

## CRESCIMENTO DE *Spirulina* sp. LEB 18 UTILIZANDO DIFERENTES CONCENTRAÇÕES DE NITRATO DE SÓDIO

A. L. CORRÊA<sup>1</sup>, M. M. FONTOURA<sup>1</sup>, M. C. VEIGA<sup>1</sup> e L. O. SANTOS<sup>1</sup>

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

**RESUMO** – As microalgas possuem alta taxa fotossintética e são conhecidas por apresentarem elevada produção de biomassa, podendo duplicar sua biomassa em apenas um dia. A biomassa microalgal possui composição bioquímica diversificada e devido a isso vem sendo bastante utilizada como fonte de alimento e de energia limpa. A cianobactéria *Spirulina* se destaca das demais microalgas devido sua composição, que contém ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas e elevado teor proteico (60-70%), por isso é muito utilizada em suplementos alimentares. Com o intuito de obter melhores resultados no crescimento celular e na composição proximal da biomassa, podem ser realizadas modificações nas concentrações de nutrientes do meio de cultivo. Para este estudo foi utilizada *Spirulina* sp. LEB 18 em meio Zarrouk contendo diferentes concentrações de nitrato de sódio (1,875 g L<sup>-1</sup> e 2,5 g L<sup>-1</sup>). Os ensaios foram realizados em fotobiorreatores tubulares de 2 L, com volume útil de 1,8 L durante 16 d a 35 °C. Diariamente foram realizadas análises para determinação da concentração celular e pH. Para os ensaios contendo a concentração de 1,875 g L<sup>-1</sup> de nitrato de sódio, obteve-se concentração de biomassa máxima (X<sub>máx</sub>) de 1,12 ± 0,07 g L<sup>-1</sup> e 1,01 ± 0,02 g L<sup>-1</sup>, utilizando a concentração 2,5 g L<sup>-1</sup>. O pH dos cultivos ficou na faixa de crescimento da cianobactéria *Spirulina* de 9,6 a 10,5.

### 1. INTRODUÇÃO

As microalgas são micro-organismos com capacidade fotossintética, o que permite converter a energia solar em biomassa. Sua biomassa é muito utilizada na formulação de diversos produtos, devido a sua composição bioquímica diversificada, que se destacam carboidratos, proteínas e lipídeos. A cianobactéria *Spirulina* é uma microalga filamentosa, multicelular com coloração verde azulada, por apresentar elevada concentração de proteínas e baixo teor de gordura, possui grande potencial para a produção de alimentos funcionais (KARAM; SOCCOL, 2007).

A exposição das microalgas a situações de estresse pode aumentar a produção de biomassa, além de induzir a produção de biomoléculas de interesse. Essas situações são causadas através da manipulação das condições de cultivo, como: temperatura, iluminação, pH e concentrações de nutrientes no meio de cultivo (LOURENÇO, 2006). Sendo assim o objetivo do trabalho foi estudar a modificação da concentração de nitrato de sódio (1,875 g L<sup>-1</sup> e 2,5 g L<sup>-1</sup>) no meio de cultivo utilizando a temperatura de 35 °C e avaliar sua influência no crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Micro-organismo e condições de cultivo

No presente trabalho utilizou-se a cianobactéria *Spirulina sp.* LEB 18, isolada da Lagoa Mangueira localizada no município de Santa Vitória do Palmar – RS (MORAIS *et al.*, 2008) esta foi mantida em meio Zarrouk (ZARROUK, 1966) padrão utilizando 2,5 g L<sup>-1</sup> de nitrato de sódio (NaNO<sub>3</sub>), o mesmo meio foi utilizado para estudar a redução da fonte de nitrogênio, utilizando a concentração de 1,875 g L<sup>-1</sup> de NaNO<sub>3</sub>.

Os cultivos foram realizados em fotobiorreatores verticais de 2 L, com volume útil de 1,8 L e concentração inicial de 0,2 g L<sup>-1</sup>. Os cultivos foram mantidos em estufa termostatzada a 35 °C, iluminância de 30 μmol m<sup>-2</sup> s<sup>-1</sup> e fotoperíodo de 12 h claro/escuro. Para a aeração dos cultivos foi utilizada a vazão de 0,3 vvm (volume de ar volume de meio<sup>-1</sup> min<sup>-1</sup>).

A evaporação da água durante os cultivos foi compensada diariamente com a manutenção do volume das culturas com água destilada estéril. Foram realizados dois cultivos em triplicata. Diariamente foi retirado 5 mL de amostra para fazer a avaliação do pH e concentração celular.

### 2.2 Determinações da concentração celular e pH

O crescimento celular foi determinado através da medida de densidade ótica dos cultivos em espectrofotômetro, a 670 nm, utilizando curva padrão que relaciona a densidade ótica e a massa seca de biomassa. O pH dos cultivos foi avaliado através de leitura direta em pHmetro digital. O crescimento celular e o pH foram acompanhados diariamente.

### 2.3 Parâmetros cinéticos

Os parâmetros cinéticos avaliados foram: a produtividade máxima (P<sub>máx</sub>) (Equação 1), velocidade específica máxima de crescimento (μ<sub>máx</sub>) (Equação 2), concentração de biomassa máxima (X<sub>máx</sub>) e tempo de geração (t<sub>g</sub>) (Equação 3).

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

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

$$t_g = \frac{\ln(2)}{\mu_{máx}} \quad (3)$$

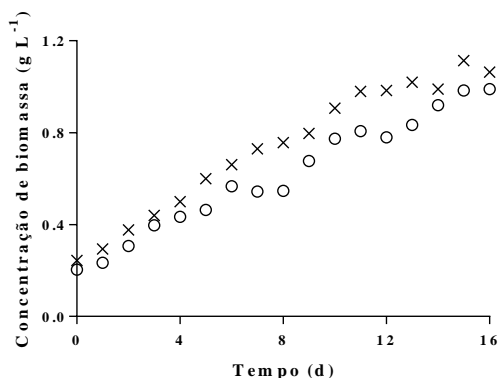
## 2.4 Avaliação dos parâmetros cinéticos

As respostas obtidas nos ensaios foram avaliadas por análise de variância (ANOVA) e por teste de Tukey para comparação entre médias, com intervalo 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. É possível observar que houve aumento no crescimento celular a partir do 3º d de cultivo, isto pode ter ocorrido devido à microalga estar se adaptando as condições de cultivo. A maior concentração de biomassa encontrada utilizando 1,875 g L<sup>-1</sup> de NaNO<sub>3</sub> foi no 15 ºd, enquanto utilizando a concentração de 2,5 g L<sup>-1</sup>, foi no 16 ºd.

Figura 1. Concentração de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando diferentes concentrações de NaNO<sub>3</sub>, 1,875 g L<sup>-1</sup>(x) e 2,5 g L<sup>-1</sup> (o).



Como pode ser observado na Tabela 1, não houve diferença significativa no crescimento de *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando as diferentes concentrações de NaNO<sub>3</sub>. A utilização das concentrações de 1,875 g L<sup>-1</sup> e 2,5 g L<sup>-1</sup> resultaram em produtividades de 0,06 ± 0,01 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup> e 0,05 ± 0,00 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, respectivamente.

Os resultados encontrados foram superiores aos reportados por Colla *et al* (2007), que utilizaram variação da concentração de NaNO<sub>3</sub> no intervalo de 0,625 g L<sup>-1</sup> a 2,5 g L<sup>-1</sup>, e encontraram valores próximos a 0,02 ± 0,00 g L<sup>-1</sup> d<sup>-1</sup>, utilizando a mesma temperatura. O presente estudo demonstra que a quantidade desse nutriente pode ser reduzida no meio de Zarrouk, sem perdas e com diminuição no custo de produção. Entretanto, será possível verificar se houve alteração na composição proximal após a caracterização da biomassa, e a partir desta análise será definida aplicação para a biomassa.

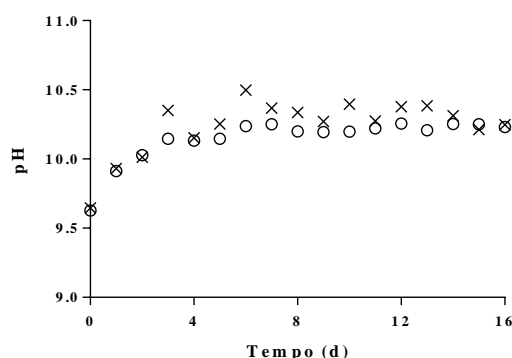
Tabela 1. Concentração de biomassa máxima ( $X_{\text{máx}}$ ), produtividade máxima ( $P_{\text{máx}}$ ), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{\text{máx}}$ ) e tempo de geração ( $t_g$ ) obtidos nos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando  $1,875 \text{ g L}^{-1}$  e  $2,5 \text{ g L}^{-1}$  de  $\text{NaNO}_3$ .

	Ensaio com $1,875 \text{ g L}^{-1} \text{ NaNO}_3$	Ensaio com $2,5 \text{ g L}^{-1} \text{ NaNO}_3$
$X_{\text{máx}} (\text{g L}^{-1})$	$1,12 \pm 0,07^a$	$1,01 \pm 0,02^a$
$P_{\text{máx}} (\text{g L}^{-1} \text{ d}^{-1})$	$0,06 \pm 0,01^a$	$0,05 \pm 0,00^a$
$\mu_{\text{máx}} (\text{d}^{-1})$	$0,18 \pm 0,01^a$	$0,19 \pm 0,02^a$
$t_g (\text{d})$	$3,91 \pm 0,15^a$	$3,62 \pm 0,32^a$

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

A Figura 2 apresenta o pH dos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 ao longo do tempo de cultivo, pode-se perceber que a faixa de pH variou bastante 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). De acordo com Belay (1997) fora do intervalo entre 10 e 11, os cultivos podem estar suscetíveis à contaminação. Enquanto que Shiraiwa et al., (1993) sugeriu que o aumento do pH pode ocorrer em função do metabolismo autotrófico, onde o íon bicarbonato do meio se desidrata formando  $\text{CO}_2$ , fazendo com que ocorra a fotossíntese.

Figura 2. Faixa de pH dos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 utilizando diferentes concentrações de  $\text{NaNO}_3$ ,  $1,875 \text{ g L}^{-1}$  (x) e  $2,5 \text{ g L}^{-1}$  (o).



## 4. CONCLUSÃO

A utilização de diferentes concentrações de nitrato de sódio ( $1,875 \text{ g L}^{-1}$  e  $2,5 \text{ g L}^{-1}$ ) no meio de cultivo utilizando a temperatura de  $35^\circ\text{C}$ , não diferiu significativamente no crescimento da microalga *Spirulina* sp. LEB 18, porém após realizar a caracterização da biomassa, será possível verificar se ocorreram modificações na composição da biomassa microalgal.

## 5. REFERÊNCIAS

- BELAY, A. Mass culture of *Spirulina* outdoors: the Earthrise farms experience. In: VONSHAK, A. *Spirulina platensis* (*Arthrospira*) physiology, cell-biology and biotechnology. London: Taylor & Francis, 233 p. 1997.
- 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. *Spirulina* 1489–1493, 2007.
- KARAM, L. M.; SOCCOL, C. R. Efeito da temperatura e pH no cultivo de *Spirulina major*. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar*, v. 10, n. 1, p. 5-7, 2007
- LOURENÇO, S. O. Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações. São Carlos: RiMa, 2006.
- MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* Strain. *Zeitschrift fur Naturforschung*, v. 32, p. 1879–1880, 2008.
- SHIRAIWA, Y.; GOYAL, A.; TOLBERT, N. E. Alkalization of the medium by unicellular green algae during uptake of dissolved inorganic carbon. *Plant Cell Physiology*, v. 34, n. 5, p. 649-657, 1993.
- 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.