

II-079 - QUANTIFICAÇÃO DE AMIDO EXISTENTE EM BIOMASSA DE *LANDOLTIA PUNCTATA*

Flaviane Smaniotto⁽¹⁾

Engenheira Sanitarista pela Universidade Federal do Mato Grosso – UFMT. Mestranda em Engenharia Civil pela Universidade Estadual Paulista – UNESP.

José Antônio Zanettoni⁽²⁾

Graduando Engenharia Civil pela UNESP.

Marcia Maria de Souza Moretti⁽³⁾

Biólogo pelo IBILCE – UNESP. Mestre em Alimentos e Nutrição pela IBILCE – UNESP. Doutor em Química Analítica pela IQSC – USP.

Liliane Lazzari Albertin⁽⁴⁾

Engenheira Química pela Universidade Federal de São Carlos – UFSCar. Mestre em Ciências da Engenharia Ambiental pela USP. Doutora em Ciências da Engenharia Ambiental pela USP. Professora Assistente na UNESP.

Endereço⁽¹⁾: Alameda Augusto Stellfeld, 1050, apt 44a, centro, Curitiba-PR- CEP 80430-140- Brasil – tel: (41) 8456-8121 – e-mail flavi.esa@gmail.com

RESUMO

Visando à melhora da qualidade do efluente das ETEs, este trabalho propõe a utilização de lagoas com macrófitas aquáticas flutuantes, da família *Lemnaceae*, conhecidas como lemnas. As lemnas possuem uma alta taxa de reprodução e, possivelmente, uma capacidade de acumular amido em sua biomassa, mediante um processo de situação de estresse, em relação às suas condições. O amido obtido da lemna poderia ser utilizado, por exemplo, para produção de etanol. Neste trabalho, foi analisado o comportamento das lemnas cultivadas em esgoto doméstico para que, simultaneamente ao polimento do efluente, se consiga produzir biomassa com qualidade adequada para alguma finalidade específica. Neste projeto, foi obtida uma taxa de crescimento de 5,29 g/m². dia o equivalente a 19,3 t/ha. ano. E uma relação de amido contido médio de 4,6%, maior taxa obtida no experimento, equivale a 0,88 t/ha. ano de amido disponível.

PALAVRAS-CHAVE: Tratamento de esgoto, lagoas de lemnas, produção de biomassa.

INTRODUÇÃO

As macrófitas aquáticas da família *lemnoideae*, mais conhecidas como lemnas, são pequenas plantas flutuantes, de ampla distribuição, com alta adaptabilidade a águas contaminadas ricas em matéria orgânica e nutrientes e em locais de pouca movimentação da superfície da água. Tem alto potencial na remoção de nutrientes de origem orgânica, como nitrogênio e fósforo, relacionados aos processos de eutrofização de corpos hídricos.

Aliado aos bons resultados no polimento dos efluentes domésticos e dejetos suínos, as lemnas possuem bom potencial de produção de biomassa rica em proteína bruta e amido, tais valores são estudados avaliando seu potencial visando à produção de etanol (OGEDA & PETRI, 2010; VERMA & SUTTAR, 2015; YIN *et al.* 2015).

Atualmente diversas pesquisas são realizadas visando o aproveitamento da biomassa de lemna na produção de biocombustíveis, em especial etanol, conforme relatam diversos pesquisadores (VERMA, R & SUTHAR, S. 2015; CHEN *et al.* 2012; YIN *et al.* 2015).

Outra vantagem no uso das lemnas é sua alta produtividade, 8,2 kg/ m². ano em peso seco (TAVARES DE MATOS *et al.* 2014), podendo ser colhidas durante o ano todo, diferente de outras culturas que são sazonais, e a baixa produção de resíduos, sendo que a biomassa de lemna possui em média 10% de matéria seca.

Sabe-se que as macrófitas aquáticas possuem capacidade maior de acumular amido sob condições ambientais específicas ou estresse nutricional, variando cargas de nutrientes. Ge *et al.* (2012), avaliaram o acúmulo de amido na biomassa, desencadeado pela ausência de nutrientes ou crescimento no escuro com adição de glucose, chegaram a um valor de 10 a 36% de acúmulo de amido.

Tais atributos das lemnas aliadas a sua rápida reprodução, podendo dobrar sua massa em 48 horas, com produtividade relatada por vários autores em diferentes partes do mundo varia, com valores entre 2 a 50 t. ha⁻¹. ano⁻¹ em matéria seca, variações que podem ocorrer devido às diferentes espécies, condições climáticas e do tamanho da área de cultivo, fornecimento de nutrientes, e manejo adequado (IQBAL, 1999).

Portando, levando-se em consideração os diversos estudos relacionados ao polimento de efluentes domésticos, este trabalho tem o objetivo de avaliar a capacidade de enriquecimento de amido, por meio de estresse ambiental da espécie *Landoltia punctata*, no cultivo em esgoto.

METODOLOGIA

O sistema de crescimento e enriquecimento de amido das lemnas, aliado ao polimento do esgoto da ETE de Ilha Solteira, conta com 2 tanques de cultivo, ligados cada um a uma caixa de 3.000L, que recebe o esgoto semanalmente, a um tanque de 3000 L, de onde o mesmo foi bombeado, numa vazão de, aproximadamente, 375 L/dia, aos tanques.

O tanque de crescimento foi dividido em 7 seções, conforme Figura 1, para colheita das lemnas. Para cada seção de 0,7 m², inicialmente, foi colocada para cultivo uma massa úmida de 250 g de lemnas. Na colheita, foram retiradas todas as lemnas da seção analisada, assim o valor da massa obtida era comparado com o valor inicial de 250 g. Os tempos de cultivo foram variados para cada seção, de modo que todas as seções possuísem, ao final do experimento, dados de crescimento para 3, 6, 9, 12, 15, 18 e 21 dias. Desta maneira, a primeira seção, por exemplo, teve seu tempo de cultivo variando de 3 dias até 21 dias, a segunda seção, de 6 dias até 3 dias, e assim por diante. Após cada colheita, a massa de 250 g era introduzida ao tanque e, novamente, se esperou o tempo de cultivo ser atingido, conforme Figura 2(A).

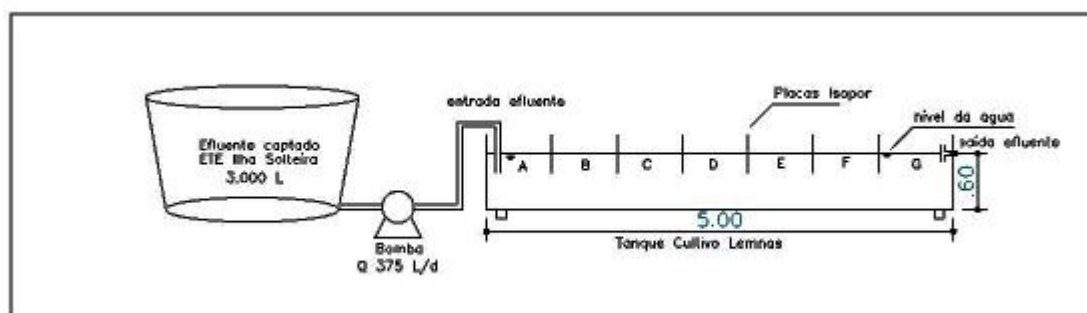


Figura 1. Esquema utilizado para o cultivo e polimento, e divisões no tanque e cultivo das lemnas

Esse procedimento permitiu analisar o crescimento da planta e, após a secagem, a biomassa que as lemnas produziram. Para obter o valor do crescimento médio da planta, foi feita a média de crescimento em massa(g) que cada seção forneceu para um mesmo tempo de cultivo. O valor do crescimento diário foi obtido dividindo o valor anteriormente calculado por três, uma vez que cada tempo de cultivo teve um intervalo de três dias, apresentados na Figura 1.

Em etapa seguinte, foram realizados ensaios de enriquecimento de amido nas plantas, o tanque foi dividido em quatro seções de 1,20 m², esquema sistema semelhante ao tanque de crescimento, conforme Figura 1. Para cada seção, a planta passou por um processo de estresse, em um período de 6 h, durante 5 dias. Em cada seção, as plantas que passaram pela situação de estresse ficaram em uma área de 0,16 m², conforme pode se observar na Figura 2(B), dentro das próprias divisões do tanque de enriquecimento. Os processos de estresse adotados foram: estresse nutricional, elevação do pH do efluente, diminuição do fotoperíodo e alteração da temperatura.

O processo de enriquecimento foi repetido por três vezes, alternando o processo de estresse de cada seção. Após o período de 5 dias, as plantas confinadas foram colhidas e postas para secagem em estufa a, aproximadamente, 50°C, durante 48 h.

Após a secagem, foi feita a análise da biomassa obtida, visando a obtenção do valor de amido, através de quantificação do amido conforme método de dosagem de açúcares solúveis totais, descrito por Umbreit *et al*, (1957).

Os valores de amido contido na biomassa das lemnas analisadas podem ser encontrados na Figura 4. Durante o período de enriquecimento das lemnas, foi mantida porções de lemnas num recipiente sem condições de estresse, para utilizar esse valor como comparativo em relação às lemnas em situação de estresse. Esse valor de controle também pode ser encontrado na Figura 4.



Figura 2. A) Tanque de crescimento, colheita seção C. B) Tanque de Enriquecimento

RESULTADOS

Os resultados com relação aos períodos de crescimento (dia) e ao crescimento foram avaliados retirando todas as plantas contidas na seção, aferindo seu peso fresco (g), os resultados são apresentados na Figura 3, que apresenta os valores médios de crescimento em relação aos períodos de cultivo por metro quadrado de área.

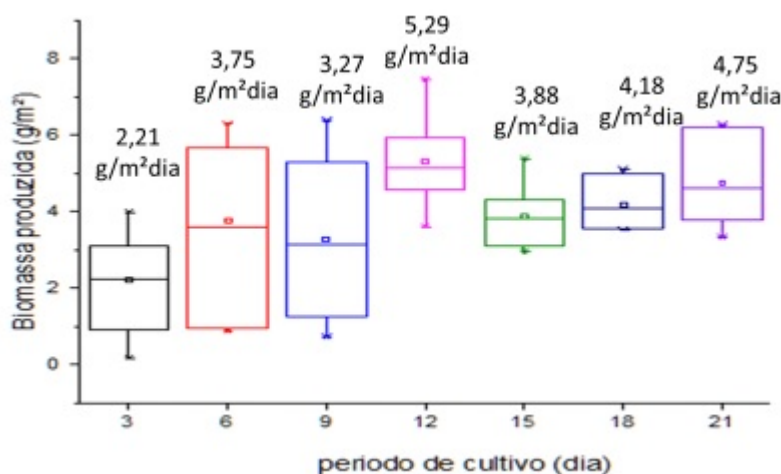


Figura 3. Biomassa produzida em relação ao peso seco (g) cultivados em 1m² em função do períodos de cultivo (dia), e valores médios de produção (g/m².dia)

Ao avaliar o crescimento das lemnas, pode-se verificar um período entre o 12 e o 18º dia, uma amplitude menor dos dados, diferente do que se observa entre o 6º e o 9º dia. Com isso, pode-se indicar que o 12º dia de cultivo obtém-se melhor período, para colheita, relacionada à menor amplitude dos dados apresentados, com valores de 5,29 g/m². dia de biomassa produzida.

Ge *et al.* (2012), identificaram em sua pesquisa que o ciclo de crescimento da lemna gira em torno de 15 a 18 dias. Após esse período o crescimento e a sequente produção de biomassa se tornam estacionários. Há uma fase entre o 6º e o 15º dia em que o crescimento é rápido, ocorrendo numa taxa de 3,5 g/m²/dia (em massa seca), o que é relativamente próximos valores obtidos na pesquisa, em que temos valores médios no 6º dia de $3,75 \pm 0,83$ g/m².dia (massa seca).

Entre o 6º e o 15º dia ocorre um ponto alto de crescimento no 12º dia de $5,29 \pm 0,45$ g/m².dia (massa seca), e ocorre um decréscimo na produção, o que pode ser explicado devido ao aumento da população de plantas na superfície do tanque, ocorre a competição por espaço, e ocorrendo a morte das plantas.

A produção de biomassa de lemna fresca no período de 84 dias do experimento foi de 21,15 kg, em tanque com 5 m² de área (4,2 kg/m²), em média 90% da biomassa é composta de água, temos 1,7 kg de matéria seca em 84 dias. Tais valores são superiores aos obtidos por Tavares de Matos *et al.* (2014), que obtiveram em 83 dias de cultivo o equivalente a 12,75 kg biomassa fresca, porém quantidade inferior produzida por m² de área. Em geral a produtividade média anual. Quando calculado valores diários de produção obtemos média de 3,9 g/m². dia, tais valores equivalem a 1,43 t/ m². ano de matéria seca. Porém ao definir o melhor dia de produção, aos 12º dias, obtemos valores médios de 5,29 kg/m². dia, o equivalente a 1,93 t/m². ano.

Para o processo de enriquecimento, de acordo com a Figura 4, utilizando o valor médio do estresse nutricional (4,6%), chegou se a um valor de amido contido na biomassa de, aproximadamente, 0,64 t/ ha. ano.

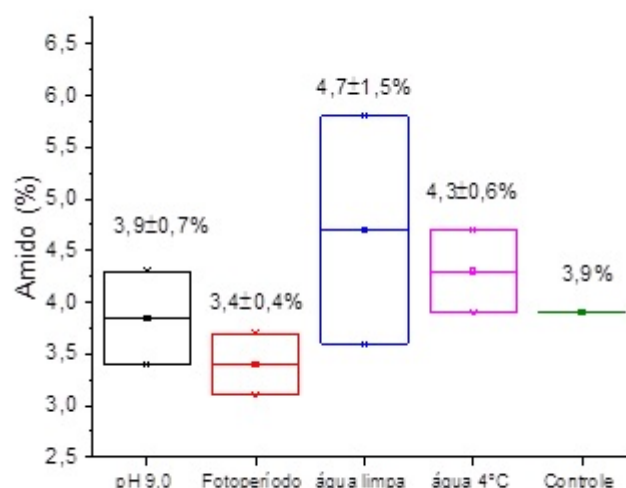


Figura 4. Quantificação de Amido (%) em relação aos ensaios de enriquecimento

O teor de amido encontrado foi de 4,6% (p/p base seca), quantidade ainda maior que o obtido por Tao *et al.* (2013), que foi de 3,0% (p/p base seca), e bem menor do que os 24,59% (p/p base seca) encontrados por Chen *et al.* (2012), ambos para a mesma espécie.

De modo geral, em condições que aperfeiçoam o crescimento (rico em nutrientes), a biomassa tem um percentual relativamente baixo de amido, visto que para sua reprodução a energia é adquirida por meio da fotossíntese, que é também necessária para o armazenamento de amido, fazendo com que o acúmulo de amido

concorra com o crescimento por energia (XIAO *et al*, 2013). Assim, a baixa quantidade de amido (4,6%) pode ser atribuída ao fato de terem sido cultivadas em esgoto doméstico, rico em nutrientes (COSTA, 2014).

Chen *et al*, (2012), obtiveram uma concentração de 24,9% de amido das lemnas e realizou o processo de extração do etanol, além do amido com pré tratamento pectinase, obtendo 30,8 g/L de etanol, tal concentração de etanol obtida mesmo com as condições de pré tratamento é baixa comparando com um processo industrial de geração de etanol.

Tais valores encontrados de amido, não satisfazem a condição de uso das lemnas como alternativa na produção de etanol, devido ao seu baixo teor de amido, e sua instabilidade, com variações de 3 a 75% (CHEN *et al*, 2012).

CONCLUSÃO

Considerando que, na literatura, os valores de crescimento, em matéria seca, são da ordem de 10 a 30 t/ha. ano. A produção de biomassa mostrou-se razoável, com taxas de crescimento de 5,29 g/m². dia o equivalente a 19,3 t/ha. ano. Uma das principais características que, talvez influenciem na discrepância de resultados em relação à bibliografia utilizada, seja o fato das condições impostas pela diferença das regiões onde os estudos foram realizados. Outro fator que pode ter influenciado os resultados é sua aplicação em esgoto doméstico. Esses dois fatores citados trazem variações de temperatura, alteração de Ph e quantidade de nutrientes disponível.

Para o processo de enriquecimento, o valor encontrado foi bem abaixo do que o esperado. A relação de amido contido, considerando uma média 4,6%, maior taxa obtida no experimento, equivale a 0,88 t/ha. ano de amido disponível.

Analisando os resultados obtidos nessa pré-análise de enriquecimento, as tentativas serão voltadas ao processo de estresse nutricional, uma vez que o mesmo demonstrou um resultado satisfatório em relação aos demais e aparenta certa viabilidade para aplicação. Além disso, outro estudo realizado por pesquisadores chineses mostrou que as lemnas em cultivo com efluente de suinocultura, após um período de dez dias em estresse nutricional, aumentaram o valor de amido contido em sua biomassa em, aproximadamente, 30%. Considerando que o processo de enriquecimento ainda está em fase de avaliação, ainda serão analisados quais dos métodos disponíveis melhor se adequarão às condições de nossa região, considerando a viabilidade dos mesmos e a parcela de amido obtida na biomassa.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. COSTA, F. N. Valorização de *Landoltia punctata* proveniente de tratamento de esgoto doméstico através da hidrólise enzimática, visando a produção de etanol. Dissertação de Mestrado, UFSC. Programa de pós-graduação em Engenharia de alimentos. Florianópolis, SC, 2014. 103 p.
2. CHEN, Q.; JIN, Y.; ZHANG, G.; FANG, Y.; XIAO, Y.; ZHAO, H. Improving production of bioethanol from duckweed (*Landoltia punctata*) by pectinase pretreatment. *Energies*, Basel, v. 5, n. 1, p. 3019-3032, 2012.
3. GE, X; Zhang, N.; Phillips, G. C.; XU, J. Growing *Lemna minor* in agricultural wastewater and converting the duckweed biomass to ethanol. *Bioresource Technology*, v. 124, p. 485-488, 2012.
4. IQBAL, S. Duckweed aquaculture, potentials, possibilities and limitations for combined wastewater treatment and animal feed production in developing countries. Switzerland. SANDEC, 1999, report n°6, 91p.
5. OGEDA, T. & PETRI, D; Hidrólise enzimática de biomassa. *Química Nova*, Vol. 33, N° 7, 1549-1558, 2010.
6. YIN, Y; YU, C; ZHAO, J; SUN, C; MA, Y. & ZHOU, G; The influence of light intensity and photoperiod on duckweed biomass and starch accumulation for bioethanol production. *Biosource Technology* 187 (2015) 84-90.



7. Tavares De Matos, F; Lapolli, F.R.; Mohedano, R.A.; Fracalossi, D.M.; Bueno, G.W.; Roubach, R. Duckweed Bioconversion and Fish Production in Treated Domestic Wastewater. *Journal of Applied Aquaculture*, London, 26:49–59, 2014.
8. TAO, X; Fang, Y; Jin, Y; MA, X; ZHAO, Y; HE, K; ZHAO, H. & WANG, H; Comparative transcriptome analyses to investigate the high starch accumulation of duckweed (*Landoltia punctata*) under nutrient starvation. *Biotechnology for biofuels* 2013, 6:72.
9. UMBREIT, W.W.; BURRIS, R.H.; STAUFFER, J.E. *Manometric Techniques*. New York, Burgess Publishing Co. 338p. 1957.
10. Verma, R.; Suthar, S. *Utility of Duckweeds as Source of Biomass Energy: a Review*. Springer Science, New York, p. 1-9, 2015.
11. Xiao, Y.; FANG, Y.; Jim, Y.; Zhang, G.; Zhao, H. Culturing duckweed in the field for the starch accumulation. *Industrial Crops and Products*, v. 48, p. 183-190, 2013.