



## 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.

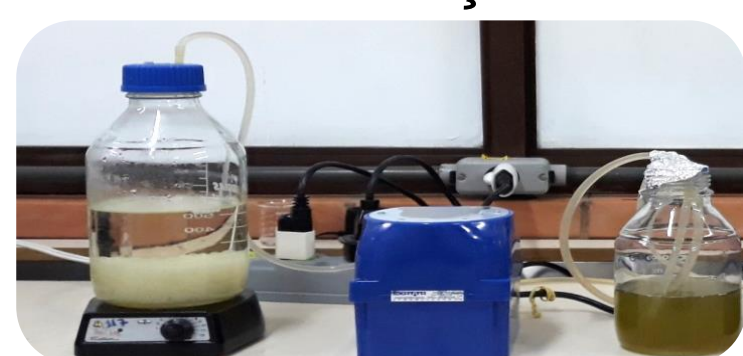


INTRODUÇÃO

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.

MATERIAL E MÉTODOS

### Imobilização



- Alginato de Sódio 8% + *C. minutissima* (1:1) Gotejamento em CaCl<sub>2</sub> 4% - 1h

### Condições do cultivo



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

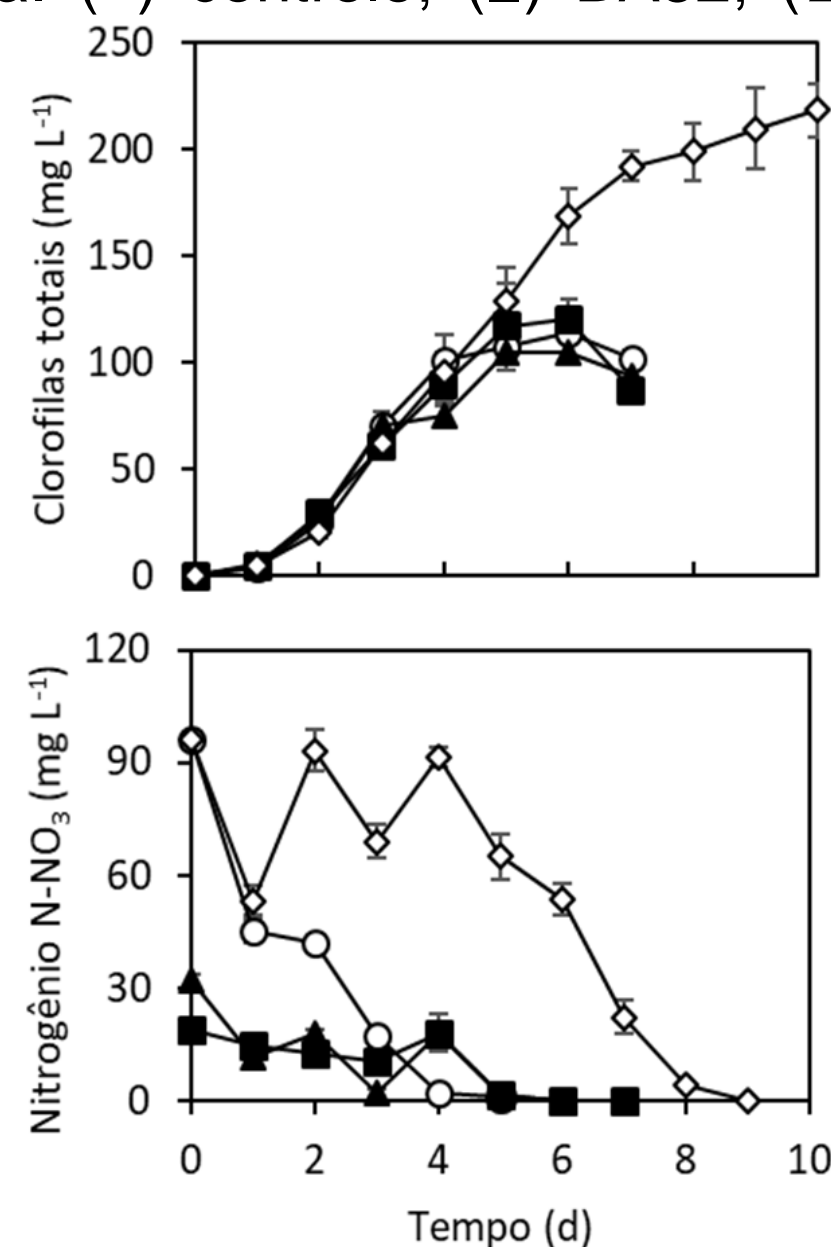
### Determinações

- 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<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub>) e nos cultivos em batelada alimentada (BA), o nitrogênio (96 mg L<sup>-1</sup>) foi dividido em porções de 32 mg L<sup>-1</sup> adicionados nos dias 0, 2 e 4 (BA32), 19,2 mg L<sup>-1</sup> adicionados diariamente durante 5 dias (BA19.2). Adicionalmente, um cultivo foi realizado com adições extras de 96 mg L<sup>-1</sup> N-NO<sub>3</sub> nos dias 0, 2 e 4 (BA96).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

**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<sup>-1</sup>) e clorofilas totais (219 ± 12 mg L<sup>-1</sup>) 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 <sup>-1</sup> )	Adição de Nitrogênio (mg L <sup>-1</sup> N-NO <sub>3</sub> )			
	Controle	FB19.2	FB32	FB96
all-trans-violaxantina	0.36 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.49 ± 0.05 <sup>b</sup>	0.34 ± 0.07 <sup>b</sup>	1.23 ± 0.14 <sup>a</sup>
cis-violaxantina	0.47 ± 0.06 <sup>bc</sup>	0.54 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.41 ± 0.03 <sup>c</sup>	0.89 ± 0.06 <sup>a</sup>
13-cis-luteína	0.31 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.43 ± 0.03 <sup>a</sup>	0.33 ± 0.02 <sup>b</sup>	0.45 ± 0.01 <sup>a</sup>
13'-cis-luteína	0.07 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.08 ± 0.00 <sup>b</sup>	0.11 ± 0.01 <sup>a</sup>
all-trans-luteína	3.96 ± 0.12 <sup>b</sup>	3.90 ± 0.21 <sup>b</sup>	3.17 ± 0.16 <sup>c</sup>	5.31 ± 0.46 <sup>a</sup>
all-trans-zeaxantina	1.30 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.97 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.94 ± 0.14 <sup>b</sup>	0.56 ± 0.02 <sup>c</sup>
cis-zeaxantina	0.05 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.05 ± 0.00 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.06 ± 0.01 <sup>a</sup>
15-cis-β-caroteno	0.10 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.10 ± 0.02 <sup>a</sup>	0.11 ± 0.01 <sup>a</sup>
all-trans-α-caroteno	0.75 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.84 ± 0.09 <sup>b</sup>	0.76 ± 0.5 <sup>b</sup>	1.05 ± 0.04 <sup>a</sup>
13-cis-β-caroteno	0.33 ± 0.01 <sup>b</sup>	0.35 ± 0.04 <sup>ab</sup>	0.31 ± 0.04 <sup>b</sup>	0.42 ± 0.02 <sup>a</sup>
all-trans-β-carotene	1.27 ± 0.02 <sup>b</sup>	1.37 ± 0.14 <sup>b</sup>	1.17 ± 0.08 <sup>b</sup>	1.80 ± 0.09 <sup>a</sup>
9-cis-β-carotene	0.57 ± 0.01 <sup>a</sup>	0.59 ± 0.06 <sup>a</sup>	0.52 ± 0.04 <sup>a</sup>	0.58 ± 0.05 <sup>a</sup>
<b>Total</b>	<b>9.5 ± 0.3<sup>bc</sup></b>	<b>9.7 ± 0.5<sup>b</sup></b>	<b>8.2 ± 0.4<sup>c</sup></b>	<b>12.6 ± 0.8<sup>a</sup></b>

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<sup>-1</sup>) em relação ao controle, além disto, o teor de all-trans-luteína (5.31 ± 0.46 mg L<sup>-1</sup>) foi encontrado em níveis expressivos.

CONCLUSÃO

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:

