

Área: Ciência dos Alimentos

PRODUÇÃO DE COMPOSTOS ORGÂNICOS VOLÁTEIS EM CULTIVO HETEROTRÓFICO MICROALGAL

Patrícia Acosta Caetano; Pricila Nass Pinheiro; Karem Rodrigues Vieira; Andrieli Borgues Santos; Roger Wagner; Eduardo Jacob-Lopes; Leila Queiroz Zepka*

¹Departamento de Ciência e Tecnologia dos Alimentos, Universidade Federal de Santa Maria, RS

*Email: lqz@pq.cnpq.br

RESUMO - O objetivo do trabalho foi identificar os compostos orgânicos voláteis (COVs) com descritor de aroma a partir de *Phormidium autumnale* cultivada em resíduos agroindustriais. Os experimentos foram realizados em biorreator descontínuo com aeração contínua 1VVM e ausência de luminosidade contendo 2 L água residuária do abate e processamento de aves e suínos, com relação C/N 30, pH 7,6, temperatura de 15 °C e concentração inicial de 100 mg. L⁻¹. O biorreator incluindo unidades de filtração foi esterilizado por autoclave a 121 °C durante 20 min. Os voláteis foram isolados por headspace de microextração em fase sólida em diferentes tempos de residência, e analisados por cromatografia em fase gasosa, associada a espectrometria de massas (SPME-GC / MS). A amostragem foi realizada durante do tempo de residência celular a cada 24 horas no período de 144 horas. O perfil de voláteis com descritor de aroma continha um total de 16 compostos voláteis identificados sendo eles álcoois com destaque para 3-metil-1-butanol (uísque, malte, queimado), 1-pentanol (frutal), cetonas como 4-methyl-2-pentanone (verde), 2-heptanone (sabonete), terpenos como limoneno (limão, laranja) e os compostos sulfurados.

Palavras-chave: *Phormidium autumnale*; compostos voláteis; resíduo agroindustrial.

1 INTRODUÇÃO

As microalgas são uma fonte potencial de biomoléculas de interesse comercial devido ao seu perfil metabólico diversificado, capaz de sintetizar diferentes classes de compostos orgânicos (SANTOS^a et al., 2016). A versatilidade metabólica desses microrganismos sustenta a possibilidade de produção de biomassa a partir de fontes orgânicas sem valor comercial, como resíduos industriais (PEREZ-GARCIA et al., 2011; RODRIGUES et al., 2014).

O crescente interesse em produtos naturais direciona o desenvolvimento de tecnologias que empregam microrganismos, incluindo microalgas, capazes de sintetizar compostos orgânicos voláteis específicos (COVs). Os COVs podem pertencer a diferentes classes de compostos, como álcoois, ésteres, hidrocarbonetos, terpenos, cetonas e compostos sulfurados (SANTOS^a et al., 2016). Sendo que muitos desses voláteis apresentam descritores de odor, como florais, frutados, condimentados, doces, torrados e podem, assim, podem ser usados como agentes aromatizantes na indústria alimentícia e outros usados nas indústrias farmacêutica e química fina.

As microalgas liberam compostos voláteis para os ecossistemas que desempenham papéis importantes na comunicação química. A cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massa (GC-MS), vem sendo utilizada para investigar a fração volátil de algumas espécies de microalgas (LÓPEZ-PÉREZ et al, 2017). Em face disso, estudo tem como objetivo identificar o perfil de compostos orgânicos voláteis com descritor de aroma da microalga *Phormidium autumnale* cultivada em resíduos agroindustriais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

A microalga *Phormidium autumnale* utilizada foi mantida e propagada segundo Santos (2015). Os experimentos foram realizados em um reator de coluna de bolhas (Francisco et al., 2014). O fluxo de ar controlado pelo medidor de fluxo (KI-Key Instruments®, Trevose, PA, EUA) e a entrada de ar e a saída de gases foram filtrados com unidades filtrantes constituídas de membrana de polipropileno, com um diâmetro de poro de 0,22 μm e o diâmetro total de 50 mm (Millex FG®, Billerica, MA, EUA), o biorreator, incluindo unidades filtrantes foram esterilizados em autoclave a 121 °C durante 20 minutos. Os experimentos foram realizados em biorreatores em regime de batelada, alimentado com 2,0 L de água residuária, oriundas do abate e processamento de aves e suínos. As condições experimentais foram as seguintes: concentração inicial do inóculo de 100 mg. L⁻¹, a temperatura de 25 °C, o pH ajustado para 7,6, aeração de 1 VVM (volume de ar por volume de meio por minuto), ausência de luz e relação C/N (Carbono/Nitrogênio) de 30.

Os compostos voláteis formados no bioprocessamento foram isolados pela técnica de micro extração em fase sólida aplicada em headspace (HS-SPME). A amostragem realizada no tempo zero e a cada 24h durante o crescimento celular. A fibra de SPME de revestimento misto empregada foi a DVB/Car/PDMS (50/30 μm ×20 mm, Supelco Bellefonte, PA, USA), pré-condicionada conforme as recomendações fornecidas pelo fabricante. A temperatura de extração de 40°C, com um tempo de equilíbrio de 5 minutos, após exposição da fibra por 45 minutos. A análise dos compostos voláteis foi realizada em um cromatógrafo a gás acoplado a um espectrômetro de massas (GC/MS Shimadzu QP-2010 Plus). As separações cromatográficas foram realizadas em coluna capilar de sílica fundida DB-Wax, com 60 m de comprimento, 0,25 mm de diâmetro e 0,25 μm de espessura de película (Chrompack Wax 52-CB). O gás de arraste utilizado foi o hélio com vazão constante de 1,6 mL. min⁻¹. A temperatura inicial da coluna de 35 °C, permanecendo por 5 minutos, após elevada até 220 °C com gradiente de temperatura de 5 °C. min⁻¹, mantendo-se isotermicamente por 5 minutos. A interface GC/MS e da fonte de ionização foram mantidos a 250 °C. O detector de massas foi operado no modo de ionização por elétrons, com feixe de elétrons a +70 eV. O analisador de massas do tipo quadrupolos foi utilizado no modo de varredura na faixa de 35 a 350 m/z. Os compostos foram identificados primeiramente por comparação dos seus espectros de massa com os do banco de dados espectral da própria biblioteca do GC-MS (NIST MS Search 2.0). A identificação foi confirmada por comparação dos Índices de Retenção Linear calculados.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A tabela I e a figura I mostram a identificação dos compostos voláteis do experimento. Um total de 16 compostos voláteis foram identificados nas amostras estudadas, incluindo 6 álcoois, 3 cetonas, 4 terpenos e 3 pertencentes a outras classes químicas.

Tabela I - Perfil dos compostos voláteis detectados por GC/MS nas amostras de biorreator com índice de retenção (LRI), quantificação de compostos voláteis ($\mu\text{g.L}^{-1}$) obtidos através de diferentes tempos de residência do experimento e o e descritores de odor.

Picos	LRI DB-Wax ^a	Compostos	24 h ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	72 h ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	144 h ($\mu\text{g.L}^{-1}$)	Descritor de aroma ^b
1	1013	4-Metil-2-pentanone	0,62	0,65	nd*	verde
2	1051	Propanol	3,26	nd*	nd*	álcool, pungente
3	1176	Limoneno	1,64	1,17	54,52	limão, laranja

4	1182	2-Heptanone	2,38	nd*	20,85	sabonete
5	1186	1,8 Cineole	nd*	1,93	11,54	especiaria
6	1206	2-Pentilfurano	nd*	nd*	12,82	feijão verde, manteiga
7	1247	1-Pentanol	6,43	nd*	26,27	frutado
8	1255	3-Metil-1-butanol	nd*	1,62	nd*	uísque, malte, queimado
9	1273	2-Octanone	0,64	nd*	20,27	erva, manteiga, resina
10	1338	Hexanol	25,30	1,16	15,86	resina, flor, verde
11	1453	Diidromircenol	2,12	3,56	nd*	limão azedo, cítrico, colônia
12	1484	2-Ethil-hexanol	3,88	1,00	nd*	rosa, verde
13	1640	Mentol	8,62	nd*	9,87	hortelã
14	1767	Citronelol	2,78	3,46	nd*	rose
15	1899	Benzotiazole	4,52	nd*	18,43	sulfúrico, vegetal
16	2434	Benzofenona	nd*	8,51	6,82	balsâmico

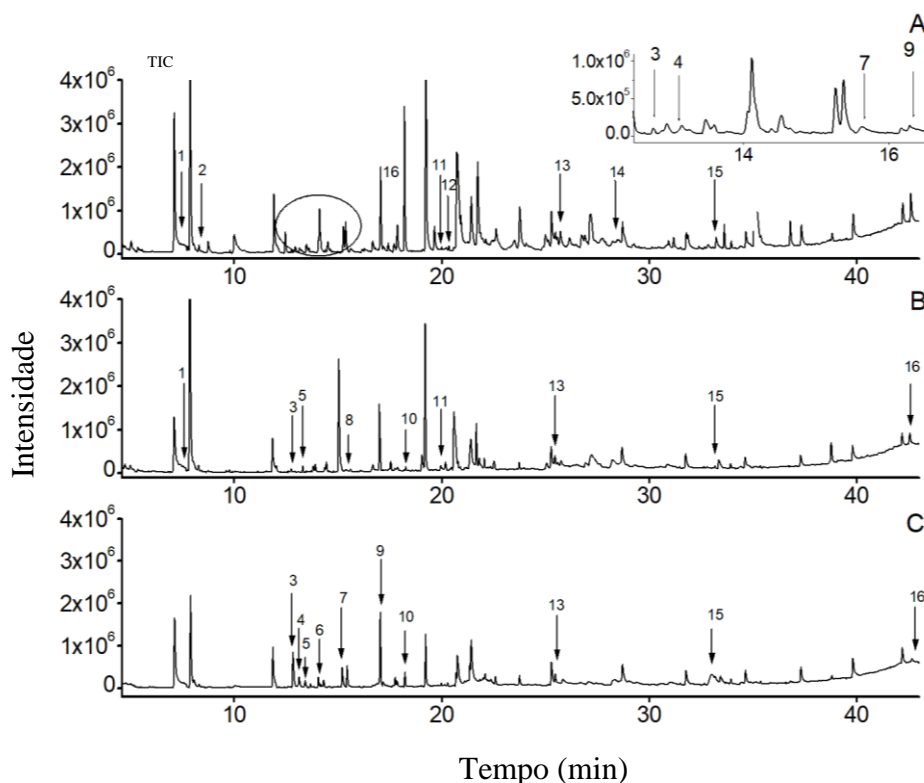
LRI concorda com os da literatura.

^a Índices de retenção linear na coluna DB-Wax

^b De acordo com Acree e Arn (2018)

nd* not detected

Figura I - Cromatograma (corrente iônica total) dos compostos orgânicos voláteis do biorreator. As letras correspondem aos tempos de permanência com os quais os cromatogramas foram obtidos: A = 24 h, B = 72 h e C = 144 h.



O grupo volátil mais produzido no experimento foi os álcoois (Tabela 1). O 1-pentanol (pico 7) foi encontrado em quantidade relativamente alta $26,27 \mu\text{g. L}^{-1}$, em 144 h de cultivo, os compostos lineares de cadeia curta (C3-C5) de álcoois, são uma assinatura química de cianobactérias e foram confirmados em estudos

envolvendo a identificação de voláteis orgânicos nesses microrganismos (SANTOS^b et al., 2016), o álcool propanol (pico 2), (0,65 µg. L⁻¹) em 72 h, é considerado como um composto orgânico volátil de microrganismos com apelo comercial (SANTOS^b et al., 2016).

Da mesma forma, um número relativamente significativo de cetonas foram identificadas no cultivo 2-heptanona (pico 4), benzofenona (pico 16), 4-metil-2-pentanona (pico 1), são gerados principalmente por oxidação durante a degradação de ácidos graxos insaturados ácidos, aminoácidos e micróbios (ZHOU et al., 2016).

Os terpenóides são o grupo de compostos orgânicos amplamente distribuídos em cianobactérias e algas (SINGH et al., 2017), no experimento foram identificados limoneno (pico 8), 1,8 cineole (pico 10), mentol (pico 20) e citrionelol (pico 21), os terpenos podem ser suplementados em produtos por suas fragrâncias e sabores (SINGH et al., 2017).

4 CONCLUSÃO

O cultivo de *Phormidium autumnale* apresentou a capacidade de produzir variedade de compostos voláteis industrialmente interessantes sob condições heterotróficas, indicando seu potencial como fonte renovável destes voláteis.

5 AGRADECIMENTOS

Trabalho apoiado por FAPERGS e CNPq.

6 REFERÊNCIAS

- SANTOS, A. B.; VIEIRA, K. R.; NOGARA, G. P.; WAGNER, R.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L.Q.; **Biogeneration of volatile organic compounds by microalgae: occurrence, behavior, ecological implications and industrial applications. In Volatile organic compounds occurrence, behavior and ecological implications**, p. 1-23, 2017.
- PEREZ-GARCIA, O.; ESCALANTE, F. M. E.; DE-BASHAN, L. E.; BASHAN, Y. **Heterotrophic cultures of microalgae: metabolism and potential products, Water Research**, v. 45, p.11-36, 2011.
- RODRIGUES, D. B.; FLORES, E. M. M.; BARIN, J. B.; MERCADANTE, A.; JACOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q. **Production of carotenoids from microalgae cultivated using agroindustrial wastes, Food Research International**, v. 65, p.144-148, 2014.
- LÓPEZ-PÉREZ, O.; PICON, A., NUÑEZ, M. **Volatile compounds and odour characteristics of seven species of dehydrated edible seaweeds. Food Research International**, v. 99, p. 1002-1010, 2017.
- FRANCISCO, ÉRIKA CRISTINA; FRANCO, TELMA TEIXEIRA; WAGNER, ROGER ; Jacob-Lopes, Eduardo . **Assessment of different carbohydrates as exogenous carbon source in cultivation of cyanobacteria. Bioprocess and Biosystems Engineering (Print)**, v. 1, p. 2-11, 2014.
- SANTOS, A. M.; DEPRA, M. C.; SANTOS, A. M. ; ZEPKA, L. Q. ; JACOB-LOPES, E. . **Aeration Energy Requirements in Microalgal Heterotrophic Bioreactors Applied to Agroindustrial Wastewater Treatment. Current Biotechnology**, v. 05, p. 1-1, 2015.
- ZHOU, L. V.; CHEN, J.; XU, J.; LI, Y.; ZHOUA, C; YAN, X. **Change of volatile components in six microalgae with different growth phases, Journal of the Science of Food and Agriculture**, 97,3, p.761-769, 2016.



X SIMPÓSIO DE ALIMENTOS

Refinarias de Alimentos
Indústrias Sustentáveis

▶ 10 e 11 de maio de 2018

▶ Centro de Eventos
da UPF - *Campus I*

ISSN 2236-0409

v. 10⁰ (2018)

SINGH, R.; PARIHA, P.; SINGH, M.; BAJGUZ, A.; KUMAR, J.; SINGH, S.; SINGH, V. P.; PRASAD, S. M.

Uncovering Potential Applications of Cyanobacteria and Algal Metabolites in Biology, Agriculture and Medicine: Current Status and Future Prospects, *Front Microbiol*, v. 8, n. 112, p. 42-46, 2017.