SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA AMBIENTAL, BIOCOMBUSTÍVEIS E MARKETING | Fatec Jaboticabal Nilo De Stéfani

EDIÇÃO 2020 – RESUMO EXPANDIDO – TRABALHO CIENTÍFICO

AVALIAÇÃO DO CRESCIMENTO DA MICROALGA *Messastrum gracile* EM MEIOS DE CULTURA COMERCIAL E ALTERNATIVO UTILIZANDO MELAÇO DE CANA-DE-AÇÚCAR EM MENOR COMPRIMENTO DE LUZ

EVALUATION OF MICRO-ALGAE GROWTH Messastrum gracile IN COMMERCIAL AND ALTERNATIVE CULTURE MEDIA USING SUGAR CANE MOLASS IN LESS LIGHT LENGTH

Débora Cristina Fenerick[I]
Lúcia Helena Sipaúba-Tavares[II]

RESUMO

O cultivo de microalgas promove diversos estudos para propor melhor manejo na produção e diminuição de custos, pois a implantação desses sistemas é elevada, devido a necessidade de luz e meios de cultura de alto valor comercial. Otimizar e reduzir custos através de meios alternativos a base de plantas aquáticas (*Eichhornia crassipes*), fonte de carbono orgânico (melaço de cana-de-açúcar) e, também, redução do uso de energia são ferramentas essenciais para a implementação de um cultivo algal bem sucedido. Assim, o objetivo deste trabalho foi avaliar o desenvolvimento da microalga *Messastrum gracile* em meio comercial CHU_{12} em cultivo mixotrófico, utilizando melaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono e meio alternativo de macrófita (*E. crassipes*), em intensidade luminosa de 30µmol m^{-2} s^{-1}. No meio de macrófita foi observado os maiores valores de crescimento com densidade celular máxima de 197 $x10^5$ cels mL^{-1} e no meio comercial, com $95x10^5$ cels mL^{-1}. A taxa específica de crescimento foi de k= 0,41 (macrófita) e k= 0,27 (CHU_{12}), com tempo de duplicação mais rápido no meio alternativo com 2,45 dias, enquanto no meio comercial foi de 3,70 dias. Os teores de clorofila-a foram de 1,15 mgL^{-1} para *E. crassipes* e para CHU_{12} averiguou-se 0,66 mgL^{-1}. A utilização de resíduos biológicos e subproduto da agroindústria para a produção desses microrganismos são de suma importância para diminuição dos impactos negativos nos ecossistemas.

Palavras-chave: Cultivo algal. Carbono orgânico. Intensidade luminosa. Plantas aquáticas. Resíduos biológicos.

ABSTRACT

The cultivation of microalgae promotes several studies to propose better management in production and cost reduction, since the implantation of these systems is high due to the need for light and culture media of high commercial value. Optimize and reduce costs through alternative means based on aquatic plants (*Eichhornia crassipes*), organic carbon source (sugar cane molasses) and reduced energy use are essential tools for implementing a

[I]Tecnóloga em Agronegócio, mestranda no Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP), Jaboticabal-SP-Brasil. deborafenerick@hotmail.com.
[II]Profa. Dra. no Centro de Aquicultura da Unesp (CAUNESP) Jaboticabal-SP-Brasil. lucia.sipauba@unesp.br.

SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA AMBIENTAL, BIOCOMBUSTÍVEIS E MARKETING
Fatec Jaboticabal Nilo De Stéfani
EDIÇÃO 2020 – RESUMO EXPANDIDO – TRABALHO CIENTÍFICO

successful algal culture. Thus, the objective of this work was to evaluate the development of *Messastrum gracile* microalgae in commercial medium CHU_{12} in mixotrophic cultivation using sugarcane molasses as a carbon source and an alternative macrophyte medium (*E. crassipes*), in luminous intensity of 30µmol m^{-2} s^{-1}. The highest growth values were observed in the macrophyte medium with maximum cell density of 197 $x10^5$ cells mL^{-1} and in the commercial medium, with $95x10^5$ cells mL^{-1}. The specific growth rate was k = 0.41 (macrophyte) and k = 0.27 (CHU_{12}), with faster doubling time in the alternative medium with 2.45 days, whereas in the commercial medium it was 3.70 days. The levels of chlorophyll-a were 1.15 mgL^{-1} for *E. crassipes* and for CHU_{12} 0.66 mgL^{-1} was determined. The use of biological waste and a by-product of the agribusiness to produce these microorganisms is short importance to reduce the negative impacts on ecosystems.

Keywords: Algal cultivation. Organic carbon. Light intensity. Aquatic plants. Biological waste.

Área do resumo: Biológicas
Data de submissão: 12/10/2020
Data de aprovação: 30/10/2020.

1 INTRODUÇÃO

A aplicabilidade das microalgas está intensificando no mercado consumidor, pois são potenciais produtoras de nutrientes de interesse humano como, pigmentos, proteínas, carboidratos e lipídios (KHANRA *et al.,* 2018). Essas culturas, são empregadas em diversos campos comerciais, como a aquicultura, por exemplo, onde servem de alimento de alto valor nutricional aos peixes e outros organismos aquáticos (SATHASIVAM *et al.,* 2019). Também são utilizadas em vitaminas, produtos antioxidantes, alimentação humana e animal e alguns são remetidos à produção de biocombustíveis (CHEN *et al.,* 2018).

A utilização de novos métodos de produção algal a partir de fontes alternativas está se destacando hodiernamente, uma vez que, o cultivo desse microrganismo exige grande demanda de nutrientes e luminosidade. Portanto, meios de cultura alternativos (SIPAÚBA-TAVARES et al., 2017), fontes alternativas de carbono (GUARAV *et al.,* 2016) e, também, redução do uso de energia, são ferramentas desenvolvidas no intuito de otimizar e realizar uma produção bem sucedida.

Em condições mixotróficas, as microalgas podem obter resultados eficientes incluindo redução de custos e eficácia na produção de biomassa. O melaço de cana-de-açúcar é uma matéria-prima que apresenta na composição alto teor de carbono e baixo custo principalmente, nos países produtores, como o Brasil. A inserção do melaço possibilita que o CO_2 e o carbono orgânico sejam assimilados simultaneamente, promovendo o aumento na produção de algumas espécies de microalgas (ANDRULEVICIUTE *et al.,* 2014).

Chlorophyceae *Messastrum gracile*, é espécie rica em proteína, lipídio e antioxidante, sendo de interesse comercial para alimentação animal, principalmente na aquicultura, pois é de fácil manejo, rápido crescimento e bem adaptada em meios alternativos como, fertilizantes inorgânicos e plantas aquáticas (SIPAÚBA-TAVES *et al.,* 2015, 2017, 2018).

SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA AMBIENTAL, BIOCOMBUSTÍVEIS E MARKETING
Fatec Jaboticabal Nilo De Stéfani
EDIÇÃO 2020 – RESUMO EXPANDIDO – TRABALHO CIENTÍFICO

Portanto, o intuito deste trabalho foi utilizar o resíduo biológico (macrófita, *Eichhornia crassipes*) e o resíduo da agroindústria (melaço da cana-de-açúcar) para avaliar o crescimento e desenvolvimento da microalga *M. gracile.*

2 PROCEDIMENTOS METODOLÓGICOS

O estudo foi realizado no Laboratório de Limnologia e Produção de Plâncton do Centro de Aquicultura da UNESP (CAUNESP), Jaboticabal-SP. A microalga foi mantida em temperatura constante de 22±2ºC em intensidade luminosa de 30 µmol m^{-2} s^{-1}, sendo esta luminosidade mais baixa do que o protocolo adotado para cultivar a espécie, em fotoperíodo de 24 horas durante 21 dias. No cultivo mixotrófico foi inserido melaço de cana-de-açúcar como fonte de carbono orgânico, que foi adquirido através da empresa Melaços Brasileiros LTDA (Brasil), o melaço bruto foi diluído em água destilada e esterilizado em autoclave a 120ºC durante 30 minutos sendo adicionados 21 ml do melaço a cada 1.400 ml de água destilada para os dois meios (CHU_{12} e macrófita). Para o preparado do meio alternativo utilizou-se dos estudos de SIPAÚBA-TAVARES *et al.* (2017), onde foi pesado cinco quilos da planta que após secar e triturar foi fervida com água destilada durante 30 minutos. Com o extrato ainda quente foi retirado e filtrado por malha e autoclavado durante 20 minutos em 120ºC, conforme demonstra na figura 1:

Figura 1 - Processo de produção do meio de cultura de *E. crassipes* onde: (A) macrófita; (B) pó obtido da planta por meio de moagem; (C) Extrato na forma liquida; (D) extração do meio de macrófita



Fonte: Imagem das autoras (2020)

Para a avaliação do crescimento da microalga *M. gracile* nos dois meios de cultura, foram removidos 1ml diariamente ao longo de 21 dias consecutivos e foram contadas em hemocitômetro de Neubauer, os dados obtidos na contagem foram expressos em número de células (ml^{-1} x 10^{5}). A taxa de crescimento (k) e o tempo de duplicação (tempo de divisão celular ou tempo de geração) foram calculados através da fórmula proposta por Guillard (1973).

As variáveis da qualidade do meio de cultura foram amostradas semanalmente em triplicata. Temperatura, oxigênio dissolvido, condutividade e pH da água foram avaliados

SIMPÓSIO DE TECNOLOGIA AMBIENTAL, BIOCOMBUSTÍVEIS E MARKETING
Fatec Jaboticabal Nilo De Stéfani
EDIÇÃO 2020 – RESUMO EXPANDIDO – TRABALHO CIENTÍFICO

com sonda multiparâmetros YSI 556 MPS, e a clorofila-*a* foi extraída com álcool 90% e quantificada a 663 e 750nm (NUSCH, 1980).

4 RESULTADOS E DISCUSSÕES

A densidade celular da microalga *Messastrum gracile* apresentou diferenças dentre os dois meios de cultura. Segundo Perez-Garcia et al. (2011), cada esquema de cultivo tem a condição especifica e depende do objetivo final do cultivo que está relacionado com produção de biomassa. O cultivo em meio alternativo de planta aquática (*E. crassipes*) apresentou maior densidade celular, alcançando 197 x10^5 cel. mL^{-1} no 21º dia, consequentemente, apresentou a melhor taxa de crescimento e melhor tempo de duplicação podendo ser observado em tabela abaixo.

Tabela 1 - Clorofila (gL-1), tempo de duplicação - TD (dias), taxa de crescimento - TC (K) e densidade celular máxima (DCM) da microalga Messastrum gracile em cultivo mixotrófico em meio comercial CHU12 e meio alternativo de planta aquática (E. crassipes)

Meio de cultura	Parâmetros			
	Chloro-*a* (mgL^{-1})	TD	TC (K)	DCM
CHU_{12}	0,66	3,70	0,27	95
E. crassipes	1,15	2,45	0,41	197

Fonte: Imagem das autoras (2020)

Segundo Khanra *et al*. (2018), as microalgas produzem clorofila e carotenoides, produtos de valor significativo no mercado atual, destinados a produção de diversos produtos de alto valor comercial. CHEN (2015) enfatiza a importância desse pigmento na fotossíntese, pois absorve e transfere energia luminosa para esses organismos fotossintéticos. Neste estudo, os teores de clorofila-a foram melhores para *E. crassipes* sendo superiores a $1mgL^{-1}$ já no meio CHU_{12} a clorofila obteve 0,66 mgL^{-1}.

5 CONCLUSÃO

Através dos resultados obtidos, o estudo demonstrou que a utilização do meio alternativo a base de planta aquática (*E. crassipes*) adjunta ao melaço de cana-de açúcar como fonte de carbono orgânico em cultivo mixotrófico para a microalga *Messastrum gracile* obteve melhores resultados do que o meio comercial CHU_{12} quando inserido a fonte de carbono, onde apresentou as maiores densidades celulares e os melhores parâmetros para esta *Chlorophyceae*.

REFERÊNCIAS

ANDRULEVICIUTE, V.; MAKAREVICIENE, V.; SKORUPSKAITE, V; GUMBYTE, M. 2014. Biomass and oil content of Chlorella sp., *Haematococcus sp*., *Nannochlopsis sp*. and

Scenedesmus sp. under mixotrophic growth conditions in the presence of technical glycerol. **Journal Applied Phycology**, v. 26, n. 1, p. 83-90.

CHEN, M.L.I. **A cyanobacterium that contains chlorophyll f-a red-absorbing photopigment**. FEBS Lett v. 586, p. 3249-3254, 2015.

CHEN, W.-H., CHU, Y.-S., LIU, J.-L., CHANG, J.-S.: **Thermal degradation of carbohydrates, proteins and lipids in microalgae analyzed by evolutionary computation**. - Energy Conversion and Management, vol. 160, p. 209-219, 2018.

GUARAV, K., SRIVASTAVA, R., SHARMA, J.G., SINGH, R., SINGH, V.: **Molasses-based growth and lipid production by *Chlorella pyrenoidosa*: A potential feedstock for biodiesel**. - International Journal of Green Energy, vol. 13(3), p. 320-327, 2016.

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

KHANRA, S.; MONDAL, M.; HALDER, G.; TIWARIC, O.N.; GAYENA, K.; BHOWMICKD, T.K.: **Downstream processing of microalgae for pigments, protein and carbohydrate in industrial application: A review –** ELSEVIER Food and Bioproducts Processing, vol. 110, p. 60-84, 2018.

NUSCH, E.A. **Of different methods for chlorophyll and phaeopigments determination. Archiv für Hydrobiologie**, v. 14, n. 1, p. 14-36, 1980.

PÉREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F.M.E.; DE-BASHAN, L.E.; BASHAN Y. 2011. Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products. **Water Research**, v.45, n. 1, p.11-36.

SATHASIVAM, R., RADHAKRISHNAN, R., HASHEM, A. e ABD-ALLAH, EF.: **Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine**. - Saudi Journal of Biological Sciences, vol. 26, n. 4, p. 709-722, 2019.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H., SEGALI, A.M.D.L., BERCHIELLI-MORAIS, F.A., SCARDOELI-TRUZZI1, B.: **Development of low-cost culture media for Ankistrodesmus gracilis based on inorganic fertilizer and macrophyte**. Acta Limnologica Brasiliensia, vol. 29, e5, 2017.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; FLORÊNCIO, T.; SCARDOELI-TRUZZI, B.: **Aquaculture biological waste as culture medium to cultivation of Ankistrodesmus gracilis (Reinsch) Korshikov**. Brazilian Journal of Biology, vol.78, n. 3, p. 579 - 587, 2018.

SIPAÚBA-TAVARES, L.H.; LUSSER-SEGALI, A.M.D.; SCARDOELLI-TRUZZI B.: **Aquatic Plants: Alternative Medium for Microalgae Growth.** - Ann Aquac Res vol. 2(1): p. 1009, 2015.

AGRADECIMENTOS

Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo, FAPESP pelo suporte financeiro (2019/21053-1).