

CULTIVO DE *CHLORELLA VULGARIS* EM EFLUENTE INDUSTRIAL VISANDO PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL ?

Autores: FERNANDA SIMÕES, ANNA CLÁUDIA DE SOUZA LOPES, HENRIQUE MAIA VALÉRIO

Introdução

As algas são conhecidas como uma das mais antigas formas de vida e são as principais produtoras primárias de oxigênio no mundo (RAVEN et al., 2007). São organismos que apresentam uma imensa diversidade, sendo muito tolerantes quanto ao habitat, sendo identificadas tanto em ambientes aquáticos de água doce, salobra e salgada (SIALVE et al., 2009) mas também em efluentes e águas residuais, em solos inundáveis, várzeas e associadas à filosfera de plantas, o que permite em primeiro plano reduzir custos no fornecimento de nutrientes e/ou despoluir cursos de água, bem como proteger espécies arbóreas de microrganismos patogênicos e parasitos. Além destes fatores, a utilidade da biomassa resultante, a qual detém compostos de valor e interesse comercial, como pigmentos e lipídios agregam aspectos positivos como à obtenção de alimentos e produção de energia renovável (DERNER et al., 2006).

O desenvolvimento tecnológico da produção de matérias-primas para o biodiesel tem-se direcionado para aquelas que não concorrem com usos não energéticos e que possuem maior eficiência energética e compatibilidade ambiental no uso dos recursos naturais. As microalgas têm sido apontadas como alternativas às oleaginosas de cultivo terrestre, como matéria-prima para a produção de biodiesel, especialmente devido à sua elevada produtividade por unidade de área e por não apresentarem concorrência no uso do solo para a produção de alimentos (COLLET et al., 2011). Desta forma, as algas possuem grande importância na biotecnologia devido à relevância dos seus compostos implicados a sua biomassa.

A biodiversidade proveniente destes microrganismos possibilita a inserção de novas pesquisas e consequentemente no auxílio de novas tecnologias que possam trazer benefícios ainda hoje desconhecidos (RICHMOND, 2004).

Material e métodos

O trabalho foi realizado com a espécie de microalga *Chlorella vulgaris*, fornecida pela Universidade Federal de Paraná (UFPR). Todo trabalho foi desenvolvido no Laboratório Ecologia de Microrganismos e Microbiologia Ambiental (LEMMA), na Universidade Estadual de Minas Gerais (UNIMONTES).

A *Chlorella vulgaris* foi cultivada primeiramente em meio sintético BBM (*Bold's Basal Medium*), sendo este o meio de cultivo padrão para desenvolvimento celular microalgal. Posteriormente, se utilizou outro meio, que trata-se de um efluente industrial MEM (Meio Essencial Mínimo) provenientes da indústria de medicamentos veterinários Vallée S.A.

Após obtenção de inóculos a partir do cultivo da *Chlorella vulgaris* em meio BBM, as algas foram inoculadas em erlenmeyer de 250 ml com a presença de 100 ml de meio líquido e 2 ml de inóculo em fase exponencial, incubados em BOD sob condições estacionárias a 30 ± 2 ° C com fotoperíodo de 12\12 horas em triplicata. O BBM (T1) e o efluente MEM (T2) foi testado primeiramente puro na concentração de 100% para fins de comparação. O MEM foi adicionado em diferentes proporções ao BBM, nas quais foram de 80% (T3) e 50% (T4) (vol/vol).



Para a análise do crescimento e densidade óptica da *Chlorella vulgaris* foi retirado 1 ml das amostras T2, T3, T4 a cada 24 horas no período de 10 dias. As amostras retiradas foram levadas ao microscópio utilizando a câmara de Newbauer, onde se analisou o crescimento celular.

Das análises estatísticas foi utilizado software R (R Development Core Team 2008), através da construção de modelos lineares generalizados (GLM) com distribuição de erros adequada (Crawley 2007), seguidos de análise de variância (ANOVA).

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi observar a melhor adaptação da *Chlorella vulgaris* ao meio MEM, determinando o crescimento microalgal e a densidade celular em função do tempo de cultivo.

Resultados e discussão

Devido à sua composição química, o efluente puro (T2) resultou na inibição do desenvolvimento da espécie em estudo (Fig. 1). O resultado demonstra uma possível indisponibilidade de nutrientes necessários ao desenvolvimento da *Chlorella vulgaris*. O efluente MEM apresenta composição constituída de fontes de carbono, nitrogênio e fósforo essenciais ao crescimento celular, mas acredita-se que após o cultivo primário de células animais (MDBK) as fontes tenham sido parcialmente degradadas ao ponto de não apresentarem concentração suficiente para dar início ao crescimento de células microalgais. O fato observado pode ser melhor explicado pela cinética de crescimento celular obtida a partir do tratamento do experimento T(3) e T(4) (Fig. 2). A cinética mostra crescimento celular quando o efluente MEM foi acrescido do meio de cultivo BBM nas proporções de 20% e 50%, sendo que os melhores resultados foram obtidos a partir das concentrações de MEM a 50% (T4), que apresentou o maior número de células dentre os demais. O resultado observado foi semelhante ao crescimento celular do cultivo de BBM puro que é o meio de cultivo padrão para desenvolvimento celular microalgal. Verifica-se que o cultivo atingiu como média das três contagens, densidade celular de 7×10^{13} cel.mL⁻¹ no tempo de cultivo de 8 dias.

O resultado é promissor e indica que nessa concentração houve uma melhor adaptação da microalga em estudo. Como nutriente essencial ao desenvolvimento de microalgas é importante ressaltar a importância do carbono, nitrogênio e fósforo. O carbono atua diretamente na síntese de todas as substâncias de natureza orgânica celular (Lourenço, 2006). Dependendo da quantidade de carbono disponível e da velocidade de multiplicação celular, o carbono pode ser consumido de maneira rápida e se tornar um fator limitante na proliferação celular e acarretar também a elevação do pH do meio (Lourenço, 2006). O nitrogênio é um constituinte de diversas substâncias do metabolismo primário e, dependendo da concentração no meio, influencia também na concentração de outros componentes como proteínas, clorofila e carotenóides. Quando o nitrogênio está disponível favorece a formação destes componentes, mas quando se encontra em baixa concentração tende a reduzir a formação dessas substâncias (Ling et al.; 2014, Ordog et al., 2011). O teor lipídico de microalgas tende a aumentar quando o nitrogênio se encontra em baixa disponibilidade devido ao fato de o microrganismo direcionar o metabolismo para a produção substâncias de reserva ao invés de intensificar a multiplicação (Cheirsilp et al. 2012). O ortofosfato inorgânico (PO₄-3) é a forma iônica de fósforo de uso preferencial pelas microalgas e sua absorção é dependente de energia. Por isso, é a fonte de P mais utilizada nos meios de cultura. Existem outras fontes de fósforo inorgânico que podem ser absorvidas pelas microalgas, como o fosfato diácido (H₂PO₄-) e o fosfato ácido (HPO₄-2) que podem ser provenientes do ácido fosfórico (H₃PO₄) (Reynolds, 2006).

Conclusões/Considerações finais

O efluente industrial MEM combinado ao BBM na concentração de 50% se mostrou um ótimo meio para o crescimento celular da *Chlorella vulgaris*, o que garante uma alternativa quanto ao uso do MEM, uma vez que este é descartado em grandes volumes todos os dias pela empresa. Conclui-se que com a utilização desse efluente é possível obter biomassa microalgal significativa para a produção de biocombustível e outros biocompostos com valor para aplicação biotecnológica.

Agradecimentos

PIBIC, FAPEMIG, UNIMONTES, Equipe do Laboratório de Ecologia de Microrganismos e Microbiologia Ambiental (LEMMA), Universidade Federal do Paraná (UFPR) e a Vallée S.A.

Referências bibliográficas

- CHEIRSILP, B., KITCHA, S., TORPEE, S., 2012. Co-culture of an oleaginous yeast *Rhodotorula glutinis* and a microalga *Chlorella vulgaris* for biomass and lipid production using pure and crude glycerol as a sole carbon source. *Ann. Microbiol.* 62, 987-993.
- COLLET, M. et al. *Bio-resour. Technol.* 201.
- DERNER, R. B. et al. Microalgas, produtos e aplicações. *Ciência Rural*, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, doi:10.1590/S0103-84782006000600050, 2006.
- LING, J.; NIP, S.; CHEOK, W. L.; DE TOLEDO, R. A. & SHIM., H., 2014. Lipid production by a mixed culture of oleaginous yeast and microalga from distillery and domestic mixed wastewater. *Bioresource Technology.*, 173, 132-139.
- LOURENÇO, S. O., 2006. Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações. Ed. Roma, 1ª ed., São Paulo, 606 p.
- ÖRDOĞ, V., STIRK, W. A., BALINT, P., VAN STADEN, J., LOVASZ, C., 2011. Changes in lipid, protein and pigment concentrations in nitrogen-stressed *Chlorella minutissima* cultures. *Journal of Applied Phycology*, v. 24, n. 4, 907-914.
- RAVEN, P.H. et al. *Biologia Vegetal*, 7a. ed. Coord. Trad. J.E.Kraus. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro. 2007.
- REYNOLDS, C. S., 2006. *Ecology of Phytoplankton - Ecology, Biodiversity and Conservation*. Cambridge.
- RICHMOND, A. *Handbook of microalgals culture: biotechnology and applied phycology*. 1. ed. Oxford: Blackwell Science, p. 584, 2004.
- SIALVE, B. et al. *Biotechnol. Adv.*, 27, 409. 2009.

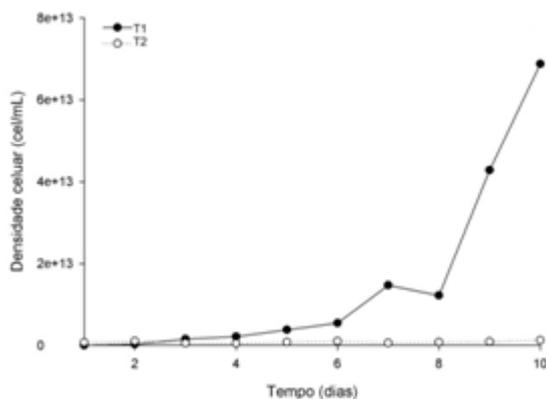


Figura 1. Curva de crescimento da *Chlorella vulgaris* em cultivo BBM puro (T1) e efluente MEM puro (T2) medidas em câmara de Neubauer.

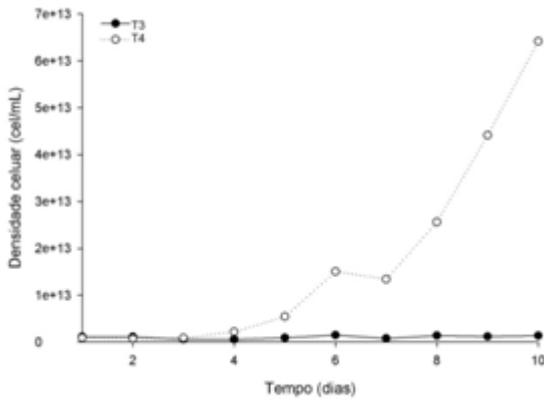


Figura 2. Comparativo entre as curvas de crescimento da *Chlorella vulgaris* em mistura de meio de cultivo BBM e efluente MEM em 20%:80% vol/vol (T3) e 50%:50% vol/vol (T4) medidas em câmara de Neubauer.