



INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DA SALINIDADE NO CULTIVO DA MICROALGA
DUNALIELLA TERTIOLECTA EM FOTOBIOREATOR AIRLIFT

Nicéia Chies Da Fré^{1,2}, Nilson Romeu Marcílio¹, Rosane Rech²

¹ Laboratório de Processamento de Resíduos (LPR)

² Laboratório de Biotecnologia

¹ Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

R. Eng. Luis Englert, s/n. Campus Central. CEP: 90040-040 - Porto Alegre - RS - BRASIL,

² Instituto de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS)

Caixa Postal 15090. CEP: 91501-970 - Porto Alegre - RS - BRASIL,

E-MAIL: niceia@enq.ufrgs.br

Resumo: Neste trabalho foram estudados os efeitos da variação da salinidade do meio e da temperatura no cultivo da microalga marinha *Dunaliella tertiolecta* em fotobiorreator airlift. Foram obtidas curvas de crescimento da microalga de acordo com um delineamento composto central 2². As quantidades de biomassa (g/L), as taxas de biofixação de CO₂ e o teor de lipídios da biomassa foram determinados para cada experimento. Os resultados obtidos através da análise das superfícies de resposta demonstraram que o maior crescimento foi nas condições 0,715 M NaCl e temperatura 28 °C, obtendo-se 0,39 ± 0,03 g/L de biomassa em 93 horas de cultivo. Nestas condições também se obteve o maior teor de lipídios totais 11,75 ± 1,8 %. As maiores taxas de biofixação de CO₂ (11,34 ± 1,6 g CO₂/m³.h) ocorreram a 28 °C, independentemente da salinidade do meio.

Palavras-chave: microalga, *Dunaliella tertiolecta*, lipídio, fotobiorreator airlift

1. Introdução

O cultivo de microalgas em condições controladas, além de promover a biofixação de dióxido de carbono da atmosfera, pode gerar produtos de interesse comercial como pigmentos, lipídios, proteínas, açúcares, entre outros (SYDNEY *et al.*, 2010). Além disso, estima-se que microalgas produzem até dez vezes mais biomassa por hectare em relação a culturas convencionais (CHISTI, 2007a,b).

O cultivo da microalga marinha unicelular *Dunaliella tertiolecta* é simples, pois estas não se fixam em superfícies e são tolerantes as altas concentrações de sais, o que possibilita o seu cultivo em grande escala ao ar livre (ELENKOV *et al.*, 1996). A faixa de salinidade (M NaCl) empregada em meios de cultivo da microalga *D. tertiolecta* varia de 0,5 a 3,0 M (JAHNKE & WHITE, 2003).

No presente trabalho, foram avaliados os efeitos das variações de salinidade do meio (0,430 a 1,0 M NaCl) e da temperatura (21 a 35 °C) no cultivo da microalga *D. tertiolecta* em fotobiorreator airlift de 2,2 litros. Os resultados obtidos neste trabalho e suas conclusões são importantes para a produção de biomassa desta microalga, bem como para a obtenção de lipídios.

2. Materiais e Métodos

Os experimentos foram realizados com a espécie de microalga marinha *Dunaliella tertiolecta* em fotobiorreator airlift de 2,2 litros (KOCHEM, 2010).

A manutenção das células foi realizada em frascos Erlenmeyer de 250 mL, com 50 mL de meio de cultura f1/2 (GUILLARD, 1975), mantidos em câmara de germinação sob condições controladas de temperatura (20 °C), com fotoperíodo de 12 horas claro e 12 horas escuro, proporcionado por lâmpada fluorescente tipo luz do dia.

A fim de obter um volume adequado de cultura para inocular os fotobiorreatores, foi realizado um cultivo inicial em estufa incubadora rotatória. Foram retiradas alíquotas homogêneas de 10 ml do cultivo mantido na câmara de germinação, as quais foram inoculadas em frascos Erlenmeyer de 500 mL contendo 200 mL de meio f1/2 acrescido de 22 g/L (0,43 M NaCl). Os frascos foram mantidos em estufa incubadora rotatória a temperatura de 28 °C com luz contínua durante 12 dias.

Estes cultivos iniciais foram inoculados em fotobiorreatores estéreis contendo 2.000 mL de meio f1/2 acrescido de NaCl (0,430 M, 0,513 M, 0,715 M, 0,917 M e 1,0 M) conforme o delineamento experimental. Os fotobiorreatores foram iluminados continuamente a 18.000 Lux por um painel de lâmpadas eletrônicas (24 × 13 W,

luz branca, Tashibra). A temperatura foi mantida constante (21, 23, 28, 33 e 35 °C) através da passagem de água de um banho termostático pelo trocador de calor do fotobiorreator. Os cultivos foram realizados em triplicata de acordo com o delineamento composto central apresentado na Tabela 1.

Tabela 1. Planejamento experimental da realização dos cultivos.

Número do experimento	Temperatura (°C)	Salinidade (M NaCl)
1	21 (-1,4)	0,715 (0)
2	23 (-1,0)	0,513 (-1,0)
3	23 (-1,0)	0,917 (+1,0)
4	28 (0)	0,430 (-1,4)
5	28 (0)	0,715 (0)
6	28 (0)	1,0 (+1,4)
7	33 (+1,0)	0,513 (-1,0)
8	33 (+1,0)	0,917 (+1,0)
9	35 (+1,4)	0,715 (0)

O crescimento das culturas foi acompanhado através de medidas de densidade ótica a 570 nm em espectrofotômetro realizadas três vezes ao dia com intervalos aproximados de oito horas e correlacionados com peso-seco.

A duração média de cada cultivo foi 96 horas, tempo necessário para atingir a fase de estabilização ou de início de declínio da cultura.

Após cinco dias de cultivo, as células de cada fotobiorreator foram separadas do meio por centrifugação, lavadas com água e novamente centrifugadas. Posteriormente, a remoção completa de água do material centrifugado de cada tratamento foi obtida através do processo de liofilização.

Amostras do material liofilizado obtido em cada experimento foram analisadas a fim de determinar o teor de lipídios totais em Soxhlet.

3. Resultados e Discussões

Inicialmente, são apresentadas nas Figuras 1, 2 e 3, as curvas de crescimento da microalga *D. tertiolecta* em fotobiorreator *airlift*. Nos gráficos são apresentados os valores médios de biomassa (g/L) ao longo do tempo. Observa-se que nas curvas de crescimento a maior quantidade de biomassa foi obtida nas condições de salinidade 0,715 M NaCl e 28 °C. Os experimentos realizados a 33 °C e 35 °C atingiram a fase de declínio em torno de 70 horas, o que não ocorreu nas demais condições de temperatura.

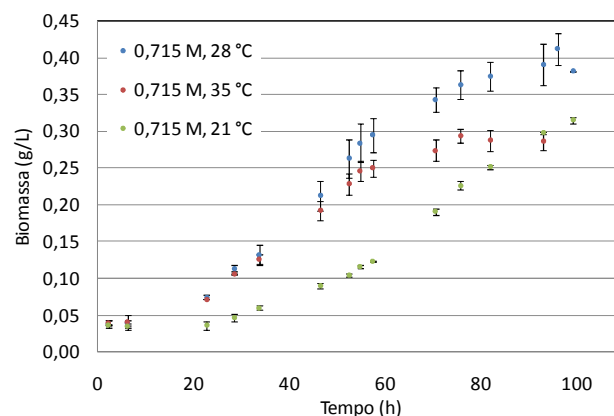


Figura 1. Valores médios de biomassa (g/L) da microalga *Dunaliella tertiolecta* cultivada ao longo de 100 h sob as condições de salinidade 0,715 M e diferentes temperaturas.

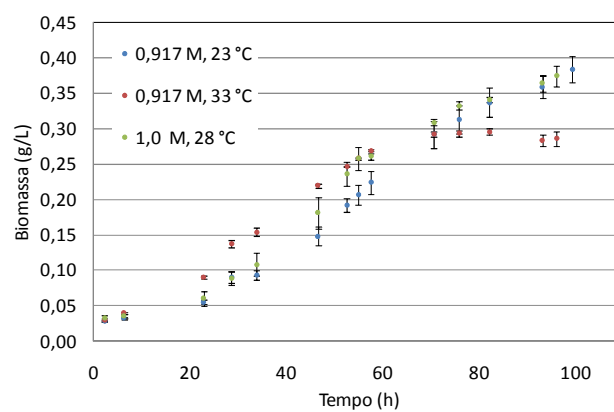


Figura 2. Valores médios de biomassa (g/L) da microalga *Dunaliella tertiolecta* cultivada ao longo de 100 h sob as condições de maiores salinidade.

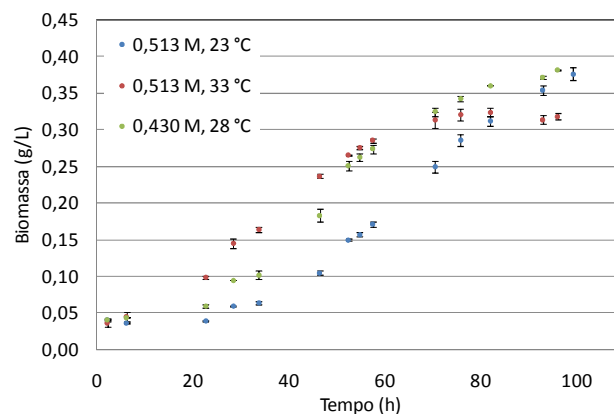


Figura 3. Valores médios de biomassa (g/L) da microalga *Dunaliella tertiolecta* cultivada ao longo de 100 h sob as condições de menores salinidade.

Na Figura 4 é apresentada a superfície de resposta para os valores de biomassa (g/L) em 93 horas de cultivo em função da temperatura e salinidade.

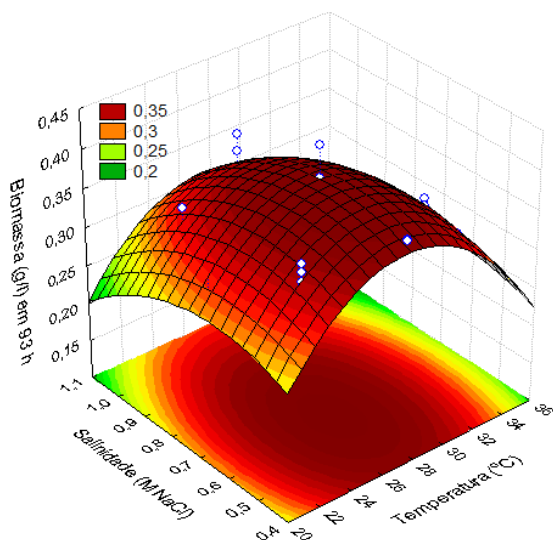


Figura 4. Superfície de resposta para os valores de biomassa (g/L) em 93 horas de cultivo em função da temperatura e salinidade.

Analisando-se a superfície de resposta obtida para os valores de biomassa (g/L) em 93 horas de cultivo para todos os experimentos, conclui-se que as melhores condições de crescimento da microalga *D. tertiolecta* são temperatura 28 °C e salinidade 0,715 M NaCl. Nestas condições, obteve-se $0,39 \pm 0,03$ g/L de biomassa em 93 horas de cultivo.

Também foi obtida uma superfície de resposta (Figura 5) para o teor de lipídios totais das células obtidas nos cultivos variando-se temperatura e salinidade. Analisando-se a superfície de resposta, observa-se que novamente nas condições de cultivo de temperatura de 28 °C e salinidade 0,715 M NaCl foram as melhores para a obtenção de maior quantidade de lipídios. Nestas condições também se obteve um teor de lipídios totais de $11,75 \pm 1,8$ %.

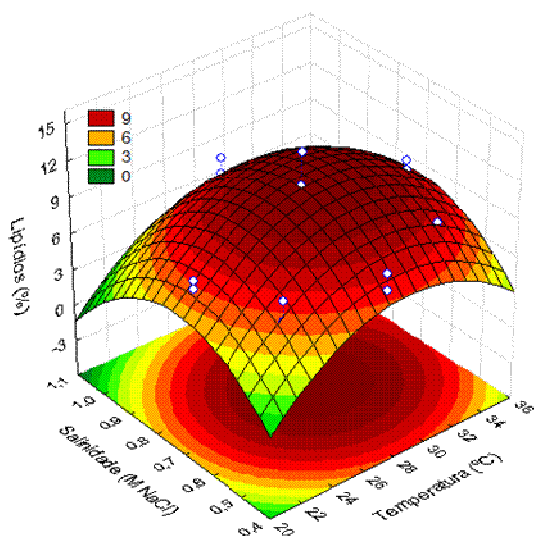


Figura 5. Superfície de resposta para os teores de lipídios totais (%) em função das condições de cultivo temperatura e salinidade.

O resultado obtido de $11,75 \pm 1,8$ % de lipídios totais nas melhores condições de cultivo é muito semelhante ao

resultado obtido por SYDNEY *et al.* (2010) que foi de $11,44 \pm 1,8$ %, porém com condições de cultivo consideravelmente diferentes das utilizadas neste trabalho.

Na Figura 6 são apresentadas as taxas de biofixação de CO₂. Observa-se que as curvas para diferentes salinidades e temperatura de 28 °C são muito semelhantes e representam as maiores taxas obtidas ($11,34 \pm 1,6$ g CO₂/m³.h).

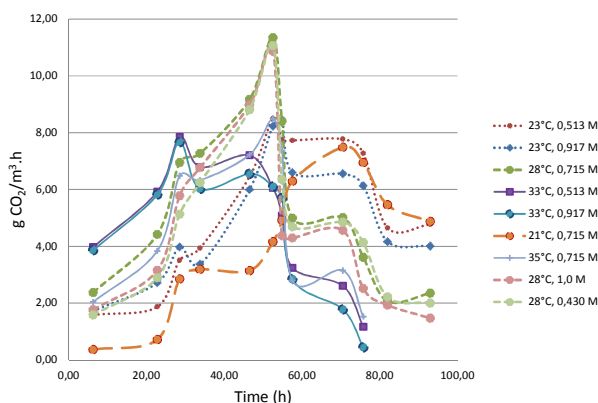


Figura 6. Taxas médias de biofixação de CO₂ da microalga *Dunaliella tertiolecta* cultivada ao longo de 100 h para os experimentos realizados.

4. Conclusão

A partir dos resultados obtidos pode-se concluir que as condições de cultivo de temperatura de 28 °C e salinidade de 0,715 M NaCl são as mais apropriadas para o crescimento da microalga *D. tertiolecta* dentro das condições avaliadas neste trabalho.

Nestas condições obteve-se maior quantidade de biomassa (g/L) e maior teor de lipídios da biomassa analisada. A quantidade de biomassa obtida em 93 horas de cultivo foi de $0,39 \pm 0,03$ g/L e o teor de lipídios totais obtido foi de $11,75 \pm 1,8$ %.

As maiores taxas de biofixação de CO₂ ($11,34 \pm 1,6$ g CO₂/m³.h) ocorreram a 28 °C, independentemente da salinidade do meio.

5. Referências

- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*, v. 25, p. 294-306, 2007a.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, v. 26, p. 6, 2007b.
- ELENKOV, I.; STEFANOV, K.; DIMITROVA KONAKLIEVA, S.; POPOV, S. Effect of salinity on lipid composition of *Cladophora vagabunda*. *Phytochemistry*, v. 42, p. 39-44, 1996.
- GUILLARD, R. R. L. *Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates*. In: Smith, WL & MH Chanley (Eds.) *Culture of Marine Invertebrate Animals*. Plenum, New York, p. 29-60, 1975.
- JAHNKE, L. S. E WHITE, A. L. Long-term hyposaline and hypersaline stresses produce distinct antioxidant responses in the marine alga *Dunaliella tertiolecta*. *Journal Plant Physiology*, v. 160, p. 1193-1202, 2003.

KOCHEM, L. H., Caracterização de fotobiorreator *airlift* para cultivo de microalgas. Trabalho de conclusão do curso de Engenharia Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, RS, Brasil, 2010.

SYDNEY, E. B.; STURM, W.; DE CARVALHO, J. C.; THOMAZ-SOCCOL, V.; LARROCHE, C.; PANDEY, A. E SOCCOL, C. R. Potential carbon dioxide fixation by industrially important microalgae. *Bioresource Technology*, v. 101, p. 5892-5896, 2010.