

## Protótipo de incubadora BOD para cultivos mixotróficos de microalgas

### BOD incubator prototype for mixotrophic microalgae cultivations

#### RESUMO

Sofia de Souza Oliveira  
[Oliveiras.1997@alunos.utfpr.edu.br](mailto:Oliveiras.1997@alunos.utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

Andreia Anschau  
[andreaanschau@utfpr.edu.br](mailto:andreaanschau@utfpr.edu.br)  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Dois Vizinhos, Paraná, Brasil

À medida que os estudos voltados ao desenvolvimento sustentável e biotecnológico avançam, as pesquisas envolvendo microalgas se tornam mais relevantes, devido a imensa gama de aplicações que esse microrganismo apresenta. Tendo em vista o desafio da produção avícola intensiva com o acúmulo de cama de aviário e a busca por parte da comunidade científica em como melhorar a produção de biomassa microalgal, surge a ideia de unir ambos desafios em busca de uma possível solução biotecnológica. Para tornar a ideia mais viável, desenvolver um modelo de incubadora BOD de baixo custo pode incentivar a iniciativa. Com isso, o presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um protótipo de incubadora BOD para cultivos mixotróficos de microalgas, além de avaliar o potencial de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* com meio suplementado com cama de aviário juntamente com permeado de soro de leite. Infelizmente, em função da pandemia do Covid-19 não foi possível realizar os cultivos contendo cama de aviário como substrato, porém posteriormente, os mesmos serão retomados.

**PALAVRAS-CHAVE:** Microalga. Protótipo de BOD. Efluentes.

**Recebido:** 04 de setembro

**Aprovado:** 23 de setembro

**Direito autoral:** Este trabalho está licenciado sob os termos da Licença Creative Commons-Atribuição 4.0 Internacional.



#### ABSTRACT

As studies aimed at sustainable development and biotechnology advance, research involving microalgae becomes more relevant due to the immense range of applications this microorganism presents. In view of the challenge of the intensive poultry production with the accumulation of poultry litter and the search by the scientific community on how to improve the production of microalgal biomass, the idea of uniting both challenges in search of a possible biotechnological solution arises. To make the idea more feasible, developing a low-cost BOD incubator model may encourage the initiative. This work aimed to develop a prototype BOD incubator for mixotrophic cultures of microalgae, and to evaluate the growth potential of the microalgae *Chlorella vulgaris* with medium supplemented with poultry litter along with whey permeate. Unfortunately, due to the Covid-19 pandemic, it



was not possible to do the cultivations with poultry litter as substrate, but later, they will be done.

**KEYWORDS:** Microalgae. BOD prototype. Effluents.

## INTRODUÇÃO

Microalgas são microrganismos fotossintetizantes que, dependendo da espécie, podem ser encontrados na forma unicelular ou pluricelular apresentando estrutura eucariótica ou procariótica. Entre as microalgas mais estudadas e promissoras na área de biotecnologia estão os gêneros: *Chlamydomonas*, *Botryococcus*, *Arthrospira*, *Dunaliella* e *Chlorella* (MORAIS JUNIOR et al., 2020). Uma das iniciativas mais difundidas utilizando microalgas é a produção de biodiesel a partir de sua biomassa (da qual são extraídos os lipídios). Muitas pesquisas tem sido feitas em diferentes meios de cultivo, desde meios sintéticos até meios suplementados com efluentes, para aumentar o rendimento da produção de biomassa microalgal. (WANG et al., 2010). Resíduos agroindustriais também tem sido explorado para o cultivo de microalgas.

A região Oeste do Paraná é a maior produtora de aves de corte do Brasil (EMBRAPA; AGROSTAT, 2018) e a expansão deste setor resulta no aumento de resíduos agroindustriais que, se não tratados de forma correta, podem ser descartados no meio ambiente, gerando impactos ambientais negativos, tornando a busca pela reutilização e/ou descarte correto um desafio para as agroindústrias. Entre estes resíduos está a cama de aviário, matéria orgânica que fica depositada no chão do local onde são criados os frangos de corte que possui uma grande concentração de nutrientes como: K, P, N, Ca e Fe (PEREIRA, 2019). É possível utilizar a cama de aviário como adubo para plantas, mas devido seu pH ácido, é necessário que se faça um manejo prévio do material antes de adicioná-lo ao solo. Infelizmente, essa etapa adicional de tratamento torna a reutilização da cama de aviário menos atrativa para o produtor.

A cama de aviário é gerada em grandes quantidades nas granjas, fazendo-se necessário desenvolver meios para reutilização desse resíduo. O presente trabalho teve como objetivo o desenvolvimento de um protótipo de incubadora tipo BOD para os cultivos mixotróficos de microalgas, além de avaliar o potencial de crescimento da microalga *Chlorella vulgaris* com meio suplementado com resíduo líquido de cama de aviário juntamente com permeado de soro de leite material e métodos

## DESENVOLVIMENTO DE PROTOTIPO DE INCUBADORA TIPO BOD DE BAIXO CUSTO

Para construção da incubadora BOD foram usados: uma caixa de isopor de 45 L, 3 metros de fita LED, um aquecedor de aquário para 30 L, uma sacola modelo *ziplock* com vedação térmica, um termômetro, uma fonte de computador, um fio com *plugue* para tomada, um controlador de fotoperíodo e um suporte para os cultivos.

## CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DA CAMA DE AVIÁRIO

Foram obtidos cerca de 5 kg de cama de aviário com um produtor de frango de corte localizado na cidade de São Jorge D'Oeste. A cama de aviário foi caracterizada quanto à umidade, cinzas e proteína bruta do efluente seco. Para cada análise utilizou-se protocolo de caracterização de matéria orgânica de acordo com PEREIRA (2019), todas feitas em triplicata. Após a caracterização, a cama de aviário foi armazenada. Para utilização nos meios de cultivos, a cama de aviário passará por um processo de queima, até a obtenção de cinzas, gerando um material homogêneo e particulado rico em micronutrientes (MARKOU et al., 2015),

## CULTIVOS MIXOTRÓFICOS

Como controle, foram feitos cultivos da microalga *Chlorella vulgaris* sem a adição de cama de aviário líquida, contendo permeado de soro lácteo bruto, meio BBM e permeado de soro lácteo em pó. Em função da pandemia do Covid-19, não foi possível realizar os cultivos contendo cama de aviário, porém, posteriormente, os mesmos serão retomados.

O permeado de soro lácteo em pó foi fornecido pela Sooro Concentrado Indústria de Produtos Lácteos Ltda. de Marechal Candido Rondon/PR. O soro bruto foi concedido pelo Laticínio Cruzeiro do Iguazu/PR e a cepa de microalga *Chlorella vulgaris* IPR 7117 foi fornecida pelo Instituto Agrônomo do Paraná (IAPAR) do município de Londrina/PR. Para a obtenção do permeado, o soro foi autoclavado a 121°C por 15 minutos com o objetivo de induzir coagulação das proteínas. O meio sintético utilizado para o cultivo da *Chlorella vulgaris* foi BBM modificado (BISCHOFF; BOLD, 1963). Aos componentes do meio BBM modificado adicionou-se permeado de soro bruto, fixando a relação C/N em 20, de modo a favorecer o crescimento celular. O cultivo contendo meio BBM foi feito para ser o controle (ZANATA et al., 2019).

Para os cultivos, foram usados Erlenmeyers de 250 ml com volume útil de 150 ml. Os meios foram preparados e posteriormente autoclavados a 121°C por 20 minutos. Após os frascos esfriarem até temperatura ambiente, realizou-se a inoculação em cada meio em câmara de fluxo laminar. Os frascos foram cultivados durante 21 dias, com fotoperíodo de 12 horas (claro-escuro) utilizando lâmpadas de LED e a homogeneização do meio foi feita com aeração por pressurizador de ar. Durante os cultivos, retirou-se alíquotas em períodos pré-determinados para análise de concentração celular, que foi feita por contagem direta das células em câmara de Neubauer e por peso seco (ZANATA et al., 2019).

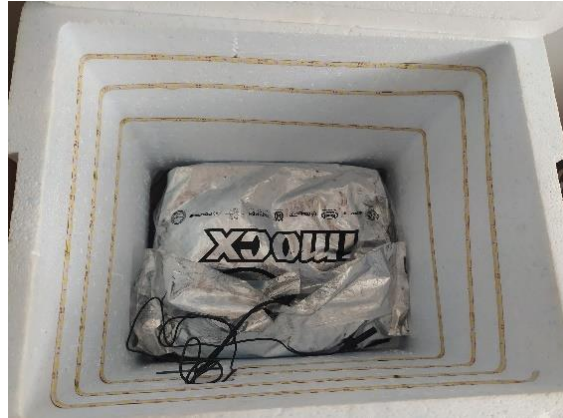
## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### DESENVOLVIMENTO DE PROTOTIPO DE INCUBADORA TIPO BOD DE BAIXO CUSTO

Inicialmente foi feita a instalação dos fios, ligando a fita LED junto ao controlador de fotoperíodo no carregador de notebook e o aquecedor de aquário no fio contendo um *plugue* para tomada. Em seguida, colou-se a fita LED no interior da caixa, na qual posteriormente foi colocada a sacola *ziplock* com água e o

aquecedor de aquário. Por fim, o suporte para os frascos de cultivo foi posicionado dentro da caixa de isopor. As Figuras 1, 2 e 3 apresentam as etapas de montagem da incubadora BOD.

Figura 1 – Incubadora sem a base para os cultivos.



Fonte: Próprio autor (2020)

Figura 2 – Incubadora contendo a base para os cultivos.



Fonte: Próprio autor (2020)

Figura 3 – Vista externa da incubadora BOD, contendo o controlador de foto período e termômetro



Fonte: Próprio autor (2020)



Após construção da incubadora BOD foram feitos testes da parte elétrica, no caso, do aquecimento e fotoperíodo. De forma geral, o desempenho do sistema de baixo custo apresentou bons resultados, mantendo a temperatura entre 25 e 30 C° e o controle de fotoperíodo programável sem falhas.

O custo da incubadora BOD desenvolvida foi de R\$ 150, valor bem inferior se comparado a incubadoras BOD disponíveis no mercado nacional que custam de R\$ 2.500,00 a mais de R\$ 30.000,00 (CARLA et al., 2020).

### CARACTERIZAÇÃO PRELIMINAR DA CAMA DE AVIÁRIO

A caracterização preliminar da cama de aviário está apresentada na Tabela 1

Tabela 1 – Caracterização preliminar da cama de aviário

análise	Resultado (%)
Umidade	6,65
Cinzas	26,01
Proteína bruta	14,75

Fonte: Próprio autor (2019).

A cama de aviário apresentou baixo teor de umidade (6,65), o que já era esperado, em função do tempo de armazenamento do material. Segundo o fornecedor, o material fornecido estava armazenado em um galpão a mais de 2 anos, sendo acumulado conforme os ciclos de criação das aves se renovava. Mesmo tendo ficado muito tempo armazenada, a concentração de cinzas e proteína bruta está em conformidade com dados da literatura, feitos em cama de aviário com menor tempo de armazenamento (TAN et al., 2018; VIDAL OLIVEIRA, 2001).

### CULTIVOS MIXOTRÓFICOS

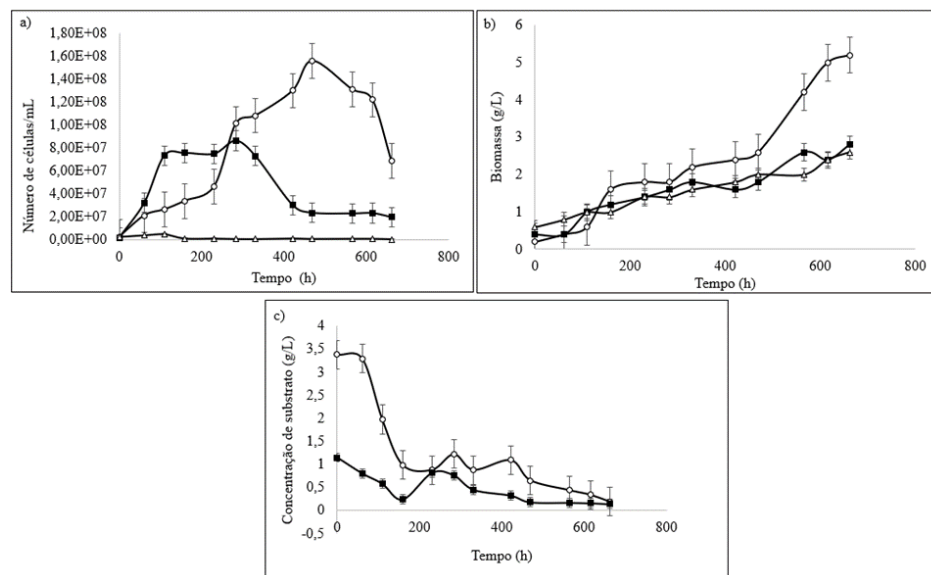
Comparando os resultados obtidos para os diferentes meios avaliados, que podem ser observados na Figura 4, obteve-se maior concentração celular para o permeado de soro lácteo em pó, além de um maior consumo de substrato. Verifica-se também diferenças nos resultados da quantificação celular pelos métodos utilizados. Ressalta-se que a avaliação da turbidez de uma cultura microbiana constitui um método rápido, embora indireto, de estimar a concentração celular. A quantidade de luz que atravessa a suspensão celular depende da concentração de células na suspensão e do tamanho destas, do comprimento de onda e da intensidade da luz incidente e do diâmetro do tubo que contém a suspensão celular. Microrganismos oleaginosos tendem a aumentar de diâmetro ao longo dos cultivos em função do acúmulo de lipídios intracelulares. Por isso, sugere-se a adoção do método direto de quantificação celular através de Câmara de Neubauer para cultivos com microrganismos oleaginosos. Esse método

também possui a vantagem de diferenciar células viáveis e não viáveis pelo uso de corantes.

Conforme estudo realizado por (ABREU et al., 2012), as microalgas cultivadas mixotroficamente cresceram mais rapidamente e forneceram maior produtividade de biomassa com meio suplementado com hidrolisado em pó de soro de queijo, pelos efeitos estimuladores dos nutrientes que promovem o crescimento celular. Segundo (SUWAL et al., 2019), a taxa de crescimento de *Tetrademus obliquus* foi significativamente maior para o permeado de soro lácteo, atingindo concentração de biomassa 4,5 vezes maior que no meio BBM.

Han (HAN et al., 2017), avaliou o potencial de crescimento da microalga *Scenedesmus obliquus* HTB1 suplementado com nutrientes extraídos de cama de aviário e obteve bons resultados comparados a outros substratos. Sendo assim suplementar o meio de cultivo com permeado de soro de leite acrescido de cama de aviário pode aumentar de forma significativa a produção de biomassa microalgal.

Figura 4 – Concentração celular a) pelo número de células/mL, e b) por g/L e c) consumo de substrato (lactose) para os cultivos em meio BBM modificado ( $\Delta$ ), permeado de soro lácteo bruto ( $\blacksquare$ ) e permeado de soro lácteo em pó ( $\circ$ )



Fonte: (ZANATA et al., 2019).

## CONCLUSÃO

O protótipo da incubadora BOD desenvolvida apresentou resultados satisfatórios, tornando-se uma ferramenta funcional e de baixo custo para pesquisas com microrganismos. Além disso, o presente protótipo pode ser usado bancada didática para o ensino de bioengenharia e microbiologia.

Comparando-se os substratos testados, o cultivo da microalga no permeado de soro lácteo em pó resultou numa maior concentração celular comparado com

o permeado de soro lácteo bruto e o meio sintético BBM modificado, o que possibilita o uso no meio de cultivo de microalgas.

Infelizmente, devido a pandemia do novo coronavírus, não foi possível concluir todas as etapas que estavam previstas no plano de trabalho, a exemplo dos cultivos suplementados nutricionalmente com cama de aviário. Com isso espera-se que em breve seja possível dar continuidade neste estudo, podendo avaliar através de experimentos as potencialidades do cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* contendo cama de aviário. A melhoria nos processos de produção das microalgas gera, além de produtos das mais diversas categorias, formas alternativas de sua aplicação tecnológica.

### REFERÊNCIAS

ABREU, A. P. et al. Mixotrophic cultivation of *Chlorella vulgaris* using industrial dairy waste as organic carbon source. **Bioresource Technology**, v. 118, p. 61–66, 2012.

BISCHOFF, H. W.; BOLD, H. C. Some soil algae from enchanted rock and related algae species. **Phycological studies**, v. 44, n. 1, p. 1–95, 1963.

CARLA, S. et al. **Development of a Biochemical Oxygen Demand Incubator Prototype based on Thermoelectric Effect with Monitoring System**, 2020.

EMBRAPA; AGROSTAT, A. **Embrapa Suínos e Aves**. Disponível em: <https://www.embrapa.br/suinos-e-aves/cias/estatisticas/frangos/brasil>. Acesso em: 3 set. 2020.

HAN, X. et al. Nutrients Extracted from Chicken Manure Accelerate Growth of Microalga *Scenedesmus obliquus* HTB1. **Green and Sustainable Chemistry**, v. 07, n. 02, p. 101–113, 2017.

MARKOU, G. et al. Exploration of using stripped ammonia and ash from poultry litter for the cultivation of the cyanobacterium *Arthrospira platensis* and the green microalga *Chlorella vulgaris*. **Bioresource Technology**, v. 196, p. 459–468, 2015.

MORAIS JUNIOR, W. G. et al. **Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing** *Aquaculture*, 2020.

PEREIRA, M. E. **Resíduos de cama de frango para fabricação de biochar**. 2019. Dissertação (Mestrado em planejamento e uso de recursos) - Universidade Federal de São Carlos, Sorocaba, 2019.

SUWAL, S. et al. Evidence of the production of galactooligosaccharide from whey permeate by the microalgae *Tetrademus obliquus*. **Algal Research**, v. 39, p. 101470, 2019.

TAN, X. B. et al. Semi-continuous cultivation of *Chlorella vulgaris* using chicken compost as nutrients source: Growth optimization study and fatty acid composition analysis. **Energy Conversion and Management**, v. 164, p. 363–373, 2018.

VIDAL OLIVEIRA, R. DE. **Avaliação da cama de frango na suplementação de novilhos e determinação do seu valor nutritivo em ovinos**. 2001. Tese ( Mestrado em Zootecnia) - Universidade federal de Viçosa, Minas Gerais, 2001.

WANG, L. et al. Cultivation of green algae *Chlorella* sp. in different wastewaters from municipal wastewater treatment plant. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 162, n. 4, p. 1174–1186, 2010.

ZANATA, A. C. et al. **Cultivo da microalga *Chlorella vulgaris* em diferentes substratos**. Artigo apresentado no V CCT(V Congresso de Ciência e Tecnologia UTFPR). Dois Vizinhos, 2019