

## Área: Ciência de Alimentos

# ATIVIDADE EMULSIFICANTE DE FRAÇÕES LIPÍDICAS OBTIDAS A PARTIR DA MICROALGA *Spirulina platensis*

**Gabriela Santetti, Kelly Pelc da Silva, Telma Elita Bertolin, Luciane Maria Colla\***

*Laboratório de Fermentações, Curso de Engenharia de Alimentos, Faculdade de Engenharia e Arquitetura,  
Universidade de Passo Fundo, Passo Fundo, RS*

*\*Email: lmcolla@upf.br*

**RESUMO:** A produção de biomassa, bem como o acúmulo de lipídios em microalgas, vem crescendo consideravelmente nos últimos anos, tendo em vista a sua aplicabilidade nas mais diferentes áreas. Objetivou-se a caracterização da atividade emulsificante dos lipídios da microalga *Spirulina platensis*. Foram utilizadas as cepas LEB-52 e Paracas da *Spirulina platensis*, as quais foram cultivadas em meio padronizado, em seguida secas para serem utilizadas na extração dos lipídios microalgais. Depois de extraídos os lipídios utilizaram-se para os processos de separação cromatográfica e determinação das atividades emulsificantes óleo em água (O/A) e água em óleo (A/O). Os percentuais de lipídios obtidos foram de 2,81% para a cepa LEB-52 e 3,33% para a cepa Paracas. Já na separação cromatográfica, a cepa LEB-52 apresentou 57% de lipídios apolares, polares e neutros, e para a cepa Paracas 54,3% de lipídios apolares, polares e neutros. Em relação às atividades emulsificantes óleo em água (O/A) dos lipídios extraídos, os resultados obtidos para as cepas LeB-52 foram de 3,23 UE/mglip, já para a cepa Paracas os resultados de óleo em água (O/A) foram de 3,32 UE/mglip. Os lipídios microalgais, juntamente com a atividade emulsificante extraídos da microalga demonstram-se eficientes e com grande potencial para posteriores aplicações.

**Palavras-chave:** Biossurfactante, Cromatografia, Atividade Emulsificante.

## 1 INTRODUÇÃO

As microalgas tem sido foco de muitos estudos nos últimos anos devido a sua grande aplicabilidade nas mais diferentes áreas. A utilização da biomassa da microalga *Spirulina platensis* tem apresentado alto potencial de aplicação em diversos setores, como na indústria de alimentos, na área ambiental, farmacêutica e de biomedicina.

O uso da microalga *Spirulina platensis* traz algumas vantagens, tais como: a possibilidade de crescimento em meios de cultivo de difícil contaminação (elevado pH), a sua atoxicidade, tornando possível a

geração de co-produtos de alto valor agregado para aplicação em inúmeras áreas, e a facilidade de cultivo, em virtude da sua característica filamentosa, em comparação com outras algas (SCOTT et al., 2010).

Os biossurfactantes têm sido produzidos extensivamente pelos mais diversos tipos de microorganismos. De tal forma, sua produção pela microalga traz como principal vantagem a atoxicidade do microorganismo e do bioproduto obtido, de tal maneira que o acréscimo de moléculas de origem lipídica em microalgas pode servir para ambas as aplicações: a produção de biossurfactantes e produção de biocombustíveis.

Os emulsificantes são aditivos de grande importância na indústria de alimentos, gerando várias aplicações, como por exemplo, melhorar a textura e a vida de prateleira de produtos contendo amido, pela formação de complexos, com os componentes destes; modificar as propriedades reológicas da farinha de trigo, pela interação com o glúten; melhorar a consistência e textura de produtos à base de gorduras, pelo controle de polimorfismo e da estrutura cristalina das gorduras, além de promover a solubilização de aromas (SANTOS 2008).

Objetivou-se a caracterização das atividades emulsificantes dos lipídios da microalga *Spirulina platensis*.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas as cepas LEB-52 e Paracas, da microalga *Spirulina platensis*, pertencentes ao banco de cepas do Laboratório de Fermentações da Universidade de Passo Fundo. A manutenção dos inóculos foi realizada utilizando-se o meio Zarrouk (ZARROUK, 1966), diluído a 50% com água destilada, em condições de esterilidade. Os cultivos foram mantidos por 29 d (Cepa Paracas) e 33 d (Cepa LEB-52), com adição de indutores em modo batelada alimentada, a cada 4 d, a partir do momento em que os cultivos atingiram a concentração de  $0,60 \text{ g}_{\text{células}}/\text{L}$ , os quais foram realizados nas condições experimentais de Schmitz (2013), em que apresentaram bons resultados de acúmulo de lipídios para ambas as cepas da microalga *Spirulina*. A Tabela apresenta as condições de cultivo utilizadas para a produção da biomassa das cepas Leb-52 e Paracas da microalga *Spirulina platensis*, segundo otimizado por Schmitz (2013).

Tabela 1: Condições de cultivo utilizadas para a produção da biomassa das cepas Leb-52 e Paracas da microalga *Spirulina platensis*, visando o acúmulo de lipídios intracelulares.

Cepa	Glicose (mmol/L)	Sufato ferroso (mmol/L)	Glicerol (mmol/L)
LEB-52	Sem adição	0,10	0,02
Paracas	1,0	0,05	0,01

### Extração e determinação de lipídios

Após o fim dos cultivos, a biomassa foi filtrada em filtros de poliéster 180 fios em kitazato com utilização de bomba de vácuo, em seguida liofilizada e utilizada para a extração e determinação dos lipídios, os quais foram realizadas pelo método de Folch e Lees (1957), adaptado segundo Colla et al. (2004).

## Separação das frações lipídicas

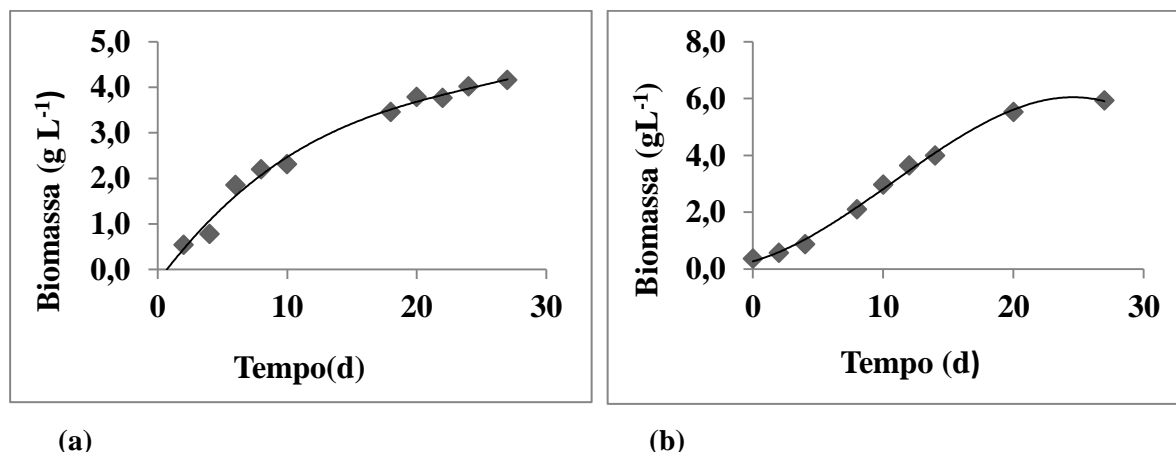
As frações lipídicas foram separadas através de cromatografia em coluna, segundo Maia et al. (1992). A separação dos lipídios totais (LT) em classes lipídicas foi realizada utilizando seringa de vidro de 20 mL como coluna e sílica gel 60 (70-230 mesh) como adsorvente e os solventes clorofórmio, acetona e metanol e água na proporção de (2:1) para eluição, respectivamente, de lipídios neutros (LN), glicolipídios (GL) e fosfolipídios (PL).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### Crescimento celular

As curvas de crescimento celular obtidas durante os cultivos da microalga *Spirulina* para as cepas LEB e Paracas são apresentadas na Figura 1.

Figura 1: Curvas de crescimento celular das microalgas *Spirulina platensis* cepa Leb-52 (a) e Paracas (b).



As concentrações máximas obtidas foram de 4,41 g/L e 6,51 g/L para as cepas Leb-52 e Paracas respectivamente, superiores às obtidas por Schmitz (2013), nas mesmas condições experimentais, de 2,62 g/L e 3,34 g/L, respectivamente.

A tabela 2 apresenta os resultados de produtividade máxima ( $P_{máx}$ , g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{máx}$ , dia<sup>-1</sup>) e acúmulo de lipídios (%) obtidos pela microalga *Spirulina platensis*.

Tabela 2: Produtividade máxima ( $P_{máx}$ , g.L<sup>-1</sup>.dia<sup>-1</sup>), velocidade específica máxima de crescimento ( $\mu_{máx}$ , dia<sup>-1</sup>), e acúmulo de lipídios (%).

Exp	$\mu$ Máx (d <sup>-1</sup> )	Lipídios %
Leb-52	0,0461±0,0029	2,81±0,0014
Paracas	0,1117±0,0068	3,33±0,001

### Extração dos lipídios totais

O percentual de lipídios extraídos da cepa LEB cultivada com adição de ferro e glicerol como indutores da síntese de lipídios foi de 2,52%. A cepa Paracas cultivada com adição de glicose, glicerol e ferro, apresentou 3,33% de lipídios. Esses valores foram inferiores aos obtidos por Schmitz (2013), de 3,32% da cepa Paracas, e 2,35% da cepa Leb-52, nas mesmas condições experimentais. Segundo Khan (2009) as microalgas podem apresentar um teor de lipídios totais que variam de acordo com a espécie, pelo tipo de cultivo utilizado na produção da biomassa e pelos níveis de nutrientes do cultivo. Neste ensaio, apesar das condições experimentais serem as mesmas observadas por Schmitz (2013), verificou-se que tanto os resultados de crescimento celular como os de composição química da microalga, foram diferentes. O maior crescimento algal observado pode ter induzido à menor síntese de lipídios, visto que em condições de maior crescimento o microrganismo acumula maiores quantidades de proteínas, sendo os lipídios acumulados nas fases de menor crescimento celular.

### Determinação das frações lipídicas

As Tabelas 3 e 4 apresentam as frações lipídicas dos lipídios extraídos da microalga *Spirulina platensis* das cepas Leb-52 e Paracas.

Tabela 3: Caracterização das frações lipídicas dos lipídios extraídos da microalga *Spirulina* cepa Leb.

	Cepa LEB			Média	DP*
	% da fração lipídica				
Clorofórmio (Lipídios apolares)	22,2	21,4	14,5	19,4	3,3
Acetona (Lipídios neutros)	33,9	35,5	20,8	30,1	6,2
Metanol + Água (Lipídios polares)	63,1	50,0	57,8	57,0	4,6

\*DP: desvio padrão

Tabela 4: Caracterização das frações lipídicas dos lipídios extraídos da microalga *Spirulina* cepa Paracas.

	Experimento condição Ponto Central Paracas			Média	DP*
	% da fração lipídica				
Clorofórmio (Lipídios apolares)	7,4	8,8	8,0	8,1	0,5
Acetona (Lipídios neutros)	53,7	51,9	42,7	49,4	4,5
Metanol + Água (Lipídios polares)	59,8	51,5	51,6	54,3	3,7

\*DP: desvio padrão

A fração lipídica extraída com Metanol + água (que inclui os fosfolipídios) foi a qual mais destacou dentre os lipídios microalgais contendo 57% dos lipídios para a cepa LEB e 54,3 % para a Paracas. A diferença na quantidade de fosfolipídios pode ser devido aos estágios de desenvolvimento da amostra de alga (NECHEV et

al, 2002). Estes fosfolipídios podem apresentar características tecnológicas importantes como emulsificantes em alimentos, além de constituírem-se lipídios diferentes dos utilizados para a aplicação de lipídios para a produção de biodiesel. Desta forma, considerando-se o conceito de uma biorrefinaria que utilize lipídios microalgais para a produção de biocombustível, esses lipídios polares constituem-se em um subproduto que pode apresentar elevado valor agregado como emulsificante.

A Tabela 5 apresenta as atividades emulsificantes óleo em água (O/A) das frações lipídicas das cepas Leb-52 e Paracas.

	O/A (UA/mg lip) Cepa Leb-52	O/A (UA/mg lip) Cepa Paracas
Cloroformio (Lipídios apolares)	2,68±0,49	4,23±0,72
Acetona (Lipídios neutros)	2,82±0,28	3,16±0,07
Metanol + Água (Lipídios polares)	3,23±0,42	3,34±0,08

A fração lipídica com maior destaque para as cepas LEB-52 e Paracas foi a polar com resultado de 3,23 UE/mg e 3,34 UE/mg, respectivamente. Em comparação com Schmitz (2013), foi obtido para a cepa LEB 4,93 UE/mg da fração dos lipídios totais e para a cepa Paracas 1,32 UE/mg. Nota-se que se obteve o esperado em relação aos outros resultados.

A Tabela 6 apresenta as atividades emulsificantes água em óleo (A/O) das frações lipídicas para as cepas Leb-52 e Paracas.

	A/O (UE/mg lip) Cepa Leb-52	A/O (UE/mg lip) Cepa Paracas
Cloroformio (Lipídios apolares)	17,58±4,66	5,94±0,73
Acetona (Lipídios neutros)	25,8±0,55	-
Metanol + Água (Lipídios polares)	2,01±0,17	19,53±1,04

A fração lipídica com maior destaque para atividade emulsificante A/O para a cepa LEB foi os lipídios neutros com 25,8 UE/mg e para a cepa Paracas a fração lipídica com maior destaque foi os polares com 19,53 UE/mg. Em comparação com Schmitz (2013), para a cepa Paracas a atividade emulsificante de água em óleo foi de 36,56 UE/mg e para a cepa LEB foi de 187,76. Somando todas as frações lipídicas não se obteve o esperado, entretanto o método ainda está em adaptação.

## 4 CONCLUSÃO

Os melhores resultados encontrados para todas as análises foram para a cepa Paracas que obteve 3,33% de lipídios totais, sendo que as frações lipídicas também foram positivas mostrando-se os lipídios polares com maior eficiência com 54,3%.

Para a atividade O/A, a cepa Paracas mostrou-se positiva sendo a fração lipídica com maior destaque a polar com 3,34 UE/mg.

Para a atividade A/O a cepa LEB obteve maior resultado em comparação com a Paracas, a fração lipídica com maior destaque foi a neutra com 25,8 UE/mg.

## 5 AGRADECIMENTOS

Pibic/UPF, a Universidade de Passo Fundo.

## 6 REFERÊNCIAS

FOLCH, J.; LEES, M. A simple method for isolation and purification of total lipids from animal tissues. **J. Biol. Chem.**, v. 226, p. 497-509 1957.

KHAN, Shakeel A.; RASHMI; HUSSAIN, Mir Z.; PRASAD S.; BANERJEE, U.S.; Prospects of biodiesel production from microalgae in India. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.13, 2361–2372, 2009.

MAIA, E. L.; RODRIGUEZ-AMAYA, D. B. Fatty Acid Composition of the Total, Neutral and Phospholipids of the Brazilian Freshwater Fish *Colossoma macropomum*. In: CHARALAMBOUS, G. (Ed.), **Food Science and Human Nutrition**. Amsterdam: Elsevier Science, p. 633-642, 1992.

NECHEV, J., Khotimchenko, S., TONEVA, A, MARINOVA, E, IVANOVA, A, SEIZOVA, K., Phospholipid composition and antioxidative activity of Algae from the Bulgarian Coast. Journal: Comptes Rendus de l'Academie Bulgare des Sciences, vol 55, p.1:75.

SCOTT, S. A. et al. Biodiesel from algae: challenges and prospects. **Current Opinion in Biotechnology**, 21, 277–286, 2010.

SANTOS, L. V. **Emulsificantes – modo de ação e utilização nos alimentos**. 39f. Trabalho acadêmico apresentado ao Curso de Bacharelado em Química de Alimentos. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.