

INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA NO CRESCIMENTO DA MICROALGA *Spirulina* sp. LEB 18

M. M. FONTOURA¹, A. L. CORRÊA¹, M. C. VEIGA¹ e L. O. SANTOS¹

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

RESUMO – Microalgas são consideradas um dos mais eficientes sistemas biológicos de transformação de energia solar em compostos orgânicos, pois quando cultivadas em condições adequadas certas espécies podem duplicar sua biomassa diariamente. A cianobactéria *Spirulina* possui em sua composição nutricional aminoácidos essenciais, vitaminas, pigmentos, ácidos graxos poli-insaturados e sais minerais, bem como elevado teor proteico, por isso a adição da biomassa desta cianobactéria em alimentos torna-se interessante. Diferentes temperaturas durante o cultivo microalgal vêm sendo estudadas com o objetivo de aumentar o crescimento microalgal e a eficiência de seu cultivo. Neste estudo foi utilizada a microalga *Spirulina* sp. LEB 18, mantida em meio Zarrouk e cultivada em fotobiorreatores tubulares de 2 L, com volume útil de 1,8 L durante 16 d. Foram testadas temperaturas de 30 e 35 °C. Foram feitas análises para determinação da concentração celular e pH. A concentração de biomassa máxima ($X_{máx}$) foi $1,02 \pm 0,04$ g L⁻¹ utilizando a temperatura de 30 °C e $1,01 \pm 0,02$ g L⁻¹ a 35 °C. O pH dos cultivos ficou na faixa de 9,6 a 10,23.

1. INTRODUÇÃO

Microalgas são micro-organismos fotossintetizantes com requerimento nutricional relativamente simples. A biomassa microalgal e os biocompostos obtidos a partir dela destinam-se a diversas aplicações, como suplemento alimentar para humanos, ração animal, produção de biocombustíveis, tratamento de águas residuais e biocorantes (BERTOLDI *et al.*, 2008). A cianobactéria *Spirulina* é reconhecida como GRAS (*Generally Recognized as Safe*) pelo FDA (*Food and Drug Administration*) o que permite sua utilização em formulações alimentares. A utilização da biomassa de *Spirulina* em alimentos torna-se interessante em comparação com a produção convencional de proteínas, pois esta microalga necessita de água, luz, dióxido de carbono e nutrientes inorgânicos para se desenvolver (CHRONAKIS; MADSEN, 2011).

Fatores como temperatura, iluminação, pH e disponibilidade de nutrientes no meio durante cultivo microalgal, podem influenciar no crescimento e na composição da biomassa de microalgas. Neste contexto, alguns parâmetros nos cultivos vêm sendo modificados com o objetivo de estimular o crescimento e induzir a produção de biomoléculas de interesse. Dentre estes parâmetros destaca o uso de diferentes temperaturas no meio de cultivo (COLLA *et al.*, 2007).

Para que os componentes do meio de cultura sejam devidamente absorvidos, deve-se controlar o pH, o qual é influenciado pelas proporções entre formas de carbono dissolvidas na água de cultivo. O consumo do CO₂ afeta diretamente o crescimento das microalgas e como consequência, modifica o pH do sistema (LOURENÇO, 2006). Com isso o objetivo do trabalho foi avaliar a influência de diferentes temperaturas (30 e 35 °C) no crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 Micro-organismos e condições de cultivo

Neste estudo foi utilizada a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 isolada da Lagoa Mangueira localizada no município de Santa Vitória do Palmar – RS (MORAIS *et al.*, 2008). O inóculo foi mantido em frasco erlenmeyer de 2 L, com volume útil de 1,8 L, a 30 °C e utilizando meio de cultivo Zarrouk (ZARROUK, 1966), sob iluminância de 60 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo 12 h claro/escuro.

Os cultivos foram realizados durante 16 dias em fotobiorreatores tubulares verticais de 2 L e volume útil de 1,8 L, com iluminância de 30 μmol m⁻² s⁻¹ e fotoperíodo 12 h claro/escuro. Os ensaios foram mantidos em estufas termostatizadas, onde foram testadas as temperaturas de 30 e 35 °C. Para a aeração dos cultivos foi utilizada a vazão de 0,3 vvm (volume de ar volume de meio⁻¹ min⁻¹) e a concentração celular inicial foi 0,2 g L⁻¹.

A evaporação da água durante o cultivo foi controlada por meio da manutenção do volume das culturas com reposição diária de água destilada estéril. Os cultivos foram realizados em triplicata. Diariamente foi retirada amostra de 5 mL de cada fotobiorreator para avaliação da concentração celular e pH.

2.2 Determinações analíticas

A concentração de biomassa foi determinada mediante leitura da densidade ótica dos cultivos em espectrofotômetro, com comprimento de onda de 670 nm (MORAIS *et al.*, 2008), utilizando curva padrão que relaciona a densidade ótica e a massa seca de biomassa.

O pH dos cultivos foi avaliado por meio da leitura direta em pHmetro digital.

2.3 Avaliação dos parâmetros de crescimento

Os parâmetros determinados nos cultivos foram: a produtividade máxima (P_{máx}) (Equação 1), velocidade específica máxima de crescimento (μ_{máx}) (Equação 2), concentração de biomassa máxima (X_{máx}) e tempo de geração (t_g) (Equação 3).

$$P_{máx} = \frac{(X - X_0)}{(t - t_0)} \quad (1)$$

$$\mu_{m\acute{a}x} = \frac{1}{x} \cdot \frac{dx}{dt} \quad (2)$$

$$t_g = \frac{\ln(2)}{\mu_{m\acute{a}x}} \quad (3)$$

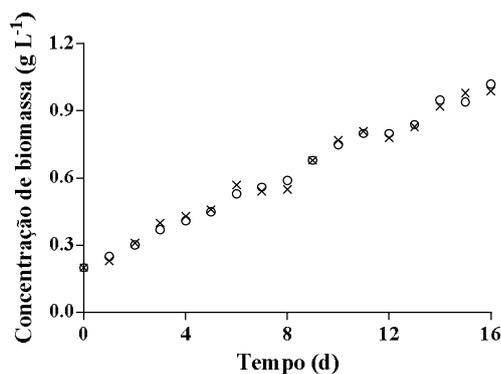
2.4 Avaliação dos parâmetros de crescimento

As respostas obtidas nos ensaios foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) e por teste de Tukey para comparação entre médias, com nível de significância de 95% de confiança.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta a concentração de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 ao longo do tempo de cultivo. Ao analisar esta Figura foi possível observar que houve crescimento celular desde o início do cultivo. A maior concentração de biomassa foi encontrada no 16º d nas duas temperaturas testadas.

Figura 1. Concentração de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 em temperatura de 30°C (o) e 35°C (x).



Conforme pode ser observado na Tabela 1, não houve diferença significativa no crescimento da microalga, portanto é possível cultivar a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando ambas as temperaturas para a produção de biomassa. Segundo Vonshak (1997), a temperatura ótima para o crescimento desta cianobactéria encontra-se entre 30°C e 35°C.

Apesar da concentração não diferir significativamente, a composição da biomassa pode ser diferente. Ao utilizar a temperatura de 35°C, Colla *et al.* (2007) reportaram aumento na concentração de proteína da biomassa de *Spirulina* (74%), em comparação com a temperatura de 30 °C (62%).

Tabela 1. Concentração de biomassa máxima ($X_{máx}$), produtividade máxima ($P_{máx}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$) e tempo de geração (t_g) obtidos nos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando 30 e 35 °C.

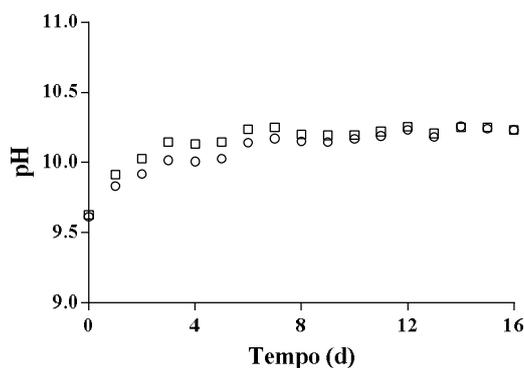
	30 °C	35 °C
$X_{máx}$ (g L ⁻¹)	1,02 ± 0,04 ^a	1,01 ± 0,02 ^a
$P_{máx}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	0,05 ± 0,0 ^a	0,05 ± 0,00 ^a
$\mu_{máx}$ (d ⁻¹)	0,18 ± 0,03 ^a	0,19 ± 0,02 ^a
t_g (d)	4,01 ± 0,74 ^a	3,62 ± 0,32 ^a

Letras minúsculas iguais representam que não há diferença significativa entre colunas a 95% de confiança ($p < 0,05$)

Em estudo anterior, Karam e Soccol (2007) estudaram o efeito de diferentes temperaturas (20°C, 25°C, 30°C e 35°C) para o cultivo de *Spirulina platensis*, porém as maiores concentrações de biomassa foram encontradas nas temperaturas de 30°C (1,17 g L⁻¹) e 35°C (0,93 g L⁻¹). A partir destes resultados, optou-se por avaliar as temperaturas de 30 °C e 35°C no presente estudo.

A Figura 2 apresenta o pH dos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 ao longo do tempo de cultivo. Percebe-se que a faixa de pH variou de 9,61 a 10,23 em ambos cultivos. O pH do cultivo deve ser mantido alcalino, pois esta microalga cresce de forma natural em ambientes com elevada salinidade e alcalinidade (VONSHAK, 1997). Segundo Costa *et al.* (2002), o cultivo de *Spirulina* deve ser realizado em pH entre 8,3 e 11,0, pois nesta faixa a cianobactéria possui maior taxa fotossintética.

Figura 2. Faixa de pH dos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 em temperatura de 30 °C (○) e 35 °C (□).



4. CONCLUSÃO

A utilização de diferentes temperaturas (30 e 35 °C) não influenciou no crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 durante 16 d de cultivo, porém será realizada a

caracterização da biomassa afim de verificar se ocorreram modificações na composição em função da temperatura.

5. REFERÊNCIAS

- BERTOLDI, F.; SANT'ANNA, E.; OLIVEIRA, J. Revisão: Biotecnologia de Microalgas. *B. Ceppa*, v. 26, n. 1, p. 9–20, 2008.
- CHRONAKIS, I. S.; MADSEN, M. Algal proteins. In: PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. Handbook of Food Protein. [S.I.] Woodhead Publishing Series in Food Sciences, *Technology and Nutrition*, p. 353–394, 2011.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. *Bioresource Technology*, v. 98, n. 7, p. 1489–1493, 2007.
- 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 Journal Microbiology and Biotechnology*, v. 18, p. 603-607, 2002.
- KARAM, L. M.; SOCCOL, C. R. Efeito da temperatura e pH no cultivo de *Spirulina major*. *Arq. Ciênc. Vet. Zool.*, v. 10, n. 1, p. 5-7, 2007.
- LOURENÇO, S. O. Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações. São Carlos: RiMa, 2006.
- VONSHAK, A. *Spirulina platensis (Arthrospira)*: physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor & Francis, 1997.
- 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.