



UNIVERSIDADE
E D U A R D O
MONDLANE

Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras

Monografia para obtenção do grau de licenciatura em Química Marinha

2017

Avaliação da produção de microalgas em tanques de betão

Autor:

Mauro Arlindo Gune

Quelimane, Novembro de 2017



UNIVERSIDADE
E D U A R D O
M O N D L A N E

Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras

Monografia para obtenção do grau de licenciatura em Química Marinha

2017

Avaliação da produção de microalgas em tanques de betão

Autor:
Mauro Arlindo Gune

Supervisora:
Dr. Valera Lucena Dias

Quelimane, Novembro de 2017

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho:

Aos meus pais, Arlindo Alfredo Gune e Fátima Armando Grachane pelo amor incondicional e ensinamentos valiosos.

Especialmente as minha tias, Inocência Armando Grachane, Maria do Rosário Grachane, e minha irmã Wembia de Fátima, pelo incentivo.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pelo dom da vida

Ao Prof. Fialho Nehama (Director da ESCMC-UEM), pela oportunidade concebida para fazer parte desta pesquisa.

A Minha supervisora Dr. Valera Dias, por acreditar no meu potencial e pelo incentivo.

Aos meus Pais, Arlindo Alfredo Gune e Fátima Armando Grachane pelo amor, apoio, ensinamentos, motivação, e perseverança.

Aos Meus irmãos, Armando Joaquim, Cleto Amede Gune, Selmo Arlindo Gune, Wêmbia de Fátima Arlindo Gune pelo carinho, Força e por terem me ensinado a ir atrás das coisas.

Aos meus cunhados, Dinho, Rosangela, pelo incentivo.

Aos meus familiares, avós, avôs, cunhados, tios, tias, primos, primas, por terem me apoiado directa e indirectamente.

A todos docentes da ESCMC pelos conhecimentos passados durante os 4 anos em especial ao, Msc Naftal, Msc Inocência, Professor Catedrático.Houguane, Dr. Eulália, Msc Pita, Msc Noca, Msc Yolanda, Msc Jasse, Msc Manuessa, dr Paula, Msc Banito, dr Omar e a todos docentes que não foram mencionados, mas que tiveram o seu contributo na minha formação.

Aos responsáveis da laboratório da ESCMC, Sr. Hamisse, Colega Nazaré e Dona Hatija, por me ajudarem nesse trabalho.

Aos meus professores da Escola Primária Rainha Sofia em especial, a professora Maria da Graça, professora Gertudes, professora Inzolina, professor Armindo Inguane, Victória Chambule, pelos valiosos ensinamentos.

Aos colegas em especial ao Helder Carlitos, Kennet Muchanga, Gaston Emile, Helena Alberto, Pascoa da Dores, Mario de Sousa, Evaristo Simbine, Lurdino Soto, Bernardo Orlando, Benziro Rendeceu, Isadora Macate, Joquina Benjamin, Jaime Tobias, Vicente dos Anjos, Alfredo Chaúque, Debierno Paixão, Tobias Sopinho, Conde de Araújo, Gafar Nvela, Maria Teresa, Edson Mavie, Márcia da Hortência, Edna Chirindza,

Crimilda Simango, Flávio Djedje, Ernesto Tembe, Orlando Jamisse, Catarina Mambule, Orlando Macicame, Balbina Siteo, Celência Rafael, Mário de Sousa, Néusia Nombora, Norton Cossa, Lodomaiky gove, António Guzia, Manuel Simango, Sérgio Chambela, Ivete Francisco, Hélio Mangoma, Crimildo Zimoua pela amizade, ajuda, companheirismo e compreensão.

Aos meus amigos de Maputo especial, Cassamo , Cláudio, Costantino, Diquino, Golfe, Hilário, Ivaldo, Mário, Meluce, Nanado, Nash, Nucho, Paito, Paizinho, Plácido, Pinto, Tino, Titos, Jozimar, Zaquito, Mano Inácio, Mano Arlindo, Mana Cacilda, Mano Chiquepo.

Aos meus amigos do bairro Saguar (Quelimane) em especial, Gérsio, Lori, Julinha, Tima, Billy, Rachide, Sandra, Delfina, Nélia, Olga, Celino, Djúma, Hilário, Morins, Maurício, Marlene, Assir, Edma, Quinho, Mãe Madalena, Dona Florinda, Dona Nilza, Dona Otília, Dona Maria, Dona Cristina, Dona Anabela, Senhor Carlos, Senhor Pompílio, Mana Lurdes, Mano Luis, Mano Nelson, Mana Loyd pela amizade e apoio permanente durante os 4 anos.

À todos que não foram mencionados, mas que de uma forma ou de outra tiveram a sua contribuição na realização deste trabalho.

DECLARAÇÃO E COMPRIMISSO DE HONRA

Juro por minha honra é da minha autoria, com a colaboração dos meus amigos, colegas e docentes, a informação e os dados obtidos são da minha inteira responsabilidade. Este trabalho nunca foi submetido em nenhuma instituição do ensino para a obtenção do grau académico.

Quelimane, Novembro de 2017

Mauro Arlindo Gune

LISTA DE ABREVIATURAS

NPK	Nitrogénio, fosforo e potássio
SPT	Superfosfato triplo
pH	Potencial de hidrogeniônico
°C	Grau celsius
ATP	Síntese de trifosfato de adenosina
OD	Oxigênio dissolvido
ESCMC	Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras
mg/L	miligrama por litro
cm	centímetro
mL	mililitro
L	Litro
mm	milímetro
%	Por cento
Nm	nanômetro
µg/L	micrograma por litro
λ	lâmbida

LISTA DE FIGURAS

Figura1: Mapa de localização da área de estudo no Chuabo-Dembe, que ilustra os tanques de cultivo de microalgas. (Fonte: Google Earth).....	12
Figura 2. Tanques de cultivo de microalgas.....	14
Figura 3. Pesagem e secagem da biomassa de microalgas.....	16
Figura 4. Cultivo de microalgas em sistema de tanque aberto. (a) No início de experiemto (dia 1). (b) Após a adição de nutrientes (dia 6). (c) No meio do experimento (dia 10). No final de cultivo (dia 19).....	17
Figura 5. Diversidade de microalgas identificadas nos tanques de cultivo.(a) <i>Nitzschia sp.</i> (b) <i>Chlorella sp.</i> (c) <i>Cyclotella sp.</i> (d) <i>Chaetoceros sp.</i> (e) <i>Euglena sp.</i> (f) <i>Skeletonema sp.</i>	18
Figura 6.Variação média (n=3) da concentração de clorofíla-a no tanque de microalgas em sistema de tanque aberto.....	19
Figura 7. Biomassa média fresca e seca no fim do cultivo de microalgas em sistema de tanque aberto.....	20
Figura 8. Variação média (n=3) diária da temperatura no cultivo de microalgas em sistema de tanque aberto.....	21
Figura 9. Variação média (n=3) diária da salinidade no cultivo de microalgas em sistema de tanque aberto.....	22
Figura 11. Variação média (n=3) diária da concentração do oxigénio no cultivo de microalgas em sistema de tanque aberto.....	23
Figura 12. Variação média (n=3) diária do pH no cultivo de microalgas em sistema de tanque aberto.....	24

RESUMO

O presente trabalho teve por objectivo avaliar a produção de microalgas em tanques de betão. O experimento decorreu em 19 dias, durante os quais foi efectuada análise de qualidade da água diariamente as 8 horas e as 15:30 horas. A identificação das espécies de microalgas foi feita através da observação no microscópio óptico e com o auxílio do guia de identificação de fitoplâncton. Para a extração e determinação da concentração de clorofila-a fez-se colecta das amostras na coluna de água em cada tanque, posteriormente fez-se a extração dos pigmentos clorofílicos, onde foram obtidos os valores de absorvância da clorofila no comprimento de onda 610nm e 660nm. No fim do experimento, fez-se a recolha das microalgas, com ajuda de uma rede de plâncton de 60µm. Posteriormente fez-se a determinação da biomassa fresca e seca, após a evaporação da água. Os resultados da qualidade água mostraram grandes variações de temperatura e oxigénio ao longo dos dias de cultivo, cujo os valores mínimos e máximos foram de 21°C e 28°C, 5,4 mg/l e 15,6 mg/l respectivamente. As variações de salinidade não significativas, os valores obtidos estiveram entre 12,1 ppm a 17,7 ppm, enquanto os valores de pH tiveram tendência em manter estáveis, entre 7,2 e 8,6. Durante o experimento foram identificadas 6 espécies nomeadamente, *Nitzschia sp*, *Skeletonema sp*, *Cyclotella sp*, *Chorella sp*, *Chaetoceros sp* e *Euglena sp*. Os valores da concentração de clorofila-a registados no início e término do experimento foram de 11,1 µg/l e 152,7 µg/l. Os valores médios de biomassa fresca e seca obtidos no fim do experimento foram de 16 Kg e 14 Kg. Estes resultados permitem concluir que factores como temperatura e nutrientes tem maior influência na produção da biomassa de microalgas.

Palavras-chave: microalgas, meio de cultivo, monitoramento, extração de clorofila-a

ABSTRACT

The present work had the objective of evaluating the production of microalgae in concrete tanks. The experiment took place in 19 days, during which water quality analysis was carried out daily at 8 am and 3:30 p.m. The identification of the microalgae species was made through observation under the optical microscope and with the help of the phytoplankton identification guide. In order to extract and determine the concentration of chlorophyll-a, the samples were collected in the water column in each tank, after which the chlorophyll pigments were extracted, where the absorbance values of chlorophyll were obtained in the 610nm wavelet and 660nm. At the end of the experiment, the microalgae were collected with the aid of a 60µm plankton net. Subsequently, the determination of the fresh and dry biomass was carried out after the evaporation of the water. The results of the water quality showed great variations of temperature and oxygen throughout the days of cultivation, whose minimum and maximum values were 21 ° C and 28 ° C, 5.4 mg / l and 15.6 mg / l, respectively. The salinity variations were not significant, values obtained were between 12.1 ppm and 17.7 ppm, while pH values tended to remain stable, between 7.2 and 8.6. During the experiment 6 species were identified, namely *Nitzschia sp*, *Skeletonema sp*, *Cyclotella sp*, *Chorella sp*, *Chaetoceros sp* and *Euglena sp*. The concentration of chlorophyll-a at the beginning and at the end of the experiment was 11.1 µg / l and 152.7 µg / l. The average values of fresh and dry biomass obtained at the end of the experiment were 16 kg and 14 kg. These results allow to conclude that factors such as temperature and nutrients have a greater influence on the production of microalgae biomass.

Keywords: microalgae, culture medium, monitoring, chlorophyll-a extraction

ÍNDICE

DEDICATÓRIA.....	i
AGRADECIMENTOS.....	ii
DECLARAÇÃO E COMPRIMISSO DE HONRA.....	iv
RESUMO	v
ABSTRACT	vi
LISTA DE ABREVIATURAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	viii
1.INTRODUÇÃO.....	1
1.1.Objectivos.....	3
1.1.1.Geral.....	3
1.1.2.Específicos.....	3
1.2.Problematização.....	4
1.3.Justificativa.....	4
2.REVISÃO DE LITERATURA.....	5
2.1.Microalgas.....	5
2.1.1.Cultivo de microalgas.....	5
2.2.Parâmetros físico-químicos que afectam o cultivo de microalgas.....	5
2.2.1.Temperatura.....	6
2.2.2.Iluminação.....	6
2.2.3.Fotoperíodo.....	7
2.2.4.Aeração.....	7
2.2.5.pH.....	7
2.2.6.Oxigênio Dissolvido – OD.....	8
2.2.7.Salinidade.....	8

2.2.8.Nutrientes.....	8
2.3.Meios de cultivo de microalgas.....	9
2.3.1.Meio sintético para cultivo de microalgas.....	9
2.3.2.Meio alternativo para cultivo de microalgas.....	10
2.4.Sistemas de cultivo.....	10
2.4.1.Sistemas “abertos” de cultura de microalgas.....	10
2.4.2.Sistema “fechado” de cultura de microalgas.....	11
3.METODOLOGIA.....	12
3.1.Descrição do local de estudo.....	12
3.2. Preparação e fertilização dos tanques de cultivo de microalgas.....	12
3.3.Monitoramento da qualidade de água.....	13
3.4.Cultivo de microalgas.....	13
3.5.Ánalise laboratorial de amostras.....	14
3.6.Determinação da concentração de clorofila-a.....	14
3.7.Colheita e determinação da biomassa fresca e seca de microalgas.....	16
3.8.Tratamento e análise estatística dos dados.....	16
4. RESULTADOS.....	17
4.1.Monitoramento da coloração e diversidade de microalgas nos tanques de cultivo de microalgas.....	17
4.2. Concentração de clorofila-a.....	19
4.3.Biomassa de microalgas.....	20
4.4.Qualidade da água.....	21
5.DISSCUSSÃO.....	25
5.1.Monitoramento da coloração e diversidade de microalgas dos tanques de cultivo de microalgas.....	25
5.2. Variação da concentração de clorofila-a nos tanques de cultivo de microalgas.....	26
5.3.Biomassa de microalgas.....	26

5.4. Qualidade da água.....	27
6. CONCLUSÃO.....	29
6.1. Limitações e Recomendações.....	29
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	31
8. ANEXO.....	36

1.INTRODUÇÃO

As microalgas são na sua maioria organismos aquáticos unicelulares fotossintéticos. A sua base de crescimento e reprodução consiste, no consumo de carbono, macro e micronutrientes e luz solar. O seu metabolismo pode ser autotrófico, heterotrófico ou saprozoico, e o facto de serem organismos microscópicos confere-lhes uma maior eficiência na conversão da energia solar em energia química (Amaro *et al.*, 2011).

A grande maioria das espécies encontra-se no ambiente aquático, porém devido a sua grande diversidade, as microalgas podem ser encontradas em praticamente todos os nichos terrestres, inclusive em ambientes que apresentam grandes variações físicas e químicas. Apesar da sua diversidade, apenas 50 espécies foram estudadas com detalhes, a nível fisiológico e bioquímico (Richmond, 2004; Lourenço, 2006).

As microalgas apresentam mecanismo fotossintético comparável ao das plantas terrestres, mas devido à sua estrutura simples, e ao meio líquido em que vivem, apresentam trocas mais eficientes de água, CO₂ e nutrientes do que as plantas superiores, proporcionando taxas mais elevadas de conversão de energia solar em biomassa (Chisti, 2007).

Fertilizantes como, NPK (nitrogénio, fosforo e potássio), uréia, nitrato de sódio, superfosfato triplo (SPT), silicato de Sódio alcalino entre outros são usados frequentemente na aquacultura para aumentar a produtividade de fitoplâncton. A uréia e NPK (nitrogénio, fosforo e potássio) são preferencialmente utilizados em cultivos de larga escala devido ao seu baixo custo e por auxiliar no aumento da resistência, dificultando a contaminação por protozoários e outras algas. Sendo que o seu desses fertilizantes é caracterizado como uma das estratégias para o alcance da economicidade do processo de produção (Xia *et al.*, 2013).

Atualmente, são conhecidas cerca de 4000 espécies de microalgas, sendo que as principais cultivadas comercialmente são *Dunaliella salina* para a obtenção de careteno; *Haematococcus pluvialis* para a obtenção de astaxantina e do género *Chlorella* e *Anthospira (spirulina)* para a adição em alimentos naturais, esta última principalmente por apresentar elevadas concentrações de proteína, além de compostos com propriedades de uso farmacêutico, como ácido linoleico e polissacarídeos (Becker, 2007).

O cultivo de microalgas é praticado há quase 140 anos, porém nas últimas décadas com o avanço e aprimoramento de tecnologias e ciências como fisiologia, microbiologia e as engenharias de modo geral houve um avanço considerável na compreensão do potencial biotecnológico destes micro-organismos (Richmond, 2004; Lourenço, 2006).

As aplicações mais simples das microalgas correspondem ao uso na alimentação humana e de animais, devido ao elevado teor protéico. Outras aplicações baseiam-se na extração de substâncias de interesse comercial para a indústria farmacêutica, de cosméticos e alimentos, bem como o uso dos mesmos como indicadores ambientais, para o tratamento de águas residuárias, seqüestro de carbono e por fim produção de bicomustíveis (Derner *et al.*, 2006; Chist, 2007).

A Contagem directa por microscopia é a técnica mais simples e tradicional para monitorar o crescimento de microalgas, por intermédio de uma câmara de contagem, como por exemplo, uma câmara de Neubauer, um número de células algáceas presentes em um determinado volume é contado com o auxílio de um microscópio ótico com capacidade de aumento de pelo menos 400 vezes. Nas contagens em microscópio, a densidade de indivíduos é geralmente expressa como o número de células por mililitro de cultivo (Lourenço, 2006).

A clorofila é um pigmento verde, comum em todas as células fotossintéticas. Por sua estrutura química ser instável, são facilmente degradadas, resultando em produtos de decomposição que modificam a percepção e qualidade dos alimentos. No entanto, a clorofila é relativamente instável e sensível à luz, aquecimento, oxigénio e a degradação química (Schoefs, 2002).

As possibilidades de uso desses microrganismos dependem do cultivo das espécies, uma vez que é difícil encontrar disponível biomassa em quantidade suficiente no ambiente natural para ser utilizada (Pereira *et al.*, 2012). Desta forma, este trabalho teve como objectivo avaliar a produção de microalgas em tanques de betão.

1.1.Objectivos

1.1.1.Geral

- Avaliar a produção de microalgas em tanques de betão

1.1.2.Específicos

- Determinar a concentração da clorofila-a
- Quantificar a biomassa produzida durante o experimento

1.2.Problematização

A produção de microalgas pode ser efectuada tanto num sistema aberto assim como no sistema fechado. A produção de microalgas em sistema aberto tem sido implementada com sucesso, através do bombeamento da água dos ecossistemas naturais. No entanto, não existe uma informação concreta em relação a diversidade de microalgas (abundância, variação da clorofila-a, biomassa produzida), assim como a possibilidade de ocorrência de espécies predadoras que possam ocorrer durante a produção de microalgas em sistema de tanque aberto. estudos preliminares ou pioneiros já foram realizados na instituição, no entanto não foram efetuadas análises de uma componente principal, que é a constituição ou quantificação da clorofila. Embora a pesquisa anterior tenha quantificado a biomassa e identificado as espécies de microalgas no tanque de cultivo, o que especificamente dita a produtividade em termos de biomassa fitoplanctônica é o nível de clorofila no sistema.

1.3.Justificativa

Este estudo é grande relevância, visto que a biomassa obtida no final do cultivo de microalgas poderá ser usada como ingrediente para a ração usada na piscicultura. Segundo Chist (2007), as microalgas tem sido utilizadas na alimentação animal e humana como fonte de suplemento alimentar de alto valor nutricional. Os resultados do presente estudo esclarecem as lacunas relacionadas com as espécies que poderão ser incluídas na produção da ração e bem como as possíveis que poderão ser insoladas no rio dos bons sinais posteriormente cultivadas em sistemas de monocultura.

2.REVISÃO DE LITERATURA

2.1.Microalgas

Microalga fazem parte de uma enorme variedade de organismos diferentes quanto sua morfologia, reprodução, fisiologia e ecologia (Bicudo & Menezes 2005). Envolvem seres unicelulares, com hábitos planctônicos e perifíticos, sendo que a maioria das microalgas (algas com dimensões microscópicas) possuem hábitos planctônicos (Lourenço, 2006).

As microalgas estão presentes em ambientes aquáticos, marinhos, e continentais, possuem habilidade de crescer em ambiente marinho, de água doce ou em ambientes terrestres húmidos. Possuem grande tolerância a variação de temperatura, radiação, turbidez, dióxido de carbono e concentração de oxigênio (Andrade & Costa 2008).

2.1.1.Cultivo de microalgas

O cultivo de microalgas é uma etapa muito importante na obtenção de quantidades suficientes de biomassa é o desenvolvimento do cultivo das células. O crescimento saudável e o aumento da densidade celular dependem dos nutrientes disponíveis no meio em que a microalga se encontra e dos parâmetros físico-químicos aos quais a cultura está submetida, tais como pH, temperatura, salinidade, agitação e luz (Rawat *et al.*, 2013).

O crescimento da população das microalgas é resultado de uma interação entre factores biológicos, físicos e químicos. Os factores biológicos, incluem às taxas metabólicas da espécie cultivada, o tamanho das células e outros organismos que tem influência sobre o desenvolvimento microalgal. Quanto aos factores físicos-químicos, a luz, temperatura, salinidade, oxigênio, pH e a disponibilidade de nutrientes tem maior influência sobre o crescimento microalgal. A maioria das espécies de microalgas são fotoautotróficas, ou seja retiram a luz solar e utilizam o CO₂ necessário para a construção da sua biomassa através da fotossíntese (Derner *et al.*, 2006).

2.2.Parâmetros físico-químicos que afectam o cultivo de microalgas

Os parâmetros de cultivo mais importantes que afetam o crescimento das microalgas e que serão descritos a seguir são: a luz, aeração, nutrientes, oxigênio dissolvido, pH, temperatura, salinidade e a agitação. As faixas de tolerância e os pontos ótimos dos parâmetros variam de acordo com a espécie. Além disso esses parâmetros são

interdependentes, ou seja, o ponto ótimo de um parâmetro em um conjunto de condições ambientais pode não ser o mesmo em outro conjunto (Barsanti & Gualtieri, 2006).

2.2.1.Temperatura

A temperatura apresenta grande influência na produção de biomassa, influenciando no conteúdo proteínicas, lipídicos e compostos fenólicos das microalgas, é um dos factores que mais afecta a taxa metabólica dos organismos. A decisão quanto a temperatura a ser usada depende do conhecimento das necessidades de cada espécie. Se várias espécies forem cultivadas no mesmo ambiente, a temperatura deverá ser ajustada e tolerável a todas as espécies, como por exemplo, 20°C (Lourenço, 2006).

Temperaturas constantes mantidas próximas da temperatura ambiente são desejáveis ao cultivo de microalgas, pois estabilizam o cultivo e aumentam a produtividade de biomassa. Para cultivo de microalgas de espécies tropicais a temperatura deve permanecer em torno de 20 a 30 °C (Lourenço, 2006).

2.2.2.Illuminação

A intensidade luminosa está diretamente relacionada à etapa fotoquímica da fotossíntese, quando ocorre a absorção da luz através das moléculas de clorofila, síntese de trifosfato de adenosina (ATP) e a fotólise da água. A iluminação é um dos pilares do cultivo de microalgas e requer especial atenção, pois a quantidade de luz recebida pelas células em cultivo está diretamente relacionada ao carbono que será fixado pelas microalgas e assim influenciará na taxa de crescimento das culturas (Lourenço & Derner *et al.*, 2006).

A luz desempenha um papel central na produtividade de microalgas uma vez que fornece a energia necessária para as reacções fotossintéticas, promovendo a conversão de nutrientes inorgânicos, dissolvidos no meio, em biomassa orgânica. A utilização de luz é, portanto, fundamental para o elevado rendimento da biomassa microalgal. A intensidade luminosa recebida pelo meio de cultivo é um dos factores que controlam a velocidade com que o carbono é absorvido pela microalga. Desde modo a luminosidade interfere na produção de biomassa e na velocidade de crescimento (Derner *et al.*, 2006).

2.2.3.Fotoperíodo

O fotoperíodo que se utiliza normalmente é de 10:14 ou 12:12 horas de luz : escuro, embora a maioria das espécies cresçam bem sob uma iluminação contínua, manter um cultivo com fotoperíodo favorece a sincronização do cultivo, o que é recomendado para estudos fisiológicos e a divisão celular de muitas espécies ocorre em períodos de escuros (Schmidt, 2007).

2.2.4.Aeração

A aeração nos cultivos de microalgas está relacionada a uma serie de factores que auxilia no crescimento celular, para além de evitar a formação de aglomerados celulares, garante a incidência luminosa uniforme as células, favorecem a captação de CO₂ da atmosfera e a liberação de O₂ do interior do meio de cultivo. Além disso a aeração é um factor muito importante para a homogeneização dos nutrientes e para evitar a sedimentação das microalgas (Lourenço, 2006).

Em cultivos de grande escala, a aeração é feita de diferentes formas, conforme o sistema utilizado. No sistema aberto (lagoas), é necessária a utilização de pás giratórias ou recirculação da cultura através de bombeamento mecânico. No caso do sistema fechado (fotobiorreator), o processo de aeração é realizado por bombas mecânicas e alguns por ar comprimido (Lourenço, 2006; Brennan & Owende, 2009).

2.2.5.pH

O pH do meio de cultura é conhecido por ter grande influência no crescimento e na produção da biomassa de microalgas, uma vez que seu pH citosólico é neutro ou ligeiramente alcalino, e suas enzimas celulares são sensíveis ao pH e podem se tornar inativas em condições ácidas. O pH está diretamente ligado com o bom funcionamento celular das microalgas, por isso o seu controle é de vital importância para o melhor desenvolvimento dos cultivos (Lourenço, 2006).

O pH afecta directamente a disponibilidade de vários elementos químicos presentes no meio. Estes podem cristilizar e precipitar dependendo do pH do cultivo, sendo assim, o pH deve ser mantido próximo à neutralidade para que os componentes do meio possam ser afectivamente absorvidos pelas microalgas (Lourenço, 2006; Schmidt, 2007). Valores de pH favoráveis para a maioria dos cultivos estão na faixa entre 7 e 9 (Barsanti; Gualtieri, 2006).

2.2.6.Oxigênio Dissolvido – OD

Dentre os gases dissolvidos na água, o oxigênio (O₂), é um dos mais importantes na dinâmica e na caracterização de ecossistemas aquáticos. As principais fontes de oxigênio para a água são a atmosfera e a fotossíntese. Por outro lado, as perdas são o consumo pela decomposição da matéria orgânica (oxidação), perdas para a atmosfera, respiração de organismos aquáticos e oxidação de íons metálicos como, por exemplo, o ferro e o manganês (Esteves, 1998).

O oxigênio dissolvido é de essencial importância para os organismos aeróbios. Durante a estabilização da matéria orgânica, as bactérias fazem uso do oxigênio nos seus processos respiratórios, podendo vir a causar uma redução da sua concentração no meio (Esteves, 1998). Os valores de oxigênio no cultivo de microalgas devem permanecer acima de 4mg/l e abaixo de 18 mg/l (Boyd, 1998).

2.2.7.Salinidade

salinidade do meio é um factor importante porque limita a vida na água. A vida vegetal exige certa concentração de sais minerais; por outro lado, uma salinidade excessiva impede o desenvolvimento de grande número de espécies incapazes de se defenderem contra a perda de água que é promovida pelo alto valor osmótico do meio (Branco, 1978).

Tanto em sistemas abertos como em fechados, a salinidade pode afectar o crescimento e a composição celular das microalgas. Cada espécie de microalga tem uma gama óptima de salinidade que pode aumentar durante condições de clima quente, devido à alta taxa de evaporação (Moheimani, 2005). A faixa óptima de salinidade para a maioria das espécies de microalgas encontra-se no intervalo entre 20 a 35 ppm (Leal *et al.*, 1990).

2.2.8.Nutrientes

A fonte de nutrientes é o segundo maior componente dos custos de produção, dessa forma é importante encontrar as concentrações ideais que resultem num aumento da produtividade da biomassa, quanto aos lipídeos (Lourenço, 2006).

A ureia é um composto nitrogenado sólido, que se apresenta na forma de grânulos brancos e possui 46% de nitrogénio na forma amídica (NH₂). A amônia e o dióxido de carbono são utilizados como matéria-prima na produção de uréia obtidos em uma mesma unidade de produção a partir de hidrocarbonetos leves, coque, hidrocarbonetos pesados ou a partir da gaseificação de carvão. A matéria-prima mais comumente utilizada para a produção é o gás natural (Isherwood, 2005).

Os fertilizantes NPK são compostos por três macronutrientes (Nitrogênio, Fósforo e Potássio), estes macronutrientes são utilizados em grande quantidade pelas plantas e são fundamentais em todas as etapas: crescimento, florescimento e frutificação (Hofman & Cleemput, 2004).

O carbono é o elemento mais abundante na estrutura de qualquer molécula orgânica, tais como proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos, vitaminas, lipídeos, entre outros, os quais são sintetizados pelas células das microalgas. Devido a esse factor, o carbono é considerado essencial para as microalgas (Lourenço, 2006).

2.3.Meios de cultivo de microalgas

Os meios de cultivo utilizados devem ser muito desenvolvidos e economicamente viáveis para garantir o atendimento as necessidades nutricionais e um ótimo crescimento das microalgas, auxiliando o controlo do processo e sem causar dificuldades no tratamento final do efluente. A escolha dos meios de cultivos é feita de acordo com a espécie e a finalidade do produto (Knie & Lopes, 2004).

2.3.1.Meio sintético para cultivo de microalgas

Para as microalgas apresentarem um ótimo crescimento são necessários os macronutrientes (C, N, O, H, Ca, Mg, S, K) e micro-nutrientes (Mn, Mo, Fe, Co, Cu, Se, B), além da adição de vitaminas ou substâncias específicas ao meio de cultura que algumas espécies necessitam. Os nutrientes limitantes para as microalgas são, nitrogénio e fósforo, embora o carbono seja considerado o macro-nutriente mais importante (Oliveira, 2013). Os custos para elaboração dos meios de cultura com nutrientes sintéticos representam aproximadamente 35% do valor total para a produção de biomassa de microalgas (Grima *et al.*, 2003).

Os meios sintéticos são mais utilizados e estudados à escala mundial para o uso laboratorial e não industrial, isto é devido aos elevados custos de produção. Os meios sintéticos disponíveis actualmente apresentam variações a nível das concentrações de nutrientes a adicionar no meio de cultivo (Rawat *et al.*, 2011).

2.3.2.Meio alternativo para cultivo de microalgas

Este meio é empregue de forma de reduzir o custo do meio de cultivo através da utilização de substituto dos nutrientes, como leveduras, fertilizantes, esgoto doméstico e principalmente resíduo e efluente agroindustriais com alta taxa orgânica. Esses resíduos podem ser utilizados como fonte de nutrientes porque em sua composição estão presentes os nutrientes básicos necessários ao metabolismo das microalgas. Dentre os meios de culturas alternativos utilizados para a produção de biomassa de microalgas destacam-se: vinhaça, efluentes da bovinocultura e suinocultura, dentre outros (Oliveira, 2013).

2.4.Sistemas de cultivo

As microalgas podem ser cultivadas de diferentes formas, que são divididas basicamente em dois grupos principais: cultivos em sistemas abertos e cultivos em sistemas fechados. Os cultivos abertos podem ser subdivididos em águas naturais (lagos e lagoas) e lagos artificiais. Enquanto os sistemas fechados são denominados fotobiorreatores (Chisti, 2007).

2.4.1.Sistemas “abertos” de cultura de microalgas

Este tipo de sistema é aplicado em tanques abertos, com profundidade que varia entre 10 a 50 cm aproximadamente de modo que permita a difusão de dióxido de carbono proveniente da atmosfera e a penetração da luz solar. Os tanques são construídas em cimento ou terra compactada impermeabilizada por plástico (Chisti, 2007).

Os sistemas abertos são mais baratas que os fotobiorreatores, uma vez que apresentam um menor custo na construção e manutenção. Este tipo de sistema é caracterizado por uma excelente mistura e turbulência num padrão circular, favorecendo as trocas gasosas e a fotossíntese (Brennan & Owende 2009).

2.4.2.Sistema “fechado” de cultura de microalgas

O sistema fechado para o cultivo de microalga ou fotobiorreator é constituído por tubos de plástico, vidro ou policarbonato, o formato dos tubos pode ser disposto de várias formas, depende da adequação do sistema. Nos fotobiorreatores é possível controlar as condições de cultivo, tal como quantidade dos nutrientes, temperatura, iluminação (Derner *et al.*, 2006), o que permite uma alta produtividade de biomassa quando comparados com os sistemas abertos (Chisti, 2007).

3.METODOLOGIA

3.1.Descrição do local de estudo

O estudo decorreu entre os meses Junho-Julho de 2017, nas instalações da Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras, no bairro de Chuabo Dembe, localizado nos arredores da cidade de Quelimane, na Província da Zambézia. O experimento foi efectuado nos tanques de betão situados nesta instituição. Os tanques foram usados como réplicas (figura1).



Figura1: Mapa de localização do local de estudo no Chuabo-Dembe, que ilustra os tanques de betão do cultivo de microalgas (Fonte: Google Earth).

3.2.Preparação e fertilização dos tanques de cultivo de microalgas

Para a pesquisa, fertilizou-se os tanques com os compostos NPK e Ureia, esses nutrientes foram utilizados na proporção de 16:1 e 25:1 de nitrogénio e fosforo (N:P) respectivamente, com vista a maximizar síntese com formação de matéria orgânica. Segundo Júlio (2016), balanceou-se os fertilizantes em proporções definidas a partir do método estequiometria química inorgânica onde definiu-se em duas proporções diferentes 25:1 de acordo com o cultivo de Chauque (2011) e 16:1 de acordo com a

razão de Redfield de N:P respectivamente, com objectivo de analisar a influência destes no crescimento.

3.3. Monitoramento da qualidade de água

Os parâmetros físicos-químicos da água: temperatura, salinidade, oxigénio e pH foram medidos 02 vezes ao dia (8:00h e 15:30h). Os instrumentos utilizados para a medição dos parâmetros foram: pHmetro, Oxímetro e Salinômetro. Os valores dos parâmetros da qualidade de água e condições dos tanques foram registados no livro de campo.

A circulação da água (aeração), foi feita através de um sistema mecânico de mistura constituído por pás giratórias, afim de garantir a oxigenação e permitir a homogeneização da água.

3.4. Cultivo de Microalgas

Fez-se o cultivo de microalgas durante uma estação do ano (inverno), sendo que o experimento foi realizado em 19 dias entre os meses de junho e julho de 2017. O cultivo microalgas foi feito em tanques com formato rectangular revestidos de betão, o volume de água usado no cultivo foi de aproximadamente 6500 litros, ocupando a profundidade de 35cm. Tendo em conta que as microalgas ocorrem no ambiente natural, a finalidade foi de estimular a sua produção através da fertilização (Figura 2).

A água utilizada para experimento foi bombeada do Estuário do Rio dos bons sinais, tendo sido filtrada com uma malha de 60 µm de modo a reduzir a entrada de zooplâncton e sedimentos nos tanques de cultivo.



Figura 2. Tanques de cultivo de microalgas

3.5. Análise laboratorial de amostras

Para a identificação dos organismos fez-se a colecta de amostras de água dos tanques de cultivo de microalgas, as amostras foram conservadas em garrafas plásticas de 100ml posteriormente levadas ao laboratório da ESCMC: A amostra foi analisada através das montagem de lâminas e observações em microscópio óptico de marca BOECO com a objectiva de 40x de ampliação, a identificação foi feita com auxílio do guia de identificação de fitoplâncton (Costa, 2005). No entanto, a identificação foi feita a nível de género.

3.6. Determinação da concentração de clorofila-a

Para determinar a concentração de clorofila-a fez-se a medição do volume de 500ml de água a ser filtrado em proveta graduada e proceder a filtração com o auxílio do papel de filtro de 47mm de diâmetro. Após a etapa de filtração da amostra de água foi feita a extração de clorofila e outros pigmentos do fitoplâncton presentes na amostra pelo procedimento de imersão do filtro no tubo de ensaio coberto com papel de alumínio para evitar a exposição dos pigmentos à luz, em solução de acetona 90%, por um período entre 20 e 24 horas, algumas horas antes de completar o período de 24 horas

agitou-se levemente os tubos de ensaio para auxiliar a extração. Seguidamente efectou-se as leituras das absorvâncias no fotômetro nos comprimentos de onda de 610 e 660nm, após a leitura, colocou-se a amostra em recipiente pequeno, acidificou-se com algumas gotas de HCl para conversão da clorofila em feopigmentos. Os valores das leituras antes e depois da acidificação, o volume de amostra filtrada e o volume de acetona utilizado na extração foram utilizados posteriormente no cálculo para determinação da concentração de clorofila-a em µg/l.

Para calcular a concentração de clorofila-a em cada tanque no sistema de cultivo usou-se o método descrito por Lorenzen (1967), representado pela seguinte equação.

Equação:

$$Cl - a (\mu\text{g/l}) = \frac{[(U_{610} - U_{660}) - (A_{610} - A_{660})] \cdot v \cdot F \cdot K}{V \cdot L}$$

Onde:

U_{610} = absorvância do extrato antes da acidificação no $\lambda = 610$ nm

U_{660} = absorvância do extrato antes da acidificação no $\lambda = 660$ nm

A_{610} = absorvância do extrato depois da acidificação no $\lambda = 610$ nm

A_{660} = absorvância do extrato depois da acidificação no $\lambda = 660$ nm

v = volume da acetona utilizado (10ml)

F = fator para equiparar a redução em absorvância para a concentração inicial da clorofila (R/R-1)

K = coeficiente de absorção da clorofila-a para acetona (1000/90 = 11,1)

R = razão máxima de $[(U_{610} - U_{660})/(A_{610} - A_{660})]$ na ausência de feopigmentos

V = volume da água filtrada (L)

L = comprimento da cubeta (cm)

3.7. Colheita e determinação da biomassa fresca e seca de microalgas

Para a recolheita das microalgas colocou-se na comporta (saida de água) uma rede de plâncton de 60 μ m, de modo a evitar perdas durante o vazamento dos tanques. A colheita das microalgas foi feita através da filtração da água usando a rede de plâncton para reter as microalgas. Para a determinação do teor de humidade da biomassa, colocou-se amostra da biomassa fresca no recipiente e fez se a pesagem usando uma balança analítica (previamente zerada) e registou-se o valor no livro de campo. A remoção da humidade e determinação da biomassa seca foi feita com base na simples exposição da biomassa ao sol durante 3 dias, posteriormente pesou-se e registou-se o valor no livro de campo (Figura 3).



Figura 3. Microalgas colectados nos tanque abertos. (a) Pesagem da biomassa fresca usando balança analítica e (b) secagem da biomassa de microalgas ao sol.

3.8. Tratamento e análise estatística dos dados

Na análise dos dados obtidos ao longo do experimento, usou-se o pacote estatístico Microsoft Office Excel para o cálculo da média e desvio padrão.

4. RESULTADOS

4.1. Monitoramento da coloração e diversidade de microalgas nos tanques de cultivo de microalgas

Os três tanques (réplicas) usados para o cultivo de microalgas mostraram a mesma tendência em termos das mudanças de coloração na maior parte do experimento. No início de cultivo pode-se destacar que a água estava dotada de uma transparência incolor. Após a adição de nutrientes houve mudanças de cor da água com tendência a cor esverdeada pálida, facto este observado a partir do 6º dia de cultivo. A coloração tornou-se intensa ao longo dos dias do cultivo. No 10º dia foi possível observar uma intensa cor esverdeada, mostrando que as microalgas estavam a multiplicar-se. No 13º dia do cultivo, notou-se a intensidade máxima da coloração esverdeada. A partir do 16º dia não houveram variações notáveis nos tanques de cultivo, tendo terminado o cultivo no 19º dia. As diferentes fases de crescimento das microalgas podem ser observadas na figura 4.

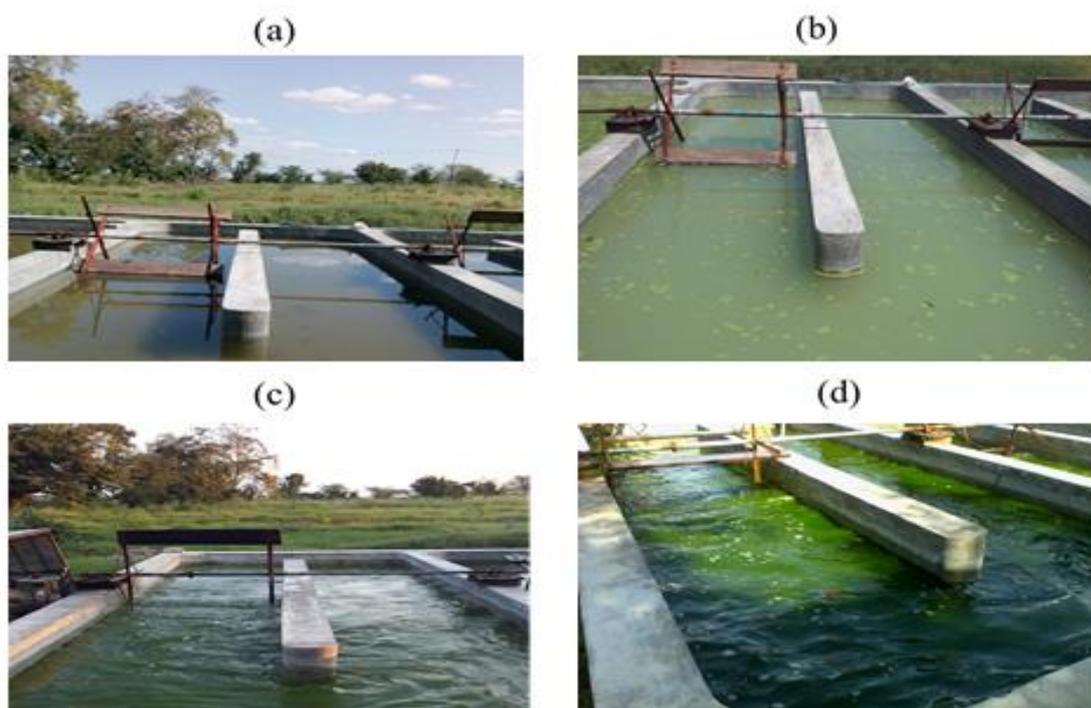


Figura 4. Cultivo de microalgas em tanques de betão. (a) No início de experiemto (dia 1). (b) Após a adição de nutrientes (dia 6). (c) No meio do experimento (dia 10). (d) No final de cultivo (dia 19).

Com o auxílio de guia de identificação de espécies planctônicas de Costa (2005), foram identificados os seguintes gêneros: (*Cyclotella sp*, *Chaetoceros sp*, *Nitzschia sp*), pertencentes a classe (Bacillariophyceae), *Chlorella sp* pertencente a classe (Chlorophyceae), *Skeletonema sp* pertencente a classe (Mediophyceae) e *Euglena sp* pertencente a classe (Euglenophyceae). Foi usado o manual de identificação e imagens da internet para auxiliar na identificação das microalgas, as imagens foram apresentadas para melhorar a identificação. No entanto há que referir que para algumas espécies de microalgas não foi possível fazer a sua identificação, as mesmas foram denominadas como outros organismos. O grupos de microalgas identificadas distribuíam-se igualmente pelos três tanques (figura 5).

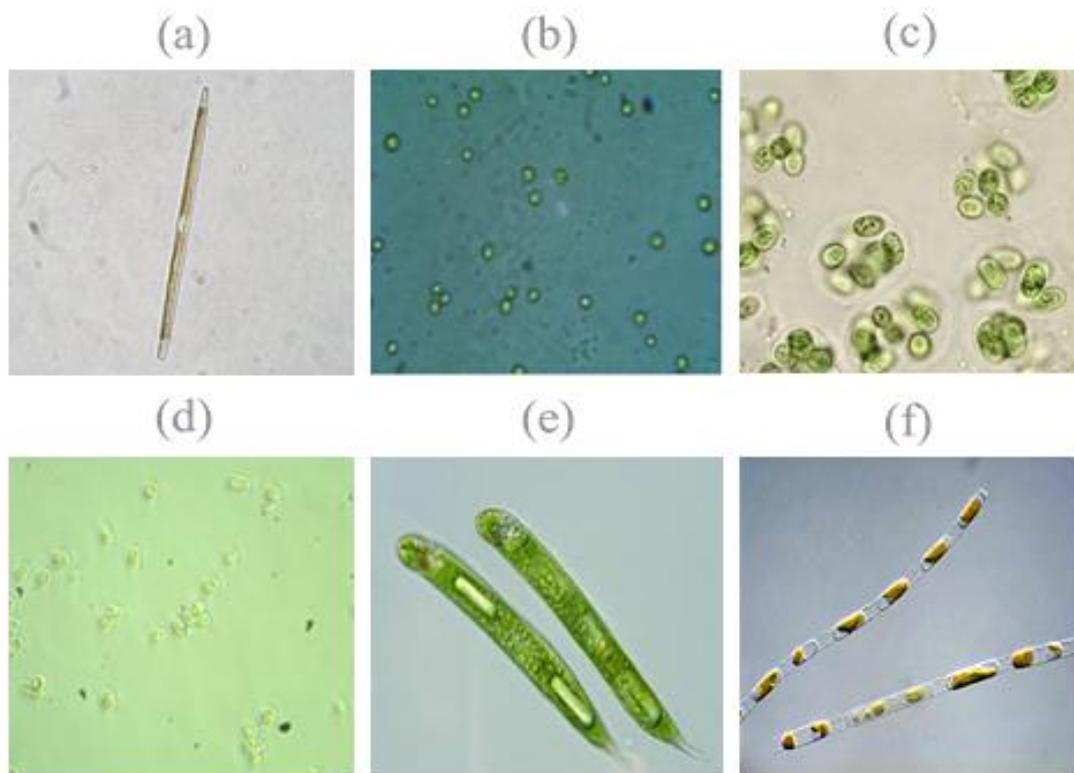


Figura 5. Diversidade de microalgas identificadas nos tanques de cultivo.(a) *Nitzschia sp*. (b) *Chlorella sp*. (c) *Cyclotella sp*. (d) *Chaetoceros sp*. (e) *Euglena sp*. (f) *Skeletonema sp*. Fonte: Google & Technology (2013).

4.2. Concentração de clorofila-a

As medições da concentração de clorofila-a efectuadas durante o experimento, com intervalo de 6 dias mostraram que no 1º dia de cultivo o valor médio da concentração de clorofila-a foi de cerca de 11,1 µg/l, tendo observado uma tendência crescente ao longo dos dias de cultivo, onde atingiu o valor médio de 42,2 µg/l no 7º dia da experiência. Ao término do período de cultivo observou-se um aumento acentuado na concentração de clorofila-a tendo atingido o valor médio de 152,7 µg/l no 19º dia de cultivo (figura 6).

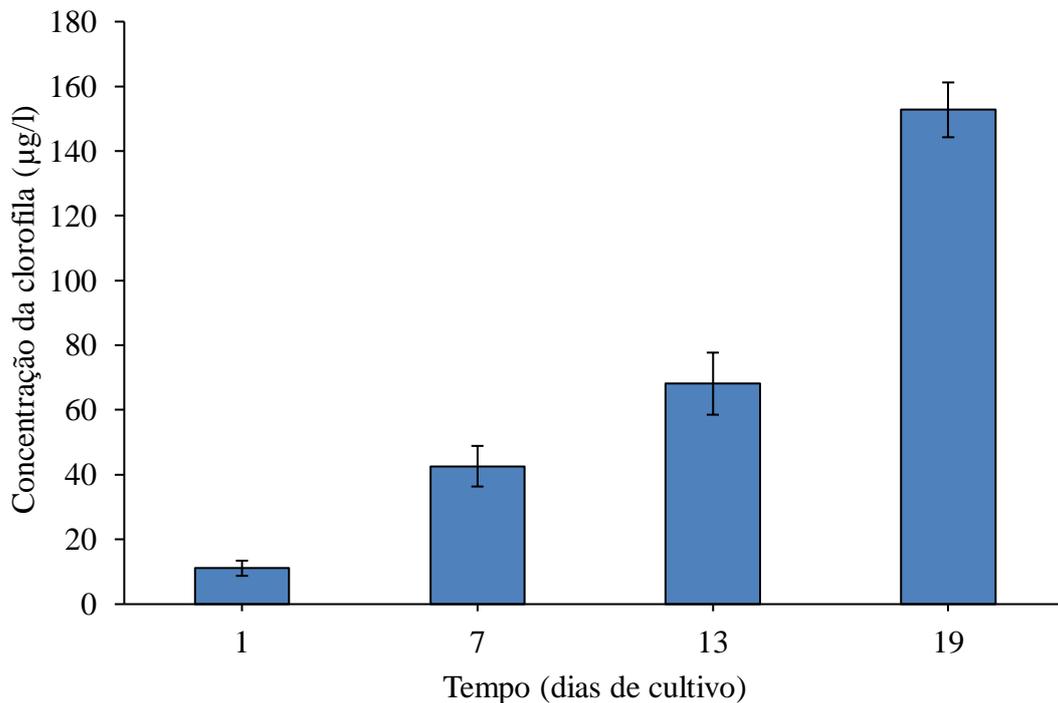


Figura 6. Variação média (n=3) da concentração de clorofila-a no tanque de microalgas em tanques de betão.

4.3. Biomassa de microalgas

Em todo o experimento foram obtidos os valores da biomassa fresca e seca nos três tanques. A biomassa obtida depois da filtração da água foi de aproximadamente 16 Kg por tanque de cultivo. Posteriormente a biomassa foi seca ao sol obtendo-se aproximadamente 14 Kg por tanque, com os valores de 15,6 Kg e 13,7 Kg depois da secagem da biomassa (figura 7).

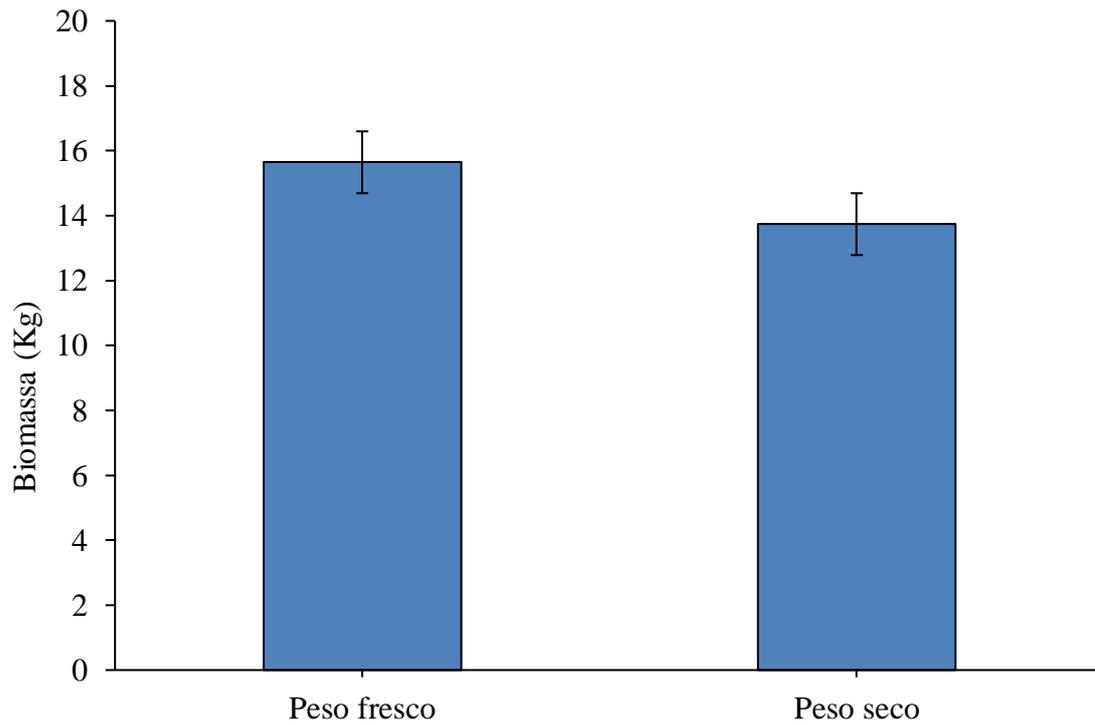


Figura 7. Biomassa média fresca e seca no fim do cultivo de microalgas em tanques de betão.

4.4. Qualidade da água

Durante o experimento, a temperatura nos tanques de cultivo variou entre 21°C a 24°C no período da manhã e de 23°C a 28°C no período de tarde, nos tres tanques de cultivo. Notou-se uma grande oscilação de temperatura entre os dias 6 e 10, onde observou-se um grande decréscimo da temperatura atingindo os 21°C, tendo de tarde registado uma tendência crescente entre os dias 11 e 13 onde se obteve o valor de de 26°C. Nos últimos dias de cultivo os valores de temperatura não registaram grandes variações de temperatura (figura 8).

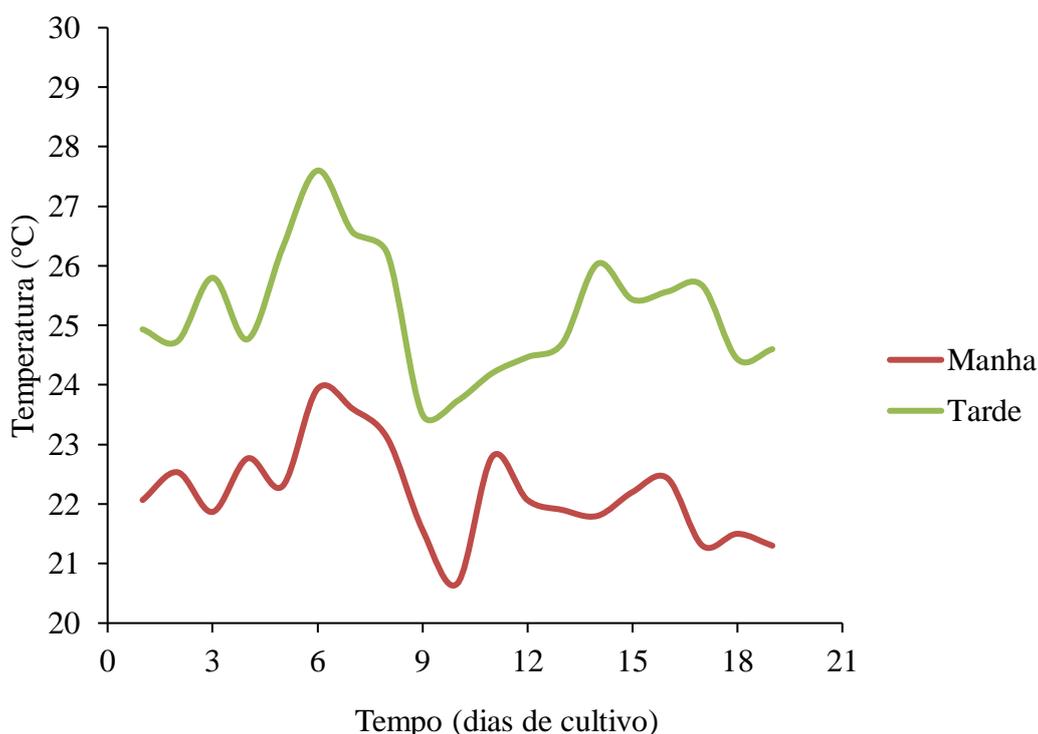


Figura 8. Variação média (n=3) diária da temperatura no cultivo de microalgas em tanques de betão.

Os valores de salinidade nos tanques de cultivo variaram de 12 a 17 ppm no período da manhã enquanto que no período de tarde variram de 12,5 a 17,7 ppm. Entre os dia 1 a 4 houve uma tendência crescente de salinidade atingindo o valor de 14,1 ppm, tendo registado um decréscimo do dia 6 a 10 atingindo o valor de 12,7 ppm, tendo alterado no dia 11, crescendo até atingir o valor de 17,7 ppm. A salinidade da água voltou a decrescer nos ultimos dias de cultivo até atingir cerca de 14,4 ppm, no dia 19.

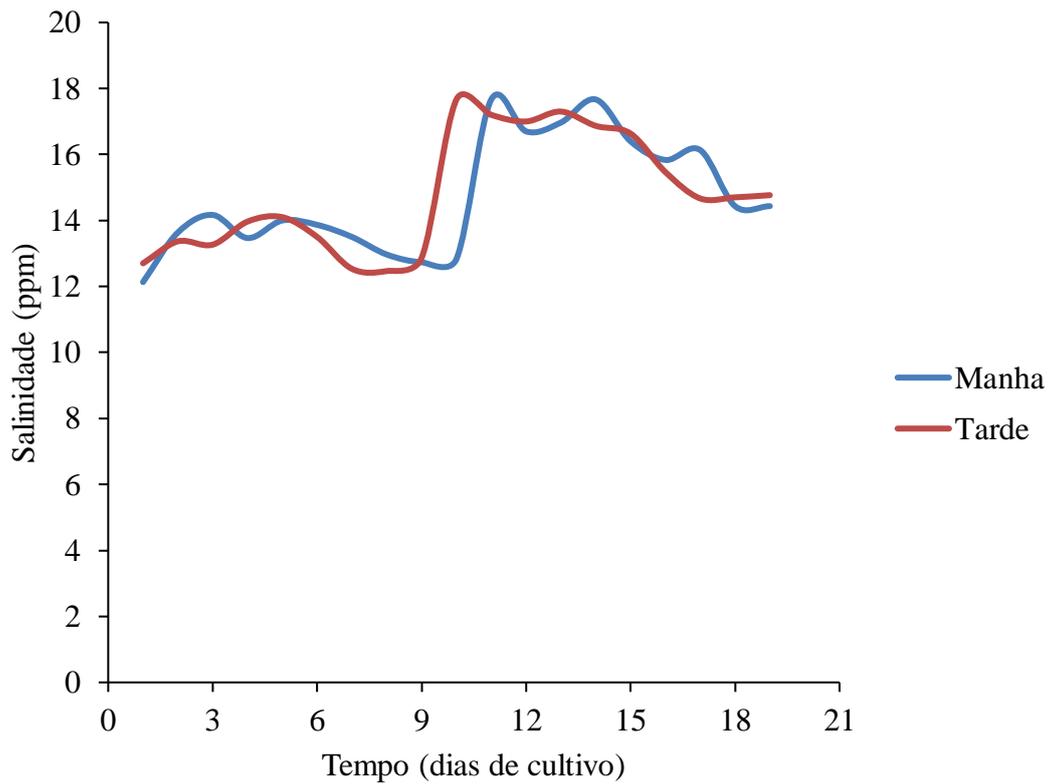


Figura 9. Variação média (n=3) diária da salinidade no cultivo de microalgas em tanques de betão.

Os valores de oxigénio nos tanques de cultivo variaram entre ± 5.5 mg/l a $\pm 6,5$ mg/l no período da manhã enquanto que no período de tarde variaram entre ± 14 mg/l a ± 16 mg/l, tendo ocorrido pequena variação durante as demais dias, com destaque para período de tarde, onde no dia 2 observou-se um decréscimo atingindo 14,4 mg/l. (Figura 11).

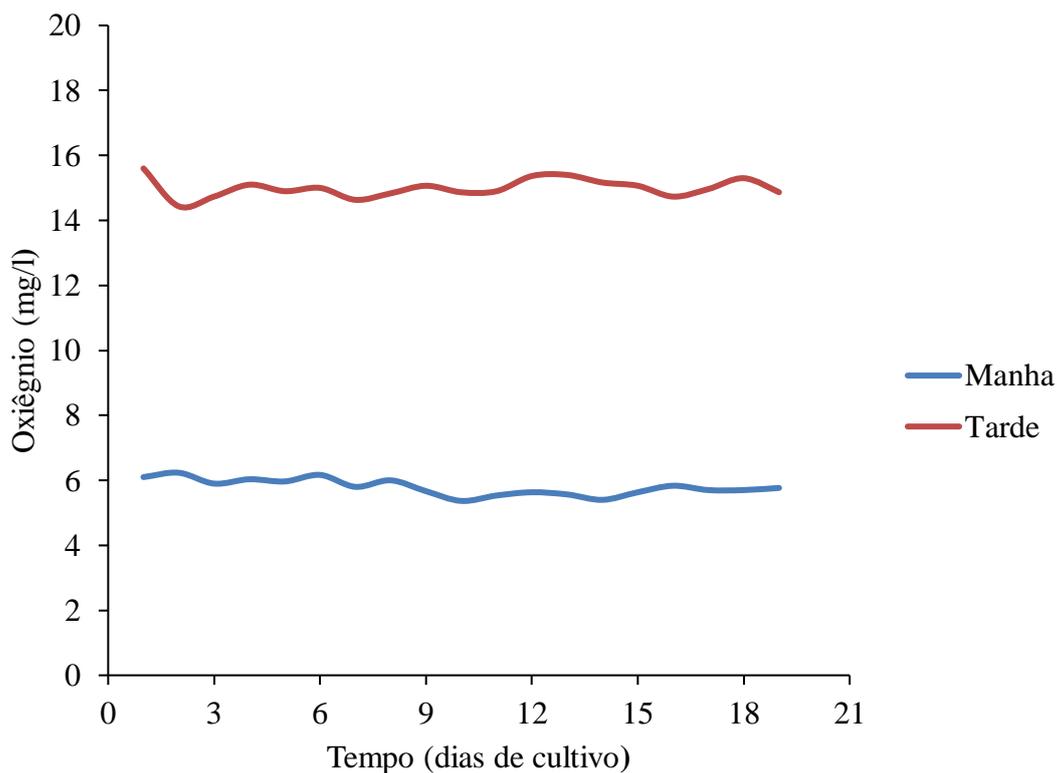


Figura 11. Variação média (n=3) diária da concentração do oxigénio no cultivo de microalgas em tanques de betão.

Durante o experimento, os valores de pH mostraram aproximados no período da manhã e no período da tarde nos tanques de cultivo. Estes valores variaram entre 7,5 a 8,6, no 2º dia de cultivo observou-se uma ligeira descida do pH de 8,1 a 7,5. Ao longo dos dias do cultivo verificou-se um comportamento crescente tendo registado o valor de 8,6 no dia 17, no término de cultivo o pH registou um ligeiro decréscimo atingindo o valor de 8,2 (Figura 12).

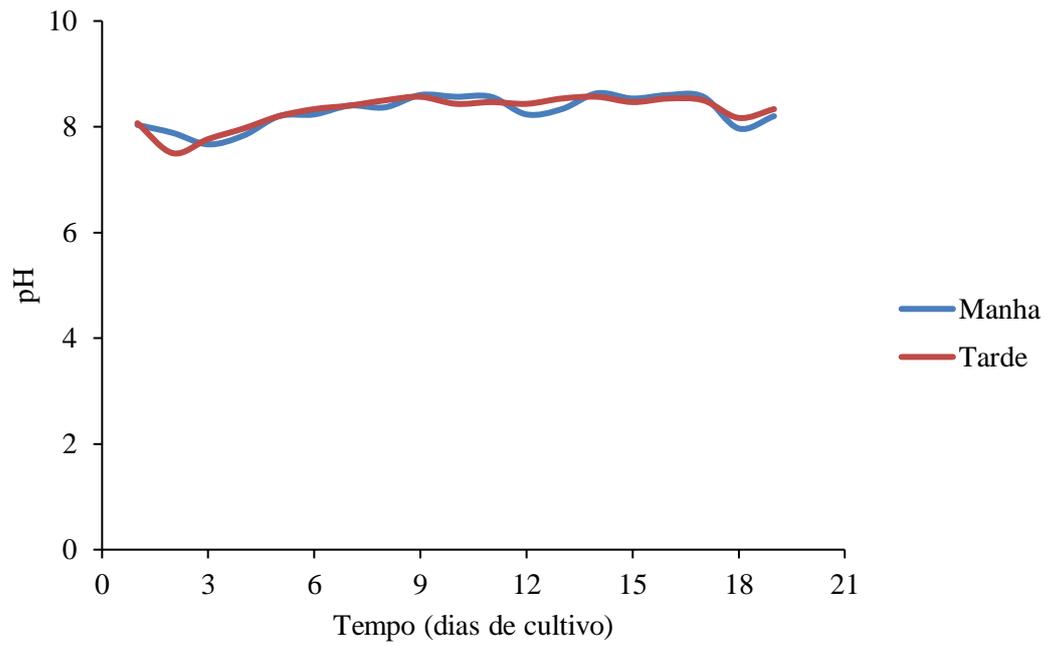


Figura 12. Variação média (n=3) diária do pH no cultivo de microalgas em tanques de betão.

5.DISSCUSSÃO

5.1.Monitoramento da coloração e diversidade de microalgas dos tanques de cultivo de microalgas

A mudança de coloração da água durante o cultivo de microalgas é resultado da proliferação destes microrgânismos. Porém dependendo da espécie predominante a coloração pode variar, já que os pigmentos fotossintéticos das microalgas são espécies-específicas. Portanto, a coloração depende do tipo de pigmentos encontrados nos grupos de microalgas predominantes no ambiente aquático em questão (Abalde *et al.*, 1998).

Algumas das microalgas identificadas durante este estudo como, *Chlorella sp*, *Chaetoceros sp* e *Skeletonema sp* são espécies cultivadas principalmente para nutrição humana e para produção de ração animal (Cohen *et al.*, 1991). No geral, as microalgas dependendo das espécies, podem ser fonte de compostos de alto valor no mercado mundial, tais como ácidos graxos poli-insaturados, carotenóides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos compostos bioativos naturais (Derner *et al.*, 2006). Além destas finalidades (consumo humano e animal), há estudos e pesquisas avaliando o uso potencial das microalgas em diversas áreas como, produção de biocombustíveis (etanol, biodiesel, biogás,), óleos entre outros (Rosa, 2011).

As espécies de microalgas identificadas neste estudo, são as mesmas que segundo Raven *et al.*, (2007), são comumente encontradas em ambiente de água doce e salobra. No entanto, durante o presente estudo algumas espécies identificadas como *Nitzschia sp*, *Skeletonema sp*, *Cyclotella sp*, *Chlorella sp*, alcançam a taxa máxima de crescimento de 15 a 20 dias de cultivo.

5.2. Variação da concentração de clorofila-a nos tanques de cultivo de microalgas

Ao longo do desenvolvimento deste experimento foi possível observar um aumento significativo da concentração de clorofila-a, sendo que durante todo o cultivo os valores médios variaram entre 11,1 µg/l e 152,7 µg/l. Os resultados da concentração de clorofila-a obtidos ao longo do cultivo demonstraram que houve crescimento das microalgas. O aumento da concentração de clorofila-a foi acompanhado pelo aumento da concentração de nutrientes, o que leva a inferir que as condições de cultivo permitiram transformar a matéria inorgânica em orgânica aumentando desta forma a concentração da biomassa. Segundo Melo (2007), as altas concentrações da clorofila-a pode ser associada à presença de organismos fotossintéticos.

5.3. Biomassa de microalgas

A produção média de biomassa fresca durante o experimento foi de 15,6 Kg, depois da secagem a biomassa das microalgas foi de 13,7 Kg. Os resultados obtidos diferem dos resultados encontrados por Júlio (2016), que obteve os valores de biomassa fresca e seca de 23 Kg e 11,5 Kg respectivamente. Segundo Pereira (2013), a maior produção de biomassa em cultivos com mistura de espécies de ocorrência deve-se a uma melhor utilização de recursos, como a energia solar e nutrientes.

A secagem de microalgas ao sol é o método que se baseia na simples exposição da biomassa ao sol para prolongar o tempo de vida útil, este método para além de conservar a biomassa é muito econômico, pois não emprega gasto de energia para uso de equipamentos de secagem mas auxilia na retenção de algumas propriedades das microalgas como (proteínas, vitaminas), que podem ser danificadas se expostas a altas temperaturas em um aparelho eléctrico (Brennan & Owende, 2009).

Segundo Henrikson (1994), as microalgas género *Chlorella*, *Cyclotella* e *Skeletonema* possuem um enorme atrativo em termos de produção de biomassa para alimentação animal e humana, por apresentarem em sua composição alto teor de proteínas, carboidratos, ácidos graxos, minerais e pigmentos.

As espécies encontradas neste estudo apresentam uma boa produtividade, neste âmbito a utilização desta biomassa seca pode-se considerar recomendável para fins de produção de ração para peixes (Júlio, 2016).

5.4. Qualidade da água

A qualidade da água é um factor que afecta a taxa metabólica dos organismos. Segundo Lourenço (2006) para o cultivo de microalgas de espécies tropicais, a temperatura deve permanecer em torno de 20 a 30°C. Durante o presente estudo a temperatura da água esteve dentro do intervalo recomendado. Segundo (Pequeno *et al.*, 2012), as espécies *Chlorella sp*, *Chaetoceros sp* e *Cyclotella sp*, (as quais foram identificadas no tanque de cultivo), apresentam uma maior taxa de crescimento e densidade celular em temperaturas entre 24°C e 30°C, podendo no entanto tolerar grandes variações da temperatura. De acordo com Chaúque (2011), as espécies *Skeletonema sp*, *Nitzschia sp* e *Euglena sp* são recomendáveis para o cultivo em tanques de céu aberto no inverno, pois alcançam maior taxa de crescimento e densidade celular em temperaturas entre 15°C e 21°C. Estas três espécies foram identificadas durante este estudo.

Salinidade é outro parâmetro que mede a qualidade da água e que é determinante para algumas espécies de algas. Segundo Dawes (1986), a salinidade é factor que influencia o crescimento das microalgas, pois exerce efeito sobre os mecanismos de osmoregulação. A salinidade durante o período de cultivo deste experimento variou entre 12,1 ppm e 17,7 ppm. Segundo Chaúque (2011), não existe uma faixa óptima de salinidade para as espécies em causa excepto em *Chlorella sp* que obteve o seu bloom a 18.5-20 ppm.

A concentração de oxigénio que as microalgas podem tolerar depende da temperatura exposta e da espécie em causa. Entretanto, no geral, os tanques de cultivo devem conter valores acima 4 mg/l e abaixo de 18 mg/l (Boyd 1998). Durante este estudo valores de oxigénio mostraram grandes variações entre o período da manhã e tarde, porém os valores permaneceram em torno 5,4 mg/l e 15,6 mg/l. Os baixos valores de oxigénio de manhã podem ser explicados pelo alto consumo de oxigénio devido a respiração que ocorre durante a noite, enquanto que os valores mais elevados de oxigénio foram registados de tarde, por consequência da maior incidência de radiação solar que favorece a fotossíntese. Segundo (Molina *et al.*, 2001) citado por Pereira (2013), as concentrações elevadas de oxigénio registadas durante o período da tarde influenciam na actividade fotossintética e consequente a produção da biomassa.

Durante o tempo de cultivo neste estudo, houve pequena oscilação diária nos valores de pH, com variação máxima da ordem de 0,9 unidade entre 1º e 19º dia do cultivo. Os valores de pH durante todo período de cultivo variaram dentro da faixa de 7,7 a 8,6. Segundo (Barsanti & Gualtieri, 2006), os valores de pH do meio que as microalgas são cultivadas deve variar entre 7 e 9. Estes valores encontrados no experimento mostram uma similaridade com os valores encontrados por Chaúque (2011) e Júlio (2016).

6.CONCLUSÃO

O presente trabalho possibilitou a caracterização do meio de cultivo de microalgas em tanques abertos e obter informações sobre: diversidade de microalgas, concentração de clorofila-a, qualidade de água e quantificação da biomassa produzida. Desta forma as principais conclusões deste trabalho são:

- Durante o cultivo verificou-se a ocorrência diversas espécies de microalgas, e foi possível fazer a identificação a nível de género das espécies *Nitzschia sp*, *Skeletonema sp*, *Cyclotella sp*, *Chlorella sp*, *Chaetoceros sp* e *Euglena sp*.
- Os valores mínimos e máximos da concentração de clorofila-a observados foram de 11,1 µg/l no início do experimento e 152,7 µg/l no fim do experimento.
- Tendo em conta que os tanques foram usados como réplica pode-se inferir que teve-se como resultado 16 Kg de biomassa fresca e 14 Kg de biomassa seca por tanque, ou seja em aproximadamente 6500 litros de água do estuário em aproximadamente 20 dias de cultivos se obteve 16 Kg por tanque.
- Nos parâmetros da água monitorados, a temperatura, oxigénio e pH permaneceram dentro das faixas recomendáveis para o cultivo de microalgas. Por outro lado a salinidade apresentou valores abaixo dos estabelecidos para o cultivo de algumas espécies identificadas.

6.1.Limitações e Recomendações

- Não foi possível realizar um segundo experimento similar devido a problemas mecânicos do motor, que possibilitava a circulação da água para aeração dos tanques.

Apresentam-se as seguintes sugestões para continuação deste trabalho:

- Que se façam medições da clorofila-a ao longo de todo estudo (com intervalos de 2 ou 3 dias), para poder esclarecer quando as microalgas atingem sua taxa máxima de crescimento.

- Que se faça identificação de outras espécies, usando manuais mais completos de identificação, para saber a diversidade e potencialidade das microalgas que ocorrem no Estuário dos Bons Sinais.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Abalde, J, Betancourt, L, Torres, E. et al. (1998) **Purification and characterization of phycocyanin from the marine cyanobacterium Synechococcus sp. IO9201.** Plant Science, v.136, p. 109-120.

Amaro, H. M, Guedes, C. Guedes, Xavier, M. (2011). **Advances and Perspectives in Using Microalgae to Produce Biodiesel.** Applied Energy 88 (10).

Andrade, M. R. & Costa, J. A. V. (2008). **Cultivo da microalga Spirulina platensis em fontes alternativas de nutrientes.** Ciênc. Agrotec., 32(5): 1551-1556.

Barsanti, L.; Gualtieri, P. (2006). **Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology.** Boca Raton: Taylor & Francis.

Barsanti, L.; Gualtieri, P. (2006). **Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology.** Boca Raton: Taylor & Francis.

Branco, S. M. (1978) **Hidrobiologia aplicada a engenharia sanitária.** 2. ed. São Paulo: CETESB. 620p.

Becker, E. W. (1994). Microalgae : **Biotechnology and Microbiology.** New York: Cambridge University Press. 293 p.

Becker, E. W. (2007). **Microalgae as a source of protein.** Biotechnology advanced, p. 207-210.

Bicudo, C. E. de M.; Menezes, M. (2005) **Gênero de algas continentais brasileiras (chave de identificação e descrição).** São Carlos: RIMA. 508p.

Brennan, L.; Owende, P. (2009). **Biofuels from microalgae: a review of technologies for production, processing and extractions of biofuels and co-products.** Renewable and Sustainable Energy Reviews, [S.l.], v. 14, p. 557–577.

Boyd, C. E. (2003). **Fertilizantes químicos na aquicultura de viveiros.** Revista de ABCC, Recife, v. 5, n. 3, p. 78-81.

Chisti, Y. (2007). **Biodisel from microalgae**. *Biotechnology advances*. J.Biotechadv. 25, 294.

Cháuque, V. V. (2011). **Avaliação dos parametros de crescimento de microalgas para a produção de alimento natural de peixes em Aquacultura**. ESCMC. Quelimane: Universidade Eduardo Mondlane. Trabalho de Licenciatura em Biologia Marinha. p.24-25.

Cohen, Z. S. Didi and Y.M. Heimer, (1992). **Over production of linolenic and eicosapentaenoic acids by algae**. *Plant Physiol.* 98(2): 569-572.

Dawes, J. (1986). **Botânica Marina**. Editorial Limusa. Mexico. 673 P.

Derner, R. B., Ohse, S., Villela, M., Carvalho, S. M. & Fett, R. (2006). **Microalgas, produtos e aplicações**. *Cienc. Rural*, 36(6):1959-1967.

Esteves. (1998). Francisco de Assis. **Fundamentos de Limnologia**. 2. Ed. Rio de Janeiro: Interciência: 602p.

Ferreira, A., Pacheco, R., Pinto, T., Nobre, B., Loureiro, D., Moura, P., Gouveia, L.; Silva, C. (2014); **The production of pigments & hydrogen through a Spirogyra sp. Biorefinery; Submetido Energy Conversion and Management**.

Grima, E. M.; Fernandez, F. G. A.; Camacho, F. G.; Chisti, Y. (1999). **Photobioreactors: light regime, mass transfer and scale up**. *Journal of Biotechnology*, 70, p. 231-247.

Grima. E. M. E. A. (2003). **Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics**. *Biotechnology Advances*, v. 20, p. 491-515.

Isherwood, K. (2005). **Overview of environmental issues impacting nitrogen fertilizer production**. Paris: IFA, IFDC.

Henrikson, R. (1994). **Microalga Spirulina: Superalimento del futuro**. Barcelona: Ediciones S.A.Urano, ISBN: 84-7953-047-2.

- Hofman, G.; Cleemput O. (2004).. **Soil and plant nitrogen**. Paris: IFA. 48 p.
- Júlio, Celso. Bobone. (2016). **Produção de Biomassa de Microalgas em sistema de tanque aberto, suplementado com fertilizantes inorgânicos**. ESCMC. Quelimane: Universidade Eduardo Mondlane. Trabalho de Licenciatura em Biologia Marinha. p.22-23.
- Knie, J.; Lopes, E. (2004). **Testes ecotoxicológicos, métodos, técnicas e aplicações** 20.ed. Florianópolis: fatma/gtz.
- Leal. S. De la cruz. A. Garcia. A. (1990) **Salidad optima de cuatro espécies de microalgas marinas en cultivo**. Centro de Investigaciones Marinas. Universidad Habana. Cuba. 1990. 12 p.
- Lourenço, S. (2006). **Cultivo de Microalgas marinhas: Principios e aplicações**. São Carlos, Brasil: Rima.
- Moheimani, N. R. (2005). **The culture of Coccolithophorid algae for carbon dioxide bioremediation**.
- Melo, G. L. (2007) **Estudo da qualidade da água no reservatório de Itaparica localizado na Bacia do Rio São Francisco**. Dissertação (Mestrado em Engenharia Civil) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife (PE).
- Pequeno. M. A. G, Soares. A. T, Sassi. K. K. S, Silva. D. D, Souza. A. G. (2012). **Avaliação do potencial do óleo da microalga cultivada Chlorella sp.** por cromatografia gasosa. Revista Analytica. n.57.
- Pereira, C. M. P., Hobuss, C. B., Maciel, J. V., Ferreira, L. R., Del pino, F. B., Mesko, M. F., Jacob-lobes, E. & Neto, P. C. (2012). **Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas**. Quim. Nova, 35(10): 2013-2018.
- Pereira, A. B. (2013). **Produção de Biomassa e de lipídeos por cultivos mistos de microalgas suplementado com CO₂**. Curitiba: Universidade Federal de Paraná.
- Raven, P. H.; Evert, R. F.; Eichhorn, S. E. (2001) **Biologia vegetal**. 6. ed. Rio de janeiro: Guanabara Koogan. 906 p.

Rawat, I.; Kumar, R.R.; Mutanda, T.; Bux, F. (2011). **Phycoremediation of domestic wastewater and biomass production for sustainable biofuels production**. Applied Energy. v.88, n.10, p.3411-3424.

Richmond. A. (1990) **Handbook of microalgal mass culture**. C. R. C. - U.S.A. 527 p.

Richmond, A. (2004) **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 566 p.

Rosa. J. M. C. (2011). **Modelação e Optimização de uma Unidade de Produção de microalgas**. 95 f. .Dissertação (Mestrado na área científica de Engenharia Química) - Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade de Coimbra, Coimbra.

Schmidt. C. J. B. (2007). Aislamiento, purificación, y mantenimiento de cepas de microalgas. In: VEGA, B.O.A.; VOLTOLINA, D. **Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal**. 1. ed. La Paz: Centro de Investigaciones biológicas Del Noroeste (CIBNOR). p 1 - 16.

Schoefs. B. (2002). **Chlorophyll and carotenoid analysis in food products. Properties of the pigments and methods of analysis**. Trends in Food Science & Technology, v.13, p.361-371.

Technology, Ocean Harvest. (2013). **Algaebase**. [Online] 30 de Março de 2013. http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=65635&sk=80&from=results.

Teles. V. C. (2015). **Caracterização da Biomassa das Microalgas *Micractinium sp.* e *Chlamydomonas biconvexa* Cultivadas em Vinhaça e CO₂ para Aplicações Biotecnológicas**. Brasília: Universidade Federal do Tocantins.

Xia, L. j, Zhou. X. j, Zhang. D .j Hu. C. (2013). **Photoautotrophic outdoor twoRstage cultivation for oleaginous microalgae *Scenedesmus-obtusus* XJR15**. Bioresource) technology, v.144, p.261-7.

Zhang. W. et al. (2014). **Effects of various organic carbon sources on the growth and biochemical composition of *Chlorella pyrenoidosa***. *Bioresource Technology*. v. 173, p. 52 – 58, 2014.

Zhaoa. B. et al. (2011). **Effect of cultivation mode on microalgal growth and CO₂ xation**. *Chemical Engineering Research and Design*. n. 89, p. 1758 – 1762.

Zhou. Y. et al. (2015). **Characterization of a *Chlamydomonas reinhardtii* mutant strain with improved biomass production under low light and mixotrophic conditions**. *Algal Research*, v. 11, p. 134 – 147.

8.ANEXO

Anexo I

Tabela 1.Dados de temperatura, salinidade, Oxigênio e pH

Data	Temperatura (°C)	
	Manha	Tarde
1	22	25
2	23	25
3	22	26
4	23	25
5	22	26
6	24	28
7	24	27
8	23	26
9	22	24
10	21	24
11	23	24
12	22	24
13	22	25
14	22	26
15	22	25
16	22	26
17	21	26
18	22	24
19	21	25

Data	Salinidade (ppm)	
	Manha	Tarde
1	12,1	12,7
2	13,6	13,4
3	14,2	13,3
4	13,5	14,0
5	14,0	14,1
6	13,9	13,5
7	13,5	12,5
8	13,0	12,5
9	12,7	12,9
10	12,8	17,7
11	17,7	17,2
12	16,7	17,0
13	17,0	17,3
14	17,7	16,9
15	16,4	16,6
16	15,8	15,5
17	16,1	14,7
18	14,4	14,7
19	14,4	14,8

	Oxigênio (mg/l)	
Data	Manha	Tarde
1	6,1	15,6
2	6,2	14,4
3	5,9	14,7
4	6,0	15,1
5	6,0	14,9
6	6,2	15,0
7	5,8	14,6
8	6,0	14,8
9	5,7	15,1
10	5,4	14,9
11	5,5	14,9
12	5,6	15,4
13	5,6	15,4
14	5,4	15,2
15	5,6	15,1
16	5,8	14,7
17	5,7	15,0
18	5,7	15,3
19	5,8	14,9

	pH	
Data	manha	tarde
1	8,0	8,1
2	7,9	7,5
3	7,7	7,8
4	7,8	8,0
5	8,2	8,2
6	8,2	8,3
7	8,4	8,4
8	8,4	8,5
9	8,6	8,6
10	8,6	8,4
11	8,6	8,5
12	8,2	8,4
13	8,3	8,5
14	8,6	8,6
15	8,5	8,5
16	8,6	8,5
17	8,6	8,5
18	8,0	8,2
19	8,2	8,3

Tabela 2. Dados da concentração de clorofila-a

Data (dia)	Concentração de clorofila-a ($\mu\text{g.l}$)
1	11,1
7	42,6
13	68,1
19	152,7

Tabela 3. Dados de biomassa fresca e seca

Biomassa fresca (Kg)	15,7
Biomassa seca (Kg)	13,7

Anexo II



Figura 12. Microscópio óptico



Figura 13. Fotômetro de marca Lovibong