

Área: Ciência de Alimentos

INFLUÊNCIA DE CONDIÇÕES DE CULTIVO NO ACÚMULO DE CARBOIDRATOS E NO CRESCIMENTO DA MICROALGA *Chlorella homosphaera*

Elenara de Araujo, Luana Garbin Cardoso, Noany Volpato, Kelly Pelc da Silva,
Gabriela Santetti, Telma Elita Bertolin, Luciane Maria Colla*

*Laboratório de Fermentações, Curso de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia e Arquitetura,
Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS*

**E-mail: (lmcolla@upf.br)*

RESUMO – O interesse pelo potencial biotecnológico de microalgas vem aumentando nos últimos anos devido à sua capacidade de sintetizar diversos compostos e às várias possibilidades de aplicação da sua biomassa, na indústria de alimentos e farmacêutica, nas áreas de biomedicina e ambiental. No âmbito da bioenergia, especial atenção tem sido dada para a utilização de espécies microalgais para a produção de bioetanol e biodiesel, sendo necessário para estas aplicações, o acúmulo de carboidratos e lipídios intracelulares, associado a um bom crescimento celular. As condições de cultivo influenciam na composição das microalgas, sendo importante seu estudo a fim de que sejam obtidos os produtos para os quais o cultivo tem finalidade em quantidades máximas. Objetivou-se com este estudo verificar as condições de cultivo que influenciam os parâmetros de crescimento e que permitem o acúmulo de carboidratos na microalga *Chlorella homosphaera*. Os efeitos das variáveis concentração de NaCl e KNO₃ no teor de carboidratos foram avaliados por Planejamento Fatorial Completo 2². Foi adicionada glicose em batelada alimentada. Os experimentos foram realizados em fotobiorreator fechado até a fase estacionária de crescimento. A concentração de carboidratos foi avaliada ao final dos cultivos. A maior concentração de carboidratos foi obtida quando a microalga foi cultivada com menor concentração de KNO₃(0,125 g.L⁻¹) e maior concentração de NaCl (0,030 g.L⁻¹).

Palavras-chave: Microalga. Aplicações na indústria de alimentos. *Chlorella homosphaera*.

1 INTRODUÇÃO

A necessidade por fontes alternativas de energia sustentável tornou-se uma das prioridades atuais. O uso de microalgas, que são uma das fontes de energia renováveis muito buscadas e pesquisadas nos últimos anos, mostra grande potencial, pois são de fácil cultivo, crescem significativamente mais rápido do que outras fontes para produção de biocombustíveis, além de necessitarem de menos área para o seu cultivo.

Os constituintes da biomassa microalgal, como carboidratos e lipídeos, podem ser utilizados como fonte de matéria prima na produção de biocombustíveis. Os carboidratos podem ser utilizados para a produção de gomas para a indústria de aditivos e bioetanol; os lipídios podem ser utilizados para a produção de biodiesel, ou como bioemulsificantes e ácidos graxos poli-insaturados.

Os meios de cultivos para o crescimento das microalgas podem ser facilmente manipulados com o objetivo de aumentar a porcentagem de carboidratos, lipídeos ou mesmo proteínas, e isto pode ser utilizado de inúmeras maneiras na indústria de alimentos e em outras áreas.

Dentre as aplicações ambientais das microalgas, incluem-se a biofixação de CO₂, e a remoção de matéria orgânica e metais tóxicos de efluentes. Devido ao seu alto potencial de bioacumulação de lipídios e carboidratos, pode ser utilizada na produção de biocombustíveis como biodiesel e bioetanol, bem como produção de biosurfactantes (SCHMITZ et al., 2012).

Baseado nas projeções da tecnologia futura os biocombustíveis de terceira geração, especificamente derivados de microalgas são considerados tecnicamente viáveis como fonte alternativa de energia. (MARGARITES, 2010).

As condições de cultivo influenciam na composição das microalgas, sendo importante seu estudo a fim de que sejam obtidos os produtos para os quais o cultivo tem finalidade em quantidades máximas. O crescimento de *Chlorella* sp. é estimulado em meio suplementados como o meio MBM - Meio Bristol's Modificado (WATANABE, 1960 apud BORGHETTI, 2009).

Objetivou-se, com este estudo, avaliar a influência das concentrações das fontes salina e de nitrogênio sobre os parâmetros de crescimento e sobre o acúmulo de carboidratos na microalga *Chlorella homosphaera*. Ainda, avaliou-se o efeito da adição de glicose em modo batelada alimentada sobre os parâmetros estudados.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A microalga *Chlorella homosphaera*, utilizada neste estudo, foi cedida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

A microalga *C. homosphaera* foi cultivada em meio Bristol'S modificado (MBM) (WATANABE, 1960), com alterações nas concentrações da fonte salina e de nitrogênio, segundo o Planejamento Fatorial Completo (PFC) descrito na Tabela 1. Os experimentos foram adicionados de glicose em modo batelada alimentada na concentração de 0,5 g.L⁻¹ a partir do início da fase exponencial de crescimento. Dois experimentos controle foram realizados nas concentrações normais de nutrientes, um adicionado de glicose e outro sem adição.

A glicose foi adicionada a fim de comparar a influência da mesma no crescimento da microalga e na síntese de carboidratos.

Tabela 1. Matriz do Planejamento Fatorial Completo 2^2 utilizado para avaliar a influência das concentrações de nitrato de potássio e cloreto de sódio no meio de cultivo MBM sobre o crescimento celular e acúmulo de carboidratos e lipídios.

Exp.	X ₁ (KNO ₃ g.L ⁻¹)	X ₂ (NaCl g.L ⁻¹)
1	-1 (0,1250)	-1 (0,0275)
2	+1 (0,1875)	-1 (0,0275)
3	-1 (0,1250)	+1 (0,0300)
4	+1 (0,1875)	+1 (0,0300)
Controle	0 (0,2500)	0 (0,0250)

Determinação dos parâmetros de crescimento

A concentração celular da microalga foi determinada a cada 48 h através da medida de densidade ótica em espectrofotômetro a 570 nm, utilizando-se uma relação pré-estabelecida entre o peso seco de biomassa e a absorbância. Os cultivos foram mantidos até a fase estacionária de crescimento. A velocidade específica máxima de crescimento $\mu_{\text{Máx}}$ (d⁻¹) foi determinada por regressão exponencial aplicada à fase logarítmica de crescimento (SCHMIDELL *et al.*, 2001).

Determinação de carboidratos na biomassa

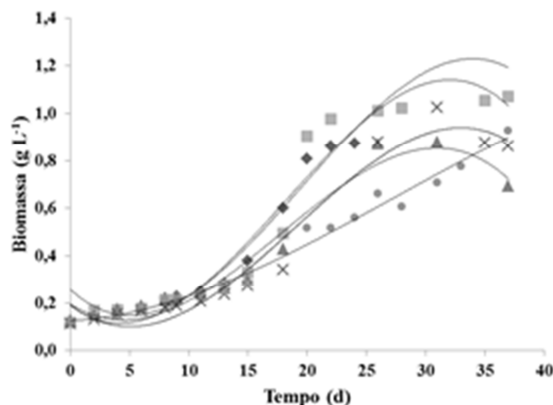
A determinação de carboidratos na biomassa foi determinada pelo método de DNS (MILLER, 1959), com prévia hidrólise ácida dos polissacarídeos através da adição de HCl 1,5 N.

A determinação do consumo de glicose no meio de cultivo foi determinada pelo método de DNS (MILLER, 1959)

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta as curvas de crescimento dos experimentos do Planejamento Fatorial completo 2^2 e do experimento controle.

Figura 1. Curvas de crescimento dos experimentos 1 (♦), 2 (■), 3 (▲), 4 (x) e Controle (●)



A Tabela 2 apresenta os resultados de velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$, dia⁻¹) e concentração de carboidratos (% p/p) obtidos para a microalga *Chlorella homosphaera* nos ensaios do Planejamento Experimental Completo 2².

Tabela 2. Velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$, dia⁻¹) e concentração de carboidratos (% p/p) obtidos na microalga *Chlorella homosphaera* segundo o Planejamento Fatorial Completo 2².

Exp	$\mu_{\text{Máx}}$ (d ⁻¹)	Carboidratos %
1	0,104±0,013	36,76±0,49
2	0,110±0,011	47,05±0,83
3	0,093±0,003	52,91±3,52
4	0,102±0,001	49,39±0,52
Controle	0,065±0,012	48,97±1,30
*controle	-	42,48±1,99

..*sem glicose

As concentrações de NaCl e KNO₃ não apresentaram efeito significativo na velocidade específica máxima de crescimento ($p < 0,05$). Além disso, todas as velocidades específicas dos experimentos foram superiores à do ensaio controle. Portanto, mesmo com a diminuição do componente nitrogenado e aumento do cloreto de sódio, não foi observada diminuição no crescimento da microalga *C. homosphaera*, o que poderia ter ocorrido em função dessas condições ocasionarem estresse celular.

A Figura 2 representa o diagrama de Pareto da influência das concentrações de nitrato de potássio e cloreto de sódio no teor de carboidratos da *Chlorella homosphaera* e a Figura 3 apresenta a superfície de resposta das concentrações de carboidratos em função das variáveis. De acordo com o diagrama de Pareto,

ambas variáveis e a interação entre elas foram significativas sobre o percentual de carboidratos intracelulares ($p < 0,10$), considerando-se um intervalo de confiança de 90%. A maior concentração de carboidratos foi obtida no experimento 3, no qual a microalga foi cultivada com menor concentração de KNO_3 ($0,125 \text{ g.L}^{-1}$) e maior concentração de NaCl ($0,030 \text{ g.L}^{-1}$) (Figura 3).

Figura 2. Diagrama de Pareto dos efeitos das variáveis concentração dos componentes KNO_3 e NaCl .

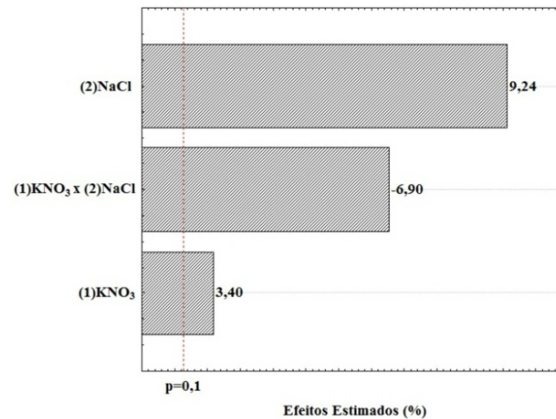
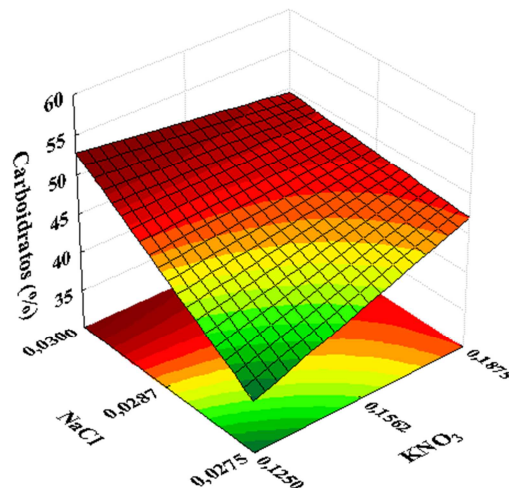


Figura 3. Superfície de Reposta para concentração de carboidratos (%) nos ensaios do Planejamento Experimental de *Chlorella homosphaera* em função das concentrações de NaCl e KNO_3 (g.L^{-1}).



O constituinte nitrogenado do meio de cultivo tem a finalidade principal de estimular a síntese de proteínas intracelulares, desta forma, em condições de detrimento deste macronutriente, o metabolismo é orientado no sentido de síntese de estruturas que não o contenham, como os carboidratos ou lipídios. O estresse salino afeta a atividade osmótica das células, alterando, portanto, as características de produção de compostos importantes para a permeabilidade celular, podendo levar ao acúmulo, principalmente, de lipídios (ABALDE et al., 1995).

Neste trabalho, foi possível uma indicação de concentrações de nitrogênio e NaCl que permitissem, por um lado, o acúmulo de carboidratos, e por outro, a manutenção do crescimento celular, o que é um resultado importante para que a produção de bioetanol seja alcançada. O crescimento celular pode ter sido mantido mesmo nas condições de estresse devido à adição de glicose no meio.

4 CONCLUSÃO

A maior concentração de carboidratos foi obtida no experimento 3, no qual a microalga foi cultivada com menor concentração de KNO_3 ($0,125 \text{ g.L}^{-1}$) e maior concentração de NaCl ($0,030 \text{ g.L}^{-1}$).

As microalgas com altos teores de carboidratos podem ser utilizadas como matéria-prima alternativa à matriz energética atual, diminuindo problemas como utilização de alimentos para produção de bioetanol.

5 AGRADECIMENTOS

CNPQ, FAPERGS, a Universidade de Passo Fundo e Universidade Federal do Rio Grande.

6 REFERÊNCIAS

BORGHETTI, I. A. Avaliação do crescimento da microalga *Chlorella homosphaera* em meio de cultura com diferentes concentrações de manipueira. 2009, 103 p. Dissertação (Mestrado em Processos Biotecnológicos), Universidade Federal do Paraná, 2009;

MARGARITES, A.C.V. Seleção e cultivo de microalgas para a produção de bioetanol. 2010, 99 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos)- Escola de Química e Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande, 2010;

SCHMITZ, R.; DAL MAGRO, C.; COLLA, L.M. Aplicações Ambientais de microalgas. **Revista CIATEC-UPF**, v.4, n.1, p.48-60, 2012.

WATANABE, A. List of algal strains in collection at the Institute of applied microbiology University of Tokyo. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, v. 6, p. 1-4, 1960.

MILLER, G. L. Use of de dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. *Anal. Chem.*, v. 31, n. 3, p. 426-428, 1959.