



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:  
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

# FEPEG

F Ó R U M  
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

## ANÁLISE DA CINÉTICA DE *CHLORELLA VULGARIS* POR CULTIVO MIXOTRÓFICO EM EFLUENTE INDUSTRIAL VISANDO PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL

**Autores:** FERNANDA SIMÕES LACERDA, ANNA CLAUDIA DE SOUZA LOPES, HENRIQUE MAIA VALÉRIO

### Introdução

As microalgas são organismos fotossintéticos que exercem papéis importantes nos biosistemas, garantindo matéria orgânica e metabolitos secundários, tais como ácidos graxos insaturados (BELLOU et al., 2014). São microrganismos unicelulares, microscópicos (2-200  $\mu\text{m}$ ), com capacidade de proliferação rápida em condições ambientais adversas (EJOVWOKOGHENE et al., 2015). Também podem estar associados à fitosfera de plantas, que possibilitam a despoluição dos cursos de água, e até mesmo na proteção contra microrganismos patogênicos (DERNER et al., 2006).

Com o atual esgotamento dos combustíveis fósseis e pelo aumento da emissão de gases na atmosfera, a procura por fontes alternativas vem sendo bastante atraente para o cenário mundial, e as microalgas estão sendo apontadas como organismos promissores na área biotecnológica. São capazes de desempenhar um duplo papel como biorremediação de águas residuais, bem como na geração de biomassa, que podem alcançar altas taxas de produtividade e acumular alto teor lipídico e, este pode ser convertido para a produção de biocombustíveis (HAMMOUDA et al., 2015; EJOVWOKOGHENE et al., 2015). Diante disso, as microalgas necessitam de maior atenção e maior investimento em pesquisas e inovações tecnológicas para oferecer benefícios nos dias atuais e futuros.

Nesse contexto, o objetivo desse trabalho foi observar a dinâmica de crescimento da *Chlorella vulgaris* e a densidade celular em função do tempo de cultivo utilizando o efluente industrial MEN (Meio Essencial Mínimo).

### Material e métodos

Este trabalho foi executado com a utilização da linhagem de microalga *Chlorella vulgaris*, fornecida pela Universidade Federal de Paraná (UFPR). Toda atividade laboratorial foi desenvolvida no Laboratório Ecologia de Microrganismos e Microbiologia Ambiental (LEMMA), na Universidade Estadual de Minas Gerais (UNIMONTES). Para a obtenção da cultura de *Chlorella vulgaris*, primeiramente utilizou-se um meio sintético BBM (*Bold's Basal Medium*), sendo este o meio de cultivo padrão para desenvolvimento celular microalgal. Posteriormente, utilizou-se um efluente industrial MEM (Meio Essencial Mínimo), servindo como meio de cultivo alternativo, que se refere a um efluente industrial proveniente da indústria de medicamentos veterinários Vallée S.A. Em seguida, a partir dos inóculos obtidos do cultivo da *Chlorella vulgaris* em meio BBM, retirou-se alíquotas de 2 ml e foram adicionadas em erlenmeyers de 250 ml na presença de 100 ml de BBM (T1) e MEN (T2) em fase exponencial, incubados em BOD sob condições estacionárias a  $30 \pm 2$  °C com fotoperíodo de 12/12 horas em triplicata, para fins de comparação. Posteriormente o MEM foi adicionado em diferentes proporções ao BBM, nas quais foram de 80% (T3) e 50% (T4) (vol/vol). Com o intuito de avaliar uma maior redução com os custos de cultivos foi também estudado um aumento da concentração molar de nutrientes do meio BBM em duas vezes (2x) mantendo-se as proporções de meio MEM adicionado ao BBM de 80% e 50%, denominados (T5) e (T6) respectivamente. Para a análise do crescimento e densidade óptica da *Chlorella vulgaris* foram retiradas alíquotas de 1 ml das amostras T2, T3, T4, T5 e T6 a cada 24 horas no período de 10 dias consecutivos. Essas amostras foram levadas ao microscópio utilizando a câmara de Neubauer e espectrofotômetro, onde se analisou o crescimento celular.

Das análises estatísticas foi empregado o 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), utilizando como variáveis explicativas a densidade celular e biomassa.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:  
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

# FEPEG

F Ó R U M  
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

## Resultados e discussão

O MEN na concentração pura, que corresponde ao ensaio (T2), não apresentou desenvolvimento da espécie em estudo ( $p < 0.0001$ ) conforme demonstrado na (fig. 1), resultado que pode ser explicado, devido à baixa disponibilidade de nutrientes para o desenvolvimento microalgal. O MEM é constituído por fontes que favorecem o crescimento celular, como carbono, nitrogênio e fósforo, porém devido ao cultivo primário de células animais (MDBK), é possível que esses nutrientes se encontrem em baixas quantidades, o que impede o desenvolvimento das células microalgais.

Dentre os nutrientes essenciais para o crescimento de microalgas, destaca-se o carbono, que atua diretamente na síntese das substâncias de natureza orgânica celular (Loureço, 2006). Conforme o carbono vai sendo consumido durante a multiplicação celular, em quantidades mínimas ele se torna um fator limitante para o crescimento celular e torna o pH do meio mais elevado. Esse fenômeno é demonstrado pela cinética de crescimento celular nos testes (T3) e (T4) (fig. 2), onde o BBM quando misturado ao MEM nas proporções de 20% e 50%, houve melhor proliferação microalgal, no qual o (T4) apresentou melhores resultados devido ao maior número de células microalgais quando comparado aos demais testes. O resultado é promissor e indica que nessa concentração houve uma melhor adaptação da microalga em estudo. Além do carbono, também é importante ressaltar a importância do nitrogênio e o fósforo como nutriente essencial ao desenvolvimento de microalgas. A (fig. 3) ilustra a curva de crescimento da microalga em meio BBM em uma concentração de 2x com adição de MEM nas proporções de 80% (T5) e 50% (T6) (vol/vol). Observou-se que nos resultados obtidos do ensaio (T6), demonstraram melhor desenvolvimento em relação ao (T5) com diferenças significativas ( $P < 0.001$ ). A *Chlorella vulgaris* apresentou rápida adaptação e o cultivo chegou à média de densidade celular máxima de  $3,0 \times 10^{13}$  cél.mL<sup>-1</sup>. No oitavo e nono dias apresentaram declínio celular, que pode ter ocorrido pela escassez de nutrientes devido ao consumo acelerado pela alta população de microalgas. O tipo de método de cultura, fontes de energia e fontes de carbono são sempre reconhecidos como fatores que influenciam significativamente o crescimento microalgal (Chen et al., 2011; Mata et al., 2010, Yeh et al., 2011).

## Conclusão/Conclusões/Considerações finais

A microalga *Chlorella vulgaris* apresenta ótimo crescimento celular quando é utilizado o efluente industrial MEM em conjunto com o meio de cultura BBM na concentração de 50% de cada meio como fonte de nutrientes em condições experimentais mixotróficas. Com o uso do efluente, foram obtidas elevadas taxas de crescimento celular o que corrobora para a produção de biomassa microalgal, pois, para a viabilidade da geração de biocombustíveis em maiores escalas, deve-se obter biomassa com elevadas concentrações de lipídios ou carboidratos.

## 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

Bellou, S., et al. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives. **Biotechnology Advances** 2014;14(10).

Chen, C.Y., Yeh, K.L., Aisyaha, R., Lee, D.J., Chang, J.S., 2011. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical *Chlorella vulgaris* ESP-31: implications for biofuels. **Biotechnol.** J.doi:10.1002/biot.201000433.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:  
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

# FEPEG

F Ó R U M  
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:



APOIO:



ISSN: 1806-549X

Crawley, M. J., 2007. The R Book. **John Wiley and Sons**, New York.

Derner, R. B. et al. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, doi:10.1590/S0103-84782006000600050, 2006.

Ejovwokoghene C. Odjadjare, Taurai Mutanda & Ademola O. Olaniran (2015): Potential biotechnological application of microalgae: a critical review, **Critical Reviews in Biotechnology**, DOI: 10.3109/07388551.2015.1108956

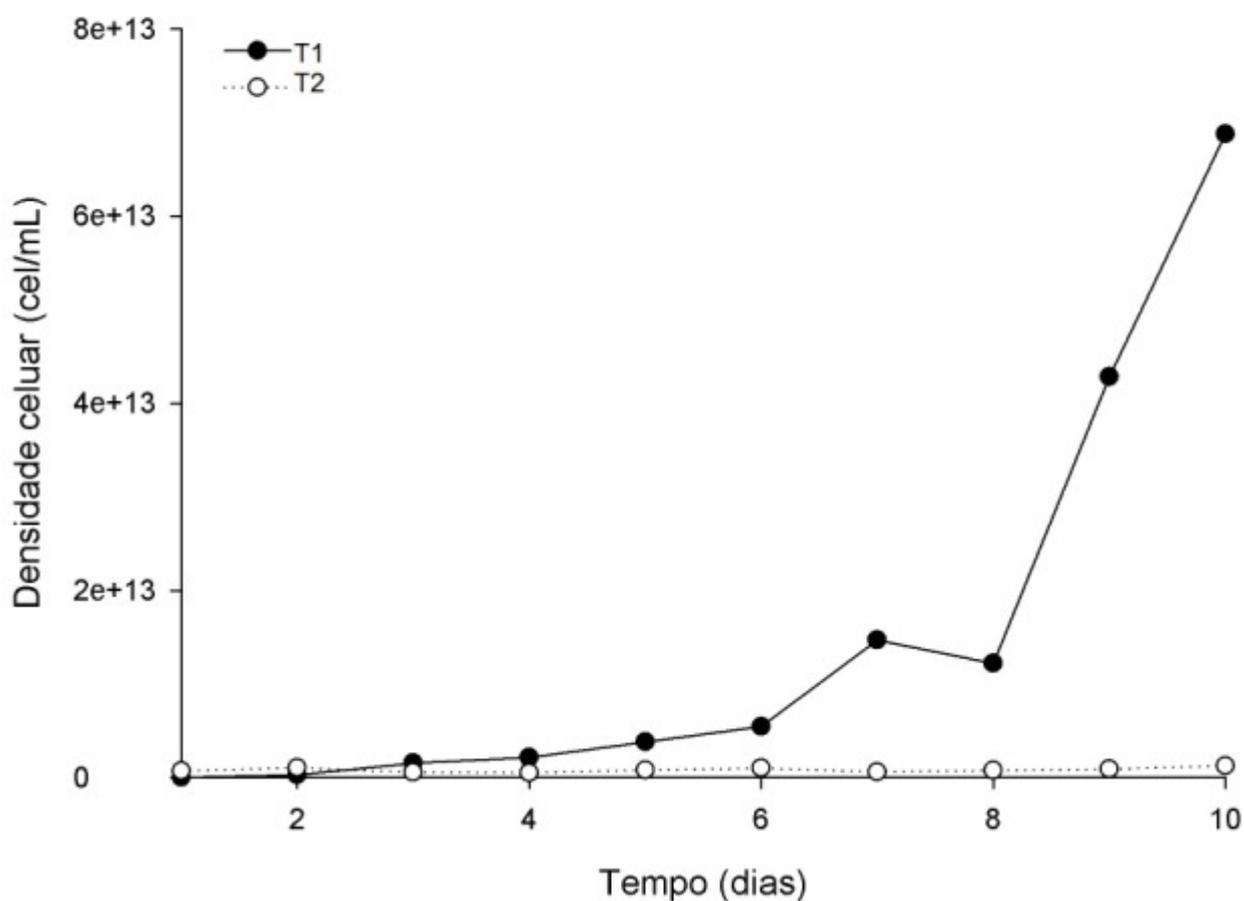
Hammouda, O., et al. Treatment of Mixed Domestic-industrial Wastewater Using microalgae *Chlorella* sp. **Journal of American Science** 2015;11(12).

Lourenço, S. O., 2006. Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações. **Ed. Roma**, 1ª ed., São Paulo, 606 p.

Mata, T.M., Martins, A.A., Caetano, N.S., 2010. Microalgae for biodiesel production: perspectives and advances. **Plant Journal**, 54, 621-639. review. **Bioresour. Technol.** 102, 71-81.

Yeh, K.-L., Chang, J.-S., 2011. Nitrogen starvation strategies and photobioreactor design for enhancing lipid content and lipid production of a newly isolated microalga

A





CIÊNCIA E TECNOLOGIA:  
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

# FEPEG

F Ó R U M  
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:

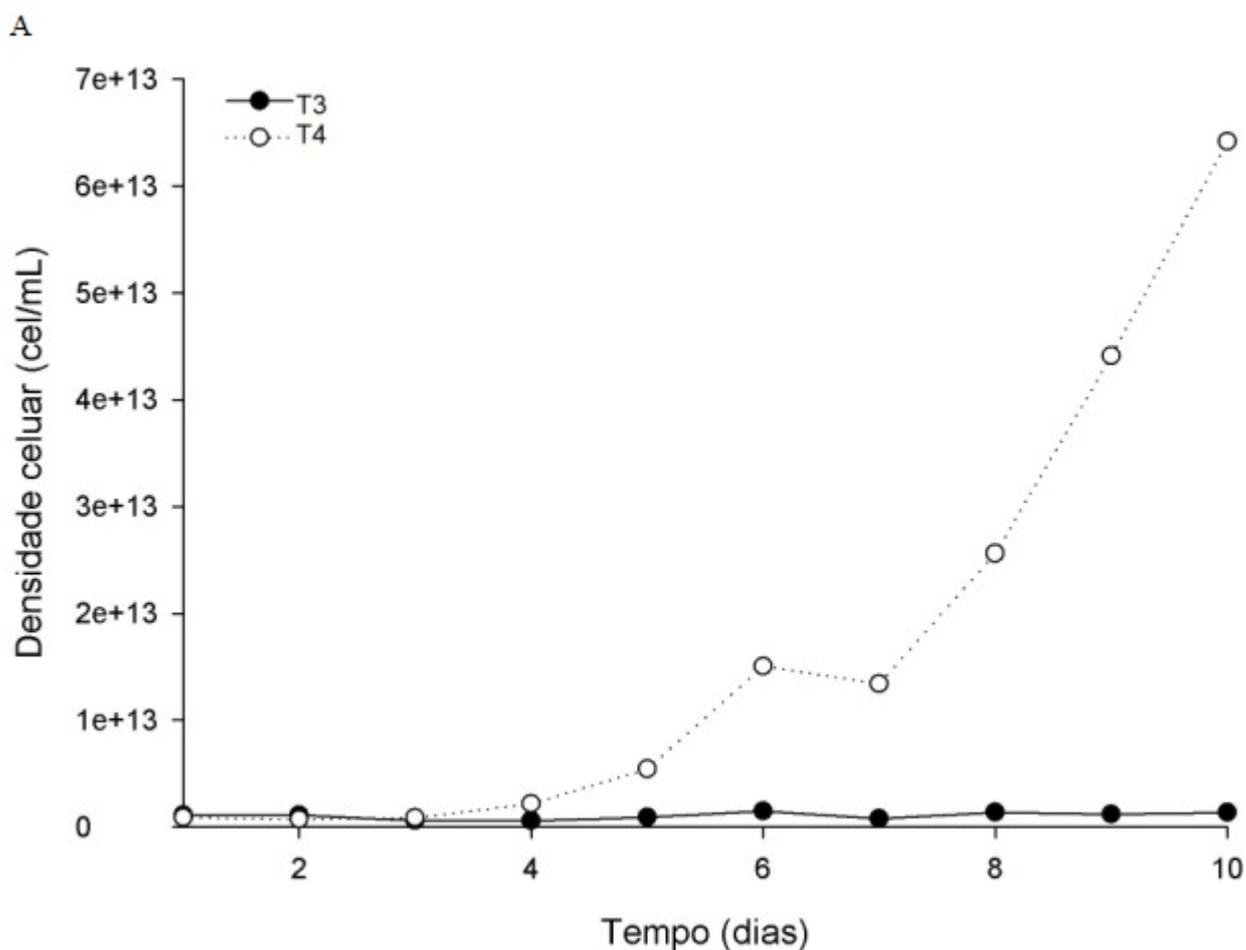


APOIO:



ISSN: 1806-549X

**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.



CIÊNCIA E TECNOLOGIA:  
IMPLICAÇÕES NO ENSINO, PESQUISA E EXTENSÃO

# FEPEG

F Ó R U M  
ENSINO • PESQUISA • EXTENSÃO • GESTÃO

REALIZAÇÃO:

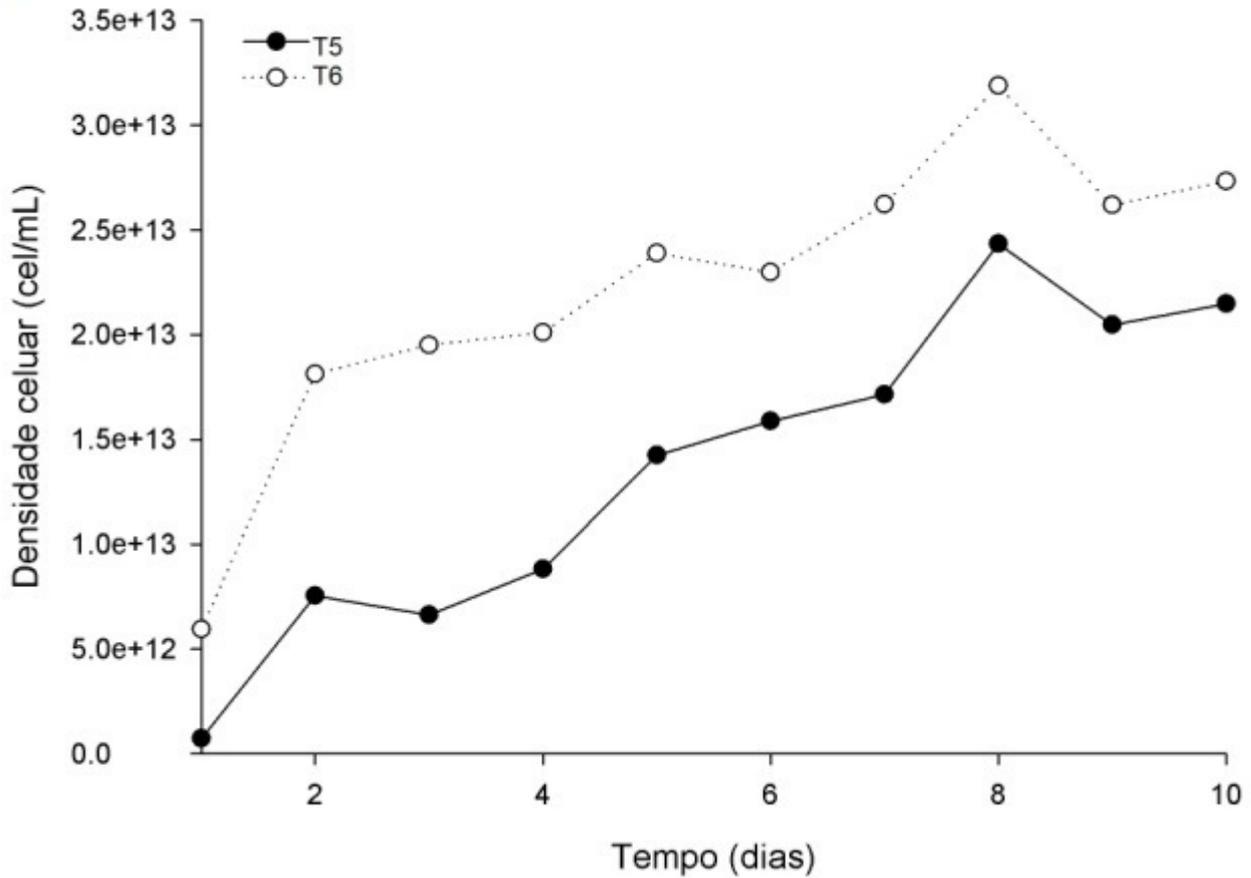


APOIO:



ISSN: 1806-549X

A



**Figura 3.** Comparativo entre as curvas de crescimento da *Chlorella vulgaris* em mistura de meio de cultivo concentrado duas vezes (2x) BBM e efluente MEM em 20%:80% vol/vol (T5) e 50%:50% vol/vol (T6) medidas em câmara de Neubauer.