

Produção de carotenóides por cultivo de microalga *Dunaliella tertiolecta* em fotobiorreator *airlift* sob influência de diferentes condições de salinidade e temperatura

Autor: Tobias Dierings (tobias@enq.ufrgs.br)

Orientador: Prof. Dr. Nilson Romeu Marcilio (nilson@enq.ufrgs.br)

Co-orientador: Prof^a Dr^a Rosane Rech (rrech@ufrgs.br), Prof^a M.Sc. Nicéia Chies da Fré (niceia@enq.ufrgs.br)

1. INTRODUÇÃO

Microalgas são organismos unicelulares com a capacidade de transformar gás carbônico e luz em produtos de alto valor agregado, entre eles, os pigmentos. Por seu rápido crescimento e capacidade de ser cultivada em grande escala, o estudo desse tipo de cultivo é de grande importância no ramo da pesquisa científica, visto que além de capturar o CO₂ da atmosfera no seu crescimento é uma fonte de matéria-prima que não degrada o meio ambiente.

2. OBJETIVO

Através de cultivos da microalga *Dunaliella tertiolecta* em fotobiorreatores do tipo *airlift* sob diferentes condições de temperatura (entre 28 °C e 35 °C) e de concentração salina do meio de cultivo (0,43 M a 1 M de NaCl), determinar a combinação na qual a produção dos carotenóides β-caroteno e luteína é mais acentuada na biomassa seca, para prosseguir a pesquisa usando esses valores, e variando outros parâmetros, como a luminosidade e concentração de nutrientes.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Cultivos

A partir de um banco de algas foram coletadas alíquotas de 10 mL da microalga *D. tertiolecta* e inoculadas em Erlenmeyers estéreis com 200 mL de meio de cultivo Guillard “f1/2” que utiliza água do mar artificial contendo 34 g/L de sal marinho, nutrientes, vitaminas e solução-tampão (pH 7,5 a 8,5). Permanecendo por um período de 12 dias em incubadora rotatória sob iluminação artificial de 7 000 lx e temperatura constante de 30 °C.

Conforme um planejamento composto central, foram elaboradas 9 diferentes combinações de temperatura e concentração de NaCl nas soluções, conforme a Tabela abaixo. Os experimentos foram realizados em duplicata ou triplicata.

Ensaio	Valores codificados		Valores reais	
	X1	X2	T (°C)	S (M)
1	-1,00	-1,00	23	0,513
2	1,00	-1,00	33	0,513
3	-1,00	1,00	23	0,917
4	1,00	1,00	33	0,917
5	0,00	-1,41	28	0,430
6	0,00	1,41	28	1,000
7	1,41	0,00	35	0,715
8	-1,41	0,00	21	0,715
9	0,00	0,00	28	0,715

Os cultivos foram realizados em fotobiorreatores próprios (Figura 1) com volume útil de 2,2 L, fabricados em acrílico e do tipo *airlift* com trocador de calor interno (Figura 2) conectado a um banho térmico que possibilita o controle da temperatura. Após a assepsia, nos mesmos foram colocados 2 L de meio de cultivo estéril e 200 mL de pré-inóculo, dando-se assim, o início ao cultivo. A vazão de ar nos biorreatores foi mantida constante a 0,5 L/min por rotâmetros e a luminosidade em 18 000 lx por iluminação artificial e controlada por medição diária em luxímetro. O crescimento nos reatores foi acompanhado por leitura de densidade óptica a 570 nm em espectrofotômetro. A relação entre biomassa e absorvância é conhecida por uma curva de calibração pré-obtida experimentalmente. Após 96 horas de cultivo os reatores foram centrifugados e a biomassa recolhida e congelada.

3.2 Extração e análise dos pigmentos

As amostras congeladas foram liofilizadas, ou seja, tiveram toda água presente retirada, obtendo assim uma biomassa seca, cerca de 400 mg por fotobiorreator. Para a realização da extração foram pesadas 10 mg de cada amostra. Três tipos de solventes orgânicos foram utilizados: Éter de Petróleo, Éter Etilico e Metanol. Após o procedimento padrão de extração de pigmentos, secou-se o solvente em rota-vaporizador e os carotenóides foram guardados em frascos âmbar, e analisados por HPLC (cromatografia líquida de alta performance).

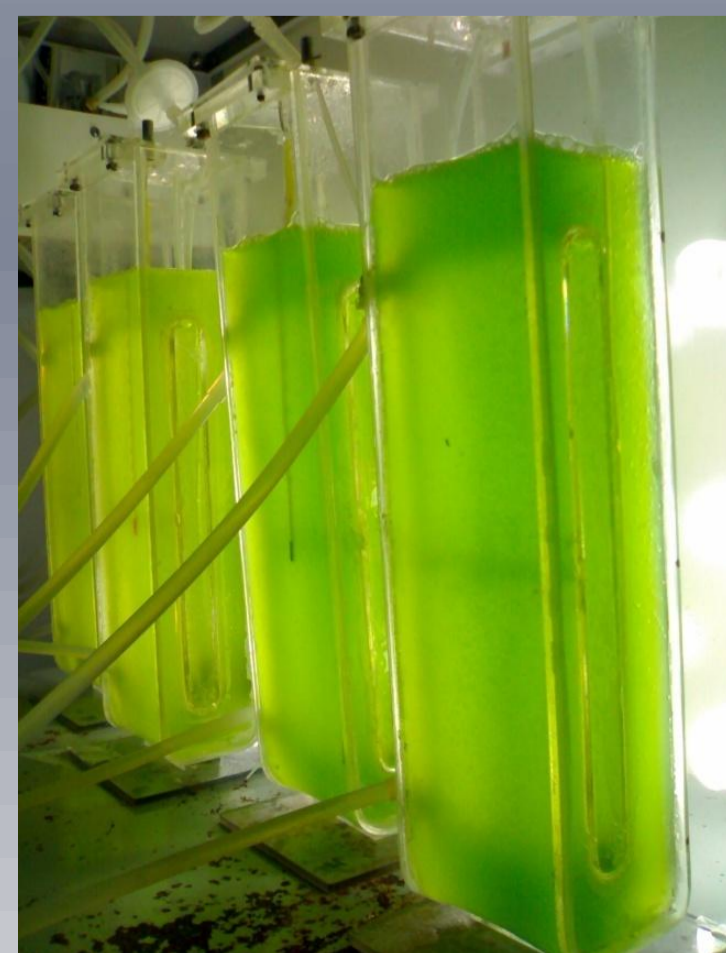
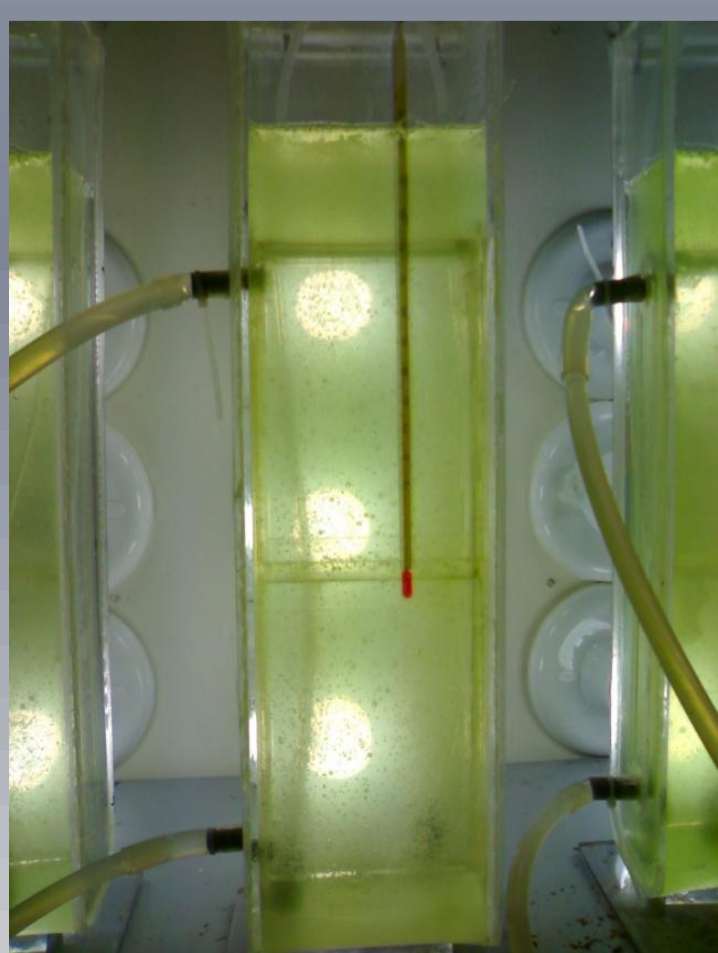


Figura 1: Fotobiorreator após 36 horas de cultivo Figura 2: Reatores com trocador de calor visível

4. RESULTADO E DISCUSSÃO

Identificou-se que a fase de aumento exponencial de microorganismos terminou após 96 horas através da curva de crescimento de cada reator (Figura 3).

Os resultados foram dispostos em superfícies de resposta para a produção dos carotenóides em função da temperatura e da concentração salina (Figuras 4 e 5). A melhor condição foi encontrada em 28 °C e 0,715 M de NaCl, onde a massa de β-caroteno e luteína médias calculadas foram respectivamente 731,9 µg/g e 1314,94 µg/g de microalga seca. Esses valores foram os maiores relativos aos experimentos apresentados nessa pesquisa, mas baixos em relação a artigos científicos sobre a mesma microalga, o que se deve ao pouco tempo de cultivo. A maior produção de carotenóides pela microalga *D. tertiolecta* se dá durante a fase estacionária e nesses experimentos os cultivos foram interrompidos antes que esse período se iniciasse.

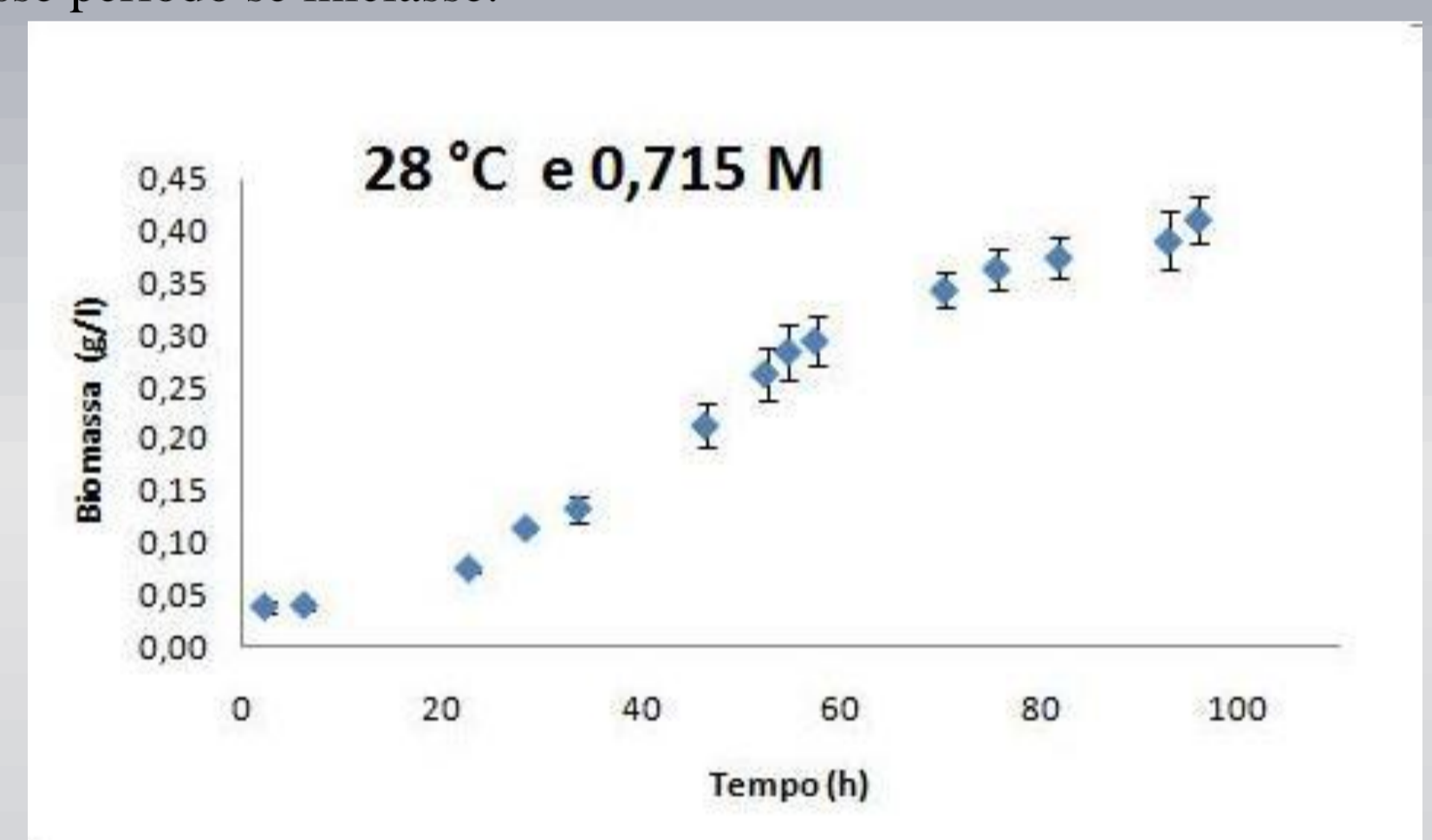


Figura 3: Curva de crescimento da biomassa no cultivo do ponto central

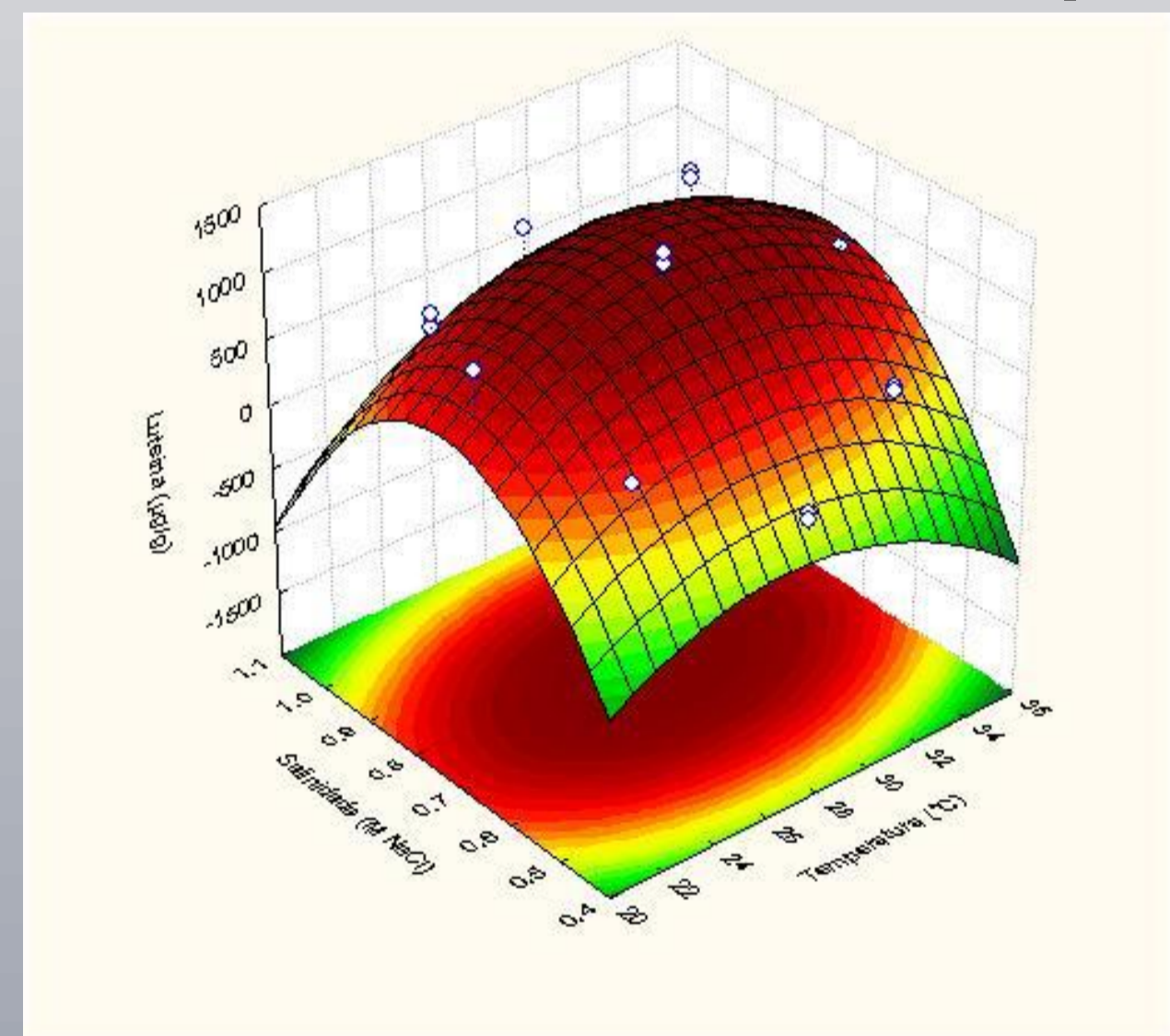


Figura 4: Gráfico da superfície de resposta para a massa de luteína nas amostras

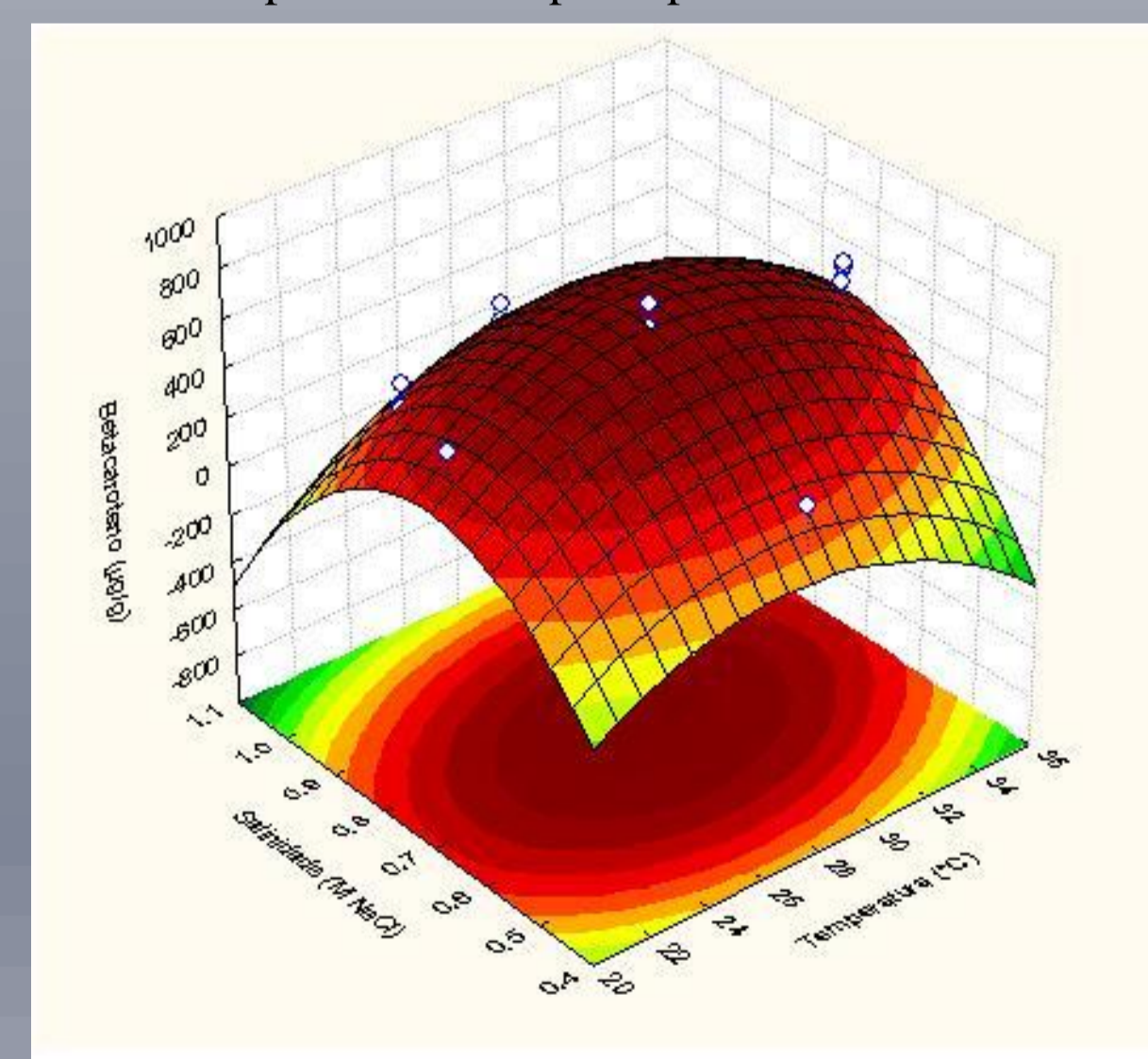


Figura 5: Gráfico da superfície de resposta para a massa de β-caroteno nas amostras

5. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Visto que o objetivo de determinar a melhor condição entre as propostas foi cumprido, o projeto pode ser considerado como bem sucedido e continua com a principal meta de tornar cada vez mais possível a utilização ambiental dos cultivos e industrial em larga escala dos produtos providos de microalgas.