



ARTIGO

**Avaliação da produtividade da microalga
Scenedesmus acuminatus (Lagerheim) Chodat
em diferentes meios de cultivo**

Tatiana Rodrigues da Silva Baumgartner^{1*}, Jorge Augusto Mendes Burak², Marta Estavas Kogikoski³,
Nyamien Yahaut Sebastien⁴ e Pedro Augusto Arroyo⁵

Recebido: 4 de março de 2013 Recebido após revisão: 29 de abril de 2013 Aceito: 15 de maio de 2013
Disponível on-line em <http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/view/2541>

Resumo: (Avaliação da produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat em diferentes meios de cultivo). Nos últimos anos houve um aumento das atividades, processos e aplicações que envolvem o uso de microalgas e sua biomassa, contudo as perspectivas de uso desses microrganismos dependem do cultivo das espécies em larga escala. Os nutrientes presentes no meio de cultivo precisam atender as necessidades nutricionais das algas, proporcionando alta produtividade. Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi estudar a produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* frente a diferentes meios de cultivo e, a partir do melhor meio obtido, analisar a produtividade com diluições do meio. Os meios de cultivo testados foram: meio MC, DM, NPK (10:10:10) e NPK (20:5:10). O cultivo utilizando o meio MC apresentou a melhor produtividade de biomassa algácea em função do tempo. Os testes com diluição do meio de cultivo mostraram que é possível utilizar o meio MC numa proporção dez vezes menor sem comprometer a produtividade. Assim, conclui-se que o meio MC atendeu as necessidades nutricionais da microalga *Scenedesmus acuminatus*, proporcionando uma maior quantidade de biomassa num tempo menor de cultivo.

Palavras-chaves: Biomassa algácea, nutrientes, meio MC.

ABSTRACT: (Evaluation of the productivity of microalgae *Scenedesmus acuminatus* (Lagerheim) Chodat in different culture medium). In recent years there has been an increase of activities, processes and applications involving the use of microalgae and their biomass. Nevertheless, the perspective of the use of these microorganisms depend on the species cultivated on a large scale. The nutrients present in the culture medium need to attend the nutritional needs of algae, providing high productivity. This study aimed to evaluate the microalgae *Scenedesmus acuminatus* productivity in different culture medium and, from the best medium, to analyze the yield obtained with its dilutions. The tested cultures medium were: MC, DM, NPK (10:10:10) and NPK (20:5:10). The culture medium using MC showed the best algal biomass productivity with respect to time. Tests with dilution of the culture medium showed that it's possible to use the MC medium in a proportion ten times smaller without to pawn the productivity. Thus, we concluded that the MC medium has attended the nutritional needs of the microalga *Scenedesmus acuminatus*, providing a higher amount of biomass in a shorter cultivation time.

Key words: Algae biomass, nutrients, MC medium.

INTRODUÇÃO

Alga é um termo de uso popular, empregado para denominar uma enorme variedade de organismos, tão diferentes quanto sua morfologia, reprodução, fisiologia e ecologia (Bicudo & Menezes 2005). Envolvem seres unicelulares e multicelulares, com hábitos planctônicos e perifíticos, sendo que a maioria das microalgas (algas com dimensões microscópicas) tem hábitos planctônicos (Lourenço 2006).

São muitos os possíveis usos dos cultivos de microalgas, sendo que a biomassa produzida destina-se às mais diversas aplicações, tais como na alimentação humana e

animal na forma de suplementos alimentares, na indústria de cosméticos, no tratamento de águas residuárias e também como fonte para a produção de biocombustíveis (Rodolfi *et al.* 2009, Kirrolia *et al.* 2013). Nos últimos anos houve um aumento das atividades, processos e aplicações que envolvem estes microrganismos devido, principalmente, às diversas substâncias sintetizadas por esses com alto valor no mercado mundial, como ácidos graxos poli-insaturados, carotenóides, ficobilinas, polissacarídeos, vitaminas, esteróis e diversos compostos bioativos naturais (Derner *et al.* 2006).

As microalgas podem crescer autotroficamente utilizando luz e dióxido de carbono. Também podem ser

1. Doutoranda do Programa de Pós-graduação em Engenharia Química-Universidade Estadual de Maringá- PEQ/UEM. Av. Colombo, 5790, Bloco D90, CEP 87020-900, Maringá, PR, Brasil.

2. Mestrando em Engenharia Química pela Universidade Federal de São Carlos-UFSCar, Departamento de Engenharia Química. Rodovia Washington Luís, km 235, SP 310, Jardim Guanabara, CEP 13565-905, São Carlos, SP, Brasil.

3. Bióloga pela Universidade Paranaense – UNIPAR. Avenida Parigot de Souza, 3636, Toledo, PR, Brasil.

4. Professor Dr. Departamento de Engenharias e Ciências Exatas. Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE. Rua da Faculdade, 645, CEP 85903-000, Toledo, PR, Brasil.

5. Professor Dr. Departamento de Engenharia Química. Universidade Estadual de Maringá- UEM. Av. Colombo, 5790, Bloco D90, CEP 87020-900, Maringá, PR, Brasil.

*Autor para contato. E-mail: tati.rb@hotmail.com

cultivadas em sistema heterotrófico, utilizando compostos orgânicos como energia e fonte de carbono, ou, ainda, em sistema de cultivo mixotrófico (Becker 1994, Muliterno *et al.* 2005). A produção de biomassa de microalgas também pode ser realizada em meios de cultura alternativos, entre os quais é possível destacar: esgoto doméstico esterilizado, efluentes de biodigestores, lodo digerido, vinhaça de cana-de-açúcar, águas residuais da produção de azeite de oliva e resíduos da suinocultura (Bertoldi 2008, Andrade & Costa 2008). Estes organismos podem ser cultivados em diversos sistemas de produção, com volume variando desde poucos litros até bilhões de litros.

Para o crescimento bem sucedido da alga em um sistema de cultivo, o ambiente deve ser condicionado para atender o maior número possível de exigências intrínsecas desse organismo, fornecendo os nutrientes necessários para o crescimento e a síntese celular (Sipaúba-Tavares & Rocha, 2001). Como o crescimento das microalgas deriva de diversas reações bioquímicas e biológicas, pesquisas relacionadas às interações entre intensidade luminosa, temperatura, agitação e concentração de nutrientes podem contribuir para a otimização do cultivo (Duarte *et al.* 2001).

As principais considerações para o desenvolvimento de um meio de cultura são: a concentração total de sal, fonte de carbono, um fornecimento suficiente de carbono, fonte de nitrogênio, concentração de outros elementos principais como potássio, fósforo, magnésio, sódio, sulfato, microelementos e a adição de componentes orgânicos e de substâncias que promovam o crescimento (Becker 1994, Lourenço 2006).

Muitos meios de cultura têm sido desenvolvidos para diferentes cultivos de algas. Quando se trata de meio de cultura sintético, o alto custo dos nutrientes pode representar fator limitante para a produção (Muliterno *et al.* 2005, Baumgärtner 2011). Os custos com reagentes químicos, para a elaboração do meio de cultura, constituem um dos maiores problemas do cultivo de microalgas (Sipaúba-Tavares 1995). O custo do substrato para o cultivo de microrganismos, para a produção de proteína unicelular e outros bioprodutos, costuma representar de 40 a 60% do custo total (Bertoldi 2008, Schmitz *et al.* 2012). Assim, o meio de cultivo é desenvolvido para se adaptar às necessidades nutricionais das algas a serem cultivadas e às condições econômicas do momento (Sipaúba-Tavares & Rocha 2001).

As microalgas constituem um grupo de micro-organismos fotossintéticos que crescem rapidamente devido à sua estrutura simples, são potencialmente sustentáveis o que ressalta a viabilidade do seu uso como fonte para produção de bioenergia (Chisti 2007, Sobczuk & Chisti 2010). Porém, 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. Nesse sentido, a evolução das pesquisas, incluindo os avanços com relação aos meios de

cultivo mais eficientes tornam-se necessários (Pereira *et al.* 2012). Desta forma, este trabalho teve como objetivo avaliar a produtividade da microalga *Scenedesmus acuminatus* frente a diferentes meios de cultivo utilizados para essa microalga e, a partir do melhor meio de cultivo obtido, analisar a produtividade em diferentes diluições.

MATERIAL E MÉTODOS

A cepa da microalga *Scenedesmus acuminatus* foi fornecida pelo laboratório de Limnologia, Ecotecnologia e Biomanipulação da Universidade Estadual de Oeste do Paraná - UNIOESTE. A fase experimental foi realizada no Departamento de Engenharia Química da Universidade Estadual de Maringá - DEQ/UEM.

Os experimentos foram desenvolvidos em laboratório com temperatura controlada (25 °C), com fotoperíodo de 24 horas, fornecido por lâmpadas fluorescentes de 20 W, totalizando uma iluminância de 5000 Lux. O cultivo foi realizado em Erlemeyers de um litro providos de agitação com ar através de compressores. A razão volumétrica meio:inóculo:água utilizada no estudo foi de 1:1:8. Os testes foram feitos em triplicata.

No cultivo da microalga *Scenedesmus acuminatus*, foram testados quatro diferentes meios de cultivo propostos na literatura para este tipo de alga (Watanabe 1960, Becker 1994, Morais & Costa 2007): meio MC (Medium for *Chlorella ellipsoidea*), DM (Detmer's Medium) e meio NPK (Nitrogen:Phosphorus:Potassium), nas proporções mássicas 10:10:10 e 20:5:10. Este experimento teve duração de 14 dias. As tabelas 1 e 2 apresentam os nutrientes que compõem os meios estudados no cultivo da microalga *Scenedesmus acuminatus*.

A partir do melhor meio obtido no cultivo (o meio que proporcionou melhor produtividade por tempo), com relação aos parâmetros analisados, foi investigado o efeito da concentração desse meio, tendo como objetivo encontrar uma relação ótima entre a diluição do meio e a produtividade da microalga. Assim, os testes com diluições do meio de cultivo, foram realizadas nas razões volumétricas meio:água de 1:10, 1:7,5, 1:5, 1:2 e 1:1. A duração deste experimento foi de 29 dias.

O aumento da biomassa e/ou densidade celular nos cultivos foi monitorado pela concentração celular, utilizando-se uma correlação pré-determinada (curva-padrão) entre a massa da biomassa e a absorbância a 670 nm (Becker 1994, Lourenço 2006). As medidas foram realizadas em um espectrofotômetro Shimadzu UV-vis 1203.

No monitoramento do cultivo da microalga, foram avaliadas: a produtividade (P , mg.L⁻¹.dia⁻¹), obtida pela equação $P=(X_t-X_0)/(t-t_0)$, onde X_t é a densidade celular (g.L⁻¹) no tempo t (dia) e X_0 é a densidade celular (g.L⁻¹) no tempo t_0 (dia); a taxa de crescimento (r , dia⁻¹), obtida a partir da equação $r=(\ln(N/N_0))/(t-t_0)$, onde N é a densidade celular (g.mL⁻¹) no tempo t (dia) e N_0 a densidade

Tabela 1. Meios de cultivo utilizados para a cultura da microalga *Scenedesmus acuminatus*.

Meio	Reagentes	Quantidade/L
MC	KNO ₃	1,25 g
	KH ₂ PO ₄	1,25 g
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	1,25 g
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,02 g
	Solução A ₅ (micronutrientes)*	1 mL
DM	Ca(NO ₃) ₂ · 4H ₂ O	1,00 g
	KCl	0,25 g
	MgSO ₄ · 7H ₂ O	0,55 g
	KH ₂ PO ₄	0,26 g
	FeSO ₄ · 7H ₂ O	0,02 g
	Solução A ₅ (micronutrientes)	1 mL
NPK (10:10:10)	(NH ₄) ₂ CO	10 g
	Superfosfato Simples	10 g
	K ₂ SO ₄	10 g
NPK (20:5:10)	(NH ₄) ₂ CO	20 g
	Superfosfato Simples	5 g
	K ₂ SO ₄	10 g

* Reagentes utilizados para a Solução A₅ estão disponíveis na Tabela 2.

celular (g.mL⁻¹) no tempo t₀ (dia); e as duplicações por dia (k, dia⁻¹), obtidas dividindo o valor de r pelo logaritmo natural de 2,0 (Lourenço 2006).

Para determinar o meio de cultivo que proporcionasse a maior produção de biomassa algácea nas condições estudadas, foi aplicada a análise de variância de medidas repetidas, seguida de um teste de média *a posteriori* (Teste de Tukey). As análises foram realizadas com o auxílio do programa Statistica 7.1 (Statsoft Inc. 2005).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Durante a fase de crescimento do cultivo, o aumento da biomassa (expresso em massa seca, número de células ou densidade óptica) é proporcional à biomassa presente, caracterizando um crescimento exponencial (Lourenço 2006). A figura 1 apresenta a concentração da biomassa em função do tempo de cultivo e a tabela 3, a produtividade e taxa de crescimento de *Scenedesmus acuminatus*. Até o terceiro dia de cultivo foi observada uma fase de indução ao crescimento, que se caracteriza pela adaptação das células ao novo ambiente, quando o aumento da biomassa algal pode ser imperceptível (Becker 1994).

Após a fase de adaptação, em geral, observa-se um aumento na concentração da biomassa no cultivo. Porém, a melhor produtividade foi obtida com o meio MC, seguida do meio DM e do meio NPK (20:5:10). O meio NPK (10:10:10) apresentou os menores valores de produtividade. Verificou-se também que a taxa de crescimento e, conseqüentemente, a produtividade para os meios NPK (10:10:10) e NPK (20:05:10) foram menores do que para os meios DM e MC.

A taxa de crescimento é uma medida relativa de va-

Tabela 2. Reagentes e respectivas quantidades utilizadas para a Solução A₅ (micronutrientes).

Reagente	Quantidade (g.L ⁻¹)
H ₃ BO ₃	2,90
MnCl ₂ · 4H ₂ O	1,81
ZnCl ₂	0,11
CuSO ₄ · 5H ₂ O	0,08
3(NH ₄) ₂ O · 7MoO ₃ · 4H ₂ O	0,018

riação da densidade das células em dois momentos distintos (Lourenço 2006). Os resultados demonstrados na tabela 3 indicam que as maiores taxas de crescimento de *Scenedesmus acuminatus* ocorreram nos primeiros dias de cultivo, exceto para o cultivo com NPK (10:10:10), que apresentou uma taxa de crescimento maior somente após doze dias de cultivo. Da mesma forma que a produtividade, a taxa de crescimento da microalga foi maior no cultivo com o meio MC, principalmente nos primeiros dias.

Dos principais macronutrientes necessários para o crescimento algal, o nitrogênio (N) é importante, por ser constituinte de diversas substâncias do metabolismo primário, sendo que a abundância deste elemento no meio tende a aumentar as quantidades de proteínas e clorofilas nas células e sua carência, tende a diminuir as taxas de crescimento celular (Bertoldi 2008, Lourenço 2006). Assim, a quantidade de nitrogênio presente no meio NPK (10:10:10) que foi de 4,67 g.L⁻¹ e no meio NPK (20:5:10) com 9,34 g.L⁻¹, foram maiores do que nos meios MC (0,17 g de N.L⁻¹) e DM (0,12 g de N.L⁻¹), deste modo, provavelmente a quantidade de nitrogênio não foi o fator limitante do crescimento para os meios NPK (10:10:10) e NPK (20:5:10).

O elemento potássio (K) também esteve presente em quantidades maiores nos meios NPK (10:10:10) (4,48 g de K.L⁻¹) e NPK (20:5:10) (4,48 g de K.L⁻¹) do que nos meios MC (0,84 g de K.L⁻¹) e DM (0,13 g de K.L⁻¹),

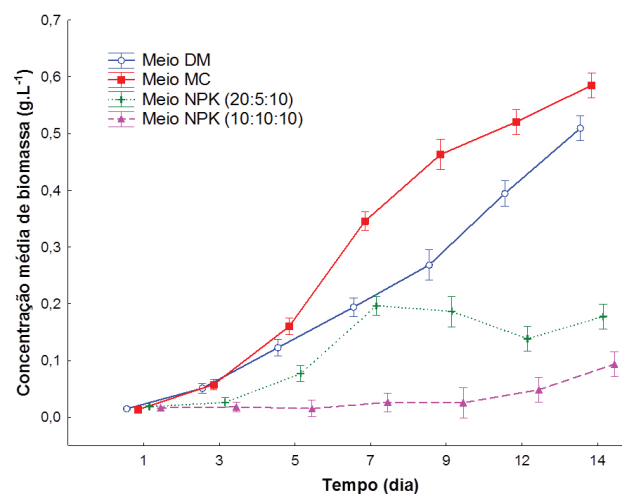
**Figura 1.** Concentração da biomassa produzida pela microalga *Scenedesmus acuminatus* em função do tempo de cultivo para os quatro diferentes meios testados.

Tabela 3. Produtividade (P; mg.L⁻¹.dia⁻¹) e taxa de crescimento diário (r) para os diferentes meios de cultivo utilizados no cultivo de *Scenedesmus acuminatus*.

Intervalo (dia)	Meios de Cultivo							
	DM		MC		NPK (20:05:10)		NPK (10:10:10)	
	P	r	P	r	P	r	P	r
1-3	18,09 ± 3,42	0,617	21,98 ± 4,73	0,723	3,71 ± 2,79	0,167	0,82 ± 0,62	0,047
3-5	26,92 ± 3,24	0,438	36,66 ± 4,18	0,512	14,58 ± 0,76	0,540	0,37 ± 1,35	-0,093
5-7	29,84 ± 1,17	0,229	55,31 ± 3,53	0,384	29,60 ± 1,74	0,468	1,61 ± 0,62	0,274
7-9	31,68 ± 0,97	0,162	56,19 ± 4,70	0,147	20,96 ± 1,65	-0,026	1,12 ± 0,41	-0,014
9-12	34,35 ± 0,76	0,127	46,07 ± 2,53	0,039	10,86 ± 1,46	-0,100	2,87 ± 0,60	0,211
12-14	38,03 ± 1,80	0,130	43,97 ± 0,95	0,059	12,21 ± 1,09	0,125	5,92 ± 1,06	0,331

entretanto, segundo Lourenço (2006) e Becker (1994) a quantidade de potássio não se apresenta como um fator limitante ao desenvolvimento das microalgas.

No entanto, o elemento fósforo (P) é um nutriente necessário para o crescimento normal de todas as algas, e essencial para qualquer processo celular, atuando como transportador de substratos ou energia química, é tão importante que, pequenas quantidades no meio de cultura podem limitar o crescimento de algumas espécies de microalgas (Becker 1994, Bertoldi 2008). Possivelmente, os baixos valores de taxa de crescimento e produtividade de biomassa (Tab. 3) obtida para o cultivo com o meio NPK (10:10:10) contendo 3,26 g de P.L⁻¹, e para o meio NPK (20:5:10) com 1,63 g de P.L⁻¹, podem ter sido causados pela alta quantidade de fósforo no meio, o que não ocorreu para o meio MC com 0,28 g de P.L⁻¹ e para o meio DM com 0,06 g de P.L⁻¹. Deste modo, a quantidade de fósforo pode ter sido o fator limitante no crescimento da microalga para os meios NPK (10:10:10) e NPK (20:5:10).

Embora cada elemento tenha sua importância relativa para a nutrição algácea, não há um número exato de elementos químicos essenciais, pois certos elementos são essenciais para determinadas espécies e não o são para outras. Aparentemente, o meio de cultivo MC apresentou uma combinação de nutrientes que favoreceram o crescimento da microalga *Scenedesmus acuminatus* em um tempo menor, podendo viabilizar uma produção em larga escala, quando se deseja grandes quantidades de biomassa no menor tempo possível. Desta maneira, pode-se concluir que o meio MC apresentou a melhor relação entre a biomassa produzida e o tempo de cul-

vo. Valores similares foram encontrados por Moraes & Costa (2007), quando cultivaram *Scenedesmus obliquus* em três fotobiorreatores conectados em série, utilizando o meio MC no cultivo. No entanto, a taxa de crescimento máxima obtida pelos autores para *Scenedesmus obliquus* (0,15 dia⁻¹) foi inferior à taxa de crescimento para a *Scenedesmus acuminatus*. (0,512 dia⁻¹) conseguida neste estudo.

A partir do melhor meio de cultivo obtido no teste (meio MC), realizaram-se testes em diferentes concentrações para esse meio. Os resultados de produtividade obtidos com o meio MC são apresentados na tabela 4 e as concentrações de biomassa em função do tempo de cultivo na figura 2.

Para as diferentes diluições do meio MC, não foi possível observar diferenças significativas ($p > 0,05$) na produtividade de biomassa algácea até o 18º dia de cultivo. Esse resultado indica que, na produção de biomassa até 18 dias de cultivo, pode se utilizar o meio MC com diluições de até 1:10 sem comprometer a produtividade de biomassa de *Scenedesmus acuminatus*. Após o 18º dia de cultivo, o aumento da quantidade de biomassa, nas diluições 1:2 e 1:1, não foi proporcional a quantidade de nutriente presente no meio, sendo mais vantajoso cultivar várias bateladas até o 18º dia, utilizando a diluição 1:10, do que manter o cultivo por um tempo maior, utilizando as diluições 1:2 ou 1:1.

Como o custo dos nutrientes para a preparação dos meios de cultivos representa um dos fatores relevantes na produção de microalgas, a redução da quantidade de meio utilizado, por biomassa algácea produzida, poderá diminuir de forma significativa os custos de produção

Tabela 4. Produtividade (P; mg.L⁻¹.dia⁻¹) e desvio padrão para diferentes diluições do meio MC no cultivo de *Scenedesmus acuminatus*.

Intervalo (dia)	Diluição do meio				
	1:10*	1:7,5	1:5	1:2	1:1
0-2	64,21 ± 2,67	71,16 ± 2,19	76,79 ± 4,39	61,37 ± 2,27	81,11 ± 9,25
2-4	60,18 ± 2,81	56,91 ± 6,00	71,12 ± 13,89	36,51 ± 19,98	54,79 ± 10,43
4-7	51,25 ± 8,28	51,71 ± 4,21	55,70 ± 2,83	51,48 ± 3,91	59,7 ± 15,00
7-9	44,10 ± 7,10	47,24 ± 7,37	39,07 ± 5,83	44,30 ± 7,20	51,08 ± 11,03
9-11	46,17 ± 2,06	43,37 ± 6,15	45,01 ± 9,25	51,30 ± 2,68	38,05 ± 6,18
11-14	37,25 ± 2,12	40,11 ± 2,84	39,11 ± 12,01	41,92 ± 5,36	35,04 ± 3,70
14-17	30,50 ± 2,08	30,47 ± 3,17	32,19 ± 10,78	33,84 ± 6,03	32,10 ± 6,46
17-18	28,59 ± 2,55	30,49 ± 3,20	31,12 ± 9,09	32,13 ± 2,74	35,95 ± 9,27
18-21	23,41 ± 2,29	25,53 ± 0,79	21,13 ± 6,46	29,27 ± 5,40	35,81 ± 12,14
21-23	21,57 ± 3,94	22,31 ± 1,08	21,75 ± 1,18	29,82 ± 1,49	31,77 ± 7,65
23-29	14,98 ± 2,96	16,85 ± 1,05	9,24 ± 2,12	18,16 ± 9,44	21,43 ± 3,79

* Razão meio: água+inóculo.

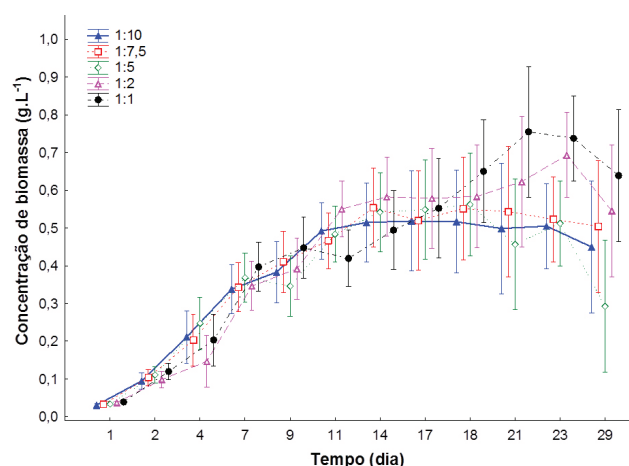


Figura 2. Concentração da biomassa produzida pela microalga *Scenedesmus acuminatus* em função do tempo de cultivo utilizando-se o meio MC em diferentes diluições.

(Sipaúba-Tavares 1995, Bertoldi 2008, Schmitz *et al.* 2012). Assim, a diluição do meio de cultivo indica os primeiros passos no caminho a ser seguido para tornar viável a produção, em escala industrial, dessa nova alternativa de fonte energética (Pereira *et al.* 2012).

A taxa de crescimento e as duplicações por dia para o teste com diferentes diluições do meio MC são apresentadas na tabela 5. É possível observar que a taxa de crescimento para todas as diluições variou amplamente ao longo do tempo e, acompanhando esta tendência, as duplicações por dia variaram ao longo do desenvolvimento do cultivo. Os dados indicam que nos dois primeiros dias a microalga realizou mais que uma duplicação por dia, reduzindo o tempo de duplicação nos dias subsequentes até atingir o valor mínimo.

Neste estudo foi possível verificar que o crescimento das células microalgais no ambiente de cultivo depende do meio de cultivo utilizado. Fixando as condições físicas como temperatura, agitação e luminosidade no cultivo é possível estudar a influência do meio na quantidade de biomassa produzida. Assim, pode-se concluir que o meio de cultivo MC atendeu de forma mais sa-

tisfatória as necessidades nutricionais da microalga *Scenedesmus acuminatus*, nas condições estudadas, o que proporcionou maior produtividade de biomassa em um tempo menor. Além disso, os testes com diluição do meio de cultivo mostraram que é possível utilizar o meio MC numa proporção dez vezes menor sem comprometer a produtividade e, consequentemente, a quantidade de biomassa produzida.

AGRADECIMENTO

Ao CNPq, pela concessão da bolsa e dos recursos financeiros.

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. R. & COSTA, J. A. V. 2008. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. *Ciênc. Agrotec.*, 32(5): 1551-1556.
- BAUMGARTNER, T. R. S. 2011. *Cultivo e extração de óleo das microalgas Scenedesmus sp. e Spirulina sp. para a síntese de ésteres visando à produção de biodiesel*. 124 p. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Universidade Estadual de Maringá- PEQ/UEM, Paraná, 2011.
- BECKER, E. W. 1994. *Microalgae: Biotechnology and Microbiology*. New York: Cambridge University Press. 293 p.
- BERTOLDI, F. C., SANT'ANNA, E. & OLIVEIRA, J. L. B. 2008. Revisão: Biotecnologia de Microalgas. *Curitiba: B. CEPPA*. 26(1): 9-20.
- BICUDO, C. E. M. & MENEZES, M. 2005. *Gêneros de Algas de Águas Continentais do Brasil: Chave para Identificação e Descrições*. São Carlos: Editora RiMa. 580 p.
- CHISTI, Y. 2007. Biodiesel from Microalgae. *Biotechnol. Adv.*, 25: 294-306.
- DERNER, R. B., OHSE, S., VILLELA, M., CARVALHO, S. M. & FETT, R. 2006. Microalgas, produtos e aplicações. *Ciênc. Rural*, 36(6): 1959-1967.
- DUARTE, M. M. B., SILVA, J. E., PASSAVANTE, J. Z. O., PIMENTEL, M. F., BARROS NETO, B. & SILVA, V. L. 2001. Macroalgae as lead trapping agents in industrial effluents - a factorial designs analysis. *Journal Brazilian Chemistry Society*, 12: 409-506.
- KIRROLIA, A., BISHNOI, N. R. & SINGH, R. 2013. Microalgae as a boon for sustainable energy production and its future research & development aspects. *Renewable Sustainable Energy Rev.*, 20: 642-656.
- LOURENÇO, S. O. 2006. *Cultivo de Microalgas Marinhas - Princípios e Aplicações*. São Carlos: Editora RiMa. 606 p.

Tabela 5. Taxa de crescimento diário (r) e duplicações por dia (k), para diferentes diluições do meio MC de cultivo da microalga.

Intervalo (dia)	Diluição do Meio									
	1:10*		1:7,5		1:5		1:2		1:1	
	r	k	r	k	r	K	r	k	r	k
0-2	1,11	1,60	1,11	1,68	1,19	1,71	0,97	1,40	1,12	1,62
2-4	0,39	0,56	0,39	0,48	0,40	0,58	0,17	0,25	0,26	0,38
4-7	0,17	0,25	0,17	0,25	0,14	0,20	0,31	0,44	0,22	0,32
7-9	0,06	0,09	0,06	0,13	0,03	-0,05	0,06	0,08	0,06	0,09
9-11	0,13	0,18	0,13	0,09	0,16	0,24	0,17	0,25	0,03	-0,04
11-14	0,01	0,02	0,01	0,08	0,03	0,05	0,02	0,03	0,06	0,08
14-17	0,00	0,00	0,00	-0,03	0,00	0,00	0,00	-0,01	0,03	0,05
17-18	0,00	-0,01	0,00	0,08	0,03	0,05	0,02	0,02	0,15	0,22
18-21	0,00	-0,02	0,00	-0,01	0,07	-0,10	0,02	0,03	0,04	0,06
21-23	0,00	0,00	0,00	-0,03	0,07	0,11	0,06	0,08	0,00	0,00
23-29	0,0	-0,03	0,00	-0,01	-0,10	-0,14	-0,06	-0,08	-0,02	-0,03

* Razão meio: água+inóculo.

- MORAIS, M. G. & COSTA, J. A. V. 2007. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina sp.* and *scenedesmus obliquus* cultivated in a three-stage serial tubular photobioreactor. *J. Biotechnol.*, 129: 439-445.
- MULITERNO, A., MOSELE, P. C., COSTA, J. A. V., HEMKEMEIER, M., BERTOLIN, T. E. & COLLA, L. M. 2005. Cultivo mixotrófico da microalga *Spirulina platensis* em batelada alimentada. *Ciênc. Agrotec.*, 29(6): 1132-1138.
- PEREIRA, C. M. P., HOBUSS, C. B., MACIEL, J. V., FERREIRA, L. R., DEL PINO, F. B., MESKO, M. F., JACOB-LOPES, E. & NETO, P. C. 2012. Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas. *Quim. Nova*, 35(10): 2013-2018.
- RODOLFI, L., ZITTELLI, G. C., BASSI, N., PADOVANI, G., BIONDI, N., BONINI, G. & TREDICI, M. R., 2009. Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low-cost photobioreactor. *Biotechnol. Bioeng.*, 102(1): 100-112.
- SCHMITZ, R., MAGRO, C. D. & COLLA, L. M. 2012. Aplicações ambientais de microalgas. *Revista CIATEC-UPF*, 4(1): 48-60.
- SIPAÚBA-TAVARES, L.H.S. 1995. *Limnologia aplicada à aquicultura*. Jaboticabal: Funep. 72 p.
- SIPAÚBA-TAVARES, L. H. & ROCHA, 2001. *Produção de Plâncton (Fitoplâncton e Zooplâncton) para Alimentação de Organismos Aquáticos*. São Carlos: Editora RiMa. 106 p.
- SOBCZUK, T. M. & CHISTI Y. 2010. Potential fuel oils from the microalga *Choricystis minor*. *J Chem Technol Biotechnol.*, 85: 100-108.
- STATSOFT INC. 2005. *Statistica (data analysis software system) version 7.1*. Disponível em: <<http://www.statsoft.inc>>.
- WATANABE, A. 1960. List of algal strains in collection at the institute of applied microbiology, University of Tokyo. *J. Gen. Appl. Microbiol.*, 6(4): 283-292.