

CULTIVO DE *Spirulina* sp. LEB 18 UTILIZANDO CAMPOS MAGNÉTICOS DE 6 mT E 30 mT

A. L. CORRÊA¹, M. M. FONTOURA¹, B. C. MENESTRINO¹, G. BUFFON¹, L. O. SANTOS¹

¹ Universidade Federal do Rio Grande, Escola de Química e Alimentos
E-mail para contato: santoslucielen@gmail.com

RESUMO – Campos magnéticos (CM) podem interagir com o metabolismo da microalga podendo gerar estímulos positivos, inibitórios ou nulos na produção de biomassa e síntese de biomoléculas. Desta forma, este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos causados pela aplicação de CM de 6 mT e 30 mT por 1 h d⁻¹ no metabolismo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18. A intensidade 30 mT durante 1 h d⁻¹ causou efeito positivo nos parâmetros cinéticos de $X_{\text{máx}}$, $P_{\text{máx}}$ e $\mu_{\text{máx}}$ em todos períodos de aplicação. No ensaio com 30 mT por 1 d h⁻¹ durante a fase química, foi observado incremento dos valores de $X_{\text{máx}}$ (+ 11,7%), $P_{\text{máx}}$ (+28,4%) e $\mu_{\text{máx}}$ (+9,8%) se comparado ao cultivo controle. A aplicação do CM 6 mT embora tenha causado efeito negativo ao $X_{\text{máx}}$ e $\mu_{\text{máx}}$, pode ter estimulado a síntese de biomoléculas como carboidratos e lipídeos.

1. INTRODUÇÃO

As microalgas apresentam importância em diversas cadeias tróficas são produtoras primárias de oxigênio sendo responsáveis por aproximadamente 60% da produção de O₂. Estes organismos são amplamente estudados devido a moléculas sintetizadas durante seu crescimento, por apresentarem altas taxas de crescimento quando comparados as fontes superiores de biomassa e capacidade de se desenvolver em meios sintéticos bem definidos, o que possibilita a intervenção nas vias metabólicas para obter-se maior produção de biomassa e induzir a síntese de biomoléculas. Estes fatos despertam grande interesse biotecnológico nestes micro-organismos fotossintético uma vez há elevada gama de aplicações biotecnológicas (COSTA; MORAIS, 2014).

Campos magnéticos (CM) podem interagir com o metabolismo de micro-organismos influenciando no crescimento, síntese de biomoléculas, como carboidratos, proteínas e lipídios. Estes efeitos dependem da intensidade, frequência e tempo de exposição ao CM o efeito pode ser estimulante, nulo ou inibitório (MONTROYA *et al.*, 2005; HUNT *et al.*, 2009).

Desta forma, este trabalho teve como objetivo investigar os efeitos causados pela aplicação de CM de 6 mT e 30 mT por 1 h d⁻¹ no metabolismo da microalga *Spirulina* sp. LEB 18.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Micro-organismo e meio de cultivo

No presente estudo foi utilizada a microalga *Spirulina* sp. LEB 18, isolada da Lagoa Mangueira, localizada no município de Santa Vitória do Palmar - RS (MORAIS e COSTA, 2008) cultivada em meio Zarrouk (ZARROUK, 1966), o mesmo meio foi utilizado para manutenção do inóculo, este foi mantido em erlenmeyer de 2 L nas mesmas condições de temperatura e luminosidade dos ensaios.

2.2 Fotobiorreatores e condições de cultivo

Os cultivos foram realizados em fotobiorreatores tubulares verticais (FTV) de 2 L, com volume útil de 1,8 L, mantidos em estufa termostatzada a 30°C, iluminância de 61 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 12 h claro/escuro durante 15 d. A agitação dos cultivos foi realizada através da injeção de ar comprimido com vazão de 0,2 vvm. A evaporação de água foi controlada pela manutenção diária do volume da cultura com reposição de água destilada estéril.

A microalga foi exposta a CM gerados por ímãs de ferrite adaptados ao FTV. Os ensaios realizados foram: FF (30 mT durante 1 h d^{-1} na fase fotoquímica), FQ (30 mT por 1 h d^{-1} na fase química) e também foi realizado o cultivo (S) com indução magnética por meio de solenoide de fio de cobre esmaltado com 100 espiras, acopladas ao redor da parte externa do FTV. As extremidades dos fios condutores dos solenoides foram conectadas a fonte de alimentação (Impac, IP1520A, Brasil). Estas fontes forneceram corrente elétrica de 10 A, gerando assim o CM de 6 mT uniforme no sentido perpendicular à seção reta no solenoide a microalga foi exposta a esta intensidade por 1 h d^{-1} . O cultivo controle (CC) foi realizado na mesma condição de temperatura, luminosidade, aeração e nutrientes, porém sem exposição ao CM. Diariamente foi determinada a concentração celular em espectrofotômetro a 670 nm Costa et al., (2002), e pH em pHmetro digital.

2.3 Parâmetros cinéticos e relação entre os ensaios com e sem aplicação dos CM

Os parâmetros cinéticos avaliados foram concentração celular máxima ($X_{\text{máx}}$, g L^{-1}); produtividade máxima de biomassa ($P_{\text{máx}}$, $\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$) e velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$, d^{-1}).

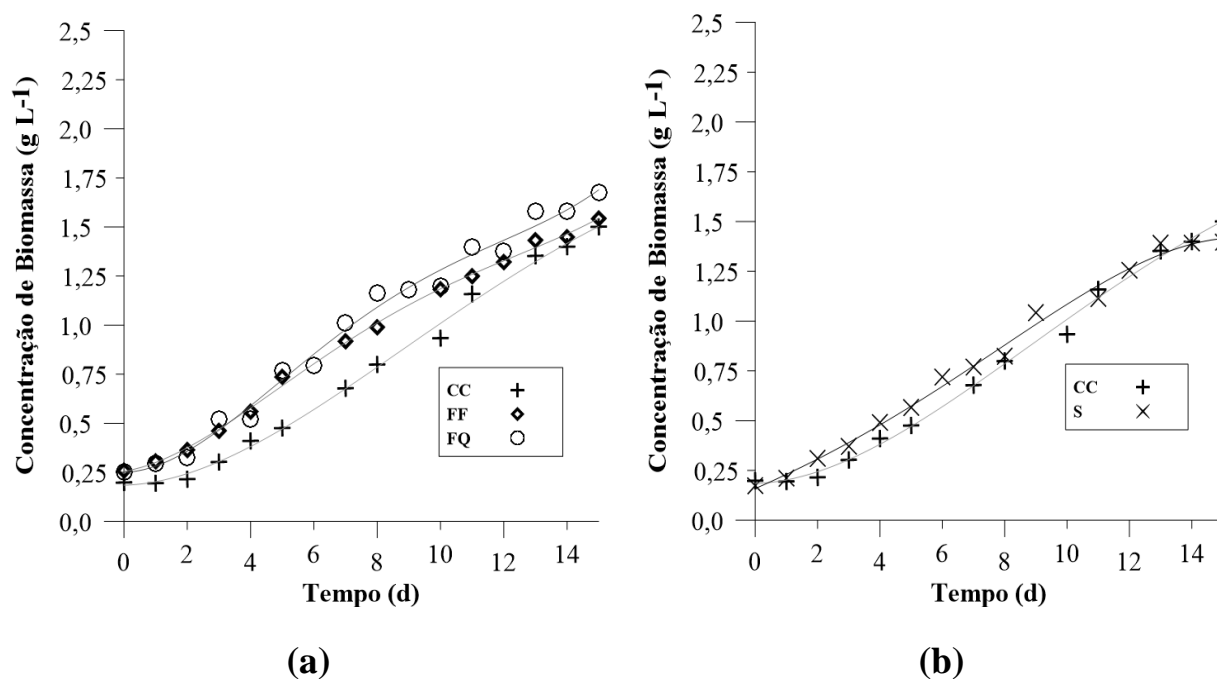
A relação entre os resultados obtidos nos cultivos controle e os cultivos com aplicação de CM, para as respostas analisadas foi calculada de acordo com a Equação 1, onde C_{ac} é a resposta com aplicação do CM e C_{c} é a resposta do ensaio controle (DEAMICI, COSTA e SANTOS, 2016).

$$\text{Relação} = \left(\frac{C_{\text{ac}} - C_{\text{c}}}{C_{\text{c}}} \right) \cdot 100 \quad (1)$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a concentração de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 ao longo do tempo de cultivo sob ação de CM de 6 mT e 30 mT. Ao analisar a figura é possível observar que em todas as condições de cultivo a microalga apresentou fase lag de 2 d. Os ensaios apresentaram estímulo no crescimento celular a partir do 3º dia de ensaio, sendo que para os cultivos FF e FQ o estímulo permaneceu até o 15º d. Já quando o CM foi aplicado por solenoide (6 mT) foi observado efeito inibitório no crescimento celular a partir do 11º d. Desta forma pode-se confirmar que o efeito do CM depende do tempo de exposição e intensidade.

Figura 1 – Concentração de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18. (a) FF - 30 mT durante 1 h d⁻¹ da fase fotoquímica; FQ - 30 mT durante 1 h d⁻¹ da fase química e CC – cultivo controle; (b) S- 6 mT por 1 h d⁻¹ durante a fase fotoquímica com indução por solenoide e CC – cultivo controle.



A maior concentração de biomassa foi obtida no 15º d de ensaio com aplicação de 30 mT por 1 h d⁻¹ durante a fase química da fotossíntese, $1,68 \pm 0,01$ g L⁻¹, (Tabela 1). Deamici, Costa e Santos (2016), assim como evidenciado neste estudo, observaram efeito estimulante no crescimento de *Spirulina* quando a mesma foi exposta a 30 mT por 1 h d⁻¹ durante a fase fotoquímica da fotossíntese ($2,37 \pm 0,16$ g L⁻¹), já quando a mesma foi exposta a mesma intensidade, porém por 24 h d⁻¹, o $X_{máx}$ foi $1,67 \pm 0,4$ g L⁻¹.

Tabela 1 – Concentração de biomassa máxima ($X_{\text{máx}}$), produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e tempo de geração (t_g) obtidos nos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 com aplicação de 30 mT.

Ensaio	$X_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹)	$P_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	$\mu_{\text{máx}}$ (d ⁻¹)	t_g (d)
CC	1,50±0,06 ^a	0,09±0,01 ^a	0,13±0,01 ^b	5,33±0,52 ^a
FF	1,55±0,11 ^a	0,10±0,01 ^a	0,14±0,01 ^b	4,94±0,41 ^a
FQ	1,68±0,01 ^a	0,11±0,04 ^a	0,11±0,02 ^b	6,20±0,82 ^a
S	1,40±0,02 ^a	0,13±0,01 ^a	0,20±0,01 ^a	3,54±0,02 ^a

CC – cultivo controle; FF - 30 mT durante 1 h d⁻¹ da fase fotoquímica; FQ - 30 mT durante 1 h d⁻¹ da fase química e S- 6 mT por 1 h d⁻¹ durante a fase fotoquímica com indução por solenoide. Letras minúsculas iguais representam que não há diferenças significativas entre colunas a 95% de confiança (p<0,05).

Os resultados dos parâmetros cinéticos observados na Tabela 1 não diferiram estatisticamente ($p < 0,05$), com exceção do valor de $\mu_{\text{máx}}$ para o solenoide. Porém, foram alcançados efeitos positivos nos ensaios FF e FQ. No ensaio FF foi conseguido incremento de 28,4% no valor de $P_{\text{máx}}$. Entretanto, o ensaio com 6 mT obteve efeito inibitório de 7% na $X_{\text{máx}}$ e 4,7% no $\mu_{\text{máx}}$. Estes resultados diferiram do observado por Deamici, Costa e Santos (2016), que obtiveram efeito positivo no $X_{\text{máx}}$ (+20,5%) com a mesma microalga. Tal divergência pode estar relacionado ao efeito “janela”. Pois de acordo com Panagopoulos e Margaritis, (2010) as “janelas” representam uma área ainda pouco explorada dos efeitos biológicos da radiação eletromagnética dos campos, onde o aumento da bioatividade aparece dentro de certos parâmetros físicos do campo, não significando que a intensidade e tempos mais baixos ou mais altos causaram efeito linear.

A exposição a 5 mT em *Spirulina platensis* IAM M-135 causou efeito inibitório ao crescimento (HIRANO *et al.* 1998). Sendo assim, diferentes estratégias de aplicação, intensidades, espécie e idade fisiológica da célula, proporcionam diferentes respostas a aplicação do CM.

Tabela 2 – Relação entre os resultados obtidos nos cultivos controle e os cultivos com aplicação de CM

Ensaio	$X_{\text{máx}}$ (%)	$P_{\text{máx}}$ (%)	$\mu_{\text{máx}}$ (%)
FF	+ 3,0	+ 7,2	+ 8,9
FF	+ 11,7	+ 28,4	+ 9,8
S	- 7,0	+ 8,7	- 4,7

FF - 30 mT durante 1 h d⁻¹ da fase fotoquímica; FQ - 30 mT durante 1 h d⁻¹ da fase química e S- 6 mT por 1 h d⁻¹ durante a fase fotoquímica com indução por solenoide.

4. CONCLUSÃO

A intensidade 30 mT durante 1 h d⁻¹ causou efeito positivo nos parâmetros cinéticos de $X_{\text{máx}}$, $P_{\text{máx}}$ e $\mu_{\text{máx}}$, quando o CM foi aplicado durante a fase fotoquímica ou na fase química da fotossíntese. Sendo que os maiores estímulos foram no ensaio com 30 mT por 1 d h⁻¹ durante

a fase química $X_{\text{máx}}$ (+ 11,7%), $P_{\text{máx}}$ (28,4%) e $\mu_{\text{máx}}$ (+9,8%). Sendo assim é notável que aplicação de CM nesta condição pode aumentar a produtividade de biomassa, assim como modificar a composição da biomassa. A aplicação do CM 6 mT embora tenha causado efeito negativo ao $X_{\text{máx}}$ e $\mu_{\text{máx}}$, pode causado efeito estimulado na síntese de biomoléculas como carboidratos e lipídeos.

5. REFERÊNCIAS

- COSTA, J. A. V.; MORAIS, M. G. An Open Pond System for Microalgal Cultivation. In: Biofuels from Algae. [s.l.] Elsevier, 2014. p. 1–22.
- COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P.; KABKE, K.; WEBER, A. Modeling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. *World J. Microb. Biot.*, v. 18, p. 603-607, 2002.
- DEAMICI, K. M.; COSTA, J. A. V.; SANTOS, L. O. Magnetic fields as triggers of microalga growth: evaluation of its effect on *Spirulina* sp. *Bior Tech*, v. 220, p. 62–67, 2016.
- HIRANO, M.; OHTA, A.; ABE, K. Magnetic field effects on photosynthesis and growth of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *J. Ferm and Bioeng*, v. 86, n. 3, p. 313–316, 1998.
- HUNT, R. W., A. ZAVALIN, A. BHATNAGAR, S. CHINNASAMY, K. C. DAS. Electromagnetic biostimulation of living cultures for Biotechnology, Biofuel and Bioenergy applic. v. 10, p. 4719-4722, 2009.
- MONTOYA, J. E. Z.; RAMIREZ, M. H.; OSPINA, G. M. Acción de un campo magnético sobre un cultivo aireado de *Saccharomyces cerevisiae*. v. 30, p. 409-413, 2005.
- MORAIS, M. G., COSTA, J. A. V. Photobioreactor tubular for removing or fixing of carbondioxide, greenhouse gases using microalgae and cianobactera, involves reducing emissions of main gas responsible for global warming and other gases of greenhouse effect. Patent Number:BR200702736-A, 2008.
- PANAGOPOULOS, D. J.; MARGARITIS, L. H. The identification of an intensity “window” on the bioeffects of mobile telephony radiation. *International Journal of Radiation Biology*, v. 86, n. 5, p. 358–366, 16 maio 2010.
- ZARROUK, C., 1966. Contribution à l’étude d’une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. Ph.D Thesis, Université de Paris.