

BIOPROCESSOS PARA REMOÇÃO DE DIÓXIDO DE CARBONO E ÓXIDO DE NITROGÊNIO POR MICROALGAS VISANDO A UTILIZAÇÃO DE GASES GERADOS DURANTE A COMBUSTÃO DO CARVÃO

Michele Greque de Moraes e Jorge Alberto Vieira Costa*

Departamento de Química, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, CP 474, 96201-900 Rio Grande – RS, Brasil

Recebido em 19/3/07; aceito em 11/10/07; publicado na web em 9/4/08

BIOPROCESSES FOR REMOVAL OF CARBON DIOXIDE AND NITROGEN OXIDE BY MICROALGAE FOR THE UTILIZATION OF GAS GENERATED DURING COAL BURNING. The aim of this work was to study the removal of CO₂ and NO by microalgae and to evaluate the kinetic characteristics of the cultures. *Spirulina* sp. showed μ_{max} and X_{max} (0.11 d⁻¹, 1.11 g L⁻¹ d⁻¹) when treated with CO₂ and NaNO₃. The maximum CO₂ removal was 22.97% for *S. obliquus* treated with KNO₃ and atmospheric CO₂. The *S. obliquus* showed maximum NO removal (21.30%) when treated with NO and CO₂. Coupling the cultivation of these microalgae with the removal of CO₂ and NO has the potential not only to reduce the costs of culture media but also to offset carbon and nitrogen emissions.

Keywords: air pollution; biofixation; microalgae.

INTRODUÇÃO

O carvão mineral é o mais abundante dos combustíveis fósseis, com reservas mundiais estimadas em 1 trilhão de t, o suficiente para atender à demanda atual por mais de 200 anos. No Brasil, as principais reservas de carvão mineral estão localizadas no Sul do País, em especial no Rio Grande do Sul, que detém mais de 90% das reservas nacionais. No final de 2002, as reservas nacionais de carvão estavam em torno de 12 bilhões de t, o que corresponde a mais de 50% das reservas sul-americanas e a 1,2% das reservas mundiais.¹

No Rio Grande do Sul a queima de combustíveis fósseis, principalmente carvão, está entre as fontes industriais que têm provocado alterações da qualidade ambiental em determinadas áreas, como ocorre na região de Candiota, localizada ao sudoeste do Estado. No entanto, a viabilidade da utilização do carvão está vinculada à redução das emissões de gases originados de sua queima, como o dióxido de carbono (CO₂) e os óxidos de enxofre (SO_x) e nitrogênio (NO_x).

Os níveis de CO₂ na atmosfera aumentaram de 260 a 380 ppm nos últimos 100 anos,² principalmente devido à queima de combustíveis fósseis associada ao aumento da população e industrialização.³ As alterações climáticas geradas pela emissão de gases responsáveis pelo efeito estufa, como o CO₂, podem causar impactos desastrosos, como a redução da produção agrícola, alteração no suprimento de água doce, extinção de espécies, tempestades e enchentes.

As emissões de NO_x no mundo são de 10 milhões de t por ano, provenientes de fontes naturais e 40 milhões de t por ano de fontes antropogênicas oriundas principalmente dos processos de combustão.⁴ O óxido de nitrogênio (NO) é o maior constituinte do NO_x em gases de combustão. O NO emitido na atmosfera é lentamente oxidado a NO₂ no ar, resultando na chuva ácida. A quebra do equilíbrio do ecossistema natural causa acidificação do solo e da água e, conseqüentemente, alterações na biodiversidade.⁵

Globalmente, poucas alternativas viáveis têm sido apresentadas para redução da emissão de CO₂ por parte das termelétricas, passando pela injeção deste gás no mar, ou em minas de carvão e poços de petróleo desativados. As pesquisas para redução de emis-

sões de NO têm sido conduzidas no sentido de substituir os processos de combustão atualmente utilizados, como a combustão em leito fluidizado, gaseificação integrada a ciclos combinados e uso de turbina a gás.¹

Os microrganismos fotossintéticos, em especial as microalgas, têm sido utilizados no seqüestro e assimilação do dióxido de carbono. As fontes de nutrientes como carbono e nitrogênio no cultivo de microalgas representam importantes componentes, de modo que reduzir a quantidade de meio inorgânico, sem perder em produtividade, pode ser um artifício para minimizar custos de produção.⁶ A remoção de CO₂ e NO por microalgas pode ser um dos mais eficientes processos de redução desses gases, sem a necessidade de mudanças radicais na matriz energética mundial e nas atividades produtivas.

O objetivo deste trabalho foi verificar a capacidade de remoção de dióxido de carbono e óxido de nitrogênio por microalgas, bem como avaliar as características cinéticas dos cultivos.

PARTE EXPERIMENTAL

Microrganismos e meios de cultivo

Os microrganismos utilizados foram as microalgas *Spirulina* sp. cepa LEB 18 e *Scenedesmus obliquus* cepa LEB 22.⁷ O meio utilizado para preparação e manutenção do inóculo de *Spirulina* sp. utilizado nos ensaios sem NO e CO₂ foi meio Zarrouk original,⁸ contendo (g L⁻¹): NaHCO₃, 16,8; NaNO₃, 2,5; K₂HPO₄, 0,5; K₂SO₄, 1,0; NaCl, 1,0; Mg.SO₄.7H₂O, 0,2; CaCl₂, 0,04; FeSO₄.7H₂O, 0,01; EDTA, 0,08 e micronutrientes. Nos ensaios com adição de NO e CO₂ o inóculo foi aclimatado por 7 dias em ar misturado a NO e CO₂ em Zarrouk modificado⁹ sem fonte original de nitrogênio (NaNO₃) e carbono (NaHCO₃).

Para preparação e manutenção do inóculo da microalga *Scenedesmus obliquus* utilizado nos ensaios sem adição de NO e CO₂ utilizou-se meio MC original,¹⁰ contendo (g L⁻¹): KNO₃, 1,25; MgSO₄.7H₂O, 1,25; KH₂PO₄, 1,25; FeSO₄.7H₂O, 0,02 e micronutrientes. Nos ensaios com adição de NO e CO₂ o inóculo foi aclimatado por 7 dias em ar misturado a NO e CO₂ em MC modificado sem a fonte original de nitrogênio (KNO₃).

*e-mail: jorgealbertovc@terra.com.br

Condições de cultivo e planejamento experimental

As microalgas foram cultivadas em fotobiorreatores do tipo erlenmeyer de 2,0 L com volume útil de 1,8 L. A aeração foi realizada misturando ar comprimido ao CO₂ e NO através de um cilindro industrial (White Martins - Brasil) com vazão de 0,3 vvm, contendo 6% de CO₂ (v/v) e 100 ppm de NO (v/v). Os gases foram adicionados aos cultivos por 15 min, a cada 2 h, durante o período claro.⁹ A iluminação foi 3200 Lux fornecida por lâmpadas fluorescentes tipo luz do dia (General Eletric, 40 W). Os cultivos com duração de 20 dias tiveram concentração inicial de biomassa 0,15 g L⁻¹. O aparato experimental foi mantido em câmara termostatizada a 35 °C com ciclos de claro/escuro alternando-se a cada 12 h.¹¹

Para avaliação dos cultivos foi aplicado um planejamento fatorial completo 2² para cada microalga em duplicata¹² (Tabela 1). As variáveis estudadas foram a fonte de carbono (X₁; dióxido de carbono e fonte de carbono do meio de cultivo original de cada microalga) e a fonte de nitrogênio (X₂; óxido de nitrogênio e fonte de nitrogênio do meio de cultivo original de cada microalga) e as respostas avaliadas foram as velocidades específicas máximas de crescimento (μ_{\max} , d⁻¹), concentração celular máxima (X_{max}, g L⁻¹), produtividades máximas (P_{max}, g L⁻¹ d⁻¹), acúmulo de carbono removido (RAC, g), remoção média de carbono (RC, g g⁻¹), acúmulo de nitrogênio removido (RAN, g) e remoção média de nitrogênio (RN, g g⁻¹).

Tabela 1. Níveis reais e codificados das variáveis estudadas no planejamento fatorial completo 2² para *Spirulina* sp. e *Scenedesmus obliquus*

Ensaio	Fonte C	Fonte N	X ₁	X ₂
<i>Spirulina</i> sp.				
1	NaHCO ₃	NaNO ₃	-1	-1
2	6% CO ₂	NaNO ₃	+1	-1
3	NaHCO ₃	NO	-1	+1
4	6% CO ₂	NO	+1	+1
<i>Scenedesmus obliquus</i>				
5	0,038% CO ₂	KNO ₃	-1	-1
6	6% CO ₂	KNO ₃	+1	-1
7	0,038% CO ₂	NO	-1	+1
8	6% CO ₂	NO	+1	+1

NaHCO₃: 16,8 g L⁻¹ original do meio de cultivo; NaNO₃: 2,5 g L⁻¹ original do meio de cultivo; 0,038% de CO₂: original do ar atmosférico; KNO₃: 1,25 g L⁻¹ original do meio de cultivo; X₁: fonte de carbono; X₂: fonte de nitrogênio.

Respostas estudadas

Os valores da concentração celular foram usados para calcular as velocidades específicas máximas de crescimento (μ_{\max} , d⁻¹), concentração celular máxima (X_{max}, g L⁻¹) e produtividades máximas (P_{max}, g L⁻¹ d⁻¹). A velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max} , d⁻¹) foi calculada pela regressão exponencial da fase logarítmica da curva de crescimento celular. A concentração celular máxima é o máximo valor de concentração obtido. A produtividade (P, g L⁻¹ d⁻¹) foi obtida segundo a equação $P = (X_t - X_0) \cdot (t - t_0)^{-1}$, onde X_t é a concentração celular (g L⁻¹) no tempo t (d) e X₀ (g L⁻¹) a concentração celular no tempo t₀ (d).¹³ P_{max} é o máximo valor de produtividade encontrado ao longo do cultivo.¹⁴

Para os cálculos de remoção de carbono utilizaram-se os valores de concentração de carbono na biomassa de cada microalga

obtidos na análise de CHNS. O acúmulo de carbono removido (RAC, g) foi determinado segundo a equação $RAC = (X_t - X_0) \cdot m_{CBM} \cdot V_{FBR} \cdot (m_{FCU} \cdot m_C^{-1})$, onde X_t (g L⁻¹) é a concentração celular no tempo t (d), X₀ (g L⁻¹) a concentração celular no tempo t₀, m_{CBM} (g g⁻¹) é a fração mássica de carbono determinada na biomassa microalgal, V_{FBR} (L) é o volume de meio no fotobiorreator, m_{FCU} (g mol⁻¹) é a massa molar da fonte de carbono utilizada e m_C (g mol⁻¹) é a massa molar do carbono.

A remoção média de carbono (RC, g g⁻¹) foi determinada pela equação $RC = (RAC_{(t+1)} - RAC_1) \cdot [m_{cid} \cdot (t+1)^{-1}]^{-1}$, onde RAC₁ é o acúmulo de carbono removido no tempo t+1 (d), RAC₁ é o acúmulo de carbono no tempo t = 1 d, m_{cid} (g) é a massa de carbono injetada diariamente no tempo t+1 (d).

Para os cálculos de remoção de nitrogênio utilizaram-se os valores de concentração de nitrogênio na biomassa de cada microalga, obtidos através de análise de CHNS. O acúmulo de nitrogênio removido (RAN, g) foi determinado segundo a equação $RAN = (X_t - X_0) \cdot m_{NBM} \cdot V_{FBR} \cdot (m_{FNU} \cdot m_N^{-1})$, onde X_t (g L⁻¹) é a concentração celular no tempo t (d), X₀ (g L⁻¹) a concentração celular no tempo t₀, m_{NBM} (g g⁻¹) é a fração mássica de nitrogênio determinada na biomassa microalgal, V_{FBR} (L) é o volume de meio no fotobiorreator, m_{FNU} (g mol⁻¹) é a massa molar da fonte de nitrogênio utilizada e m_N (g mol⁻¹) é a massa molar do nitrogênio.

A remoção média de nitrogênio (RN, g g⁻¹) foi determinada pela equação $RN = (RAN_{(t+1)} - RAN_1) \cdot [m_{mid} \cdot (t+1)^{-1}]^{-1}$, onde RAN₁ é o acúmulo de nitrogênio removido no tempo t+1 (d), RAN₁ é o acúmulo de nitrogênio no tempo t = 1 d, m_{mid} (g) é a massa de nitrogênio injetada diariamente no tempo t+1 (d).

Determinações analíticas

A cada 24 h coletaram-se amostras assepticamente para acompanhamento da concentração celular, calculada através da medida da densidade ótica a 670 nm¹¹ em espectrofotômetro (Femto 700 Plus, Brasil), que foi comparada com curva de calibração relacionando densidade ótica e peso seco de biomassa para cada microalga.¹¹

Determinações de carbono e nitrogênio foram realizadas em analisador elementar CHNS (Perkin Elmer 2400) e os resultados foram utilizados para os cálculos de remoção de carbono e nitrogênio. A calibração do equipamento foi realizada utilizando o padrão de cistina certificado (Perkin Elmer, USA).

Análise estatística

Os resultados obtidos a partir do planejamento experimental fatorial completo 2² para cada microalga foram avaliados através de Análise de Variância (ANOVA) e Efeitos de Interação. Também foi realizado teste de Tukey para comparação de médias dos parâmetros cinéticos, remoção de CO₂ e NO das duplicatas dos ensaios com nível de significância de 90% (p ≤ 0,10).¹²

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Tabela 2 e Figuras 1, 2 e 3 apresentam as respostas cinéticas e de remoção de carbono e nitrogênio dos cultivos realizados.

As microalgas *Spirulina* sp. e *S. obliquus* não apresentaram diferença significativa quanto à velocidade específica máxima de crescimento. Os valores superiores de velocidade específica máxima de crescimento alcançado pelas microalgas *Spirulina* sp. e *S. obliquus* foram 0,11 e 0,10 d⁻¹, respectivamente. Segundo Moraes e Costa,⁹ a microalga *Spirulina* sp. cultivada com 6% de CO₂ em fotobiorreator tubular vertical obteve velocidade específica máxima de crescimento de 0,18 d⁻¹.

Tabela 2. Concentração celular máxima (X_{\max} , g L⁻¹), produtividade máxima (P_{\max} , g L⁻¹ d⁻¹), velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max} , d⁻¹), remoção média de carbono (RC, %) e remoção média de nitrogênio (RN, %) para *Spirulina* sp. e *Scenedesmus obliquus* cultivadas durante 20 d segundo o planejamento fatorial completo 2²

Ensaio	X_{\max}	P_{\max}	μ_{\max}		
				RC	RN
<i>Spirulina</i> sp.					
1	1,00±0,14	0,05±0,05	0,08±0,01	9,54±1,53	14,00±2,19
2	1,11±0,14	0,06±0,01	0,11±0,02	2,67±0,51	23,40±3,76
3	0,96±0,13	0,05±0,00	0,08±0,01	10,55±1,76	15,93±4,21
4	1,02±0,17	0,05±0,01	0,09±0,03	2,10±0,99	17,55±0,82
<i>Scenedesmus obliquus</i>					
5	0,86±0,06	0,06±0,05	0,09±0,00	22,97±9,59	46,12±2,07
6	0,86±0,05	0,06±0,00	0,10±0,01	3,85±0,01	45,48±3,42
7	0,70±0,03	0,03±0,00	0,08±0,01	18,42±4,39	13,88±1,14
8	0,98±0,10	0,05±0,00	0,10±0,03	3,33±0,21	27,13±1,72

Os valores apresentados representam a média ± desvio padrão.

Com exceção da concentração celular máxima dos ensaios de *Spirulina* sp. cultivada com 6% CO₂ e NaNO₃ (1,11 g L⁻¹) e *S. obliquus* cultivada com 0,038% de CO₂ e NO (0,70 g L⁻¹), os parâmetros cinéticos analisados não apresentaram diferenças significativas ($p > 0,25$), independente da fonte de carbono e nitrogênio utilizadas, mostrando o potencial de remoção de dióxido de carbono e óxido de nitrogênio, sem prejudicar o crescimento microalgal.

Nos cultivos realizados com a microalga *S. obliquus* observou-se efeito de interação significativo ($p = 0,03$) entre a fonte de carbono e nitrogênio, mostrando que a concentração celular foi máxima (0,98 ± 0,10 g L⁻¹) quando foi utilizado NO e 6% CO₂ combinados. A microalga *Spirulina* sp. cultivada com CO₂ e fonte de nitrogênio original do meio de cultivo (NaNO₃) foi a condição que apresentou máxima produtividade (0,06 g L⁻¹ d⁻¹).

A microalga *Spirulina* sp. cultivada com CO₂ e NaNO₃ apresentou crescimento superior aos demais ensaios (Figura 1), entretanto as curvas de crescimento para as diferentes condições foram estatisticamente iguais ($p > 0,10$). A microalga *S. obliquus* não apresentou diferença significativa ($p < 0,02$) entre as curvas de crescimento até o 5º dia de cultivo. No 10º dia a *S. obliquus* cultivada com 0,038% de CO₂ e NO apresentou crescimento menor ($p < 0,04$) que os ensaios com adição de 6% de CO₂ e KNO₃, e com adição de 6% CO₂ e NO. No 15º dia de cultivo a *S. obliquus* apresentou diferença significativa ($p < 0,02$) entre o ensaio utilizando fonte de carbono e nitrogênio original do meio e o ensaio utilizando 6% CO₂ e NO.

A microalga *Spirulina* sp. a partir do 2º dia de cultivo obteve maior taxa de remoção de carbono ($p < 0,02$) no cultivo realizado com fontes de carbono e nitrogênio originais do meio, bem como aquele usando fonte de carbono original e NO. A *S. obliquus* apresentou o mesmo comportamento, entretanto a partir do 10º dia de cultivo.

A remoção de carbono foi 2,67 ± 0,51 e 3,85 ± 0,01%, respectivamente, para as microalgas *Spirulina* sp. e *S. obliquus* nos ensaios realizados com 6% CO₂ e fonte de nitrogênio original do meio de cultivo (NaNO₃ e KNO₃). Nos cultivos com CO₂ e NO a microalga *Spirulina* sp. obteve 2,10 ± 0,99% de remoção de carbono e a *S. obliquus* alcançou 3,33 ± 0,21. A *S. obliquus* alcançou máxima remoção de carbono (22,97%) no ensaio contendo fonte de carbono original do meio de cultivo (0,038% CO₂) e fonte de nitrogênio original do meio de cultivo (KNO₃).

O bicarbonato de sódio é o nutriente adicionado em maior quantidade no meio de cultivo original para *Spirulina* (16,80 g L⁻¹),

correspondendo a 60% do custo total com nutrientes,¹⁵ podendo a capacidade das microalgas em fixar CO₂ ser usada para reduzir custos com nutrientes e os diversos problemas ambientais causados por esse gás.

Durante os 4 primeiros dias de cultivo a *Spirulina* sp. apresentou maior taxa de remoção de nitrogênio ($p < 0,01$) nos ensaios com NaHCO₃ e NaNO₃, e utilizando CO₂ e NaNO₃. No 5º dia de cultivo o ensaio com adição de CO₂ e NO apresentou taxas de remoção de nitrogênio maior ($p < 0,02$) que o cultivo utilizando

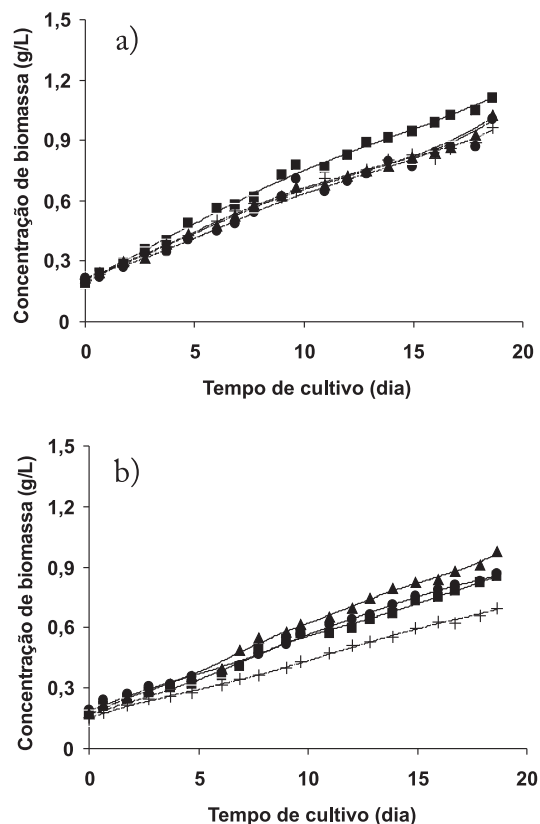


Figura 1. Concentração de biomassa em função do tempo para *Spirulina* sp. (a) e *S. obliquus* (b) cultivadas com adição de fonte de carbono e nitrogênio original do meio de cultivo (●), CO₂ como fonte de carbono e fonte de nitrogênio original do meio de cultivo (■), fonte de carbono original do meio de cultivo e NO como fonte de nitrogênio (+) e CO₂ como fonte de carbono e NO como fonte de nitrogênio (▲)

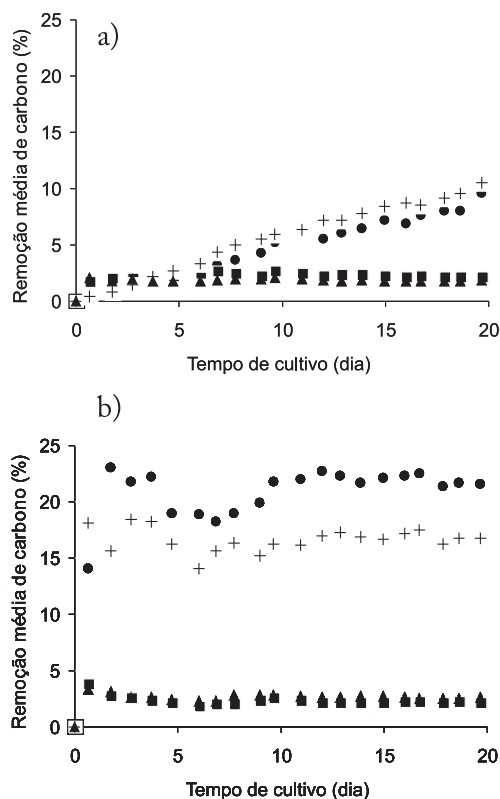


Figura 2. Remoção média de carbono para *Spirulina sp.* (a) e *S. obliquus* (b) cultivadas com adição de fonte de carbono e nitrogênio original do meio de cultivo (●), CO₂ como fonte de carbono e fonte de nitrogênio original do meio de cultivo (■), fonte de carbono original do meio de cultivo e NO como fonte de nitrogênio (+) e CO₂ como fonte de carbono e NO como fonte de nitrogênio (▲)

NaHCO₃ e NaNO₃. A partir do 12º dia de cultivo os ensaios não apresentaram diferença significativa ($p > 0,63$) quanto à taxa de remoção de nitrogênio para a microalga *Spirulina sp.*

A máxima taxa de remoção de nitrogênio para a microalga *Spirulina sp.* foi 23,40% no ensaio com CO₂ como fonte de carbono e fonte de nitrogênio original do meio (NaNO₃). A substituição da fonte de carbono original do meio de cultivo da microalga *Spirulina sp.* por 6% CO₂ proporcionou incremento de 6,40% na remoção de nitrogênio. O efeito de interação significativo ($p = 0,05$) entre a fonte de nitrogênio e carbono mostrou que, independente da fonte de nitrogênio utilizada, os cultivos com a microalga *Spirulina sp.* apresentaram maior remoção de nitrogênio quando se utilizou CO₂ como fonte de carbono. O ensaio com CO₂ como fonte de carbono e NO como fonte de nitrogênio manteve a remoção média de nitrogênio estável no decorrer do ensaio, alcançando máximo de 17,55% com 20 dias de cultivo.

A *S. obliquus* aumentou a taxa de remoção de nitrogênio ao longo do tempo nos ensaios com fonte de carbono (0,038% de CO₂) e nitrogênio (KNO₃) originais do meio (46,12%) e nos cultivos realizados com 6% CO₂ e fonte de nitrogênio (KNO₃) original do meio (45,48%). Até o 5º dia de cultivo a microalga *S. obliquus* com adição de CO₂ e NO obteve maior taxa de remoção de nitrogênio ($p < 0,02$). A partir do 10º dia, o cultivo com adição de fonte de carbono original do meio e NO apresentou a menor taxa de remoção de nitrogênio ($p < 0,01$). Durante os 20 dias de ensaio, os cultivos com fontes de carbono e nitrogênio originais do meio e aqueles com 6% CO₂ e fonte de nitrogênio original do meio não apresentaram diferença significativa quanto à taxa de remoção de ni-

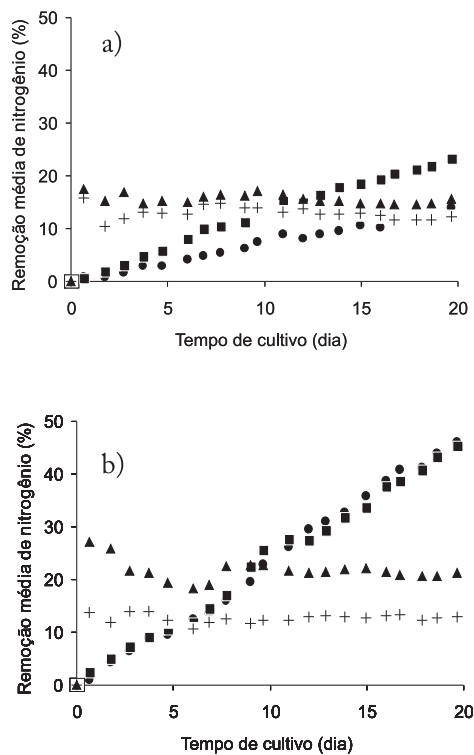


Figura 3. Remoção média de nitrogênio para *Spirulina sp.* (a) e *S. obliquus* (b) cultivadas com adição de fonte de carbono e nitrogênio original do meio de cultivo (●), CO₂ como fonte de carbono e fonte de nitrogênio original do meio de cultivo (■), fonte de carbono original do meio de cultivo e NO como fonte de nitrogênio (+) e CO₂ como fonte de carbono e NO como fonte de nitrogênio (▲)

trogênio ($p > 0,90$).

Os ensaios com NO apresentaram remoção de nitrogênio de 27,13% utilizando CO₂ como fonte de carbono e 13,88% com a fonte de carbono original do meio (0,038% de CO₂). Segundo Nagase *et al.*,¹⁶ o NO na fase gasosa é dissolvido no meio de cultivo e retirado pelas microalgas através de difusão, e assim o NO removido é preferencialmente utilizado como fonte de nitrogênio para o crescimento celular.

Nos ensaios realizados verificou-se que além das microalgas utilizarem NO, a adição de 100 ppm deste gás não prejudicou seu desenvolvimento. Yanagi *et al.*¹⁷ verificaram que a microalga *Chlorella sp.* foi tolerante a 120 ppm de NO_x, e a adição de 150 ppm deste gás não causou influência no crescimento celular de *Chlorella sp.*,¹⁸ nem de *Monoraphidium minutum*.¹⁹

CONCLUSÕES

As maiores taxas de remoção de CO₂ e NO foram obtidas com a microalga *S. obliquus*. A máxima remoção de CO₂ foi 22,97% quando cultivada com KNO₃ e CO₂ atmosférico e a máxima remoção de NO foi 27,13%, quando cultivada com NO e 6% CO₂.

A microalga *Spirulina sp.* quando cultivada com CO₂ e NaNO₃ obteve os máximos valores para velocidade específica (0,11 d⁻¹) e concentração celular (1,11 g L⁻¹ d⁻¹). A *S. obliquus* alcançou máxima concentração celular (0,98 g L⁻¹) quando cultivada com CO₂ e NO. A máxima velocidade específica alcançada pela microalga *S. obliquus* foi 0,10 d⁻¹, quando cultivada com CO₂, independente da fonte de nitrogênio utilizada. Aliar o cultivo de microalgas com a

remoção de CO₂ e NO pode reduzir os custos com nutrientes do meio de cultivo e problemas gerados com a emissão desses gases.

AGRADECIMENTOS

À ELETROBRAS – Centrais Elétricas Brasileiras S.A. e CGTEE – Companhia de Geração Térmica de Energia Elétrica pelo apoio financeiro para a realização desse trabalho.

REFERÊNCIAS

1. [http://anell.gov.br/aplicacoes/atlas/pdf/08-carvao\(2\).pdf](http://anell.gov.br/aplicacoes/atlas/pdf/08-carvao(2).pdf), acessada em Março 2007.
2. Siegenthaler, U.; Stocker, T. F.; Monnin, E.; Lüthi, D.; Schwander, J.; Stauffer, B.; Raynaud, D.; Barnola, J. M.; Fischer, H.; Delmontt, V. M.; Jouzel, J.; *Science* **2005**, *310*, 1313.
3. Chang, E. H.; Yang, S. S.; *Bot. Bull. Acad. Sin.* **2003**, *44*, 43.
4. Cónsul, J. M. D.; Thiele, D.; Veses, R. C.; Baibich, I. M.; *Quim. Nova* **2004**, *27*, 432.
5. Nagase, H.; Eguchi, K.; Yoshihara, K.; Hirata, K.; Miyamoto, K.; *J. Ferment. Bioeng.* **1998**, *86*, 421.
6. Beneman, J. R.; Hughes, E.; *Energy Convers. Manage.* **1997**, *38*, S467.
7. Morais, M. G.; Costa, J. A. V.; *Energy Convers. Manage.* **2007**, *48*, 2169.
8. Zarrouk, C.; *Tese de Doutorado*, University of Paris, França, 1966.
9. Morais, M. G.; Costa, J. A. V.; *J. Biotechnol.* **2007**, *129*, 439.
10. Watanabe, A.; *J. Gen. Appl. Microbiol.* **1960**, *6*, 1.
11. Costa, J. A. V.; Morais, M. G.; Dalcanton, F.; Reichert, C. C.; Durante, A. J.; *Z. Naturforsch., C: J. Biosci.* **2006**, *61*, 105.
12. Box, G. E.; Hunter, W. G.; Hunter, J. S.; *Statistics for experiments*, John Wiley & Sons: USA, 1978.
13. Schmidell, W.; Lima, A. U.; Aquarone, E.; Borzani, W.; *Biotechnologia Industrial*, Edgard Blücher Ltda.: São Paulo, 2001, vol. 2.
14. Bailey, J. E.; Ollis, D. F.; *Biochemical Engineering Fundamentals*, 2nd ed., McGraw-Hill: Singapore, 1986.
15. Alava, D.; Mello, P. C.; Wagener, K.; *J. Braz. Chem. Soc.* **1997**, *8*, 447.
16. Nagase, H.; Eguchi, K.; Yoshihara, K.; Eguchi, K.; Okamoto, Y.; Murasaki, S.; Yamashita, R.; Hirata, K.; Miyamoto, K.; *Biochem. Eng. J.* **2001**, *7*, 241.
17. Yanagi, M.; Watanabe, Y.; Saiki, H.; *Energy Convers. Manage.* **1995**, *36*, 713.
18. Maeda, K.; Owada, M.; Kimura, N.; Omata, K.; Karube, I.; *Energy Convers. Manage.* **1995**, *36*, 717.
19. Zeiler, K. G.; Brown, L. M. Em Proceedings of the Air & Waste Management Association Specialty Conference (Phoenix, AZ, April 5-8, 1994), Global Climate Change: Science, Policy and Mitigation Strategies.. Mathai, C. V. G., Stensland, eds.; Air & Waste Management Association: Pittsburgh, p. 947.