



X Congresso Brasileiro de Engenharia Química Iniciação Científica

“Influência da pesquisa em Engenharia Química no desenvolvimento tecnológico e industrial brasileiro”

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Universidade Severino Sombra
Vassouras – RJ – Brasil

CULTIVO DA MICROALGA *Synechococcus nidulans* PARA PRODUÇÃO DE BIOPOLÍMEROS

I. S. Gonçalves¹; R. G. Martins²; M. G. Morais³; J. A. V. Costa³

⁽¹⁾ *Bolsista de Iniciação Científica - CNPq;*

⁽²⁾ *Doutoranda – LEB/EQA/FURG;*

⁽³⁾ *Docentes – LEB/EQA/FURG.*

Laboratório de Engenharia Bioquímica – Escola de Química e Alimentos – FURG, Rua Eng. Alfredo Huck, 475, Rio Grande, RS – CEP: 96203-900 – e-mail: jorgealbertovc@gmail.com

RESUMO – O cultivo de microalgas está atraindo atenção de cientistas algum tempo, pois converte nutrientes em biomassa. A cianobactéria *Synechococcus nidulans*, microalga considerada procariótica e fotossintética, possui capacidade de produzir diversos biocompostos, como biopolímeros. Os biopolímeros possuem características semelhantes aos plásticos de origem petroquímica além de serem biodegradáveis e compatíveis com células e tecidos. O objetivo deste trabalho foi estudar a maior produtividade de biopolímero (PHB) a partir da microalga *Synechococcus nidulans*. Os cultivos foram realizados em triplicata em fotobiorreatores de 2 L com volume útil de 1,5 L, fotoperíodo 12 h claro/escuro e iluminância 3200 Lux. Os experimentos com duração de 25 d tiveram concentração inicial de 0,15 g.L⁻¹. As amostras foram coletadas diariamente para acompanhamento da concentração celular e pH. O biopolímero produzido foi extraído por digestão diferencial, nos tempos de 5, 10, 15, 20 e 25 d. Os rendimentos de biopolímeros obtidos foram 8,83, 10,21 e 11,01%, para as extrações realizadas nos tempos de 10, 20 e 25 dias, respectivamente. Os tempos de 20 e 25 d (10,21 ± 1,95% e 11,01 ± 1,49%) não se diferiram significativamente ao nível de confiança de 95%. O melhor tempo de produção de biopolímeros pela microalga *Synechococcus nidulans* foi 20 d.

Palavras chave: biodegradável, cianobactéria, PHB.

INTRODUÇÃO

Os plásticos de origem petroquímica têm apresentado várias aplicações. São materiais indispensáveis para muitas indústrias, substituindo embalagens e muitos outros produtos (Khanna e Srivastava, 2005). Pesquisas apontam a substituição dos plásticos convencionais por plásticos biodegradáveis,

uma vez que os segmentos de mercado apresentam uma grande conscientização da população pela preservação do meio ambiente, disponibilizando a pagar mais por um produto não poluidor (Da Roz e Giesse, 2003).

Os plásticos biodegradáveis são polímeros que possuem degradação completa em 30 dias ou 12 meses, quando exposta ao

ataque microbiano sob condições apropriadas do meio ambiente (Oliveira *et al.*, 2009).

A cianobactéria *Synechococcus nidulans*, é uma microalga procariótica fotossintética, que possui capacidade de produzir diversos biocompostos, como os biopolímeros (Nishioka *et al.*, 2001). Os biopolímeros produzidos por microalgas pertencem aos poli-hidroxicarboxilatos (PHAs) que apresentam características semelhantes aos plásticos de origem petroquímica além de serem biodegradáveis, biocompatíveis a células e tecidos e não são tóxicos ao ambiente (Chen *et al.*, 2001). O cultivo de microalgas não demanda grandes quantidades de terra e pode ocupar áreas impróprias para a agricultura, não competindo com a produção de alimentos (Nonhebel, 2005; Satynarayana *et al.*, 2011).

O objetivo deste trabalho foi estudar a maior produtividade de biopolímero (PHB) a partir da microalga *Synechococcus nidulans*.

MATERIAL E MÉTODOS

Micro-organismo e Meio de Cultivo

O micro-organismo utilizado no experimento foi a microalga *Synechococcus nidulans* (Radmann *et al.*, 2011). O meio utilizado para a preparação e manutenção do inóculo da microalga estudada foi Zarrouk (Zarrouk, 1966), conforme Tabela 1.

Tabela 1: Composição do meio Zarrouk.

Reagentes	Concentração (g.L ⁻¹)
NaHCO ₃	16,80
K ₂ HPO ₄	0,50
NaNO ₃	2,50
K ₂ SO ₄	1,00
NaCl	1,00
MgSO ₄ .7H ₂ O	0,20
CaCl ₂	0,04
FeSO ₄ .7H ₂ O	0,01
EDTA	0,08
Solução A5	1,00 mL
Solução B6	1,00 mL

Solução A₅: (g.L⁻¹): H₃BO₃: 2,86; MnCl₂.4H₂O: 1,81; ZnSO₄.7H₂O: 0,22; CuSO₄.5.H₂O: 0,08; Na₂MoO₄: 0,02.

Solução B₆: (mg.L⁻¹): NH₄VO₃: 22,96; K₂Cr₂(SO₄)₄.24H₂O: 96,00; NiSO₄.7H₂O: 47,85; Na₂WO₄.2H₂O: 17,94;

TiOSO₄.H₂SO₄.8H₂O: 61,10; Co(NO₃)₂.6H₂O: 43,98.

Condições de cultivo

O cultivo da microalga foi realizado em triplicata em fotobiorreatores fechados de 2,0 L com volume útil de 1,5 L, fotoperíodo 12 h claro/escuro e iluminância 3200 Lux. Os experimentos foram mantidos em câmara termostatizada a 30°C e tiveram duração de 25 d com concentração inicial de 0,15 g.L⁻¹. As amostras foram coletadas assepticamente, a cada 24 h, para acompanhamento da concentração celular e pH.

Extração do biopolímero

A cada 5 dias foi finalizado o experimento e realizado extração do biopolímero. A extração foi submetida à digestão diferencial e sucessivas lavagens com água destilada e acetona. O precipitado (biopolímero) foi seco em estufa a 35 °C durante 48 h.

O rendimento foi calculado, a partir da Equação 1, onde: η é o rendimento de biopolímeros em relação a biomassa microalgal (%), m_{bp} é a massa final de biopolímeros obtida da extração da biomassa microalgal (g) e m_{ma} é a biomassa microalgal (g).

$$\eta = \frac{m_{bp} * 100}{m_{ma}} \quad \text{Eq. 1}$$

RESULTADOS E DISCUSSÃO

As curvas de crescimento da cianobactéria *Synechococcus nidulans* (Figura 1) não apresentaram fase lag de crescimento. Isto ocorreu pois o inóculo foi adaptado anteriormente ao início dos experimentos com seu respectivo meio de cultivo (Tabela 2).

A microalga *Synechococcus nidulans* apresentou início da fase estacionária de crescimento com 24 d de cultivo. Em estudos realizados por Sharma e Mallick (2005) utilizando diferentes condições de cultivo da microalga *Nostoc muscorum* para a produção de biopolímero PHB, foi constatado que a adição de fontes de carbono exógenas e deficiência de fósforo, no meio de cultivo BG-

11, estimularam a produção de PHB. Rendimentos de até 8,6% foram atingidos quando a extração do biopolímero foi realizada no início da fase estacionária de crescimento da microalga e aos 21 d de cultivo, enquanto que na fase logarítmica o rendimento foi 6,1%. Samantaray e Mallick (2012), encontraram na microalga *Aulosira fertilíssima* acúmulo de PHB no final da fase logarítmica de crescimento (14 d) de 6,4%.

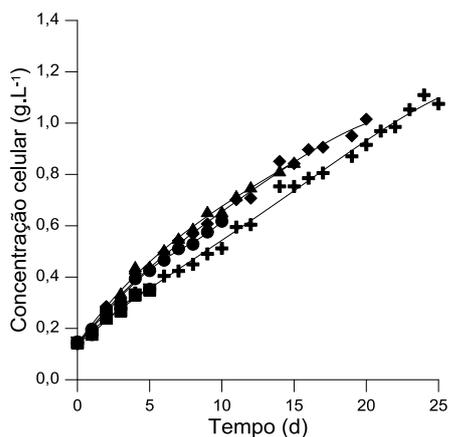


Figura 1: Curvas de crescimento da microalga *Synechococcus nidulans* com 5 (■), 10 (●), 15 (▲), 20 (◆) e 25 (+) dias de cultivo.

A partir dos resultados obtidos foram avaliados os rendimentos dos polímeros extraídos da microalga *Synechococcus nidulans* em diferentes tempos, de acordo com a Tabela 2.

Tabela 2: Resultados obtidos da extração em diferentes tempos de cultivo.

Tempo (d)	Rendimentos (%)
5	1,18 ± 0,23 ^a
10	8,83 ± 0,56 ^{bd}
15	1,00 ± 0,33 ^a
20	10,21 ± 1,95 ^{cd}
25	11,01 ± 1,49 ^c

Os melhores rendimentos de biopolímeros obtidos nas extrações dos tempos de 10, 20 e 25 dias, foram 8,83, 10,21 e 11,01%, respectivamente. Nos tempos de 20 e 25 dias (10,21 ± 1,95% e 11,01 ± 1,49%) não se diferiram significativamente ao nível de confiança de 95%. Panda *et al.* (2006) verificaram que a cianobactéria *Synechocystis*

sp. PCC 6803 acumulava em suas células o biopolímero PHB. Foi constatado que essa microalga, sob deficiência de fósforo e/ou nitrogênio, cultivada em meio BG-11 com adição de fontes de carbono exógenas, apresentou maior rendimento (4,5%) de PHB no início da fase estacionária de crescimento (21 d de cultivo), enquanto que na fase logarítmica o rendimento foi 2,9%.

Várias microalgas são capazes de acumular biopolímeros intracelular, principalmente o poli-3-hidroxibutirato e o copolímero poli(3-hidroxibutirato-co-3-hidroxivalerato) que pertencem ao grupo dos polihidroxialcanoatos. Ao modificar as condições de cultivo, principalmente os nutrientes, consegue-se desviar as vias metabólicas fazendo com que o micro-organismo sintetize maiores quantidades de biopolímeros.

Estudos estão sendo realizados com misturas fotossintéticas de bactérias e algas que acumulam PHA tanto em condições com muito quanto com poucos nutrientes e tem alcançado rendimentos de PHB de 20%. A utilização de culturas fotossintéticas mista surgiu como um sistema alternativo para a produção de PHA como cultura, com o potencial avanço de minimizar custos através da utilização da energia solar (Fradinho *et al.*, 2013).

Rendimentos de biopolímeros altos podem ser alcançados pelas microalgas. Assim é possível observar que diversas microalgas são capazes de acumular intracelularmente grânulos de PHB. Porém, comportamentos distintos são verificados, devido a utilização de diferentes microalgas, além das mudanças dos nutrientes do meio e condições de cultivo.

CONCLUSÃO

O melhor tempo de produção de biopolímeros pela microalga *Synechococcus nidulans* foi 20 d, apresentando rendimento de 10,21%.

REFERÊNCIAS

CHEN, Y.; YANG, H.; ZHOU, Q.; CHEN, J.; GU, G.. Cleaner recovery of poly(3-hydroxybutyric acid) synthesized in

- Alcaligenes eutrophus*. Process Biochemistry, v. 36, p. 501–506, 2001.
- DA ROZ, A. L e GIESSE, R; Polímeros: Ciência e Tecnologia, v. 13, n° 4, 2003.
- KHANNA, S., SRIVASTAVA, A. K. Recent advances in microbial polyhydroxyalkanoates. Process Biochem. 40: 607-619, 2005.
- FRADINHO, J. C.; DOMINGOS, J. M. B.; CARVALHO, G.; OEHMEN, A.; REIS, M. A. M. Polyhydroxyalkanoates production by a mixed photosynthetic consortium of bacteria and algae. Bioresource Technology, v. 132, p. 146-153, 2013.
- NISHIOKA, M. NAKAI, K.; MIYAKE, M.; ASADA, Y.; TAYA, M. Production of poly- β -hydroxybutyrate by thermophilic cyanobacterium, *Synechococcus* sp. MA19, under phosphate-limited conditions. Biotechnology Letters, v. 23, p. 1095-1099, 2001.
- NONHEBEL, S. Renewable energy and food supply: will there be enough land? Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 9, p. 191-201, 2005.
- OLIVEIRA, C. F.; VENDRUSCOLO, C. T.; MOREIRA, A. S. Plástico Biodegradável: Seleção de cepas de *Beijerinckia* Potencialmente Produtora de PHB; Matéria Prima dos Bioplásticos. XVII CIC, XI ENPOS e I Mostra Científica, Universidade Federal de Pelotas (UFPel), Pelotas, Brasil. 2009.
- PANDA, B. JAIN, P.; SHARMA, L.; MALLICK, N. Optimization of cultural and nutritional conditions for accumulation of poly- β -hydroxybutyrate in *Synechocystis* sp. PCC 6803. Bioresource Technology, v. 97, p. 1296-1301, 2006.
- RADMAN, E. M.; CAMERINI, F. V.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. C. Isolation and application of SO_x and NO_x resistant microalgae in biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants. Energy Conversion and Management, v. 52, p. 3132-3136, 2011.
- SAMANTARAY, S.; MALLICK, N. Production and characterization of poly- β -hydroxybutyrate (PHB) polymer from *Aulosira fertilissima*. J. Appl. Phycol., v. 24, p. 803-814, 2012.
- SATYNARAYANA, A. B.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C. A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. International Journal of Energy Research, v. 35, p. 291-311, 2011.
- SHARMA, L.; MALLICK, N. Accumulation of poly- β -hydroxybutyrate in *Nostoc muscorum*: regulation pH, light-dark cycles, N and P status add carbon sources. Bioresource Technology, v. 96, p. 1304-1310, 2005.
- ZARROUK, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima* Geitler. Ph.D. Thesis, University of Paris, 1966.

