

Produção de biomassa e teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e proteína em microalgas

Production of biomass and carbon, hydrogen, nitrogen and protein contents in microalgae

Silvana Ohse^I Roberto Bianchini Derner^{II} Renata Ávila Ozório^{II}
Maurício Villela Da Costa Braga^{II} Paulo Cunha^{III} Cláudia Pavan Lamarca^{III}
Márcia Estevão Dos Santos^{III}

RESUMO

O aumento da emissão de CO₂ e de outros gases efeito estufa tem gerado debates em nível mundial sobre alterações climáticas e estimulado o desenvolvimento de estratégias mitigadoras. Trabalhos nessa área incluem sequestro de CO₂ por meio da produção de microalgas aquáticas. Por essa razão, desenvolveu-se um estudo visando determinar os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e proteína e a produção de biomassa seca de nove espécies de microalgas marinhas (*Nannochloropsis oculata*, *Thalassiosira pseudonana*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis chuii*, *Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira fluviatilis* e *Isochrysis* sp.) e uma de água doce (*Chlorella vulgaris*), em cultivo autotrófico estacionário com objetivo de identificar as mais produtivas e com maior capacidade de fixação de carbono. O experimento foi desenvolvido em sala de cultivo, na Universidade Federal de Santa Catarina, com iluminação contínua e radiação em torno de 150 μmol m⁻² s⁻¹, temperatura de 25±2°C, suplementação de ar constante, sendo utilizados erlenmeyers com 800mL de meio de cultura. O delineamento experimental foi de blocos casualizados no tempo com três repetições. As espécies *C. vulgaris* e *T. suecica* são menos produtivas. Quando se visa à suplementação alimentar, as espécies *C. vulgaris* e *T. chuii* são consideradas interessantes, uma vez que apresentam altos teores de C, N, H e proteína. As espécies *N. Oculata*, *T. pseudonana* e *C. vulgaris* apresentam altos teores de C, demonstrando alta capacidade de fixação de carbono.

Palavras-chave: composição química, produtividade, fitoplâncton.

ABSTRACT

The increase of CO₂ emission and other gases greenhouse effect, caused global debates about climatic alterations and stimulated the development of mitigative strategies. Researches in this area includes CO₂ kidnapping through the aquatic microalgae production. For this reason, a study was developed aiming to determine the production of dry biomass, carbon content, hydrogen, nitrogen and rate protein growth of nine marine microalgae species (*Nannochloropsis oculata*, *Thalassiosira pseudonana*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis chuii*, *Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira fluviatilis* and *Isochrysis* sp.) and one freshwater species (*Chlorella vulgaris*) under stationary autotrophy conditions. Erlenmeyers flasks with 800mL medium culture were exposed to constant light intensity and air flow, photon flux density of about 150 μmol m⁻² s⁻¹ and 25±2°C temperature were used in the experiment. The delineating experiment was carried out in a randomized block over time with three replicates. The species *C. vulgaris* and *T. suecica* are less productive. When the aim is the alimentary supplementation, the species *C. vulgaris* and *T. chuii* are considered interesting, since it presents high contents of C, N, H and protein. The species *N. Oculata*, *T. pseudonana* and *C. vulgaris* present high contents of C, demonstrating high capacity of carbon setting.

Key words: chemist composition, productivity, phytoplankton.

INTRODUÇÃO

As algas são consideradas os organismos mais antigos da Terra, havendo evidências de sua

^IDepartamento de Fitotecnia e Fitossanidade, Setor de Ciências Agrárias e Tecnologia, Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), 84030-900, Ponta Grossa, PR, Brasil. E-mail: sohse@uepg.br. Autor para correspondência.

^{II}Engenharia de Aquicultura, Centro de Ciências Agrárias (CCA), Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil.

^{III}CENPES-PETROBRAS, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

existência já no pré-cambriano, há aproximadamente 3,5 bilhões de anos. Possivelmente foram as responsáveis pela produção e pelo acúmulo de O₂ na atmosfera primitiva, desempenhando, ainda hoje, papel importante na manutenção dos níveis desse gás, especialmente as formas marinhas planctônicas. Além disso, as algas têm sido reconhecidas como os organismos que deram origem a todos os outros organismos vegetais existentes atualmente (RAVEN et al., 2001).

Geralmente, quando se fala em produção de biomassa, dada pela incorporação de CO₂, são citadas as plantas arbóreas e arbustivas e as culturas agrícolas, ou seja, somente os seres pertencentes ao Reino Plantae, esquecendo-se que as cianobactérias (Reino Monera) foram as grandes responsáveis pelo aumento do teor de O₂ na atmosfera e, também as algas (Reino Protista). O processo responsável pela incorporação de CO₂ é a fotossíntese, resultando em liberação de O₂ para a atmosfera e acúmulo de biomassa pelo ser autotrófico. Os oceanos e não as florestas são o verdadeiro pulmão do mundo. Isso se deve ao fato de nosso planeta possuir cerca de 67% de sua superfície recoberta com água, a qual é habitada por uma grande diversidade de seres planctônicos autotróficos chamados microalgas.

As microalgas aquáticas são reconhecidas por apresentarem eficiência fotossintética superior às plantas C₄, taxas de proliferação rápida, grande variedade de tolerância a ambientes extremos, além de apresentarem excelente adaptabilidade a cultivos intensivos, o que as torna eficazes na redução do CO₂ atmosférico (KURANO et al., 1995). Dos organismos fotossintetizantes, as microalgas são muito mais eficientes no uso do CO₂ que as plantas superiores, podendo fixar quantidades muito maiores de CO₂ por área de terra. Assim, máximas produtividades de plantas superiores e árvores estão restritas a áreas com solo, água e clima favoráveis. A exposição das folhas à atmosfera submete-as a variações da demanda evaporativa, o que pode minimizar o processo fotossintético e, com isso, a absorção de CO₂. Microalgas em cultivo massal não se encontram sujeitas à inibição fotossintética, uma vez que o conteúdo de água pode ser controlado pela própria engenharia, o que explica sua superioridade quanto à capacidade de absorção de CO₂ quando comparadas a plantas superiores (BROWN & ZEILER, 1993).

As microalgas vêm sendo utilizadas na alimentação de animais aquáticos; como fonte de proteínas na forma de suplementação alimentar; como fonte de pigmentos (ficocianinas, astaxantinas e β-caroteno); tratamento de águas residuais; como adubo

orgânico e, atualmente, vêm sendo indicadas como uma possível matéria-prima para biocombustíveis, devido ao alto teor de óleo que algumas espécies apresentam e ao perfil de ácidos graxos.

Devido à alta produtividade, ao rápido crescimento de várias espécies de microalgas e ao grande número de substâncias de altíssimo interesse econômico por elas produzidas, a pesquisa acerca dessas microalgas tem aumentado. Todavia, no Brasil, estudos com esses microrganismos ainda são incipientes. Por essa razão, desenvolveu-se um ensaio laboratorial em sistema autotrófico estacionário a fim de conhecer a produtividade e os teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e proteína de 10 espécies de microalgas, sendo uma de água doce e nove marinhas.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi desenvolvido em sala de cultivo do Departamento de Ciência dos Alimentos (CAL) da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), em Florianópolis, Santa Catarina (SC). As microalgas estudadas foram: *Chlorella vulgaris* de água doce, *Nannochloropsis oculata*, *Thalassiosira pseudonana*, *Phaeodactylum tricorutum*, *Isochrysis galbana*, *Tetraselmis suecica*, *Tetraselmis chui*, *Chaetoceros muelleri*, *Thalassiosira fluviatilis* e *Isochrysis* sp. de ambiente marinho. O delineamento experimental utilizado foi de blocos casualizados no tempo, com três repetições, perfazendo 30 unidades experimentais. O experimento foi desenvolvido durante os meses de agosto e dezembro de 2004.

Durante a fase experimental, a sala de cultivo foi mantida sob temperatura de 25±2°C e com radiação artificial contínua das culturas (±75μmol m⁻² s⁻¹ no primeiro dia de cultivo, passando a ±150μmol m⁻² s⁻¹ a partir do segundo dia até a coleta, a qual foi fornecida por lâmpadas fluorescentes de 40W da marca OSRAM). Para o cultivo da espécie *C. vulgaris*, foi utilizado o meio de cultura W.C., utilizado para algas verde-amarelas (Tabela 1) e para as espécies marinhas o meio F/2 Guillard (Tabela 2), cuja salinidade foi de 29‰. As culturas foram aeradas por meio de um minicompressor (Oxi-bolha).

A fase experimental constou da inoculação de um volume pré-determinado de inóculo em função da densidade inicial desejada, em 800mL de meio de cultura W.C (Tabela 1), para a cepa de água doce, e meio F/2 Guillard (Tabela 2), para as cepas marinhas. Como unidade experimental, foram utilizados erlenmeyers de 1000mL. O volume de 800mL era adicionado aos erlenmeyers de 1000mL, autoclavados por 30 minutos a 121°C e, então, armazenados por 48

Tabela 1 - Meio de cultura W.C., modificado de GUILLARD & LORENZEN (1972).

Reagentes	Solução-estoque (g 100mL ⁻¹)	Meio de cultura
CaCl ₂ .2H ₂ O	36,8	1mL
MgSO ₄ .7H ₂ O	37,0	1mL
Na ₂ HCO ₃	12,6	1mL
K ₂ HPO ₄ .3H ₂ O	11,4	1mL
NaNO ₃	85,0	1mL
Na ₂ SiO ₃ .5H ₂ O	21,2	1mL
Solução de Ferro	(g 1000mL ⁻¹ de água destilada) Na ₂ EDTA = 4,36 FeCl ₃ .H ₂ O = 3,15	1mL
Solução micronutrientes MnCl ₂ .4H ₂ O = 0,18 Na ₂ MoO ₄ .2H ₂ O = 0,006 H ₃ BO ₃ = 1,0	(g 1000mL ⁻¹ de água destilada) CuSO ₄ .5H ₂ O = 0,01 ZnSO ₄ .7H ₂ O = 0,022 CoCl ₂ .H ₂ O = 0,01	1mL
Solução vitaminas	(g 1000mL ⁻¹ de água destilada) Tiamina HCl = 0,1 Biotina = 0,0005	1mL
Água destilada		1000mL

horas a 25°C, em razão da instalação de cada repetição. Efetuou-se a correção do pH do meio de cultura de água doce para 6,5, com solução de HCl 10% (± 2 mL) e de água marinha manteve-se em torno de $\pm 8,0$, não havendo necessidade de correção.

Para a produção de inóculo, foi realizada a repicagem das espécies mantidas em tubos de ensaio contendo 10 mL de cultura para erlenmeyers contendo 100mL de cultura. Estes foram acondicionados em sala de cultivo, sob temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$, radiação de $\pm 50 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$. Após três dias de crescimento nessas condições, esse volume foi repassado para erlenmeyers de 500mL contendo 300mL de meio de cultura mantidos sob radiação de aproximadamente $75 \mu\text{mol m}^{-2} \cdot \text{s}^{-1}$, onde permaneceram por mais três dias, visando aumentar a população, ou seja, a fonte de inóculo. Então foi determinada a densidade celular das culturas e quantificado o volume a ser inoculado em cada unidade experimental (no volume de 800mL).

Em razão da coleta de cada unidade experimental, o volume de cada erlenmeyer foi centrifugado duas vezes sob temperatura de 10°C, por 20 minutos a 4.000rpm. As amostras foram congeladas e liofilizadas, quando se determinou a biomassa seca e, desta, realizou-se a análise do teor de carbono, hidrogênio e nitrogênio, por meio da análise elementar CHNS. O teor de proteína foi derivado do teor de N encontrado na biomassa seca, utilizando-se o fator de

conversão 6,25. O tamanho celular obtido foi de 2,03; 5,18 x 3,15; 4,8 x 3,15; 5,33 x 3,15; 15,68 x 2,33; 5,25 x 3,52; 9,51 x 5,7; 10,88 x 7,2 e 1,93 x 8,03 μm , respectivamente, para *Nannochloropsis oculata* (forma esférica), *Isochrysis galbana*, *Isochrysis* sp., *Chaetoceros muelleri*, *Phaeodactylum tricornutum*, *Thalassiosira pseudonana*, *Tetraselmis suecica*, *Thalassiosira fluviatilis* e *Tetraselmis chui*.

Os dados obtidos para produtividade e teores de C, H, N e proteína foram submetidos à análise estatística por meio de análise de variância e teste de Tukey, em nível de 5% de significância, a fim de identificar diferenças entre as médias de cada tratamento, utilizando-se, para isso, o programa ESTAT.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância revelou significância para o efeito dos tratamentos na variável biomassa seca (BMS). A espécie *C. vulgaris* apresentou menor valor de BMS L⁻¹ (gramas de BMS por litro de cultura), não diferindo significativamente das espécies *P. tricornutum*, *T. chuii* e *T. suecica* e produzindo 52,90% a menos que *N. Oculata* (Tabela 3). Segundo MINOWA & SAWAYAMA (1999), as microalgas apresentam alto teor de água, com produtividades variando de 0,5 a 1,0g BMS L⁻¹. Exceto *T. suecica* e *C. vulgaris*, as demais se apresentam dentro da faixa indicada pelos referidos

Tabela 2 - Composição do meio de cultura F/2 empregado no cultivo de microalgas marinhas.

Solução de nitrato (adicionar 0,65mL L ⁻¹ de água do mar)	
NaNO ₃	150,0g
FeCl ₃ .6H ₂ O	8,0g
EDTA Na ₂	10,0g
Sol. Traços de Metais	2,0mL (de cada solução)
Água destilada	a 1,0L
-----Solução de traços de metais:-----	
ZnCl ₂ .7H ₂ O	1,65g
CoCl ₂ .6H ₂ O	1,50g
(NH ₄) ₆ Mo ₇ O ₂₄ .4H ₂ O	0,60g
CuSO ₄ .5H ₂ O	1,47g
MnCl ₂ .6H ₂ O	27,0g
Água destilada para cada solução	150,0mL
-----Solução de fosfato (adicionar 0,65mL L ⁻¹ de água do mar)-----	
NaH ₂ PO ₄ .H ₂ O	16,0g
Água destilada	a 1,0L
-----Solução de silicato (adicionar 1,0mL L ⁻¹ de água do mar)-----	
Silicato de sódio (H-300, QUIMIDROL)	80,0g
Água destilada	a 1,0L
-----Solução de TRIS-----	
Tris (Hidroximetil) Aminometano	50,0g
Ácido clorídrico PA	35,0mL
Água destilada	470,0mL
Adicionar 5,0mL L ⁻¹ de água do mar, quando da necessidade de autoclavar o meio.	
Vitaminas:	
Biotina: 0,1g para 100mL, deste adicionou-se 1mL na solução de Fosfato.	
Cianocobalamina: 0,1g para 100mL, deste adicionou-se 1mL na solução de Fosfato.	
Tiamina: 0,2g, adicionada à solução de Fosfato.	

Fonte: GUILLARD (1975).

autores (Tabela 3). A espécie *N. Oculata* apresenta forma esférica, com diâmetro médio de 2,03µm, sendo menor que as demais espécies estudadas, fator que pode justificar seu desempenho em produtividade, uma vez que sua densidade poderá ser bem maior e, como as microalgas são compostas basicamente de água, quanto maior o número de indivíduos (células) maior a BMS. Além disso, as espécies pertencem a diferentes classes taxonômicas, apresentando, com isso, características genéticas, dimensões e morfologias diferentes.

O valor de BMS obtido para o gênero *Nannochloropsis* não diverge muito do obtido por RODOLFI et al. (2003), sendo, porém, significativamente superior ao encontrado por ROCHA et al. (2003), os quais foram 1g BMS L⁻¹ e 0,38g BMS L⁻¹,

respectivamente. Extrapolando o valor obtido pela *N. oculata* para um tanque de 1ha (100 x 100m) e 0,3m de profundidade (3.000m³), tem-se 3.000.000L de cultivo. Considerando a produtividade obtida neste estudo, ter-se-ia 2,48t BMS ha⁻¹ de *N. Oculata*. Se realizados 12 cultivos ao ano, obter-se-ia 29,81t de BMS ha⁻¹ a⁻¹ (Tabela 3). Além disso, o ciclo da *N. Oculata* foi de sete dias, o que propicia o aumento do número de cultivos por mês e, conseqüentemente, por ano.

Estudando o crescimento de 18 espécies de microalgas sob condições controladas, RENAUD et al. (1999) encontraram 43, 47,6 e 32,1pg BMS cel⁻¹ para *Chaetoceros* sp., *Tetraselmis* sp. e *Isochrysis* sp., respectivamente. No presente trabalho, houve semelhança de produtividade dos gêneros *Chaetoceros* sp. e *Isochrysis* sp. e superioridade do gênero

Tabela 3 - Lista das espécies de microalgas estudadas e respectiva produção de biomassa seca por litro de cultura (mg BMS L⁻¹), por célula (os dados de BMS de mg L⁻¹ foram transformados para g mL⁻¹ e divididos pela densidade celular máxima (DCM)), por m⁻³ d⁻¹ (extrapolou-se a BMS encontrada por litro de cultivo para 1000L (1m³), dividindo-se o resultado pelo dia de cultivo que atingiu a DCM para cada espécie) e por L d⁻¹ (os dados de BMS foram divididos pelo dia de cultivo que atingiu a DCM para cada espécie). O desvio padrão é colocado entre parênteses após as médias.

Espécie	mg BMS L ⁻¹	pg BMS cel ⁻¹	g BMS m ⁻³ d ⁻¹	g BMS L ⁻¹ d ⁻¹
<i>Nannochloropsis oculata</i>	828,03 (140,54) a*	14,945	118,29	0,12
<i>Chaetoceros muelleri</i>	801,12 (182,68) a	49,595	141,29	0,14
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	794,42 (16,71) a	484,40	183,47	0,18
<i>Isochrysis galbana</i>	730,85 (76,79) a	29,26	146,17	0,15
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	679,11 (106,16) ab	63,15	169,78	0,17
<i>Isochrysis</i> sp.	676,55 (156,73) ab	28,05	112,76	0,11
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	618,84 (155,54) abc	41,74	103,14	0,10
<i>Tetraselmis chuii</i>	612,82 (60,65) abc	557,10	114,98	0,11
<i>Tetraselmis suecica</i>	406,73 (22,99) bc	191,55	81,35	0,08
<i>Chlorella vulgaris</i>	390,01 (18,84) c	505,19	58,47	0,06
Média geral	653,85	196,50	122,97	0,122
CV (%)	14,52			

*Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Tetraselmis. Valores inferiores foram reportados também por RENAUD et al. (2002) para *Chaetoceros* sp. e *Isochrysis* sp., com produtividades de 25,0pg BMS cel⁻¹ e 20,8pg BMS cel⁻¹, respectivamente (Tabela 3).

Produtividade inferior para *C. muelleri*, em razão do cultivo em sistema estacionário protegido durante o verão-outono (26,1g BMS m⁻³ d⁻¹) e inverno-primavera (43,7g BMS m⁻³ d⁻¹), foi reportada por LÓPEZ-ELÍAS et al. (2005), o que pode ser justificada pela iluminação contínua (24 horas) mantida no presente trabalho, o que mantém as microalgas fotossintetizando 24 horas por dia, intensificando seu crescimento e, com isso, o acúmulo de BMS (Tabela 3). No entanto, GÖKSAN et al. (2003) encontraram valor médio semelhante (0,16g BMS L⁻¹ d⁻¹) ao obtido neste estudo para *C. muelleri* (Tabela 3).

O valor médio observado para *P. tricorutum* encontra-se dentro da faixa de 0,57 a 2,10g BMS L⁻¹ obtida por GARCÍA et al. (2005) em cultivo mixotrófico. Todavia, esse valor é inferior ao encontrado por FERNÁNDEZ et al. (2003), quando cultivada em reator a céu aberto (Tabela 3).

O valor de 180,2pg BMS cel⁻¹ foi obtido para *T. suecica* por NIEVES et al. (2005), corroborando o resultado obtido neste trabalho para a mesma espécie (Tabela 3). Exceto *T. suecica* e *C. vulgaris*, as demais espécies apresentaram produtividades superiores, porém em distintas condições laboratoriais (Tabela 3).

Para a microalga *C. vulgaris*, a literatura apresenta valores de BMS inferiores e superiores (SCRAGG et al., 2002; WATANABE & SAIKI, 1996,

respectivamente). Já para *I. Galbana* valor inferior foi observado por TZOVENIS et al. (2003). Produtividade superior à média geral deste estudo foi observada em diferentes espécies microalgais e condições de cultivo (KURANO et al., 1995; RICHMOND et al., 2003; OLAIZOLA, 2003). As diferenças de produtividade se devem provavelmente a variações experimentais, sejam elas de radiação, temperatura, aeração, meio de cultura, tipo de cultivo, tempo de cultivo, etc. O acúmulo de BMS, em cultivos estacionários, varia bastante, além de apresentar altíssimo custo de produção, o qual representa cerca de 30% do custo total de produção de alimento vivo (VALENZUELA-ESPINOZA et al., 1999).

Houve significância nos tratamentos para teor de carbono (C) na BMS. A espécie *N. oculata* apresentou o maior teor, diferindo significativamente somente da espécie *I. galbana*, da qual apresentou superioridade de 56,14% (Tabela 4). O teor de C apresentado por *N. oculata* encontra-se mais próximo ao valor de 45% citado por RAVEN et al. (2001), para plantas superiores. Como o C é um componente estrutural, era de se esperar pequena variação entre as espécies de microalgas estudadas.

A espécie *N. oculata* apresentou 40,85% de C na BMS, sendo inferior ao encontrado por MINOWA et al. (1995) para *Dunaliella tertiolecta*. MIAO & WU (2004) e MIAO et al. (2004), cultivando *Chlorella protothecoides* em cultivo autotrófico e heterotrófico, obtiveram teores superiores ao obtido neste estudo para *C. vulgaris*. Da mesma forma, WATANABE & SAIKI (1996), cultivando *Chlorella* sp., constataram

Tabela 4 - Lista das espécies de microalgas estudadas e respectivos teores de carbono (TCBMS), de nitrogênio (TNBMS), de hidrogênio (THBMS) e de proteína na biomassa seca (TPBMS em % ou mg 100g⁻¹). O desvio padrão é colocado entre parênteses após as médias.

Espécie	TCBMS (%)	TNBMS (%)	THBMS (%)	TPBMS (%)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	40,85 (10,66) a	4,62 (1,73) ab	6,98 (0,83) a	28,88 (10,81) ab
<i>Chaetoceros muelleri</i>	34,81 (0,86) ab	2,77 (0,42) b	4,05 (0,65) e	17,32 (2,61) b
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	31,77 (3,20) ab	3,11 (0,91) b	5,06 (0,09) cde	19,44 (5,69) b
<i>Isochrysis galbana</i>	22,93 (4,27) b	2,91 (0,70) b	4,24 (0,42) de	18,16 (4,35) b
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	38,86 (5,09) a	4,81 (2,42) ab	5,40 (1,00) bcde	30,02 (15,15) ab
<i>Isochrysis</i> sp.	34,16 (6,78) ab	4,93 (0,59) ab	5,07 (0,22) cde	30,81 (3,68) ab
<i>Phaeodactylum tricorutum</i>	35,05 (3,49) ab	3,20 (1,26) b	4,93 (0,53) cde	20,00 (7,90) b
<i>Tetraselmis chuii</i>	36,84 (2,83) ab	6,65 (0,91) a	6,58 (0,40) ab	41,54 (5,68) a
<i>Tetraselmis suecica</i>	37,54 (5,26) ab	4,38 (1,38) ab	6,08 (0,75) abc	27,39 (8,60) ab
<i>Chlorella vulgaris</i>	39,09 (4,07) a	5,30 (1,51) ab	5,85 (0,21) abcd	33,15 (9,41) ab
Média geral	35,19	3,27	5,42	26,67
CV (%)	14,58	31,94	9,92	24,49

*Tratamentos com médias não seguidas pela mesma letra diferem entre si, pelo teste de Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

46,1% de C na BMS, valor 15,21% superior ao obtido neste trabalho para o mesmo gênero (Tabela 4). MASAKAZU & IKENOUCI (1997) encontraram como valor médio de 1g CO₂ L⁻¹ d⁻¹ com radiação contínua. KURANO et al. (1995), em *Chlorococcum littorale*, obtiveram teor de CO₂ de 4g L⁻¹ d⁻¹ em um volume de meio de 10mL e, em 4L, o teor médio foi de 0,65g BMS L⁻¹ d⁻¹ e em 20 litros 0,85g L⁻¹ d⁻¹. O tipo de cultivo e o manejo influenciam grandemente o acúmulo de C em qualquer ser autotrófico.

Análise da variância revelou significância para o efeito dos tratamentos na variável teor de nitrogênio (N) na BMS, variando de 2,77 a 6,65%. A espécie *T. chuii* apresentou maior valor, não diferindo significativamente das espécies *C. vulgaris*, *Isochrysis* sp., *T. pseudonana*, *N. oculata* e *T. suecica*. A espécie *C. muelleri* apresentou o menor valor, inferior em 58,34% da espécie *T. chuii* (Tabela 4). Apesar do alto valor, a espécie *T. chuii*, apresentou valor inferior ao reportado por MINOWA et al. (1995) para *Dunaliella tertiolecta* (9,8%). O teor de N na BMS de *C. vulgaris* (Tabela 4) também foi menor aos valores citados por MIAO & WU (2004) e MIAO et al. (2004) em *C. protothecoides*.

Houve significância nos tratamentos para teor de hidrogênio (H) na BMS, o qual variou de 4,05 a 6,98%. *C. muelleri* apresentou menor valor, sendo 41,98% inferior à espécie *N. oculata*, que apresentou maior teor, não diferindo significativamente de *T. chuii*, *T. suecica* e *C. vulgaris* (Tabela 4). *N. oculata* apresentou valor maior ao obtido em *D. tertiolecta* por MINOWA et al. (1995). *C. vulgaris* apresentou valor

inferior a *C. protothecoides* (MIAO & WU, 2004; MIAO et al., 2004). O teor médio de H foi 5,42%, próximo ao valor de 6% referido para plantas por RAVEN et al. (2001).

O teor de proteína foi derivado do teor de N na BMS, utilizando-se o fator de conversão 6,25. Houve significância para tratamentos, sendo o maior teor de proteína encontrado em *T. chuii*, o qual foi superior às espécies *P. tricorutum*, *T. fluviatilis*, *I. galbana* e *C. Muelleri* (Tabela 4). Entretanto, foi inferior ao constatado por MINOWA et al. (1995) para *D. tertiolecta* (63,6%). Em *C. vulgaris* obteve-se teor de proteína inferior ao obtido por MIAO & WU (2004, 2005), em *C. protothecoides* (52,64%).

Na espécie *Chaetoceros* sp., RENAUD et al. (1999) encontraram 36,7% de proteína, com média de 26,3% para a ordem Bacillariophyceae, 28,15% para *Tetraselmis* sp., com média de 29,5% para Prasinophyceae e 29,5% para *Isochrysis* sp., com média de 28,3% para a ordem Prymnesiophyceae. Valor aproximado foi obtido para *Isochrysis* sp., com média de 24,49% para a ordem Prymnesiophyceae (*Isochrysis* sp. e *I. galbana*). *C. muelleri* apresentou valor médio inferior (17,32%), cuja média para a ordem Bacillariophyceae foi de 21,70% e maior para Prasinophyceae (*T. suecica* e *T. Chuii*), tendo como média 34,47%. Teores superiores também foram obtidos por RENAUD et al. (2002), para *Isochrysis* sp. e *Chaetoceros* sp., e por CASTRO ARAÚJO & GARCIA (2005), para *Chaetoceros* cf. *wighamii*. Já SÁNCHEZ et al. (2000) obtiveram respectivamente teores semelhantes e inferiores para *I. galbana*.

Estudando *P. tricorutum* e *Nannochloropsis* sp, REBOLLOSO-FUENTES et al. (2001b) e REBOLLOSO-FUENTES et al. (2001a) obtiveram 36,4 e 28,8% de proteína, respectivamente, valores superiores aos constatados neste estudo (Tabela 4).

Avaliando seis modelos de cultivo do tipo estacionário, LÓPEZ-ELÍAS et al. (2003) encontraram teores de proteína para *Chaetoceros* sp., variando de 10,81 a 25,52%. LÓPEZ-ELÍAS et al. (2005) encontraram em *C. muelleri* teores de proteína variando de 38,6 a 71,7%, em cultivo estacionário protegido, e de 50,1 a 71,7% ao ar livre. O teor médio de proteína obtido neste estudo para o mesmo gênero está dentro da faixa encontrada por LÓPEZ-ELÍAS et al. (2003), sendo, porém, inferior ao encontrado por LÓPEZ-ELÍAS et al. (2005). Teor superior de proteína foi também obtido por VILCHIS et al. (2004) para *C. muelleri*. SAAVEDRA & VOLTOLINA (1994) encontraram teor máximo de proteína de 51,86% e 31,93% em *Chaetoceros* sp., em razão do uso de radiação de 565 e 199 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, respectivamente, contrastando o valor de 17,32% obtido para *C. muelleri* com radiação de 150 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$, comprovando a influência da intensidade luminosa na síntese protéica, na síntese e na incorporação de toda e qualquer substância, pois são constituídas por C, o qual é fixado pelo processo fotossintético que é altamente influenciado pela intensidade luminosa.

Comparando os resultados obtidos neste estudo com os resultados apresentados na literatura, percebe-se que, tanto a produtividade, como os teores de C, H, N e proteína, variaram muito dentro da mesma espécie, com as condições em que foram desenvolvidos os cultivos, sejam elas de temperatura, fotoperíodo, intensidade de radiação, meio de cultura, tipo de cultivo, entre outros.

CONCLUSÕES

As espécies *C. Vulgaris* e *T. suecica* são menos produtivas. Quando se visa à suplementação alimentar, as espécies *C. vulgaris* e *T. Chuii* são consideradas interessantes, uma vez que apresentam altos teores de C, N, H e proteína. As espécies *N. Oculata*, *T. pseudonana* e *C. vulgaris* apresentam altos teores de C, demonstrando alta capacidade de fixação de carbono.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à PETROBRAS, pelo auxílio financeiro (Projeto nº 360/2002), e ao Laboratório de Cultivo de Camarões Marinhos (LCM) da UFSC, pelo fornecimento das cepas.

REFERÊNCIAS

- BROWN, L.M.; ZEILER, K.G. Aquatic biomass and carbon dioxide trapping. **Energy Conversion Management**, v.34, n.9-11, p.1005-1013, 1993.
- CASTRO ARAÚJO, S.; GARCIA, V.M.T. Growth and biochemical composition of the diatom *Chaetoceros* cf. *Wighamii* brightwell under different temperature, salinity and carbon dioxide levels. I. Prot, carbohydrate and lipids. **Aquaculture**, v.246, p.405-412, 2005.
- FERNÁNDEZ, F.G.A. et al. Outdoor production of *Phaeodactylum tricorutum* biomass in helical reactor. **Journal of Biotechnology**, v.103, p.137-152, 2003.
- GARCÍA, M.C.C. et al. Mixotrophic growth of the microalga *Phaeodactylum tricorutum* influence of different nitrogen and organic carbon sources on productivity and biomass composition. **Process Biochemistry**, v.40, p.297-305, 2005.
- GÖKSAN, T. et al. Effects of light path lengths and initial culture density on the cultivation of *Chaetoceros muelleri* (Lemmermann, 1898). **Aquaculture**, v.217, p.431-436, 2003.
- GUILLARD, R.R.L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: SMITH, W.L.; CHANLEY, M.H. (Eds.). **Culture of marine invertebrate animals**. New York: Plenum, 1975. p.29-60.
- KURANO, N. et al. Fixation and utilization of carbon dioxide by microalgal photosynthesis. **Energy Conversion. Management**, v.36, n.6-9, p.689-692, 1995.
- LÓPEZ-ELÍAS, J.A. et al. Mass production of microalgae in six commercial shrimp hatcheries of the Mexican northwest. **Aquacultural Engineering**, v.29, p.155-164, 2003.
- LÓPEZ-ELÍAS, J.A. et al. Indoor and outdoor mass production of the diatom *Chaetoceros muelleri* in a mexican commercial hatchery. **Aquacultural Engineering**, v.33, p.181-191, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science?>>. Acesso em: 24 out. 2005. Doi: 10.1016/j.aquaeng.2005.01.001.
- MASAKAZU, M.; IKENOUCI, M. The biological CO₂ fixation and utilization project by rite (2) - Screening and breeding of microalgae with High Capability in fixing CO₂. **Energy Conversion Management**, v.38, p.S493-S497, 1997.
- MIAO, X. et al. Fast pyrolysis of microalgae to produce renewable fuels. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, v.71, p.855-863, 2004.
- MIAO, X.; WU, Q. High yield bio-oil production from fast pyrolysis by metabolic controlling of *Chlorella protothecoides*. **Journal of Biotechnology**, v.110, p.85-93, 2004.
- MIAO, X.; WU, Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. **Bioresource Technology**, v.97, p.841-846, 2006. Disponível em: <www.sciencedirect.com>. Acesso em: 16 jul. 2005. Doi: 10.1016/j.biortech.2005.04.008.
- MINOWA, T. et al. Oil production from algal cells of *Dunaliella tertiolecta* by direct thermochemical liquefaction. **Fuel**, v.74, n.12, p.1735-1738, 1995.

- MINOWA, T.; SAWAYAMA, S. A novel microalgal system for energy production with nitrogen cycling. **Fuel**, v. 78, n. p. 1213-1215, 1999.
- NIEVES, M. et al. Growth and biomass production of *Tetraselmis suecica* and *Dunaliella tertiolecta* in standard medium added with three products of zeolitic nature. **Aquacultural Engineering**, v.32, p.403-410, 2005.
- OLAIZOLA, M. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. **Biomolecular Engineering**, v.20, p.459-466, 2003.
- RAVEN, P.H. et al. **Biologia vegetal**. 6.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2001. 906p.
- REBOLLOSO-FUENTES, M.M. et al. Biomass nutrient profiles of the microalga *Nannochloropsis* sp. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.49, p.2966-2972, 2001a.
- REBOLLOSO-FUENTES, M.M. et al. Biomass nutrient profiles of the microalga *Phaeodactylum tricoratum*. **Journal of Food Biochemistry**, v.25, p.57-76, 2001b.
- RENAUD, S.M. et al. The gross chemical composition and fatty acid composition of 18 species of tropical Australian microalgae for possible use in mariculture. **Aquaculture**, v.170, p.147-159, 1999.
- RENAUD, S.M. et al. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. **Aquaculture**, v.211, p.195-214, 2002.
- RICHMOND, A. et al. Efficient use of strong for high photosynthetic productivity: interrelationships between the optical path, the optical population density and cell-growth inhibition. **Biomolecular Engineering**, v.29, p.229-236, 2003.
- ROCHA, J.M.S. et al. Growth aspects of the marine microalga *Nannochloropsis gaditana*. **Biomolecular Engineering**, v.20, p.237-242, 2003.
- RODOLFI, L. et al. Growth medium recycling in *Nannochloropsis* sp. Mass cultivation. **Biomolecular Engineering**, v.20, p.243-248, 2003.
- SAAVEDRA, M.P.S.; VOLTOLINA, D. The chemical composition of *Chaetoceros* sp. (Bacillariophyceae) under different light conditions. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.1, p.39-44, 1994.
- SÁNCHEZ, S. et al. Biomass production and biochemical variability of the marine microalga *Isochrysis galbana* in relation to culture medium. **Biochemical Engineering Journal**, v.6, p.13-18, 2000.
- SCRAGG, A.H. et al. Growth of microalgae with increased calorific values in a tubular bioreactor. **Biomass and Bioenergy**, v.23, p.67-73, 2002.
- TZOVENIS, I. et al. Optimization of T-ISO biomass production rich in essential fatty acids I. Effect of different light regimes on growth and biomass production. **Aquaculture**, v.216, p.203-222, 2003.
- VALENZUELA-ESPINOZA, E. et al. Biomass production and nutrient uptake by *Isochrysis* aff. Ga (Clone T-iso) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. **Aquaculture Engineering**, v.20, p.135-147, 1999.
- VILCHIS, L.M.C. et al. Growth of *Artemia franciscana* fed *Isochrysis* sp. ad *Chaetoceros muelleri* during its early life stages. **Aquaculture Research**, v.35, p.1086-1091, 2004.
- WATANABE, Y.; SAIKI, H. Development of a photobioreactor incorporating *Chlorella* sp. for removal of CO₂ in stock gas. **Energy Conversion Management**, v.38, p.499-503, 1996.