



## V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

# PERFIL DE CRESCIMENTO DAS MICROALGAS *Chlorella minutissima* e *Spirulina* sp. LEB 18 UTILIZANDO SORO DE LEITE COMO FONTE DE CARBONO

Eduarda Holz Bracher<sup>1</sup>, Ana Paula Aguiar Cassuriaga<sup>1</sup>, Greice Borges Nunes<sup>1</sup>, Adriano Arruda Henrard<sup>1</sup> e Jorge Alberto Vieira Costa<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade Federal do Rio Grande - FURG, Escola de Química e Alimentos  
E-mail para contato: jorgealbertovc@terra.com.br

### RESUMO

As cianobactérias vêm sendo utilizadas na remoção de matéria orgânica e nutrientes de efluentes, como o soro de leite, resíduo da indústria láctea. O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de *Chlorella minutissima* e *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando soro de leite como fonte de carbono. O cultivo das microalgas foi realizado em fotobiorreator tipo Erlenmeyer 500 mL, a 30 °C, fotoperíodo 12 h claro/escuro e adição de soro de leite ao meio de cultivo em 0, 5%, 10%, 15%, 20% e 25% (v/v). Os melhores resultados foram obtidos com *Spirulina* sp. LEB 18, concentração de biomassa 1,93 g.L<sup>-1</sup> com concentração de 25% de soro de leite. Este estudo revelou o grande potencial que a utilização de resíduo de indústria de laticínios para o crescimento de ambas microalgas.

**Palavras-chave:** Biomassa, Efluente, Microalgas.

### INTRODUÇÃO

As aplicações ambientais das microalgas incluem a biofixação de CO<sub>2</sub>, remoção de matéria orgânica, tóxicos de efluentes, produção de biocombustíveis como biodiesel e bioetanol (LACERDA & CACIA, 2013). A biomassa das microalgas e seus produtos estão relacionados com muitas áreas de interesse, como a indústria de alimentos, fármacos, medicina e biocombustíveis (COSTA et al., 2012).

O principal resíduo inutilizado pela indústria de laticínios é o soro do leite, o qual é estimado que a cada 1 kg de queijo produzido seja gerado 10 L de soro de leite, sendo descartados estes (TORRES, 2014). Atualmente as microalgas têm sido incluídas como alternativa de matéria-prima para produção de biocombustíveis (WANG E LAN, 2011). O objetivo deste trabalho foi avaliar o crescimento de *Chlorella minutissima* e *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando soro de leite como fonte de carbono.

### MATERIAL E MÉTODOS

#### Micro-organismo e Condições de Cultivo

As microalgas utilizadas foram *Chlorella minutissima* e *Spirulina* sp. LEB 18 pertencente à Coleção do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande – FURG. Os meios de cultivo que foram utilizados foram Meio Zarrouk modificado, utilizando a concentração de 2,8 g.L<sup>-1</sup> de bicarbonato de sódio para *Spirulina* sp. LEB 18, conforme estudado por Andrade et al., (2008) e Meio Bristol's Modificado (MBM) (WATANABE, 1960) para *Chlorella minutissima*. O meio de cultivo foi complementado com 0%, 5%, 10%, 15%, 20% e 25% (v/v)

de soro de leite estéril. O soro de leite foi esterilizado em autoclave durante 15 min a 121 °C para precipitação das proteínas, após centrifugado a 18800 g e o sobrenadante foi adicionado aos ensaios.

Os cultivos foram realizados em fotobiorreator tipo Erlenmeyer de 500 mL durante 15 d, mantidos em incubadora B.O.D com temperatura de 30 °C, fotoperíodo 12 h claro/escuro e iluminância de 41,6  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . A agitação dos cultivos foi realizada por injeção de ar estéril. O crescimento da biomassa foi monitorado diariamente pela densidade ótica das culturas em espectrofotômetro em comprimento de onda de 670 nm (COSTA et al., 2002). O pH dos cultivos foi determinado diariamente em pHmetro digital.

Foram avaliados os parâmetros cinéticos de crescimento da microalga, como concentração máxima de biomassa, produtividade máxima, obtida segundo a equação  $P = (X_t - X_0)/(t - t_0)$  (SCHMIDELL et al., 2001), velocidade específica máxima de crescimento a partir regressão exponencial aplicada à fase logarítmica de crescimento (BAILEY e OLLIS, 1986) e tempo de geração segundo a equação  $t_g = \ln 2/\mu_{\text{máx}}$  (SCHMIDELL et al., 2001).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

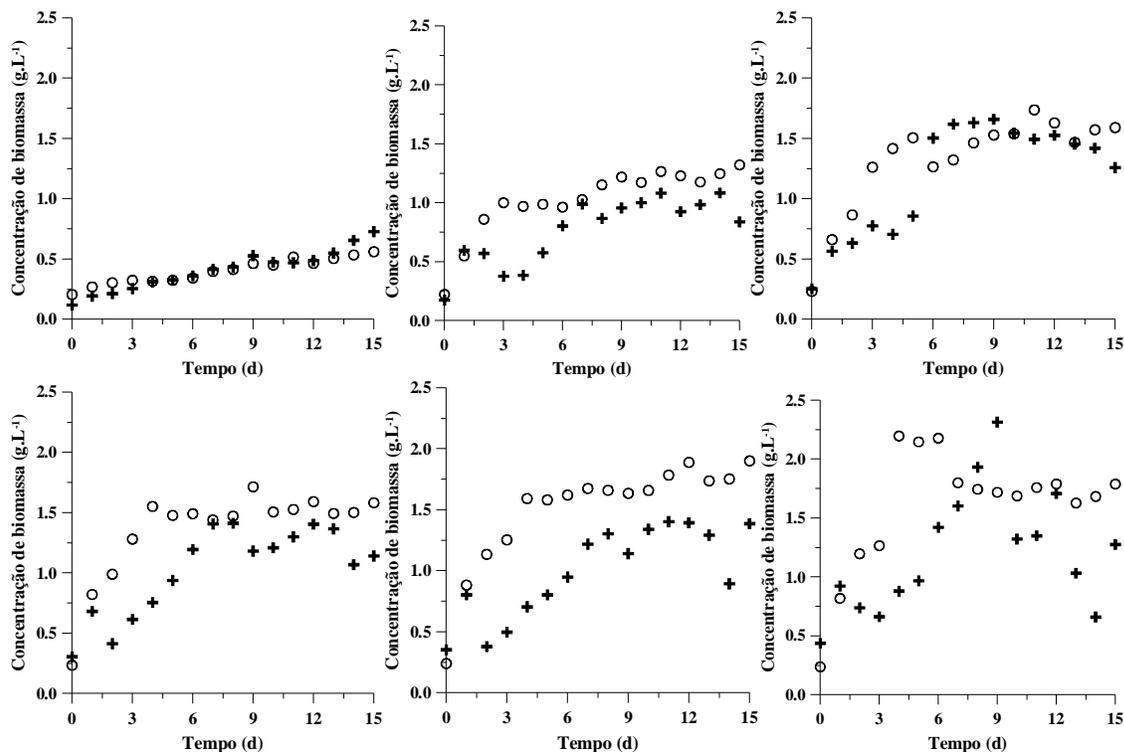
A Figura 1 mostra o perfil de crescimento das microalgas *Chlorella minutissima* e *Spirulina* sp. LEB 18 sob as diferentes condições de cultivo com concentrações de soro de leite 0%, 10%, 15%, 20%, 25% (v/v).

Pode-se observar que nos perfis de crescimento da microalga *Chlorella minutissima* não houve fase de adaptação, porém a *Spirulina* sp. LEB 18 possuiu pequena fase de adaptação, ambas as cepas das microalgas não foram previamente adaptadas às condições de substituição da fonte de carbono. Constata-se também que ocorreu oscilação no crescimento microalgal em maiores concentrações de soro de leite. O início da fase estacionária foi identificado para os ensaios com *Spirulina* sp. LEB 18 em aproximadamente 9 d, a entrada nesta fase para os cultivos microalgais geralmente ocorre devido ao esgotamento de nutrientes ou sombreamento celular (COELHO, 2013).

A Tabela 2 apresenta os valores médios de concentração celular máxima, produtividade máxima, velocidade específica máxima de crescimento e tempo de geração dos ensaios de *Chlorella minutissima* e *Spirulina* sp. LEB 18 com adição de soro de leite estéril.

Foi constatado crescimento celular em todas as concentrações de soro de leite, podendo-se observar que o cultivo de *Chlorella minutissima* com soro de leite obteve-se melhores valores de crescimento celular máximo com adição de 20% de soro de leite. Segundo Vieira (2013) a adição de resíduo de glicerol da indústria de biodiesel em cultivo de *Chlorella* não apresentou crescimento favorável mesmo em baixas proporções, inviabilizando o desenvolvimento celular.

Pode-se também observar que no ensaio de *Spirulina* sp. LEB 18 a melhor concentração celular foi obtida com adição de 25% de soro de leite, alcançando 1,93 g.L<sup>-1</sup>. De acordo com Chojnacka e Noworyta (2004) os cultivos realizados na forma mixotrófica utilizando *Spirulina* sp. obteve-se melhor crescimento celular.



**Figura 1** - Perfil de crescimento das microalgas *Chlorella minutissima* (○) e *Spirulina* sp. LEB 18 (+) em diferentes concentrações de soro de leite, (a) Controle, (b) 95% meio de cultivo + 5% soro de leite (v/v), (c) 90% meio de cultivo + 10% soro de leite (v/v), (d) 85% meio de cultivo + 15% soro de leite (v/v), (e) 80% meio de cultivo + 20% soro de leite (v/v), (f) 75% meio de cultivo + 25% soro de leite (v/v).

**Tabela 1** - Concentração de biomassa máxima ( $X_{m\acute{a}x}$ ), produtividade máxima ( $P_{m\acute{a}x}$ ), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{m\acute{a}x}$ ) e tempo de geração ( $t_g$ ) dos cultivos com adição de soro de leite estéril 0-25%.

Microalga	Concentração de soro de leite	Parâmetros cinéticos			
		$X_{m\acute{a}x}$ (g.L <sup>-1</sup> )	$P_{m\acute{a}x}$ (g.L <sup>-1</sup> .d <sup>-1</sup> )	$\mu_{m\acute{a}x}$ (d <sup>-1</sup> )	$t_g$ (d)
<i>Chlorella minutissima</i>	Controle	0,52±0,29	0,063±0,01	-	-
	5%	1,32±0,03	0,325±0,02	0,494±0,02	1,40±0,06
	10%	1,74±0,10	0,342±0,01	0,409±0,21	1,94±0,99
	15%	1,58±0,16	0,377±0,01	0,216±0,01	3,20±0,03
	20%	1,90±0,04	0,448±0,03	0,186±0,04	3,80±0,82
	25%	1,79±0,08	0,490±0,02	0,252±0,12	3,17±1,64
<i>Spirulina</i> sp. LEB 18	Controle	0,72±0,05	0,074±0,02	0,104±0,01	6,70±0,13
	5%	0,99±0,13	0,166±0,02	0,206±0,05	3,46±0,84
	10%	1,66±0,18	0,312±0,02	0,181±0,05	3,99±1,11
	15%	1,41±0,13	0,157±0,01	0,213±0,02	3,26±0,31
	20%	1,40±0,03	0,124±0,02	0,124±0,06	6,34±3,13
	25%	1,93±0,06	0,208±0,08	0,192±0,01	3,61±0,16



## V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA 05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Os melhores resultados de velocidade máxima de crescimento e tempo de geração para a microalga *Chlorella minutissima* foram  $0,494 \text{ d}^{-1}$ ,  $1,40 \text{ d}^{-1}$ , respectivamente, obtido com adição de 5% de soro de leite. Para *Spirulina* sp. LEB 18 a melhor velocidade específica máxima de crescimento e tempo de geração foram  $6,34 \text{ d}^{-1}$  e  $3,26 \text{ d}$ , respectivamente, com adição de 15% de soro de leite.

### CONCLUSÕES

O cultivo das microalgas *Spirulina* sp. LEB 18 e *Chlorella minutissima* com redução de 50% na fonte de nitrogênio e adição de soro de leite em 5%, 10%, 15%, 20% e 25% (v/v), foram obtidos melhores resultados utilizando a microalga *Spirulina* sp. LEB 18. A concentração máxima de biomassa para os ensaios com *Spirulina* sp. LEB 18 foi  $1,93 \text{ g.L}^{-1}$ , adicionando 25% de soro de leite, já a produtividade máxima foi obtida nos ensaios com 10% de soro de leite,  $0,312 \text{ g.L.d}^{-1}$  e a velocidade específica máxima de crescimento e tempo de geração foram  $0,206 \text{ d}^{-1}$  e  $3,26 \text{ d}$ , respectivamente, adicionando 5% de soro de leite. Sendo esta a melhor cepa para um possível aumento de escala, visto que a interação do metabolismo celular da microalga com o efluente da indústria de laticínios, é um potencial promissor para sua utilização, auxiliando na redução de custos.

**Agências de Fomento:** Capes, CNPq pelo apoio financeiro

### REFERÊNCIAS

- BAILEY, J. E.; OLLIS, D. F. **Biochemical engineering fundamentals**. 2. ed. Singapore: McGraw-Hill, 1986.
- COELHO, V.C.; **Síntese de Biopolímeros pela Microalga *Spirulina* sp. LEB-18 cultivada em Diferentes Concentrações de Nutrientes**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, Brasil, 2013.
- CHOJNACKA, K.; NOWORYTA, A. Evaluation of *Spirulina* sp. Growth in photoautotrophic, heterotrophic and mixotrophic cultures. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 5, p. 34-46, 2004.
- COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P.; KABKE, K.; WEBER, A. Modelling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal Microb Biot**, v. 18, p. 603-607, 2002.
- HUANG, G.; CHEN, F.; WEI, D.; ZHANG, X.; CHEN, G. Biodiesel production by microalgal biotechnology. **Applied Energy**, v. 87, p. 38-46, 2010.
- LACERDA, L.M.C. **Otimização de sistemas de microalgas para mitigação de CO<sub>2</sub> e produção de biodiesel**. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Engenharia Química Unicamp, Campinas, São Paulo, 2013.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, U. DE A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia industrial**. Editora Edgard Blücher, São Paulo, v. 2, 2001.
- TORRES, H.S.J. **Cultivo de microalgas em efluente de tratamento anaeróbio de esgoto**. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, Brasil, 2014.
- VIEIRA, T.Q.; FERREIRA, W.B.; ARAÚJO, H.W.C.; CUNHA, T.H.C.S.; VIDAL, I.C.; MELO, D.J.N. Estudo da viabilidade do uso de resíduos líquidos no cultivo da microalga *Chlorella* sp visando a produção de biocombustíveis. **Revista Monografias Ambientais – REMOA**, v. 13, n. 4, 2014.