

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Efeito do fotoperíodo na produção de lipídios totais e ácidos graxos por *Spirulina* cultivada com LEDs

**Denise da Fontoura Prates¹, Milene Teixeira Barcia¹, Letícia Schneider Fanka¹,
Elisangela Martha Radmann¹, Cristiano Augusto Ballus², Helena Teixeira Godoy² e
Jorge Alberto Vieira Costa¹**

¹Universidade Federal do Rio Grande – Escola de Química e Alimentos
Av. Itália Km 8 Bairro Carreiros – CEP 96203-900 Rio Grande – RS - E-mail:(jorgealbertovc@terra.com.br)

²Universidade Estadual de Campinas – Departamento de Ciência de Alimentos
Rua Monteiro Lobato, 80 – Cidade Universitária Zeferino Vaz – 13083-862 Campinas – SP

RESUMO

*Em cultivos fotoautotófricos a luz está entre os parâmetros que podem afetar o conteúdo lipídico e perfil de ácidos graxos de microalgas. Assim, este trabalho teve como objetivo avaliar a produção de lipídios e o perfil de ácidos graxos na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em diferentes fotoperíodos utilizando LEDs de coloração vermelha. Realizaram-se 3 ensaios: (1) 12 h fluorescente: 12 h escuro, (2) 12 h fluorescente: 6 h LED: 6 h escuro e (3) 12 h fluorescente: 12 h LED. O maior valor de concentração de biomassa ($1,82 \text{ g.L}^{-1} \pm 0,10$) foi obtido com iluminação integral (3). A microalga estudada apresentou em maior porcentagem ácido palmítico, ácido linoleico e ácido γ -linolênico. Com este trabalho, conclui-se que alterações no fotoperíodo e a exposição de LEDs na região do vermelho em cultivos de *Spirulina* alteram a concentração de biomassa e o perfil de ácidos graxos.*

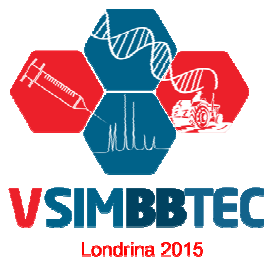
Palavras-chave: microalga, fotoperíodo, LEDs, perfil ácidos graxos

INTRODUÇÃO

Spirulina é uma microalga verde azulada de interesse biotecnológico. Esta apresenta como vantagem rápido crescimento, eficiente produção de lipídios e não requer grandes extensões de terras agrícolas cultiváveis, como as culturas oleaginosas vegetais (ANDRADE; COSTA, 2008).

O acúmulo de lipídios nas microalgas pode ser influenciado por diversos fatores, a luz está entre os principais. Apesar de a iluminação solar ser mais econômica, a artificial nos cultivos torna-se vantajosa por permitir o controle do fotoperíodo, da intensidade de luz (WHAHIDIN; IDRIS; SHALEH, 2013) e da exposição a comprimentos de onda específicos. Além disso, a iluminação pode influenciar o conteúdo de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA). Os PUFA que, fornecem significativos benefícios à saúde humana, reduzindo o risco de doenças cardiovasculares (KLOK et al., 2005).

Os LEDs que são diodos emissores de luz caracterizam-se por apresentar baixo gasto de energia, possuir longo período de vida útil e faixa estreita de comprimento de onda (NHUT; NAM, 2010). Sendo assim, os LEDs apresentam-se como promissoras fontes de luz para serem utilizadas em cultivos de microalga.



V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA

05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

Pouco se conhece sobre a produção de lipídios e perfil de ácidos graxos quando os cultivos microalgais são expostos a diferentes fotoperíodos e à fontes luminosas com comprimento de onda específico na região do vermelho (620-645 nm).

O objetivo desse trabalho foi avaliar a produção de lipídios totais e o conteúdo de ácidos graxos na biomassa de *Spirulina* sp. LEB 18 cultivada em diferentes fotoperíodos utilizando diodos emissores de luz de coloração vermelha.

MATERIAL E MÉTODOS

A microalga utilizada foi *Spirulina* sp. LEB 18 pertencente ao banco de cepas do Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB) da Universidade Federal do Rio Grande (FURG).

Os cultivos foram realizados em triplicata e em fotobiorreatores verticais tubulares de 2 L, com volume útil de 1,8 L, com agitação contínua através da injeção de ar estéril. A concentração inicial de inóculo foi 0,2 g.L⁻¹. Os cultivos foram realizados em câmara termostatzada a 30 °C.

Foram realizados 3 ensaios com diferentes condições de fotoperíodo, ensaio 1: *Spirulina* sp. LEB 18 (12 h fluorescente: 12 h escuro), ensaio 2: iluminação parcial de 18 h (12 h fluorescente: 6 h LED vermelho: 6 h escuro) e ensaio 3: iluminação integral de 24 h (12 h fluorescente: 12 h LED vermelho). Sabendo que o dia tem 24 h, as primeiras 12 h nos 3 ensaios foram fornecidas por lâmpadas fluorescentes à 3200 lux. E o ensaio 2 e 3 tiveram seus fotoperíodos incrementados com a iluminação de LEDs, com comprimento de onda específico na cor vermelha, na faixa de 620-645 nm.

Para determinação da concentração de biomassa, as amostras foram coletadas assepticamente a cada 24 h durante os 10 d de cultivo. A concentração da biomassa (X, g.L⁻¹) foi realizada a partir da leitura da absorbância em espectrofotômetro a 670 nm relacionando-a com prévia curva padrão (SCHIMIDEL et al., 2001). A concentração de biomassa máxima (X_{máx}) definiu-se a partir do maior valor atingido de X (g.L⁻¹) em cada cultivo (SCHIMIDEL et al., 2001).

Ao término dos cultivos, os mesmos foram centrifugados e a biomassa foi liofilizada para posterior realização das determinações de lipídios totais segundo Folch, Less e Stalay (1957).

A análise dos ácidos graxos foi feita a partir do óleo obtido na análise de lipídios. A derivatização foi baseada no trabalho de Joseph e Ackman (1992). A análise em cromatógrafo gasoso, Agilent 7890A (Agilent Technologies, Alemanha), para a determinação de ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMES) foi realizada segundo as condições adaptadas do método descrito por David, Sandra e Vickers (2005). A quantificação foi realizada por normalização de área, calculando-se a porcentagem relativa de área do éster metílico de ácido graxo identificado em relação ao somatório das áreas de todos os ésteres metílicos do cromatograma (área total). A identificação dos picos foi realizada por comparação do tempo de retenção dos padrões de 37 FAMES (Supelco, EUA) com os dos picos observados nas amostras analisadas sob as mesmas condições. A confirmação dos compostos foi feita utilizando um GC-MS Agilent 7890 acoplado com um analisador de massas, do tipo quadrupolo (Agilent 5975c), utilizando EI como fonte de ionização. A análise foi feita no modo scan (50-550m/z) e a identificação foi feita utilizando a biblioteca de espectros de massas da NIST11 observando a concordância de, no mínimo, 80% dos espectros obtidos com os espectros da biblioteca.

As análises foram realizadas em triplicata e tratadas estatisticamente com teste de Tukey para comparação entre médias, com nível de 95 % de confiança (p<0,05).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1 são apresentados os resultados de concentração máxima de biomassa, teor de lipídios totais e na Tabela 2 a porcentagem de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) quando *Spirulina* sp. LEB 18 foi cultivada sob diferentes condições de fotoperíodo. A partir dos dados apresentados, percebe-se que a maior concentração de biomassa foi obtida no ensaio 3, quando a *Spirulina* sp. LEB 18 foi cultivada com iluminação integral (12 h fluorescente: 12 h LED vermelho).

Tabela 1 - Concentração de biomassa máxima (X_{\max}), teor de lipídios totais (%) de *Spirulina* sp. LEB 18 em diferentes condições de iluminação

Ensaio	Condições de iluminação	X_{\max} (g.L ⁻¹)	Lipídios (%)
1	12 h fluorescente: 12 h escuro	1,25±0,07 ^b	13,90±0,22 ^a
2	12 h fluorescente: 6 h LED vermelho: 6 h escuro	1,37±0,07 ^b	11,76±3,74 ^a
3	12 h fluorescente: 12 h LED vermelho	1,82±0,10 ^a	11,30±1,50 ^a

Letras iguais na mesma coluna indicam que não há diferença estatística significativa ($p>0,05$).

Apesar de o conteúdo de biomassa (g.L⁻¹) de *Spirulina* sp. LEB 18 no ensaio 3, ser 1,45 vezes maior do que no ensaio 1, o qual não teve incremento de iluminação por lâmpadas de LED vermelho, os teores de lipídios totais não diferiram estatisticamente. No entanto, a composição dos ácidos graxos determinados nos 3 ensaios foi diversificada (Tabela 2).

Tabela 2- Composição de ácidos graxos de *Spirulina* cultivada em diferentes condições de iluminação (% de área relativa, média±desvio padrão, n=3)

Ácidos Graxos	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3
C10:0	4,71±0,34	4,92±0,90	4,24±0,82
C12:0	0,55±0,06	0,39±0,07	0,44±0,13
C14:0	0,36±0,03	0,31±0,03	0,26±0,06
C14:1	0,23±0,03	0,52±0,07	0,17±0,03
C15:1	0,91±0,19	*	0,50±0,15
C16:0	39,53±3,32	43,13±0,34	41,62±3,07
C16:1	4,76±0,45	4,98±0,34	5,00±0,70
C18:0	1,82±0,63	1,97±0,77	1,29±0,36

V SIMPÓSIO DE BIOQUÍMICA E BIOTECNOLOGIA
05 a 07 de agosto de 2015, Londrina – PR

C18:1, cis	4,20±2,43	3,87±1,58	4,43±1,20
C18:2, cis	16,99±2,39	15,96±1,83	15,63±2,11
C18:3n-6	25,94±2,41	23,76±3,88	26,13±1,75
C20:1n-9	*	0,07±0,01	*
C20:2	*	0,11±0,02	0,14±0,01
C20:3n-6	*	*	0,13±0,00

* Não detectado.

Com base nos resultados percebe-se que nos três ensaios realizados os ácidos graxos encontrados em maior porcentagem foram ácido palmítico (C16:0), ácido linoleico (C18:2, cis) e ácido γ-linolênico. Com relação ao total de ácidos graxos analisados foi observado que os cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 apresentaram valores entre 39,83 e 42,97% de ácidos graxos poli-insaturados quando cultivados com diferentes fotoperíodos e comprimento de onda.

CONCLUSÕES

As mudanças no fotoperíodo e a exposição dos cultivos de *Spirulina* sp. LEB 18 com LEDs com comprimentos de onda na região do vermelho aumentaram a concentração de biomassa e alteraram o perfil de ácidos graxos.

Agências de Fomento: CAPES

REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M.; COSTA, J. A. V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes, **Ciência Agrotécnica**, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, 2008.
- DAVID, F.; SANDRA, P.; VICKERS, A. K. (2005). Column Selection for the Analysis of Fatty Acid Methyl Esters - Application. Agilent Technologies. Available at < <http://www.chem.agilent.com/Library/applications/5989-3760EN.pdf> >.
- FOLCH, J.; LEES, M. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. **Journal Biological Chemistry**. 226, 497-509, 1957.
- JOSEPH, J.D.; ACKMAN, R. G. Capillary column gas chromatographic method for analysis of encapsulated fish oils and fish oil ethyl esters: Collaborative study. **Journal of AOAC International**, 75, 488-506, 1992.
- KLOK, A.J.; LAMERS, P.P.; MARTENS, D.E.; DRAAISMA, R.B.; R.H. WIJFFELS, R.H. Edible oils from microalgae: insights in TAG accumulation **Trends in Biotechnology**, n. 10, v. 32, p. 521-528, 2014.
- NHUT, D.T.; NAM, N.B. **Light-emitting diodes (LEDs): An artificial lighting source for biological studies**. Proceedings of the 3rd International Conference on the Development of BME, 133- 138, 2010.
- SCHMIDELL, W.; LIMA, A. U.; AQUARONE, E.; BORZANI, W. **Biotechnologia Industrial**. São Paulo: E. Blücher, v. 2, p. 254, 2001.
- WAHIDIN, S.; IDRIS, A.; SHALEH, S.R.M.S. The influence of light intensity and photoperiod on the growth and lipid content of microalgae *Nannochloropsis* sp. **Bioresource Technology**, n.129, p. 7-11, 2013.
- WANG, C.; FUB, C.; LIU, Y. Effects of using light-emitting diodes on the cultivation of *Spirulina platensis*. **Biochemical Engineering Journal**. v. 37, p.21-25, 2007.
- ZARROUK, C. **Contribution a l'etude d'une Cyanophyce, Influence de Divers Facteurs physiques et Chimiques sur la Croissance et photosynthese de Spirulina maxima geitler**. Ph.D. Thesis University of Paris. 1966.