



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

AVALIAÇÃO DA CINÉTICA DE CRESCIMENTO E PERFIL LIPÍDICO DE MICROALGAS SOB DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE CO₂

JESUS PCC, LENZI MC, BASSO TO e NASCIMENTO CAO

Universidade de São Paulo, Escola Politécnica, Departamento de Engenharia Química
E-mail para contato: priscilaccj@usp.br

RESUMO – A fixação de CO₂ por microalgas representa uma opção interessante para diminuir os impactos futuros do acúmulo de gases do efeito estufa na atmosfera. Ainda, os bioprodutos extraídos de microalgas são normalmente de difícil obtenção por vias químicas e, em sua maioria, têm alto valor agregado, podendo ser empregados como biocombustíveis, aditivos alimentares ou produtos farmacêuticos. Este trabalho avaliou o crescimento sob crescentes concentrações de CO₂, produção de biomassa e perfil de ácidos graxos de diferentes microalgas isoladas de mangues. Os testes cinéticos sob 0,04, 15 e 30% de CO₂ de 4 microalgas isoladas e 1 consórcio mostraram que sob condições de limitação de CO₂ (0,04%) não houve crescimento, sendo este mais rápido a 15% de CO₂, e ligeiramente mais lento a 30%. Já o acúmulo de biomassa parece ser maior sob 30% de CO₂. Dentre os ácidos graxos industrialmente interessantes, foram detectados C18:3 e C22:6 (ω -3) e C18:2 e C20:3 (ω -6).

1. INTRODUÇÃO

Microalgas são um vasto grupo de cianobactérias e algas microscópicas eucarióticas conhecidas pela habilidade em converter CO₂ para produzir biomassa e oxigênio utilizando energia luminosa. A fixação de CO₂ por microalgas é de 10 a 50 vezes mais rápida do que por plantas terrestres, e aproximadamente 1 kg de biomassa seca de microalgas é capaz de capturar quase 2 kg de CO₂ (Becker, 2007). Uma abordagem interessante é o uso de microalgas para separação e melhoramento de gases. Para este propósito, microalgas devem ser capazes de consumir e tolerar grandes quantidades de CO₂. Diversos estudos foram orientados para definir concentrações ótimas de CO₂ para maximizar o crescimento de diversas espécies de microalgas. Apesar de várias espécies crescerem em condições de 40%, 60% e até acima de 80% de CO₂, as maiores velocidades de crescimento são alcançadas em 5% ou 10-20%, dependendo da espécie (Kativu *et al.*, 2011; Kassim e Meng, 2017).

Sugere-se que o acúmulo de lipídeos por microalgas é aumentado quando estas são cultivadas em situação de estresse, podendo ser por limitação de nitrogênio, ou outros fatores (Moreno *et al.*, 2013). Neste caso, o estresse pode ser provocado por concentrações elevadas de CO₂, condição não habitual. Microalgas têm sido utilizadas para obtenção de metabólitos industrialmente interessantes, além de produção de biodiesel, como os carotenóides,



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

vitaminas, ficobilinas, esteróis, poli-hidroxicarotenos, polissacarídeos e outros compostos para aplicações cosméticas e nutricionais (Borowitzka, 2013).

2. METODOLOGIA

2.1. Isolamento das microalgas

Para a bioprospecção de microalgas altamente tolerantes a CO_2 , amostras de água e sedimentos foram coletadas de 3 locais diferentes em mangues na região de Cubatão, com grande quantidade de matéria orgânica em decomposição e, conseqüentemente, altos níveis de CO_2 e CH_4 (Borges *et al.*, 2003). O método de isolamento foi uma combinação de técnicas descritas em Andersen (2005). Aliquotas de 200 μL de cada amostra líquida, ou uma alçada para as de sedimentos, foram espalhadas em placas de Petri com meio de cultura WC (Andersen, 2005) sólido ou colocadas em meio líquido. As placas e tubos foram incubados a 28°C e luminosidade de 1000 lux (fotoperíodo 14 h/10 h claro/escuro). As colônias crescidas nas placas foram re-plaqueadas, repetindo-se o processo até que colônias bacterianas não se desenvolvessem, e então cultivadas em meio líquido em frascos de 125 mL.

2.2. Ensaios cinéticos a diferentes concentrações de CO_2

Utilizou-se ar puro ou ar enriquecido com CO_2 em diferentes proporções (15 e 30%), utilizando um fluxômetro mássico de gases, para a avaliação da cinética de crescimento dos isolados e consórcio de microalgas, conforme método adaptado de Meier *et al.* (2015). Frascos de 1150 mL vedados foram inoculados (20 mL) em 200 mL de meio WC líquido. Em cada frasco, uma mistura de gases foi empregada para saturar a atmosfera em seu interior (500 mL/min por 3 min) diariamente. Os frascos foram incubados a 28°C e luminosidade de 1000 lux (14h/10h claro/escuro), com agitação a 120 rpm. O crescimento das microalgas foi monitorado a cada 48 h, por 14 dias, por coletas de 3 mL de amostras para verificar a absorbância a 680 nm e o teor de massa seca após centrifugação a 12.000g e liofilização.

2.3. Análise do perfil lipídico

Para a análise dos lipídeos (Bligh e Dyer, 1959), a biomassa de microalga seca referente ao último dia de cultivo (200 mg) foi diluída com 5 mL de clorofórmio/metanol (1:2, v/v) Após 1 h em banho ultrassônico, foram adicionados 2 mL de clorofórmio e 3,6 mL de água, seguida de agitação vigorosa e centrifugação a 1000g por 5 min. As fases orgânicas foram então separadas e concentradas em concentrador a vácuo. Os extratos lipídicos foram re-solubilizados em metanol e 1 μL de cada injetados em cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas para detecção dos compostos lipídicos.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Ensaios cinéticos a diferentes concentrações de CO₂

Sob baixas concentrações de CO₂ (0,04%) não foi observado crescimento dos isolados (L32, SL2C, C4 e SL1B) e do consórcio de microalgas (mix 1). Para as condições de 15% e 30% de CO₂ foram avaliados os parâmetros cinéticos velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}) e produção máxima de biomassa (X_{\max}) (Figura 1).

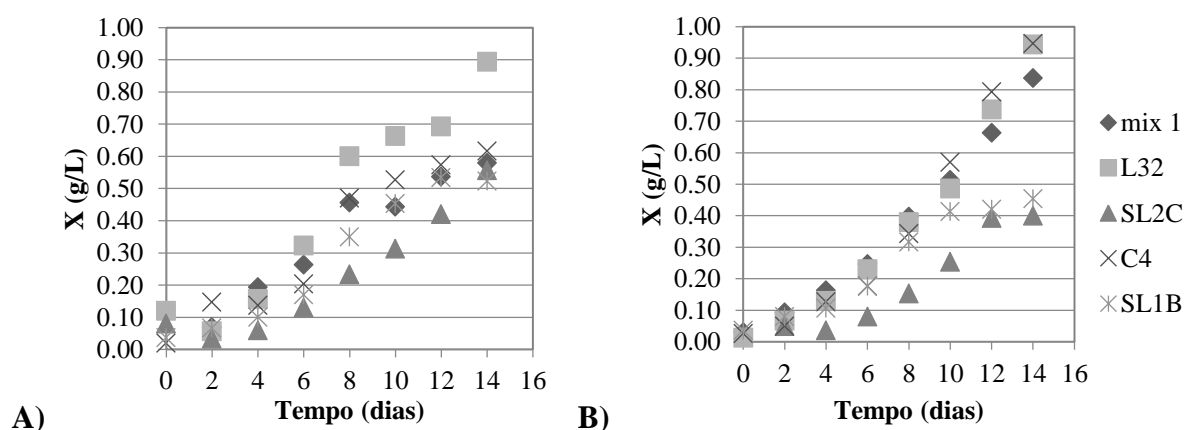


Figura 1 - Curvas de crescimento de isolados e consórcio de microalgas (mix 1) sob 15% (A) e 30% de CO₂ na fase gasosa (B)

Em geral, as velocidades específicas máximas de crescimento foram maiores sob 15% de CO₂ do que sob 30%. Este resultado está de acordo com a literatura, que aponta crescimento mais rápido de microalgas entre 5 e 15% de CO₂, comparando-se com cultivos com maiores concentrações de CO₂ ou sob ar atmosférico (Kativu *et al*, 2011; Kassim e Meng, 2017). Contudo, o acúmulo de biomassa após a fase exponencial foi, em média, maior sob 30% de CO₂. As microalgas que mais se destacaram foram L32 e C4, com valores de μ_{\max} sob 15% e 30% de CO₂ de 0,39/0,29 dia⁻¹ e 0,31/0,32 dia⁻¹, respectivamente, e X_{\max} de 0,89/0,94 g/L e 0,62/0,95 g/L, respectivamente. Esses isolados serão posteriormente identificados por técnicas de biologia molecular e cultivados em fotobiorreator para melhor controle das variáveis do processo, como pH e pressão parcial de CO₂.

3.2. Análise do perfil lipídico

A composição lipídica de microalgas pode variar com as condições de cultivo, sendo principalmente composta por ácidos graxos com 14 a 18 carbonos (Khozin-Goldberg e Cohen, 2011). A quantidade de lipídeos detectada foi proporcional à massa ao final de cada cultivo, e não houve padrão de aumento ou diminuição no número de insaturações dos ácidos graxos conforme o aumento da quantidade de CO₂. Foram detectados alguns compostos industrialmente interessantes, como C18:3 e C22:6 (ω -3) e C18:2 e C20:3 (ω -6).



XXII CONGRESSO
BRASILEIRO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
23 a 26 de Setembro de 2018
Hotel Maksoud Plaza
São Paulo – SP



XVII ENCONTRO BRASILEIRO
SOBRE O ENSINO DE
ENGENHARIA QUÍMICA
27 a 28 de Setembro de 2018
USP
São Paulo – SP

4. CONCLUSÃO

O método de bioprospecção foi eficiente para isolar microalgas altamente tolerantes a CO₂, as quais apresentaram maior velocidade de crescimento sob 15% de CO₂ e maior acúmulo de massa sob 30%, sendo composta por lipídeos com potencial para aplicações biotecnológicas.

5. REFERÊNCIAS

- ANDERSEN RA, *Algal Culturing Techniques*. San Diego: Elsevier, 2005.
- BLIGH EG & DYER WJ. A rapid method for total lipid extraction and purification. *Can J Biochem Physiol*, v. 37, p. 911–917, 1959.
- BORGES AV, DJENIDI S, LACROIX G, THEATE J, DELILLE B & FRANKIGNOULLE M. Atmospheric CO₂ flux from mangrove surrounding waters. *Geoph Res Lett*, v. 30, n. 11, 2003.
- BOROWITZKA MA. High-value products from microalgae-their development and commercialisation. *J App Phyc*, v. 25, n. 3, p. 743-756, 2013.
- KASSIM MA & MENG TK. Carbon dioxide (CO₂) biofixation by microalgae and its potential for biorefinery and biofuel production. *Sci Total Environ*, v. 584, p. 1121-1129, 2017.
- KATIVU E, HILDEBRANDT D, MATAMBO T & GLASSER D. Effects of CO₂ on South African fresh water microalgae growth. *Environ Prog Sustain Energy*, v. 31, n. 1, p. 24-28, 2012.
- KHOZIN-GOLDBERG I & COHEN Z. Unraveling algal lipid metabolism: Recent advances in gene identification. *Biochimie*, v. 93, n. 1, p. 91-100, 2011.
- MEIER L, PEREZ R, AZOCAR L, RIVAS M & JEISON D. Photosynthetic CO₂ uptake by microalgae: An attractive tool for biogas upgrading. *Biomass & Bioenergy*, v. 73, p. 102-109, 2015.
- MORENO R, AITA GM, MADSEN L, GUTIERREZ DL, YAO SM, HURLBURT B & BRASHEAR S. Identification of naturally isolated Southern Louisiana's algal strains and the effect of higher CO₂ content on fatty acid profiles for biodiesel production. *J Chem Technol Biotechnol*, v. 88, n. 5, p. 948-957, 2013.

6. AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi realizado com apoio financeiro da CAPES e FAPESP.