

Tatiane Raquel Rathke

**CONSÓRCIOS MICROBIANOS PROMISSORES PARA OTIMIZAÇÃO DA
PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL**

Santa Cruz do Sul
2016

Tatiane Raquel Rathke

**CONSÓRCIOS MICROBIANOS PROMISSORES PARA OTIMIZAÇÃO DA
PRODUÇÃO DE BIOMASSA MICROALGAL**

Trabalho de conclusão a ser apresentado à disciplina de Trabalho de Curso II, do Curso de Farmácia da Universidade de Santa Cruz do Sul para obtenção do título de Bacharel em Farmácia.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Lisianne Brittes Benitez

Santa Cruz do Sul

2016

RESUMO

As algas são organismos unicelulares ou multicelulares que habitam vários ambientes como os mares, rios, superfícies e lagos, e possuem representantes macroscópicos e microscópicos. O gênero *Desmodesmus sp.* compreende numerosas espécies de microalgas, produtoras de biomassa que é composta por diversos metabólitos de interesse comercial para a produção de suplementos alimentares, pigmentos, de bicompostíveis, cosméticos entre outros produtos. Este estudo teve por objetivo determinar o efeito de bactérias de um efluente no crescimento da microalga *Desmodesmus sp.* cultivados em sistema de consórcio. Inicialmente foi realizada triagem de bactérias presentes no efluente da ETE-UNISC. Foram isoladas oito linhagens com diferentes características morfológicas em ágar nutriente. A atividade antimicrobiana da microalga *Desmodesmus sp.* frente às bactérias foi testada pelo método de ágar-difusão em poços sendo positiva em apenas uma das cepas, que foi então excluída do estudo. Foram estabelecidos consórcios entre as sete linhagens restantes e o cultivo axênico da *Desmodesmus sp.* para avaliação da produção de biomassa, em meio efluente e meio NPK (nitrogênio, fósforo e potássio). No processo de desenvolvimento celular (acompanhado por Câmara de Neubauer) em meio efluente os consórcios com as bactérias 2 e 4 obtiveram maior crescimento celular, enquanto em meio NPK, foram os consórcios com as bactérias 3 e 4. Na determinação da Clorofila em meio efluente, os consórcios com as bactérias 2, 4 e 6 produziram mais clorofila, enquanto em meio NPK foi o controle 1 o maior produtor. No processo de pesagem da biomassa seca, os consórcios, em meio efluente, com as bactérias 3,4 e 7 obtiveram o melhor rendimento, enquanto em meio NPK foram os consórcios com as bactérias 1,5 e 6. Os resultados demonstraram que consórcios entre a microalga e bactérias pode ser otimizado para aumentar o rendimento de biomassa microalgal.

PALAVRAS-CHAVE: *Desmodesmus sp.*, consórcios microbianos, clorofila, biomassa.

Sumário

INTRODUÇÃO	9
2 OBJETIVOS	11
2.1 GERAL	11
2.2 ESPECÍFICOS.....	11
3 FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	12
3.1 MICROALGAS	12
3.2 PERFIS METABÓLICOS	12
3.3 CURVA DE CRESCIMENTO CELULAR.....	13
3.4 SISTEMA DE CULTIVO - FOTOBIOREACTORES	13
3.5 FATORES QUE INFLUENCIAM O CULTIVO E CRESCIMENTO DE MICROALGAS	14
3.6 BIORREMEDIAÇÃO	15
3.7 CONSÓRCIO MICROALGA/BACTÉRIA	16
3.8 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA MICROALGAL	17
3.9 SECAGEM E CONSERVAÇÃO DA BIOMASSA	18
3.10 ATIVIDADE INIBITÓRIA DE MICROALGAS.....	19
4 METODOLOGIA	21
4.1 TIPO DE ESTUDO	21
4.2 AMOSTRA E LOCAL DE ESTUDO.....	21
4.3 CRITÉRIOS DE INCLUSÃO	21
4.4 CULTIVO DA MICROALGA E OBTENÇÃO DA BIOMASSA	21
4.5 ISOLAMENTO E CARACTERIZAÇÃO DAS BACTÉRIAS DO EFLUENTE	22
4.6 DETERMINAÇÃO DA ATIVIDADE ANTIMICROBIANA	22
4.7 ESTABELECIMENTO DOS CONSÓRCIOS MICROALGA-BACTÉRIAS	23
4.8 DETERMINAÇÃO DE CLOROFILA DE BIOMASSA ÚMIDA.....	24
5 RESULTADOS E DISCUSSÃO	25
RESUMO	26
1. INTRODUÇÃO	26
2. MÉTODOS	27
2.1 Cultivo da microalga e obtenção da biomassa	27
2.2 Isolamento e caracterização das bactérias do efluente.....	27
2.3 Determinação da atividade antimicrobiana	28
2.4 Estabelecimento dos consórcios microalga-bactérias.....	28
2.5 Determinação de Clorofila biomassa úmida	30
3. RESULTADOS E DISCUSSÕES	30
4. CONCLUSÕES	37
5. REFERÊNCIAS.....	38
6 CONCLUSÕES	42

REFERÊNCIAS.....	43
ANEXO	47

INTRODUÇÃO

Com combustíveis fósseis limitados, associado ao efeito estufa crescente e a falta de água potável em varias regiões do planeta, a busca de energias renováveis se tornou essencial para a sobrevivência, neste cenário surge uma aposta, as microalgas, com a promessa de fornecer a energia limpa que tanto buscamos (MOLT et al., 2013; ZHAO et al., 2014).

Atualmente se estuda o grande potencial das microalgas como removedores de resíduos industriais e domésticos (atuando como biorremediadores), na produção sustentável de bioenergia e bicombustíveis, além do uso da biomassa que é rica em lipídios e proteínas podendo ela ser empregada na alimentação humana ou animal (MUÑOZ, GUIEYSSE, 2006; VASSEUR et al., 2012; HERNÁNDEZ et al., 2012; ANDRADE, FILHO, 2014).

Elas podem ser cultivadas em águas que contenham resíduos domésticos, agro-industriais ou até mesmo industriais sendo eficientes na remoção de fósforo, nitrogênio amoniacal além de outros compostos, compondo uma alternativa para minimizar o uso de produtos químicos na remoção de tais componentes da água (HERNÁNDEZ et al., 2012; UDOM et al., 2013).

Outros estudos que estão em andamento são de desenvolvimento de co-produtos derivados dos lipídios, presentes na biomassa, por processos termoquímicos de gaseificação, pirólise e torrefacção para o desenvolvimento de carvão animal, gás e bio-óleo. Tentando substituir combustíveis fósseis por alternativas sustentáveis (KHOO et al., 2013). Outra fonte de energia seria o biodiesel, menos poluente que o diesel e não comprometeria o funcionamento de motores (ANDRADE, FILHO, 2014).

Sua utilização vai além da produção de novas fontes de energia, sendo possível também na complementação da ração animal, como uma fonte extra de proteínas, carboidratos e lipídeos onde algumas espécies apresentam altos níveis de vitamina B1, vitamina B2 e β -caroteno e com concentrações suficientes de aminoácidos essenciais que além da alimentação animal também

poderia ser utilizada na elaboração de alimentos humanos, ricas nesses nutrientes (LUM, KIM, LEI, 2013).

A utilização de consórcio microbianos na tentativa de otimizar a produção de biomassa microalgal, vem demonstrando resultados positivos. Nesta forma de mutualismo, a microalga a partir de seu processo de fotossíntese oferece o oxigênio para a bactéria, e a bactéria através do processo de degradação de compostos orgânicos oferece o oxigênio para a microalga (MUÑOZ, GUIEYSSE, 2006).

Percebendo os benefícios do cultivo de microalgas e do grande potencial para a obtenção de bioprodutos a partir da biomassa microalgal buscou-se avaliar se a utilização de consórcios entre bactérias e microalgas teriam influência na produção de biomassa, o que justificaria a importância do presente estudo.

REFERÊNCIAS

- ALVES, E. G. et al. Estudo comparativo de técnicas de screening para avaliação da atividade antibacteriana de extratos brutos de espécies vegetais e de substância puras. **Química Nova**. Vol.31 (5), pp.1224-1229, 2008.
- ANDRADE, D. S.; FILHO, A. C. **Microalgas de águas continentais Potencialidades e desafios de cultivo**. Londrina: IAPAR, 1 ed., pp. 15-196, 2014.
- BASHAN, L. E., ANTOUN, H., BASHAN, Y. Cultivation factors and population size control the uptake of nitrogen by the microalgae *Chlorella vulgaris* when interacting with the microalgae growth-promoting bacterium *Azospirillum brasilense*. **FEMS Microbiology Ecology**. Vol. 54, pp.197–203, 2005.
- BASHAN, L. E., ANTOUN, H., BASHAN, Y. Involvement of Indole-3-acetic acid produced by the growth-promoting bacterium *Azospirillum* spp. In promoting growth of *Chlorella vulgaris*. **Jounal Phycological**. Vol.44, pp.938–947, 2008.
- BRENNAN, L.; OWENDE, P. Biofuels from microalgae—A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. Vol.14(2), pp.557-577, 2010.
- CABANELAS, I. et al. Comparing the use of different domestic wastewaters for coupling microalgal production and nutrient removal. **Bioresource Technology**. Vol.131, pp.429-436, 2013.
- CHEIRSILP, B.; TORPEE, S. Enhanced growth and lipid production of microalgae under Mixotrophic culture condition: Effect of light intensity, glucose concentration and fed-batch cultivation. **Bioresource Technology**. Vol.110, pp.510-516, 2012.
- CHOI, H.; LEE, S. Effect of the N/P ratio on biomass productivity and nutrient removal from municipal wastewater. **Bioprocess and Biosystems Engineering**. Vol.38 (4), pp.761-766, 2014.
- CHU, C. et al. Haemagglutinating and antibiotic activities of freshwater microalgae. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**. Vol.20 (8), pp.817-825, 2004.
- DANQUAH, M. et al. Microalgal growth characteristics and subsequent influence on dewatering Efficiency. **Chemical Engineering Journal**. Vol.151 (1-3), pp.73-78, 2009.
- FERNÁNDEZ, C. G.; SALCES, B. M.; GONZÁLEZ, M. C. G. Nitrogen transformations under different conditions in open ponds by means of microalgae–bacteria consortium treating pig slurry. **Bioresource Technology**. Vol.102 (2), pp.960-966, 2011.

GIM, G. et al. Comparison of biomass production and total lipid content of freshwater green microalgae cultivated under various culture conditions. **Bioprocess and Biosystems Engineering**. Vol.37 (2), pp.99-106, 2014.

GRIMA, M. E. et al. Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics. **Biotechnology Advances**. Vol.20 (7), pp.491-515, 2003.

GUZZON, A. et al. Cultured phototrophic biofilms for phosphorus removal in wastewater treatment. **Water Research**. Vol.42 (16), pp.4357-4367, 2008.

HERNANDEZ, D. et al. Treatment of agro-industrial wastewater using microalgae–bacteria consortium combined with anaerobic digestion of the produced biomass. **Bioresource Technology**. Vol.135, pp.598-603, 2013.

HIGGINS, B.; VANDERGHEYNST, J. Effects of *Escherichia coli* on Mixotrophic Growth of *Chlorella minutissima* and Production of Biofuel Precursors. **Plos One**. Vol.9 (5), pp.1-12, 2014.

HU, Y. et al. Efficient harvesting of marine microalgae *Nannochloropsis* maritime using magnetic nanoparticles. **Bioresource Technology**. Vol.138, pp.387-390, 2013.

INFANTE, C. et al. Propagación de la microalga *Chlorella* sp. en cultivo por lote: cinética del crecimiento celular. **Avances en Ciencias e Ingeniería**. Vol. 3 (2), pp.159-164, 2011.

JANSSEN, P. J. D. et al. Photosynthesis at the forefront of a sustainable life. **Frontiers in Chemistry**. Vol. 2, pp.1-22, 2014.

KHOO, H. et al. Bioenergy co-products derived from microalgae biomass via thermochemical conversion – Life cycle energy balances and CO₂ emissions. **Bioresource Technology**. Vol.143, pp.298-307, 2013.

LEE, A. K.; LEWIS, D. M.; ASHMAN, P. J. Harvesting of marine microalgae by electroflocculation: The energetics, plant design, and economics. **Applied Energy**. Vol.108, pp.45-53, 2013.

LIANG, Y. Producing liquid transportation fuels from heterotrophic microalgae. **Applied Energy**. Vol.104, p.860-868, 2013.

LICHTENTHALER I, H.K. **Chlorophylls and carotenoids: pigment photosynthetic biomembranes. Methods Enzymol.** San Diego. Vol. 148, pp. 362-385, 1987.

LUM, K. K.; KIM, J.; LEI, X. G. Dual potential of microalgae as a sustainable biofuel feedstock and animal feed. **Journal of animal science and biotechnology**. Vol.4 (1), pp.1-7, 2013.

MARCHELLO, A. E. et al. Microalgae population dynamics in photobioreactors with secondary sewage effluents culture medium. **Brazilian Journal of Microbiology**.Vol.46(1), pp.75-84, 2015.

MATA,T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**.Vol.14 (1), pp. 217-232, 2010.

MOAZAMI, N. et al. Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*. **Biomass & Bioenergy**.Vol.39, pp.449-453, 2012.

MOLT, I. K. et al. Metagenome Survey of a Multispecies and Alga Associated Biofilm Revealed Key Elements of Bacterial Algal Interactions in Photobioreactors. **Applied And Environmental Microbiology**.Vol.79 (20), pp.6196-6206, 2013.

MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal–bacterial processes for the treatment of hazardous contaminants: A review. **Water Research**.Vol.40 (15), pp.2799-2815, 2006.

RA, C. H. et al. Cultivation of four microalgae for biomass and oil production using a two-stage culture strategy with salt stress. **Renewable Energy**.Vol.80, pp.117-122, 2015.

RAES, E. et al. Comparison of growth of *Tetraselmis* in a tubular photobioreactor (Biocoil) and a raceway pond. **Journal of Applied Phycology**.Vol.26 (1), pp.247-255, 2014.

SCHWENK, D.; NOHYNEK, L.; RISCHER, H. Algae–bacteria association inferred by 16S rDNA similarity in established microalgae cultures. **Microbiology Open**. Vol.3 (3), pp.356-368, 2014.

SEMARY, N. A. The polyphasic description of a *Desmodesmus* spp. Isolate with the potential of bioactive compounds production. **Biotechnologie, Agronomie, Société et Environnement**. Vol. 15 (2), pp. 231-238, 2010.

SHOW, K.; LEE, D.; CHANG, J. Algal biomass dehydration. **Bioresource Technology**.Vol.135, pp.720-729, 2013.

SINGH, R.N.; SHARMA, S. Development of suitable photobioreactor for algae production – A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**.Vol.16 (4), pp.2347-2353, 2012.

SKJANES, K.; REBOURS, C.; LINDBLAD, P. Potential for green microalgae to produce hydrogen, pharmaceuticals and other high value products in a combined process. **Critical reviews in biotechnology**.Vol.33 (2), pp.172-215, 2013.

SU, Y.; MENNERICH, A.; URBAN, B. Coupled nutrient removal and biomass production with mixed algal culture: Impact of biotic and abiotic factors. **Bioresource Technology**.Vol.118, pp.469-476, 2012.

SUTHERLAND, D. L. et al. Enhancing microalgal photosynthesis and productivity in wastewater treatment high rate algal ponds for biofuel production. **Bioresource Technology**.Vol.184, pp.222-229, 2015.

TAHER, H. et al. A Review of Enzymatic Transesterification of Microalgal Oil-Based Biodiesel Using Supercritical Technology. **Enzyme Research**. Vol. 2011, pp. 1-25, 2011.

TANG, X. et al. Construction of an artificial microalgal-bacterial consortium that efficiently degrades crude oil. **Journal of Hazardous Materials**.Vol.181 (1), pp.1158-1162, 2010.

UDOM, I. et al. Harvesting microalgae grown on wastewater. **Bioresource Technology**.Vol.139, pp.101-106, 2013.

UGWU, C.U.; AOYAGI, H.; UCHIYAMA, H. Photobioreactors for mass cultivation of algae. **Bioresource Technology**.Vol.99 (10), pp.4021-4028, 2008.

VASSEUR, C. et al. Carbon conversion efficiency and population dynamics of a marine algae–bacteria consortium growing on simplified synthetic digestate: First step in a bioprocess coupling algal production and anaerobic digestion. **Bioresource Technology**.Vol.119, pp.79-87, 2012.

WANG, J.; YANG, H.; WANG, F. Mixotrophic Cultivation of Microalgae for Biodiesel Production: Status and Prospects. **Applied Biochemistry and Biotechnology**.Vol.172 (7), pp.3307-3329, 2014.

WATANABE, A. List of algal strains in collection at the Institute of applied microbiology University of Tokyo. **Journal of General and Applied Microbiology**. Vol. 6, pp.1-4, 1960.

WESCHLER, M. K. et al. Process energy comparison for the production and harvesting of algal biomass as a biofuel feedstock. **Bioresource Technology**.Vol.153, pp.108-115, 2014.

YAMAGUCHI, K. Recent advances in microalgal bioscience in Japan, with special reference to utilization of biomass and metabolites: A review. **Journal of Applied Phycology**. Vol.8. pp.487–502, 1996.

ZHAO, X. et al. Characterization of microalgae-bacteria consortium cultured in landfill leachate for carbon fixation and lipid production. **Bioresource Technology**. Vol.156, pp.322-328, 2014.