



Evento	Salão UFRGS 2019: FEIRA DE INOVAÇÃO TECNOLÓGICA DA UFRGS - FINOVA
Ano	2019
Local	Campus do Vale - UFRGS
Título	EXTRAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS A PARTIR DE BIOMASSA DE MICROALGAS
Autores	MARJORIE DE ARAÚJO DANIEL ALINE DE CASSIA CAMPOS PENA
Orientador	MARILIZ GUTTERRES SOARES

RESUMO

EXTRAÇÃO DE BIOMOLÉCULAS A PARTIR DE BIOMASSA DE MICROALGAS

Aluno: Marjorie de Araújo Daniel

Orientador: Mariliz Gutterres Soares

RELATÓRIO DE ATIVIDADES

1. Introdução:

As microalgas são microrganismos fotossintéticos eucariontes e cianobactérias procariontas de água doce ou salgada que inclui um grupo diversificado. Por serem fotoautotróficos, com exigências nutricionais mínimas, as microalgas apresentam vantagens em comparação com outras células microbianas, sendo usadas em diferentes indústrias, incluindo de alimentos, cosméticos e biocombustíveis, além disso, podem ser utilizadas para tratamento de efluentes. Vários estudos estabeleceram que as microalgas podem ser fontes de biomassa para produtos químicos finos, incluindo clorofilas, ômega-3 e antioxidantes. Embora algumas revisões se concentrem na utilização de microalgas para produção de moléculas de valor e aplicações biotecnológicas, o potencial das microalgas para serem utilizadas como produtoras de enzimas não é abordado (BRASIL, *et al.* 2017). Alguns estudos apresentam a possibilidade da utilização de compostos fenólicos (presentes em vegetais) como conservantes naturais, além do seu potencial funcional, oriundo de compostos oxidantes em sua composição [2]. Outros estudos também falam sobre o crescimento delas em efluentes de curtume [3] e [4]. Este estudo propõe analisar o crescimento de microalga *Scenedesmus* sp. e *Chlorella* sp. e determinar o teor de fenóis e a atividade enzimática presentes na biomassa.

2. Atividades realizadas e Resultados obtidos:

Foram feitos cultivos das microalgas por 20 dias, utilizando-se para *Scenedesmus* sp., o meio Guilliard modificado e para a *Chlorella* sp., o mesmo meio, porém a solução de $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ foi substituída por sal marinho. Os cultivos foram mantidos em incubadora sob temperatura ambiente, com aeração constante e iluminação contínua de 3910 lux com fotoperíodo de 24 horas claro (Figura 1A). A densidade óptica (DO_{570}), medida no comprimento de onda de 570 nm usando espectrofotômetro, foi relacionada com a concentração de biomassa, medida por gravimetria, utilizando regressão linear (Figura 1B e C).

Para análise da atividade enzimática proteolítica, foi coletada uma alíquota de microalga e realizado o ensaio de rompimento celular, na qual a biomassa foi submetida ao tratamento ultrassônico em temperatura ambiente. Na etapa de rompimento celular, a suspensão foi centrifugada e o sobrenadante, livre de células, foi utilizado para medida da atividade enzimática de proteases. Em seguida, foram misturados 100 μl do substrato (azocaseína 10 mg/ml) com 100 μl do tampão Tris 0,1 M (pH 9) e 100 μl do sobrenadante, incubadas por 30 minutos a 37 °C, a reação foi interrompida adicionando-se 500 μl de ácido tricloroacético (TCA) 10%. Após a centrifugação a 10.000 g por 5 minutos, adicionou-se aos 800 μl do sobrenadante, 200 μl de NaOH 1,8 N. A leitura da amostra foi realizada em espectrofotômetro no comprimento de onda de 420 nm. O "branco" foi

realizado adicionando-se as mesmas quantidades de solução enzimática, tampão e substrato ao TCA. A atividade enzimática foi calculada pela diferença de absorbância entre a amostra e o “branco” e considerando o fator de diluição.

O teor de fenóis foi analisado misturando-se 50 mL de metanol com 0,1 g de biomassa de microalgas recuperadas do meio de cultura e homogeneizados a 4000 rpm por 15 min. O sedimento foi coletado e adicionado com outros 50 mL de metanol para a segunda extração. Este procedimento foi repetido 3 vezes. O filtrado recolhido dessas extrações, contendo solvente e extratos, foi submetido a evaporação sob pressão reduzida em rotaevaporador. Os extratos foram analisados para determinação de fenóis totais através do método de Folin-Ciocalteau (Swain & Hills, 1959)



Figura 1: A) Microalga *Scenedesmus* sp. após o rompimento celular no ultrassom B) Cultivo das microalgas C) Aparelho utilizado para a filtração à vácuo das microalgas e D) Massa das microalgas retida nos filtros pós filtração.

O tratamento da biomassa com ultrassom foi eficiente já que foi notado que houve o rompimento celular e assim houve a liberação das enzimas intracelulares para o meio, pois após esse tratamento as células começaram a decantar indicando que houve a morte celular. Foi separada a biomassa do meio através da centrifugação, e o sobrenadante contendo as enzimas foi usado para a medida de atividade enzimática. O valor de atividade enzimática da protease obtidos do meio intracelular da *Scenedesmus* sp. foi de 0,117 U/ml min. Obteve-se do extrato de microalgas o rendimento de 2,3% de fenóis para a biomassa da microalga *Scenedesmus* sp. e de 4,3% para *Chlorella* sp..

3. Conclusão:

Obteve-se o valor de atividade enzimática que foi considerado baixo e de teor de fenóis que foram próximos aos encontrados na literatura, porém baixos comparados com taninos e antioxidantes fenólicos comerciais. Outra utilização da biomassa de microalgas investigada é a obtenção de Carbon dots, trabalho que está em andamento e que já mostrou bons resultados.

4. Referências bibliográficas:

- [1] Priyadarshani, B. Rath Commercial and industrial applications of microalgae – a review J. Algal Biomass Utiln., 3 (2012), pp. 89-100.
- [2] Bierhals, Vânia da Silva; Machado, Vanessa Goulart; Echevenguá, Walesca Oliveira; Costa, Jorge Alberto Vieira; Furlong, Eliana Badiale, Compostos fenólicos totais, atividade antioxidante e antifúngica demultimisturas enriquecidas com a microalga *Spirulina platensis*, RI FURG (2009).
- [3] J. T. Fontoura, G. S. Rolim, M. Farenzena, M. Gutterres, Influence of light intensity and tannery wastewater concentration on biomass production and nutrient removal by microalgae *Scenedesmus* sp., Process Safety and Environmental Protection (2017).
- [4] A. C. C. Pena, L. S. Schaumlöffel, L. F. Trierweiler, M. Gutterres, *Tetraselmis* sp. Isolated from a Microalgae Consortium for Tannery Wastewater Treatment, SLTC Journal (2018).
- [5] E. Ryckebosch, C. Bruneel, R. Termote-Verhalle, et al. Nutritional evaluation of microalgae oils rich in omega-3 long chain polyunsaturated fatty acids as an alternative for fish oil Food Chem., 160 (2014), pp. 393-400.
- [6] K.S. Kumar, H.U. Dahms, E.J. Won, et al. Microalgae – a promising tool for heavy metal remediation Ecotoxicol. Environ. Saf., 113 (2015), pp. 329-352.
- [7] M. Hlavová, Z. Turóczy, K. Bišová Improving microalgae for biotechnology — from genetics to synthetic biology Biotechnol. Adv., 33 (2015), pp. 1194-1203.
- [8] B. S. A. F. Brasil, F. G. Siqueira, T. F. C. Salum, et al. Microalgae and cyanobacteria as enzyme biofactories Algal Research, 25 (2017), pp. 76-89.
- [9] L. Collins, D. Alvarez, A. Chauhan Phycoremediation coupled with generation of value-added products S. Das (Ed.), Microbial Biodegradation and Bioremediation, Elsevier, London (2014), pp. 341-387.
- [10] E. Molina Grima, J.A. Sánchez Pérez, F. García Camacho, et al. The production of polyunsaturated fatty acids by microalgae: from strain selection to product purification Process Biochem., 30 (1995), pp. 711-719.