

USO DE MEIOS DE CULTURA DE MACRÓFITAS EM CULTIVO MIXOTRÓFICO DE MICROALGA *ANKISTRODESMUS GRACILIS* (REINSCH) KORSHIKOV

Mayara Galatti Tedesque¹

Bruno Scardoeli Truzzi¹

Lúcia Helena Sipúba-tavares²

RECURSOS NATURAIS

RESUMO

A utilização das plantas aquáticas e melaço de cana-de-açúcar (fonte de carbono) no cultivo de microalgas é um aspecto importante como fonte alternativa e aproveitamento de recursos naturais. O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência do melaço de cana-de-açúcar “in natura” e hidrolisado como fonte de carbono orgânico no cultivo da microalga *Ankistrodesmus gracilis* em meios de cultura a base de plantas aquáticas. O cultivo da alga foi realizado em meios de macrófitas *Eichhornia crassipes*, *E. azurea* e *Lemna minor*. A fonte de carbono foi adicionada ao meio na concentração de 1,5g L⁻¹. Diferenças significativas (p>0,5) foram encontradas em relação ao crescimento. No meio de macrófita *L. minor* em cultivo hidrolisado e não hidrolisado foi observado os maiores valores de crescimento obtendo assim, o melhor tempo de duplicação. A melhor taxa de crescimento foi para o meio *E. azurea* (K=0,11) em cultivo mixotrófico hidrolisado; já o comprimento total foi menor para o meio *E. crassipes* em cultivo mixotrófico hidrolisado e, o carbono orgânico total foi similar no cultivo mixotrófico hidrolisado e maior no meio *L. minor* no cultivo não hidrolisado. Através dos resultados obtidos, podemos observar que o melaço da cana-de-açúcar como fonte de carbono em cultivo mixotrófico para microalga *Ankistrodesmus gracilis* nos meios de cultura utilizados apresentou biomassa algal adequada e o melaço de cana-de-açúcar pode ser uma fonte positiva de carbono para a microalga *Ankistrodesmus gracilis*.

Palavras-chave: microalga, melaço, macrófitas, mixotrófico e recursos naturais.

INTRODUÇÃO

A utilização dos recursos naturais como fonte de aproveitamento para a utilização na produção de meios de cultura para o cultivo de microalgas é um aspecto importante pois além de remover compostos orgânicos e inorgânicos do meio ambiente, pode ser usado como fonte de carbono no cultivo de microalgas barateando o custo de produção. A utilização de resíduos

¹Aluno (s) do Curso de mestrado e doutorado em Aquicultura, Centro de aquicultura, CAUNESP, Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton; mayaragalatti@hotmail.com; brscardoeli@hotmail.com.

²Univ. Estadual Paulista; Centro de Aquicultura, CAUNESP; Jaboticabal; S.P.; Brasi; caunesp@caunesp.unesp.br

Prof. Dr. Lúcia Helena Sipúba-Tavares – Campus de Jaboticabal, CAUNESP, Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton, sipauba@caunesp.unesp.br.

biológicos para o cultivo de microalgas tem uma ótima viabilidade econômica e sustentável, como o melaço de cana-de-açúcar que é um subproduto gerado pela agroindústria e as macrófitas, que são resíduos biológicos de aquicultura. O uso destes elementos, pode promover diminuição dos impactos sejam nos ecossistemas naturais e/ou artificiais. A macrófita *Eichhorniacrassipes* conhecida como aguapé é uma planta flutuante, com capacidade de armazenar nutrientes além do necessário (DENÍCULI et al., 2000). A *E. azurea* (Sw.) Kunth, também é uma espécie flutuante que ocorre em represas, lagos ou viveiros de piscicultura e nesta macrófita os macroinvertebrados ficam distribuídos entre seus ramos ou em sua área de superfície foliar (MORETTI et al., 2003). A macrófita *Lemna minor* é pequena com aproximadamente 2 a 4 mm de comprimento e 2 mm de largura, considerada uma das menores espécies de angiospermas existente no reino vegetal (POTT; CERVI, 1999). O melaço de cana-de-açúcar possui baixo custo em países produtores desta matéria prima que apresenta em sua composição alto teor de carbono. Sendo um resíduo do processo de cristalização da fabricação do açúcar, e tem sido muito utilizado na cultura de leveduras para alimentação de animais e na produção do etanol. O melaço da cana-de-açúcar, possui cerca 50% das proporções de açúcares totais (principalmente sacarose, glicose e frutose), água, proteína bruta e gordura (JIANG et al., 2009). O meio de cultura com macrófita vem sendo utilizado no cultivo de *A. gracilis* com resultados satisfatórios em relação ao valor proteico e densidade celular (SIPAÚBA-TAVARES, et al., 2009). Objetiva-se com o esse trabalho avaliar o potencial do melaço de cana de açúcar “in natura” e hidrolisado como fonte de carbono orgânico e o uso das macrófitas como meio de cultura no cultivo da microalga *Ankistrodesmus gracilis*.

METODOLOGIA

O trabalho foi realizado no Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton do Centro de Aquicultura/CAUNESP, da UNESP de Jaboticabal. O sistema de cultivo no cepário possui condições controladas de temperatura, sob iluminação constante na intensidade de $60 \mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e aeração constante. Nos experimentos, o melaço bruto foi diluído em água destilada e esterilizado em autoclave a 1atm durante 30 minutos. Para os experimentos testando o uso de melaço hidrolisado, foi adicionado ao melaço bruto 0,4% (m/m) de solução ácida (HCl 4 M), sendo encubada durante 20 minutos a 80°C para a hidrólise se complete em sacarose, e possa ser completamente hidrolisada em glicose e frutose. Os meios de macrófitas foram preparados com as plantas aquáticas *Eichhorniacrassipes*, *E. azurea* e *Lemna minor* de

acordo com a metodologia proposta por SIPAÚBA-TAVARES et al. (2009). No caso do experimento com melão, cerca de 21mL foi adicionado em 1,4-L de água destilada para obtenção de uma concentração de $1,5\text{g L}^{-1}$ para o crescimento da microalga *Akistrodesmusgracilis*. A duração do experimento foi de 28 dias, em sistema estático em tréplica e, a taxa de crescimento foi avaliada diariamente. O crescimento foi realizado através da metodologia de GUILLARD (1973). O cálculo do volume celular foi determinado pela metodologia de VOLLENWEIDER (1974) e BOTTRELL et al., (1976). O carbono orgânico total foi calculado a partir da fórmula usando a regressão proposta por ROCHA e DUNCAN (1985). Foi aplicado aos dados a análise de variância (ANOVA) com o programa Statistica 8.0 para simples verificação entre os meios de cultura (STATSOFT, 2007). Quando ocorreram diferenças foi aplicado o teste de Tukey. Diferenças foram consideradas significativas a $p < 0,5$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O crescimento da microalga *Ankistrodesmusgracilis* foi mais elevado no meio de macrófitas *Lemna minor* ($p < 0,5$), com maior densidade celular em melão “*in natura*”, $204,1 \times 10^5 \text{cels mL}^{-1}$ e a menor densidade celular foi obtida no meio *E. azurea* ($19,3 \times 10^5 \text{cels mL}^{-1}$) com melão hidrolisado. O uso de melão hidrolisado para o meio de macrófita *L. minor* foi mais satisfatório em relação as duas *Eichhornias* (Figura 1).

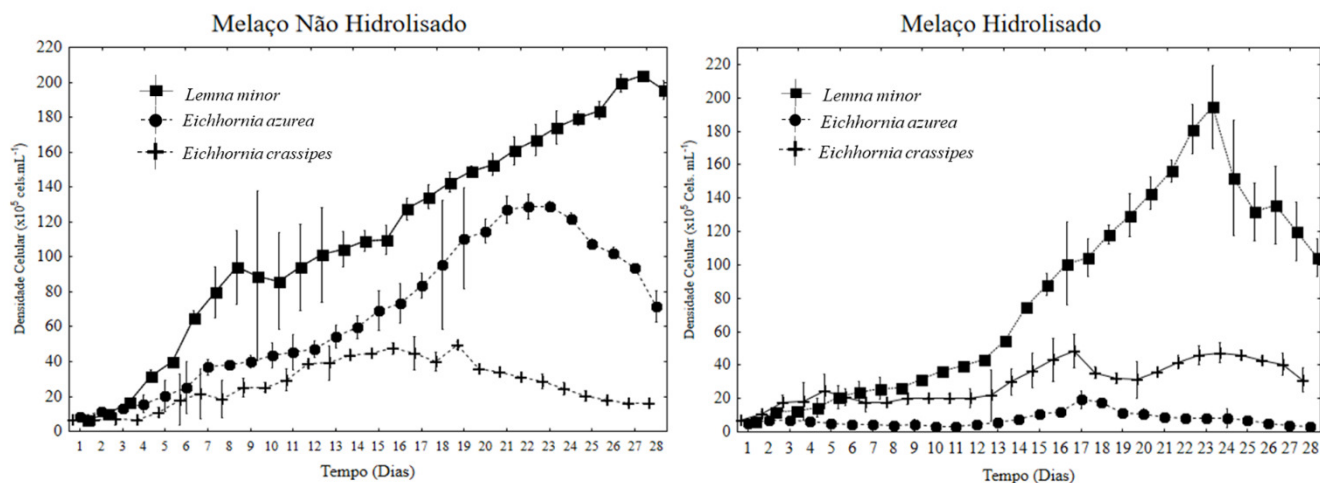


Figura 1: Gráficos de crescimento da microalga *Ankistrodesmusgracilis* contendo melão não hidrolisado e o melão hidrolisado, cultivada em meio de macrófita *Eichhornia crassipes*, *Eichhornia azurea*, *Lemna minor*.

Muitas fontes de carbono têm sido propostas para cultivos de microalga, porém uma avaliação prática mostra que poucos substratos são possíveis de uso pelos microrganismos

(PÉREZ-GARCIA et al., 2011). A qualidade nutricional e a densidade celular, são afetadas diretamente pelo tipo e qualidade do meio de cultura durante a produção da microalga (BROWN et al., 1997). O melhor tempo de duplicação foi para o meio *L. minor*, tanto em cultivo mixotrófico hidrolisado e não hidrolisado; a melhor taxa de crescimento foi obtida em cultivo mixotrófico não hidrolisado para o meio de macrófita *E. crassipes* ($K=0,16$) e no cultivo mixotrófico hidrolisado para o meio *E. azurea* ($K=0,11$) (Tabela 1).

O comprimento total foi maior no meio *E. crassipes* em cultivo mixotrófico não hidrolisado ($8,3 \pm 1,1 \mu\text{m}$) e no cultivo mixotrófico não hidrolisado foi no meio *L. minor* obteve ($8,7 \pm 0,9 \mu\text{m}$). No cultivo mixotrófico não hidrolisado o menor volume celular foi obtido no meio *L. minor* ($3,5 \pm 1,3 \mu\text{m}^3$) e no hidrolisado no meio *E. azurea* ($3,8 \pm 2,8 \mu\text{m}^3$) (Tabela 1). O carbono orgânico total foi maior para o meio *L. minor* ($0,8 \pm 0,2 \text{pg} \cdot \text{cel}^{-1}$) no cultivo mixotrófico não hidrolisado e similar ($p > 0,5$) entre os meios de macrófitas no cultivo mixotrófico hidrolisado (Tabela 1).

Tabela 1: Parâmetros de produção da microalga *Ankistrodesmus gracilis* em cultivo mixotrófico (não hidrolisado e hidrolisado) nos meios de macrófitas *Eichhornia crassipes* (Ec), *Eichhornia azurea* (Ea) e *Lemna minor* (Lm)

Parâmetros	Meios de Cultura					
	Não Hidrolisado			Hidrolisado		
	Ec	Ea	Lm	Ec	Ea	Lm
TD (dias)	6,4 ^a	5,65 ^b	5,49 ^b	6,14 ^b	9,12 ^a	4,59 ^b
TC (K)	0,16 ^a	0,18 ^a	0,18 ^a	0,16 ^b	0,11 ^c	0,22 ^a
DCmd ($\times 10^5 \text{ cel mL}^{-1}$)	26,7 \pm 13,4 ^c	66,5 \pm 40 ^b	114,6 \pm 59,1 ^a	29,5 \pm 12 ^b	7,3 \pm 4,1 ^c	81,5 \pm 57,9 ^a
DCM ($\times 10^5 \text{ cel mL}^{-1}$)	49,3 ^c	128,8 ^b	204,1 ^a	48,5 ^b	19,3 ^c	194,6 ^a
CT (μm)	8,3 \pm 1,1 ^a	7,7 \pm 1 ^b	7,5 \pm 0,9 ^b	7,4 \pm 1,0 ^b	8,1 \pm 1 ^{ab}	8,7 \pm 0,9 ^a
VC (μm^3)	5,9 \pm 2,8 ^a	4,7 \pm 3,4 ^b	3,5 \pm 1,3 ^c	4,3 \pm 2,1 ^a	3,8 \pm 2,8 ^b	4,2 \pm 2 ^a
TOC ($\text{pg} \cdot \text{cel}^{-1}$)	0,7 \pm 0,4 ^b	0,6 \pm 0,4 ^b	0,8 \pm 0,2 ^a	0,5 \pm 0,2 ^a	0,5 \pm 0,3 ^a	0,5 \pm 0,2 ^a

TD: Tempo de duplicação; TC: Taxa de crescimento; DCM: Densidade celular máxima; DCmd: Densidade celular média; CT: Comprimento total; VC: Volume celular; COT: Carbono Orgânico Total.

Este trabalho demonstra que o uso de melaço hidrolisado e não hidrolisado pode ser uma fonte de carbono alternativa para incrementar a biomassa algal. Os meios com macrófita apresentaram resultados satisfatórios em termos de densidade celular sendo uma ferramenta a ser adotado em cultivo de microalgas.

CONCLUSÕES

Através dos resultados encontrados neste experimento, observamos que o melaço da cana-de-açúcar como fonte de carbono em cultivo mixotrófico e o uso de plantas aquáticas para microalga *Ankistrodesmus gracilis*, apresentaram biomassa algal adequada e de baixo

custo podendo ser uma fonte positiva de carbono e meio alternativo para a produção desta microalga em laboratório.

REFERÊNCIAS

BOTTRELL, H.H.; DUNCAN, A.; GLIWICZ, Z.M.; GRYGIEREK, E.; HERZING, A.; HILLBRICHT-ILKOWSKA, A.; KURASAWA, H.; LARSSON, P.; WEGLENSKA, T. A review of some problems in zooplankton production studies. **Norwegian Journal of Zoology**, v. 24, p. 419-456, 1976.

BROWN, M.R.; JEFREY, S.W.; VOLKMAN, J.K.; DUNSTAN, G.A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. **Aquaculture**, v. 151, n. 1-4, p. 315-331, 1997.

DENÍCULI, W.; OLIVEIRA, R.A.; ITABORAHY, C.R.; CECON, P. R. Uso de aguapé na redução de sólidos totais de águas residuárias da suinocultura. **Engenharia na Agricultura**, v. 8, n. 1, p. 38-53, 2000.

GUILLARD, R.R.L. Division rates. In: STEIN, J. R. (Ed.). *Handbook of phycollogical methods: culture methods and growth measurements*, London: Cambridge University Press, p. 289-311. 1973.

JIANG, L.; WANG, J.; LIANG, S.; WANG, X.; CEN, P.; XU, Z. Butyric acid fermentation in a fibrous bed bioreactor with immobilized *Clostridium tyrobutyricum* from cane molasses. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 3403-3409, 2009.

MORETTI, M.S.; GOULART, M.D.C.; CALLISTO, M. *Eichornia azurea* (Swartz) Juanth, 1843 e *Pontederia lanceolata* Nutt., 1818 (Pontederiaceae) na Baía do Coqueiro, Pantanal de Poconé (MT/Brasil). **Revista Brasileira de Zootecias**, v. 51, p. 7-21, 2003.

PÉREZ-GARCIA, O., ESCALANTE, F.M.E., DE-BASHAN, L.E., BASHAN Y. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water Research**, v.45, p.11-36, 2011.

POTT, V.J.; CERVI, A.C. A família Lemnaceae Gray no Pantanal (Mato Grosso e Mato Grosso do Sul), Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 22, n. 2, p. 153-174, 1999.

ROCHA, O.; DUNCAN, A. The relationship between cell carbon and cell volume in freshwater algal species used in zooplanktonic studies. **Journal of Plankton Research**, v. 7, n. 2, p. 279-294, 1985.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; IBARRA, L.C.; FIORESI, T.B. Cultivo de *Ankistrodesmus gracilis* (REINSCH) Korshikov (Chlorophyceae) em laboratório utilizando meio CHU12 e de macrófita com NPK. **Boletim do Instituto de Pesca**, v. 35, n. 1, p. 111-118, 2009.

STATSOFT, INC. Statistica (data analysis software system), version 8.0. www.statsoft.com. 2007.

VOLLENWEIDER, R.A. A manual on the methods for measuring primary production in aquatic environments. **Oxford Blackwell Scientific Publ.**, p. 225, 197.