



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

MICROALGAS CULTIVADAS SOB AÇÃO DE CAMPOS MAGNÉTICOS:
EFEITOS NO CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO

KRICELLE MOSQUERA DEAMICI

Engenheira de Alimentos

Prof^ª. Dr^ª. LUCIELEN OLIVEIRA DOS SANTOS
Orientadora

Prof. Dr. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA
Co-orientador

Rio Grande- RS
2015

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE
ESCOLA DE QUÍMICA E ALIMENTOS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA E CIÊNCIA DE
ALIMENTOS

MICROALGAS CULTIVADAS SOB AÇÃO DE CAMPOS MAGNÉTICOS:
EFEITOS NO CRESCIMENTO E COMPOSIÇÃO

KRICELLE MOSQUERA DEAMICI

Engenheira de Alimentos

Dissertação apresentada como parte dos
requisitos para a obtenção do título de
Mestre em Engenharia e Ciência de
Alimentos.

Prof^ª. Dr^ª. LUCIELEN OLIVEIRA DOS SANTOS
Orientadora

Prof. Dr. JORGE ALBERTO VIEIRA COSTA
Co-orientador

Rio Grande- RS
2015

Dedico aos meus pais, à minha avó e meu namorado Samuel.

AGRADECIMENTOS

Ao meu namorado **Samuel Machado**, pelo companheirismo em todos os momentos, pelo carinho, incentivo e paciência ao longo destes dois anos.

Aos meus pais **Antônio Deamici** e **Fátima Mosquera**, minha vó **Ely Mosquera** e meu irmão **Adriel Deamici**, pelo carinho, atenção e pela compreensão nos momentos de ausência.

À minha querida orientadora prof. Dr^a. **Lucielen Oliveira dos Santos**, pelos ensinamentos, conselhos, confiança, dedicação, amizade e pelo exemplo de profissional. Obrigada pela disponibilidade e pelas conversas de incentivo e descontração.

Ao meu co-orientador prof. Dr. **Jorge Alberto Vieira Costa**, pelas contribuições e oportunidades para realização deste trabalho.

Aos integrantes da banca da qualificação, prof. Dr. **Luiz A. A. Pinto** e prof. Dr^a **Suzana Kalil**, pelas valiosas contribuições e sugestões para o andamento do trabalho.

À dedicada iniciante científica **Bruna Barcelos Cardias**, pela dedicação, responsabilidade, troca de experiências e eficiente ajuda na realização deste trabalho.

À **Jéssica Duarte**, grande amiga que encontrei e responsável por parte do meu aprendizado sobre cultivos e microalgas, sempre esteve disposta a me ensinar e auxiliar no que fosse preciso, obrigada pela amizade, ensinamentos e pelas muitas risadas.

À **Milene Barcia** e **Luiza Moraes**, por todas as dúvidas sanadas e pela disponibilidade em todos os momentos.

Às companheiras de café da manhã, **Denise Prates**, **Milene Barcia**, **Fátiele Bonow** e **Letícia Schneider**, que às 7:30 h já estavam bombando e me divertiam muito de manhã cedo.

Aos amigos do laboratório, **Jéssica Duarte**, **Milene Barcia**, **Denise Prates**, **Letícia Schneider**, **Bruna Cardias**, **Lenon Bauer**, **Fátiele Bonow**, **Bruna Vaz**, **Eteiele Moraes**, **Bárbara Freitas**, **Gustavo Porciúncula**, pelos mega engraçados jogos de Imagem e Ação e pelos almoços descontraídos no RU.

Ao técnico **Daniel** do laboratório de Física, pela disponibilidade em nos ajudar e pelo empréstimo das fontes de alimentação.

À toda **equipe do LEB**, pela ótima recepção no laboratório;

À **CAPES**, pela concessão da bolsa de estudos.

À **FURG**, por disponibilizar ensino de qualidade e este excelente Programa de Pós-Graduação.

Muito obrigada!

A persistência é o menor caminho para o êxito!

Charles Chaplin

RESUMO

Microalgas pertencem a um grande e diversificado grupo de micro-organismos fotossintéticos que são capazes de armazenar energia solar e convertê-la em energia biológica. Entre os componentes de maior importância na biomassa microalgal, destacam-se o elevado teor de proteínas, carboidratos, lipídeos, vitaminas, sais minerais, além de pigmentos. Para aumentar a eficiência da produção de biomassa microalgal, a aplicação de campos magnéticos (CM) no cultivo das microalgas vem sendo estudada. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência dos CM no crescimento e composição da biomassa microalgal da *Chlorella fusca* LEB 111 e *Spirulina* sp. LEB 18 cultivadas em fotobiorreatores tubulares verticais de 1,8 L. Os CM de 30 e 60 mT foram gerados por ímãs de ferrite (aplicados por 24 h d⁻¹ ou por 1 h d⁻¹) e o CM de 5 mT foi gerado por corrente elétrica (aplicado por 1 h d⁻¹). Cultivos controle (CC), sem a aplicação de CM, foram realizados a fim de avaliar o bioefeito causado apenas pelo CM nos cultivos. As microalgas foram cultivadas em estufa, com temperatura de 30 °C, iluminância de 60 μmol m⁻² s⁻¹, fotoperíodo 12 h claro/escuro por 15 dias. Em relação aos cultivos com a *C. fusca*, a concentração celular máxima (X_{máx}) foi obtida quando aplicado 60 mT por 24 h d⁻¹ (1,94 ± 0,10 g L⁻¹), sendo 20,5 % superior a X_{máx} obtida no CC. Com relação à composição desta biomassa, o CM de 60 mT por 24 h d⁻¹, ocasionou incremento de 24,8 % no teor de carboidratos. Nos cultivos com a *Spirulina* sp. LEB 18, as intensidades de 30 e 60 mT aplicadas por 1 h d⁻¹, ocasionaram efeito estimulante no crescimento, obtendo as maiores X_{máx} (2,37 ± 0,16 e 2,38 ± 0,06 g L⁻¹, respectivamente) e a maior produtividade quando cultivada com 60 mT por 1 h d⁻¹ (105,1 % superior ao CC). O CM de 60 mT por 24 h d⁻¹ aumentou o teor de proteínas da biomassa de *Spirulina*, comparado ao CC, obtendo-se 73,20 ± 1,07 mg m⁻¹. A intensidade de 30 mT quando aplicada por 24 h d⁻¹ proporcionou aumento de 133,2 % no teor de carboidratos. A partir dos resultados obtidos, foi possível verificar que os CM podem influenciar no crescimento celular das microalgas estudadas, causando efeito estimulante, e podendo obter o dobro de biomassa para o mesmo tempo de cultivo, no caso dos cultivos com *Spirulina* sp. Além disso, foi constatado o estímulo na produção de proteínas e carboidratos com a aplicação do CM. Neste estudo, foi possível observar diferentes bioefeitos ocasionados pelo CM dependendo da espécie. A melhor condição de aplicação de CM para *C. fusca*, que proporcionou estímulo no crescimento e no teor de carboidratos foi a condição de 60 mT de forma permanente (24 h d⁻¹). A escolha da melhor condição de aplicação de CM para *Spirulina* dependerá do objetivo do cultivo. Para obter maior quantidade de biomassa em menor tempo, as condições de 30 e 60 mT aplicados por 1 h d⁻¹ obtiveram os melhores resultados, porém se o objetivo for produção de bioetanol, por exemplo, a condição de 30 mT permanente promoveu incremento de 133,2 % no teor de carboidratos nesta biomassa. O CM também influenciou o teor de ficocianina presente na biomassa de *Spirulina*, sendo que o maior valor (13,17 mg mL⁻¹) foi obtido no cultivo que apresentou maior X_{máx} (60 mT, 24 h d⁻¹).

Palavras-chave: Campos Magnéticos. Microalgas. Bioefeitos. Crescimento. Estím

ABSTRACT

Microalgae belong to a large and varied group of photosynthetic microorganisms that are able to store solar energy and transform it into biological energy. The most important compounds in the microalgae biomass are carbohydrates, lipids, vitamins, minerals, and pigments, beside high content of proteins. The application of magnetic fields (MF) to microalgae culture has been studied in order to increase the efficiency of biomass production. Therefore, the study aims at evaluating the influence of MF on growth and biomass composition of microalgae *Chlorella fusca* LEB 111 and *Spirulina* sp. LEB 18 cultivated in 1.8 L vertical tubular photobioreactors. The application of MF 30 and 60 mT generated by ferrite magnets and 5 mT generated by electric current were applied during 24 h d⁻¹ (permanent) or 1 h d⁻¹. Control cultures (CC), without application of MF, were performed to evaluate the bioeffect caused only by the MF. Microalgae were grown at 30 ° C, illuminance of 60 μmol m⁻² s⁻¹, photoperiod 12 h light/dark for 15 days. Regarding crops with *C. fusca* maximum biomass concentration observed was obtained when applied 60 mT permanent (1.94 ± 0.10 g L⁻¹). In relation to the composition of biomass when grown under the action of MF 60 mT permanent, there was an increase of 24.8% in carbohydrate content compared to the CC. In assays with *Spirulina* sp., application of intensities of 30 and 60 mT for 1 h d⁻¹, resulted in stimulation of growth, obtaining higher biomass concentrations (2.37 ± 0.16 e 2.38 ± 0.06 g L⁻¹, respectively) and higher yield, when applied with 60 mT for 1 h d⁻¹ (105.1 % higher than in CC). Regarding the composition of the biomass of cyanobacteria, the protein content was increased by 16.6 % when applied 60 mT permanent, yielding 73.20 ± 1.07 m m⁻¹. The intensity of 30 mT applied for 24 h d⁻¹ provided an increase of 133.2 % in carbohydrate content. With the results, we found that MF may influence cell growth of microalgae studied, causing stimulation on it and that way, you can get twice as much biomass for the same time of cultivation. In addition, it was found stimulation the production of proteins and carbohydrates with the application of MF. In this study, we observed different bioeffects caused by MF depending on the species. The best condition of MF application to *C. fusca* that triggered growth and carbohydrate content was permanent 60 mT (24 h d⁻¹). The choice of the best condition of MF application to *Spirulina* depends on the objective of culture. In order to get larger amount of biomass in less time, conditions of 30 and 60 mT applied for 1 h d⁻¹ got the best results. However, if the objective is bioethanol production, for example, the conditions of permanent 30 mT, increased the carbohydrate content in 133.2 % in this biomass. The MF also affected the phycocyanin content in the *Spirulina* biomass, since the highest value (13.17 mg mL⁻¹) was get in the culture that had the largest X_{max} (60 mT, 24 h d⁻¹).

Key words: Magnetic Fields. Microalgae, Bioeffects. Growth. Stimulus.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Composição de proteínas, carboidratos e lipídeos para diferentes cepas de microalgas.	40
Tabela 2- Condições de cultivo estudadas neste trabalho para cada microalga.	57
Tabela 3 - Concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) e tempo de geração (t_g) obtidos nos cultivos da <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 com aplicação de 30 mT, 60 mT, em diferentes tempos e do cultivo controle.	65
Tabela 4 - Teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas, em base seca, da biomassa de <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 cultivada com 30 mT e 60 mT por 24 h d ⁻¹ e por 1 h d ⁻¹ e do cultivo controle.....	66
Tabela 5 - Concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) e tempo de geração (t_g) dos cultivos com aplicação de 5 mT e do cultivo controle da <i>Chlorella fusca</i> LEB 111.	69
Tabela 6 - Teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas, em base seca, da biomassa de <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 cultivada com aplicação de CM gerado por corrente elétrica com intensidade de 5 mT por 1 h d ⁻¹ , e o cultivo controle.	70
Tabela 7 - Valores referentes à diferença entre os valores obtidos nos cultivos com aplicação de CM e o cultivo controle da microalga <i>Chlorella fusca</i> LEB 111.....	71
Tabela 8 - Concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) e tempo de geração (t_g) obtidos nos cultivos da <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 com aplicação de CM de 30 mT, 60 mT, em diferentes tempos de aplicação e do cultivo controle.	77
Tabela 9 - Teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas, em base seca, da biomassa de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 cultivada com aplicação de CM de 30 mT e 60 mT por 24 h d ⁻¹ e por 1 h d ⁻¹ e cultivo controle.	78
Tabela 10 - Concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) e tempo de geração (t_g) dos cultivos com aplicação de CM gerado por solenoide e do cultivo controle da <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.....	81
Tabela 11 - Teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas, em base seca, da biomassa de <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 cultivada com aplicação de CM de 5 mT gerados por corrente elétrica via solenoide, por 1 h d ⁻¹ e do cultivo controle.....	81
Tabela 12 - Valores referentes à diferença entre os valores obtidos nos cultivos com aplicação de CM e o cultivo controle da cianobactéria <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.....	82
Tabela A 1- Média das concentrações celulares diárias (X , g L ⁻¹) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a microalga <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 cultivadas com CM de 30 mT e do cultivo controle.....	106
Tabela A 2- Média das concentrações celulares diárias (g L ⁻¹) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a microalga <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 cultivadas com CM de 60 mT e do cultivo controle.....	107

- Tabela A 3-** Média das concentrações celulares diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 cultivadas com CM gerado por corrente elétrica, 5 mT, e do cultivo controle. 108
- Tabela A 4-** Média das concentrações celulares diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 cultivadas com CM de 30 mT e o cultivo controle. 109
- Tabela A 5-** Média das concentrações celulares diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 cultivadas com CM de 60 mT e o cultivo controle. 110
- Tabela A 6-** Média das concentrações celulares diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 cultivadas com CM gerado por corrente elétrica de 5 mT e o cultivo controle. 111

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Esquema do processo de fotossíntese dividido em dois estágios, fase clara e fase escura.....	42
Figura 2 - Esquema das linhas de indução e localização dos polos do ímã (a) e solenoide (b).	47
Figura 3 - Esquema dos ensaios realizados neste estudo.	52
Figura 4 - Microalga <i>Chlorella fusca</i> (aumento de 400X).....	53
Figura 5- Microalga <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 (aumento de 400X).....	53
Figura 6 - Esquema do fotobiorreator tubular vertical utilizado nos cultivos.....	54
Figura 7- Ímãs de ferrite adaptados nos fotobiorreatores tubulares, (a) 30 mT; (b) 60 mT	55
Figura 8 - Adaptação para gerar o campo magnético por corrente elétrica: (a) fontes de alimentação; (b) solenoides de fio de cobre esmaltado acoplado nos fotobiorreatores tubulares.	56
Figura 9 - Concentração de biomassa de <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 cultivada com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade de 30 mT, em diferentes tempos de aplicação, 24 h d ⁻¹ (●), 1 h d ⁻¹ (○) e o cultivo controle (●).	62
Figura 10- Concentração de biomassa dos cultivos com <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade de 60 mT, em diferentes tempos de aplicação, 24 h d ⁻¹ (●), 1 h d ⁻¹ (○) e o cultivo controle (●).	64
Figura 11 - Concentração de biomassa dos cultivos com <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 com aplicação de CM gerado por corrente elétrica- solenoide (○) e o cultivo controle (●).	68
Figura 12 - Concentração de biomassa dos cultivos com <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade de 30 mT, em diferentes tempos de aplicação, 24 h d ⁻¹ (●), 1 h d ⁻¹ (○) e o cultivo controle (●).	74
Figura 13 - Concentração de biomassa dos cultivos com <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade de 60 mT em diferentes tempos de aplicação, 24 h d ⁻¹ (●), 1 h d ⁻¹ (○) e o cultivo controle (●).	75
Figura 14 - Concentração de biomassa dos cultivos com <i>Spirulina</i> sp. LEB 18 com aplicação de CM gerado por corrente elétrica- solenoide (○) e o cultivo controle (●) sem aplicação de CM.	80
Figura 15 - Relação entre teor de ficocianina obtido e rendimento da extração em cada condição de aplicação de CM estudada: 1 (Controle); 2 (30 mT e 24 h d ⁻¹); 3 (60 mT e 24 h d ⁻¹); 4 (60 mT e 1 h d ⁻¹) e 5 (solenóide).....	83
Figura AP 1 - Curva padrão da microalga <i>Chlorella fusca</i> LEB 111	102
Figura AP 2 - Curva padrão da microalga <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.....	102
Figura AP 3 - Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da microalga <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 com CM de 30 mT por 24 h d ⁻¹ (◆), por 1 h d ⁻¹ (□) e o cultivo controle (○).	103
Figura AP 4 - Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da microalga <i>Chlorella fusca</i> LEB 111 com CM de 60 mT por 24 h d ⁻¹ (◆), por 1 h d ⁻¹ (□) e o cultivo controle (○).	103

- Figura AP 5-** Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 com CM gerado por corrente elétrica (●) e o cultivo controle (○). 104
- Figura AP 6-** Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 com CM de 30 mT por 24 h d⁻¹ (◆), por 1 h d⁻¹ (□) e o cultivo controle (○). 104
- Figura AP 7-** Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 com CM de 60 mT por 24 h d⁻¹ (◆), por 1 h d⁻¹ (□) e o cultivo controle (○). 105
- Figura AP 8-** Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 com CM gerado por corrente elétrica (●) e o cultivo controle (○). 105
- Figura AP 9-** Ficocianina extraída da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18. 106

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	35
2	OBJETIVOS.....	37
2.1	Objetivo Geral.....	37
2.2	Objetivos Específicos	37
3	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	38
3.1	Microalgas	38
3.1.1	<i>Chlorella</i>	40
3.1.2	<i>Spirulina</i>	41
3.1.3	Fotossíntese	42
3.1.4	Produção de pigmentos pelas microalgas.....	43
3.2	Sistemas de cultivos e fotobiorreatores	43
3.2.1	Fatores que influenciam no crescimento das microalgas	44
3.3	Campos magnéticos	46
3.3.1	Interação dos campos magnéticos com os organismos biológicos.....	47
4	MATERIAL E MÉTODOS	52
4.1	Esquema dos ensaios realizados	52
4.2	Micro-organismos e meios de cultivo.....	52
4.3	Fotobiorreatores e condições de cultivo	53
4.4	Aplicação de campos magnéticos nos cultivos.....	54
4.4.1	Campo magnético gerado por ímãs	55
4.4.2	Campo magnético gerado por corrente elétrica.....	55
4.4.3	Cultivos controle	56
4.5	Determinações analíticas	57
4.5.1	Determinação da concentração de biomassa	57
4.5.2	Determinação de pH	57
4.6	Recuperação da biomassa do meio líquido.....	57
4.7	Composição centesimal das biomassas.....	58
4.7.1	Determinação do teor de umidade.....	58
4.7.2	Determinação do teor de proteínas	58
4.7.3	Determinação do teor de carboidratos	58
4.7.4	Determinação do teor de lipídeos	59
4.7.5	Determinação do teor de cinzas.....	59

4.8	Extração e quantificação da ficocianina	60
4.9	Respostas estudadas	60
4.9.1	Composição centesimal da biomassa	60
4.9.2	Avaliação dos parâmetros de crescimento	61
4.10	Análise estatística	61
5	RESULTADOS E DISCUSSÕES	62
5.1	Cultivos com a microalga <i>Chlorella fusca</i> LEB 111	62
5.1.1	Cultivos com aplicação de CM gerado por ímãs	62
5.1.2	Cultivos com aplicação de CM gerado por corrente elétrica	68
5.1.3	Comparação entre as respostas do cultivo controle e os cultivos com aplicação de CM	71
5.1.4	pH.....	72
5.1.5	Discussão geral sobre influência do CM no cultivo de <i>Chlorella fusca</i> LEB 111	72
5.2	Cultivos com <i>Spirulina</i> sp. LEB 18.....	74
5.2.1	Cultivos com aplicação de CM gerado por ímãs	74
5.2.2	Cultivos com aplicação de CM gerado por corrente elétrica	80
5.2.3	Comparação entre as respostas cultivo controle e os cultivos com aplicação de CM	82
5.2.4	Ficocianina	83
5.2.5	pH.....	84
5.2.6	Discussão geral sobre influência do CM no cultivo de <i>Spirulina</i> sp.	85
6	CONCLUSÃO	87
7	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS	89
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	90
	APÊNDICE.....	101

1 INTRODUÇÃO

As microalgas consistem em uma variedade de micro-organismos fotoautotróficos, que podem ser procarióticos ou eucarióticos. A estrutura unicelular das microalgas permite que elas convertam facilmente a energia solar em energia química (HARUN et al., 2010). Estas espécies podem ser encontradas em quase todos os ambientes da Terra, vivendo de forma isolada ou associada a outros micro-organismos.

As microalgas são capazes de converter substâncias inorgânicas, como carbono, nitrogênio, fósforo, enxofre, ferro e elementos traços, em matéria orgânica, como pigmentos verdes, azuis, vermelhos e marrons (BATISTA et al., 2013). Além de compostos que podem ser utilizados em diversas áreas como lipídeos, proteínas, carboidratos e ácidos graxos poli-insaturados.

As cianobactérias do gênero *Spirulina* destacam-se pelo alto valor biológico, apresentando elevado teor proteico, ácidos graxos poli-insaturados, minerais, pigmentos naturais com propriedades funcionais, como a ficocianina. Da mesma forma, as microalgas do gênero *Chlorella* são consideradas fonte de um largo espectro de nutrientes, como carotenoides, vitaminas e minerais, os quais são amplamente utilizados em alimentos, em rações e na aquicultura (LOURENÇO, 2006).

As microalgas dos gêneros *Chlorella* e *Spirulina* possuem o certificado GRAS (*Generally Recognized As Safe*), o qual institui que podem ser utilizadas como alimento sem apresentar riscos à saúde (FOX, 1996), desde que manipuladas de maneira adequada. As biomassas destas microalgas obtidas dos cultivos são bastante estudadas a fim de avaliar em qual área poderão ser melhor aplicadas.

A biomassa microalgal pode ser utilizada em diversas áreas, como na biorremediação do solo e tratamento de efluentes (SIVAKUMAR et al., 2012; MEZZOMO et al., 2010), pigmentação de produtos alimentícios, por meio dos compostos que a microalga é capaz de produzir (MARTELLI et al., 2014), produção de biocombustíveis (OSUNDEKO; DAVIES; PITTMAN, 2013) e como alimentos nutracêuticos (KLEIN; BUCHHOLZ, 2013).

Alguns parâmetros nos cultivos das microalgas vêm sendo estudados e modificados para aumentar a eficiência e produção de biomassa microalgal, visando estimular o crescimento e induzir metabolicamente os produtos de maior interesse comercial. Neste contexto, a aplicação de campos magnéticos (CM) no cultivo de microalgas tem se mostrado uma alternativa para aumentar a produtividade da biomassa microalgal.

Os CM podem ter efeito sobre o metabolismo dos micro-organismos, na eficiência fotossintética, além de influenciar em alguns processos como a síntese de carboidratos, pigmentos, acúmulo de aminoácidos essenciais, atividade fermentativa, absorção de carbono, liberação de O₂ e até processos genéticos, como a transposição. Todos os processos envolvendo a aplicação de CM em bioprocessos podem ser estimulados sob condições específicas adotadas nos cultivos (BERUTO et al., 2014; HUNT et al., 2009; LIU; WANG; ZHOU, 2008; SMALL; HÜNER; WAN, 2012; YANG et al., 2011).

Os estudos dos bioefeitos dos CM no cultivo de microalgas necessitam de mais pesquisas, porém com os poucos trabalhos reportados na literatura, é possível observar resultados positivos em relação ao crescimento e produção de biomassa. No entanto se faz necessário estudar diferentes intensidades de CM e diferentes espécies de microalgas.

O cultivo de microalgas no sistema fechado, com fotobiorreatores, aliado a indução magnética das culturas configura uma fonte de estudo para elevar a produção de biomassa microalgal e compostos produzidos pelas microalgas, como proteínas, carboidratos, pigmentos, ácidos graxos, entre outros.

2 OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Avaliar a influência dos campos magnéticos no crescimento e composição das microalgas *Chlorella fusca* LEB 111 e *Spirulina* sp. LEB 18 cultivadas em fotobiorreator tubular vertical.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Avaliar o efeito dos campos magnéticos no cultivo das microalgas em fotobiorreator tubular vertical;
- Desenvolver sistemas de cultivos para que os campos magnéticos gerados por ímãs e por corrente elétrica atuem no interior do fotobiorreator tubular vertical;
- Estudar o efeito dos campos magnéticos aplicados por 24 h d⁻¹ e por 1 h d⁻¹ durante os 15 dias de cultivo;
- Verificar em qual relação intensidade/tempo de aplicação ocorre as melhores respostas quanto ao crescimento celular e produção de biocompostos pelas microalgas;
- Avaliar o efeito dos campos magnéticos nas concentrações de ficocianina produzida pela microalga *Spirulina* sp. LEB 18;
- Comparar a composição proximal da biomassa obtida nos cultivos controle (sem aplicação de campo magnético) e com aplicação de campo magnético.

3 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

3.1 MICROALGAS

As microalgas são organismos microscópicos, com tamanho de 2 a 200 μm , capazes de realizar fotossíntese, convertendo a energia luminosa em energia química.

Algumas espécies são eucariontes, como as clorófitas e diatomáceas (algas verdes), as quais possuem um núcleo bem definido no interior da célula separado do citoplasma, enquanto outras espécies são procariontes, como as cianobactérias, as quais não possuem núcleo (LOURENÇO, 2006; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). As microalgas podem ser encontradas em diversos ambientes, algumas espécies em água doce, outras em condições salinas e água do mar (CARLSSON et al., 2007).

A maioria das espécies é fotoautotrófica e dependem inteiramente da fotossíntese para suas necessidades metabólicas, usando a luz solar como fonte de energia e CO_2 como fonte de carbono para produzir carboidratos e ATP (BARSANTI; GUALTIERI, 2006), convertendo energia solar em energia química através da fotossíntese (SLADE; BAUEN, 2013).

A diversidade das microalgas é muito ampla e isto reflete igualmente em uma grande variedade de metabolismos e propriedades bioquímicas. As microalgas apresentam diversos pigmentos, produtos de armazenamento fotossintético, ácidos graxos e lipídeos, óleos, esteróis e hidrocarbonetos, além de compostos bioativos, incluindo metabólitos secundários (GOUVEIA et al., 2010).

Algumas populações já utilizaram as microalgas como alimento há vários anos. Na China, a cianobactéria *Nostoc* era utilizada como alimento há cerca de 2.000 anos; os indígenas nativos e populações do noroeste da África consumiam massas flutuantes e filamentosas de diversas espécies de *Arthrospira*. Entretanto, os estudos sobre as microalgas iniciaram a partir do século XX, onde se constatou a viabilidade destes organismos para serem utilizados para ração animal e alimentação humana por serem ricos em vitaminas, lipídeos e pigmentos (LOURENÇO, 2006; SPOLAORE et al., 2006).

O cultivo de microalgas em grande escala para fins comerciais teve início por volta de 1960 no Japão, com a microalga *Chlorella*, seguida pela cultura de *Spirulina*, em 1970 no México, ambas utilizadas como suplemento alimentar (BECKER, 1998).

A biomassa microalgal geralmente apresenta importantes componentes, podendo ser utilizada na indústria de terapêuticos, cosméticos, nutracêuticos, rações animais, alimentos, biocombustíveis, assim como o cultivo pode ser concomitante ao tratamento de

efluentes (SPOLAORE et al., 2006). As vantagens do cultivo das microalgas, em relação às culturas terrestres, incluem a alta eficiência fotossintética, elevadas produções de biomassa e altas taxas de crescimento (CHISTI, 2007).

A composição bioquímica das microalgas pode variar entre as diferentes espécies e até mesmo entre a mesma espécie, dependendo das condições de cultivo utilizadas (BROWN et al., 1997). Entre os componentes de maior predominância na biomassa, destacam-se as proteínas, carboidratos e lipídeos (SINGH; GU, 2010).

O elevado teor proteico (50-70 %) encontrado em algumas espécies de microalgas faz com que elas sejam consideradas uma fonte suplementar proteica para humanos e animais (SPOLAORE et al., 2006). As proteínas, que estão presentes na biomassa microalgal, mostram-se superiores em relação à qualidade, quando comparadas a fontes vegetais como, trigo, arroz e leguminosas. No entanto, são inferiores em relação às proteínas animais, como leite e carne (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Os carboidratos são os principais derivados da fotossíntese a partir do metabolismo de fixação de carbono pelas microalgas (HO et al., 2011). Os carboidratos podem ser acumulados como materiais de reserva (amido) ou tornarem-se componentes principais das paredes celulares (celulose, pectina e polissacarídeos sulfatados) (CHEN et al., 2013; RANGEL-YAGUI et al., 2004). A conversão dos polissacarídeos em açúcares fermentescíveis ocorre via fermentação microbiana para produção de bioetanol, biocombustível que pode ser produzido a partir de microalgas (WANG; WANG; LIU, 2011).

Na biomassa microalgal, os lipídeos são tipicamente compostos por glicerol, glicídios ou bases esterificadas. Os ácidos graxos possuem de 12 a 22 átomos de carbono. Alguns ácidos graxos sintetizados por microalgas, como ômega 3 e 6 (ω -3 e ω -6), têm valor econômico nas indústrias alimentícias e farmacêuticas. As principais aplicações dos ácidos graxos de microalgas são no enriquecimento de rações para peixes, possibilidade de uso para produção de biodiesel e fonte de ácidos graxos essenciais na dieta humana (MORAIS; COSTA, 2008b).

A Tabela 1 apresenta a composição de diferentes microalgas quanto à concentração de proteínas, carboidratos e lipídeos em base seca. Nesta tabela é possível observar o elevado teor proteico das diferentes microalgas apresentadas, uma vez que todas apresentam teor de proteínas acima de 28 % ($m\ m^{-1}$). Com relação aos carboidratos e lipídeos presentes nas biomassas microalgais, os valores diferem substantivamente, uma vez que a *Scenedesmus obliquus* pode apresentar 10 % ($m\ m^{-1}$) de carboidratos, enquanto a *Chlorella*

vulgaris, em condições ótimas de cultivo pode apresentar 57 % (m m^{-1}) de carboidratos em sua biomassa.

Tabela 1 - Composição de proteínas, carboidratos e lipídeos para diferentes cepas de microalgas.

Microalga	Proteínas (% m m^{-1})	Carboidratos (% m m^{-1})	Lipídeos (% m m^{-1})
<i>Anabaena cylindrica</i>	43-56	25-30	4-7
<i>Chamydomonas reinhardtii</i>	48	17	21
<i>Chlorella vulgaris</i>	51-58	12-17	14-22
<i>Porphyridium cruentum</i>	28-39	40-57	9-14
<i>Scenedesmus obliquus</i>	50-56	10-17	12-14
<i>Spirulina máxima</i>	60-71	13-16	6-7
<i>Synechococcus</i> sp.	63	15	11

Fonte: Adaptado de Becker (1994).

3.1.1 *Chlorella*

A microalga *Chlorella* pertence ao grupo das *Chlorophytas* e à classe *Chlorophyceae*. Estes micro-organismos são eucarióticos, unicelulares, com formato esférico, globular ou elipsoidal e podem atingir diâmetros que variam entre 2-10 μm . As células são desprovidas de flagelos, estigma e vacúolos contráteis, porém contêm núcleo, localizado no centro da célula (PHUKAN et al., 2011). Algumas espécies de *Chlorella* são marinhas, enquanto outras habitam lagos de água doce, sendo que cerca de 90 % do total das espécies, principalmente as formas microscópicas, ocorrem em água doce (LOURENÇO, 2006).

Em meados de 1960, a biomassa desta microalga começou a ser comercializada como suplemento alimentar e depois como alimento para aquicultura marinha (PHUKAN et al., 2011). Um componente importante para a saúde humana que está presente na *Chlorella* é o β -1,3-glicano, um ativo imunoestimulador que reduz os radicais livres e a quantidade de lipídeos no sangue. *Chlorella* é rica em vitaminas do complexo B, especialmente B12, nutrientes como as clorofilas *a* e *b*, proteínas, minerais e aminoácidos essenciais, além de conter ferro, podendo ser utilizada para o tratamento e prevenção da anemia (DUBINSKY, 1990; IWAMOTO, 2004; SPOLAORE et al., 2006).

Os compostos com elevado valor agregado que podem ser obtidos a partir desta microalga, são os ácidos graxos essenciais (WANG; CHEN; QIN, 2012) e pigmentos (SAFI et al., 2014) os quais podem ser utilizados em substituição aos corantes artificiais e suplementação de alimentos (FRUMENTO et al., 2013) e na aquicultura, como alimento para

alevinos de peixes marinhos (MULLER, 2000). O cultivo de *Chlorella* pode ser destinado para diversas aplicações, como para a purificação de águas residuais (YAN et al., 2013), produção de biomassa para a extração de compostos de valor agregado de interesse na área indústria alimentícia e farmacêutica (SOARES et al., 2012), suplemento alimentar (KUMUDHA et al., 2015) e produção de biocombustíveis como bioetanol, biodiesel e biogás (HADIYANTO; AZIMATUN NUR; HARTANTO, 2012).

3.1.2 *Spirulina*

Spirulina é uma cianobactéria verde-azulada, unicelular, procariótica e composta por tricomas de 5-6 µm de largura de 20-200 µm de comprimento, pertence à divisão *Cyanophyta*, classe *Cyanophyceae* e ordem *Oscillatoriales*. A *Spirulina* é capaz de sobreviver em lagos com alta alcalinidade, que contenham carbonato de sódio ou bicarbonato (HOFF; SNELL, 1999; KUMARI et al. 2011; SHIMAMATSU, 2004; SZE, 1998). Em geral, o gênero *Spirulina* é filamentosos, formado por arranjos de tricomas helicoidais (segmentos espiralados formados de células cilíndricas, curtas e largas, revestidas por uma membrana fina), os quais possuem tamanhos e grau de enrolamento variável, morfologia enrolada, desenrolada ou reta. (TOMASELLI, 1997).

As espécies mais importantes do gênero *Spirulina* são: *S. platensis*, *S. maxima* e *S. fusiformes*. A *Spirulina* é cultivada em temperaturas entre 35 e 40 °C e a temperatura mínima de crescimento é entre 15 e 18 °C durante o dia (COSTA; COZZA, 2000; RICHMOND; SOEDER, 1986).

A reprodução desta microalga acontece por fissão transversal binária, onde ocorre a formação do hormogônio ou tricoma, que se destaca dando origem a um novo filamento. Ao redor do tricoma há uma fileira de poros, separados por septos que são visíveis apenas por microscopia óptica e a célula possui membrana plasmática cercada por multicamadas da parede celular (VONSHAK; TOMASELLI, 2000). A parede celular da *Spirulina* é envolta por uma cápsula ou bainha composta por polissacarídeos e não apresenta celulose, por esta razão, de 85 a 95 % da *Spirulina* é assimilada pelo organismo (BABADZHANOV et al., 2004).

A *Spirulina* possui ácidos graxos poli-insaturados e pode ser considerada uma fonte importante de ácido γ -linolênico (GLA), que é importante anti-inflamatório para uso farmacêutico (KIM et al., 2012) e contém todos aminoácidos essenciais, vitaminas e minerais (HOWE et al., 2006). A biomassa desta microalga pode ser explorada para produção de suplementos alimentares (MUHLING; BELAY; WHITTON, 2005), obtenção de bioplásticos

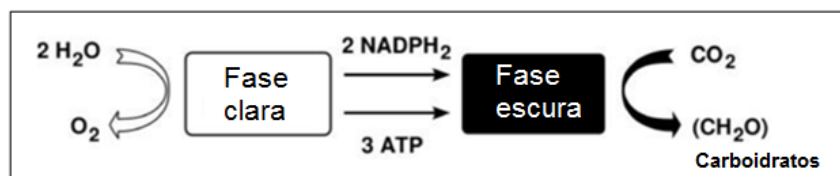
e misturas termoplásticas (ZELLER et al., 2013) produção de biocombustíveis e também na formulação de alimentos e rações (DERNER et al., 2006).

3.1.3 Fotossíntese

A fotossíntese é um processo único de conversão da luz solar em energia, na qual compostos inorgânicos e energia da luz são convertidos em matéria orgânica por organismos fotoautotróficos. Todas as formas de vida na Terra dependem diretamente ou indiretamente da fotossíntese como fonte de matéria orgânica e energia para o metabolismo e crescimento (MASOJÍDEK; TORZILLO; KOBLÍZEK, 2013).

A fotossíntese pode ser expressa como uma reação de redução dirigida pela energia luminosa (captada pelas moléculas de clorofila), onde o dióxido de carbono e a água são convertidos em carboidratos e oxigênio. Este processo é dividido em duas etapas: fase clara e fase escura (Figura 1). Na fase clara, que acontece nas membranas fotossintéticas, a energia da luz é convertida em energia química, proporcionando um redutor bioquímico, NADPH_2 e um composto de alta energia, ATP. Na fase escura, que acontece no estroma, os produtos ricos em energia, obtidos na fase clara (NADPH_2 e ATP) são utilizados na redução sequencial bioquímica de dióxido de carbono a carboidratos (MASOJÍDEK; TORZILLO; KOBLÍZEK, 2013).

Figura 1 - Esquema do processo de fotossíntese dividido em dois estágios, fase clara e fase escura.



Fonte: MASOJÍDEK, TORZILLO, KOBLÍZEK, 2013.

As cianobactérias, que são procarióticas, contêm o nucleoplasma, uma região central rica em DNA e o cromoplasto, a região periférica onde estão localizadas as membranas fotossintéticas. As folhas destas membranas fotossintéticas são geralmente dispostas em paralelo, próximas à superfície celular (MASOJÍDEK; TORZILLO; KOBLÍZEK, 2013).

Nas microalgas eucarióticas, o aparato fotossintético está localizado nos cloroplastos, que contêm camadas alternadas de membranas lipoproteicas que são denominadas tilacoides e a fase aquosa (matriz incolor), denominada estroma (STAEHELIN, 1986).

3.1.4 Produção de pigmentos pelas microalgas

Os micro-organismos fotossintéticos contêm pigmentos orgânicos capazes de converter a luz em energia. As três maiores classes de pigmentos são as clorofilas, os carotenoides e as ficobiliproteínas. As clorofilas (pigmentos verdes) e os carotenoides (pigmentos amarelos ou laranjas) são lipofílicos e associados em complexos clorofila-proteína, enquanto que as ficobiliproteínas são hidrofílicas (MASOJÍDEK; KOBLÍZEK; TORZILLO, 2004).

A clorofila *a* desempenha o papel principal nos sistemas de absorção de luz, por este motivo está presente em todas as espécies de microalgas fotossintetizantes (LOURENÇO, 2006).

Carotenoides e ficobiliproteínas são pigmentos de considerável valor. Nas algas, eles funcionam como pigmentos acessórios na captação da luz. Os carotenoides também servem como pigmentos fotoprotetores, que protegem o aparato fotossintético de danos causados por espécies reativas de oxigênio (LEMOINE; SCHOEFS, 2010).

As ficobiliproteínas estão presentes em apenas algumas espécies de microalgas, e estão divididas em três classes, baseadas em suas propriedades de absorção em determinados comprimentos de onda (λ): ficoeritrinas ($\lambda_{\max} \sim 540\text{--}570$ nm), ficocianinas ($\lambda_{\max} \sim 610\text{--}620$ nm) e aloficocianinas ($\lambda_{\max} \sim 650\text{--}655$ nm) (BERMEJO et al., 2003; GLAZER, 1984). Este grupo de pigmentos é responsável por aumentar o espectro de captação de luz pela fotossíntese e também pode atuar como reserva de nitrogênio (LOURENÇO, 2006).

A ficocianina é a principal ficobiliproteína presente na *Spirulina* (VONSHAK, 1997), sendo um pigmento azul que geralmente é utilizado como corante em bebidas, doces e cosméticos. Em pequenas quantidades também é usada como traçador bioquímico em imunoensaios, devido às suas propriedades fluorescentes (SILVEIRA et al., 2007). A ficocianina já provou possuir propriedades terapêuticas, incluindo, antioxidante, anti-inflamatória e atividades anticancerígenas (ERIKSEN, 2008; ROMAY et al., 2003).

3.2 SISTEMAS DE CULTIVOS E FOTOBIORREATORES

Os cultivos das microalgas podem ser realizados em sistemas abertos ou fechados. Os cultivos abertos referem-se aos cultivos das microalgas ao ar livre em lagoas ou grandes tanques, denominados *raceways*. Os *raceways* são tanques em formato oval e a agitação do cultivo é realizada com pás rotativas (SCHENK et al., 2008). Estes cultivos estão mais

expostos a contaminantes e variações nos parâmetros de cultivo, como a intensidade de luz solar, temperatura e homogeneidade de nutrientes, em comparação aos cultivos fechados.

Outra forma de cultivo são os fotobiorreatores fechados, em que é possível controlar o funcionamento do sistema permitindo maior eficiência fotossintética (SU et al., 2008). Nos fotobiorreatores, o meio de cultura e a microalga permanecem dentro de tubos ou frascos transparentes e a agitação é geralmente realizada por injeção de ar comprimido, proporcionando melhor controle dos parâmetros de cultivo (CHISTI, 2007). Dessa forma, é possível obter maiores quantidades de biomassa e, conseqüentemente, atingir elevadas produtividades (HARUN et al., 2010).

Os fotobiorreatores fechados apresentam vantagens em relação aos tanques abertos, pois possibilitam que o cultivo seja realizado com apenas uma espécie de microalga e com tempo de duração maior, em relação ao sistema aberto. Como este sistema é fechado, evita possíveis contaminações por outras espécies de microalgas, assim como por outros micro-organismos, além de prevenir a evaporação da água do meio e reduzir as perdas de CO₂ (KHAN et al., 2009; RICHMOND, 2004). Para produção de produtos de maior valor agregado, como por exemplo, proteínas, ácidos graxos de cadeia longa e pigmentos, sugere-se cultivar as microalgas em fotobiorreatores fechados (ZENG et al., 2011).

O fotobiorreator tubular tem como vantagem uma grande área exposta à luminosidade, que proporciona aumento da relação superfície/volume em comparação a outras configurações de fotobiorreatores, reduzindo o efeito sombra, o qual é a principal causa da inibição de crescimento em sistemas abertos (TOMASELLI; GIOVANNETTI; MARGHERI, 1981; TOMASELLI, 1997). Este fotobiorreator também é capaz de aumentar o tempo de residência do gás CO₂ no meio de cultivo e, conseqüentemente a eficiência de utilização de nutrientes (MORAIS; COSTA, 2008a).

3.2.1 Fatores que influenciam no crescimento das microalgas

Assim como no ambiente natural, nos cultivos artificiais, o crescimento de uma população de microalgas é resultado da interação entre fatores biológicos, físicos e químicos (MOHEIMANI, 2005). Estes fatores se tornam limitantes ou otimizantes de acordo com as respostas das células a essas condições pré-estabelecidas. Em condições adequadas, as microalgas podem dobrar sua biomassa em até 24 h ou menos. Durante a fase de crescimento exponencial, elas podem completar um ciclo em até 4 h (CHISTI, 2007).

Os fatores biológicos estão relacionados às taxas metabólicas da espécie cultivada, a possível influência de outros organismos sobre seu desenvolvimento e a idade do

inóculo (PELIZER et al., 2003). Quanto aos fatores físicos, o crescimento da microalga está relacionado a uma série de parâmetros, como a luminosidade, temperatura e aeração. Em relação aos fatores químicos, destaca-se a disponibilidade de nutrientes e os fatores físico-químicos, compreendem a concentração salina no meio de cultivo e o pH (LOURENÇO, 2006; MATA; MARTINS; CAETANO, 2010). Todos esses fatores influenciam no valor nutricional das microalgas, na digestibilidade (relacionada à estrutura e composição da parede celular), na sua forma e tamanho e composição bioquímica (nutrientes, enzimas e toxinas, se presentes).

A influência da luz no desenvolvimento das microalgas está relacionada ao fotoperíodo (tempo de exposição à luz), intensidade, qualidade (comprimento de onda) e ao tipo de luz (cor). O fato de a luz variar tanto no espaço (profundidade e latitude) quanto no tempo, também é um fator condicionador ao seu crescimento (ABE; GALVÃO, 1991; DARLEY, 1982; DUBINSKI, 1990). A qualidade do espectro luminoso também é responsável pelos efeitos diferenciados no crescimento celular, em especial, na composição bioquímica. Se a intensidade luminosa for diminuída, os pigmentos diretamente envolvidos com a fotossíntese aumentam, como a clorofila *a*. Por outro lado, elevando a intensidade luminosa, os pigmentos que servem como agentes fotoprotetores aumentam, como a zeaxantina e o β -caroteno (JENSEN; KNUTSEN, 1993).

O cultivo sob alta intensidade luminosa é responsável por dois fenômenos prejudiciais ao cultivo: a foto-oxidação e a fotoinibição. O primeiro pode causar efeitos letais para as células, podendo levar à perda total da cultura. Já a fotoinibição pode acarretar decréscimo no crescimento, o qual também pode ocorrer sob intensidade de luminosidade moderada, caso a taxa fotossintética esteja limitada por alguns fatores estressantes, como a utilização de baixas temperaturas (JENSEN; KNUTSEN, 1993).

O segundo fator restritivo mais importante no crescimento das microalgas é a temperatura, a qual exerce grande influência sobre as reações metabólicas e, conseqüentemente, na taxa de crescimento. Várias espécies de microalgas toleram facilmente temperaturas entre 8 e 15 °C, que são inferiores a temperatura ótima de crescimento. No entanto, em temperaturas elevadas, cerca de 4 °C acima do ótimo, poderá resultar na perda total da cultura (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Em relação à nutrição, as microalgas possuem necessidades de vários nutrientes para alcançar crescimento otimizado. A composição do meio de cultura é uma simulação do meio natural em que a espécie habita; assim, deve conter sais minerais, algumas vitaminas e alguns elementos traços. Os nutrientes necessários dividem-se em macronutrientes (C, H, O,

N, P, S, K, Mg, Si e Fe) e micronutrientes (Mn, Cu, Zn, Mo, V, B, Co, Ca, Na, Se e Ni) (LOURENÇO, 2006).

Para que os componentes do meio de cultura sejam devidamente absorvidos, deve-se haver um controle do pH, o qual é influenciado pelas proporções entre formas de carbono dissolvidas na água de cultivo. O consumo do CO₂ afeta diretamente o crescimento das microalgas e como consequência, modifica o pH do sistema (LOURENÇO, 2006).

A salinidade é outro fator importante a ser considerado, pois pode afetar o crescimento e a composição da célula de microalga, tanto em sistemas abertos como fechados e cada microalga possui uma salinidade ótima. A variação na salinidade do meio pode prejudicar o crescimento da microalga devido ao estresse osmótico e iônico (BRAND, 1984; GLASS, 1983).

A aeração também contribui para o crescimento das microalgas, uma vez que proporciona a homogeneização das células, do calor e dos metabólitos. Além de facilitar a transferência de gases, prevenir a sedimentação e ajudar no contato entre as células e os nutrientes (LITCHFIELD, 1977; RICHMOND, 1986).

3.3 CAMPOS MAGNÉTICOS

O campo magnético (CM) corresponde à região onde atuam as forças magnéticas e sua unidade no sistema internacional é o tesla (T). Os CM podem ser uniformes, quando mantêm a mesma intensidade de campo em um determinado local; contínuos, quando mantêm uma determinada intensidade ao longo do tempo ou alternados, quando a intensidade varia. A intensidade do CM é sempre mais intensa junto à fonte que o emite e diminui com a distância (BURNS; MacDONALD, 1975). Os CM são classificados como fracos (< 1 mT), moderados (1 mT-1 T), fortes (1 T – 5 T) e ultra-fortes (> 5 T) (DINI; ABBRO, 2005).

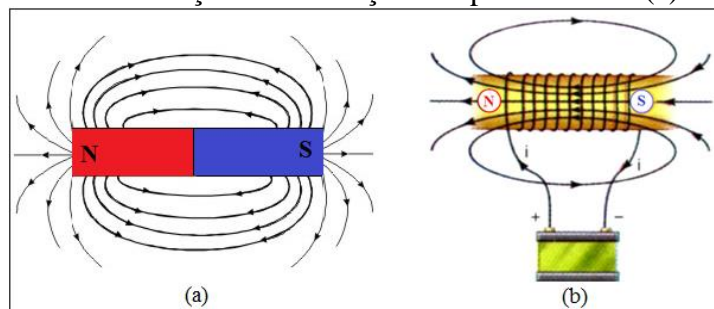
Os CM podem ser gerados por ímãs permanentes ou por correntes elétricas. Em cada extremidade do ímã, há um polo norte e um polo sul, onde o CM é mais intenso (GIANCOLI, 1998). Os ímãs são compostos por diferentes materiais condutores, como neodímio, ferrite, entre outros. Cada material possui sua intensidade magnética característica e os CM gerados não são uniformes ao longo do ímã.

O CM gerado por correntes elétricas baseia-se no experimento do físico dinamarquês Hans Christian Oersted, que em 1820 descobriu a relação entre os fenômenos elétricos e magnéticos. Através da sua experiência, observou que uma corrente elétrica era capaz de alterar a direção de uma agulha magnética de uma bússola, concluindo assim que todo fio condutor percorrido por corrente elétrica, é capaz de criar em torno de si um CM.

Os CM podem ser gerados por corrente elétrica, por meio de condutores retos, espira circular, bobina circular plana, toroides, eletroímãs e solenoides. O solenoide é um dispositivo constituído de um fio condutor longo enrolado em forma de espiras (GIANCOLI, 1998). O CM produzido próximo ao centro do solenoide ao ser percorrido por uma corrente elétrica é praticamente uniforme (intensidade, direção e sentido constantes).

A direção e o sentido das linhas de campo geradas pelo ímã permanente e por um solenoide percorrido por uma corrente elétrica, assim como a localização dos seus polos podem ser observados na Figura 2-a e 2-b, respectivamente.

Figura 2- Esquema das linhas de indução e localização dos polos do ímã (a) e solenoide (b).



Fonte: SALMERON (2007).

O CM gerado por corrente elétrica é uniforme no interior do solenoide e pode ser calculado através da Equação 1, em que B corresponde à indução magnética no centro do solenoide (T, tesla); μ é a permeabilidade magnética do meio no interior do solenoide ($4. \pi. 10^{-7}$, T m A⁻¹); N é o número de espiras do solenoide; i é a intensidade da corrente elétrica que percorre o solenoide (A, ampere) e L o comprimento longitudinal do solenoide (m).

$$\beta = \frac{\mu \cdot N \cdot i}{L} \quad (1)$$

3.3.1 Interação dos campos magnéticos com os organismos biológicos

As células e os organismos vivos possuem a capacidade de responder a um amplo espectro de estímulos ambientais e de estresse. Como por exemplo, as forças magnéticas oriundas dos CM, respondendo a estas interações por meio de alterações intra e extracelulares (SAFFER; PHILLIPS, 1996).

Os tecidos vivos interagem com os CM de acordo com três mecanismos (ICNIRP, 1994; UNEP/WHO/IRPA, 1987). O primeiro mecanismo é a *indução magnética*, quando os CM estáticos exercem forças capazes de mover íons em soluções, como os eletrólitos, dando origem à indução de campos elétricos e correntes. Valores máximos estimados em torno da

veia aorta são em torno de 10 mV T^{-1} . O CM estático também vai exercer uma força física na corrente sanguínea que é proporcional a atual condução iônica e à densidade do fluxo magnético (KOWALCZUK; SIENKIEWICZ; SAUNDERS, 1991). O segundo mecanismo é o *efeito magnético-mecânico*, quando CM estáticos uniformes produzem torções em determinadas moléculas e nos materiais ferromagnéticos, como a magnetite, no organismo. Insetos, alguns pássaros e outros organismos possuem células contendo magnetites para ajudar a encontrar direções por meio desse mecanismo (KIRSCHVINCK, 1992). O terceiro mecanismo são as *interações eletrônicas*, quando CM estáticos podem alterar níveis de energia e orientação da rotação de elétrons (REPACHOLI; GREENEBAUM, 1999).

Os bioefeitos ocasionados pelo CM nos organismos biológicos podem ser interpretados como um estresse que as células sofrem e o sistema responde através dos mesmos mecanismos, assim como acontece com o estresse térmico devido ao aumento da temperatura, que causa nas células uma indução na síntese de determinadas proteínas. Em células expostas ao CM, observaram-se desvios no caminho da síntese de proteínas comparando com células que não foram expostas ao CM. As distribuições da massa molecular e do ponto isoelétrico das proteínas das células que foram submetidas ao CM ou a alta temperatura são semelhantes, mesmo que as energias aplicadas sejam bem diferentes, uma vez que a energia do CM é muito menor que a energia térmica. A partir destas observações, Blank (1993) concluiu que existem receptores com sensibilidades bem diferentes para cada modalidade e a resposta de cada receptor é proporcional à energia.

Os efeitos dos CM sobre o crescimento celular é classificado em inibitório, nulo e estimulante. Os efeitos biológicos decorrentes da exposição às forças magnéticas dependem da intensidade magnética, frequência, a forma de pulso e tempo de exposição (RAI, 1997). A estimulação ou inibição dos processos celulares a partir da aplicação dos CM é de grande interesse na grande área da biotecnologia, pois além de estabelecer os mecanismos básicos desta interação, também pode determinar seu potencial nas aplicações práticas (LEI; BERG, 1998).

A ligação entre os CM e os efeitos em organismos vivos está no fato que o CM causa um estresse oxidativo na célula, pois o CM pode alterar os níveis de energia e a orientação da rotação de elétrons para aumentar a atividade, concentração e tempo de vida dos radicais livres (REPACHOLI; GREENEBAUM, 1999; SAHEBJAMEI; ABDOLMALEKI; GHANATI, 2007).

Todas as forças magnéticas causam metabolização nas células biológicas e movimentos de elétrons e íons, atividades dos radicais livres, das proteínas e enzimas dos

átomos magnéticos e permeação de biofilmes, assim como mudanças no crescimento da célula (YANG et al., 2011).

A resposta biológica à aplicação dos CM não é linear, uma vez que apenas para determinadas frequências e induções magnéticas se observam respostas significativas. Os efeitos serão diferentes de acordo com a forma e aplicação dos parâmetros característicos dos CM (intensidade, frequência e tempo de aplicação) (FOLOGEA et al., 1998).

Os bioefeitos dos CM já foram estudados em células, tecidos e organismos vivos. Os efeitos biológicos e na saúde decorrentes da exposição dos organismos a CM estáticos de elevada intensidade são frequente objetos de estudos. Em células mamárias, os CM estáticos de 10 mT ou menos afetam as células quanto a morfologia (CHIONNA et al., 2003), o crescimento e tamanho (ROSEN; CHASTNEY, 2009) e mitose (TENUZZO et al., 2006). Em ratos, o estresse oxidativo aumentou pela ação do CM estático (AMARA et al., 2007). Em estudos com ratos com tumores, o CM de 15 mT causou significativa redução no volume dos tumores, diminuindo a taxa de crescimento após efeito de eletroquimioterapia (MAHNA; FIROOZABADI; SHANKAYI, 2014).

Os CM estáticos causam vários efeitos em micro-organismos e em plantas, dentre estes: estímulo no crescimento de *Sacharomyces cerevisiae* ATCC 7754 e produção de glutathiona (SANTOS et al., 2010) , aumento na germinação de sementes, crescimento e conteúdo de pigmentos (CAKMAK; DUMLUPINAR; ERDAL, 2010) e aumento do estresse oxidativo em células vegetais (SAHEBJAMEI; ABDOLMALEKI; GHANATI, 2007). As células fotossintéticas têm sido utilizadas como modelos de estresse oxidativo induzido por CM estáticos (WANG et al., 2008).

3.3.2 Estudos com aplicação de campo magnético no cultivo de microalgas

Os bioefeitos decorrentes da aplicação dos CM no cultivo de microalgas é um campo muito pouco explorado. Os escassos estudos apresentados na literatura divergem entre os valores de intensidade do CM aplicados, não podendo ser possível uma comparação efetiva dos bioefeitos ocasionados em cada espécie estudada.

Nos trabalhos realizados por Hirano, Ohta e Abe (1998), intensidades de CM de 0,05 a 70 mT foram estudados no cultivo da microalga *Spirulina platensis* IAM M-135. Com aumento da densidade do fluxo magnético, foi verificado aumento da eficiência fotossintética, com excitação da clorofila. Quando aplicado o CM de 10 mT foi obtido o conteúdo máximo de ficocianina e carboidratos produzidos por esta microalga, e estes valores diminuíram a medida que a intensidade do CM aumentou. O efeito dos CM no conteúdo de ficocianina foi

evidente no terceiro dia de cultivo, antes de causar efeito no crescimento desta microalga, indicando que o estímulo do crescimento da *S. platensis* pelo CM foi resultado da aceleração da biossíntese da ficocianina. Durante a aplicação de CM de 10 mT, estes pesquisadores concluíram que o incremento no conteúdo de ficocianina possui papel importante na ativação do fotossistema II, um dos responsáveis pela ativação das reações de transferência de elétrons durante a fotossíntese. Quando aplicado 70 mT, houve decréscimo no conteúdo de ficocianina. Os conteúdos de clorofila e β -caroteno não foram afetados pela presença do CM. O crescimento da *S. platensis* foi inibido quando exposta a CM acima de 40 mT, devido à inibição da síntese de glicerglicolípídeos, ficocianina e carboidratos.

Li et al. (2007) cultivaram a microalga *Spirulina platensis* por 7 dias com aplicação de CM máximo de 550 mT a fim de avaliar os efeitos do CM no crescimento e composição nutricional da microalga. Os melhores resultados foram alcançados com 250 mT, onde a massa seca aumentou em 22 % em tempo inferior a dois dias em relação ao cultivo controle. Os autores concluíram que CM com intensidade de 250 mT devem ser aplicados para aumentar o crescimento da microalga quando cultivada em fermentadores *air-lift*.

O crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* foi estudado por Wang et al. (2008) e estes pesquisadores observaram aumento significativo no crescimento, quando esta microalga foi cultivada com aplicação de CM entre 10 e 35 mT. Quando foi exposta às intensidades entre 45 e 50 mT não houve diferença entre o crescimento das células expostas a CM e as não expostas.

Capitão (2010) avaliou os efeitos dos CM de 50, 100 e 250 mT no crescimento de diferentes espécies de microalgas, *Spirogyra* sp. 2538, *Pediastrum duplex* e *Pandorina morum*. O estudo revelou que a microalga *Spirogyra* sp. obteve crescimento mais lento conforme o aumento da intensidade do CM aplicado. *Pediastrum duplex* e *Pandorina morum* demonstraram alterações no crescimento devido a pequenas alterações da temperatura, o que camuflou possíveis efeitos dos CM.

Luna, Álvarez e Rivero (2011) avaliaram os efeitos da aplicação do CM de 30 mT na microalga *Chlorella vulgaris* Beijerinck F010102-A e os resultados obtidos apresentaram densidades celulares máximas em menor tempo de cultivo. A concentração de lipídeos foi máxima quando se aplicou o CM na fase estacionária, variando de $1,70 \pm 0,02$ até $3,48 \pm 0,03$ pg cel⁻¹. Do ponto de vista metabólico, a aplicação do CM diminuiu a concentração de clorofila e favoreceu o acúmulo de proteínas durante a fase exponencial.

Beruto et al. (2014) estudaram o efeito do CM com baixa intensidade e baixa frequência (3 mT e 75 Hz) na cinética de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*

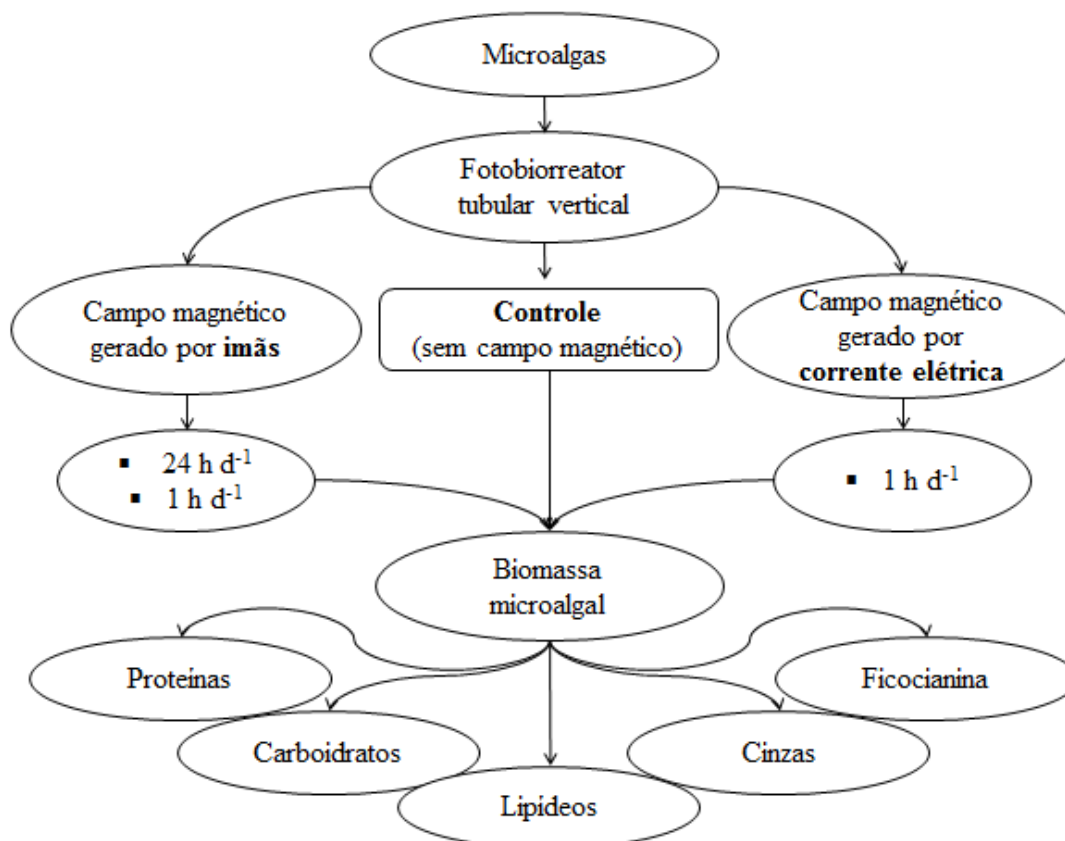
CCAP211. O efeito deste CM não foi significativo na divisão mitótica, porém teve papel importante na obtenção da clusterização celular.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 ESQUEMA DOS ENSAIOS REALIZADOS

A Figura 3 apresenta o fluxograma de como foi realizado o estudo da aplicação dos CM nos cultivos das microalgas.

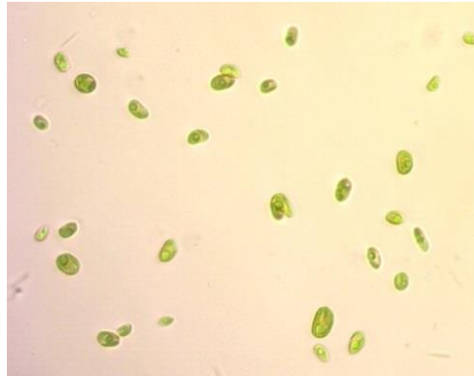
Figura 3- Esquema dos ensaios realizados neste estudo.



4.2 MICRO-ORGANISMOS E MEIOS DE CULTIVO

Neste estudo foi utilizada a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 (Figura 4) e a *Spirulina* sp. LEB 18 (Figura 5). A primeira foi isolada de lagos e lagoas próximos à região da Usina Termelétrica Presidente Médici, em Candiota-RS. Os cultivos com *C. fusca* foram realizados em meio BG-11, que contém (g L⁻¹): NaNO₃ (1,5); K₂HPO₄.7H₂O (0,04); MgSO₄.7H₂O (0,075); CaCl₂.2H₂O (0,036); C₆H₁₁FeNO₇ (0,006); C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈.2H₂O (0,001); Na₂CO₃ (0,02); C₆H₈O₇ (0,006) e solução A5+Co (1 mL L⁻¹). Solução A5+Co contém (g L⁻¹): H₃BO₃ (2,86), MnCl₂.4H₂O (1,81), ZnSO₄.7H₂O (0,222), NaMoO₄ (0,015), CuSO₄.5H₂O (0,079) e Co(NO₃).6H₂O (0,0494) (RIPPKA et al., 1979).

Figura 4- Microalga *Chlorella fusca* (aumento de 400X)



Fonte: Laboratório de Engenharia Bioquímica – LEB - FURG

A cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 foi isolada da Lagoa Mangueira localizada no município de Santa Vitória do Palmar-RS (MORAIS; COSTA, 2008c) Os cultivos da *Spirulina* sp. LEB 18 foram realizados em meio Zarrouk, que contém (g L^{-1}): NaHCO_3 (16,8), K_2HPO_4 (0,5), NaNO_3 (2,5), K_2SO_4 (1,0), NaCl (1,0), $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,2), CaCl_2 (0,04), $\text{FeSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,01), EDTA (0,08), solução A5 (1 mL L^{-1}) e solução B6 (1 mL L^{-1}). Solução A5 contém (g L^{-1}): H_3BO_3 (2,86), $\text{MnCl}_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ (1,81), $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (0,222), NaMoO_4 (0,015), $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0,079). Solução B6 contém (g L^{-1}): NH_4VO_3 (23,0), $\text{K}_2\text{Cr}_2(\text{SO}_4) \cdot 4 \cdot 24\text{H}_2\text{O}$ (96,0), $\text{NiSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ (48,0), $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ (18,0), $\text{TiOSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{SO}_4 \cdot 8\text{H}_2\text{O}$ (61,1), $\text{Co}(\text{NO}_3)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (44,0) (ZARROUK, 1966).

Figura 5- Microalga *Spirulina* sp. LEB 18 (aumento de 400X)



Fonte: Laboratório de Engenharia Bioquímica – LEB - FURG

Ambas pertencem à Coleção de Culturas do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

4.3 FOTOBIORREACTORES E CONDIÇÕES DE CULTIVO

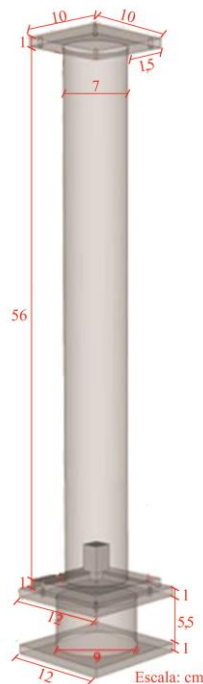
Os cultivos foram realizados em fotobiorreatores tubulares verticais de acrílico, com volume total de 2 L, volume útil de 1,8 L (Figura 6) e mantidos em estufa termostaticada

a 30 °C, iluminância de 60 $\mu\text{mol m}^{-2} \text{s}^{-1}$ e fotoperíodo de 12 h claro/escuro, durante o período de 15 d. A iluminância foi medida por meio de um luxímetro (Instrutherm, LD-209, Brasil). A agitação dos cultivos foi realizada através de injeção de ar comprimido filtrado em lã de vidro estéril.

De acordo com estudos prévios, as seguintes condições de aeração e concentração celular inicial foram utilizadas: nos cultivos com a *Chlorella fusca* LEB 111, a vazão do ar utilizada foi 0,4 vvm (volume de ar volume de meio⁻¹ min⁻¹) e concentração celular inicial de 0,3 g L⁻¹. Já nos cultivos com a *Spirulina* sp. LEB 18, a vazão utilizada foi 0,3 vvm e concentração celular inicial de 0,2 g L⁻¹.

A evaporação da água durante o cultivo foi controlada por meio da manutenção do volume das culturas com reposição diária de água destilada estéril. Os cultivos foram realizados em duplicata. Diariamente foi retirada uma alíquota de 5 mL de cada fotobiorreator para avaliação da concentração celular e pH.

Figura 6- Esquema do fotobiorreator tubular vertical utilizado nos cultivos.



4.4 APLICAÇÃO DE CAMPOS MAGNÉTICOS NOS CULTIVOS

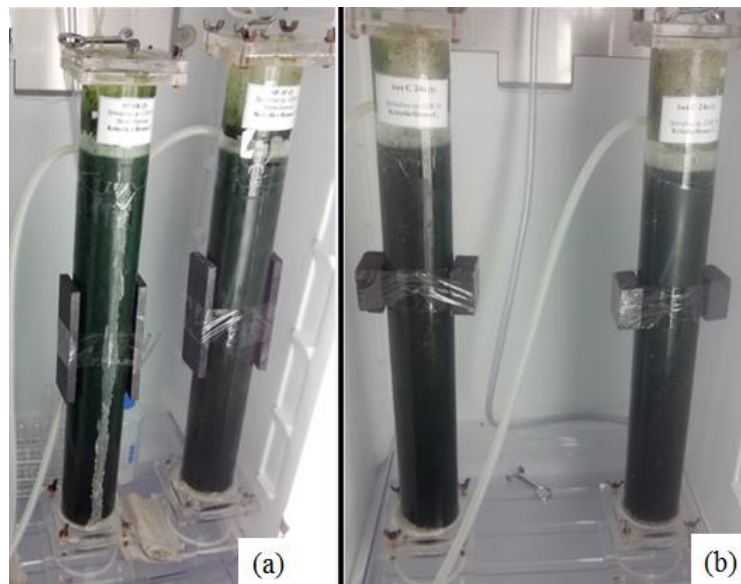
Os CM no cultivo das microalgas foram aplicados mediante adaptações de ímãs e solenoide nos fotobiorreatores tubulares. A intensidade de CM gerada pelos dispositivos foram medidas por medidor de CM (Global Mag, TLMP-HALL 05k, Brasil). As medições foram realizadas no interior do fotobiorreator onde as microalgas foram cultivadas, sendo

feitas na parede interna e no centro do fotobiorreator. Dessa forma, foi possível obter uma média da intensidade do CM a que as microalgas foram submetidas.

4.4.1 Campo magnético gerado por ímãs

Os cultivos com CM gerado por ímãs foram realizados mediante adaptação de dois tipos de ímãs de ferrite, ímã com intensidade média de 30 mT (150 x 50 x 10 mm), (Figura 7-a) e com intensidade média de 60 mT (50 x 50 x 25 mm) (Figura 7-b). Em cada fotobiorreator tubular foram utilizados dois ímãs, os quais foram acoplados na parte externa do fotobiorreator tubular, dispostos a 180° de distância um do outro, como apresentado na Figura 7. Dessa forma, o CM gerado se concentrou na parte interna, onde as microalgas foram cultivadas.

Figura 7- Ímãs de ferrite adaptados nos fotobiorreatores tubulares, (a) 30 mT; (b) 60 mT



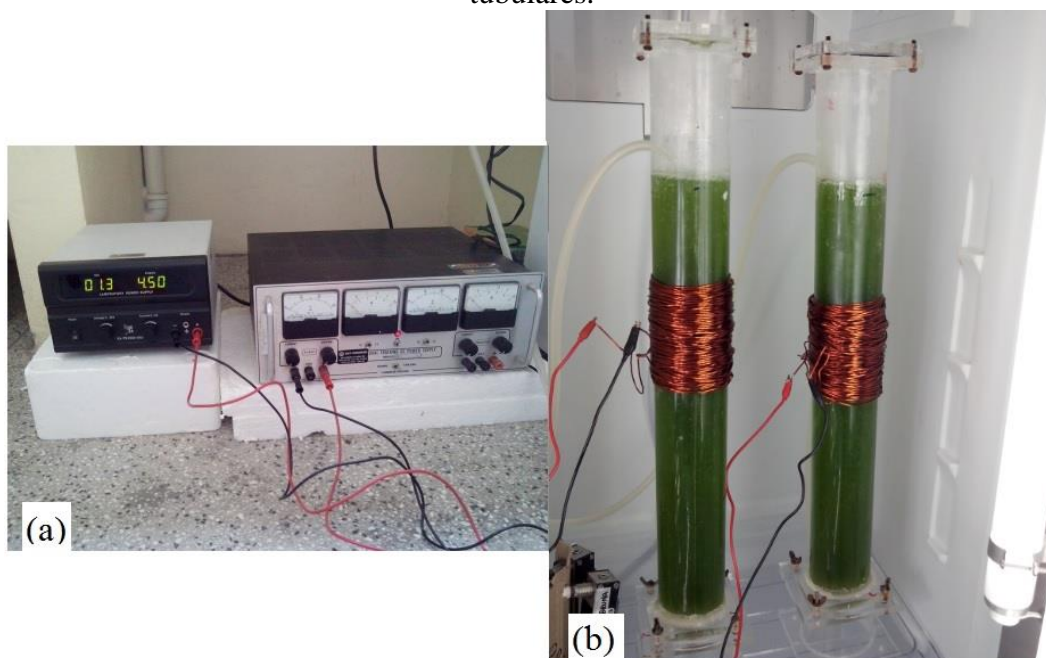
A fim de avaliar a influência do tempo de aplicação do CM no cultivo das microalgas, os ímãs foram aplicados de duas formas: durante todo o período de cultivo de forma permanente (24 h d⁻¹) e durante 1 h d⁻¹. Quando o CM foi aplicado por 1 h d⁻¹, as alíquotas para avaliação da concentração celular foram retiradas após 1 h de aplicação do CM, sempre no mesmo período do dia.

4.4.2 Campo magnético gerado por corrente elétrica

Para gerar o CM a partir de corrente elétrica, foi construído um solenoide de fio de cobre esmaltado com 100 espiras, o qual foi acoplado ao redor da parte externa do fotobiorreator tubular, como apresentado na Figura 8. Cada extremidade do solenoide foi

conectada às fontes de alimentação, sendo utilizadas duas fontes de alimentação, uma para cada fotobiorreator tubular: EA Elektro-automatik (EA-PS 2032-050, Alemanha) e Dual Tracking DC Power Supply Kikusui (CC-3032, Japão). Estas fontes forneceram corrente elétrica de 4,5 A, gerando assim o CM de 5 mT uniforme no sentido perpendicular a seção reta no solenoide. Dessa forma o CM se concentrou no interior do fotobiorreator onde as microalgas foram cultivadas. Nesta etapa, os cultivos ficaram expostos ao CM por 1 h d⁻¹.

Figura 8- Adaptação para gerar o campo magnético por corrente elétrica: (a) fontes de alimentação; (b) solenoides de fio de cobre esmaltado acoplado nos fotobiorreatores tubulares.



4.4.3 Cultivos controle

Com o objetivo de avaliar apenas a influência dos CM nas respostas, se fez necessário realizar cultivos controle (CC), sem exposição das culturas ao CM, porém nas mesmas condições de temperatura, luminosidade, aeração e nutrientes. Nestes cultivos, o CM presente foi 0,005 mT, o campo magnético terrestre.

Nos locais em que foram adaptados os ímãs e o solenoide nos fotobiorreatores, a luz ficou indisponível para as microalgas. Dessa forma, nos CC foram utilizados moldes de papelão do mesmo formato e local dos ímãs e solenoide, a fim de manter a uniformidade da intensidade luminosa recebida pelas microalgas.

A Tabela 2 apresenta de forma simplificada as condições estudadas neste trabalho, com cada condição de CM especificada para cada microalga.

Tabela 2- Condições de cultivo estudadas neste trabalho para cada microalga.

Microalga	Condição
<i>Spirulina</i> sp. LEB 18	Controle
	Ímã 30 mT, 24 h d ⁻¹
	Ímã 30 mT, 1 h d ⁻¹
	Ímã 60 mT, 24 h d ⁻¹
	Ímã 60 mT, 1 h d ⁻¹
	Solenóide 5 mT, 1 h d ⁻¹
<i>Chlorella fusca</i> LEB 111	Controle
	Ímã 30 mT, 24 h d ⁻¹
	Ímã 30 mT, 1 h d ⁻¹
	Ímã 60 mT, 24 h d ⁻¹
	Ímã 60 mT, 1 h d ⁻¹
	Solenóide 5 mT, 1 h d ⁻¹

4.5 DETERMINAÇÕES ANALÍTICAS

4.5.1 Determinação da concentração de biomassa

A concentração de biomassa foi determinada diariamente mediante a leitura da densidade ótica das culturas em espectrofotômetro (Quimis, Q998U, Brasil), no comprimento de onda de 670 nm, a partir de uma curva padrão correspondente a cada microalga (APÊNDICE, Figura AP 1 e AP 2), que relaciona a densidade ótica e a massa seca de biomassa (COSTA et al., 2002).

4.5.2 Determinação de pH

O pH dos cultivos foi avaliado diariamente por meio da leitura direta em pHmetro digital (Quimis, Q400MT, Brasil).

4.6 RECUPERAÇÃO DA BIOMASSA DO MEIO LÍQUIDO

Ao final dos cultivos, a biomassa foi recuperada do meio líquido por centrifugação (HITACHI, himac CR-GIII, Japão) (9690 x g; 20 °C; 20 min), ressuspensa em água destilada e novamente centrifugada (9690 x g; 20 °C; 10 min) para remoção dos sais do meio de cultivo. A biomassa centrifugada foi congelada em ultrafreezer (Eppendorf, New Brunswick Scientific Innova U535, Brasil) por 48 h a -80 °C e posteriormente liofilizada (LABCONCO, EUA). As amostras liofilizadas foram mantidas em freezer a -20 °C para posterior caracterização quanto ao teor de proteínas, lipídios, carboidratos e cinzas.

4.7 COMPOSIÇÃO CENTESIMAL DAS BIOMASSAS

As biomassas obtidas após os cultivos foram analisadas quanto ao teor de umidade, proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas.

Para realização das análises de proteínas e carboidratos foi necessário preparar extratos não clarificados de biomassa. Estes extratos foram obtidos a partir de 5 mg de biomassa microalgal liofilizada e 10 mL de água destilada, que foram sonicados em sonda ultrassônica (COLE PARMER, CPX 130, EUA) por 10 min, em ciclos de 59 s (59 s ligada e 59 s desligada). Este procedimento foi realizado com intuito de liberar o material intracelular das microalgas no meio líquido. As análises de lipídeos e cinzas foram realizadas diretamente na biomassa liofilizada.

4.7.1 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado pela metodologia oficial descrita pela *Official Methods of Analysis* - AOAC (2000), onde as amostras foram submetidas a 105 °C em estufa até massa constante, de acordo com a Equação 2.

$$\% \text{umidade} = \left(\frac{\text{massa da amostra úmida} - \text{massa da amostra seca}}{\text{massa da amostra úmida}} \right) \cdot 100 \quad (2)$$

4.7.2 Determinação do teor de proteínas

O teor de proteínas nas biomassas foi determinado pelo método colorimétrico descrito por Lowry et al. (1951), utilizando curva padrão de albumina de soro bovino.

Para realização desta metodologia foram adicionados 0,5 mL do extrato obtido da biomassa e 0,5 mL de NaOH 1 mol L⁻¹ em tubos de ensaios, e estes tubos foram aquecidos 100 °C por 5 min em banho-maria e após foram resfriados em banho de água fria por 10 min. Em seguida, foram adicionados 2,5 mL da solução que continha Na₂CO₃ 5 % (m v⁻¹), tartarato de sódio e potássio 1 % (m v⁻¹), CuSO₄·5H₂O 0,5 % (m v⁻¹), e 0,5 mL de Follin-Ciocalteau 1 mol L⁻¹. Os tubos foram mantidos por 30 min no escuro e transcorrido este tempo, foi realizada leitura da absorvância em espectrofotômetro a 750 nm.

4.7.3 Determinação do teor de carboidratos

O teor de carboidratos foi determinado pelo método fenol-sulfúrico descrito por Dubois et al. (1956), utilizando curva padrão de glicose.

Para realização deste método foram adicionados 1 mL do extrato de biomassa e 1 mL da solução fenol 5 % (v v⁻¹) em tubos de ensaio. Os tubos foram agitados, adicionou-se 5 mL de H₂SO₄ e após foram novamente agitados. Os tubos permaneceram em repouso por 10 min e depois foram resfriados em banho de água fria por 20 min, para parar a reação com o ácido. Transcorrido este tempo, as absorbâncias das amostras foram lidas em espectrofotômetro a 488 nm.

4.7.4 Determinação do teor de lipídeos

Os lipídeos presentes na biomassa liofilizada foram extraídos de acordo com o método proposto por Folch, Lees e Stanley (1957), utilizando os solventes clorofórmio e metanol. Para obtenção do teor de lipídeos, foram utilizados 0,25 g de biomassa e 5 mL de clorofórmio-metanol (2:1) adicionados em tubos de centrífuga. Em seguida, os tubos foram agitados em banho ultrassônico por 15 min e centrifugados a 6000 x g por 20 min. O sobrenadante obtido foi recolhido em papel filtro para o funil de separação. Estas etapas foram realizadas quatro vezes. No funil de separação, adicionou-se 7 mL de KCl 0,88 % (m v⁻¹), agitou-se e na separação das fases, a fase inferior foi transferida para outro funil de separação. Neste outro funil adicionou-se 9 mL de metanol-água (2:1), agitou-se, e a fase inferior foi filtrada em sulfato de sódio anidro direto no balão de fundo chato. Os solventes foram evaporados em rotaevaporador e depois estes balões foram levados para estufa a 50 °C por 2 h. O teor de lipídeos foi determinado por diferença de massa, de acordo com a Equação 3.

$$\% \text{ lipídeos} = \frac{\text{massa final dos lipídeos}}{\text{massa de amostra}} \cdot 100 \quad (3)$$

4.7.5 Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas foi determinado pela metodologia oficial descrita pela *Official Methods of Analysis - AOAC* (2000). A amostra liofilizada foi incinerada em bico de Bunsen e após foi transferida para o forno mufla a 560 °C por 3 h. O teor de cinzas foi obtido de acordo com a Equação 4.

$$\% \text{ cinzas} = \frac{\text{massa da cinza}}{\text{massa da amostra}} \cdot 100 \quad (4)$$

4.8 EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DA FICOCIANINA

A extração da ficocianina da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 foi realizada utilizando água como solvente, em uma concentração de 0,08 g mL⁻¹, com biomassa liofilizada (SILVEIRA et al., 2007). O extrato foi obtido com agitação a 100 rpm por 1 h a 25 °C em shaker (New Brunswick Scientific, Innova 44, Alemanha) e este extrato foi centrifugado a 6000 x g por 10 min (HITACHI, Himac CT 6EL, Japão). Após estas etapas, foram realizadas as leituras da absorbância do sobrenadante obtido, nos comprimentos de onda de 615 e 652 nm.

A concentração de ficocianina (mg mL⁻¹) foi obtida através do método espectrofotométrico usando a Equação 5, descrita por Bennett e Bogorad (1973), em que CF é a concentração de ficocianina em mg mL⁻¹; A₆₁₅ e A₆₅₂ são as leituras de absorbâncias nos respectivos comprimentos de onda.

$$CF = \frac{A_{615} - 0,474.(A_{652})}{5,34} \quad (5)$$

O rendimento da extração (SILVEIRA et al., 2007) foi calculado de acordo com a Equação 6, em que, R corresponde ao rendimento da extração (mg g⁻¹); CF é a concentração de ficocianina (mg mL⁻¹); V é o volume de solvente (mL) e BS a biomassa seca (g).

$$R = \frac{CF.V}{BS} \quad (6)$$

4.9 RESPOSTAS ESTUDADAS

4.9.1 Composição centesimal da biomassa

Para comparar os resultados da caracterização da biomassa obtida dos cultivos com aplicação de CM em relação aos CC, foi utilizada a Equação 7, em que o valor de PD corresponde a porcentagem de diferença da resposta avaliada com a aplicação de CM, em relação as respostas obtidas nos CC; C_{CM} é o valor da resposta do cultivo com CM e C_{controle} é o valor correspondente a resposta obtida no CC.

$$PD = \left(\frac{C_{CM} - C_{CONTROLE}}{C_{CONTROLE}} \right) \cdot 100 \quad (7)$$

4.9.2 Avaliação dos parâmetros de crescimento

Nos cultivos realizados foram determinadas as respostas produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$), concentração de biomassa máxima ($X_{\text{máx}}$) e tempo de geração (t_g).

As produtividades (P , $\text{g L}^{-1} \text{d}^{-1}$) em cada dia de cultivo foram calculadas de acordo com a Equação 8 e o valor de $P_{\text{máx}}$ corresponde ao maior valor encontrado entre as produtividades calculadas, sendo X (g L^{-1}), a concentração de biomassa no tempo t ; X_i a concentração de biomassa inicial (g L^{-1}) e t o tempo.

$$P = \frac{(X - X_i)}{t} \quad (8)$$

A velocidade específica de crescimento (μ_x) corresponde à quantidade de células formadas na unidade de tempo em função da concentração celular. A velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) é a velocidade na fase exponencial de crescimento e foi obtida por regressão exponencial na fase logarítmica de multiplicação celular.

O tempo de geração (t_g) corresponde ao tempo necessário para que ocorra a duplicação celular. Este foi determinado na fase exponencial de crescimento de cada cultivo, de acordo com a Equação 9 (BAILEY; OLLIS, 1986).

$$t_g = \frac{\ln 2}{\mu_{\text{máx}}} \quad (9)$$

4.10 ANÁLISE ESTATÍSTICA

As respostas obtidas dos cultivos com CM gerados por ímãs em diferentes tempos de aplicação e o CC foram avaliadas por meio de Análise de Variância, seguida pelo teste de *Tukey*, com intervalo de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$). As médias referentes aos cultivos com solenoide e CC foram avaliadas por meio do teste T de *Student*, com intervalo de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$).

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

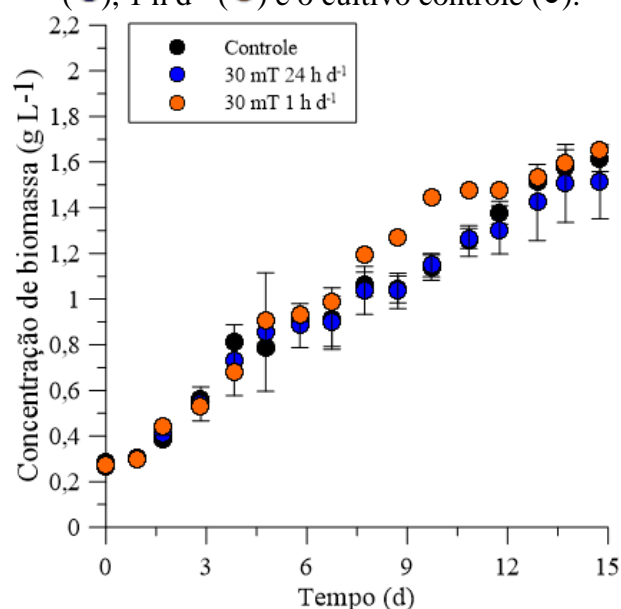
5.1 CULTIVOS COM A MICROALGA *Chlorella fusca* LEB 111

Os cultivos da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 foram realizados com aplicação de CM gerado por ímãs com diferentes intensidades e tempos de aplicação, e com CM gerado por corrente elétrica, mediante adaptação de solenoide ao redor dos fotobiorreatores.

5.1.1 Cultivos com aplicação de CM gerado por ímãs

As Figuras 9 e 10 apresentam as concentrações de biomassa (g L^{-1}) ao longo do tempo de cultivo (15 d) da *C. fusca* cultivada com aplicação de CM gerado por ímãs de ferrite com intensidade de 30 mT e 60 mT, respectivamente, comparados com os cultivos controle (CC). Os cultivos foram realizados com diferentes tempos de aplicação, por 24 h d^{-1} e por 1 h d^{-1} . A *C. fusca* apresentou crescimento celular para todas as intensidades e tempos de aplicação avaliados nesta etapa.

Figura 9 - Concentração de biomassa de *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade de 30 mT, em diferentes tempos de aplicação, 24 h d^{-1} (●), 1 h d^{-1} (●) e o cultivo controle (●).



O CC apresentou pequena fase *lag* de crescimento, seguido da fase exponencial entre o 2º e 5º dia de cultivo. Os cultivos com aplicação de 30 mT não apresentaram fase *lag* de crescimento e a fase exponencial permaneceu até o 5º dia (APÊNDICE - Figura AP 3). No 14º dia foi verificada a desaceleração do crescimento desta microalga nestas condições, demonstrando tendência à fase estacionária.

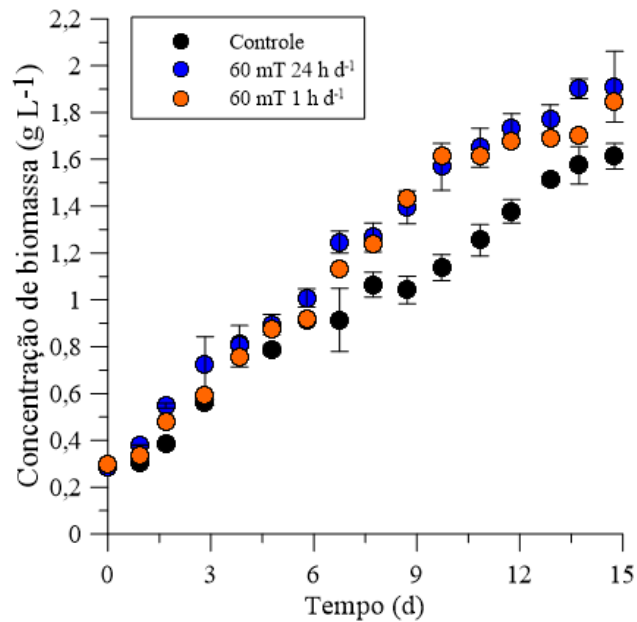
Nos cultivos com aplicação de 30 mT por 1 h d⁻¹ a partir do 8º dia de cultivo, o crescimento celular foi 21,9 % maior que o CC ($p \leq 0,05$) de acordo com a Equação 7. Este resultado aponta que a indução magnética por menor período de tempo (1 h d⁻¹) apresentou maior influência no crescimento deste micro-organismo, levando a maior produção de biomassa. Porém no 13º d, a concentração de biomassa nesta condição ficou próxima à encontrada na condição de aplicação de CM por 24 h d⁻¹ e CC, de acordo com a Figura 9. Nesse contexto, sugere-se o estudo de aplicação de CM em diferentes períodos de tempo durante o cultivo, pois cada micro-organismo responde de maneira diferente aos estímulos magnéticos e assim, poderia ser possível encontrar a janela tempo *versus* intensidade adequada para estimular o crescimento de cada micro-organismo.

Luna, Álvarez e Rivero (2011) aplicaram CM de 30 mT durante 1 h d⁻¹ na fase exponencial de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*. Esta condição estudada influenciou significativamente ($p \leq 0,05$) o crescimento da microalga, quando comparada com o CM aplicado de forma permanente e com o cultivo controle, resultados que condizem com os obtidos neste trabalho.

No entanto, os resultados obtidos nesta etapa do estudo diferiram dos obtidos por Wilson (2008). Este autor explicou que o CM de 30 mT permitiu obter maiores valores de concentração celular com aplicação permanente comparado a aplicação por 1 h d⁻¹, na microalga *C. vulgaris*. Contudo, neste trabalho citado, a cinética foi realizada apenas durante 10 d e algumas condições diferiram das utilizadas neste trabalho, como concentração celular inicial e intensidade luminosa, o que pode repercutir no crescimento da microalga e pode ter influenciado na cinética do cultivo.

Quando a *C. fusca* foi submetida ao CM de 60 mT (Figura 10), a concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), obtida no 15º d foi superior ao CC para os dois tempos de aplicação estudados. Os cultivos com aplicação de 60 mT por 24 h d⁻¹ não apresentaram fase *lag* e a fase exponencial de crescimento ocorreu entre o 1º e 4º d. Na aplicação de CM por 1 h d⁻¹, houve fase *lag* de crescimento entre o 1º e 2º d, e a fase exponencial ocorreu entre o 3º e 6º d (APÊNDICE - Figura AP 4). Nesta condição (60 mT por 1 h d⁻¹), houve desaceleração do crescimento no 14º d de cultivo, o que pode sugerir o início da fase estacionária, caso o cultivo continuasse por maior período de tempo.

Figura 10- Concentração de biomassa dos cultivos com *Chlorella fusca* LEB 111 com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade de 60 mT, em diferentes tempos de aplicação, 24 h d⁻¹ (●), 1 h d⁻¹ (●) e o cultivo controle (●).



Alguns autores, ao aplicar CM em micro-organismos, descreveram que existe um tempo ao qual a estimulação do cultivo é máxima com relação ao controle, porém acima deste tempo e intensidade de CM, acontece a inibição do crescimento (GOLDSWORTHY; WHITNEY; MORRIS, 1999; ZAPATA; MORENO; MÁRQUEZ, 2002; ZAPATA; HOYOS; MORENO, 2005). Em relação especificamente a *Chlorella vulgaris* e ao efeito de CM estáticos, Wang, Zeng e Gui (2006) descreveram que quando utilizado CM constantes, uniformes e estáticos de 5 a 35 mT, há estimulação do crescimento e uma inibição considerável quando aplicado CM de 45 a 200 mT. No presente estudo, quando a microalga *C. fusca* foi submetida ao CM de 60 mT não houve inibição como descrito por Wang, Zeng e Gui (2006) para mesma classe de microalgas (*Cyanophytas*), porém foi observado o estímulo no crescimento quando aplicado 30 mT por 1 h d⁻¹.

Yang et al. (2011) cultivaram a microalga *Chlorella vulgaris* com CM de 180 a 480 mT em diferentes tempos de aplicação (15, 30, 45 e 60 min) e concluíram que com o aumento do CM, houve menor impacto no crescimento da microalga, até inibição do crescimento quando aplicado as maiores intensidade de CM. As análises indicaram que quanto mais fraca a indução magnética pode acelerar o crescimento da *Chlorella*, promovendo maior obtenção de biomassa e biocompostos em menor período de tempo.

De acordo com a Tabela 3, não houve diferença significativa ao nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$) em relação à $X_{máx}$ nos cultivos realizados com 30 mT por 24 h

d^{-1} ou $1 h d^{-1}$ em comparação ao CC. Nos cultivos com 60 mT, a $X_{m\acute{a}x}$ obtida no cultivo com CM por $24 h d^{-1}$ diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) da obtida no CC, porém com aplicação por $1 h d^{-1}$ foi estatisticamente igual ao CC e ao CM por $24 h d^{-1}$.

Tabela 3 - Concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) e tempo de geração (t_g) obtidos nos cultivos da *Chlorella fusca* LEB 111 com aplicação de 30 mT, 60 mT, em diferentes tempos e do cultivo controle.

Parâmetros	Controle	30 mT	
		24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
$X_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹)	1,61 ± 0,05 ^a	1,51 ± 0,16 ^{a,A}	1,65 ± 0,05 ^{a,A}
$P_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	0,14 ≤ 0,01 ^a	0,13 ± 0,04 ^{a,A}	0,14 ± 0,03 ^{a,A}
$\mu_{m\acute{a}x}$ (d ⁻¹)	0,34 ≤ 0,01 ^a	0,27 ± 0,04 ^{a,A}	0,25 ± 0,05 ^{a,A}
t_g (d)	2,05 ± 0,02 ^a	2,58 ± 0,37 ^{a,A}	2,77 ± 0,55 ^{a,A}

Parâmetros	Controle	60 mT	
		24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
$X_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹)	1,61 ± 0,05 ^a	1,94 ± 0,10 ^{b,B}	1,84 ± 0,06 ^{a,b,B}
$P_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	0,14 ≤ 0,01 ^a	0,17 ± 0,02 ^{a,A}	0,14 ± 0,01 ^{a,A}
$\mu_{m\acute{a}x}$ (d ⁻¹)	0,34 ≤ 0,01 ^a	0,30 ≤ 0,01 ^{b,A}	0,19 ≤ 0,01 ^{c,A}
t_g (d)	2,05 ± 0,02 ^a	2,27 ± 0,07 ^{b,A}	3,58 ± 0,07 ^{c,B}

Letras minúsculas diferentes em uma mesma linha correspondem à diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de Tukey, para a mesma resposta.

Letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna correspondem à diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste T de Student, para mesma resposta e diferentes intensidades de CM.

Quando foram comparadas as médias em relação às diferentes intensidades de CM aplicadas (30 e 60 mT para o mesmo tempo de aplicação, letras maiúsculas sobrescritas), os valores médios de $X_{m\acute{a}x}$ obtidas nos cultivos com aplicação de 60 mT foram superiores as obtidas no cultivo com 30 mT, para as diferentes condições de aplicação de CM. Ao fazer essa análise, pôde-se afirmar que quando aplicado intensidade de CM mais alto, quantidade maior de biomassa foi obtida para o mesmo tempo de cultivo.

As produtividades ($P_{m\acute{a}x}$) obtidas com 30 mT em todas as condições com aplicação CM gerado por ímãs não apresentaram diferença significativa entre as condições estudadas ($p \leq 0,05$).

Os valores obtidos de $\mu_{m\acute{a}x}$ e t_g nos cultivos com 30 mT não diferiram entre si. Entretanto, nos cultivos com 60 mT, os valores da $\mu_{m\acute{a}x}$ e t_g foram estatisticamente diferentes ($p \leq 0,05$) entre as condições com aplicação de CM e o CC.

5.1.1.1 Composição centesimal da biomassa da microalga *Chlorella fusca* LEB 111

A composição proximal da biomassa da *C. fusca* obtida a partir dos cultivos CC e com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade média de 30 mT e 60 mT estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 - Teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas, em base seca, da biomassa de *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com 30 mT e 60 mT por 24 h d⁻¹ e por 1 h d⁻¹ e do cultivo controle.

Componente (% m m ⁻¹)	Controle	30 mT	
		24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
Proteínas	60,97 ± 2,01 ^a	61,36 ± 0,64 ^{a,A}	60,79 ± 6,27 ^{a,A}
Carboidratos	25,16 ± 0,66 ^{a,b}	28,35 ± 3,36 ^{b,A}	20,64 ± 1,83 ^{a,A}
Lipídeos	12,42 ± 1,10 ^a	12,54 ± 0,92 ^{a,A}	12,53 ± 0,24 ^{a,A}
Cinzas	2,92 ± 0,26 ^a	3,54 ± 0,49 ^{a,A}	2,93 ± 0,38 ^{a,A}
Componente (% m m ⁻¹)	Controle	60 mT	
		24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
Proteínas	60,97 ± 2,01 ^a	59,93 ± 0,47 ^{a,B}	59,68 ± 2,13 ^{a,A}
Carboidratos	25,16 ± 0,66 ^a	31,41 ± 1,17 ^{b,B}	28,99 ± 3,13 ^{a,b,B}
Lipídeos	12,42 ± 1,10 ^a	9,86 ± 1,10 ^{b,A}	9,33 ± 1,32 ^{b,B}
Cinzas	2,92 ± 0,26 ^a	3,65 ± 0,31 ^{b,A}	3,53 ± 0,26 ^{a,b,A}

Letras iguais na mesma linha indicam que as médias não diferem estatisticamente pelo teste de *Tukey* ($p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna correspondem à diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste T de *Student*, para mesma resposta e diferentes intensidades de CM.

Os teores de proteínas das biomassas obtidas não diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre as condições de aplicação de CM estudadas nesta etapa e o CC. Com relação ao teor de carboidratos das amostras, os cultivos realizados com 30 mT diferiram de acordo com o tempo de aplicação, pois quando o CM de 30 mT foi aplicado por 24 h d⁻¹ houve incremento significativo ($p \leq 0,05$) de 37,35 % comparado ao cultivo com aplicação de 1 h d⁻¹ e 12,67 % comparado ao CC. Quando aplicado 60 mT por 24 h d⁻¹, o teor de carboidratos obtido foi superior ao obtido no CC, diferindo estatisticamente ($p \leq 0,05$). Entretanto, quando o cultivo foi submetido ao CM por 1 h d⁻¹, o teor de carboidratos não diferiu da condição com aplicação por 24 h d⁻¹ e do CC.

As microalgas têm sido consideradas uma matéria-prima de terceira geração para produção de biocombustível (NIGAM; SINGH, 2011), com o foco em processos como a produção de biodiesel (CHEN et al., 2011; CHISTI, 2007; HO; CHEN; CHANG, 2010). Desde que algumas espécies de microalgas tenham alto conteúdo de carboidratos (em termos

de amido e celulose), elas são excelentes substratos para produção de bioetanol (HO; CHEN; CHANG, 2013), como as do gênero *Chlorella*.

Segundo Lourenço (2006), o consumo de nitrogênio do meio de cultivo na fase exponencial de crescimento estimula a produção de proteínas, no entanto, na fase estacionária haverá menor disponibilidade deste nutriente, acarretando no estímulo da produção de carboidratos. Os resultados dos cultivos com aplicação de 60 mT evidenciaram que o CM afeta o metabolismo dos carboidratos na *Chlorella* sp., assim como os resultados obtidos por Luna, Álvarez e Rivero (2011).

Nos cultivos com 30 mT, o teor de lipídeos não apresentou diferença significativa ($p \leq 0,05$) em todas condições estudadas. Quando aplicado 60 mT o teor de lipídios apresentou diferença significativa em relação ao CC ($p \leq 0,05$).

Lv et al. (2010) encontraram valores de lipídeos de cerca de 20 % para cultivo de *Chlorella vulgaris* cultivada sob luminosidade de $60 \mu\text{mol f\u00f3tons m}^{-2} \text{s}^{-1}$, mesma condição de luminosidade aplicada neste estudo. Redaelli (2012) estudou diversas condições de concentração salina no meio de cultivo e temperatura, obtendo teor de lipídeos na biomassa de *Chlorella minutissima* entre 10 e 15 %, resultado condizente com o obtido em todas as condições estudadas no presente estudo. Os resultados de teor de lipídeos encontrados nas microalgas estudadas por Chisti (2007) e Gouveia e Oliveira (2009) mostraram que em microalgas da espécie *Chlorella* apresentaram teor de lipídeos entre 14 a 63 %, valores superiores ao encontrado neste trabalho.

Converti et al. (2009) demonstraram que a microalga *Chlorella vulgaris* é capaz de reagir ao estresse desencadeado pelo aumento de temperatura ou escassez de nitrogênio, sintetizando maiores quantidade de lipídeos, quando comparado a culturas com condições de crescimento normal. Os resultados obtidos neste estudo, quando utilizado 60 mT, demonstraram que o estresse ocasionado pela indução magnética na célula ocasionou efeito contrário ao mencionado, não aumentando o teor lipídico da microalga *C. fusca*, e sim diminuindo em média 26 %, quando comparado ao CC.

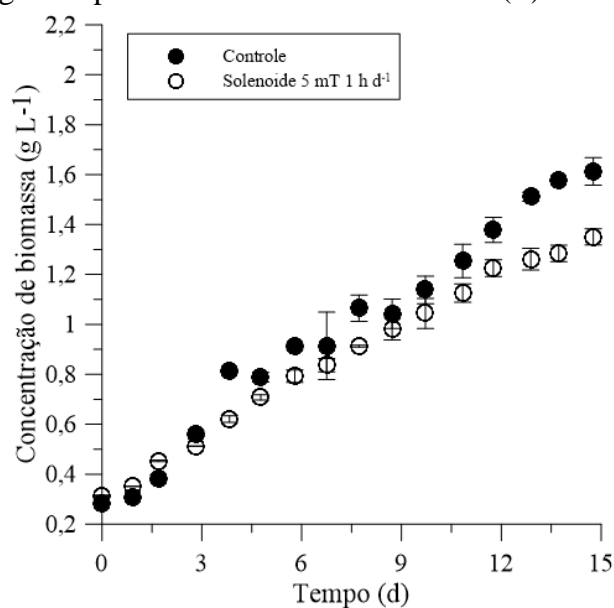
De acordo com o teste de médias aplicado para verificar a diferença entre as diferentes intensidades de CM para o mesmo tempo de aplicação, encontrou-se que os teores de proteínas e lipídeos obtidos na biomassa cultivada com 30 mT por 24 h d^{-1} apresentou diferença significativa e foi maior ($p \leq 0,05$) do que o obtido com 60 mT por 24 h d^{-1} . No entanto, os teores de carboidratos e cinzas não diferiram significativamente ($p \leq 0,05$). Na avaliação referente à aplicação de CM por 1 h d^{-1} , o maior teor de carboidratos foi encontrado

quando utilizada maior intensidade de CM (60 mT) e maior teor de lipídeos quando aplicada a menor intensidade (30 mT).

5.1.2 Cultivos com aplicação de CM gerado por corrente elétrica

A Figura 11 apresenta a concentração de biomassa da *Chlorella fusca* LEB 111 quando submetida ao CM gerado por corrente elétrica com intensidade média de 5 mT aplicado por 1 h d⁻¹.

Figura 11- Concentração de biomassa dos cultivos com *Chlorella fusca* LEB 111 com aplicação de CM gerado por corrente elétrica- solenoide (○) e o cultivo controle (●).



O crescimento da *C. fusca* foi inibido quando submetida ao CM gerado por corrente elétrica com intensidade média de 5 mT. Os cultivos com 5 mT não apresentaram fase *lag* de crescimento e a fase exponencial iniciou no 1º d de cultivo e se manteve até o 6º d (APÊNDICE - Figura AP 5). A partir do 13º d de cultivo, o crescimento da microalga desacelerou, tendendo ao início da fase estacionária nas duas condições estudadas.

Small, Hüner e Wan (2012) cultivaram *Chlorella kessleri* com CM gerado por corrente elétrica com intensidade de 5, 10 e 15 mT. Os melhores resultados foram encontrados quando utilizado 10 mT. Ao contrário do obtido no atual estudo, o CM gerado por corrente elétrica estimulou significativamente ($p \leq 0,05$) o crescimento quando comparado ao CC (1,58 e 0,88 g L⁻¹, respectivamente).

Wang et al. (2008) estudaram a influência do CM gerado por corrente elétrica contínua de 12,5 A para gerar CM de 5 a 50 mT, no crescimento da microalga *Chlorella vulgaris*. Os resultados reportaram que a exposição ao CM de 10-35 mT pode promover o

crescimento de *C. vulgaris* e regular o seu sistema de defesa antioxidante para proteger as células eficientemente. Nas intensidades de 5, 40, 45 e 50 mT, a velocidade específica de crescimento não diferiu significativamente do CC ($p \leq 0,05$).

Os dois estudos citados acima avaliaram a aplicação de CM na mesma intensidade utilizada no presente estudo (5 mT), porém obtiveram os melhores resultados quando utilizado 10 mT. Dessa forma, sugere-se que 5 mT não é o valor ideal para cultivar esta espécie, uma vez que estes resultados demonstraram que este CM é baixo para influenciar/induzir o crescimento, caso o objetivo final do estudo seja obter maior quantidade de biomassa. A Tabela 5 apresenta os parâmetros cinéticos obtidos nos cultivos com 5 mT.

Tabela 5 - Concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) e tempo de geração (t_g) dos cultivos com aplicação de 5 mT e do cultivo controle da *Chlorella fusca* LEB 111.

Condições	$X_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹)	$P_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	$\mu_{m\acute{a}x}$ (d ⁻¹)	t_g (d)
Controle	1,61 ± 0,05 ^a	0,14 ≤ 0,01 ^a	0,34 ≤ 0,01 ^a	2,05 ± 0,02 ^a
Solenóide	1,35 ± 0,03 ^b	0,08 ≤ 0,01 ^b	0,17 ≤ 0,01 ^b	3,97 ± 0,07 ^b

Letras diferentes na mesma coluna indicam que as médias diferem estatisticamente pelo teste T de *Student* ao nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$).

Todos os parâmetros avaliados diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) quando comparados ao CC. A $P_{m\acute{a}x}$ da *C. fusca* cultivada com 5 mT foi inferior à obtida no CC, o que reflete a inibição do crescimento apresentado na Figura 11. Como consequência do menor crescimento nesta condição, o valor de $\mu_{m\acute{a}x}$ obtido nos cultivos com aplicação de 5 mT gerados por corrente elétrica foi 50 % inferior ao obtido no CC. Sendo assim, o t_g da microalga submetida ao CM também teve aumento em relação ao CC.

Small, Hünner e Wan (2012) avaliaram a mesma intensidade utilizada neste trabalho (5 mT, 24 h d⁻¹), obtiveram 0,64 d⁻¹ de $\mu_{m\acute{a}x}$ e t_g de 1,08 d. Estes valores diferiram dos obtidos neste estudo, isto pode ser devido ao diferente fotobiorreator utilizado, pois os cultivos foram realizados em frascos agitados, e o solenóide estava localizado a parte do cultivo, por onde o mesmo fazia apenas o reciclo, diferente do sistema adotado no presente estudo.

A Tabela 6 apresenta os valores dos teores de proteína, carboidratos, lipídeos e de cinzas obtidos nos CC e com aplicação de CM de 5 mT gerado por corrente elétrica.

Cabe ressaltar que mesmo havendo efeito inibitório no crescimento da microalga por conta do efeito do CM, os teores de proteínas e lipídeos da biomassa não diferiram

estatisticamente ($p \leq 0,05$) do CC. Por outro lado, a aplicação de CM incrementou o teor de carboidratos.

Tabela 6 - Teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas, em base seca, da biomassa de *Chlorella fusca* LEB 111 cultivada com aplicação de CM gerado por corrente elétrica com intensidade de 5 mT por 1 h d⁻¹, e o cultivo controle.

Componente (% m m ⁻¹)	Controle	Solenóide
Proteínas	60,97 ± 2,01 ^a	61,68 ± 2,68 ^a
Carboidratos	25,16 ± 0,68 ^a	30,74 ± 1,88 ^b
Lipídeos	12,35 ± 1,31 ^a	12,20 ± 1,32 ^a
Cinzas	2,92 ± 0,26 ^a	4,21 ± 0,18 ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam que as médias diferem estatisticamente pelo teste T de *Student* ao nível de confiança de 95 % ($p \leq 0,05$).

Cabe ressaltar que mesmo havendo efeito inibitório no crescimento da microalga por conta do efeito do CM, os teores de proteínas e lipídeos da biomassa não diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) do CC. Por outro lado, a aplicação de CM incrementou o teor de carboidratos.

Wang et al. (2008) também observaram incremento no conteúdo de carboidratos no cultivo de *Chlorella vulgaris* com 10 mT. Small, Hünner e Wan (2012), que utilizaram o microscópio eletrônico de transmissão para observação das células de *C. vulgaris*, encontraram ampliação na área dos grânulos de amido nos plastídios, o que justificou o aumento no teor de carboidratos mensurado. Os mesmo autores obtiveram valores superiores de carboidratos e lipídeos para *Chlorella kessleri* quando aplicaram 10 mT (42,2 ± 0,7 e 20,3 ± 1,1 %, respectivamente) e inferior de proteínas, 32,3 ± 0,6 %. Assim, como encontrado no presente estudo, o conteúdo de carboidratos da *C. kessleri* foi estatisticamente superior ($p \leq 0,05$) ao encontrado no CC. O teor de proteínas foi 8,04 % superior ($p \leq 0,05$) ao CC, fato que não foi observado para *C. fusca* LEB 111 cultivada com 5 mT.

Os estudos apresentados na literatura referente a aplicações de CM no cultivo de microalgas são de pouca reprodutibilidade, não sendo possível realizar uma comparação eficaz, pois cada estudo aplica diferentes intensidades de CM, tempos de aplicação e condições diferentes. Por este motivo, se torna necessário realizar mais estudos com outras microalgas nas mesmas condições propostas neste trabalho para propiciar discussão mais efetiva.

5.1.3 Comparação entre as respostas do cultivo controle e os cultivos com aplicação de CM

As respostas obtidas com aplicação de CM foram comparadas ao CC por meio da Equação 7. As porcentagens referentes à diferença entre os valores das respostas obtidos com aplicação de CM em relação ao CC estão apresentados na Tabela 7. O sinal negativo (-) significa decréscimo na resposta avaliada e o sinal positivo (+) refere-se ao incremento da resposta, em comparação ao obtido no CC.

Tabela 7 - Valores referentes à diferença entre os valores obtidos nos cultivos com aplicação de CM e o cultivo controle da microalga *Chlorella fusca* LEB 111.

Parâmetros	30 mT		60 mT		Solenoide
	24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹	24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
X _{máx}	- 6,2 %	+ 2,5 %	+ 20,5 %	+ 14,3 %	- 16,1 %
P _{máx}	- 7,1 %	0	+ 21,4 %	0	- 42,8 %
μ _{máx}	- 20,6 %	- 26,5 %	- 11,7 %	- 44,1 %	- 50,0 %
t _g	+ 24,6 %	+ 35,1 %	+ 10,7 %	+ 74,6 %	+ 93,6 %

Componente	30 mT		60 mT		Solenoide
	24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹	24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
Proteínas	+ 0,6 %	- 0,3 %	- 1,7 %	- 2,1 %	+ 1,2 %
Carboidratos	+ 12,7 %	- 17,9 %	+ 24,8 %	+ 15,2 %	+ 22,2 %
Lipídeos	+ 0,9 %	+ 0,8 %	- 23,6 %	- 27,7 %	- 1,2 %
Cinzas	+ 21,3 %	+ 0,3 %	+ 25,0 %	+ 20,9 %	+ 44,6 %

(+) incremento da resposta avaliada referente ao cultivo controle; (-) decréscimo na resposta avaliada referente ao cultivo controle.

As maiores concentrações celulares foram obtidas quando aplicado 60 mT, obtendo-se incremento de 20,49 % e 14,28 % nas duas condições de tempo estudadas, respectivamente, em relação ao CC. Todas as condições estudadas apresentaram produtividade e μ_{máx} inferior aos obtidos no CC. O t_g das células apresentou incremento em todas as condições estudadas, com destaque para t_g obtido no cultivo com solenoide, que foi 93,65 % (3,97 d) superior ao obtido no CC (2,05 d). Este resultado reflete o efeito inibitório causado pelo CM, uma vez que o t_g corresponde ao tempo de duplicação da concentração celular.

Com relação à composição da biomassa da *C. fusca*, os maiores incrementos nos componentes foram no teor de carboidratos. As intensidades de 60 mT por 24 h d⁻¹ e 5 mT foram as que mais influenciaram a síntese de carboidratos, obtendo-se acréscimos de 24,84 %

e 22,17 % nas biomassas provenientes desses cultivos, respectivamente. Quando aplicado 30 mT, houve acréscimo no teor de carboidratos com aplicação de CM por 24 h d⁻¹ (+ 12,67 %) e inibição quando aplicado apenas 1 h d⁻¹ (- 17,96 %). O teor de proteínas não foi estimulado ou inibido pela aplicação de CM nos cultivos, com aumento de cerca de 1 % apenas. O CM de 60 mT inibiu a produção de lipídeos pela *C. fusca*, com teores cerca de 25 % inferiores aos obtidos no CC. As outras condições estudadas não interferiram na produção de lipídeos. O teor de cinzas aumentou significativamente em todas as condições, exceto no cultivo com 30 mT por 1 h d⁻¹, que o acréscimo foi inferior a 1 %.

5.1.4 pH

O pH do meio é um fator importante que afeta significativamente o crescimento das microalgas. A variação do pH afeta a solubilidade e disponibilidade de nutrientes, a atividade de enzimas, o transporte de substratos através da membrana plasmática e de elétrons na respiração e fotossíntese (MORAIS; COSTA, 2007; SANKAR; DANIEL; KRASTANOV, 2011). Por estes motivos é importante a avaliação do pH durante todo o cultivo.

A microalga *Chlorella* cresce em pH entre neutro, entre 6,5 e 7,5 (MORAIS, 2006). A *Chlorella fusca* LEB 111 foi isolada das lagoas de estabilização de cinzas, próximas à Usina Termelétrica Presidente Médici, cujo pH é próximo de 9,8, portanto esta microalga é resistente à alcalinidade. Neste estudo pode-se comprovar a resistência à alcalinidade desta microalga, pois o pH variou entre 8,17 a 10,19 (1^o e 15^o d) em todas as condições estudadas.

Quando o crescimento da *C. fusca* foi inibido pela ação do CM de 5 mT, também foi observada a pequena variação do pH no meio, onde no último dia de cultivo o pH médio foi $9,33 \pm 0,03$. Quanto mais elevado o pH do meio, mais facilmente a microalga conseguirá assimilar o bicarbonato do meio de cultivo e crescer normalmente. Na condição de 5 mT, o pH final foi menor que nas outras condições, e isto pode justificar a inibição do crescimento, pois o CM pode ter afetado a assimilação dos nutrientes disponíveis no meio de cultivo.

5.1.5 Discussão geral sobre influência do CM no cultivo de *Chlorella fusca* LEB 111

Alguns autores vêm estudando os bioefeitos dos CM especificamente no crescimento de microalgas do gênero *Chlorophytas* e desenvolveram teorias sobre onde o CM pode atuar na célula. Algumas dessas teorias se adequam aos resultados obtidos neste estudo, podendo ser a explicação para os bioefeitos causados.

O efeito gerado pelos CM sobre o crescimento celular pode ser classificado em inibitório, estimulante ou nulo. Os efeitos de estimulação ou inibição são atribuídos a trocas

na orientação de biomoléculas, fundamentalmente proteínas, trocas no nível das biomembranas, alterações do fluxo dos íons através da membrana plasmática e/ou troca de estrutura (POTHAKAMURY; BARBOSA; SWANSON, 1993).

Estudos com *C. vulgaris* demonstraram que o aumento de íons hidroxila em meio tratado magneticamente sugere alterações nos níveis de radicais livres, que pode ativar em excesso o sistema de defesa antioxidante do organismo (WANG et al., 2008).

Small, Hünner e Wan (2012) relataram que o aumento observado nas áreas correspondentes ao cloroplasto e tilacoides das microalgas pode explicar o aumento observado na fotossíntese, quando estas foram expostas ao CM de 10 mT. Similar a estas observações, Wang et al. (2008) também observaram uma desordem no tilacoide de células de *Chlorella vulgaris* cultivada com CM, o que também influenciou no aumento da taxa de crescimento e provavelmente também ocorreu este fenômeno nos cultivos com aplicação de CM de 30 mT por 1 h d⁻¹ e 60 mT, pois o crescimento celular foi estimulado pela ação dos CM, porém a visualização destas áreas observadas pelos autores é um caso a ser investigado para *C. fusca*.

Os resultados reportados nos estudos de Wang et al. (2008) sugeriram que a exposição ao CM de 10 a 35 mT pode promover o crescimento de *C. vulgaris* e regular o sistema de defesa antioxidante para proteger as células eficientemente. No entanto, com exposição a 45 e 50 mT o sistema antioxidante das células algais foi regulado, mas não houve aumento no crescimento microalgal, diferindo do ocorrido neste trabalho, que foi observado o estímulo do crescimento mesmo com intensidades de CM de 60 mT. Porém, a cepa de microalga estudada no presente trabalho foi a *C. fusca*, que pode responder de maneira diferente da *C. vulgaris* aos bioefeitos decorrentes do CM.

Outro fato analisado por Wang et al. (2008) foi a peroxidação lipídica da microalga *C. vulgaris*, que aumentou e tornou-se significativa com aplicação de CM de 45 mT. Quando aplicado valores superiores a 45 mT, a taxa de crescimento diminuiu comparado ao CC, o que ratificou a teoria que a inibição do crescimento em CM elevados (> 45 mT) é causada por aumento do estresse oxidativo. Este fato não ocorreu com a aplicação de CM maiores que 45 mT (neste caso, 60 mT) nos cultivos com *C. fusca* LEB 111, pois ainda foi possível observar estímulo no crescimento. Dessa forma, deve-se estudar intensidades de CM superiores a 60 mT a fim de investigar se haverá inibição do crescimento causado pelo estresse oxidativo das células.

Wang et al. (2008) explicaram que o aumento do estresse oxidativo ocorre com aumento da intensidade do CM aplicado e este fator tem influenciado no aumento da

atividade da enzima antioxidante, na concentração de OH, na peroxidação dos lipídeos e na diminuição da concentração de antioxidantes. Estes fatores não foram investigados neste trabalho e podem ser uma importante resposta com relação às quais fatores exatamente o CM influencia nos micro-organismos. Por causa das observações que sugerem o aumento do estresse oxidativo no estudo de Small, Hüner, Wan (2012) e Wang et al. (2008), o efeito dos radicais livres parece ser o mecanismo mais provável para o efeito do CM em microalgas.

Alguns autores demonstraram que as rotações correlacionadas dos radicais livres podem ser estabilizadas por CM estáticos na ordem de mT (ENGSTRÖM, 2006; GALLAND; PAZUR, 2005). Dessa forma, uma das possíveis explicações para que os CM estáticos afetem o crescimento microalgal é por meio da mudança das concentrações de radicais livres ou as taxas de reações envolvendo estes radicais.

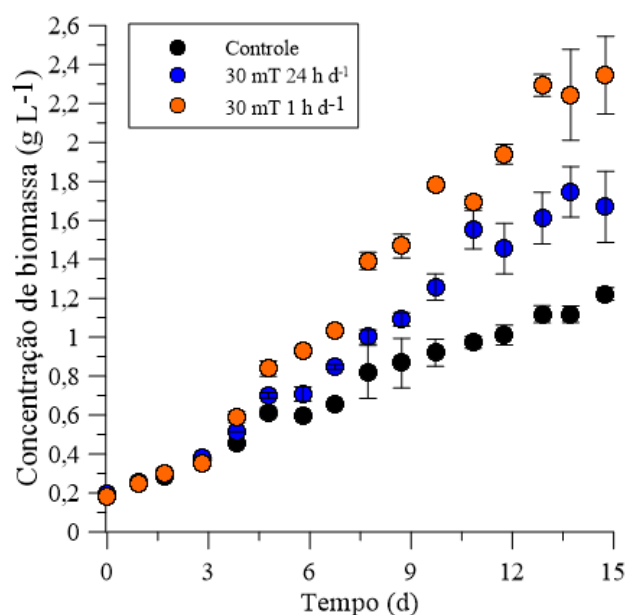
5.2 CULTIVOS COM *Spirulina* sp. LEB 18

Os cultivos da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 foram realizados com aplicação de CM gerado por ímãs com diferentes intensidades e tempos de aplicação, e com CM gerado por corrente elétrica, mediante adaptação de solenoide ao redor do fotobiorreator.

5.2.1 Cultivos com aplicação de CM gerado por ímãs

A Figura 12 apresenta a concentração de biomassa da *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com aplicação de CM gerado por ímãs de ferrite com intensidade média de 30 mT, em diferentes tempos de aplicação (24 h d^{-1} e 1 h d^{-1}).

Figura 12- Concentração de biomassa dos cultivos com *Spirulina* sp. LEB 18 com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade de 30 mT, em diferentes tempos de aplicação, 24 h d^{-1} (●), 1 h d^{-1} (○) e o cultivo controle (●).



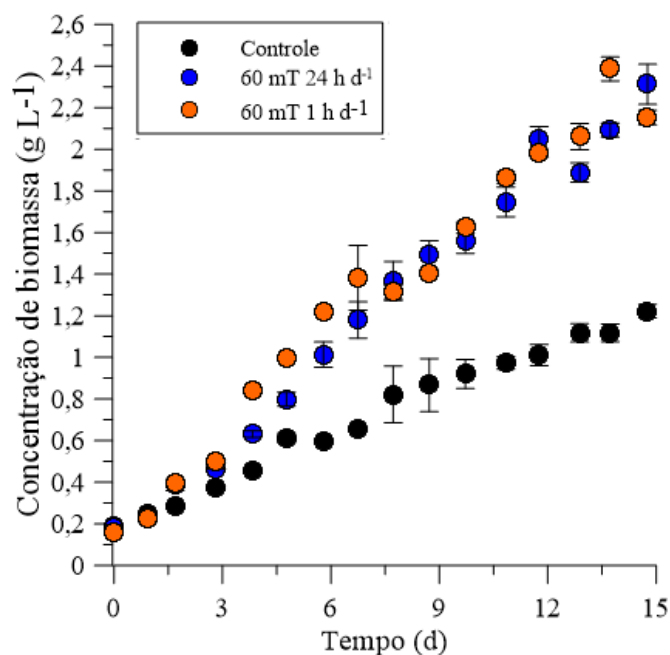
A concentração de biomassa foi maior nos cultivos com aplicação de CM e este estímulo ocorreu a partir do 6º d até o final do cultivo. Este fato contribuiu para aumentar significativamente o crescimento desta microalga e, conseqüentemente, a obtenção de maior concentração de biomassa em menor período de tempo.

As curvas de crescimento dos cultivos apresentados na Figura 12 não apresentaram fase *lag* de crescimento e a fase exponencial aconteceu entre o 1º e 6º d de cultivo em todas as condições apresentadas acima (APÊNDICE - Figura AP 6). Estas condições também apresentaram pequena desaceleração do crescimento no 14º d, o que indicou que a curva de crescimento poderia estar iniciando a fase estacionária.

Nos cultivos com CM de 30 mT, os efeitos do CM por 1 h d⁻¹ são evidentes e segundo Chibowski, Holysz e Wójcik (1994) permanecem mesmo depois de cessar a aplicação do CM. A ativação das partículas coloidais por CM é um fenômeno que permanece no tempo, inclusive várias horas depois de terminada a exposição. Assim como no estudo de Luna, Álvarez e Rivero (2011), que concluíram que esta perturbação pode estar relacionada a uma estimulação do metabolismo de nitrogênio.

A Figura 13 apresenta a concentração de biomassa da *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com aplicação de 60 mT na forma permanente (24 h d⁻¹), por 1 h d⁻¹ e o CC. Os resultados obtidos indicaram efeito estimulante ocasionado pela aplicação de 60 mT a partir do 4º d de cultivo até o final do cultivo.

Figura 13- Concentração de biomassa dos cultivos com *Spirulina* sp. LEB 18 com aplicação de CM gerado por ímã com intensidade de 60 mT em diferentes tempos de aplicação, 24 h d⁻¹ (●), 1 h d⁻¹ (●) e o cultivo controle (●).



Os cultivos apresentados com esta intensidade de CM apresentaram fase *lag* de crescimento entre o 1º e 4º d e a fase exponencial iniciou no 5º d persistindo até o 8º d (APÊNDICE - Figura AP 7).

A curva de crescimento desta microalga obtida quando o CM foi aplicado por 1 h d⁻¹, indica que o cultivo poderia estar entrando na fase de declínio ou morte celular a partir do 14º d, pois no 15º d houve diminuição da concentração de biomassa.

Os cultivos com aplicação de 60 mT, independente do tempo de aplicação, foram estatisticamente superiores ($p \leq 0,05$) ao CC. Nestas condições foi possível obter quase o dobro da biomassa final no mesmo tempo de cultivo.

O crescimento de *Spirulina* sp. com CM foi estudada por Li et al. (2007), em fotobiorreator *air-lift* de 3,5 L. Após cultivo de 15 d, concluíram que o CM até 40 mT pode estimular o crescimento, porém quando aplicado intensidades superiores a 40 mT pode haver efeitos inibitórios no crescimento microalgal. O presente trabalho apresenta resultados que divergem dos obtidos por estes autores, onde foi possível observar crescimento da microalga *Spirulina* sp. com intensidades superiores a 40 mT (60 mT, neste caso) e, além de haver crescimento, este foi estimulado por esta intensidade em relação ao CC.

Nas duas intensidades de CM estudadas até então (30 e 60 mT), a estimulação do crescimento iniciou a partir do 3º d, o que indicou que as células necessitaram de um período de adaptação às novas condições de cultivo. A concentração celular do 1º ao 3º d foi semelhante ao CC, o que segundo Li et al. (2007), indicou que o CM possui um discreto período de indução no cultivo microalgal. Estes autores concluíram em seus estudos que a estimulação pelo CM ocorre principalmente na fase exponencial de crescimento, sendo esta etapa a mais adequada para aplicar os CM.

A Tabela 8 apresenta os parâmetros cinéticos avaliados nos cultivos da *Spirulina* sp. LEB 18. Nesta tabela, pode ser observado que o t_g das células quando aplicado 30 mT por 1 h d⁻¹ foi cerca de 20 % inferior ao CC e ao CM permanente, o que indicou que a duplicação da biomassa ocorreu em menor período de tempo, 2,37 d, em relação a 2,92 d nas outras condições.

Nos cultivos com aplicação de 60 mT, o $X_{m\acute{a}x}$ para os dois tempos de aplicação de CM não diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si, porém foram superiores ao valor obtido no CC. O valor obtido de $P_{m\acute{a}x}$ no cultivo de 60 mT por 24 h d⁻¹ foi superior estatisticamente aos obtidos no CC e por 1 h d⁻¹. Em relação à $\mu_{m\acute{a}x}$ e t_g , todas as condições obtiveram valores diferentes entre si. A condição de 60 mT por 1 h d⁻¹ apresentou maior valor de $\mu_{m\acute{a}x}$ e, por consequência, o valor de t_g foi o menor obtido (2,01 d).

Tabela 8 - Concentração de biomassa máxima ($X_{\text{máx}}$), produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$) e tempo de geração (t_g) obtidos nos cultivos da *Spirulina* sp. LEB 18 com aplicação de CM de 30 mT, 60 mT, em diferentes tempos de aplicação e do cultivo controle.

Parâmetros	Controle	30 mT	
		24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
$X_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹)	1,22 ± 0,03 ^a	1,67 ± 0,41 ^{a,b,A}	2,37 ± 0,16 ^{b,A}
$P_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	0,19 ± 0,05 ^a	0,31 ± 0,20 ^{a,A}	0,37 ± 0,02 ^{a,A}
$\mu_{\text{máx}}$ (d ⁻¹)	0,23 ≤ 0,01 ^a	0,24 ± 0,01 ^{a,A}	0,29 ≤ 0,01 ^{b,A}
t_g (d)	2,94 ≤ 0,01 ^a	2,90 ± 0,14 ^{a,A}	2,36 ± 0,07 ^{b,A}

Parâmetros	Controle	60 mT	
		24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
$X_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹)	1,22 ± 0,03 ^a	2,31 ± 0,09 ^{b,B}	2,38 ± 0,06 ^{*b,A}
$P_{\text{máx}}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	0,19 ± 0,05 ^a	0,31 ≤ 0,01 ^{a,b,A}	0,40 ± 0,06 ^{b,A}
$\mu_{\text{máx}}$ (d ⁻¹)	0,23 ≤ 0,01 ^a	0,28 ≤ 0,01 ^{b,B}	0,34 ≤ 0,01 ^{c,B}
t_g (d)	2,94 ≤ 0,01 ^a	2,44 ± 0,03 ^{b,B}	2,01 ± 0,04 ^{c,B}

* $X_{\text{máx}}$ obtido no 14^o d de cultivo.

Letras minúsculas diferentes em uma mesma linha correspondem à diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste de *Tukey*, para a mesma resposta.

Letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna correspondem à diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste T de *Student*, para mesma resposta e diferentes intensidades de CM.

Quando foi realizada a comparação de médias entre os valores referentes à mesma resposta para diferentes tempos de aplicação do CM (24 h d⁻¹ e 1 h d⁻¹), porém com intensidades de CM diferentes (30 e 60 mT), os parâmetros avaliados nos cultivos com 60 mT permanente foram estatisticamente ($p \leq 0,05$) superiores aos obtidos com 30 mT permanente. Em relação aos cultivos com aplicação de CM por 1 h d⁻¹, os valores de $X_{\text{máx}}$ e $P_{\text{máx}}$ não diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) nas duas intensidades de CM aplicado.

Os valores dos parâmetros avaliados neste estudo no CC, foram semelhantes ao relatados por Radmann et al. (2011) quando cultivaram *Spirulina* sp. em fotobiorreatores tubulares verticais em série com a mesma vazão utilizada neste estudo, 0,3 vvm, porém com adição de 12 % v v⁻¹ de CO₂, 60 ppm de SO₂ e 100 ppm de NO. Estes autores verificaram valores de $P_{\text{máx}}$, $\mu_{\text{máx}}$ e t_g de 0,08 g L⁻¹ d⁻¹, 0,22 d⁻¹ e 3,1 d, respectivamente. O valor obtido de $X_{\text{máx}}$ (1,59 g L⁻¹) por estes autores foi cerca de 30 % superior ao obtido no corrente estudo.

5.2.1.1 Composição centesimal da biomassa da *Spirulina* sp. LEB 18

A Tabela 9 apresenta a caracterização da biomassa da *Spirulina* sp. LEB 18 com relação ao teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas dos cultivos com aplicação de CM

gerado por ímã com intensidade média de 30 mT e 60 mT, nos diferentes tempos de aplicação, assim como os resultados dos CC.

Tabela 9 - Teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas, em base seca, da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com aplicação de CM de 30 mT e 60 mT por 24 h d⁻¹ e por 1 h d⁻¹ e cultivo controle.

Componente (% m m ⁻¹)	Controle	30 mT	
		24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
Proteínas	62,75 ± 1,40 ^a	59,87 ± 1,45 ^{a,A}	57,97 ± 4,88 ^{a,A}
Carboidratos	13,00 ± 0,90 ^a	30,32 ± 0,13 ^{b,A}	14,28 ± 1,74 ^{a,A}
Lipídeos	8,35 ± 0,69 ^a	8,75 ± 1,69 ^{a,A}	7,46 ± 0,36 ^{a,A}
Cinzas	9,66 ± 0,70 ^a	8,51 ± 0,83 ^{a,A}	14,52 ± 0,81 ^{b,A}
Componente (% m m ⁻¹)	Controle	60 mT	
		24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
Proteínas	62,75 ± 1,40 ^a	73,20 ± 1,07 ^{b,B}	57,89 ± 0,28 ^{c,A}
Carboidratos	13,00 ± 0,90 ^a	14,79 ± 0,56 ^{b,B}	12,81 ± 1,04 ^{a,A}
Lipídeos	8,35 ± 0,69 ^a	9,87 ± 1,07 ^{a,B}	8,41 ± 0,92 ^{a,A}
Cinzas	9,66 ± 0,70 ^a	7,55 ± 0,33 ^{b,B}	10,28 ± 0,78 ^{a,B}

Letras iguais na mesma linha indicam que as médias não diferem estatisticamente pelo teste de *Tukey* ($p \leq 0,05$). Letras maiúsculas diferentes em uma mesma coluna correspondem à diferença significativa ($p \leq 0,05$) pelo teste T de *Student*, para mesma resposta e diferentes intensidades de CM.

Nos cultivos com aplicação de 30 mT em diferentes tempos de aplicação, os teores de proteínas e lipídeos não diferiram entre si ($p \leq 0,05$) e em comparação ao CC. No entanto, a indução magnética de 30 mT de forma permanente estimulou a síntese de carboidratos. O teor de carboidratos é um importante fator para escolha da microalga para produção de biocombustível, como o bioetanol. A aplicação de CM de 30 mT por 24 h d⁻¹ causou estímulo na produção de carboidratos, obtendo-se cerca de 100 % a mais do teor obtido no CC, sendo esta a condição de cultivo mais adequada neste estudo para obtenção de biocombustível de origem microalgal.

Em relação aos valores obtidos dos cultivos com 60 mT, apenas o teor de lipídeos não apresentou diferença significativa, quando comparado ao CC. Os teores de proteínas e carboidratos das biomassas obtidas do cultivo com aplicação de CM permanente de 60 mT foram superiores ao CC e com 60 mT por 1 h d⁻¹.

Hirano, Ohta e Abe (1998) observaram no cultivo com CM da *Spirulina* sp., o decréscimo no teor de carboidratos e inibição do crescimento quando a microalga foi submetida a CM com intensidades superior a 10 mT. Estes autores atribuíram estes dois fatos

em conjunto, à inibição das reações do sistema do ciclo de Calvin-Benson, onde o carboidrato é sintetizado do CO₂, sendo a inibição da síntese de carboidratos também a resposta para conseqüente inibição do crescimento, com intensidades superiores a 10 mT. Estes dois fatos em conjunto não aconteceram no presente estudo, porém o aumento na síntese de carboidratos pode ser atribuído ao estímulo das reações do sistema do ciclo de Calvin-Benson, com maior absorção do CO₂ do meio de cultivo, o que resultou em maiores teor de carboidratos e concentração de biomassa.

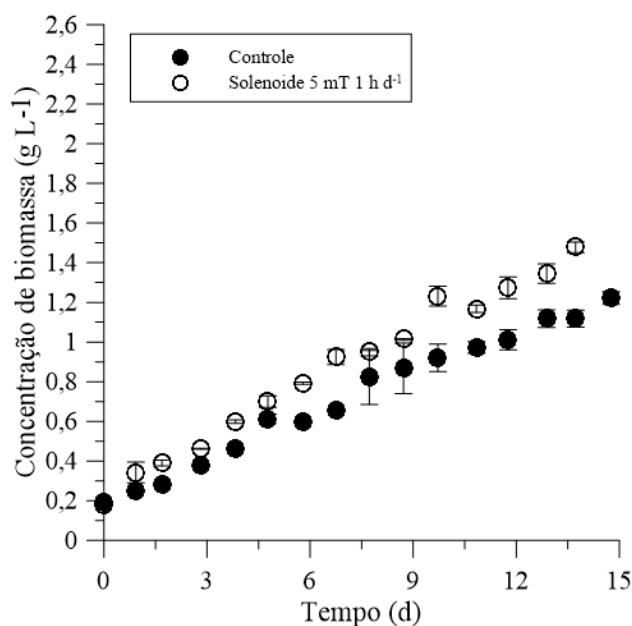
O alto teor de proteínas na biomassa é um fator importante devido ao aumento do valor nutricional que gera na biomassa, dessa forma, a biomassa de *Spirulina* sp. pode ser uma alternativa de fonte de proteínas para consumo humano e animal (SPOLAORE et al., 2006). De acordo com Borges et al. (2013), o cultivo desta microalga em meio Zarrouk, em escala de bancada e piloto, pode atingir 62,0 % m m⁻¹ de proteínas. No presente estudo, o CM induziu a síntese de proteínas, obtendo valores superiores ao citado por este autor. Segundo Syrett (1987) a concentração de proteínas nas células aumenta com o tempo de cultivo, alcançando valores máximos ao final da fase estacionária. O alto conteúdo de proteína registrado no início desta fase é igual ou superior ao observado durante o crescimento exponencial. Luna, Álvarez e Rivero (2011) avaliaram o consumo de nitrogênio (como nitrato) pela *C. vulgaris* e explicaram que o CM de 30 mT induziu a uma maior taxa de assimilação do nitrogênio e do carbono total, de tal maneira, que a incorporação de carbono na fração proteica foi maior em relação a obtida na fração de polissacarídeos. Sendo a forma de aplicação permanente a que mais induz sobre a síntese de proteínas, o que definitivamente está relacionado com o metabolismo do nitrato nestas condições. Dessa forma, favoreceu a manutenção da viabilidade e o crescimento celular. Resultados similares aos destes autores foram obtidos por Luna et al. (2009) no cultivo de *Haematococcus pluvialis*. Estas evidências podem justificar o aumento do teor de proteínas na biomassa de *Spirulina* quando cultivada com CM permanente, no entanto uma análise do consumo de nitrogênio deveria ter sido realizada para confirmação.

Conforme Lima e Sato (2001) o teor de lipídeos e minerais presentes na biomassa de *Spirulina maxima* é de 6 e 8 % m m⁻¹, respectivamente. Os valores encontrados no presente trabalho foram superiores aos descritos por estes autores, o que se deve ao gênero estudado ser o mesmo, porém não da mesma espécie.

5.2.2 Cultivos com aplicação de CM gerado por corrente elétrica

A Figura 14 apresenta a concentração de biomassa da *Spirulina* sp. LEB 18 quando submetida ao CM gerado por corrente elétrica com intensidade média de 5 mT, aplicado por 1 h d⁻¹.

Figura 14- Concentração de biomassa dos cultivos com *Spirulina* sp. LEB 18 com aplicação de CM gerado por corrente elétrica- solenoide (○) e o cultivo controle (●) sem aplicação de CM.



O CM de 5 mT causou efeito estimulante no crescimento da *Spirulina* sp. LEB 18 a partir do 2º d de cultivo até o 15º d, onde foi possível obter maior concentração de biomassa que no CC. Esta condição apresentou pequena adaptação ao CM, porém no 2º d iniciou a fase exponencial de crescimento, que persistiu até o 8º d (APÊNDICE - Figura AP 8). No final do cultivo não foi possível observar declínio no crescimento celular, concluindo-se que se o cultivo fosse estendido por mais tempo, poderia ocorrer aumento na concentração de biomassa.

Hirano, Ohta e Abe (1998) estudaram o crescimento da *Spirulina platensis* IAM M-135 em meio SOT, com CM gerado por corrente elétrica nas intensidades: 5, 10, 20, 35, 40 e 70 mT e nos cultivos com 10 mT obtiveram o maior crescimento celular, sendo que com 40 e 70 mT, o crescimento foi menor que o CC.

Para esta microalga, o baixo CM gerado pela corrente elétrica (5 mT) neste estudo, não inibiu o crescimento, assim como nos estudos de Hirano, Ohta e Abe (1998). Nesse contexto, sugere-se estudar maiores intensidades de CM geradas por corrente elétrica, como os 10 mT, em que Hirano, Ohta e Abe (1998) obtiveram melhores resultados, com relação as outras intensidades geradas.

A Tabela 10 apresenta os resultados dos parâmetros cinéticos de cultivo estudados para condição controle e com CM gerado por corrente elétrica (solenóide).

Tabela 10 - Concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), produtividade máxima ($P_{m\acute{a}x}$), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{m\acute{a}x}$) e tempo de geração (t_g) dos cultivos com aplicação de CM gerado por solenóide e do cultivo controle da *Spirulina* sp. LEB 18.

Condições	$X_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹)	$P_{m\acute{a}x}$ (g L ⁻¹ d ⁻¹)	$\mu_{m\acute{a}x}$ (d ⁻¹)	t_g (d)
Controle	1,22 ± 0,03 ^a	0,19 ± 0,09 ^a	0,23 ± 0,00 ^a	2,94 ± 0,00 ^a
Solenóide	1,47 ± 0,03 ^b	0,24 ± 0,0 ^b	0,16 ± 0,00 ^b	4,26 ± 0,02 ^b

Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste T de *Student* ao nível de 95 % de confiança ($p \leq 0,05$).

De acordo com os dados apresentados na Tabela 10, todos os parâmetros avaliados diferiram significativamente ($p \leq 0,05$) entre as duas condições estudadas. O valor encontrado de $X_{m\acute{a}x}$ no cultivo com solenóide foi superior ao obtido no CC, obtendo assim maior concentração de biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 no mesmo período de tempo. A $\mu_{m\acute{a}x}$ foi inferior no cultivo com solenóide, o que implicou em maior tempo de geração, embora neste cultivo tenha sido possível obter maiores concentrações de biomassa final.

Na melhor condição proposta por Hirano, Ohta e Abe (1998), 10 mT, a $\mu_{m\acute{a}x}$ encontrada foi 0,22 d⁻¹, sendo 37,5 % superior ao obtido neste estudo com 5 mT. No entanto, as intensidades de CM aplicadas foram diferentes e, por consequência, diferentes valores foram encontrados.

5.2.2.1 Composição proximal da biomassa da *Spirulina* sp. LEB 18

A qualidade da biomassa da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 obtida a partir dos cultivos com aplicação de CM gerado por corrente elétrica com intensidade média de 5 mT estão apresentados na Tabela 11, assim como os resultados do CC.

Tabela 11 - Teor de proteínas, carboidratos, lipídeos e cinzas, em base seca, da biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada com aplicação de CM de 5 mT gerados por corrente elétrica via solenóide, por 1 h d⁻¹ e do cultivo controle.

Componente	Controle	Solenóide
Proteínas	62,75 ± 1,40 ^a	68,86 ± 0,72 ^b
Carboidratos	13,00 ± 0,90 ^a	12,18 ± 2,63 ^a
Lipídeos	8,35 ± 0,69 ^a	9,30 ± 0,61 ^a
Cinzas	9,66 ± 0,70 ^a	5,92 ± 0,27 ^b

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística pelo teste T de *Student* ao nível de 95 % de significância ($p \leq 0,05$).

Os teores de carboidratos e lipídeos obtidos na condição de 5 mT não diferiram estatisticamente dos obtidos no CC ($p \leq 0,05$). Com relação ao teor de proteína, na biomassa

da *Spirulina* sp. quando cultivada sob ação do CM de 5 mT foi superior estatisticamente ($p \leq 0,05$) à biomassa obtida sem ação do CM. O CM de 5 mT provocou decréscimo no teor de cinzas, comparado ao CC.

5.2.3 Comparação entre as respostas cultivo controle e os cultivos com aplicação de CM

A Tabela 12 apresenta as porcentagens referentes à diferença entre os valores das respostas obtidos com aplicação de CM em relação ao CC, calculadas pela Equação 7. O sinal negativo (-) significa decréscimo na resposta avaliada e o sinal positivo (+) refere-se ao incremento da resposta, em comparação ao obtido no CC.

Em todas as condições de aplicação de CM estudadas houve importante incremento na concentração de biomassa final ($X_{m\acute{a}x}$) obtida. Os maiores incrementos ocorreram quando aplicado 30 mT e 60 mT por 1 h d⁻¹, sendo 94,26 e 95,08 % superiores, respectivamente, em relação ao CC. Com estes resultados, é possível afirmar que quando o cultivo é induzido por 1 h d⁻¹ nas intensidades estudadas, há estímulo no crescimento da *Spirulina*, superior ao CC e à aplicação de CM por 24 h d⁻¹. No entanto, a maior produtividade entre as condições estudadas, foi obtida quando utilizado 60 mT por 1 h d⁻¹, sendo 105,12 % superior à produtividade máxima obtida no CC. A maior $\mu_{m\acute{a}x}$ também foi obtida nesta condição e, conseqüentemente, o menor t_g das células, sendo 31,63 % inferior ao t_g obtido no CC.

Tabela 12 - Valores referentes à diferença entre os valores obtidos nos cultivos com aplicação de CM e o cultivo controle da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18.

Parâmetros	30 mT		60 mT		Solenoide
	24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹	24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
$X_{m\acute{a}x}$	+ 36,9 %	+ 94,3 %	+ 89,3 %	+ 95,1 %	+ 20,5 %
$P_{m\acute{a}x}$	+ 61,5 %	+ 91,8 %	+ 58,9 %	+ 105,1 %	+ 23,1 %
$\mu_{m\acute{a}x}$	+ 4,3 %	+ 26,1 %	+ 21,7 %	+ 47,8 %	- 30,4 %
t_g	- 1,4 %	- 19,7 %	- 17,1 %	- 31,6 %	+ 44,9 %

Componente	30 mT		60 mT		Solenoide
	24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹	24 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹	1 h d ⁻¹
Proteínas	- 4,6 %	- 7,6 %	+ 16,6 %	- 7,7 %	+ 9,7 %
Carboidratos	+ 133,2 %	+ 9,8 %	+ 13,7 %	- 1,5 %	- 6,3 %
Lipídeos	+ 4,8 %	- 10,6 %	+ 18,2 %	+ 0,7 %	+ 11,4 %
Cinzas	- 11,9 %	+ 50,3 %	- 21,8 %	+ 6,4 %	- 38,7 %

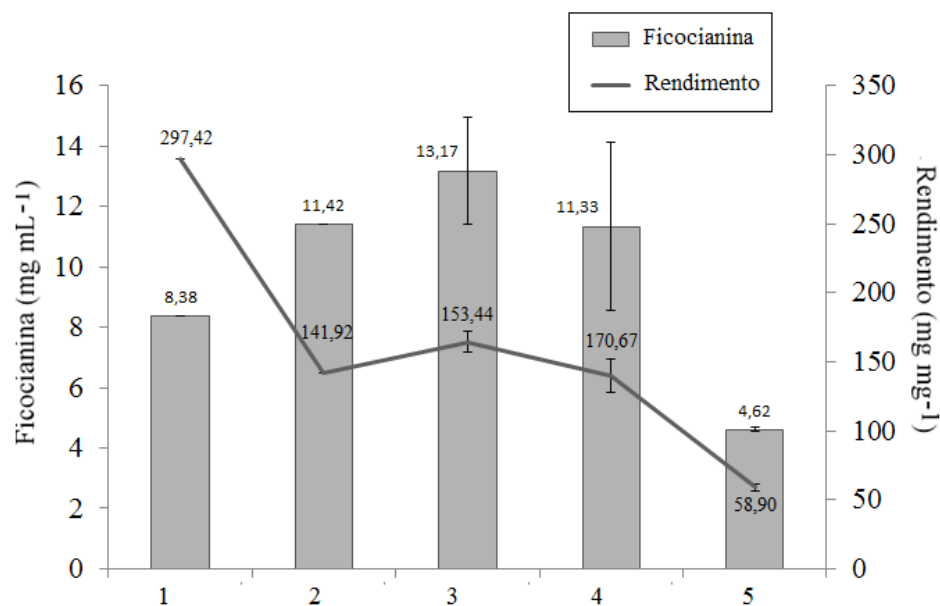
(+) incremento da resposta avaliada referente ao cultivo controle; (-) decréscimo na resposta avaliada referente ao cultivo controle.

Com relação à composição proximal das biomassas, as condições estudadas não interferiram no teor de proteínas a ponto do incremento ou decréscimo na resposta ser significativo. Entretanto, a síntese de carboidratos foi estimulada abundantemente quando utilizado CM de 30 mT de forma permanente, pois foi possível incrementar em 133,23 % o teor de carboidratos na biomassa, comparado com o CC. Nas outras condições não houve elevado incremento ou redução no teor de carboidratos. A intensidade de 60 mT por 1 h d⁻¹ elevou em 18,20 % a concentração de lipídeos, sendo esta condição a que mais influenciou o teor de lipídeos da *Spirulina*.

5.2.4 Ficocianina

Os valores da concentração de ficocianina encontrados utilizando a Equação 5, foram avaliados na biomassa liofilizada após os 15 d de cultivo (Figura AP 9). A Figura 15 apresenta a relação entre o teor de ficocianina extraído (mg mL⁻¹) e o rendimento da extração (mg g⁻¹), calculado de acordo com a Equação 6, para cada condição de aplicação de CM. O rendimento no CC foi superior às outras condições. Nas condições com aplicação de CM, os rendimentos das extrações acompanharam os teores de ficocianina encontrados, assim, quanto maior o teor de ficocianina, maior o rendimento obtido.

Figura 15 - Relação entre teor de ficocianina obtido e rendimento da extração em cada condição de aplicação de CM estudada: 1 (Controle); 2 (30 mT e 24 h d⁻¹); 3 (60 mT e 24 h d⁻¹); 4 (60 mT e 1 h d⁻¹) e 5 (solenoide).



A concentração de ficocianina da biomassa do cultivo com 30 mT por 1 h d⁻¹ não foi possível ser determinada, pois após o término do cultivo, este foi congelado e

posteriormente descongelado para centrifugação. Com este procedimento, a ficocianina presente na biomassa ficou no sobrenadante e não foi possível ser quantificada na biomassa final.

De acordo com os resultados obtidos, houve relação entre os valores da concentração de biomassa máxima e os teores de ficocianina encontrados. A maior concentração de ficocianina obtida ($13,17 \text{ mg mL}^{-1}$) foi na condição que obteve maior concentração de biomassa, $60 \text{ mT por } 24 \text{ h d}^{-1}$ ($2,31 \text{ g L}^{-1}$). Esta condição de CM incrementou em $57,15 \%$ o teor de ficocianina, comparado ao CC. Essa relação também foi observada por Soni et al. (2006) e por Zhang, Zhang e Chen (1999), indicando que a produção de ficocianina está total ou parcialmente associada ao crescimento celular. Além disso, Olaizola e Duerr (1990) relataram a possível habilidade das células da *S. platensis* de regular sua eficiência fotossintética alterando a quantidade de pigmentos, por isso a variação dos valores de ficocianina. Moraes, Burkert e Kalil (2010) encontraram $13,20 \text{ mg mL}^{-1}$ de ficocianina obtidos da biomassa de *Spirulina* cultivada em sistema aberto.

Quando comparado com a literatura, os valores encontrados estão de acordo com os publicados por Chen et al. (2006) e Sarada, Pillai e Ravishankar (1999), que foram de 140 mg g^{-1} e 190 mg g^{-1} biomassa seca, respectivamente, porém a extração foi por congelamento/descongelamento. Na mesma metodologia utilizada neste trabalho, Moraes, Burkert e Kalil (2010) encontraram rendimento de $82,48 \text{ mg g}^{-1}$.

5.2.5 pH

Durante os cultivos, o pH foi avaliado diariamente e este variou entre 9,60 a 10,80 para as condições com aplicação de CM com ímãs estudadas para *Spirulina* sp. LEB 18. No CC, a variação foi 9,42 a 10,12 e no cultivo com aplicação de CM gerado por corrente elétrica essa variação foi maior, de 9,66 a 10,80 (1° e 15° d, respectivamente).

A faixa de pH verificada nestes cultivos, está de acordo com a descrita por Hu, Yair e Amos (1998) e por Costa et al. (2002) para crescimento dessa espécie. Segundo estes autores, o cultivo de *Spirulina* deve ser em meio alcalino com pH entre 8,3 e 11,0, pois nessa faixa de pH a *Spirulina* possui maior taxa fotossintética, devido ao seu caráter alcalifílico.

O aumento progressivo do pH durante os cultivos reflete o mecanismo de assimilação do bicarbonato pelas microalgas e cianobactérias, segundo o qual, quando as células incorporam dois íons bicarbonato, um é consumido e internalizado em forma de dióxido de carbono (CO_2), enquanto o outro é liberado como carbonato (CO_3^{-2}), levando ao

aumento progressivo do pH no meio (MILLER; COLMAN, 1980; SHIRAIWA; GOYAL; TOLBERT, 1993).

5.2.6 Discussão geral sobre influência do CM no cultivo de *Spirulina* sp.

Nos cultivos com aplicação de CM no cultivo de *Spirulina* sp., o crescimento foi maior quando utilizado 30 e 60 mT com aplicação por 1 h d⁻¹ e a concentração de biomassa aumentou quanto maior a intensidade aplicada. Nos cultivos com 5 mT, a X_{máx} foi 20,49 % superior ao CC. Repacholi e Greenebaum (1999) relataram que o crescimento é uma resposta fisiológica de um organismo e um efeito positivo indica que algumas das vias biossintéticas estão sendo estimuladas a recombinações, com possíveis consequências biológicas.

De acordo com Zhi-Yong et al. (2007), o incremento das taxas de crescimento pode estar associado ao aumento de incorporação de nutrientes, por meio do aumento da permeabilidade da membrana, o que já vem sendo relatado para células de *Spirulina platensis* expostas ao campo eletromagnético. Outros autores explicam que nos cultivos realizados com esta cianobactéria, o crescimento rápido é devido à alta velocidade de consumo de nitrogênio e fósforo (LI et al., 2007). Estes componentes não foram investigados neste estudo e podem ser a verdadeira causa da variação no crescimento desta microalga.

Segundo Goldsworthy, Whitney e Morris (1999), os CM podem ativar partículas coloidais do meio de cultivo, fazendo com que estas removam parte do cálcio unido aos fosfolipídios das membranas plasmáticas incrementando sua permeabilidade e, conseqüentemente, afetando o crescimento. De acordo com Fidalgo (1995), quando se utiliza CM estático, como o utilizado no presente estudo, pode haver alterações a nível enzimático com relação à incorporação e utilização do nitrato disponível no meio. A assimilação do nitrogênio orgânico é bem conhecida e fortemente dependente da luz, tanto a intensidade quanto a qualidade podem controlar tal assimilação mediante a modulação, assim como a incorporação do nitrato ou sua redução através da regulação da síntese e/ou atividade da enzima nitrato redutase, fatores que são invariáveis neste trabalho.

A físico-química da rotação correlacionada de pares de radicais livres oferece vários mecanismos explicando como os CM podem influenciar os processos bioquímicos. O efeito do CM estático na concentração de radicais livres é amplificado se o par de radicais é de carga oposta e fisicamente confinado (ENGSTRÖM, 2006) e, portanto, estes radicais são alguns dos vários possíveis sítios de ação da exposição ao CM (SMALL; HÜNER; WAN, 2012).

Os CM também podem causar estresse oxidativo em organismos por meio da alteração dos níveis de energia e orientação do *spin* de elétrons e concentração do tempo de vida dos radicais livres, os quais mudam as probabilidades relativas de recombinação de outras interações com possíveis consequências biológicas (REPACHOLI; GREENEBAUM, 1999).

6 CONCLUSÃO

Os sistemas elaborados para geração de CM nos cultivos das microalgas foram eficientes, de modo que o CM gerado se concentrou no interior dos fotobiorreatores e a influência ocasionada pelos CM foi observada nas respostas estudadas.

O crescimento da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 e da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 foi influenciado pela ação dos CM. As microalgas apresentaram crescimento celular em todas as condições estudadas. Quando utilizado CM de 5 mT gerado por corrente elétrica, houve inibição do crescimento da *C. fusca*, enquanto que nas outras condições, o CM causou efeito estimulante no crescimento, independente da intensidade e tempo de aplicação.

Com relação ao tempo de aplicação dos CM e à concentração de biomassa máxima ($X_{m\acute{a}x}$), a *C. fusca* quando cultivada com aplicação de 60 mT por 24 h d⁻¹ resultou na maior $X_{m\acute{a}x}$, sendo 20,49 % superior ao CC. Para *Spirulina*, a indução magnética por 1 h d⁻¹ foi mais eficiente comparado ao CM permanente, nas duas condições de CM gerado por ímãs.

Com relação à composição da biomassa da *C. fusca*, o maior incremento do teor de carboidratos ocorreu quando a microalga foi cultivada com 60 mT por 24 h d⁻¹. Nesta condição também houve inibição de 23,56 % no teor de lipídeos. Distinto dos cultivos com CM gerado por ímãs, em que houve estímulo no crescimento e no teor de carboidratos, nos cultivos com CM gerado por corrente elétrica, mesmo com inibição do crescimento, houve acréscimo de 22,17 % no teor de carboidratos. Nos cultivos de *Spirulina*, todas as condições de aplicação de CM estimularam o crescimento, com destaque para o CM aplicado por 1 h d⁻¹, as intensidades de 30 e 60 mT, incrementaram substancialmente a $X_{m\acute{a}x}$, obtendo cerca de 95 % mais biomassa que obtida no CC. A condição de 30 mT permanente estimulou a síntese de carboidratos, resultando no acréscimo de 133,23 %, já a condição de 60 mT permanente incrementou o teor de lipídeos em 18,20 %.

O maior teor de ficocianina e maior concentração de biomassa foram obtidos para as mesmas condições, indicando que o CM também influencia na concentração de ficocianina por meio do estímulo na fotossíntese.

Após análise dos resultados, a melhor condição de aplicação de CM para *C. fusca*, que proporcionou estímulo no crescimento e no teor de carboidratos, foi a condição de 60 mT permanente. A escolha da melhor condição de aplicação de CM para *Spirulina* dependerá do objetivo do cultivo. Para obter maior quantidade de biomassa em menor tempo, as condições de 30 ou 60 mT aplicados por 1 h d⁻¹ obtiveram os melhores resultados, porém se o objetivo for produção de bioetanol, por exemplo, a condição de 30 mT permanente promoveu

incremento de 133,23 % no teor de carboidratos nesta biomassa. Logo, foi possível determinar que o efeito do CM depende de seu protocolo de aplicação e da espécie da microalga.

A partir dos resultados obtidos, seria importante considerar o CM como agente promotor do crescimento e estudá-lo no cultivo de outras espécies de microalgas e com outros protocolos de aplicação. Na literatura há poucos trabalhos no estudo sobre os bioefeitos causados pelos CM nas microalgas, o que impossibilita realizar comparações efetivas dos resultados. Os resultados obtidos permitiram avaliar o CM como um parâmetro importante para o desenvolvimento dos cultivos das microalgas, uma vez que é possível obter concentrações de biomassa maiores em menor tempo de cultivo, o que constitui uma vantagem do ponto de vista comercial.

7 SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

- Avaliar outras intensidades de campo magnético no cultivo da *Chlorella fusca* e *Spirulina* sp.;
- Estudar os bioefeitos causados pelos campos magnéticos em outras espécies de microalgas;
- Avaliar as diferenças entre aplicação de campo magnético gerado por corrente elétrica e por ímãs com outras intensidades;
 - Cultivar as microalgas em diferentes fotobiorreatores com estes campos magnéticos;
- Determinar o consumo de nitrogênio e fósforo durante os cultivos;
- Avaliar modificações na morfologia celular devido à aplicação de campos magnéticos

8 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABE, D. S.; GALVÃO, S. M. F. G. Pigment chromatic adaptation in *Cyclotella caspia* Grunow (*Bacillariophyta*). **Boletim do Instituto Oceanográfico**, v. 39, n. 2, p. 123-130, 1991.
- AMARA, S.; ABDELMELEK, H.; GARREL, C.; GUIRAUD, P.; DOUKI, T.; RAVANAT, J-L.; FAVIER, A.; SAKL, Y. M.; RHOUMA, B.K. Zinc supplementation ameliorates static magnetic field-induced oxidative stress in rat tissues. **Environmental Toxicology and Pharmacology**, v. 23, p. 193–197, 2007.
- BABADZHANOV, A. S.; ABDUSAMATOVA, N.; YUSUPOVA, F. M.; FAIZULLAEVA, N.; MEZHLYMYAN, L. G.; MALIKOVA, M. K. H. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 40, n. 3, p. 276-279, 2004.
- BAILEY, J. E., OLLIS, D. F. **Biochemical Engineering Fundamentals**. 2^a ed., McGrawHill, Singapore, p. 397-398, 1986.
- BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. **Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology**. CRC: Press, 2006.
- BATISTA, A. P.; GOUBEIA, L.; BANDARRA, N. M.; FRANCO, J. M.; RAYMUNDO, A. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredient for food product. **Algal Research**, v. 2, p. 164-173, 2013.
- BECKER, E. W. Microalgae for human and animal consumption. In *Microalgal Biotechnology*, edited by M. A. Borowitzka and L. J. Borowitzka. Cambridge, United Kingdom: Cambridge University Press, p. 222-256, 1998.
- BECKER, W. **Microalgae Biotechnology and Microbiology**, Cambridge University Press, 1994.
- BENNET, A.; BOGORAD, L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *The Journal of Cell Biology*, v.58, p. 419-435, 1973.
- BERMEJO, R., ACIEN, F. G., IBANEZ, M. J., FERNANDEZ, J. M., MOLINA, E., ALVAREZ-PEZ, J. M. Preparative purification of Bphycoerythrin from the microalga *Porphyridium cruentum* by expanded-bed adsorption chromatography. **Journal of Chromatography B. Analytical Technologies in the Biomedical and Life Science**. v. 790, p. 317–325. 2003.
- BERUTO, D. T.; LAGAZZO, A.; FRUMENTO, D.; CONVERTI, A. Kinetic model of *Chlorella vulgaris* growth with and without extremely low frequency-electromagnetic fields (EM-ELF). **Journal of Biotechnology**, v. 169, p. 9-14, 2014.
- BLANK, M. Biological effects of electromagnetic fields. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 32, n. 3, p. 203-210, 1993.
- BORGES, J. A.; ROSA, G. M.; MEZA, L. H. R.; HENRARD, A. A.; SOUZA, M. R. A. Z.; COSTA, J. A. V. *Spirulina* sp. LEB-18 culture using effluent from the anaerobic digestion. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 30, n. 2, p. 277-287, 2013.

BRAND, L. E. The salinity tolerance of forty-six marine phytoplankton isolates. **Estuarine, Coastal and Shelf Science**, v. 18, n. 5, p. 543-556, 1984.

BROWN, M. R.; JEFFREY, S. W.; VOLKMAN, J. K.; DUNSTAN, G. A. Nutritional properties of microalgae for mariculture. **Aquaculture**, v. 151, p. 315-331, 1997.

BURNS, D; MacDONALD, S. **Physics for biology and pre-medical students**. 2^a edition. Filipinas: Addison-wesley publishers limited, p.462-466, 1975.

CAKMAK, T.; DUMLUPINAR, R.; ERDAL, S. Acceleration of germination and early growth of wheat and bean seedlings grown under various magnetic field and osmotic conditions. **Bioelectromagnetics**, v. 31, p. 120–129, 2010.

CAPITÃO, A. M. F. **Observação de efeito do campo magnético em três espécies de clorófitas**. Dissertação (Mestrado em Biologia Molecular), Universidade de Aveiro, Portugal. 2010.

CARLSSON, A. S.; VAN BEILEN, J.B.; MÖLLER, R.; CLAYTON, D. In: Bowles D, editor. Micro and macro-algae: utility for industrial applications, outputs from the EPOBIO project. Newbury (UK): University of York, CPL Press, p.86, 2007.

CHEN T.; ZHENG, W.; YANG, F.; BAI, Y.; WONG, Y. S. Mixotrophic culture of high selenium-enriched *Spirulina platensis* on acetate and the enhanced production of photosynthetic pigments. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 39, p. 103-107 2006.

CHEN, C.-Y.; YEH, K.-L.; AISYAH, R.; LEE, D.-J.; CHANG, J.-S. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: a critical review. **Bioresource Technology**, v. 102, n. 1, p. 71–81, 2011.

CHEN, C-Y.; ZHAO, X-Q.; YENC, H-W.; HOD, S-H.; CHENG, C-L.; LEE, D-J.; BAI, F-W.; CHANG, J-S. Microalgae-based carbohydrates for biofuel production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 78, p. 1-10, 2013.

CHIBOWSKI, E.; HOLYSZ, L.; WÓJCIK, W. Changes in zeta potential and surface free energy of calcium carbonate due to exposure to radiofrequency electric fields. **Physicochemical Engineering Aspects**, v. 92, p.79-85, 1994.

CHIONNA, A.; DWIKIT, M.; PANZARINI, E.; TENUZZO, B.; CARLA, E.C.; VERRI, T.; PAGLIARA, P.; ABBRO, L.; DINI, L. Cell shape and plasma membrane alterations after static magnetic fields exposure. **European Journal of Histochemistry**, v. 47, p. 299–308, 2003.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.

CONVERTI, A.; CASAZZA, A. A.; ORTIZ, E. Y.; PEREGO, P.; DEL BORGHI, M. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris* for biodiesel production. **Chemical Engineering and Processing**, v. 48, p. 1146-1151, 2009.

COSTA, J. A. V.; COLLA, L. M.; DUARTE FILHO, P.; KABKE, K.; WEBER, A. Modeling of *Spirulina platensis* growth in fresh water using response surface methodology. **World Journal Microbiology and Biotechnology**, v. 18, p. 603-607, 2002.

COSTA, J. A.V.; COZZA, K. L. Lipídeos em *Spirulina*. **Vetor**, v. 10, p. 53-68, 2000.

DARLEY, W. M. **Algal Biology: a physical approach**. In: WILKINSON, J.F (ed) Basic Microbiology. V.9, Blackwell Scientific Publications, p. 30-52, 1982.

DERNER, R. B.; OHSE, S.; VILLELA, M.; CARVALHO, S. M.; FETT, R. Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, v. 36, n. 6, p. 1959-1967, 2006.

DINI, L; ABBRO, L. Bioeffects of moderate-intensity static magnetic fields on cell cultures. **Micron**. v. 36, p. 195-217, 2005.

DUBINSKY, Z. **Productivity of algae under natural conditions: algal mass culture and water blooms in nature**. In: RICHMOND, A (ed) Handbook of Microalgal Mass Culture. Boca Raton: CRC, p.101-116, 1990.

DUBOIS, M.; GILLES, K. A.; HAMILTON, J. K.; REBERS, P. A.; SMITH, F. Colorimetric method for determination of sugars and related substances. **Analytical chemistry**, v. 28, n. 3, p. 350-356, 1956.

ENGSTRÖM, S. **Magnetic field effects on free radical reactions in biology**. In: Barnes FS, Greenebaum B, editors. Bioengineering and biophysical aspects of electromagnetic fields, 3rd edition. New York: CRC Press. p. 156–165, 2006.

ERIKSEN, N. T. Production of phycocyanin- a pigment with applications in biology, biotechnology, foods and medicine. **Applied Microbiology and Biotechnology**. v. 80, p. 1-14, 2008.

FIDALGO, P. **Variabilidad bioquímica de microalgas marinas en cultivo en función de la fuente de nitrógeno**. Tesis Doctoral, Departamento de Biología Celular y Molecular, Universidad de laCoruña, España, 1995.

FOLCH J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal of Biological Chemistry**, v. 226, p. 497-509, 1957.

FOLOGEA, D.; VASSU-DIMOV, T.; STOICA, I.; CSUTAK, O.; RADU, M. Increase of *Saccharomyces cerevisiae* plating efficiency after treatment with bipolar electric pulses. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 46, n. 2, p. 285-287, 1998.

FOX, R. D. **Spirulina Production and Potential**. France: Edisud, 1996.

FRUMENTO, D.; CASAZZA, A. A.; SALEH, A. A.; CONVERTI, A. Cultivation of *Chlorella vulgaris* in tubular photobioreactors: A lipid source for diesel production. **Biochemical Engineering Journal**, v. 81, p. 120-125, 2013.

GALLAND, P.; PAZUR, A. Magnetoreception in plants. **Journal of Plant Research**, v. 118, p. 371–389, 2005.

GIANCOLI, D. **Physics principles with applications**. 5^a edition. New Jersey, p. 588-590; 610, 611; 1998.

GLASS, A. D. M. Regulation of ion transport. **Annual Review of Plant Physiology**, v. 34, n. 1, p. 311-326, 1983.

GLAZER, A. N. Phycobilisome: a macromolecular complex optimized for light energy transfer. **Biochemica et Biophysica Acta**. v. 768, p. 29–51, 1984.

GOLDSWORTHY, A.; WHITNEY, H.; MORRIS, E. Biological effects of physically conditioned water. **Water Resource**, v. 33, p. 1618-1626, 1999.

GOUVEIA, L.; MARQUES, A. E.; SOUSA, J. M.; MOURA, P.; BANDARA, N. M. Microalgae-source of natural bioactive molecules as functional ingredients. **Food Science & Technology Bulletin: Functional Foods**, v. 7, p. 21-37, 2010.

GOUVEIA, L.; OLIVEIRA, A. C. Microalgae as a raw material for biofuels production. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, v. 36, n. 2, p. 269-274, 2009.

HADIYANTO, H.; AZIMATUN NUR, M. M.; HARTANTO, G. D. Cultivation of *Chlorella* sp. As biofuel sources in palm oil mill effluent (POME). **International Journal of Renewable Energy Development**, v. 1, n. 2, p. 45, 2012.

HARUN, R.; SINGH, M.; FORDE, G. M.; DANQUAH, M.K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 3, p. 1037-1047, 2010.

HIRANO, M.; OHTA, A.; ABE, K. Magnetic fields effects on photosynthesis and growth of the cyanobacterium *Spirulina platensis*. **Journal of Fermentation and Bioengineering**. v.86, p. 313-316, 1998.

HO, S.-H.; CHEN, W.-M.; CHANG, J.-S. *Scenedesmus obliquus* CNW-N as a potential candidate for CO₂ mitigation and biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 22, p. 8725–8730, 2010.

HO, S-H.; CHEN, C-Y.; LEE, D-J.; CHANG, J-S. Perspective on microalgal CO₂ –emission mitigation systems – A review. **Biotechnology Advances**, v. 29, p. 189-198, 2011.

HO, S-H.; HUANG, S-W.; CHEN, C-Y.; HASUNUMA, T.; KONDO, A.; CHANG, J-S. Bioethanol production using carbohydrates-rich microalgae biomass as feedstock. **Bioresource Technology**, v. 135, p. 191-198, 2013.

HOFF, F.H.; SNELL, T.W. **Plankton culture Manual**. 5th edition. Florida Aqua Farms, 1999.

HOWE, P.; MEYER, B.; RECORD, S.; BAGHURST, K. Dietary intake of long-chain omega-3 polyunsaturated fatty acids: contribution of meat sources. **Nutrition**. v. 22, p. 47–53, 2006.

HU, H.; YAIR, Z.; AMOS, R. Combined effects of light intensity, light path and culture density on output rate of *Spirulina platensis* (Cyanobacteria). **European Journal of Phycology**, v. 33, p. 165-171, 1998.

HUNT, R. W.; ZAVALIN, A.; BHATNAGAR, S.; CHINNASAMY, K. C. Electromagnetic biostimulation of living cultures for Biotechnology, Biofuel and Bioenergy applications. **International Journal of Molecular Science**. v. 10, p. 4719-4722, 2009.

ICNIRP- International Commission on Non-Ionizing Radiation Protection. Guidelines on limits of exposure to static magnetic fields. **Health Physics**, v. 66, p. 100–106, 1994.

IWAMOTO, H. **Industrial production of Microalgal cell-mass and secondary products-Major Industrial Species – *Chlorella***. In: A. RICHMOND (Ed.) Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology: Blackwell Publishing Ltda, 2004.

JENSEN, S. KNUTSEN, G. Influence of light and temperature on photoinhibition of photosynthesis in *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**, v. 5, n. 5, p. 495-504, 1993.

KHAN, S. A.; RASHMI- HUSSAIN, M. Z.; PRASAD, S., BANERJEE, U.C. Prospects of biodiesel production from microalgae in India. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 13, n. 9, p. 2361-2372, 2009.

KIM, E.; CHOI, G.; KIM, H.; AHN, C.; OH H. Increasing γ -linolenic acid content in *Spirulina platensis* using fatty acid supplement and light-dark illumination. **Journal of Applied Phycology**, v. 24, n. 4, p. 743-750, 2012.

KIRSCHVINCK, J. L. Uniform magnetic fields and double-wrapped coil systems: improved techniques for the design of bioelectromagnetic experiments. **Bioelectromagnetics**, v. 13, p. 401–411, 1992.

KLEIN, B.; BUCHHOLZ, R. Microalgae as sources of food ingredients and nutraceuticals. **Microbial Production of Food Ingredients, Enzymes and Nutraceuticals**. p. 559-570, 2013.

KOWALCZUK, C. I.; SIENKIEWICZ, Z. J.; SAUNDERS, R. D. Biological effects of exposure to non-ionizing electromagnetic fields and radiation. I. Static electric and magnetic fields. **National Radiological Protection B**, 1991.

KUMARI, D.; BABITHA, B.; JAFFAR, S. K.; GURU PRASAD, M.; IBRAHIM, M. D.; KHAN, M. D. S. A. Potential health benefits of *Spirulina platensis*. **Pharmanest**, v. 2, p. 417-422, 2011.

KUMUDHA, A.; SELVAKUMAR, S.; DILSHAD, P.; VAIDYANATHAN, G.; THAKUR, M. S.; SARADA, R. Methylcobalamin-A form of vitamin B₁₂ identified and characterized in *Chlorella vulgaris*. **Food Chemistry**, v. 170, p. 316-320, 2015.

LEI, C.; BERG, H. Electromagnetic window effects on proliferation rate of *Corynebacterium glutamicum*. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**, v. 45, n. 2, p. 261-265, 1998.

LEMOINE, Y.; SCHOEFS, B. Secondary ketocarotenoid astaxanthin biosynthesis in algae: a multifunctional response to stress. **Photosynthesis Research**, v. 106, p. 155-177. 2010.

LI, Z; GUO, S; LI, L; CAI, M. Effects of electromagnetic field on the batch cultivation and nutritional composition of *Spirulina platensis* in an air-lift photobioreactor. **Bioresource Technology**. v. 98, p. 700-705, 2007.

LIMA, U. A.; SATO, S. In: SCHMIDELL, W.; LIMA, U. A.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia industrial, Biotechnologia na produção de alimentos**, v. 4, Editora Edgard Blücher LTDA, São Paulo- SP, 541 p. 2001.

LITCHFIELD, J. H. Single cell protein. **Food Technology**, v. 31, p.175-179. 1977.

LIU, Z.-Y.; WANG, G-C.; ZHOU, B-C. Effect of iron on growth and lipid accumulation in *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 99, p. 4717-4722, 2008.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de Microalgas Marinhas – Princípios e Aplicações** – São Carlos: RiMa, 2006.

LOWRY, O. H. Protein measurement with the Folin-Phenol reagent. **The Journal Biological Chemistry**, v. 193, p. 265-276, 1951

LUNA, G. L.; MENÉNDEZ, J.; ÁLVAREZ, I.; FLORES, I. Efecto de diferentes protocolos de aplicación de un campo magnético (0.03 T) sobre el crecimiento, viabilidad y composición pigmentaria de *Haematococcus pluvialis* Flotow en suficiencia y ausencia de nitrógeno. **Biotecnología Vegetal**, v. 9, n. 2, p. 105-117, 2009.

LUNA, L. G.; ÁLVAREZ, I.; RIVERO, R. Cultivo de *Chlorella vulgaris* sobre residual de soja con la aplicación de un campo magnético. **Revista Colombiana de Biotecnología**, v. XIII, n.2, p. 27-38, 2011.

LV, J. M.; CHENG, L. H.; XU, X. H.; ZHANG, L.; CHEN, H. L. Enhanced lipid production of *Chlorella vulgaris* by adjustment of cultivation conditions. **Bioresource Technology**, n. 101, p. 6797-6804, 2010.

MAHNA, A.; FIROOZABADI, S. M. P.; SHANKAYI, Z. The effect of ELF magnetic field on tumor growth after electrochemotherapy. **The Journal of Membrane Biology**, v. 247, n. 1, p. 09-15, 2014.

MARTELLI, G.; FOLLI, C.; VISAI, L.; DAGLIA, M.; FERRARI, D. Thermal stability improvement of blue colorant C-Phycocyanin from *Spirulina platensis* for food industry applications. **Process Biochemistry**, v. 49, p. 154-159, 2014.

MASOJÍDEK, J.; KOBLÍZEK, M.; TORZILLO, G. **Photosynthesis in Microalgae**. In: A. RICHMOND (Ed.). Handbook of Microalgae Culture: Biotechnology and Applied Phycology: Blackwell Publishing Ltd., 2004.

MASOJÍDEK, J.; TORZILLO, G.; KOBLÍZEK, M. **Photosynthesis in microalgae**. In: A. RICHMOND, Q. HU (Ed). Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology. Second Edition: Blackwell Publishing Ltd., 2013.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, n. 1, p. 217-232, 2010.

MEZZOMO, N.; SAGGIORATO, A. G.; SIEBERT, R.; TATSCH, P. O.; LAGO, M. C.; HEMKEMEIER, M.; COSTA, J. A. V.; BERTOLIN, T. E.; COLLA, L. M. Cultivation of microalgae *Spirulina platensis* (*Arthrospira platensis*) from biological treatment of swine wastewater. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 30, n. 1, p. 173-178, 2010.

MILLER, A. G.; COLMAN, G. Evidence for HCO_3^- transport by the blue green alga (cyanobacterium) *Coccochloris peniocystris*. **Plant Physiology**, v. 65, p. 397-402, 1980.

MOHEIMANI, N. R. **The culture of Coccolithoporid Algae for carbon dioxide bioremediation**. 2005. 247 p. Theises (Ph.D), Murdoch University, Australia, 2005.

MORAES, C. C.; BURKERT, J. F. M.; KALIL, S. J. C-phycoecianin extraction process for large-scale use. **Journal of Food Biochemistry**, v. 34, p. 133-148, 2010.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Isolation and selection of microalgae from coal fired thermoelectric power plant for biofixation of carbon dioxide. **Energy Conversion and Management**, v. 48, p. 2169-2173, 2007.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. **Photobioreactor tubular for removing or fixing of carbon dioxide, greenhouse gases using microalgae and cianobacteria, involves reducing emissions of main gas responsible for global warming and other gases of greenhouse effect**. Patent Number: BR200702736-A, 2008a.

MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1245-1251, 2008b.

MORAIS, M. G.; REICHERT, C. C.; DALCANTON, F.; DURANTE, A. J.; MARINS, L. F.; COSTA, J. A. V. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. **Zeitschrift für Naturforschung**, v. 63, p. 144-150, 2008c.

MORAIS, M.; G. **Fixação de dióxido de carbono e produção de ácidos graxos por microalgas**. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência de Alimentos) – Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 112f, 2006.

MUHLING, M.; BELAY, A.; WHITTON, B. A. Variation in fatty acid composition of *Arthrospira (Spirulina)* strains. **Journal of Applied Phycology**, v. 17, p.137–146, 2005.

MULLER, F. A. The role of microalgae in aquaculture: situation and trends, **Journal of Applied Phycology**. v. 12, p.527–534, 2000.

NIGAM, P. S.; SINGH, A. Production of liquid biofuels from renewable resources. **Progress in Energy and Combustion Science**, v. 37, n. 1, p. 52–68, 2011.

OFFICIAL METHODS OF ANALYSIS - AOAC. 16 ed. Association of Official Analytical Chemists. Arlington. 2000.

OLAIZOLA, M.; DUERR, E. Effects of light intensity and quality on the growth rate and photosynthetic pigment content of *Spirulina platensis*. **Journal of Applied Phycology**, v. 2, p. 97-104, 1990.

OSUNDEKO, O.; DAVIES, H.; PITTMAN, J. K. Oxidative stress-tolerant microalgae strains are highly efficient for biofuel feedstock production on wastewater. **Biomass and Bioenergy**, v. 56, p. 284-294, 2013.

PELIZER, L. H.; DANESI, D. G. A.; RANGEL, C. O. A.; SASSANO, C. E. N.; CARVALHO, J. C. M.; SATO, S.; MORAE, I. O. Influence of inoculum age and

- concentration in *Spirulina platensis* cultivation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, n. 4, p. 371-375, 2003.
- PHUKAN, M. M.; CHUTIA, R. S.; KONWAR, B. K.; KATAKI, R. Microalgae *Chlorella* as a potential bio-energy feedstock. **Applied Energy**, v. 88, n. 10, p. 3307-3312, 2011.
- POTHAKAMURY, U.; BARBOSA, G.; SWANSON, B. Magnetic fields inactivation of microorganisms and generation of biological changes. **Food Technology**, v. 47, p. 85-93, 1993.
- RADMANN, E. M.; CAMERINI, F. V.; SANTOS, T. D.; COSTA, J. A. V. Isolation and application of SOX and NOX resistant microalgae in Biofixation of CO₂ from thermoelectricity plants. **Energy Conversion and Management**, v. 52, p. 3132-3136, 2011.
- RAI, S. Causes and mechanisms (s) of NER bioeffects. **Electromagnetic Biology and Medicine**, v. 16, n. 59-67, 1997.
- RANGEL-YAGUI, C. D.; DANESI, E. D. G.; DE CARVALHO, J. C. M.; SATO, S. Chlorophyll production from *Spirulina platensis*: cultivation with urea addition by fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 133-141, 2004.
- REDAELLI, C. **Estudo da produção de lipídeos e carotenóides por *Chlorella minutíssima* em fotobiorreator**. Dissertação de mestrado. Programa de Pós-graduação em Engenharia Química, UFRGS, Porto Alegre, 2012.
- REPACHOLI, M. H.; GREENEBAUM, B. Interaction of static and extremely low frequency electric and magnetic fields with living systems: Health effects and research needs. **Bioelectromagnetics**, v. 20, p. 133-160, 1999.
- RICHMOND, A. E.; SOEDER, C. J. Microalgae. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 4, n. 4, p. 349-438, 1986.
- RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Ed. Blackwell Science Ltda, 2004.
- RIPPKA, R.; DERUELLES, J.; WATERBURY, J. B.; HERDMAN, M.; STANIER, R. Y. Generic assignments, strain histories and properties of pure cultures of Cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, v. 111, p. 1-61, 1979.
- ROMAY, C. H.; GONÇALEZ, R.; LENDÓN, N.; REMIREZ, D.; RIMBAU, V. C-phycoyanin: a biliprotein with antioxidant, anti-inflammatory and neuroprotective effects. **Current Protein and Peptide Science**, v. 4, p. 207-216, 2003.
- ROSEN, A. D.; CHASTNEY, E. E. Effect of long term exposure to 0.5 T static magnetic fields on growth and size of GH3 cells. **Bioelectromagnetics**, v. 30, p. 114-119, 2009.
- SAFFER, D.; PHILLIPS, L. Evaluating the biological aspects of in vitro studies in bioelectromagnetics. **Bioelectrochemistry and Bioenergetics**. v. 40, p. 1-7, 1996.
- SAFI, C.; CAMY, S.; FRANCES, C.; VARELA, M. M.; BADIA, E. C.; PONTALIER, P-Y.; VACA-GARCIA, C. Extraction of lipids and pigments of *Chlorella vulgaris* by supercritical

carbon dioxide: influence of bead milling on extraction performance. **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 4, p. 1711-1718, 2014.

SAHEBJAMEI, H.; ABDOLMALEKI, P.; GHANATI, F. Effects of magnetic field on the antioxidant enzyme activities of suspension-cultured tobacco cells. **Bioelectromagnetics**, v. 28, n. 1, p. 42-47, 2007.

SALMERON, R. **A Eletricidade e magnetismo. Nível: Básico, 2007**. Ebook. Disponível em <http://efisica.if.usp.br/eletricidade/basico/>, acesso em 5 fev. de 2015.

SANKAR, V.; DANIEL, D. K.; KRASTANOV, A. Carbon dioxide fixation by *Chlorella minutissima* batch cultures in a stirred tank bioreactor. **Biotechnology & Biotechnological Equipment**, v. 25, n. 3, p. 2468-2476, 2011.

SANTOS, L. O.; ALEGRE, R. M.; GARCIA-DIEGO, C.; CUELLAR, J. Effects of magnetic fields on biomass and glutathione production by the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 1362-1367, 2010.

SARADA, R.; PILLAI, M. G.; RAVISHANKAR, G. A. Phycocyanin from *Spirulina* sp.: influence of processing of biomass on phycocyanin yield, analysis of efficacy of extraction methods and stability studies on phycocyanin. **Process Biochemistry**, v. 34, p. 795-801, 1999

SCHENK, M. P.; THOMAS-HALL, S. R.; STEPHENS, E.; MARX, U. C.; MUSSGUG, J. H.; POSTEN, C. Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. **BioEnergy Research**, v. 1, p. 20-43, 2008.

SHIMAMATSU, H. Mass production of *Spirulina*, an edible microalgae. **Hydrobiologia**, v. 512, n. 1, p. 39-44, 2004.

SHIRAIWA, Y.; GOYAL, A.; TOLBERT, N. E. Alkalization of the medium by unicellular green algae during uptake of dissolved inorganic carbon. **Plant and Cell Physiology**, p. 649-657, 1993.

SILVEIRA, S. T., BURKERT, J. F. M., COSTA, J. A. V., KAKIL, S. J. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using factorial design. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 1629-34, 2007.

SINGH, J.; GU, S. Commercialization potential of microalgae for biofuels production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 14, p. 2596-2610, 2010.

SIVAKUMAR, G.; XU, J.; THOMPSON, R. W.; YANG, Y.; RANDOL-SMITH, P.; WEATHERS, P. J. Integrated green algal technology for bioremediation and biofuel. **Bioresource Technology**, v. 107, p. 1-9, 2012.

SLADE, R.; BAUEN, A. Microalgae cultivation for biofuels: Costa, energy, balance, environmental impacts and future prospects. **Biomass and Bioenergy**, v. 53, p. 29-38, 2013.

SMALL, D. P.; HÜNER, N. P. A.; WAN, W. Effect of static magnetic fields on the growth photosynthesis and ultrastructure of *Chlorella kessleri* microalgae. **Bioelectromagnetics**, v. 33, p. 298-308, 2012.

SOARES, B. M.; VIEIRA, A. A.; LEMÕES, J. S.; SANTOS, C. M. M.; MESKO, M. F.; PRIMEL, E. G.; D'OCA, M. G. M.; DUARTE, F. A. Investigation of major and trace element distribution in the extraction-transesterification process of fatty acid methyl esters from *Chlorella* sp. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 730-734, 2012.

SONI, B.; KALAWADIA, B.; TRIVEDI, U.; MADAMWAR, D. Extraction, purification and characterization of phycocyanin from *Oscillatoria quadripunctulata* – isolated from the rocky shores of Bet-Dwarka, Gujarat, Índia. **Process Biochemistry**, PRBI 7974, 2006.

SPOLAORE, P.; JOANNIS-CASSAN, C.; DURAN, E.; ISAMBER, A. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, n. 101, p. 87-96, 2006.

STAEHELIN, A. Chloroplast structure and supramolecular organization of photo-synthetic membranes. In: **Photosynthesis III. Photosynthetic Membranes and Light-Harvesting Systems**, v. 19 (eds L.A. Staehelin & C.A. Arntzen), p. 1–84. Springer, New York, 1986.

SU, Z.; KANG, R.; SHI, S.; CONG, W.; CAI, Z. An economical device for carbon supplement in large-scale micro-algae production. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 31, p. 641-645, 2008.

SYRETT, P. J. Nitrogen assimilation by eukaryotic algae. In: **Inorganic Nitrogen Metabolism**, edited by ULLRICH, W. R.; APARICIO, P. J.; SIRTE, P. J.; CASTILLO, F. Berlín: Springer-Verlag, p. 25- 31, 1987.

SZE, P. **A biology of the Algae**. 3rd ed. WCB/Mc Graw-Hill, Boston, p.278. 1998.

TENUZZO, B.; CHIONNA, A.; PANZARINI, E., LANUBILE, R.; TARANTINO, P.; DI JESO, B.; DWIKAT, M.; DINI, L. Biological effects of 6mT static magnetic fields: A comparative study in different cell types. **Bioelectromagnetics**, v. 27, p. 560–577, 2006.

TOMASELLI, I.; GIOVANNETTI, M. C.; MARGHERI. On the mechanism of thricome breakage in *Spirulina platensis* and *S. maxima*. **Annals of Microbiology**, v. 3, p. 27–33, 1981.

TOMASELLI, L. Morphology, ultrastructure and taxonomy of *Arthrospira (Spirulina) maxima* and *Arthrospira (Spirulina) platensis*. In: VONSHAK, A. **Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell-Biology and Biotechnology**. Taylor & Francis, London. Cap.1, p. 1–15. 1997.

UNEP/WHO/IRPA. United Nations Environment Programme/International Radiation Protection Association/World Health Organization. Environmental Health Criteria 69: Magnetic Fields. WHO, Geneva, 1987.

VONSHAK, A. **Spirulina platensis (Arthrospira) Physiology, Cell-biology and Biotechnology**. Taylor & Francis, London, 1997.

VONSHAK, A.; TOMASELLI, L. *Arthrospira (Spirulina): Systematics and Ecophysiology*. In: **The Ecology of Cyanobacteria**. Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Holanda, p. 505-522, 2000.

- WANG, G. Y.; WANG, X.; LIU, X. H. Two-stage hydrolysis of invasive algal feedstock for ethanol fermentation. **Journal of Integrative Plant Biology**, v. 53, p. 246-252, 2011.
- WANG, H. Y.; ZENG, X. B.; GUI, S. Y. Growth of *Chlorella vulgaris* under different magnetic treatments. **Progress in Modern Biomedicine**, v. 12, p.106-108, 2006.
- WANG, H. Y.; ZENG, X. B.; GUO, S. Y.; LI, Z. T. Effects of magnetic field on the antioxidant defense system of recirculation-cultured *Chlorella vulgaris*. **Bioelectromagnetics**, v. 29, p. 39–46, 2008.
- WANG, Y.; CHEN, T.; QIN, S. Heterotrophic cultivation of *Chlorella kessleri* for fatty acids by carbon and nitrogen supplements. **Biomass and Bioenergy**, v. 47, p. 402-409, 2012.
- WILSON, J. Cultivo de la microalga *Chlorella vulgaris* bajo la acción de campos magnéticos estáticos, **Biología**, Universidad de Oriente, Santiago de Cuba, 2008.
- YAN, C.; ZHAO, Y.; ZHENG, Z.; LUO, X. Effects of various LED light wavelengths and light intensity supply strategies on synthetic high-strength wastewater purification by *Chlorella vulgaris*. **Biodegradation**, v. 24, n. 5, p. 721-732, 2013.
- YANG, G.; WANG, J.; MEI, Y.; LUAN, Z. Effect of magnetic field on protein and oxygen-production of *Chlorella vulgaris*. **Mathematical and Physical Fisheries Science**, v. 9, p. 116-126, 2011.
- ZAPATA, J. E.; MORENO, G.; MÁRQUEZ, E. J. Efecto de los campos magnéticos sobre el crecimiento de *Saccharomyces cerevisiae*. **Interciencia**, v. 27, n. 10, 2002.
- ZAPATA, J. E. M.; HOYOS, M. R.; MORENO, G. O. Acción de un campo magnético sobre un cultivo aireado de *Saccharomyces cerevisiae*. **Interciencia**, v. 30, n. 7, 2005.
- ZARROUK, C. Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et la photosynthèse de *Spirulina maxima*. Ph.D Thesis, Université de Paris. 1966.
- ZELLER, M. A.; HUNT, R.; JONES, A.; SHARMA, S. Bioplastics and their thermoplastic blends from *Spirulina* and *Chlorella* microalgae. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 130, n. 5, p. 3236-3275, 2013.
- ZENG, X.; DANQUAH, M. K.; CHEN, X. D.; LU, Y. Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 15, n. 6, p. 3252-3260. 2011.
- ZHANG, X.-W.; ZHANG, Y.-M.; CHEN, F. Application of mathematical models to the determination optimal glucose concentration and light intensity for mixotrophic culture of *Spirulina platensis*. **Process Biochemistry**, v. 34, p. 477-481, 1999.
- ZHI-YONG, L.; SI-YUAN, G.; LIN, L.; MIAO-YAN, C. Effects of electromagnetic field on the batch cultivation and nutritional composition of *Spirulina platensis* in an air-lift photobioreactor. **Bioresource Technology**, v. 98, p. 700-705

APÊNDICE

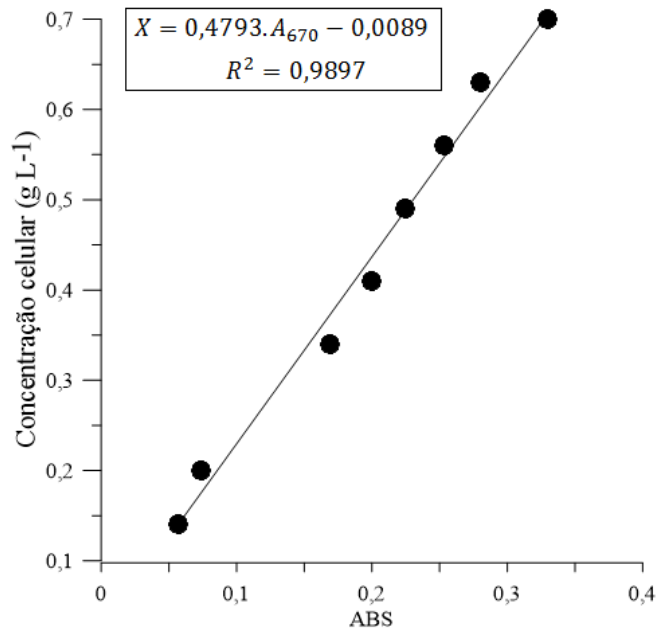
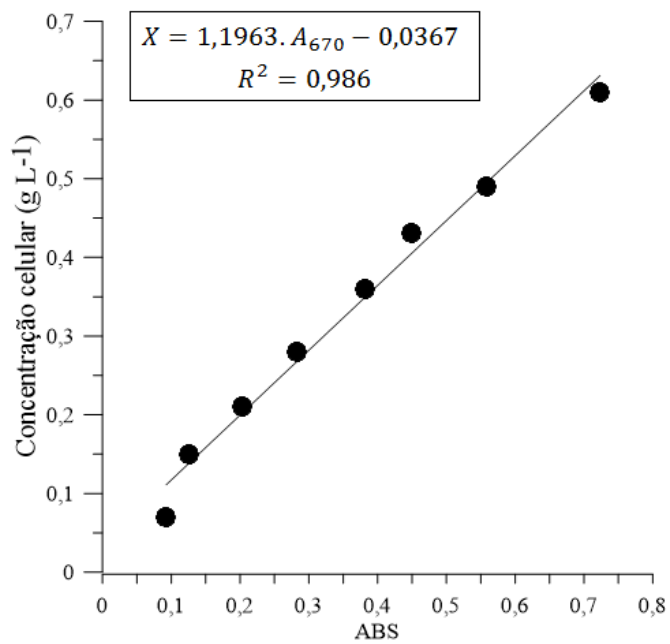
Figura AP 1- Curva padrão da microalga *Chlorella fusca* LEB 111**Figura AP 2-** Curva padrão da microalga *Spirulina* sp. LEB 18

Figura AP 3- Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 com CM de 30 mT por 24 h d⁻¹ (◆), por 1 h d⁻¹ (□) e o cultivo controle (○).

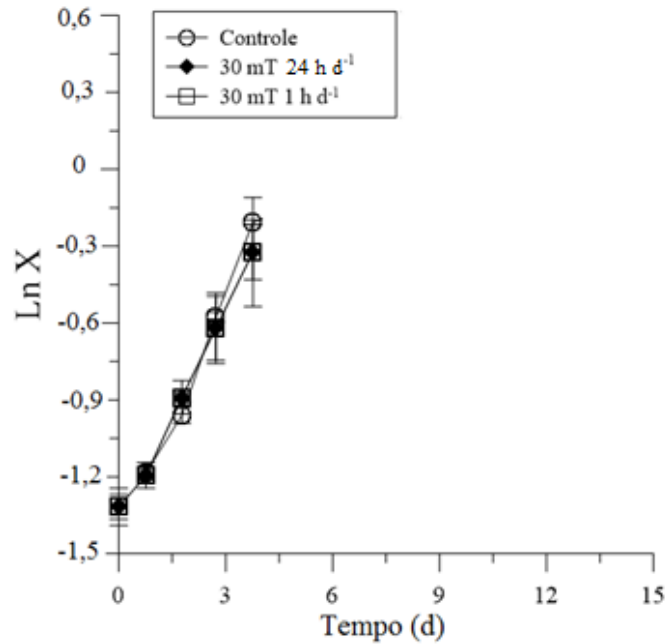


Figura AP 4- Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 com CM de 60 mT por 24 h d⁻¹ (◆), por 1 h d⁻¹ (□) e o cultivo controle (○).

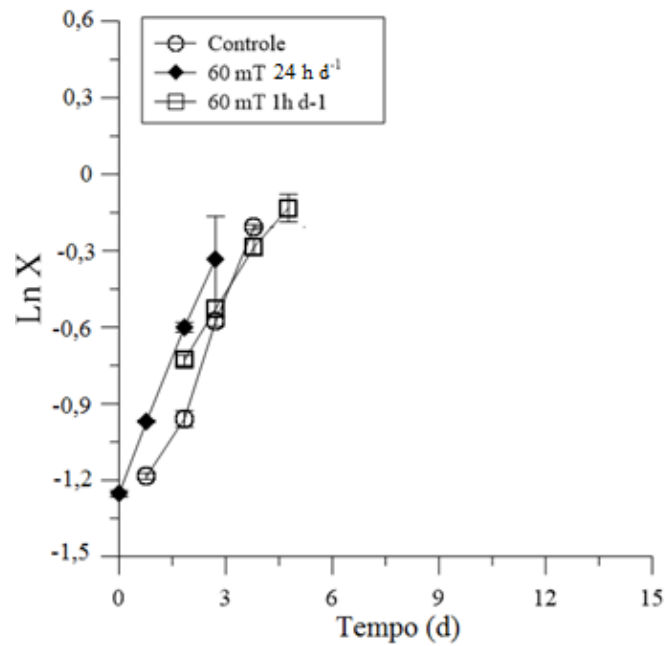


Figura AP 5- Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da microalga *Chlorella fusca* LEB 111 com CM gerado por corrente elétrica (●) e o cultivo controle (○).

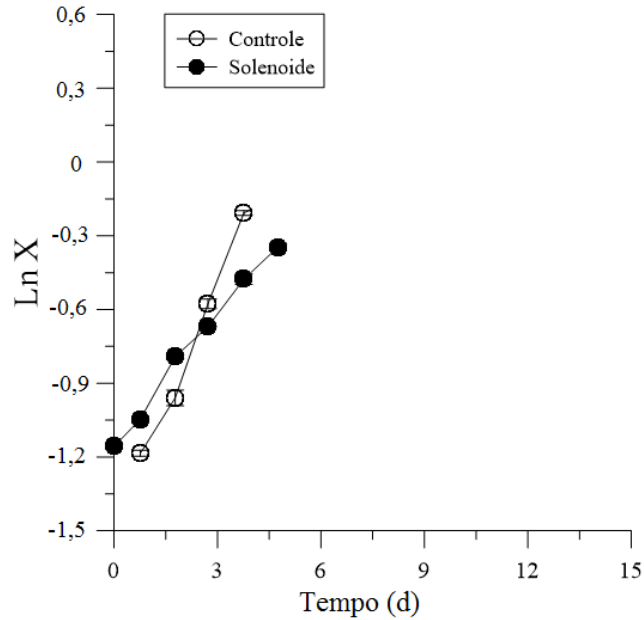


Figura AP 6- Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 com CM de 30 mT por 24 h d⁻¹ (◆), por 1 h d⁻¹ (◻) e o cultivo controle (○).

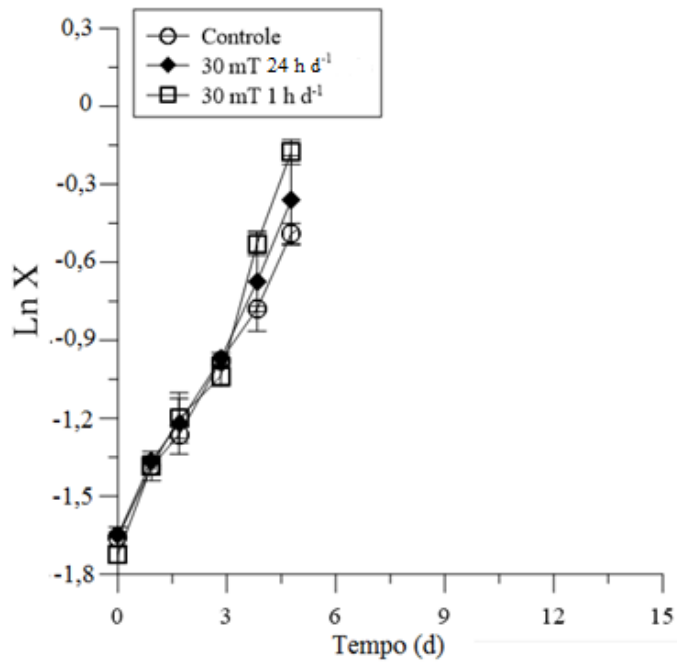


Figura AP 7- Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 com CM de 60 mT por 24 h d⁻¹ (◆), por 1 h d⁻¹ (◻) e o cultivo controle (○).

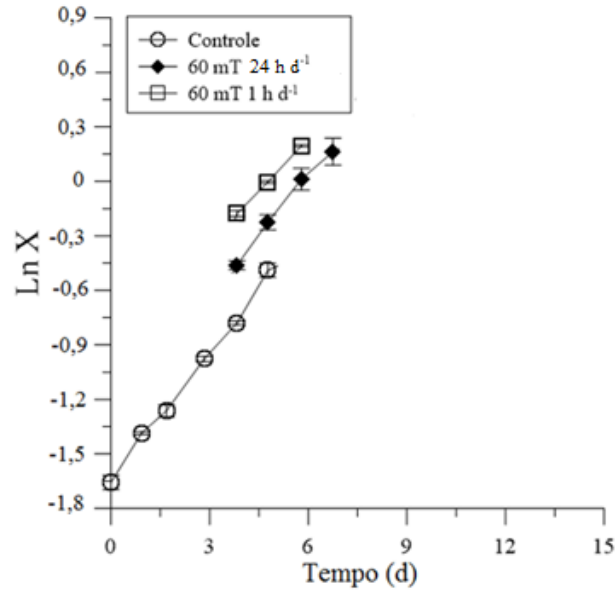


Figura AP 8- Concentração de biomassa linearizados da fase exponencial de crescimento dos cultivos da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 com CM gerado por corrente elétrica (●) e o cultivo controle (○).

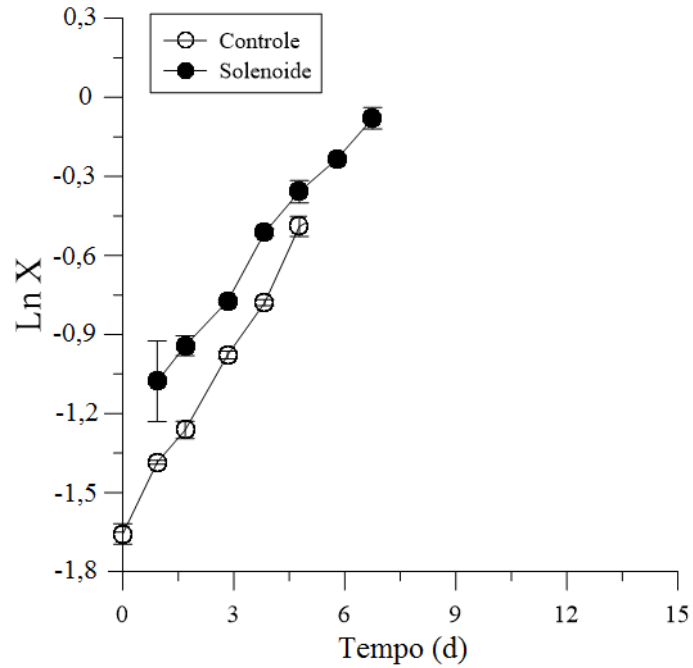


Figura AP 9-Ficocianina extraída da cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18**Tabela A 1** - Concentrações de biomassa diárias (X , g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 cultivadas com CM de 30 mT e do cultivo controle.

Tempo (d)	Controle		30 mT 24 h d ⁻¹		30 mT 1 h d ⁻¹	
	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH
0,00	0,28	8,20	0,27	8,29	0,27	9,4
0,76	0,30	8,48	0,30	9,18	0,29	9,57
1,77	0,38	8,81	0,41	9,42	0,44	9,67
2,72	0,56	9,07	0,54	9,21	0,53	9,58
3,76	0,81	9,22	0,73	9,69	0,68	10,04
4,75	0,78	9,36	0,85	9,62	0,90	9,98
5,76	0,91	9,41	0,88	9,72	0,93	10,05
6,76	0,82	9,5	0,90	9,78	0,98	10,01
7,71	1,06	9,37	1,04	9,43	1,19	9,72
8,75	1,04	9,98	1,04	9,75	1,27	9,82
9,93	1,14	9,81	1,15	9,67	1,44	9,73
10,79	1,25	9,68	1,26	4,87	1,47	4,94
11,75	1,37	9,54	1,30	9,84	1,47	10,04
12,76	1,51	9,37	1,42	9,73	1,53	9,87
13,76	1,48	9,72	1,51	9,80	1,59	9,71
14,71	1,61	9,58	1,51	9,72	1,65	9,67

X: concentração de biomassa diária, g L^{-1} .

Tabela A 2-Concentrações de biomassa diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 cultivadas com CM de 60 mT e do cultivo controle.

Tempo (d)	Controle		60 mT 24 h d ⁻¹		60 mT 1 h d ⁻¹	
	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH
0,00	0,28	8,20	0,28	9,01	0,29	9,68
0,76	0,31	8,48	0,38	9,19	0,33	9,23
1,77	0,38	8,81	0,55	9,22	0,48	9,36
2,72	0,56	9,07	0,72	9,57	0,59	9,52
3,76	0,81	9,22	0,80	9,51	0,75	9,76
4,75	0,78	9,36	0,89	9,45	0,87	9,77
5,76	0,91	9,41	1,01	9,45	0,91	9,84
6,76	0,82	9,5	1,25	9,3	1,13	9,84
7,71	1,06	9,37	1,27	9,50	1,24	9,87
8,75	1,04	9,98	1,39	9,42	1,43	9,94
9,93	1,14	9,81	1,56	10,05	1,62	9,81
10,79	1,25	9,68	1,65	9,95	1,61	9,74
11,75	1,38	9,54	1,73	9,73	1,67	9,98
12,76	1,51	9,37	1,77	9,65	1,68	9,84
13,76	1,48	9,72	1,90	9,43	1,70	9,69
14,71	1,61	9,58	1,91	9,70	1,84	9,57

X: concentração de biomassa diária, g L^{-1} .

Tabela A 3- Concentrações de biomassa diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a microalga *Chlorella fusca* LEB 111 cultivadas com CM gerado por corrente elétrica, 5 mT, e do cultivo controle.

Tempo (d)	Controle		Solenóide 5 mT	
	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH
0,00	0,28	8,20	0,31	8,73
0,76	0,30	8,48	0,35	9,12
1,77	0,38	8,81	0,45	9,33
2,72	0,56	9,07	0,51	9,45
3,76	0,81	9,22	0,62	9,54
4,75	0,78	9,36	0,71	8,97
5,76	0,91	9,41	0,79	9,66
6,76	0,82	9,5	0,84	9,32
7,71	1,06	9,37	0,91	9,10
8,75	1,04	9,98	0,98	9,67
9,93	1,14	9,81	1,04	9,61
10,79	1,25	9,68	1,12	8,94
11,75	1,37	9,54	1,22	9,05
12,76	1,51	9,37	1,26	9,34
13,76	1,48	9,72	1,28	9,21
14,71	1,61	9,58	1,35	9,33

X: concentração de biomassa diária, g L^{-1} .

Tabela A 4- Concentrações de biomassa diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 cultivadas com CM de 30 mT e o cultivo controle.

Tempo (d)	Controle		30 mT 24 h d ⁻¹		30 mT 1 h d ⁻¹	
	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH
0,00	0,19	-	0,19	9,61	0,18	9,60
0,96	0,25	-	0,26	9,97	0,25	9,96
2,06	0,28	-	0,30	9,96	0,30	9,94
3,01	0,38	-	0,38	10,01	0,35	9,99
3,96	0,46	-	0,51	10,05	0,59	10,04
4,97	0,61	-	0,70	10,17	0,84	10,12
5,96	0,60	-	0,71	10,28	0,93	10,19
7,01	0,65	-	0,85	10,22	1,03	10,29
8,14	0,82	-	1,00	10,22	1,39	10,24
8,98	0,87	-	1,09	10,19	1,47	10,22
9,92	0,92	-	1,26	10,22	1,78	10,19
11,01	0,97	-	1,55	-	1,69	10,22
11,97	1,01	-	1,45	-	1,94	-
12,97	1,12	-	1,61	-	2,29	-
13,89	1,12	10,06	1,75	10,07	2,24	-
14,90	1,22	10,12	1,67	10,12	2,35	-

X: concentração de biomassa diária, g L^{-1} .

Tabela A 5- Concentrações de biomassa diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 cultivadas com CM de 60 mT e o cultivo controle.

Tempo (d)	Controle		60 mT 24 h d ⁻¹		60 mT 1 h d ⁻¹	
	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH
0,00	0,19	-	0,18	9,71	0,16	9,75
0,96	0,25	-	0,23	9,93	0,22	10,01
2,06	0,28	-	0,39	10,12	0,39	10,22
3,01	0,38	-	0,46	10,25	0,50	10,35
3,96	0,46	-	0,63	10,38	0,84	10,44
4,97	0,61	-	0,80	10,36	1,00	10,48
5,96	0,60	-	1,01	10,35	1,22	10,56
7,01	0,65	-	1,18	10,36	1,38	10,58
8,14	0,82	-	1,37	10,37	1,31	10,60
8,98	0,87	-	1,49	10,33	1,41	10,61
9,92	0,92	-	1,56	10,35	1,62	10,22
11,01	0,97	-	1,75	10,35	1,86	10,33
11,97	1,01	-	2,05	10,38	1,98	10,4
12,97	1,12	-	1,89	10,39	2,06	10,53
13,89	1,12	10,06	2,09	10,41	2,39	10,69
14,90	1,22	10,12	2,31	10,45	2,152	10,64

X: concentração de biomassa diária, g L^{-1} .

Tabela A 6- Concentrações de biomassa diárias (g L^{-1}) e dos valores de pH obtidos nos cultivos com a cianobactéria *Spirulina* sp. LEB 18 cultivadas com CM gerado por corrente elétrica de 5 mT e o cultivo controle.

Tempo (d)	Controle		Solenóide 5 mT	
	X (g L^{-1})	pH	X (g L^{-1})	pH
0,00	0,19	-	0,18	9,65
0,96	0,25	-	0,34	10,01
2,06	0,28	-	0,39	10,18
3,01	0,38	-	0,46	10,28
3,96	0,46	-	0,60	10,39
4,97	0,61	-	0,70	10,47
5,96	0,60	-	0,79	10,55
7,01	0,65	-	0,92	10,49
8,14	0,82	-	0,95	10,5
8,98	0,87	-	1,01	10,55
9,92	0,92	-	1,23	10,49
11,01	0,97	-	1,17	10,52
11,97	1,01	-	1,27	10,59
12,97	1,12	-	1,35	10,62
13,89	1,12	10,06	1,47	10,79
14,90	1,22	10,12	-	-

X: concentração de biomassa diária, g L^{-1} .