



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA**

ANÁLISE DA ABSORÇÃO DE IODO PELA MICROALGA *SPIRULINA PLATENSIS* EM DIFERENTES SALINIDADES.

GABRIEL TEIXEIRA PINTO

Trabalho Supervisionado (monografia) apresentado ao Departamento de Engenharia de Pesca do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará, como parte das exigências para a obtenção do título de engenheiro de pesca.

**FORTALEZA - CEARÁ - BRASIL
JUNHO/2009**

2009/1

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P728a Pinto, Gabriel Teixeira.

Análise da absorção de iodo pela microalga *Spirulina platensis* em diferentes salinidades / Gabriel Teixeira Pinto. – 2009.
29 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Curso de Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2009.

Orientação: Prof. Dr. Wladimir Ronald Lobo Farias.

1. Cultivo de microalgas. 2. Microalgas - Condições físico-químicas. 3. Engenharia de Pesca. I. Título.

CDD 639.2

COMISSÃO EXAMINADORA:

Prof. Wladimir Ronald Lobo Farias, D.Sc
Orientador/Presidente

Prof. Alexandre Holanda Sampaio, Ph.D.
Membro

Prof. Marcelo Vinícius do Carmo e Sá, D.Sc
Membro

VISTO:

Prof. Moisés Almeida de Oliveira, D.Sc
Chefe do Departamento de Engenharia de Pesca

Prof. Raimundo Nonato de Lima Conceição, D.Sc
Coordenador do Curso de Engenharia de Pesca

Dedico este trabalho ao meu amigo
Antônio Francisco de Arruda que
sempre esteve ao meu lado nos
momentos bons e ruins durante
minha jornada, sempre nos
alegando com sua juventude
e que hoje alegra o céu
ao lado de Deus.
Muito obrigado meu amigo.

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus por me dar a força que precisei nos momentos difíceis, que não foram poucos.

A minha família inteira, incluindo avós, tios e primos, que sempre me apoiaram em todos os sentidos, sendo compreensivos em alguns momentos e sempre me ajudando em outros, muito obrigado a todos.

A minha mãe que sempre esteve do meu lado, me ajudando em tudo o que eu precisava, sempre com muita compreensão e paciência. Muito obrigado minha mãe.

A minha namorada Raquel Piancó, que teve muita compreensão, paciência e dedicação, sempre me ajudando em tudo, inclusive neste experimento. Muito obrigado meu amor.

Ao professor Wladimir Ronald Lobo Farias, pela orientação, que mesmo com algumas dificuldades sempre fez de tudo para que eu concluísse esse trabalho com êxito. Muito obrigado professor.

Aos meus amigos do CTA, que sempre que podiam me ajudavam, principalmente meu amigo Renato Moreira, que sempre se mostrou disponível e me ajudou bastante tanto no laboratório quanto com seu conhecimento, muito obrigado.

A todos os professores que contribuíram com minha formação, sempre tirando minhas dúvidas, o meu muito obrigado.

A todos meus amigos e colegas que estiveram comigo desde o começo da minha jornada sempre me apoiando muito em todos os momentos. Muito obrigado a todos

Aos professores Alexandre Holanda Sampaio e Marcelo Vinícius do Carmo e Sá, pela justa avaliação e correção deste trabalho.

SUMÁRIO

	Página
LISTA DE FIGURAS	vi
LISTA DE TABELAS	vii
RESUMO	viii
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	6
2.1. Obtenção da microalga <i>Spirulina Platensis</i> .	6
2.2. Preparo dos meios de cultivo.	6
2.3. Aclimatação da cepa de <i>Spirulina platensis</i> em diferentes salinidades.	7
2.4. Cultivo da microalga <i>Spirulina platensis</i> .	8
2.4.1. Montagem do experimento.	8
2.4.2. Acompanhamento dos cultivos.	8
2.5. Condições físico-químicas.	9
2.6. Determinação da concentração de iodo.	9
2.7. Análises estatísticas.	10
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	11
3.1. Crescimento da microalga <i>Spirulina platensis</i> .	11
3.1.1. Curva de crescimento.	11
3.1.2. Taxas de crescimento da microalga <i>Spirulina platensis</i> .	13
3.2. Absorção de iodo pela microalga <i>Spirulina Platensis</i> .	14
3.2.1. Curva de absorção de iodo.	14
3.2.2. Taxa de absorção de iodo.	15
4. CONCLUSÕES	17
5. REFERÊNCIAS	18

LISTA DE FIGURAS

	Página
Figura 1: Cultivo de <i>Spirulina platensis</i> realizado nas bancadas do CTA/DEP/UFC, utilizando recipientes de vidro de 3 L, com volume útil de 2,3 L de meio.	11
Figura 2: Curvas de crescimento da microalga <i>Spirulina platensis</i> , expressas em número de tricomas. mL ⁻¹ .	10
Figura 3: Curvas de absorção de iodo pela microalga <i>Spirulina platensis</i> em quatro diferentes salinidades.	13

LISTA DE TABELAS

	Página
Tabela 1: Composição do meio de cultivo alternativo para a microalga <i>S. platensis</i> .	6
Tabela 2: Concentrações de NaCl, salinidades e teores de iodo para os diferentes tratamentos.	7
Tabela 3: Taxas de crescimento da microalga <i>Spirulina platensis</i> ao final de quinze dias de cultivo, nas diferentes salinidades.	12
Tabela 4: Taxas de absorção de iodo pela microalga <i>S.platensis</i> em diferentes salinidades.	14

RESUMO

As microalgas são conhecidas por produzirem compostos de alto valor econômico e de incorporar em sua composição vários elementos químicos. A microalga *Spirulina platensis* pode apresentar em sua composição até 70% de proteína, além de vitaminas e minerais essenciais, no entanto é pobre em iodo. Este último é um elemento de bastante importância na alimentação humana a fim de evitar doenças como o bócio. O presente trabalho teve por objetivo avaliar o desenvolvimento da microalga cianofícea *Spirulina platensis*, em meio de cultivo alternativo utilizando fertilizantes agrícolas, bicarbonato de sódio e sal iodado nas concentrações de 9, 18, 27 e 36 g L⁻¹, constituindo quatro tratamentos com salinidades de 10, 20, 30 e 40, respectivamente. A avaliação do crescimento foi feita através da leitura por densidade óptica em um espectrofotômetro a 680 nm (DO₆₈₀), e posteriormente convertido para número de tricomas mL⁻¹. As concentrações de iodo no meio de cultivo foram também determinadas por espectrofotometria a 530 nm. As médias das taxas de crescimento e taxas de absorção de iodo foram submetidas a análises estatísticas. As melhores taxas de crescimento foram obtidas quando os cultivos foram realizados nas salinidades de 20 e 30, enquanto a melhor taxa de absorção de iodo foi observada quando o cultivo foi realizado na salinidade de 10, ou seja, na menor salinidade testada.

ANÁLISE DA ABSORÇÃO DE IODO PELA MICROALGA *SPIRULINA PLATENSIS* EM DIFERENTES SALINIDADES

GABRIEL TEIXEIRA PINTO

1. INTRODUÇÃO

As microalgas foram um dos primeiros seres vivos a habitar o planeta, há cerca de 3,5 bilhões de anos (GOLUBIC, 1976). São micro-organismos fotossintéticos com requerimentos nutricionais relativamente simples e cuja biomassa pode ser empregada para obtenção de biocompostos, como suplemento alimentar para o ser humano e alguns animais ou como fonte de biocombustíveis (ANDRADE; COSTA, 2007).

A utilização de microalgas na alimentação humana ocorre há séculos, tendo sido usadas como fonte de proteínas por tribos indígenas do Chad e pelos Astecas, que as secavam em lamelas para serem ingeridas (NAVALHO, 1998).

Várias espécies de microalgas são cultivadas comercialmente em alguns países e a biomassa produzida tem sido utilizada como fonte de produtos para aplicação na indústria de alimentos. Segundo Pulz ; Gross (2004), o mercado de alimentos funcionais, utilizando microalgas em massas, pães, iogurtes e bebidas, apresenta rápido desenvolvimento em países como França, Estados Unidos, China e Tailândia. As principais microalgas cultivadas comercialmente são espécies dos gêneros *Chlorella* (Chlorophyceae) e *Arthrospira* (Cyanophyceae) para a adição em alimentos naturais ("health food"), *Dunaliella salina*, (Chlorophyceae) para a obtenção de β -caroteno e *Haematococcus pluvialis* (Chlorophyceae) para a obtenção de astaxantina (BECKER, 2004).

A produção comercial em grande escala iniciou-se na década de 60, no Japão, com o uso da *Chlorella* (BOROWITZKA, 1999). Desde então, a indústria de biotecnologia de microalgas vem se expandindo e se diversificando consideravelmente. Segundo Borowitzka (1999), a produção mundial de

Spirulina (Arthrospira) spp. passou de 30 toneladas em 1975 para mais de 2.500 toneladas em 1998. Recentemente, a produção total da biomassa dessa microalga alcançou 3.000 toneladas (SHIMAMATSU, 2004).

O cultivo de microalgas pode ser considerado um sistema biológico muito eficiente no armazenamento de energia solar, através da produção de compostos orgânicos via processo fotossintético, sendo que a maioria das espécies apresenta crescimento mais rápido que as plantas terrestres, possibilitando maior rendimento de biomassa (VONSHAK, 1990).

As plantas apresentam composição química diferenciada para cada órgão, já as microalgas são organismos unicelulares, apresentando a mesma composição química em toda a biomassa em uma cultura (RAVEN et al., 2001).

Tanto no ambiente natural quanto nos cultivos o crescimento de uma população de microalgas é resultado da interação entre fatores, químicos, físicos e biológicos (FALKOWSKI; RAVEN, 1997). Os fatores biológicos estão relacionados às próprias taxas metabólicas da espécie cultivada, bem como com a possível influência de organismos contaminantes. Quanto aos fatores físico-químicos que afetam o crescimento das microalgas são principalmente reportados estudos sobre luz, temperatura, salinidade e disponibilidade de nutrientes (GUILLARD, 1975)

Do ponto de vista biotecnológico, a utilização de microalgas não é restrita à aquicultura, pois se estende desde a indústria de substâncias químicas e farmacêuticas, até a indústria de alimentação humana com a produção de vitaminas, carotenóides, géis e suplementos alimentares diversos (BOROWITZKA; BOROWITZKA, 1988).

As espécies do gênero *Spirulina (Arthrospira)*, principalmente a *platensis*, são de grande interesse comercial e o seu potencial econômico está se tornando amplamente reconhecido. Algumas particularidades da *S. platensis*, como elevado teor protéico e alta digestibilidade, baixo custo de extração de componentes e secagem da biomassa, tolerância a ambientes alcalinos e o tamanho relativamente grande dos agregados de células também são fatores positivos que incentivam a produção e estudo desta espécie de microalga (HENRIKSON, 1989).

A *Spirulina* é uma microalga filamentosa fotoautotrófica que habita meios como solos, pântanos e águas salobras (RICHMOND, 1990). Apresenta-se na forma de filamentos (tricomas) constituídos de células cilíndricas, não ramificados, helicoidais e móveis de 1 a 12 micrômetros de diâmetro. É um dos micro-organismos mais comuns e abundantes em muitos lagos alcalinos na África e América (RICHMOND, 1983).

Em sua composição destacam-se os altos teores de proteínas (64-74%), superiores aos valores da carne de peixe (15-25%), soja (35%), leite em pó (35%), ovos (12%), cereais (8-14%) e leite integral (3%) (HENRIKSON, 1994), além de ácidos graxos polinsaturados, vitaminas (COHEN, 1997) e compostos antioxidantes (COLLA et al., 2007).

Embora utilize a fotossíntese como principal processo para obtenção de carbono, a *Spirulina* também é mixotrófica, sendo capaz de obter energia de compostos orgânicos (MARQUEZ et al., 1993). Os nutrientes de que necessita são carbono, nitrogênio, fósforo, potássio, ferro e outros oligoelementos (VONSHAK, 1997).

O consumo de *Spirulina spp.* traz benefícios a saúde humana devido a sua composição bioquímica, incluindo compostos como aminoácidos essenciais, vitaminas (especialmente B12), pigmentos naturais como os carotenóides (xantofilas e carotenos), ficobilinas, clorofila e ácidos graxos essenciais como o γ -linolênico, ácido palmítico, ácido palmitoléico, ácido esteárico, ácido oléico e ácido linoléico (SASSANO et al., 2004).

A aplicação da biotecnologia moderna na melhoria da qualidade de vida da sociedade, ultimamente, vem ganhando destaque, uma vez que a preocupação com a saúde é um dos pontos fortes da época atual (MULITERNO et al., 2005).

O iodo foi descoberto em maio de 1811 pelo químico francês Bernard Courtois, que estava encarregado de produzir nitrato de potássio para os exércitos de Napoleão. O processo de Courtois consistia na conversão de nitrato de cálcio (oriundo de depósitos de salitre), em nitrato de potássio, por intermédio do hidróxido de potássio, o qual era obtido a partir das cinzas de algas marinhas. Courtois verificou que quando lavava essas cinzas com ácido sulfúrico, para extrair certas impurezas, surgia um leve fumo que se condensava nos instrumentos de cobre, corroendo-os (MARQUES, 2000).

O iodo vem do grego *ioeides*, que significa “de cor violeta” devido a esta intensa coloração presente em seus vapores. Inicialmente, a aplicação clínica de iodo era sob a forma de iodofórmio ou tintura de iodo etílico, mas sua utilização era limitada porque o antisséptico não possuía estabilidade, manchava a pele além de causar-lhe irritações. Foi após o desenvolvimento dos iodóforos (iodo ligado a macromoléculas), que começou seu uso em larga escala, em virtude da diminuição da sua toxicidade para os tecidos humanos (FLEISCHER; REIMER, 1997).

Segundo Georgieuskii et al. (1982), as plantas apresentam apenas traços de iodo, exceto algumas algas marinhas nas quais o mineral se encontra concentrado. A concentração de iodo nos alimentos de origem vegetal é, portanto, baixa. No entanto, a adubação feita com grandes quantidades de algas marinhas pode aumentar a concentração de iodo nos alimentos em até 100 vezes (UNDERWOOD; SUTTLE, 1999).

A água do mar apresenta grande concentração de iodo, principalmente na forma de iodetos. A luz solar pode oxidar o iodeto em iodo, sendo que aproximadamente 400.000 toneladas de iodo são liberadas na atmosfera anualmente. O iodo livre na atmosfera é então depositado no solo e na vegetação pela chuva (Mc DOWELL, 1992).

A deficiência de iodo é a principal causa evitável de dano cerebral em fetos e em crianças, assim como de retardo do desenvolvimento psicomotor. Trata-se de um problema de saúde pública de escala global, envolvendo 118 países (WHO, 1996). Além disso, em regiões de carência significativa de iodo, o bócio e o cretinismo surgem como suas manifestações extremas. Alterações mais sutis como o hipotireoidismo subclínico, baixo rendimento escolar, aumento da mortalidade perinatal e estagnação socioeconômica tendem a ocorrer quando a deficiência é leve ou moderada (LAMBERG, 1993).

O bócio é uma doença que é causada devido à deficiência de iodo e que se caracteriza pelo crescimento exagerado da glândula tireóide. Ele está presente em quase todos os países do mundo. Uma das primeiras citações na literatura de ocorrência do bócio é atribuída ao imperador chinês Sheng-Nung (terceiro milênio aC), que utilizava algas marinhas para o seu tratamento (WARKENTIN, 2003).

Esta doença é observada em muitas regiões, sendo comum em seres humanos. Como os animais geralmente são alimentados com alimentos produzidos localmente, eles são mais suscetíveis ao bócio do que o homem. Assim como outros animais, os peixes também apresentam bócio por deficiência de iodo. Análises histológicas indicando hiperplasia da tireóide e aumento da mortalidade, principalmente durante prolongado fornecimento de rações, são sinais de deficiência de iodo (Mc DOWELL, 1992).

Desde a década de 20, a estratégia empregada para a suplementação de iodo em populações deficientes tem sido a adição de iodo no sal comestível. Há um consenso de que tal medida é a melhor forma de reposição de iodo para grandes populações, tanto do ponto de vista prático quanto por seu baixo custo (DUNN; VAN DER HAAR, 1990). Com isto tem-se controlado de maneira bastante eficiente o aparecimento do bócio em seres humanos. O sal marinho tem-se mostrado de qualidade superior às reservas de sal localizadas longe da costa. A adição de 0,0076% de iodo ao sal tem sido o índice mais comum, no entanto os níveis variam de acordo com a legislação de cada país (WARKENTIN, 2003).

Entre 1994 e 1995, ocorreram denúncias de que a adição de iodo ao sal não vinha atendendo a determinação do Ministério da Saúde do Brasil. Esse é um fato grave, haja vista que as necessidades orgânicas desse micronutriente, mesmo sendo mínimas, devem ser supridas, a fim de evitar os distúrbios por deficiência de iodo, notadamente quando associados a situações socioeconômicas propícias à incidência de desnutrição, tal como o caso de grande parcela da população brasileira (NIMER et al., 2002).

O objetivo deste trabalho foi analisar a absorção de iodo pela microalga *Spirulina platensis*, em quatro diferentes salinidades, utilizando como fonte o sal comercial iodado do meio de cultivo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Obtenção da microalga *Spirulina platensis*

As cepas da microalga *S. platensis*, utilizadas neste estudo, foram obtidas no Laboratório de Pesquisa em Microalgas do Centro de Tecnologia em Aqüicultura (CTA) do Departamento de Engenharia de Pesca (DEP) da Universidade Federal do Ceará (UFC) onde são mantidas em um tanque de 250 L.

2.2. Preparo dos meios de cultivo

Neste trabalho foi utilizado um meio de cultivo alternativo, utilizando água doce, bicarbonato de sódio (NaHCO_3) e os fertilizantes agrícolas nitrogênio, fósforo e potássio (NPK) e superfosfato triplo (SPT), sendo os últimos iodados (Tabela 1).

Tabela 1 – Composição do meio de cultivo alternativo para a microalga *Spirulina platensis*.

Reagentes	Quantidade (g L^{-1})	Iodo (mg L^{-1})
Bicarbonato de sódio (NaHCO_3)	10,0	0,0
Nitrogênio, fósforo, potássio (NPK)	1,00	0,3
Superfosfato triplo (SPT)	0,10	0,4

O meio de cultivo foi complementado com cloreto de sódio (NaCl) também iodado nas concentrações de 9, 18, 27 e 36 g L^{-1} , constituindo quatro tratamentos com salinidades de 10, 20, 30 e 40, respectivamente, as quais foram determinadas com um refratômetro Atago. Assim, com a variação na salinidade, também foi variada a concentração de iodo no meio de cultivo (Tabela 2).

Tabela 2 – Concentrações de NaCl, salinidades e teores de iodo para os diferentes tratamentos.

Salinidade	NaCl (g L ⁻¹)	Iodo (mg L ⁻¹)
10	9	0,70
20	18	0,80
30	27	0,93
40	36	1,23

Os meios de cultivo foram preparados separadamente em quatro aquários a partir de 10 L de água doce da torneira. Para isso, o sal foi pesado de acordo com as quantidades previamente definidas (Tabela 2) e, logo após, dissolvido na água contida nos aquários, seguido da adição do bicarbonato de sódio. Após a completa solubilização dos sais, os fertilizantes agrícolas, NPK e SPT foram macerados e dissolvidos na água dos aquários. Depois de preparados, os meios de cultivo foram submetidos a uma forte aeração por 24 horas. Todo o material utilizado no experimento, incluindo os aquários, os erlenmeyers de 1 L e os recipientes de 3 L, foram lavados com água corrente e detergente e em seguida exaustivamente enxaguados também com água doce da torneira, clorada.

2.3. Aclimação da cepa de *Spirulina platensis* em diferentes salinidades

Para evitar um choque brusco de salinidade no início dos cultivos, as cepas foram previamente aclimatadas às salinidades de 10, 20, 30 e 40 em quatro erlenmeyers de 1 L, um para cada tratamento. A eles foram adicionados 300 mL de uma cultura da microalga na salinidade de 45 e, logo em seguida, foram adicionados a cada um 200 mL do respectivo meio de cultivo, nas salinidades pré-definidas. A cada dois dias, foram adicionados mais 200 mL de meio até alcançar a salinidade desejada. Os erlenmeyers foram agitados, diariamente, para permitir o perfeito desenvolvimento das culturas.

2.4. Cultivo da microalga *Spirulina platensis*

2.4.1. Montagem do experimento

Os cultivos foram realizados em bancadas no Laboratório de Pesquisa em Microalgas do CTA/DEP/UFC, utilizando recipientes de vidro de 3 L, com volume útil de 2,3 L de meio (Figura 1). Para o início do experimento, as cepas previamente aclimatadas às quatro diferentes salinidades foram inoculadas nos recipientes de 3 L, constituindo os quatro tratamentos com três repetições cada. Para garantir a mesma densidade algal para os três recipientes dos quatro tratamentos, a absorbância (680 nm) inicial das culturas foi estabelecida em $0,065 \pm 0,005$, correspondendo a aproximadamente $11,6 \times 10^3$ tricomas mL^{-1} .



Figura 1- Cultivo de *Spirulina platensis* realizado nas bancadas do CTA/DEP/UFC, utilizando recipientes de vidro de 3 L, com volume útil de 2,3 L de meio.

2.4.2. Acompanhamento dos cultivos

O acompanhamento dos cultivos de *S. platensis* foi realizado, a cada dois dias, no Laboratório de Bioquímica Marinha (Biomar-LAB) do DEP/CCA/UFC, a partir da leitura da absorbância (DO_{680}) de uma amostra de 4,0 mL de cada repetição, sendo zerados com água destilada, em um espectrofotômetro ULTROSPEC 1000. Posteriormente, os dados de absorbância foram transformados em número de tricomas mL^{-1} , através da equação de regressão previamente estabelecida por Da Silva (2004) e utilizados para elaborar as curvas de crescimento da microalga em cada tratamento. As taxas de crescimento foram calculadas a partir da relação:

$(\text{LnNTf}) - (\text{LnNTi}) / \text{dias de cultivo}$ (GLENN et al., 1998), onde LnNTf e LnNTi são os logaritmos neperiano do número médio de tricomas final e inicial, respectivamente.

2.5. Condições físico-químicas

Os cultivos foram iluminados por lâmpadas fluorescentes de 40 W, com uma lâmpada para cada bancada. A distância das lâmpadas para os recipientes de cultivo foi ajustada de modo a fornecerem uma iluminância de aproximadamente 2.000 Lux para cada recipiente, a qual foi determinada com a ajuda de um luxímetro digital Instruterm. Para acelerar o desenvolvimento das culturas, o fotoperíodo foi de 24 horas de claro e a temperatura da sala de cultivo ficou em torno de $28 \pm 2^\circ\text{C}$.

2.6. Determinação da concentração de iodo

As análises das concentrações de iodo também foram realizadas no Biomar-LAB/DEP/UFC. Para isso, foram utilizadas amostras de 25 mL do meio de cultivo com 0, 5, 10 e 15 dias de experimento. Dessa forma, nos dias pré-estabelecidos, foram retiradas alíquotas de 50 mL de cada recipiente e imediatamente centrifugadas (5.000 rpm; 5 min) para separar as microalgas do meio de cultivo. A 25 mL de cada amostra foi adicionado o conteúdo de um sachê do reagente Chlorine total - DPD, sendo a mistura agitada manualmente e deixada em repouso por 3 minutos (tempo de reação). As análises foram realizadas a partir da leitura da amostra em um espectrofotômetro HACH 2000, a 530 nm de comprimento de onda, sendo os resultados expressos em mg L^{-1} . Para zerar a leitura do aparelho foi utilizado um branco com 25 mL de água destilada. As taxas de absorção de iodo foram calculadas a partir da relação: $(\text{LnClf} - \text{LnCli}) / \text{dias de cultivo}$ (GLENN et al., 1998), onde LnClf = logaritmo neperiano da concentração média de iodo final e LnCli = logaritmo neperiano da concentração média de iodo inicial.

2.7. Análises estatísticas

As médias das taxas de absorção de iodo e taxas de crescimento foram submetidas a uma análise de variância e, no caso de diferença significativa, foi utilizado o teste t para médias com significância estatística de 5 e 1%, utilizando o programa Bioestat 5.0.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Crescimento da microalga *Spirulina platensis*

3.1.1. Curvas de crescimento

Segundo Da Silva (2004), existe uma forte relação ($r = 0,9$; $\alpha = 0,05$) entre a absorbância a 680 nm (comprimento de onda) e o número de tricomas de *Spirulina platensis* por mL de meio de cultivo. Essa relação, expressa pela equação N° de tricomas $\text{mL}^{-1} = 3.748,6 + 120.622,6 \times A$, foi utilizada para traçar as curvas de crescimento da microalga nas diferentes salinidades, a partir dos dados de absorbância medidos a cada dois dias de cultivo (Figura 2).

A intensidade da cor do cultivo, obtida através de espectrofotometria aumenta proporcionalmente com a elevação do número de células das microalgas, como observado no cultivo, em laboratório, da cianofíceia *S. platensis* (Da SILVA, 2004), bem como das clorofíceas *Haematococcus pluvialis* (SOARES, 2005) e *Dunaliella* sp. (OLIVEIRA, 2007).

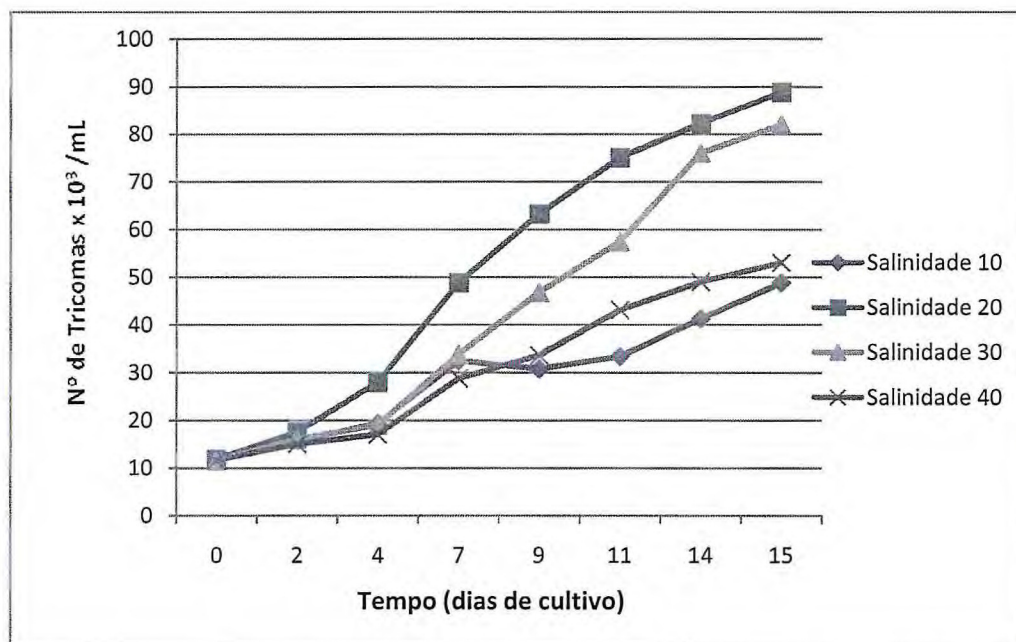


Figura 2 – Curvas de crescimento da microalga *Spirulina platensis*, expressas em número de tricomas mL^{-1} , em diferentes salinidades.

A curva de crescimento de uma cultura de microalgas é expressa como o incremento da biomassa ou do número de organismos (densidade celular) no tempo. Em um cultivo do tipo "batch" ou estacionário este crescimento pode apresentar cinco fases ou etapas distintas. A fase de indução, ou fase "lag", ocorre logo após o início do cultivo e, praticamente, não existe um incremento líquido na população devido à adaptação das microalgas às novas condições. A 2ª fase é chamada de exponencial, ou fase "log", na qual a biomassa se duplica, sucessivamente, em intervalos regulares de tempo. Com a continuação do cultivo, o tempo requerido para a duplicação celular aumenta, reduzindo assim a taxa de crescimento, sendo esta fase denominada de diminuição do crescimento relativo. Isto é consequência da redução de nutrientes no meio, do aumento da concentração de metabólitos e da redução da atividade fotossintética por incremento da densidade populacional. Na 4ª fase de cultivo, não há incremento da população e a taxa de crescimento é compensada pela taxa de mortalidade celular (fase estacionária), devido à maior influência dos fatores acima mencionados. Finalmente, a cultura entra na fase de senescência ou morte, resultado da depleção de nutrientes em um nível que não suporta mais o crescimento e ocorrência de um nível tóxico de metabólitos (ROCHA; TAVARES, 2001).

Como podemos observar na Figura 2, a curva de crescimento do tratamento com salinidade 10 apresentou uma fase de indução bem demorada, que durou do 1º ao 11º dia de cultivo. Do 11º ao 15º dia a cultura entrou fase exponencial de crescimento que durou até o fim do cultivo. Já o tratamento com salinidade 20 apresentou uma fase de indução bastante rápida, que durou do 1º ao 4º dia. A partir do 5º dia a cultura já entrou em crescimento exponencial, atingindo a fase de diminuição no crescimento relativo no 15º dia. O tratamento com salinidade 30 também teve uma fase de indução de apenas quatro dias, do 5º ao 14º dia apresentou crescimento exponencial e diminuição do crescimento relativo no último dia de cultivo. Por fim, o tratamento com salinidade 40 teve uma fase de indução com duração prolongada indo até o 9º dia de cultivo, entrando na fase exponencial de crescimento que durou até o fim do cultivo.

Soares (2005), trabalhando nas mesmas condições, mostrou que o cultivo de *H. pluvialis* apresentou uma fase de indução até o 4º dia do início da

cultura, sem mortalidade celular, seguidos de 10 dias de crescimento exponencial. Oliveira (2007) cultivou a microalga *Dunaliella* sp., a qual apresentou fase de indução até o 3º dia de cultivo, seguido de um crescimento exponencial até o 5º dia. Neste caso, a cultura passou, ainda, por uma nítida fase de diminuição do crescimento relativo (até o 7º dia de cultivo) e, posteriormente, para a fase estacionária.

3.1.2. Taxas de crescimento da microalga *Spirulina platensis*

Como podemos observar, as maiores taxas de crescimento foram obtidas quando os cultivos foram realizados nas salinidades de 20 e 30, com taxas de 0,760 e 0,754 tricomas $\times 10^3 \text{ mL}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, respectivamente. Essas taxas de crescimento foram significativamente superiores ($p < 0,01$) às obtidas nos cultivos realizados a 10 e 40 de salinidade (0,720 e 0,725 tricomas $\times 10^3 \text{ mL}^{-1} \text{ dia}^{-1}$, respectivamente), as quais não apresentaram diferença significativa (Tabela 3).

Tabela 3 – Taxas de crescimento da microalga *Spirulina platensis* ao final de quinze dias de cultivo, nas diferentes salinidades.

Salinidade	Taxa de crescimento (tricomas $\times 10^3 \text{ mL}^{-1} \text{ dia}^{-1}$)
10	0,720 ^a
20	0,760 ^b
30	0,754 ^b
40	0,725 ^a

Letras diferentes indicam diferença significativa entre as taxas de crescimento.

3.2. Absorção de iodo pela microalga *Spirulina platensis*

3.2.1. Curvas de absorção de iodo

As curvas de absorção de iodo pela microalga *S. platensis*, nas quatro salinidades testadas, apresentaram perfis bastante semelhantes (Figura 3), com uma absorção mais rápida até o 5º dia de cultivo e sendo menos absorvido do 5º ao 10º dia. Do 10º ao último dia do cultivo, os tratamentos com salinidades 10 e 20 continuaram a absorver o iodo, porém com menor intensidade. Já os tratamentos com salinidade 30 e 40 apresentaram uma absorção de iodo bem mais lenta, com tendência a estabilizar.

Segundo Mosulishvili et al. (2002), o iodo em altas concentrações passa a ser tóxico. No entanto, a biomassa de *S. platensis* cultivada em seu estudo não incorporou elementos químicos, dentre eles o iodo, em concentrações tóxicas, podendo ser usada para a produção de pílulas profiláticas.

As plantas são capazes de absorver iodo diretamente da atmosfera tanto via cutícula quanto por partículas componentes dos pêlos celulares. Altos níveis de cloro podem reduzir os efeitos tóxicos de iodo, sugerindo haver um efeito competitivo entre esses elementos (Bergmann, 1982).

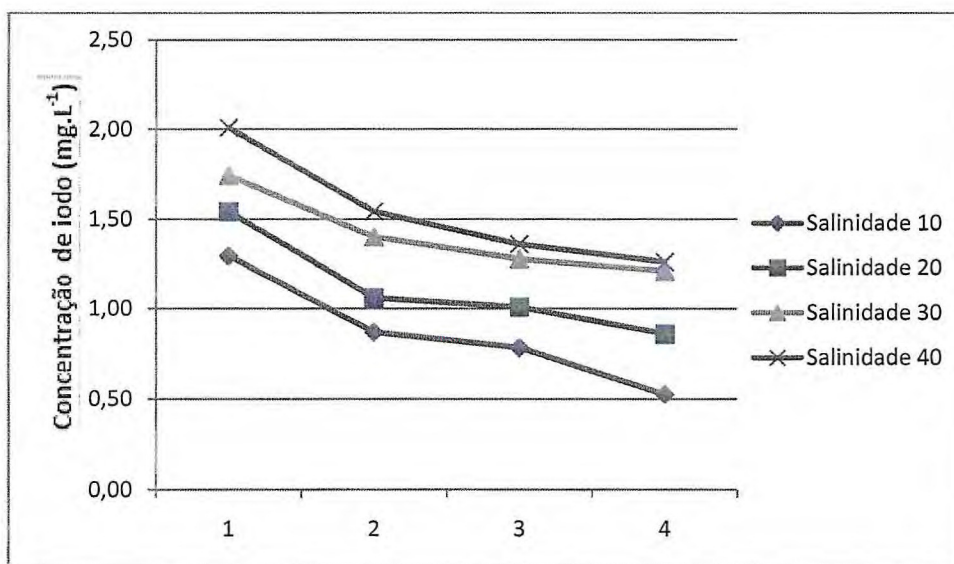


Figura 3 – Curvas de absorção de iodo pela microalga *Spirulina platensis* em quatro diferentes salinidades.

3.2.2. Taxas de absorção de iodo

Neste experimento foi constatado que a microalga *S. platensis* apresentou uma maior taxa de absorção de iodo quando cultivada na menor salinidade. A taxa de absorção de iodo na salinidade 10 foi significativamente maior ($p < 0,05$) do que taxa obtida no cultivo realizado na salinidade 20 e, mais ainda ($p < 0,01$), quando comparada as taxas obtidas nos cultivos nas salinidades de 30 e 40 (Tabela 4). Por outro lado, não foram encontradas diferenças significativas entre as taxas de absorção de iodo, quando os cultivos foram realizados nas salinidades de 20, 30 e 40. Assim, ficou evidente que a microalga absorveu mais facilmente o iodo quando cultivada em salinidade baixa.

Tabela 4 – Taxas de absorção de iodo pela microalga *Spirulina platensis* em diferentes salinidades.

Salinidade	Taxa de absorção de iodo (mg dia ⁻¹)
10	0,061 ^a
20	0,039 ^{b*}
30	0,024 ^{b**}
40	0,031 ^{b**}

Letras diferentes indicam diferença significativa entre as taxas de absorção,

* ($p < 0,05$); ** ($p < 0,01$).

A microalga *S. platensis* apresenta um baixo teor de iodo em sua biomassa e estudos que visam a incorporar esse elemento são importantes para seu uso como suplemento alimentar. Uma cepa da microalga *Spirulina platensis*, previamente adaptada com iodeto de potássio (KI) pode absorver até 1,25 vezes mais iodo do que uma cepa não adaptada e isso está sendo

mostrado em estudos com *Spirulina* enriquecida com iodo, que já estão demonstrando ser eficientes tanto para humanos quanto para alguns animais (SINGH; KUMAR, 1993).

As experiências do uso de sal iodado para evitar a deficiência de iodo nos Estados Unidos, Suíça, e outros países, mostraram que tanto a falta quanto o excesso desse elemento podem causar o hipertireoidismo.

A capacidade de biotransformação do iodo, selênio e outros elementos, pela microalga *S. platensis*, produzindo complexos facilmente assimilados por seres humanos é uma característica bastante favorável. Para o tratamento de doenças causadas pela falta de iodo, foram utilizadas pílulas contendo biomassa de *S. platensis* enriquecida com iodeto de potássio (KI) com alto teor de pureza. Como a demanda diária de iodo para um adulto é cerca de 200 µg e a perda é de 100 a 200 µg, ficou estabelecido que uma pílula para o tratamento por falta de iodo deve conter de 200 a 500 µg. Já o tratamento para o excesso de iodo deve ficar entre 100 a 200 µg (MOSULISHVILI et al., 2002).

Neste trabalho foi observada a capacidade de assimilação de iodo pela microalga *S. platensis*, através da redução deste elemento no meio de cultivo. No entanto, estudos futuros serão realizados para avaliar a presença de iodo na biomassa, bem como a utilização de iodeto de potássio com elevado grau de pureza na composição do meio de cultivo da microalga.

4. CONCLUSÕES

De acordo com os resultados obtidos, podemos concluir que a microalga *Spirulina platensis* apresentou desenvolvimento mais rápido quando cultivada nas salinidades de 20 e 30, no entanto a maior taxa de absorção de iodo foi observada na salinidade de 10, a qual foi a mais baixa utilizada nos cultivos.

5. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.5, p.1551-1556, set./out, 2007.
- BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. (ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**, London: Blackwell Science, 2004, p.312-351.
- BERGMANN, W. **Nutritional disorders of plants: developments, visual and analytical diagnosis**. New York: Gustav Fischer Verlag Jena, 1982. 741p.
- BOROWITZKA, M. A.; BOROWITZKA, L. J. Microalgal biotechnology. (Eds). Cambridge, **Cambridge University Press**, 1988, p.197-221.
- BOROWITZKA, M. A. Commercial production of microalgae: pounds, tanks, tubes and fermenters. **Journal of Biotechnology**, v.70, p.313-321, 1999.
- COHEN, Z. The chemicals of Spirulina. In: VONSHAK, A. **Spirulina platensis (Arthrospira) physiology, cell-biology and biotechnology**. London: Taylor & Francis, 1997. 233p.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J. A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v.98, n.7, p.1489-1493, May 2007.
- DA SILVA, C. F. **Cultivo e extração de polissacarídeos sulfatados da microalga *Spirulina platensis***. Monografia de Graduação apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca da UFC, 2004.
- DUNN, J. T.; VAN DER HAAR, F. A practical guide to the correction of iodine deficiency. **International Council for Control of Iodine Deficiency Disorders**. Wageningen, 1990.
- FALKOWSKI, P. G.; RAVEN, J. A. Aquatic photosynthesis. **Blackwell Science**, Oxford, 1997. 375p.
- FLEISCHER, W.; REIMER, K. Povidone iodine antiseptics: state of the art. **Dermatology**, v.195, n.2, p.3-9, 1997.
- GEORGIEUSKII, V. I.; ANNEKOV, B. N.; SAMOKHIN, V. T. **Mineral Nutrition of Animals**. ed. Butterworths, London, 1982.

GLENN, E. P.; MOORE, D.; BROWN, J. J.; TANNER, R.; FITZSIMMONS, K.; AKUTIGAWA, M.; NAPOLEAN, S. A sustainable culture system for *Gracilaria parvispora* (Rhodophyta) using sporelings, reef growout and floating cages in Hawaii. **Aquaculture**, v.165, p.221-232, 1998.

GOLUBIC, S. Organisms that build stromatolites. In: Walter, M. R. (ed.) **Stromatolites**, Elsevier Science, 1976, p.113-126.

GUILLARD, R. R. L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates. In: Smith, W. L.; Chanley, M. H. (Eds.). **Culture of Marine Invertebrate Animals**. Plenum, New York, 1975, p.29-60.

HENRIKSON, R. Earth food Spirulinas. **Ronore Enterprises**, California, 1989. 180p.

HENRIKSON R. Microalga *Spirulina*. Superalimento del futuro. **Ediciones S.A. Urano**, Barcelona, 1994.

LAMBERG, B. A. Iodine deficiency disorders and endemic goitre. **European Journal Clinical Nutrition**, v.47, p.1-8, 1993.

MARQUES, M. Iodo. Em: Tabela Periódica (versão 2.5), **Publicação eletrônica**: <<http://nautilus.fis.uc.pt/st2.5/scenes-p/elem/e05300.html>>, 2000. Acesso em: 25 nov. 2006.

MARQUEZ, F. J.; SASAKI, K.; KAKIZONO, T.; NISHIO, N.; NAGAI, S. Growth characteristics of *Spirulina platensis* in mixotrophic and heterotrophic conditions. **Journal of Fermentation Bioengineering**, v.5, p.408-410, 1993.

Mc DOWELL, L. R. **Minerals in Animal and Human Nutrition**. San Diego. Academic Press, 1992.

MOSULISHVILI, L. M.; KIRKESALI, E. I.; BELOKOBLYSKY, A. I.; KHIZANISHVILI, A. I.; FRONTASYEVA, M. V.; PAVLOV, S. S.; GUNDORINA, S. F. Experimental substantiation of the possibility of developing selenium- and iodine-containing pharmaceuticals based on blue-green algae *Spirulina platensis*. **J-Pharm-Biomed-Anal**, v.30, p.87-97, Apr 2002.

MULITERNO, A.; MOSELE, P. C.; COSTA, J. A. V.; HEMKEMEIER, M.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M. Cultivo mixotrófico da microalga *Spirulina platensis* em batelada alimentada. **Ciência e agrotecnologia**, Lavras, v.29, n.6, p.1132-1138, nov./dez., 2005.

NAVALHO, J. Biotecnologia de *Dunaliella salina* para a produção de beta-caroteno. 1998. **Dissertação. (Mestrado em Aquacultura)** - Universidade do Algarve, Algarve, Portugal.

NIMER, M.; SILVA, M. E.; OLIVEIRA, E. D. Associações entre iodo no sal e iodúria em escolares, **Revista Saúde Pública**, Ouro Preto, v.36, n.4, p.500-504, 2002.

OLIVEIRA, M. A. C. **Cultivo da microalga *Dunaliella* sp. em laboratório. Extração e purificação de polissacarídeos sulfatados.** 2007. Monografia de Graduação apresentada ao Departamento de Engenharia de Pesca da UFC, Fortaleza.

PULZ, O.; GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. **Applied Microbiology Biotechnology**, v.65, p.635-648, 2004.

RAVEN, P. H.; EVERT, R. F.; EICHHORN, S. E. **Biologia Vegetal.** 6. ed. Editora Guanabara Koogan, Rio de Janeiro, 2001. 906p.

RICHMOND A. **Handbook of Microalgal Mass Culture.** CRC Press, Boca Raton, FL. ISBN 0-8493-3240 0.0521323495. 1990.

RICHMOND, A. Phototrophic microalgae. In: Ream, H. J.; Read, G., Eds., **Biotechnology**, Dellweg, **Verlag Chemie**, Weinheim, v.3, 1983, p.109-143.

ROCHA, O.; TAVARES, L. H. S. **Produção de plâncton (fitoplâncton de zooplâncton) para alimentação de organismos aquáticos.** Ed. Rima, São Paulo, 2001.

SASSANO, C. E. N.; CARVALHO, J. C. M.; GIOIELLI, L. A.; SATO, S.; TORRE, P. Kinetics and bioenergetics of *Spirulina platensis* cultivation by fed-batch addition of urea as nitrogen source. **Applied Biochemical Biotechnology**, v.112, p.143-150, 2004.

SINGH, Y.; KUMAR, H. D. Adaptation of a strain of *Spirulina platensis* to grow in cobalt and iodine-enriched media. **Journal of Applied Bacteriology**, Oxford, v.76, n.2, p.149-154, Feb. 1994.

SOARES, N. N. **Cultivo e extração de pigmentos das microalgas *Spirulina platensis* e *Haematococcus pluvialis*.** 2005. Dissertação. (Mestrado em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza.

SHIMAMATSU, H. Mass production of *Spirulina*, an edible microalga. **Hydrobiologia**, v.512, p.39-44, 2004.

UNDERWOOD, E. J.; SUTTLE, N. F. **The Mineral Nutrition of Livestock.** 3. ed. CABI Publishing, Wallingford, 1999.

VONSHAK, A. Recent advances in microalgal biotechnology. **Biotechnology Advances**, v.6, p.709-727, 1990.

VONSHAK A. *Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology. Taylor & Francis, London. ISBN 0-7484-0674-3, 1997.

WARKENTIN, M. **Bócio: Aspectos nutricionais e toxicológicos.** Seminário apresentado na disciplina de Bioquímica do Tecido Animal do Programa de Pós-graduação em Ciências veterinárias, 2003.

WORLD HEALTH ORGANIZATION (WHO). Iodine deficiency disorders. Fact sheet WHO/121, Geneva, 1996.