

CULTIVO MIXOTRÓFICO DE *Spirulina paracas* UTILIZANDO PENTOSSES COMO FONTE DE CARBONO E DETERMINAÇÃO DE PROTEÍNAS

BRÄCHER, Eduarda Holz¹; FREITAS, Barbara Catarina Bastos¹; MORAIS, Etiele Greque¹; COSTA, Jorge Alberto Vieira²

¹Universidade Federal do Rio Grande; ²Universidade Federal do Rio Grande, Departamento. Laboratório de Engenharia Bioquímica- Escola de Química e Alimentos.

1 INTRODUÇÃO

Nos dias de hoje a procura por novas tecnologias que não sejam prejudiciais ao meio ambiente vêm crescendo, e as microalgas são uma das opções interessantes e com grande disponibilidade no ambiente. As microalgas são microrganismos fotossintéticos com requerimento nutricionais relativamente simples e cuja biomassa pode ser empregada para obtenção de biocompostos, como suplemento alimentar humano, alimento animal, biocombustíveis, biocorantes ou em tratamento de efluentes (ANDRADE e COSTA, 2008).

O cultivo de microalgas é praticado há cerca de 140 anos, acompanhando os progressos das Ciências Ambientais, da Fisiologia e da Microbiologia. No Brasil os estudos tiveram início na década de 1970. Chama-se cultivo quando microrganismos são mantidos vivos em condições artificiais (LOURENÇO, 2006).

O meio de cultura pode ser modificado possibilitando muitas alternativas para a utilização das microalgas. O crescimento de microalgas retira o CO₂ do ambiente transformando em O₂ (LOURENÇO, 2006).

A microalga de estudo é a *Spirulina platensis paracas*, que é da divisão Cyanophyta também conhecida como cianobactéria. *Spirulina platensis* é uma cianobactéria filamentosa que habita meios como solos, pântanos, lagos alcalinos e águas salobras, marinhas e doces (RICHMOND, 1990). São as únicas bactérias capazes de produzir oxigênio como produto colateral da fotossíntese. As cianobactérias são dotadas de extraordinária capacidade de se adaptar com sucesso a alterações ambientais. Toleram grandes flutuações de temperatura, salinidade, pH e disponibilidade de nutrientes (LOURENÇO, 2006).

O objetivo do presente trabalho é avaliar o comportamento de *Spirulina paracas* em meio contendo pentoses e analisar o teor de proteínas presentes.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Foi utilizada a microalga *Spirulina platensis paracas*, pertencente a Coleção do Laboratório de Engenharia Bioquímica da Universidade Federal do Rio Grande (FURG), cultivada em um meio padrão para o cultivo desta cianobactéria, meio Zarrouk (ZARROUK, 1966), modificado quanto ao teor de nitrogênio (1,25 g/L de NaNO₃) e complementado com 1%, 5% e 10% , em volume de meio, de solução de pentoses P.A.(C₅). Os cultivos foram realizados até a caracterização de uma possível fase estacionária.

As pentoses foram adicionadas em concentrações de xilose e arabinose que representassem as concentrações dos mesmos presentes em caldo hidrolisado do bagaço de cana de açúcar pré-tratado.

Os cultivos mixotróficos foram realizados assepticamente em fotobiorreatores tipo Erlenmeyers de 2 L, mantidos em estufa termostaticada a 30° C, fotoperíodo de

12h claro/escuro e 2500 Lux de iluminação fornecidos por lâmpadas fluorescentes de 40W. A agitação dos experimentos foi realizada com a injeção de ar estéril, com uma vazão de 0,5v.v.m.(volume de ar por volume de meio por minuto), com retirada de gás carbônico (CO₂). Os ensaios foram realizados em duplicata e a concentração inicial de *Spirulina platensis paracas* foi de 0,12g.L⁻¹.

O crescimento da biomassa foi monitorado diariamente pela densidade ótica das culturas em espectrofotômetro (Femto 700 Plus, Brasil) a 670nm, através de uma curva padrão previamente realizada, relacionando peso seco e densidade ótica, o mesmo procedimento foi realizado para a determinação da concentração inicial de biomassa (COSTA *et al.*, 2002). O pH dos cultivos foi determinado diariamente em medidor digital (Quimis Q400HM, Brasil).

Foram avaliados parâmetros cinéticos como a concentração máxima de biomassa ($X_{máx}$, g.L⁻¹); a produtividade máxima ($P_{máx}$, g.L⁻¹.dia⁻¹), obtida segundo a equação $P = (X_t - X_0)/(t - t_0)$, onde X_t é a concentração de biomassa (g.L⁻¹) no tempo t (dia), e X_0 a concentração de biomassa (g.L⁻¹) no tempo t_0 (dia) (SCHMIDELL *et al.*, 2001), e a velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{máx}$, dia⁻¹) por regressão exponencial aplicada à fase logarítmica de crescimento (BAILEY e OLLIS, 1986).

A biomassa foi obtida por centrifugação, 9500 r.p.m. (rotações por minuto) durante 20 minutos em temperatura de 25°C.

As proteínas foram analisadas pelo método de micro-Kjeldahl de acordo com a metodologia descrita pelas Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1976). A partir dos resultados de nitrogênio total, pode se obter o total de proteínas pela multiplicação daquele valor por certos fatores (LOURENÇO, 2006).

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 mostra a concentração de *Spirulina paracas* durante os cultivos com 1% (□), 5% (●) e 10% (▲) de pentoses P.A. respectivamente. A Tabela 1 apresenta os valores médios de concentração máxima de biomassa, produtividade máxima, velocidade específica máxima de crescimento e teor de proteínas nos diferentes cultivos.

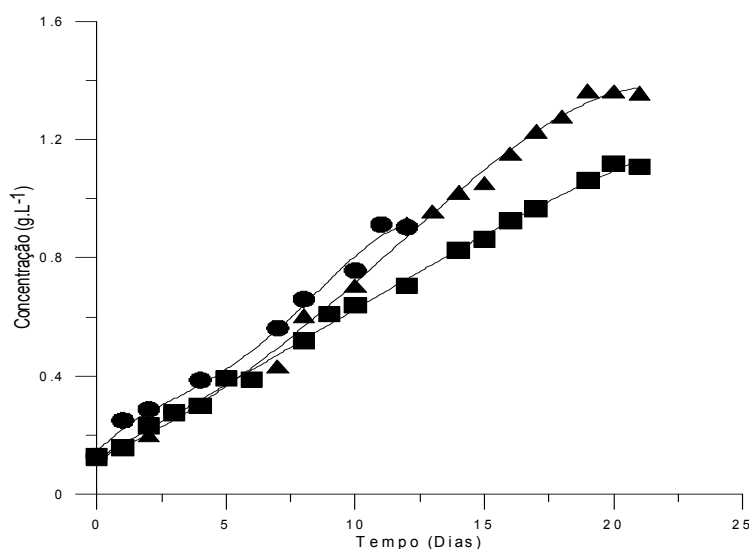


Figura 1- Concentração da biomassa de *Spirulina paracas* em meio de cultivo contendo diferentes concentrações de solução de pentoses (□) 1%, (●) 5% e (▲) 10%, respectivamente

Tabela 1 – Concentração de biomassa máxima ($X_{\text{máx}}$, g.L⁻¹), produtividade máxima ($P_{\text{máx}}$, g.L⁻¹.dia⁻¹), velocidade específica máxima de crescimento ($\mu_{\text{máx}}$, dia⁻¹) e teor de proteínas (%), em cultivos mixotróficos com diferentes concentrações de pentoses (média \pm desvio padrão).

Cultivo	$X_{\text{máx}}$ (g.L ⁻¹)	$P_{\text{máx}}$ (g.L ⁻¹ .dia ⁻¹)	$\mu_{\text{máx}}$ (dia ⁻¹)	Proteínas(%)
1% C ₅	1,12 \pm	0,11 \pm	0,22 \pm	37,7 \pm
	0,02	0,01	0,02	0,59
5% C ₅	0,66 \pm	0,11 \pm	0,21 \pm	41,3 \pm
	0,25	0,02	0,11	1,21
10% C ₅	1,36 \pm	0,13 \pm	0,24 \pm	39 \pm
	0,05	0,01	0,06	0,91

A maior concentração de biomassa máxima foi de 1,36 g.L⁻¹ encontrada no cultivo de 10% de pentoses. Nesta mesma a produtividade máxima e velocidade específica máxima de crescimento foi a maior encontrada. O teor de proteínas com 5% C₅ foi de 41,3%, sendo maior que em outros cultivos.

Comparando com SANTOS, (2003), o experimento sem nitrogênio obteve maior teor de proteínas que os resultados encontrados. Em outra comparação feita onde a *Spirulina* apresenta teor de proteínas entre 64% a 74%, resultados maiores do que foi encontrado (MORAIS, 2006). O que pode ter influenciado é a utilização das pentoses como fonte de carbono.

Nos ensaios de 1% e 10% de C₅, não foi visualizado uma fase de adaptação, apresentou crescimento desde a inoculação. As curvas de crescimento assemelham uma reta, que torna difícil a observação de uma fase exponencial, resultados semelhantes foram encontrados por Andrade e Costa (2008) e Andrade e Costa (2007), para a microalga *Spirulina platensis*, cultivada com melaço como fonte de carbono.

É possível obter um aumento do teor de proteínas com a adição da porcentagem de pentoses. Resultados que mostram uma fonte de carbono com menor custo, e eficiência comparável a com bicarbonato de sódio, dessa forma diminuindo os custos utilizando fontes alternativas de nutrientes, como resíduos agroindustriais.

4 CONCLUSÃO

Os melhores resultados em geral foram encontrados com 10% de pentoses, com concentração de biomassa máxima de 1,36 g.L⁻¹, produtividade máxima 0,13 g.L⁻¹.dia⁻¹, velocidade específica máxima de crescimento de 0,24 dia⁻¹ e teor de proteínas foi 39%. O maior teor de proteínas foi encontrado com 5% C₅, 41,3%. Com esses resultados é notado que o aumento da complementação de pentoses gera um aumento de teor de proteínas. Reduzindo custos, tornando viável o cultivo em grandes escala, pois um dos fatores de maior custo é o uso de bicarbonato de sódio.

5 REFERÊNCIAS

ANDRADE, Michele da Rosa; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternadas de nutrientes. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 32, n. 5, p. 1551 - 1556, 2008.

ANDRADE, Michele da Rosa; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Mixotrophic cultivation of microalga *Spirulina platensis* using molasses as organic substrate. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 264, p. 130-134, 2007.

BERTOLDI, Fabiano Cleber; SANT'ANNA, Ernani; OLIVEIRA, Jorge Luiz Barcelos. Revisão: Biotecnologia de microalgas. **B. Ceppa**, Curitiba, v. 26, n. 1, p. 9-20, 2008.

FREITAS, B. C. B.; BRACHER, E. H.; FURLONG, V. B.; ATALA, D. I. P., COSTA, J. A. V. Cultivo de *Chlorella minutissima* em meio de cultivo contendo pentoses como fonte de carbono. In: **XVIII SIMPÓSIO NACIONAL DE BIOPROCESSOS (SINAFERM)**, Caxias do Sul, 2011.

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

MORAIS, Michele Greque; MIRANDA, Martha Zavariz; COSTA, Jorge Alberto Vieira. Biscoito de chocolate enriquecido com *Spirulina platensis*: características físico-químicas, sensoriais e digestibilidade. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v. 17, n. 3, p., 2006.

SANTOS, Gilvair Marconi dos; MACEDO, Ricardo Verthein Tavares de; ALEGRE, Ranulfo Monte. Influência do teor de nitrogênio no cultivo de *spirulina maxima* em duas temperaturas – parte i: alteração da composição da biomassa¹. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, 23(supl), p. 17-21, 2003.