



PRODUÇÃO DE BIOMASSA E PIGMENTOS POR *Chlorella minutissima* IMOBILIZADA: EFEITO DO NITROGÊNIO EM CULTIVOS EM BATELADA ALIMENTADA

BioEng

Lisieux Almeida Soares da Silva

Laboratório de Bioengenharia, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos, UFRGS.



ICTA

As microalgas apresentam uma biomassa rica em compostos bioativos com propriedades antioxidantes, tais como carotenoides e os ácidos graxos poli-insaturados. A técnica de imobilização de microalgas em esferas de alginato auxilia na redução nos custos do processo, além de proteger a célula contra danos de cisalhamento. No entanto, sua aplicação para produção de compostos bioativos é escassa na literatura. Com o objetivo de otimizar a produção de *Chlorella minutissima* imobilizada investigou-se o perfil de adição de nitrogênio durante o cultivo na concentração de biomassa, clorofilas e no perfil de carotenoides.

Imobilização



- Alginato de Sódio 8% + *C. minutissima* (1:1) Gotejamento em CaCl₂ 4% - 1h

Condições do cultivo



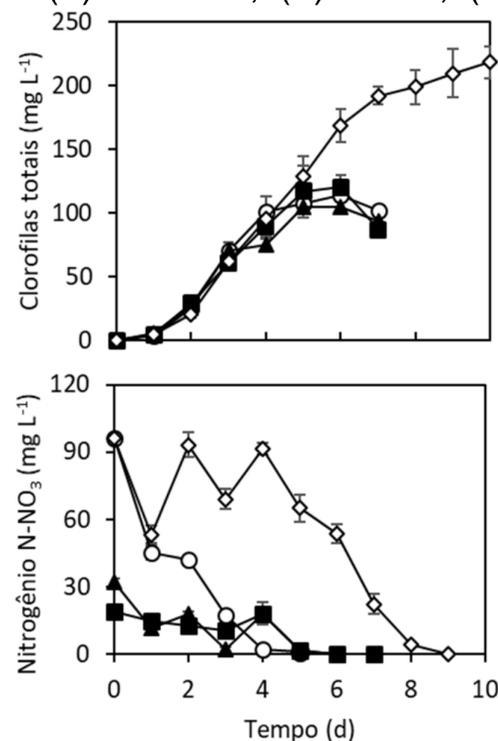
- 525 mL esferas + 1575 mL meio f/2
- Iluminação contínua (18 klx);
- Vazão de ar (1 L min⁻¹) enriquecido com CO₂ (1%)
- 27 °C, 10 dias, em duplicata

Determinações

- Teor de clorofilas:** álcool etílico 95%-espectrofotometria
- Biomassa:** peso seco
- Teor de nitrogênio:** nitração do ácido salicílico
- Carotenoides:** HPLC-DAD-MS

O controle foi realizado em batelada (96 mg L⁻¹ N-NO₃) e nos cultivos em batelada alimentada (BA), o nitrogênio (96 mg L⁻¹) foi dividido em porções de 32 mg L⁻¹ adicionados nos dias 0, 2 e 4 (BA32), 19,2 mg L⁻¹ adicionados diariamente durante 5 dias (BA19.2). Adicionalmente, um cultivo foi realizado com adições extras de 96 mg L⁻¹ N-NO₃ nos dias 0, 2 e 4 (BA96).

Figura 1. Efeito da adição de nitrogênio em etapas da cinética de clorofilas totais (a) e consumo de nitrogênio (b) durante o cultivo de *C. minutissima* imobilizada. (○) controle; (■) BA32; (▲) BA19.2; (◇) BA96.



A concentração de biomassa (2,13 ± 0,01 g L⁻¹) e clorofilas totais (219 ± 12 mg L⁻¹) alcançados com BA96 foram 1,3 e 2,1 vezes maior que o controle (batelada).

Tabela 1. Efeito do perfil de adição de nitrogênio na composição de carotenoides em *C. minutissima* imobilizada.

Carotenoides (mg g ⁻¹)	Adição de Nitrogênio (mg L ⁻¹ N-NO ₃)			
	Controle	FB19.2	FB32	FB96
all-trans-violaxantina	0.36 ± 0.04 ^b	0.49 ± 0.05 ^b	0.34 ± 0.07 ^b	1.23 ± 0.14 ^a
cis-violaxantina	0.47 ± 0.06 ^{bc}	0.54 ± 0.01 ^b	0.41 ± 0.03 ^c	0.89 ± 0.06 ^a
13-cis-luteína	0.31 ± 0.01 ^b	0.43 ± 0.03 ^a	0.33 ± 0.02 ^b	0.45 ± 0.01 ^a
13'-cis-luteína	0.07 ± 0.00 ^b	0.08 ± 0.00 ^b	0.08 ± 0.00 ^b	0.11 ± 0.01 ^a
all-trans-luteína	3.96 ± 0.12 ^b	3.90 ± 0.21 ^b	3.17 ± 0.16 ^c	5.31 ± 0.46 ^a
all-trans-zeaxantina	1.30 ± 0.04 ^a	0.97 ± 0.09 ^b	0.94 ± 0.14 ^b	0.56 ± 0.02 ^c
cis-zeaxantina	0.05 ± 0.00 ^a	0.05 ± 0.00 ^a	0.06 ± 0.01 ^a	0.06 ± 0.01 ^a
15-cis-β-caroteno	0.10 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.01 ^a	0.10 ± 0.02 ^a	0.11 ± 0.01 ^a
all-trans-α-caroteno	0.75 ± 0.01 ^b	0.84 ± 0.09 ^b	0.76 ± 0.5 ^b	1.05 ± 0.04 ^a
13-cis-β-caroteno	0.33 ± 0.01 ^b	0.35 ± 0.04 ^{ab}	0.31 ± 0.04 ^b	0.42 ± 0.02 ^a
all-trans-β-carotene	1.27 ± 0.02 ^b	1.37 ± 0.14 ^b	1.17 ± 0.08 ^b	1.80 ± 0.09 ^a
9-cis-β-carotene	0.57 ± 0.01 ^a	0.59 ± 0.06 ^a	0.52 ± 0.04 ^a	0.58 ± 0.05 ^a
Total	9.5 ± 0.3 ^{bc}	9.7 ± 0.5 ^b	8.2 ± 0.4 ^c	12.6 ± 0.8 ^a

Foram identificados 12 carotenoides na biomassa de *C. minutissima*, sendo *all-trans-luteína*, *all-trans-zeaxantina*, *all-trans-β-caroteno*, *all-trans-violaxantina* e *all-trans-α-caroteno* os majoritários.

A adição extra de nitrogênio (BA96), aumentou em 1.3 vezes o teor de carotenoides totais na biomassa (12,6 ± 0,8 mg g⁻¹) em relação ao controle, além disto, o teor de *all-trans-luteína* (5.31 ± 0.46 mg L⁻¹) foi encontrado em níveis expressivos.

A adição extra de nitrogênio durante o cultivo de *C. minutissima* imobilizada mostrou-se eficaz na produção de biomassa e compostos de elevado interesse biotecnológicos. Assim, foi possível combinar o enriquecimento nutricional da biomassa com a praticidade da etapa de colheita de células imobilizadas, agregando valor a biomassa.

Agradecimento:



Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico

INTRODUÇÃO

MATERIAL E MÉTODOS

RESULTADOS E DISCUSSÃO

CONCLUSÃO