

Área: Tecnologia de Alimentos

AVALIAÇÃO DA FRAÇÃO PROTEICA DE CIANOBACTÉRIA CULTIVADA EM EFLUENTE AGROINDUSTRIAL

**Patrícia Arrojo da Silva, Tatiele Casagrande do Nascimento, Leila Queiroz Zepka,
Eduardo Jacob Lopes***

Universidade Federal de Santa Maria, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos

**E-mail: jacoblopes@pq.cnpq.br*

RESUMO – As cianobactérias apresentam características biotecnológicas interessantes, sua versatilidade metabólica permite fácil adaptação à ambientes distintos, tais como efluentes agroindustriais. Dessa forma, sua biomassa torna-se fonte economicamente viável para a exploração de biocompostos de interesse comercial, tais como as proteínas. Nesse sentido, objetivou-se avaliar o conteúdo proteico, bem como o perfil e escore químico (EQ) de aminoácidos de *Phormidium autumnale* cultivada em água residuária de indústria de abate de suínos. Os experimentos foram conduzidos em biorreator de coluna de bolhas (2L). As condições experimentais utilizadas foram concentração inicial de inoculo de 100mg.L⁻¹, pH de 7,6, temperatura de 26°C, aeração constante de 1VVM (volume de ar por volume de meio por minuto) e ausência de luminosidade. O teor de proteínas foi determinado em função do conteúdo de nitrogênio. Os aminoácidos foram extraídos por hidrólise ácida, exceto o triptofano que foi hidrolisado enzimaticamente, após foram determinados por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) em coluna de fase reversa C18. O EQ foi estabelecido com base em uma proteína de referência. De acordo com os resultados, obteve-se um teor de 492,8 mg.g⁻¹ de proteína, foram identificados dezessete aminoácidos, dentre esses, todos os essenciais, fenilalanina+tirosina (49,8mg.g⁻¹), leucina (45,7mg.g⁻¹), valina (31,9mg.g⁻¹), treonina (31,4mg.g⁻¹), lisina (25,8mg.g⁻¹), isoleucina (24,1mg.g⁻¹), metionina (7,4mg.g⁻¹), histidina (6,9mg.g⁻¹), e triptofano (2,50mg.g⁻¹). Treonina e fenilalanina+tirosina apresentaram valores biológicos satisfatórios, 1,4 e 1,3, respectivamente. Com base nos resultados, conclui-se que a biomassa microalgal de *Phormidium autumnale* apresenta potencial para exploração de proteínas a partir de resíduos agroindustriais.

Palavras-chave: *Phormidium autumnale*; resíduos agroindustriais; proteínas; aminoácidos.

1 INTRODUÇÃO

O uso de cianobactérias no tratamento de águas residuárias é uma alternativa técnico-econômica potencial em relação aos sistemas convencionais de tratamento secundário e terciário de efluentes. Esses processos podem ser baseados em rotas metabólicas respiratórias, através das quais algumas espécies de cianobactérias são capazes de bioconverter fontes de carbono orgânico e nutrientes inorgânicos à produtos do

metabolismo heterotrófico, tais como proteínas, carboidratos, lipídeos e pigmentos (ZEPKA et al., 2010; SANTOS et al., 2016).

Em virtude disso as microalgas têm sido direcionadas como foco dos processos de biorefinaria economicamente viáveis, visto que, todos os componentes gerados a partir de sua biomassa de possuem alto valor econômico e podem ser aplicáveis em diversos setores industriais (HERRERO et al., 2015; SUGANYA et al., CHEW et al., 2017).

Dentre as inúmeras espécies estudadas de microalgas, o gênero *Phormidium* é um gênero de cianobactérias filamentosas, não ramificadas, que é conhecido pela capacidade de habituar-se em ambientes extremos, como fontes termais, solos desérticos e locais poluídos, o que tornam robustos e possuem requisitos nutricionais simples (GUIRY e GUIR, 2007).

Devido as características de sua biomassa, processos baseados em cianobactérias têm sido considerados tecnologias potenciais para converter resíduos industriais em insumos proteicos usados desde a formulação de rações animais até lipídios para indústria de biodiesel (Jacob-Lopes et al., 2010). Efeitos econômicos positivos, têm conduzidos a um aumento significativo na utilização de microalgas como aditivos, não só na alimentação de animais terrestres, como também na aquicultura (WILLIAMS; LAURENS, 2010). Além disso podem ainda aumentar o conteúdo nutricional de preparações de alimentos convencionais, além de afetar positivamente a saúde humana (SPOLAORE et al., 2006).

Em face disso, o objetivo do estudo foi avaliar o conteúdo proteico, bem como o perfil e escore químico (EQ) de aminoácidos da biomassa de *Phormidium autumnale* cultivada em água residuária de indústrias de abate de suínos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Microrganismo e condições de cultivo

A cianobactéria utilizada foi a *Phormidium autumnale*, isolada do Deserto Cuatro Siengas no México (26°59' N 102°03' W). As culturas reservas foram mantidas e propagadas em agar-agar solidificado (20 g.L⁻¹) com meio sintético BG11 (RIPPKA et al., 1979). As condições de manutenção usadas foram 26°C e intensidade luminosa constante de 1klux.

2.2. Biorreator e condições experimentais

Os experimentos foram conduzidos em um reator de coluna de bolhas operando em regime intermitente com um volume de 2,0L de efluente agroindustrial. As condições experimentais foram: concentração inicial do inoculo de 100 mg/L, a temperatura de 26°C, o pH ajustado para 7,6, aeração de 0,1 VVM (volume de ar por volume de meio por minuto) em ausência de luz.

2.3. Obtenção da biomassa

A biomassa foi separada do meio de cultura por centrifugação, o sobrenadante foi descartado e a biomassa remanescente foi congelada a -18°C por 24 horas. Após foram liofilizadas e armazenados sob refrigeração até o momento da análise.

2.4. Conteúdo proteico, perfil de aminoácido e escore químico

O conteúdo proteico da biomassa foi determinado conforme *Association of the Official Analysis* (AOAC, 2005). Os aminoácidos totais foram determinados por hidrólise ácida com ácido clorídrico 6 N, durante 24 horas. Os aminoácidos foram liberados na hidrólise foram reagidos com fenilisotilcianato (PITC), analisados em HPLC utilizando a coluna C18 LUNA 100Å 5u 250x4,6mm (00G-4252-EQ) e detectados por UV 254 nm. A quantificação foi feita por calibração interna multinível, com auxílio do ácido α -aminobutírico (AAAB) como padrão interno (Sigma-Aldrich Corp, St Louis, MO, EUA). A determinação de triptofano foi feita por método colorimétrico, sua hidrólise foi feita por via enzimática em tampão fosfato e a quantificação foi feita por meio de curva de calibração. O escore químico (EQ) foi calculado com base na proteína de referência para adultos preconizada pela FAO (2007), através da Equação 1.

Equação 1: Cálculo do escore químico (EQ)

$$E.Q = \frac{\text{Concentração de aminoácido proteína teste (mg.g}^{-1}\text{)}}{\text{Concentração de aminoácido proteína referência (mg.g}^{-1}\text{)}}$$

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

O teor proteico, o perfil dos aminoácidos e escore químico da *Phormidium autumnale* cultivada em efluente agroindustrial está apresentado na Tabela I. A biomassa apresentou um teor total de proteína de $492,8\text{mg.g}^{-1}$, no qual foi determinado dezessete aminoácidos, dentre esses todos os essenciais, fenilalanina+tirosina ($49,8\text{mg.g}^{-1}$), leucina ($45,7\text{mg.g}^{-1}$), valina ($31,9\text{mg.g}^{-1}$), treonina ($31,4\text{mg.g}^{-1}$), lisina ($25,8\text{mg.g}^{-1}$), isoleucina ($24,1\text{mg.g}^{-1}$), metionina ($7,4\text{mg.g}^{-1}$), histidina ($6,9\text{mg.g}^{-1}$), e triptofano ($2,50\text{mg.g}^{-1}$).

Tabela I: Teor proteico e perfil de aminoácido da *Phormidium autumnale* cultivada em efluente agroindustrial.

Aminoácido	<i>Phormidium autumnalle</i> (mg.g ⁻¹)	FAO (2007) ¹	EQ ²
Ácido aspártico	51,4	-	-
Ácido glutâmico	56,6	-	-
Serina	26,0	-	-
Glicina	28,6	-	-
Histidina	6,9	15	0,5

Arginina	35,3	-	-
Treonina	31,4	23	1,4
Alanina	44,7	-	-
<hr/>			
Prolina	22,2	-	-
Valina	31,9	39	0,8
Cisteína	3,1	-	-
Metionina	7,4	16	0,5
Isoleucina	24,1	30	0,8
Leucina	45,7	59	0,8
Fenilalanina+Tirosina	49,8	38	1,3
Lisina	25,2	45	0,6
Triptofano	2,5	6	0,4
<hr/>			
Teor proteico total	492,8		

1: valores do aminoácido indispensável referência padrão CE (proteína de referência) para adultos (FAO / WHO 2007); 2: conteúdo de aminoácidos da proteína de teste dividido pelo conteúdo de aminoácidos da proteína de referência;

Esses resultados são próximos ao encontrado por Becker (2004), conforme o autor as proteínas são compostas de diferentes aminoácidos e, portanto, a qualidade nutricional de uma proteína é determinada basicamente pelo conteúdo, proporção e disponibilidade de seus aminoácidos. Há alguns anos se tem movido esforços para explorar novas fontes alternativas de proteínas, principalmente em função das provisões feitas pela Organização das Nações Unidas (ONU/FAO) a cerca de uma futura escassez proteica (WU et al., 2014). O teor proteico associado ao balanço de aminoácidos confirma o elevado valor biológico deste tipo de proteína (JACOB-LOPES et al., 2006; ZEPKA et al., 2010). Em função disso algumas microalgas, podem ser utilizadas como produtos nutracênticos ou ser incluídas em preparações como um composto funcional para prevenir algumas doenças e danos nas células ou tecidos (RAPOSO et al., 2013).

De acordo com (Pires, 2006), a determinação da concentração de aminoácidos por métodos químicos não garante que os mesmos estarão disponíveis biologicamente, em vista disso é necessário estabelecer o escore químico (EQ) desses compostos. Este escore é estabelecido através da relação existente entre os teores dos aminoácidos essenciais de uma proteína padrão, a qual é recomendada pela FAO, e os aminoácidos da proteína que está sob investigação. São considerados aminoácidos de elevado valor biológico aqueles que apresentarem escore químico maior ou igual a 1, ou seja, estes apresentam teores suficientes para suprir as demandas fisiológicas do organismo. Na proteína microalgal em estudo, a treonina e a fenilalanina+tirosina apresentaram escores químicos satisfatórios, 1,4 e 1,3, respectivamente. Esse fato chama atenção para este tipo de proteína uma vez que esses nutrientes assumem funções importantes no metabolismo. A treonina é o segundo aminoácido limitante necessário para manutenção de rotas metabólicas, além disso, está presente em baixas concentrações em todos os cereais e proteínas (FAO, 2007). Enquanto fenilalanina age diretamente na ativação da síntese de tirosina e no desenvolvimento e função neurológica (Wu, 2009).

4 CONCLUSÃO

A biomassa *Phormidium autumnale* apresentou um teor de 492,8mg.g⁻¹ de proteína, onde foram determinados dezessete aminoácidos, dentre esses, todos os essenciais, fenilalanina+tirosina (49,8mg.g⁻¹), leucina (45,7mg.g⁻¹), valina (31,9mg.g⁻¹), treonina (31,4mg.g⁻¹), lisina (25,8mg.g⁻¹), isoleucina (24,1mg.g⁻¹), metionina (7,4mg.g⁻¹), histidina (6,9mg.g⁻¹), e triptofano (2,50mg.g⁻¹). Entre essas a Treonina e fenilalanina+tirosina apresentaram elevados valores biológicos, 1,4 e 1,3, respectivamente. Demonstrando assim, que a biomassa microalgal de *Phordium autumnale* apresenta potencial para exploração de proteínas a partir de resíduos agroindustriais.

5 AGRADECIMENTOS

Trabalho apoiado pelo programa MCTI/CNPq/MEC/CAPES/PROCAD (312564/2015-5).

6 REFERÊNCIAS

- BASTOS, R. G.; SEVERO, M.; VOLPATO, G.; JABOB-LOPES, E.; ZEPKA, L. Q.; QUEIROZ, M. I. Bioconversão do nitrogênio do efluente da parboilização do arroz por incorporação em biomassa da cianobactéria *Aphanothece microscopica Nägeli*. **Revista Ambiente & Água - An Interdisciplinary Journal of Applied Science**. v. 5, n. 3, 2010.
- BECKER, E.W. micro-algae as a source of protein. *Biotechnology Advances*, v.25, n 2, p. 207–210, 2007.
- BECKER, W. Microalgae in human and animal nutrition. In: RICHMOND, A. (Ed). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. London: Blackwell Science, p.312–351, 2004.
- Guiry, M.D., Guiry, G.M. 2017. AlgaeBase. World-Wide Electronic Publication. (National University of Ireland). Available at: <http://www.algaebase.org/> [Accessed Mar. 10, 2017].
- HERRERO, M.; DEL PILAR SÁNCHEZ-CAMARGO, A.; CIFUENTES, A., & IBÁÑEZ, E. Plants, seaweeds, microalgae and food by-products as natural sources of functional ingredients obtained using pressurized liquid extraction and supercritical fluid extraction. **Trends in Analytical Chemistry**, v. 71, p. 26–38, 2015.
- JACOB-LOPES, E.; SCOPARO, C. H. G.; QUEIROZ, M. I.; FRANCO, T. T. Biotransformations of carbon dioxide in photobioreactors. **Energy Conversion and Management**, v. 51, n. 11, p. 894–900, 2010.
- PIRES, C. V.; OLIVEIRA, M.G.A.; ROSA, J.C.; COSTA, N.M.B. Qualidade nutricional de proteínas. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v.26, n.1, p. 179–187, 2006.
- RAPOSO, M. F. D. J. et al. Health applications of bioactive compounds from marine microalgae. **Life Sciences**, v.93, n.15, p.479–486, 2013.
- RIPPKA, R. et al., 1979. Generic assignments strain histories and properties of pure cultures of cyanobacteria. **Journal of General Microbiology**, 111, 61.
- SPOLAORE, P. et al. Commercial applications of microalgae. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v.101, n.2, p.87–96, 2006.
- WILLIAMS, P. J. L. B; LAURENS, L. M. Microalgae as biodiesel & biomass feedstockos: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. **Energy & Environmental Science**, V. 3, n. 5, p. 554–590, 2010.

Wu, G. Amino acids: metabolism, functions, and nutrition. **Amino Acids**, v. 37, n.1, p.1–17, 2009.

WU, G. et al. Production and supply of high-quality food protein for human consumption: sustainability, **challenge**. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v.1321, p.1–14. 2014.

ZEPKA, L. Q.; JACOB-LOPES, E.; GOLDBECK, R.; SOUSA-SOARES, L. A.; QUEIROZ, M. I. Nutritional evaluation of single-cell protein produced by *Aphanothece microscopica* Nägeli. **Bioresource Technology**, v. 101, n. 18, p. 7118–7122, 2010.