

# EFEITO DA TEMPERATURA E pH NO CULTIVO DE *Spirulina major*

Letícia Machado Karam<sup>1</sup>  
Carlos Ricardo Soccol<sup>2</sup>

KARAM<sup>1</sup>, L. M.; SOCCOL<sup>2</sup>, C. R. Efeito da temperatura e pH no cultivo de *Spirulina major*. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v. 10, n. 1, p. 5-7, 2007

**RESUMO:** O gênero *Spirulina*, devido às suas qualidades nutricionais (alto teor protéico, baixo teor de gordura e alto teor de ácido -linolênico), tem sido considerado muito promissor para a alimentação humana e animal. *Spirulina major* foi cultivada em escala laboratorial, com o objetivo de determinar a temperatura e o pH ótimos de cultivo, visando uma maior produção de biomassa. Os cultivos foram realizados em sistema fechado, em meio de cultura Guillard-F2, com agitação constante (100rpm), com fotoperíodo de 12 horas, por 8 dias. Foram testadas quatro diferentes temperaturas (20, 25, 30 e 35°C) e quatro valores de pH do meio de cultivo (7,0; 8,0; 9,0 e 10,0). A biomassa obtida era filtrada e seca a 55°C. Os resultados obtidos mostram que a temperatura ótima de cultivo é 30°C e que ocorre uma maior produção de biomassa em pH 8,0.

**PALAVRAS-CHAVE:** Cultivo de microalgas. Biomassa. *Spirulina major*

## THE EFFECT OF TEMPERATURE AND pH IN THE *Spirulina major* CULTIVATION

KARAM<sup>1</sup>, L. M.; SOCCOL<sup>2</sup>, C. R. The effect of temperature and pH in the *Spirulina Major* cultivation. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v. 10, n. 1, p. 5-7, 2007

**ABSTRACT:** The *Spirulina* genera has great nutritional qualities such as high protein content, low fat and high -linolenic acid content, and has been considered a great promising ingredient for human and animal feeding. *Spirulina major* was cultivated in laboratory scale with the objective of determining the optimal growth temperature and the pH for a greater biomass production. The cultivations were carried out in a closed system, Gillard's F2 medium, constant agitation (100rpm), 12-hour photoperiod, for 8 days. Different temperatures were tested (20°, 25°, 30°, and 35°C), and four pH values of culture medium (7.0; 8.0; 9.0, and 10.0). The resulting biomass was filtered and dried at 55°C. The results showed that 30°C is the best growth temperature, and the largest biomass production occurs at pH 8.0.

**KEYWORDS:** Microalgae cultivation. Biomass. *Spirulina major*

## EFEECTO DE LA TEMPERATURA Y pH EN EL CULTIVO DE *Spirulina major*

KARAM<sup>1</sup>, L. M.; SOCCOL<sup>2</sup>, C. R. Efecto de la temperatura y pH en el cultivo de *Spirulina Major*. *Arq. Ciênc. Vet. Zool. Unipar, Umuarama*, v. 10, n. 1, p. 5-7, 2007

**RESUMEN:** La clase de *Spirulina*, debido a sus calidades nutricionales (alto contenido proteico, bajo contenido de gordura y alto contenido de ácido -linolênico) ha sido considerado muy promisorio para la alimentación animal y humana. La *Spirulina major* fue cultivada en escala laboratorial con el objetivo de determinar la temperatura y el pH excelentes de cultivo, buscando una mayor producción de biomasa. Los cultivos fueron realizados en sistema cerrado, en medio de cultura Guillard-F2, con agitación constante (100rpm), con fotoperíodo de 12 horas, por 8 días. Fueron testadas cuatro diferentes temperaturas (20, 25, 30 y 35°C) y cuatro valores de pH del medio de cultivo (7,0; 8,0; 9,0 e 10,0). La biomasa conseguida fue filtrada y seca a 55°C. Los resultados conseguidos demuestran que la temperatura excelente de cultivo es de 30°C y que ocurre una mayor producción de biomasa en pH 8,0.

**PALABRAS CLAVE:** Cultivo de microalgas. Biomasa. *Spirulina major*

### 1. Introdução

Vários estudos vêm sendo realizados para avaliar a possível utilização de *Spirulina* como fonte de alimentação para consumo animal e humano, estimulados pelos registros de utilização dessa

microalga como alimento por algumas populações no Chad (África) e no México (CIFERRI, 1983; ABBOTT, 1988). Nessas regiões, pedaços de *Spirulina platensis* eram secos e vendidos na forma de flocos ou biscoitos, chamados na língua local de “dihé”. As algas eram coletadas nos lagos, espalhadas na areia e secas ao sol

<sup>1</sup> Farmacêutica Industrial. Mestre em Tecnologia de Alimentos. Universidade Federal do Paraná. Endereço: Av Cândido Hartmann, 3530, ap 324 – CEP 82010-000 – Curitiba – PR. E-mail: leticia@grupomck.com.br

<sup>2</sup> Docente. Doutor. Divisão de Biotecnologia Industrial. Laboratório de Engenharia de Bioprocessos. Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Paraná. CEP 81531-970 – Curitiba – PR. E-mail: soccol@ufpr.br

(CIFERRI; TIBONI, 1985).

A *Spirulina* pode ser considerada de grande importância na nutrição humana devido às suas qualidades nutricionais: alto teor de proteína, baixo teor de gordura e alto teor de ácido linolênico (SASSANO, 1999).

Um grande número de estudos nutricionais foram feitos em dietas de diferentes animais: ratos, suínos, aves e bezerras. Em geral, é bem aceita pelos animais proporcionando aumento de peso e de deposição de nitrogênio comparáveis às outras fontes de proteína. Em aves a administração da microalga estimulou ligeiramente a produção de ovos, mas não o seu tamanho, mas aumentou consideravelmente a coloração da gema (CIFERRI, 1983).

Em camarões, lagostins e alevinos de diferentes espécies de importância comercial, a biomassa de *Spirulina* proporcionou crescimento igual ou superior à ração padrão. Além disso, algumas espécies atingiram a maturidade sexual mais cedo, permitindo um ciclo de geração menor (CIFERRI, 1983).

O cultivo de microalgas pode ser realizado em sistemas abertos ou fechados com iluminação natural ou artificial (HENRIKSON, 1989; MARQUEZ et al., 1995; PULZ; SCHEIBENBOGEN, 1998).

Os cultivos em sistemas abertos compreendem tanques naturais ou artificiais e representam o processo clássico de produção de microalgas. Ambos necessitam de grandes áreas e são usados quando o interesse é a produção de biomassa. Os sistemas fechados e semi-fechados apresentam algumas vantagens com relação ao sistema aberto como menor perda de CO<sub>2</sub>, menor risco de contaminação, manutenção da temperatura e condições de cultivo reprodutíveis. Porém, são recomendáveis quando a intenção é a obtenção de produtos com alto valor agregado (PULZ; SCHEIBENBOGEN, 1998).

A grande maioria das algas apresenta crescimento em temperaturas que variam de 15-25°C, porém o gênero *Spirulina* é classificado com termófilo, sendo a temperatura ótima de cultivo (entre 30-40°C) relativamente alta (RICHMOND, 1990). CIFERRI (1983) relatou que a *Spirulina* tolera grandes variações de temperatura. Porém Ferraz e Aquarone (1985) relatam que existe uma temperatura ótima entre 30-35°C na qual ocorre maior produção de biomassa.

O pH do meio de cultivo é um dos fatores mais importantes no cultivo de algas. O pH determina a solubilidade do dióxido de carbono e minerais no meio e influencia direta ou indiretamente o metabolismo das algas. O pH depende de vários fatores, como composição e capacidade tamponante do meio, quantidade de dióxido de carbono dissolvido, temperatura (que determina a solubilidade do CO<sub>2</sub>) e atividade metabólica das células (BECKER, 1995).

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a influência da temperatura e pH na produção de biomassa de *Spirulina major*; bem como determinar a temperatura e pH ótimos de cultivo para a espécie.

## 2. Materiais e Métodos

### Microrganismo

Foi utilizada uma cepa de *Spirulina major* obtida junto ao Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo (IOUSP).

### Meio de cultura

O meio de cultura utilizado, tanto para a manutenção de cepa, como nos experimentos, foi o meio de composição semi-definida chamado Guillard-F2.

### Condições de cultivo

Erlenmeyers de 250mL contendo 50mL de meio de cultura foram inoculados com aproximadamente 50mg/L de células de *Spirulina major* e foram colocados em incubadora refrigerada com agitação ("shaker") a 100rpm, com fotoperíodo de 12 horas fornecido por lâmpadas tipo luz do dia, por 8 dias.

### Determinação do crescimento das microalgas

Foi utilizado o método gravimétrico. Para a obtenção do peso seco foram utilizados papéis de filtro secos e previamente pesados e as algas retidas no papel de filtro foram levadas à estufa a 55°C até peso constante (BECKER, 1995).

### Determinação do pH

O pH das culturas foi determinado com um potenciômetro, de uma amostra de 15 mL do meio de cultura, previamente calibrado com soluções tampão de pH 4,0 e 7,0.

### Análise estatística

Para a análise estatística dos resultados obtidos foi utilizado o programa MSTATC versão 2.10 da Michigan State University, programado em sistema DOS para computador (Michigan State University, 1989), cedido pelo laboratório de informática do Setor de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Paraná.

As variâncias dos tratamentos foram testadas, quanto à sua homogeneidade, pelo teste de Bartlett. A obtenção de variâncias homogêneas permitiu a realização da análise de variância (ANOVA) e com o valor de F significativo, as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade.

### 3. Resultados e discussão

#### Temperatura

A otimização das variáveis temperatura e pH durante a escala laboratorial neste processo é muito importante pois garante um máximo rendimento da biomassa de *S. major*. Os cultivos foram feitos em quatro diferentes temperaturas (20°C, 25°C, 30°C, 35°C). Os dados do experimento foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado, em que foram testados quatro tratamentos com duas repetições cada.

Os resultados obtidos foram analisados pelo programa MSTAT, conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Resultados obtidos de produção de biomassa de *Spirulina major* para diferentes temperaturas de cultivo

Tratamentos	Temperatura de cultivo	Biomassa (g/L)
1	20°C	0,7355 c
2	25°C	0,855 bc
3	30°C	1,172 a
4	35°C	0,9280 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ente si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

A média do tratamento 3 (30°C) foi estatisticamente significativa e superior às demais, sendo portanto esta temperatura considerada ótima para o cultivo. Segundo Richmond (1990) a temperatura ótima para as cepas de *S. platensis* e *S. máxima*, é entre 35-37°. Entretanto para Ferraz e Aquarine (1985) as espécies de *Spirulina máxima* e *platensis* apresentam uma temperatura ótima de 30 – 35°C. Já para Hoshino et al. (1991), a temperatura ótima é de 30°C, o que confirma os resultados obtidos experimentalmente.

#### pH

Nesse experimento, o meio de cultura foi ajustado com solução de NaOH 0,1N para pH 8, 9, 10, 11, 12, incubados nas condições padronizadas.

Os dados do experimento foram analisados segundo um delineamento inteiramente casualizado, em que foram testados quatro tratamentos com duas repetições cada.

Os resultados obtidos foram analisados pelo programa MSTAT, conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2 - Comparação da biomassa de *Spirulina major* obtida em meio de cultura com diferentes valores de pH

Tratamentos	pH do meio de cultivo	Biomassa (g/L)
1	7,0	1,137 ab
2	8,0	1,274 a
3	9,0	1,030 b
4	10,0	0,9970 b

Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente ente si, pelo Teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

A média do tratamento 2 (pH 8,0) foi estatisticamente significativa e superior (1,274 g/L) às demais (1,137 g/L para pH 7,0; 1,030 g/L para pH 9,0 e 0,9970 g/L para pH 10,0), sendo, portanto, este valor de pH considerado ótimo para o cultivo. O pH ótimo de cultivo de *S. major* é inferior ao sugerido para a produção de biomassa de outras espécies de *Spirulina*, que é entre 9,0-10,0 (FERRAZ, 1985; MATERASSI; TREDICI; BALLONI, 1984).

Para a produção em grande escala de biomassa de *Spirulina*, além da temperatura e pH ótimos de cultivo já determinados, seriam necessários outros experimentos para avaliar a viabilidade econômica de processo.

### CONCLUSÃO

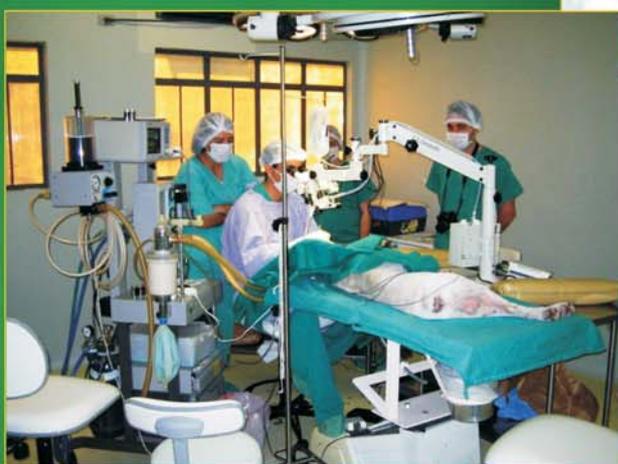
De acordo com os resultados obtidos, a temperatura ótima para o cultivo da *Spirulina major* é 30°C e o pH ótimo é 8,0, valor inferior ao pH ótimo de cultivo das espécies *máxima* e *platensis*.

### REFERÊNCIAS

- ABBOTT, I. A. *Food and food products from seaweeds*. In: Algae and human affairs. Cambridge University Press, p. 1396-147, 1988.
- BECKER, E.W. Algae Mass cultivation – production and utilization. *Process Biochemistry*, v. 27, p. 10-14, Aug./Sept. 1981.
- BECKER, E. W. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge University Press, 1995. 292 p.
- CIFERRI, O.; TIBONI, O. The biochemistry and industrial potential of *Spirulina*. *Annual Review of Microbiology*, v. 39, p. 503-526, 1985.
- CIFERRI, O. *Spirulina*, the edible microorganism. *Microbiological Reviews*, v. 47, n. 4, p. 551-578, 1983.
- FERRAZ, C. A. M.; AQUARONE, E.; KRAUTER, M. Efeito da luz e do pH no crescimento de *Spirulina máxima*. *Revista de Microbiologia*, São Paulo, v. 16, n. 2, p. 132-137, 1985.
- GUILLARD, R. R. L.; RYTH, J. H. Studies of marine planktonic diatoms I – *Cyclotella nana* Husted and *Detonula confervaceae* Gran. *Can. J. Microbiol.* v. 8, p. 229-239, 1962.
- HENRIKSON, R. *Earth food Spirulina*. California: Ronore Enterprises, 1989. 180 p.
- HOSHINO, K.; HAMOCHI, M.; MITSUHASHI, S. Measurements of oxygen production rate in flowing *Spirulina* suspension. *Applied Microbiology and Biotechnology*, Berlin, v. 35, p. 89-93, 1991.
- MARQUEZ, F. J. et al. Inhibitory effect of oxygen accumulation on the growth of *Spirulina platensis*. *Biotechnol. Lett. Dordrecht*, v. 17, n. 2, p. 225-228, 1995.
- MATERASSI, R.; TREDICI, M.; BALLONI, W. *Spirulina* culture in seawater. *Applied Microbiology and Biotechnology*, v. 19, p. 384-386, 1984.
- MICHIGAN STATE UNIVERSITY. MSTATC, versão 2.10, East Lansing, MI, 1989, 2 disquetes 3½pol. MSDOS.
- PULZ, O.; SCHEINBENBOGEN, K. Photobioreactors: design and performance with respect to light energy input. *Adv. Biochem. Eng. Biotechnol.* Berlin, v. 38, p. 123-152, 1998.
- RICHMOND, A. *CRC handbook of microalgal mass culture*. Florida: CRC Press, 1990. 528 p.
- SASSANO, C. E. N. *Influência da uréia no crescimento e no teor do ácido graxo -linolênico da biomassa de Spirulina platensis*. 1999, 144 f. Dissertação (Mestrado) - Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1999.

# Hospital Veterinário UNIPAR

CLÍNICA MÉDICA DE PEQUENOS ANIMAIS  
ODONTOLOGIA / OFTALMOLOGIA



Rod. PR 480, S/N, KM 14, Campus II - 87500-000 - Umuarama. PR  
Tel.: (44) 3639-2130

