

Determinação Gravimétrica de uma Biomassa Algal em Função do Tempo de Cultivo

ROCHA, CM¹ E HALAC, O.²

RESUMO

Neste trabalho foi determinado gravimetricamente a concentração de microalgas da divisão das Chlorophycophytas, cultivadas em um pequeno reator, assim como foi determinada a variação do pH, em função do tempo de cultivo. Os resultados obtidos foram expressos em ppm (mg/L) para concentração das células (o pH é adimensional). Os gráficos (montado) mostram as variações da concentração algal e do pH no meio de cultivo, observando que a influência das condições climáticas foi um fator importante nas variações apresentadas no reator.

INTRODUÇÃO

A chlorella, cuja taxonomia foi muito confusa por vários anos, recebendo diferentes denominações e codificações, que foram finalmente reconhecidos como relativos ao mesmo organismo. Suas cepas são frequentemente cultivadas para consumo humano, principalmente aquelas da espécie *Chlorella Pyrenoidosa*. (Alexopoulos, C.J e Bold, H.C. 1967).

Os organismos aquáticos, e as algas em particular, encontram-se na linha de frente de exposição à poluição e têm participado como defensores naturais, prevenindo, desta maneira, a exposição de ecossistemas naturais a concentrações excessivas de poluentes. (Sunda e Huntsman, 1995)

Microalgas, constituintes do fitoplâncton, ocupam importante posição na cadeia alimentar oceânica (Well's et alli, 1995) mas são, também, organismos oportunistas, capazes de rápida colonização e crescimento quando as condições são favoráveis (Litter, 1980). Estas espécies

¹. Aluna de Graduação do Curso de Química/FTESM.

². Doutor em Ciências do Curso de Química/FTESM.

crecem rapidamente e dominam áreas eutrofizadas criando problemas econômicos e ecológicos para estas regiões e apesar da riqueza quanto aos aspectos nutricionais esses organismos são pouco utilizados comercialmente e somente uma pequena parte de sua biomassa é usada como alga comestível. (Mabeau et alli , 1993). (Litter e Murray, 1975; Murray e Litter, 1978).

As algas são, na sua grande maioria, organismos multicelulares e apresentando imensa variedade de formas e dimensões. As algas possuem a propriedade da fotossíntese, através da qual, sob a influência da luz solar, utilizam o gás carbônico como fonte de carbono na sintetização de novas células e liberam oxigênio no meio líquido.



No escuro, as algas necessitam de oxigênio para a sua respiração e compostos orgânicos para o seu crescimento. O crescimento, no claro ou no escuro, é gradualmente estimulado por fosfato e nitratos, os quais estão usualmente presentes nos meios de cultivo.

Plantas superiores e algas, normalmente, mostram variações no conteúdo de seus pigmentos quando crescidas sob alta ou baixa incidência luminosa, cujo fenômeno é denominado de adaptação claro/sombra (sun/shade) (Christopher e Mullet, 1994). Portanto, a aclimação às mudanças na qualidade e quantidade da luz incidente é também um fator importante nas variações adaptativas da fotossíntese desses organismos (Falkowski e La Roche, 1991; Vilchez et alli, 1997).

Fotossíntese significa etimologicamente síntese de luz. Excetuando-se as formas de energia nuclear, todas as outras formas de energia utilizadas pelo homem moderno provêm do sol. Desta, a forma mais eficiente de conversão e armazenagem de energia solar em energia útil e de menor impacto ambiental é a de biomassa, pois dela varias formas de energias e compostos podem ser obtidos. Por isso, o estudo e o entendimento de como a fotossíntese se processa e quais são os fatores que levam ao aumento ou ao decréscimo da eficiência da fotossíntese pelos organismos fotossintetizantes, não tem a relevância apenas científica, mas também agrônoma, energética, química e farmacêutica.

A fotossíntese ocorre pela absorção da luz na faixa de 400 – 700 nm por pigmentos fotossintéticos, quais sejam, clorofila, carotenóides e, em alguns casos, bilinas. Esta faixa do espectro que é utilizada pelos

vegetais como fonte de energia para as suas atividades metabólicas é comumente chamada em fisiologia de plantas de Radiação Fotossinteticamente ativa (PAR, do inglês photosynthetically Active Radiation). (Hall e Rao,1994).

Os fatores que influenciam a fotossíntese são dependentes de vários fatores externos como internos ao organismo. Como fatores internos podem ser citados a estrutura da folha e cloroplastos e seu respectivo teor de pigmentos, o acúmulo de produtos da fotossíntese no interior do cloroplasto, a concentração de enzimas e a presença de nutrientes. Como fatores externos podem ser citados a luz, a temperatura, a salinidade, o grau de hidratação e a concentração de CO_2 . Todos estes fatores irão influenciar a fotossíntese de uma forma direta ou indireta, portanto é necessária a compreensão de como cada um destes fatores e seus efeitos sinérgicos, afetam a fotossíntese de uma forma particular, como podem ser minimizados os efeitos adversos causados por esses mesmos fatores quando almeja-se uma maior produtividade. (Lunning, 1990).

As constantes de dissociação do CO_2 em água, são dependentes da temperatura e da pressão, embora a variação deste parâmetros fora do meio aquoso não influenciem grandemente a concentração total de CO_2 . Quando a temperatura e a pressão variam, no meio aquoso, elas afetam a distribuição de CO_2 entre várias espécies, e desta maneira modificam o pH do meio aquoso. (Morel,1983)

O objetivo deste trabalho foi aplicar alguns dos conhecimentos teóricos estudados na disciplina de Química Analítica Quantitativa, do Curso de Química da Fundação Técnico-Educacional Souza Marques, como a potenciometria (pHmetro Orion modelo 310) e a análise gravimétrica, utilizando uma experiência bastante simples com um reator contendo algas da espécie *Chlorella Pyrenoidosa*. As análises foram realizadas no Laboratório de Águas e Efluentes da White Martins Gases Ind. S.A.

MATERIAL E MÉTODO

1. Meio de Cultivo

Para a manutenção das algas no reator, foi utilizado um meio nutritivo constituído por: NaNO_3 (1,0g), K_2HPO_4 (0,25g), MgSO_4 (0,5g), CaCl_2 (0,05g), FeCl_3 (0,003g), e água destilada q.s.p (1000mL).

2. Inóculo

Foi utilizada uma cultura de *Chlorella Pyrenoidosa*, isolada de água represada, na baixada de Jacarepaguá, na Cidade do Rio de Janeiro.

Para padronização do inóculo, a microalga foi anteriormente mantida no meio de cultura citado acima. Em intervalos de 12 horas, foram retiradas alíquotas de 5mL e as células separadas por centrifugação, lavadas três vezes com água destilada e ressuspensas, também, com água destilada.

3. Condições de Cultivo no Reator

Os experimentos para a determinação da concentração algal(M) e do pH do meio de cultivo foram conduzidos de 27 junho a 26 julho de 2001, no Laboratório de Águas e Efluentes da White Martins Gases Ind. S.A, a partir de um inóculo com volume de 67 mL (pH 6,23), que foi mantido em suspensão, em um erlemeyer de 1000 mL (reator), com o auxílio de uma bomba de aquário (Super – Vigor Ar), à temperatura ambiente e com iluminação natural. O inóculo foi repicado três vezes, a medida que ia se tornando mais concentrado, e só na terceira repicagem foram iniciadas as determinações dos parâmetros desejados.

A partir do primeiro volume de alga (67mL) levou-se a solução para um volume final de 250mL, com água destilada e 1mL do meio, e após uma semana repicada novamente, pelo mesmo procedimento descrito acima, sendo que o volume de solução de alga foi de 150mL e volume final de 500mL, após uma semana foi repicada novamente e o um volume inicial de 500mL foi levado a um volume final de 1000 mL e os parâmetros propostos foram determinados em períodos de cinco dias.

4. Determinação do pH

A determinação do pH foi realizada pelo método potenciométrico com eletrodo de vidro combinado com eletrodo de calomelano, pois o eletrodo de vidro não sofre praticamente influência da cor da solução, turbidez ou matéria coloidal, características das soluções utilizadas.

Segundo o Manual de Métodos de Análises Físicas e Químicas de Àguas da Fundação Estadual de Engenharia do Meio Ambiente – FEEMA – em pH 6,87 o método apresenta erro relativo de 1,9% e desvio padrão relativo de 0,44%

5. Determinação da Concentração Algal (M)

A concentração algal (M) foi determinada segundo os critérios estabelecidos na NBR 10664/1989 método A (5.4) – Resíduo Total (Sólidos Totais).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Um cadinho de porcelana (volume ~ 5,0 mL) foi colocado vazio na estufa (Fanem LTDA modelo 311 CG), à temperatura de 100°C, por 1h, esfriado em dessecador e pesado em balança analítica (Balança Analítica Sartorius modelo BP 210S – com precisão de 0,1 mg).

Após tratar o cadinho adicionou-se um volume conhecido (4,0 mL) da solução algal contida no reator e levou-se o sistema (cadinho + solução) ao aquecimento em estufa (Fanem LTDA modelo 311 CG), a temperatura de 80°C e após a evaporação total da solução esfriou-se em dessecador o sistema e pesou-se novamente. O Resíduo Total foi determinado através da expressão abaixo.

$$M = \frac{(m_2 - m_1) \times 1000}{V}$$

Onde:

M = Resíduo Total (concentração da alga), em mg/L.

m_2 = Massa do cadinho de porcelana com a solução algal, em g.

m_1 = Massa do cadinho de porcelana, em g;

V = Volume da solução de alga, em L.

As coletas de amostras e as determinações experimentais, foram sempre realizadas no mesmo período diurno, já que os vegetais encontram-se em condições de estresse quando em extremos de temperatura, que propiciam a fotoinibição, com conseqüente diminuição da fixação de CO₂ (Powles, 1984). Entretanto, há estudos que verificaram que a inibição do processo fotossintético é, principalmente, dependente da luz (Janssen e Hasselt, 1994).

Estas considerações são muito importantes, pois em termos de produtividade de biomassa as combinações de altas ou baixas temperaturas e altas ou baixas irradiâncias (luz) são eventos climáticos comuns.

Nossos resultados mostram (Tabela 1) que a produtividade do meio algal, em cinco dias, foi de 22% em relação à concentração de células existentes no inóculo inicial.

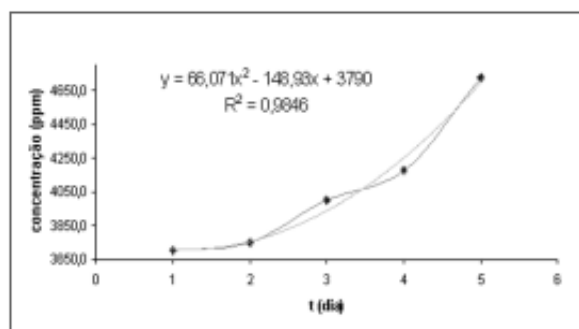
Tabela 1: Variação do pH e crescimento algal no período de cinco dias. (Os resultados são médias aritméticas de três determinações)

Parâmetros	Unidade	Dias				
		1	2	3	4	5
pH	-	6,28	6,15	6,00	5,80	5,73
M	mg/L	3700	3750	4000	4175	4725

Observa-se que as células foram bem adaptadas às variações de qualidade e quantidade de luz incidente, já que o crescimento algal, em cinco dias, atingiu, aproximadamente a ¼ do total de células iniciais.

Provavelmente, em função das células no reator terem sido mantidas em suspensão e pelo reduzido volume líquido, não foi importante a variação de temperatura em relação à profundidade do reator, e, desta forma, não ocorreu a formação de gradientes de temperatura que, por certo, contribuiu com o desenvolvimento destes organismos. Como durante as horas diurnas é alta a incidência luminosa, há uma supersaturação de oxigênio dissolvido em todo o reator, que pelos mesmos motivos apresentados acima, e não somente nas camadas superficiais do reator, evidenciando uma alta produção fotossintética, conforme mostra o gráfico 1.

Gráfico 1 : Curva de crescimento algal, concentração de células (ppm) x tempo de cultivo (h)

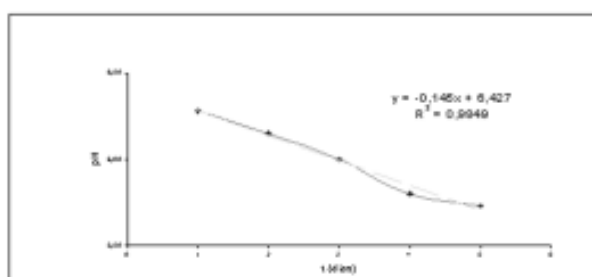


Quanto à variação dos valores de pH, ao longo do período considerado, verificamos que ocorreram de modo bastante restrito, de 6,28 a 5,73 unidades de pH (8,7%), com o sistema apresentando um pH médio de crescimento algal igual a 6,0 (tabela 1), provavelmente em função do

reduzido volume do reator, da mistura das camadas pela bomba de ar e da exposição à luz de toda a área limitada pelas paredes do reator. Estas pequenas variações deveram-se às sucessivas repicagens realizadas e não interferiram, conforme mostra o gráfico 2, no desenvolvimento algal.

A variação de pH na superfície de um corpo de água natural é explicada pela maior atividade fotossintética do fitoplâncton, que consome CO_2 acarretando um aumento do pH nesta região de maior incidência de luz, assim como a menor variação de pH, à noite, explica-se pela inexistência da atividade fotossintética. (Morel,1983).

Gráfico 2: Variação do pH no período de cinco dias



CONCLUSÕES

1 - Dada a alta produção da biomassa algal verificada em nosso trabalho e a composição protéica destes organismos, acreditamos que processos de produção in terra de microalgas seja um importante aspecto a ser desenvolvido mais intensamente.

2 - Os métodos bastante simples que utilizamos em nosso trabalho mostram que é possível unir os conceitos teóricos, e, às vezes, áridos, com a salutar prática da pesquisa acadêmica.

3 - A análise gravimétrica mostrou-se uma eficiente metodologia para a determinação da produtividade de biomassa algal. ◆

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALEXOPOULOS, C.J e BOLD, H.C (1967)..Algas and fungi. NY. Ed.McMillan.
Algas. Disponível em:< [http:// www. fichaonline.com/ biologia/ algas.htm](http://www.fichaonline.com/biologia/algas.htm)> Acesso em: 26.jul.2001.
Algas verdeazuladas. Disponível em:< [http:// members.nbci.com/ -XMCM/ paleoweb/ glossário/ algas.htm](http://members.nbci.com/-XMCM/paleoweb/glossario/algas.htm)> Acesso em: 26jul.2001.
Cianofíceas. Disponível em:< [http:// pediam.zip.net/ PediaOnLine/ MED2000/ pedia98a/ bot444vp.htm](http://pediam.zip.net/PediaOnLine/MED2000/pedia98a/bot444vp.htm)> Acesso em: 28jun.2001.

- Classificação dos Seres Vivos, Nomenclatura. Disponível em:< [http:// www. 10emudo.com](http://www.10emudo.com)> Acesso em: 26jul.2001
- FALKOWSKI, P.G. e La ROCHE, J.(1991). Acclimation to spectral irradiancem in algal. J. Phycol. 27:8-14
- JANSSE,L.H.J e VAN HASSELT, P.R.(1994). Temperature effects on chlorophy fluorescence induction in tomato. J.Plant Physiol. 144:129-135
- HALL, D.O e RAO, K.K (1994). Photosynthesis, 5th edition, Cambridge University Press.
- LITTER,M.M (1980).Morphological form and photosynthetic perfomances of marine algal. Bot. Mar.22: 161-165.
- LUNNING, K.(1990). Seaweeds, Their Enviroment, Biogeography and Eco. physiology . John Wiley & Sons, Inc.,Ny. Pp 287-307
- MOREL, F.M.M.(1983). Principles of Aquatic Chemistry. John Wiley & Sons, Inc.,Ny.cap.3.
- Microorganismos de los alimentos. Técnicas de Análises Microbiológicas. ICMSF. Ed. Acribis. 1982
- PELCZAR ,J.R., et al. ('996). Microbiologia: conceitos e aplicações, Volume I, 2. ed. São Paulo: Makron Books. Cap.10. p. 258-83.
- POWLES, S.B.(1984). Photoinibinition of photosynthesis induced by visible light. Ann. Ver. Plant Physiology.35:15-44
- Reino Monera. Disponível em:< [http:// members.es.tripod.de/ lorenpe_sanroque/ moneras.htm](http://members.es.tripod.de/lorenpe_sanroque/moneras.htm)> Acesso em: 26.jul.2001.
- SUNDA,W.G E HUNSTMAN,S.A. (1995).Regulation of copper concentrationin the ocean mutlicline by phitoplankton. Limnol.Oceanogr. 40:132-137.
- WELL!s, M.J, PEICE,N.N, BRULAND,K.W.(1995). Ion chemistry in seaweeds and its reletioship to phytoplankton. Mar. Chem. 18:157-182.
- VILCHEZ, C., GARBAYO, I., LOBATO, M.V. (1997) Microalgae mediated chemicals and wastes removal. Enzime. Microb. Technol. 20 :562-572.