [3] Ghirardi M.L., Zhang L.,Lee J.W., **Microalgae: a green source of renewable H₂**, TIBTECH, v 18; p 506-511;2000.
- [4] Kosourov S., Tsygankov A., Seibert M., Ghirardi M.L., **Sustained Hydrogen Photoproduction by *Chlamydomonas reinhardtii*: Effects of Culture Parameters**, Biotechnol Bioeng, v 78; p 731-740, 2002.
- [5] Laurinavichene T.V., Tolstygina I., Tsygankov.A., **The effect of light intensity on hydrogen production by sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii***, Journal of Biotechnology v 114;p 143–151; , 2004
- [6] Laurinavichene T.V., Fedorov A., Ghirardi M., Seibert M., Tsygankov A., **Demonstration of sustained hydrogen photoproduction by immobilized, sulfur-deprived *Chlamydomonas reinhardtii* cells**, International Journal of Hydrogen Energy, v 31; n 5; p 659-667; 2006.
- [7] Melis A., **Green alga hydrogen production: progress, challenges and prospects**, International Journal of Hydrogen Energy, v 27; p 1217– 1228; 2002.
- [8] Melis A., and Thomas Happe, **Hydrogen Production. Green Algae as a Source of Energy**, Plant Physiology, v 127; p 740-748; 2001.
- [9] Melis A., Zhang L., Forestier M., Ghirardi M.L., and Seibert M., **Sustained Photobiological Hydrogen Gas Production upon Reversible Inactivation of Oxygen Evolution in the Green Alga *Chlamydomonas reinhardtii***, Plant Physiology, v122; p 127-135; 2000.
- [10] Savageau, M.A. Biochemical Systems Analysis: A Study of Function and Design in Molecular Biology. Reading, MA: Addison-Wesley, 1976.