

**HARRIET VOLKMANN**

**UTILIZAÇÃO DE REJEITO DE DESSALINIZADOR COMO MEIO DE CULTURA  
ALTERNATIVO PARA CULTIVO DE *Arthrospira (Spirulina) platensis***

**Florianópolis – SC  
2006**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS**

**UTILIZAÇÃO DE REJEITO DE DESSALINIZADOR COMO MEIO DE CULTURA  
ALTERNATIVO PARA CULTIVO DE *Arthrospira (Spirulina) platensis***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciência dos Alimentos, Departamento de Ciência e Tecnologia de Alimentos do Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Santa Catarina, como requisito à obtenção do título de Mestre em Ciência dos Alimentos.

Orientador: Prof. Dr. Ernani Sebastião Sant'Anna

Co-orientador: Prof. Dr. Jorge Luiz Barcelos Oliveira

**HARRIET VOLKMANN**

**Florianópolis – SC  
2006**

*À todos que acreditaram em mim e me apoiaram durante este período de minha vida.*

## AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. Ernani Sebastião Sant’Anna, pela orientação, paciência e, sobretudo, pelo esforço exercido no desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Jorge Luiz Barcelos Oliveira, pela co-orientação.

À Profa. Dra. Eliana Badiale Furlong, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, por seu empenho e ajuda na parte experimental.

Ao Prof. Dr. Kepler Borges França, da Universidade Federal de Campina Grande, por ter fornecido o rejeito de dessalinizador.

Aos professores Drs. Luiz Henrique Beirão, Edna Regina Amante e Alicia de Francisco pela colaboração e compreensão.

À Dra. Silvana Ohse, Dr. Fabiano Cleber Bertoldi e aos colegas de laboratório Renata, Sabrina e Maurício, pelo apoio no projeto.

À “tia” Gaby e “tio” Carlos, pelo carinho e amizade, com os quais sempre me receberam.

À meus pais, pelo apoio, carinho, compreensão e amor dispensados.

À Memê e Frank, pelo carinho, amizade e ensinamentos para a vida.

Ao meu namorado Ulisses, pela paciência, auxílio e por estar sempre do meu lado me incentivando a seguir em frente.

À Deus.

## SUMÁRIO

|   |      |
|---|------|
| <b>LISTA DE FIGURAS</b> .....   | vii  |
| <b>LISTA DE TABELAS</b> .....   | viii |
| <b>LISTA DE ABREVIATURAS</b> .....  | ix   |
| <b>RESUMO</b> .....   | x    |
| <b>ABSTRACT</b> .....   | xi   |
| <br>  |      |
| <b>INTRODUÇÃO</b> .....   | 1    |
| <br>  |      |
| <b>CAPÍTULO 1</b> .....   | 3    |
| <b>1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA</b> .....  | 4    |
| 1.1 Rejeito de dessalinizador .....   | 4    |
| 1.1.1 Questão climática e geológica .....   | 5    |
| 1.1.2 Uso de águas subterrâneas e dessalinização .....  | 6    |
| 1.2 Microalgas .....  | 8    |
| 1.2.1 Taxonomia e morfologia .....  | 9    |
| 1.2.2 Hábitat .....   | 10   |
| 1.2.3 Composição bioquímica e importância econômica .....   | 11   |
| 1.3 Cultivo unicelular .....  | 18   |
| 1.3.1 Ciclo de crescimento microbiano .....   | 19   |
| 1.3.2 Condições de cultivo .....  | 20   |
| 1.4 Compostos unicelulares .....  | 22   |
| 1.4.1 Proteínas unicelulares ( <i>Single-Cell Proteins</i> ) .....  | 22   |
| 1.4.2 Óleos unicelulares ( <i>Single-Cell Oils</i> ) .....  | 24   |
| 1.4.3 Nutrição e segurança .....  | 25   |
| <b>2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b> .....   | 27   |
| <br>  |      |
| <b>CAPÍTULO 2</b> .....   | 33   |
| Cultivo de <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> em rejeito de dessalinizador e meio salinizado: Teor protéico e perfil de aminoácidos ..... | 34   |
| RESUMO .....  | 34   |
| ABSTRACT .....  | 35   |

|   |    |
|---|----|
| 1 INTRODUÇÃO .....  | 36 |
| 2 MATERIAIS E MÉTODOS .....   | 36 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....  | 39 |
| 3.1 Efeito do meio de cultura no crescimento .....  | 39 |
| 3.2 Efeito do meio de cultura no teor protéico e de aminoácidos .....   | 40 |
| REFERÊNCIAS .....   | 43 |
| <br>  |    |
| <b>CAPÍTULO 3</b> .....   | 46 |
| Uso de rejeito de dessalinizador para o cultivo de <i>Arthrospira (Spirulina) platensis</i> : perfil de ácidos graxos ..... | 47 |
| RESUMO .....  | 47 |
| ABSTRACT .....  | 48 |
| 1 INTRODUÇÃO .....  | 49 |
| 2 MATERIAIS E MÉTODOS .....   | 50 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO .....  | 52 |
| 3.1 Efeito do meio de cultura no crescimento .....  | 52 |
| 3.2 Efeito do meio de cultura no teor lipídico e perfil de ácidos graxos .....  | 54 |
| REFERÊNCIAS .....   | 58 |
| <br>  |    |
| <b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b> .....   | 62 |
| <b>SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS</b> .....   | 63 |
| <br>  |    |
| <b>ANEXOS</b> .....   | 64 |
| Anexo 1 – Curvas de calibração de <i>Arthrospira platensis</i> .....  | 65 |
| Anexo 2 – Fluxograma do projeto .....   | 70 |

## LISTA DE FIGURAS

### CAPÍTULO 1

- Figura 1:** Processos de osmose, equilíbrio osmótico e osmose reversa. As setas indicam a direção da água ..... 7
- Figura 2:** Tricoma de *Arthrospira platensis* ..... 10

### CAPÍTULO 2

- Figura 1:** Curva de crescimento de *Arthrospira platensis* nos diferentes meios de cultura, valores médios de quatro repetições ..... 39

### CAPÍTULO 3

- Figura 1:** Produtividade, em  $\text{g.L}^{-1}$ , da microalga *Arthrospira platensis* ao longo do tempo, valores médios de quatro repetições ..... 53
- Figura 2:** Proporção de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, em % do total de lipídios, em *Arthrospira platensis* ..... 56

## LISTA DE TABELAS

## CAPÍTULO 1

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1:</b> Composição química básica de <i>Arthrospira platensis</i> e <i>Arthrospira maxima</i> , em % de peso seco .....  | 13 |
| <b>Tabela 2:</b> Composição de aminoácidos em proteínas alimentares, <i>Arthrospira platensis</i> e requerimentos em aminoácidos essenciais da FAO, em g/100g de proteína total .....                   | 14 |
| <b>Tabela 3:</b> Conteúdo vitamínico de <i>Arthrospira platensis</i> comparado ao do espinafre (em mg.kg <sup>-1</sup> de peso seco) e à ingestão diária recomendada (IDR), em mg.d <sup>-1</sup> ..... | 15 |
| <b>Tabela 4:</b> Composição de ácidos graxos de <i>Arthospira</i> e <i>Chlorella</i> , em % dos lipídios totais .....   | 16 |

## CAPÍTULO 2

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1:</b> Aminoácidos totais de <i>Arthrospira platensis</i> , em g/100g de proteína ..... | 41 |
|---|----|

## CAPÍTULO 3

|   |    |
|---|----|
| <b>Tabela 1:</b> Composição de ácidos graxos dos lipídios totais para cada meio de cultura (%) .. | 54 |
|---|----|

## LISTA DE ABREVIATURAS

|                        |   |
|------------------------|---|
| kcal.g <sup>-1</sup> : | Quilocaloria por grama  |
| γ:                     | Gama  |
| α:                     | Alfa  |
| ω:                     | Ômega   |
| Δ / δ:                 | Delta   |
| DHA:                   | Ácido graxo docosaheptaenóico   |
| PUFA:                  | Ácido graxo poliinsaturado  |
| FAO:                   | Organização para a Agricultura e a Alimentação  |
| μm:                    | Micrômetro  |
| SCO:                   | <i>Single-Cell Oil</i> – óleo unicelular  |
| RNAses:                | Enzimas que clivam RNA  |
| GRAS:                  | <i>Generally Regarded as Safe</i> – geralmente considerada como segura                    |
| ppm:                   | Parte por milhão  |
| ‰:                     | Por mil   |
| Δπ:                    | Pressão osmótica  |
| rpm:                   | Rotações por minuto   |
| v/v:                   | Volume / volume   |
| nm:                    | Nanômetro   |
| aa:                    | Aminoácido  |
| Gly:                   | Glicina   |
| Ala:                   | Alanina   |
| Val:                   | Valina  |
| Leu:                   | Leucina   |
| Ile:                   | Isoleucina  |
| Met:                   | Metionina   |
| Cys:                   | Cisteína  |
| Cys <sub>2</sub> :     | Cistina   |
| Ser:                   | Serina  |
| Thr:                   | Treonina  |
| Asp:                   | Ácido aspártico   |
| Tyr:                   | Tirosina  |
| Phe:                   | Fenilalanina  |
| Trp:                   | Triptofano  |
| Glu:                   | Ácido glutâmico   |
| His:                   | Histidina   |
| Lys:                   | Lisina  |
| Arg:                   | Arginina  |
| Gln:                   | Glutamina   |
| Asn:                   | Asparagina  |
| Pro:                   | Prolina   |
| SCP:                   | <i>Single-Cell Protein</i> – proteína unicelular  |
| HPLC:                  | <i>High Performance Liquid Chromatography</i> – cromatografia líquida de alta performance |

## RESUMO

Este estudo teve como objetivo a utilização de rejeito de dessalinizador no cultivo de *Arthrospira platensis*, cultivada em fotobiorreatores de 4 L, sob condições laboratoriais controladas de 30°C, iluminação de 140  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , fotoperíodo de 12 horas claro/escuro e insuflação constante de ar atmosférico. Utilizaram-se os seguintes meios de cultura: Paoletti (controle), Paoletti suplementado com 1,0  $\text{g.L}^{-1}$  de NaCl (água salinizada) e rejeito de dessalinizador adicionado de 50% dos sais do Paoletti. Foram avaliadas a biomassa produzida, velocidade específica de crescimento, produtividade em células, teor total de proteínas, perfil aminoacídico, lipídios totais e composição de ácidos graxos. Os cultivos foram mantidos até o declínio do crescimento celular. Os maiores valores de biomassa (4,954  $\text{g.L}^{-1}$ ) e produtividade em células (0,225  $\text{g.L}^{-1}$ ) foram encontrados no rejeito de dessalinizador, enquanto que a velocidade específica de crescimento máxima (0,393  $\text{dia}^{-1}$ ) ocorreu no cultivo em meio Paoletti. Os teores de proteína total foram de 56,17% no rejeito e 48,59% na água salinizada e, com exceção de lisina e triptofano, todos os aminoácidos essenciais encontram-se acima dos valores mínimos requeridos pela FAO. Foram obtidos teores de lipídios de 4,54% e 4,69% no rejeito e água salinizada, respectivamente, sendo que destes, 57,69% e 54,79% eram compostos de ácidos graxos saturados.

## ABSTRACT

The present study aimed to use desalination wastewater in the culture of *Arthrospira platensis*, grown in 4 L photobioreactors, under controlled laboratory conditions of 30°C, 140  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  of photon flux intensity, 12 hours light/dark cycle and constant air bubbling. The following media were used: Paoletti (control), Paoletti supplemented with 1.0  $\text{g.L}^{-1}$  of NaCl (salinized water) and desalination wastewater added with 50% of Paoletti's salts. The following parameters were analyzed: biomass produced, specific growth rate, cell productivity, total protein content, amino acid profile, total lipids and fatty acid composition. The cultures were kept until cellular growth decline. The highest values for biomass (4.954  $\text{g.L}^{-1}$ ) and cell productivity (0.225  $\text{g.L}^{-1}$ ) were found on the desalination wastewater, while the maximum specific growth rate occurred on the Paoletti medium. Total protein content were of 56.17% (wastewater) and 48.59% (salinized water) and, with exception of lysine and tryptophan, every essential amino acid was above FAO's minimum requirements. Lipid values were of 4.54% and 4.69% on the wastewater and salinized water respectively and, of these, 57.69% and 54.79% were composed of saturated fatty acids.

## INTRODUÇÃO

Em diversas regiões do planeta, principalmente nas áridas e semi-áridas, há a necessidade da utilização de águas subterrâneas. Porém, devido a características geológicas e climáticas, além de ações antrópicas (urbanização, desmatamento, mineração, atividade agrícola, entre outros), muitos destes aquíferos apresentam concentrações salinas em níveis superiores aos recomendados para o consumo. Assim, para que estas águas possam ser utilizadas para o consumo humano, faz-se necessária a utilização de processos de dessalinização. Estes, no entanto, produzem rejeitos com elevadas concentrações salinas que apresentam grande impacto ambiental.

A dessalinização da água salobra na região semi-árida do nordeste brasileiro é uma solução para o problema da falta de água, porém existem dificuldades em encontrar-se um destino para o rejeito. Vários estudos têm sido realizados para a utilização deste, como na criação de tilápias, na carcinicultura e na irrigação de plantas halófilas, como a *Atriplex* spp, utilizada na alimentação do gado.

Ao mesmo tempo, os microrganismos podem ser cultivados a partir de rejeitos, como soro de queijo, mosto, celulose, entre outros. Nos últimos anos, têm-se utilizado muitos microrganismos destinados à obtenção de biomoléculas de alto valor agregado. Assim, várias microalgas e seus derivados, estão sendo produzidos comercialmente em nível mundial.

A microalga *Arthrospira platensis*, por exemplo, apresenta os maiores índices de produção de biomassa dentre as espécies conhecidas. Dentre os compostos por ela produzidos destacam-se: ficocianinas, clorofila  $\alpha$ ,  $\beta$ -carotenos e ácido  $\gamma$ -linolênico, entre outros ácidos graxos, além de possuir níveis excepcionalmente elevados de proteínas.

Desequilíbrios alimentares, como a desnutrição e a má alimentação, são um problema atual em todo o mundo. Assim, há a necessidade da produção de alimentos que possuam perfis nutricionais balanceados. Além disso, devido ao crescimento populacional, as demandas alimentícias são cada vez mais elevadas. Desta forma, a produção de alimentos e compostos de interesse por meio de microalgas torna-se importante, pois podem ser cultivadas em locais

impróprios para a agricultura e pecuária tradicionais. Assim, além de produzirem grande quantidade de biomassa em um curto período de tempo, também há a possibilidade de seleção de cepas e condições de cultivo apropriadas à produção do composto desejado.

Como a *Arthrospira platensis* é uma microalga cujo ambiente natural dá-se em águas com concentrações salinas relativamente elevadas, foram utilizadas neste trabalho água salinizada e de rejeito de dessalinizador para o preparo dos meios de cultura. Foram também determinados os teores de proteínas e lipídios, bem como os perfis de aminoácidos e ácidos graxos tanto na biomassa cultivada no rejeito de dessalinizador quanto na água salinizada.

## **CAPÍTULO 1**

### **REVISÃO BIBLIOGRÁFICA**

## 1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 1.1 Rejeito de dessalinizador

A água é um recurso natural limitado e essencial à vida e atividades industriais. Sua disponibilidade na superfície ou abaixo dela depende de diversos fatores como o clima, relevo, geologia da região, entre outros (BRASIL, 2004).

O semi-árido brasileiro ocupa uma área aproximada de 900.000 km<sup>2</sup>, o que representa cerca de 60% da região nordeste (ALBINATI et al., 2003; RIFFEL, 2005). Esta área, também conhecida como Polígono das Secas, está compreendida dentro da isoietas de precipitação de 800 mm anuais (BRASIL, 2004).

Quando se faz referência a zonas áridas e semi-desérticas do planeta, estão sendo denominadas áreas que possuem água em quantidade insuficiente para satisfazer as variadas demandas de sua população. Essas áreas possuem características ambientais singulares que, nitidamente, as diferenciam de outras (SUASSUNA, 2005).

Vastas áreas do semi-árido nordestino sofrem com o problema crônico das baixas precipitações pluviométricas e das secas periódicas, somados à ocorrência freqüente de elevados níveis de salinização dos seus mananciais (MONTEIRO e PINHEIRO, 2004).

Pode-se detectar nestas áreas um total descaso das autoridades com relação ao seu potencial econômico, salvo nas áreas que contenham recursos naturais valiosos (ouro, cobre, xelita, pedras preciosas, petróleo, etc.), ou em zonas destinadas ao turismo ou à experimentação científica (SUASSUNA, 2005). Devido a políticas de gerenciamento hídrico errôneas, existem nesta região poços, além de milhares de açudes de pequeno e médio porte abandonados (ALBINATI et al., 2003).

Geralmente, um dos elementos diferenciadores de tais zonas é a carência de recursos hídricos, conseqüência da irregularidade na distribuição espacial das chuvas e dos baixos volumes precipitados e acumulados em determinadas estruturas geológicas (RIFFEL, 2005;

SUASSUNA, 2005). Além disso, há a ausência quase que completa de gerenciamento desses recursos, configurando-se em um quadro inóspito e de difícil convívio para os seres vivos que habitam a região (SUASSUNA, 2005).

Para Suassuna (2005), a escassez de água no nordeste ocorre devido a problemas associados com a falta de planejamento governamental, aliados às características geoambientais.

### 1.1.1 Questão climática e geológica

Apesar de várias massas de ar (Equatorial Atlântica, Equatorial Continental, Polar e as Tépidas Atlântica e Kalaariana) influenciar no clima da região, estas penetram o continente com pouca energia. Isto influi no volume das precipitações bem como em sua distribuição temporal (SUASSUNA, 2005).

Outro fator importante é a proximidade com a linha do Equador, que condiciona temperaturas elevadas, além de incidência solar e taxa de evapotranspiração altos (BRASIL, 2004; SUASSUNA, 2005). Em algumas regiões pode ocorrer evaporação de  $7 \text{ mm.dia}^{-1}$  (SUASSUNA, 2005).

A qualidade da água resulta da forma como o solo é utilizado e da ocupação humana na bacia hidrográfica. Desta forma, ela é afetada tanto por condições climáticas e geológicas quanto antrópicas (ALBINATI et al., 2003).

A região nordeste é formada por duas estruturas geológicas básicas, o embasamento cristalino e as bacias sedimentares, sendo que 70% da região semi-árida é formada pela primeira estrutura (SUASSUNA, 2005).

O embasamento cristalino, caracterizado pela presença de rios temporários, possui pouca água no subsolo, apresentando potencial hídrico de apenas  $80 \text{ km}^3.\text{ano}^{-1}$ . Isto se deve à baixa taxa de infiltração e grande capacidade de escoamento superficial neste tipo de solo. Desta forma, as águas subterrâneas ocorrem principalmente em fraturas de rochas e próximas a rios.

Porém estas mineralizam-se (salinizam) facilmente, o que compromete sua qualidade (SUASSUNA, 2005).

As bacias sedimentares, por sua vez, possuem grande volume de águas subterrâneas, porém estima-se que 70% deste volume situam-se em terras do Piauí e Maranhão. Com relação ao seu potencial hídrico, este varia de  $100 \text{ km}^3 \cdot \text{ano}^{-1}$  (Alagoas/Sergipe) até  $17.500 \text{ km}^3 \cdot \text{ano}^{-1}$  (Maranhão). De todos os estados nordestinos pertencentes à região do semi-árido, o Piauí é o que fornece os maiores volumes de água ( $5.000 \text{ m}^3 \cdot \text{hab}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ ). Todos os outros, com exceção da Bahia, fornecem valores abaixo de  $2.500 \text{ m}^3 \cdot \text{hab}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$ , sendo considerados pobres em água. Dentre eles, destacam-se a Paraíba e Pernambuco como os estados com a menor oferta hídrica, ocorrendo, no último, uma oferta de apenas  $1.320 \text{ m}^3 \cdot \text{hab}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$  (SUASSUNA, 2005).

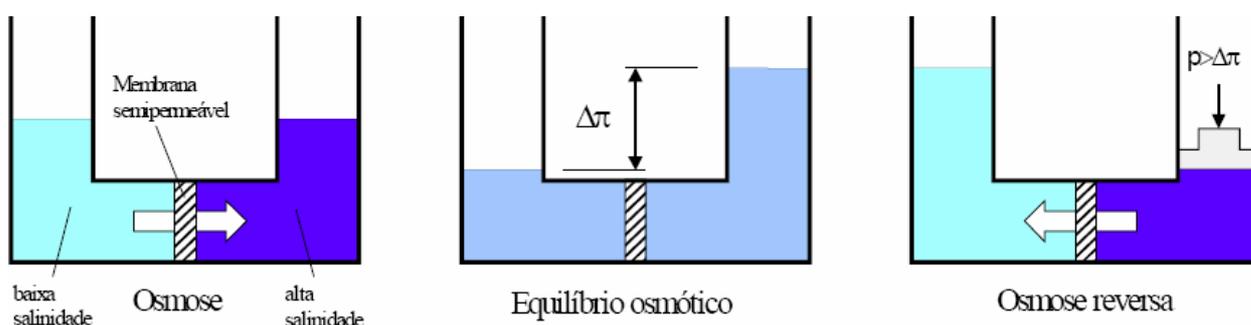
### 1.1.2 Uso de águas subterrâneas e dessalinização

Uma das formas de amenizar o quadro de déficit hídrico da região seria uma maior utilização das águas subterrâneas. Porém, devido à qualidade química muitas vezes não favorável, ou seja, elevados teores salinos, estas águas necessitam ser dessalinizadas (LABORDE et al., 2001; SUASSUNA, 2005). Isto se torna necessário uma vez que a quantidade máxima de sólidos totais dissolvidos aceitável para o consumo humano é de 1.000 ppm ( $1 \text{ g} \cdot \text{L}^{-1}$ ). Valores acima deste podem causar danos à saúde (MONTEIRO e PINHEIRO, 2004).

Segundo o Conselho Nacional do Meio Ambiente, através da Resolução nº 357, de 17 de março de 2005, considera-se água doce àquela que possui salinidade igual ou inferior a 0,5‰ (500 ppm); salobra aquela com salinidade superior a 0,5‰ e inferior a 30‰; e salina a que possui salinidade acima de 30‰ (30.000 ppm).

Com a tecnologia disponível atualmente, a água salobra pode ser tratada por diferentes métodos, dentre os quais se destaca o processo de dessalinização por osmose reversa (FATH, 1998; MAHI, 2001; ALBINATI et al., 2003; FURTADO e MOTA, 2003). Este processo é extremamente eficiente, de modo que águas salobras passem a apresentar apenas traços de sais após dessalinização (SUASSUNA, 2005).

O processo de osmose reversa consiste no bombeamento de água com altas concentrações salinas contra membranas seletivas (Figura 1). Neste caso, existe a necessidade de pressões de bombeamento maiores do que a osmótica ( $\Delta\pi$ ), de modo a eliminar os sais presentes. Este processo não necessita de nenhuma transformação química ou biológica, sendo a seletividade alterada apenas pelo tamanho dos poros da membrana, que podem barrar ainda, vírus e bactérias (RIFFEL, 2005).



**Figura 1:** Processos de osmose, equilíbrio osmótico e osmose reversa. As setas indicam a direção da água (RIFFEL, 2005).

Esta técnica utiliza filmes de porosidade controlada, sendo os polímeros orgânicos mais utilizados, podendo-se destacar três gerações distintas destas. A primeira apresentava membranas simétricas com poros regulares que atravessam toda a espessura da membrana, possuindo baixa produtividade e resistência mecânica. Na segunda geração, chamada de membranas assimétricas ou anisotrópicas, houve o surgimento de finas películas filtrantes sobre uma estrutura mais grossa e porosa, o que garantia estabilidade mecânica ao conjunto. Esta redução da película diminuiu a resistência à filtração e, assim, o consumo energético. A terceira geração introduziu membranas compostas de diferentes polímeros, permitindo uma diminuição ainda maior da espessura da película filtrante, minimizando o consumo energético e elevando a resistência mecânica. Atualmente predominam as de terceira geração (RIFFEL, 2005).

No entanto, há problemas com relação ao destino do rejeito produzido por este processo, já que é um material extremamente rico em sais. Este rejeito provoca grande impacto ambiental, pois é disposto, normalmente, em lagoas de decantação ou mesmo ao ar livre (ALBINATI et al., 2003; FURTADO e MOTA, 2003; SUASSUNA, 2005).

Devido à capacidade poluidora deste material, diversas pesquisas têm sido realizadas de modo a encontrar alguma utilização para ele. Pode-se citar o uso para fins pecuários, carcinicultura (camarões marinhos), piscicultura (tilápias) e no cultivo de plantas tolerantes a altas concentrações salinas (halófilas), como a *Atriplex* spp, conhecida como erva-sal que é utilizada como recurso forrageiro para o gado. Estas ações constituem formas de conciliar a produção de água de qualidade com a produção de alimentos (ALBINATI et al., 2003; SUASSUNA, 2005). No entanto, o uso prolongado de rejeitos salinos ou ricos em sódio pode ser prejudicial ao solo, podendo causar erosão da estrutura do mesmo, além de afetar a produtividade. Como consequência, o uso da terra torna-se não sustentável a longo prazo (HUSSAIN et al., 2002).

Existem algumas poucas algas e bactérias que toleram ou requerem altas concentrações de sal para seu crescimento, sendo chamadas de halotolerantes e halofílicas, respectivamente. Estas suportam tais condições excluindo de suas células as altas concentrações de íon sódio que geralmente prevalecem nesses ambientes (BRASIL, 2002). Dentre as algas que suportam altas concentrações salinas, destacam-se as cianofíceas, em especial *Arthrospira platensis*, que sobrevive em condições de pH (10-11) e salinidade não toleradas por outros organismos (KEBEDE, 1997).

## 1.2 Microalgas

Segundo Richmond (2004), organismos que possuam clorofila *a* e um talo não diferenciado em raiz, caule e folhas são considerados algas. Por sua vez, as microalgas são definidas pelos ficólogos modernos como sendo algas microscópicas propriamente ditas juntamente com bactérias fotossintetizantes aeróbias.

O interesse por estes dois grupos de organismos fotossintetizantes, microalgas e bactérias aeróbias, recai em seu potencial de utilização na produção de biomassa para alimentação de humanos e animais, bem como na produção de compostos químicos específicos (RICHMOND, 2004). Zittelli et al. (1999) afirmam que, no passado, diversas espécies de fungos e bactérias foram reconhecidas como fontes produtoras de ácidos graxos. No entanto, os longos períodos fermentativos destes organismos tornaram estas fontes não viáveis comercialmente. O mesmo

poderia ser esperado de microalgas, mas mudanças nas condições ou mesmo novas formas de cultivo melhoram os níveis de produtividade, aumentam o grau de controle do processo e diminuem os custos, tornando estas culturas viáveis comercialmente.

Entre os procariotos fotoautotróficos, as cianofíceas do gênero *Arthrospira* são as mais cultivadas para produção de suplementos alimentares (RICHMOND, 2004).

Além de serem utilizados como fonte de rações animais e compostos químicos finos, também são explorados como agente terapêutico (RICHMOND, 2004). Segundo Duarte Filho et al. (2002), *Arthrospira platensis* é a microalga mais cultivada mundialmente por apresentar de 60 a 70% de proteína, bem como elevadas concentrações de ácido  $\gamma$ -linolênico.

### 1.2.1 Taxonomia e morfologia

A microalga *Arthrospira platensis* pertence à Família Oscillatoriaceae, sendo esta Família considerada a mais simples das Cyanophyta (BOLD e WYNNE, 1985). As cianofíceas figuram entre os mais antigos seres vivos deste planeta, aparecendo no registro fóssil de 1,9 bilhão de anos. Foram possivelmente os primeiros organismos capazes de dissociar moléculas de água, apresentando, assim, papel fundamental na evolução da atmosfera primitiva da Terra (MARGALEF, 1983). As cianofíceas, assim como algumas bactérias, podem crescer em condições extremamente adversas, que variam desde fontes termais até geleiras antárticas (RAVEN et al., 1996).

Devido ao fato da *A. platensis* originalmente ter pertencido ao gênero *Spirulina*, ela pode ser encontrada sob a designação errônea de *Spirulina platensis*. Isto ocorre mais por motivos tradicionais, práticos e tecnológicos do que taxonômicos, pois este microrganismo é conhecido comercialmente há muito tempo. Assim sendo, pode-se esperar que o nome *S. platensis* continue a ser utilizado. Porém, cabe ressaltar que estes gêneros são diferentes e filogeneticamente distantes, apesar de compartilharem a mesma morfologia helicoidal (VONSHAK, 1996).

Esta microalga é composta por tricomas de 5-6  $\mu\text{m}$  de largura e 20-200  $\mu\text{m}$  de comprimento (HOFF e SNELL, 1999). Estes tricomas são multicelulares, helicoidais com

orientação à esquerda, compostos de células chatas e não diferenciadas, com exceção das células terminais deste (Figura 2). Apresenta, ainda, mobilidade, revolvendo-se em torno de seu eixo central (BOLD e WYNNE, 1985; RICHMOND, 1990; VONSHAK, 1996; RICHMOND, 2004). Segundo Raven et al. (1996), os tricomas são modificações da epiderme, que dão origem a um pêlo, uma escama ou uma vesícula aquífera; tratando-se, no caso das microalgas, de um filamento de células.



**Figura 2:** Tricoma de *Arthrospira platensis* (UTEX Culture Collection of Algae, 2006).

A multiplicação desta microalga ocorre por meio de divisão celular em um plano definido e a reprodução por formação de hormogônio através da “quebra” do tricoma em sítios específicos (VONSHAK, 1996; RICHMOND, 2004). De acordo com Raven et al. (1996), o hormogônio é um fragmento de um filamento de cianofícea (tricoma) que se destaca e cresce, formando um novo filamento. Segundo Hoff e Snell (1999), um único tricoma pode comportar diversos indivíduos, sendo, porém, difícil distingui-los.

### 1.2.2 Habitat

Ao gênero *Arthrospira* pertencem cianofíceas filamentosas planctônicas (RICHMOND, 2004), que ocorrem tanto em águas doces como salgadas (BOLD e WYNNE, 1985). Como todas as cianofíceas, *A. platensis* é fotoautotrófica obrigatória, não podendo, assim, crescer em sistemas não iluminados, mesmo que estes contenham fontes de carbono (RICHMOND, 1990).

As cianofíceas apresentam ampla distribuição na natureza e são tolerantes a maiores variações ambientais do que as algas eucarióticas. Podem sobreviver em estado latente por mais de um ano e retomar seu desenvolvimento normal após as chuvas (COZZA e COSTA, 2000).

Apresentam um bom crescimento em lagos alcalinos (pH 11,0) de regiões tropicais e subtropicais, sendo encontradas de forma abundante nos lagos Bodou e Rombou (Chad) e Texcoco (México). Porém são ubíquas, sendo encontradas principalmente em lagos alcalinos e águas salobras e salgadas, onde freqüentemente tornam-se as espécies dominantes, formando florações massivas (RICHMOND, 1990; VONSHAK, 1996; COZZA e COSTA, 2000; RICHMOND, 2004).

Vonshak (1996) cita que *A. maxima* parece estar confinada à América Central, principalmente no Lago Texcoco, enquanto que *A. platensis* possui uma maior distribuição, sendo encontrada na África, Ásia e América do Sul. Uma característica dos ambientes onde são encontradas é a alta concentração de carbonato e bicarbonato dissolvidos na água.

Ao gênero *Arthrospira* pertencem microalgas termofílicas, apresentando temperatura ótima de crescimento na faixa de 35 a 37°C. Porém, em culturas a céu aberto, temperaturas de 39°C por algumas horas não causam efeitos nefastos detectáveis. Por outro lado, a temperatura mais baixa que permite algum crescimento expressivo de *Arthrospira* gira em torno dos 18°C e abaixo dos 12°C as culturas deterioram (RICHMOND, 1990; COZZA e COSTA, 2000).

### 1.2.3 Composição bioquímica e importância econômica

As microalgas podem ser utilizadas para a obtenção de produtos que são exclusivos a elas ou que apareçam em concentrações elevadas. Desta forma, *A. platensis* pode ser utilizada para a produção, entre outros, do ácido graxo poliinsaturado  $\gamma$ -linolênico e de pigmentos (ALVEAL et al., 1995).

Devido a suas características nutricionais, a *Arthrospira* já era consumida pelos Astecas, sendo ainda hoje consumida pela tribo Kanembou do norte do lago Chad, na África Central, e por muitos povos da Ásia. As cianofíceas podem ser consideradas como fontes de proteínas, sendo passíveis de serem utilizadas como complemento alimentar na dieta humana, em ração animal, na piscicultura ou em produtos farmacêuticos, podendo ser consumida *in natura* ou processada (COZZA e COSTA, 2000).

A importância desta microalga deve-se a seu papel econômico, o qual é derivado de suas características peculiares. Estas tornam sua utilização em cultivos em massa bastante atrativos, uma vez que podem servir como fonte de alimento humano e animal, além de produtos químicos. Também se pode utilizá-la para o tratamento de águas residuais, com a possibilidade da produção de rações animais (VONSHAK, 1996).

Das poucas cianofíceas que possuem uma longa história de consumo por comunidades humanas, *Arthrospira platensis* foi a primeira a ser cultivada comercialmente com uso na biotecnologia moderna. A produção anual de biomassa desta microalga, em 2000, foi estimada em torno de 2.000 toneladas, tendo seu uso extrapolado da aplicação original como suplementos alimentícios para humanos ou ração animal, para produção de compostos químicos finos para diagnósticos clínicos, pesquisa biológica e aplicações em cosméticos. Estudos recentes com *Arthrospira platensis* sobre seus efeitos terapêuticos e na saúde estão promovendo a aplicação deste organismo nas indústrias farmacêuticas e nutraceuticas (RICHMOND, 2004).

Esta microalga tem sido utilizada desde meados da década de 1970 na aquicultura, principalmente para a alimentação de peixes (*Ictiobus cyprinellus* e *Tilapia aurea*). Desde então, uma ampla gama de espécies de peixes e invertebrados, principalmente crustáceos, foram pesquisados quanto à alimentação com *Arthrospira*. Em todos os casos reportados houve um incremento na conversão energética, bem como maior eficiência na ingestão de proteínas (RICHMOND, 2004).

Pesquisando a performance reprodutiva de três gerações de tilápias (*Oreochromis niloticus*) alimentadas somente com *A. platensis* ou somente com ração comercial, Lu e Takeuchi (2004), determinaram que não houve diferenças significativas nas taxas de fecundidade relativa, intervalo entre gerações e tamanho dos ovos entre as gerações, sendo as taxas de fertilização, de eclosão e sobrevivência das larvas também similares. Detectaram-se diferenças significativas apenas nos perfis de ácidos graxos dos ovos, com o grupo alimentado com *A. platensis* apresentando maiores concentrações de ácido linoléico,  $\gamma$ -linolênico e ácidos graxos altamente insaturados  $\omega$ -6 (20:3 $\omega$ -6, 20:4 $\omega$ -6, 22:4 $\omega$ -6, 22:5 $\omega$ -6).

Em outro trabalho com tilápias (*Oreochromis niloticus*), Lu et al. (2004), pesquisaram as taxas de ingestão e assimilação bem como a eficiência de ingestão e assimilação de três espécies de microalgas (*A. platensis*, *Euglena gracilis* e *Chlorella vulgaris*). Determinou-se que dentre as três espécies trabalhadas, *A. platensis* apresentou as melhores taxas de ingestão e assimilação pelas larvas de tilápia. No tocante à eficiência de ingestão e assimilação, *A. platensis* também apresentou melhores resultados do que as outras espécies.

Nandeesha et al. (2001) estudaram o efeito da alimentação de duas espécies de carpa: catla (*Catla catla*) e rohu (*Labeo rohita*), com quatro diferentes concentrações de *A. platensis* (25, 50, 75 e 100%). Não houve diferença no peso final da carpa catla em nenhuma das concentrações de *A. platensis* quando comparado ao alimento controle (proteína de peixe). No entanto, a carpa rohu apresentou maior peso final bem como maior taxa de crescimento específico e eficiência de conversão protéica quanto maiores os níveis de microalga. Ambas as espécies apresentaram aumentos marginais na digestibilidade de matéria seca, proteínas e gorduras quando alimentadas com *A. platensis*. Em geral, os peixes alimentados com a microalga apresentaram maiores níveis de gordura do que os alimentados com a proteína de peixe.

Em um estudo realizado por Morais et al. (2004) com a adição de quantidades variáveis de *A. platensis* em biscoitos de chocolate, verificou-se uma maior digestibilidade *in vitro* quanto maior as concentrações da microalga adicionadas à massa. Com relação à composição química dos biscoitos, esta aumentou com a adição de *A. platensis* para fibra bruta e cinzas entre 5 a 11% quando comparada ao controle.

A composição química básica de duas espécies de *Arthrospira*, *A. platensis* e *A. maxima*, está descrita na Tabela 1.

**Tabela 1:** Composição química básica de *Arthrospira platensis* e *Arthrospira maxima*, em % de peso seco

| Alga                | Proteína | Lipídios | Carboidratos | Ácido nucléico |
|---------------------|----------|----------|--------------|----------------|
| <i>A. platensis</i> | 46-50    | 4-9      | 8-14         | 2-5            |
| <i>A. maxima</i>    | 60-71    | 6-7      | 13-16        | 2,9-4,5        |

Fonte: Richmond, 1990.

Em *Arthrospira*, cerca de 20% de todas as proteínas consistem em C-ficocianinas, as quais servem como uma fonte de reserva de nitrogênio (RICHMOND, 1990; ALVEAL et al., 1995).

Uma proporção protéica elevada por si só não é um indicativo de qualidade nutricional, uma vez que esta é determinada pelo conteúdo, presença e disponibilidade dos aminoácidos das proteínas (RICHMOND, 1990). Na Tabela 2, pode-se observar o perfil de aminoácidos de *A. platensis* em comparação com outros alimentos e os valores mínimos requeridos pela FAO.

**Tabela 2:** Composição de aminoácidos em proteínas alimentares, *Arthrospira platensis* e requerimentos em aminoácidos essenciais da FAO, em g/100g de proteína total

| aa               | Ervilha fresca <sup>d</sup> | Bacalhau (filé) <sup>d</sup> | Bife bovino <sup>d</sup> | Leite de vaca <sup>d</sup> | Leite humano <sup>d</sup> | Ovo inteiro <sup>d</sup> | <i>Arthrospira platensis</i> <sup>e</sup> | FAO                   |                       |
|------------------|-----------------------------|------------------------------|--------------------------|----------------------------|---------------------------|--------------------------|---|-----------------------|-----------------------|
|                  |                             |                              |                          |                            |                           |                          |   | 2-5 anos <sup>f</sup> | 3-8 anos <sup>g</sup> |
| Ile*             | 4,7                         | 5,2                          | 4,9                      | 4,9                        | 5,3                       | 5,6                      | 6,7                                       | 2,8                   | 1,3                   |
| Leu*             | 7,5                         | 8,3                          | 7,6                      | 9,1                        | 9,9                       | 8,3                      | 9,8                                       | 6,6                   | 1,9                   |
| Lys*             | 8,0                         | 9,6                          | 8,7                      | 7,4                        | 7,1                       | 6,3                      | 4,8                                       | 5,8                   | 1,6                   |
| Met*             | 1,0                         | 2,8                          | 2,6                      | 2,6                        | 1,5                       | 3,2                      | 2,5                                       | 2,5                   | 1,7                   |
| Cys*             | 1,2                         | 1,1                          | 1,2                      | 0,8                        | 2,0                       | 1,8                      | 0,9                                       |                       |                       |
| Phe*             | 5,0                         | 4,0                          | 4,3                      | 4,9                        | 3,8                       | 5,1                      | 5,3                                       | 6,3                   | 1,9                   |
| Tyr*             | 3,0                         | 3,4                          | 3,4                      | 4,1                        | 3,0                       | 4,0                      | 5,3                                       |                       |                       |
| Thr*             | 4,3                         | 4,7                          | 4,5                      | 4,4                        | 4,5                       | 5,1                      | 6,2                                       | 3,4                   | 0,9                   |
| Trp*             | 1,0                         | 1,1                          | 1,2                      | 1,3                        | 2,3                       | 1,8                      | 0,3                                       | 1,1                   | 0,5                   |
| Val*             | 5,0                         | 5,6                          | 5,1                      | 6,6                        | 6,8                       | 7,6                      | 7,1                                       | 3,5                   | 1,3                   |
| His*             | 2,4                         | 2,8                          | 3,5                      | 2,7                        | 2,5                       | 2,4                      | 2,2                                       | 1,9                   | 1,6                   |
| Arg              | 10,0                        | 6,2                          | 6,4                      | 3,6                        | 3,8                       | 6,1                      | 7,3                                       |                       |                       |
| Ala              | 4,5                         | 6,7                          | 6,1                      | 3,6                        | 4,2                       | 5,4                      | 9,5                                       |                       |                       |
| Asp <sup>a</sup> | 11,9                        | 10,2                         | 9,1                      | 7,7                        | 9,1                       | 10,7                     | 11,8                                      |                       |                       |
| Glu <sup>b</sup> | 17,3                        | 14,8                         | 16,5                     | 20,6                       | 17,4                      | 12,0                     | 10,3                                      |                       |                       |
| Gly              | 4,3                         | 4,6                          | 5,6                      | 2,0                        | 2,5                       | 3,0                      | 5,7                                       |                       |                       |
| Pro <sup>c</sup> | 4,1                         | 4,0                          | 4,9                      | 8,5                        | 9,9                       | 3,8                      | 4,2                                       |                       |                       |
| Ser              | 4,7                         | 4,8                          | 4,3                      | 5,2                        | 4,3                       | 7,9                      | 5,1                                       |                       |                       |

Legenda: \* aminoácidos essenciais para o ser humano

<sup>a</sup> inclui asparagina

<sup>b</sup> inclui glutamina

<sup>c</sup> inclui hidroxiprolina

<sup>d</sup> Coultate, 2004

<sup>e</sup> Richmond, 2004

<sup>f</sup> FAO/WHO (apud ROMAN e SGARBIERI, 2005)

<sup>g</sup> FAO/WHO (apud MIRA e LANFER-MARQUEZ, 2005)

Somente plantas e determinadas bactérias conseguem produzir todos os aminoácidos existentes. Os animais, por outro lado, sintetizam alguns (os chamados não essenciais), enquanto necessitam obter os outros por meio da alimentação (RICHMOND, 1990). De acordo com Richmond (2004), o padrão de aminoácidos de *A. platensis* pode ser comparado favoravelmente com os padrões do ovo e de soja, apresentando somente pequenas deficiências no que se diz respeito aos aminoácidos que contêm enxofre (metionina e cisteína), sendo este fato característico de muitas proteínas de plantas. Segundo Danesi et al. (2002), todos os aminoácidos estão presentes em *A. platensis* em proporções dentro dos recomendados pela FAO, com exceção da metionina.

As microalgas também são uma fonte valiosa de vitaminas, apresentando praticamente todas as vitaminas principais. Ocorrem, sem sombra de dúvida, flutuações nos níveis das vitaminas devido a fatores ambientais, métodos e técnicas de pós-colheita e secagem das algas (RICHMOND, 2004). A Tabela 3 apresenta o conteúdo vitamínico estimado de *A. platensis* em comparação ao do espinafre.

**Tabela 3:** Conteúdo vitamínico de *Arthrospira platensis* comparado ao do espinafre, em mg.kg<sup>-1</sup> de peso seco, e à ingestão diária recomendada (IDR), em mg.d<sup>-1</sup>

| Fonte | Vitaminas |                |                |                |                 |       |       |            |         |       |       |
|-------|-----------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-------|-------|------------|---------|-------|-------|
|       | A         | B <sub>1</sub> | B <sub>2</sub> | B <sub>6</sub> | B <sub>12</sub> | C     | E     | Nicotinato | Biotina | Ác. F | Ac. P |
| A     | 840,0     | 44,0           | 37,0           | 3,0            | 7,0             | 80,0  | 120,0 | -          | 0,3     | 1,0   | 6,8   |
| B     | 130,0     | 0,9            | 1,8            | 1,8            | -               | 470,0 | -     | 5,5        | 0,007   | 0,7   | 2,8   |
| C     | 1,7       | 1,5            | 2,0            | 2,5            | 0,005           | 50,0  | 30,0  | 18,0       | -       | 0,6   | 8,0   |

Legenda: A – *A. platensis*  
 B – espinafre  
 C – IDR  
 Ác. F = ácido fólico  
 Ác. P = ácido pantotênico

Fonte: Richmond, 2004.

Com relação aos lipídios, estes podem ser observados na Tabela 4.

**Tabela 4:** Composição de ácidos graxos de *Arthrospira* e *Chlorella*, em % dos lipídios totais

| Ácido graxo    | <i>A. platensis</i> <sup>a</sup> | <i>A. maxima</i> <sup>a</sup> | <i>C. vulgaris</i> <sup>a</sup> | <i>C. vulgaris</i> <sup>b</sup> |
|----------------|----------------------------------|-------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|
| 12:0           | 0,40                             | tr                            | nd                              | np                              |
| 14:0           | 0,70                             | 0,30                          | 0,90                            | nd                              |
| 14:1           | 0,20                             | 0,10                          | 2,00                            | nd                              |
| 15:0           | tr                               | tr                            | 1,60                            | np                              |
| 16:0           | 45,50                            | 45,10                         | 20,40                           | 19,20                           |
| 16:1           | 9,50                             | 6,80                          | 5,80                            | 0,87                            |
| 16:2           | 1,20                             | tr                            | 1,70                            | np                              |
| 16:4           | nd                               | nd                            | nd                              | np                              |
| 17:0           | 0,30                             | 0,20                          | 2,50                            | 4,19                            |
| 18:0           | 1,30                             | 1,40                          | 15,30                           | 14,60                           |
| 18:1           | 3,80                             | 1,90                          | 6,60                            | 12,66                           |
| 18:2           | 14,50                            | 14,60                         | 1,50                            | 3,77                            |
| $\alpha$ -18:3 | 0,30                             | 0,30                          | 20,50                           | 21,09                           |
| $\gamma$ -18:3 | 21,30                            | 17,90                         | nd                              | nd                              |
| 20:2           | nd                               | nd                            | 1,50                            | 3,91                            |
| 20:3           | 0,40                             | nd                            | nd                              | 3,30                            |
| Outros         | nd                               | 14,30                         | 19,60                           | 7,85                            |

Legenda: <sup>a</sup> – Richmond, 1990

<sup>b</sup> – Bertoldi, 2006

tr – traços

nd – não detectado

np – não pesquisado

Segundo Richmond (2004), algumas cianofíceas, especialmente as filamentosas, tendem a apresentar maiores níveis de ácidos graxos poliinsaturados.

Cerca de 1% do peso da *Arthrospira* é representado pelo ácido  $\gamma$ -linolênico. Isto aliado ao fato de apresentar baixíssimas concentrações do ácido  $\alpha$ -linolênico, o que facilita a extração, fez com que esta microalga tenha sido considerada como uma fonte de ácidos graxos poliinsaturados e ácido  $\gamma$ -linolênico viáveis (COZZA e COSTA, 2000).

Peng et al. (2001) ao cultivarem *A. platensis* em meio Zarrouk, a 28°C e com iluminação contínua de  $60 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , determinaram que o total de lipídios desta microalga, extraídos pelo método de Soxhlet e com  $\text{CHCl}_3$  como fluido de extração, é de  $10,30 \pm 10\%$  do peso seco do microrganismo.

Fatores nutricionais e ambientais podem afetar tanto as proporções relativas quanto o total de ácidos graxos das microalgas. Quando cultivadas em meios deficientes de nitrogênio, muitas microalgas apresentam níveis lipídicos aumentados (RICHMOND, 2004).

Entre os ácidos graxos comercialmente importantes, estão os poliinsaturados essenciais como o 18:2,  $\gamma$ -18:3, 20:3, 20:4 e 20:5. Destes, o  $\gamma$ -linolênico, que é considerado como sendo eficaz na diminuição dos níveis de colesterol do sangue e tem sido utilizado em suplementos alimentares para o tratamento de diversas doenças, aparece em grandes quantidades em *A. platensis*. Além da importância nutricional, estes ácidos graxos também apresentam importância farmacêutica, sendo eles precursores de prostaglandinas, prostaciclina e leucotrienos (RICHMOND, 2004).

Nos últimos anos, as propriedades farmacêuticas e nutracêuticas de diversas microalgas, entre elas *A. platensis*, têm sido estudadas. Parada et al. (1998) estudaram a utilização de produtos extracelulares desta microalga como promotores de crescimento de *Lactococcus lactis*, *Streptococcus thermophilus*, *Lactobacillus casei*, *Lactobacillus acidophilus* e *Lactobacillus bulgaricus*. Foi determinado um aumento significativo do crescimento destas bactérias em dois dos três meios de cultura testados. Estes resultados abrem caminho para pesquisas *in vivo* com objetivo de determinar a utilidade de suplementos alimentícios, produzidos a partir de *A. platensis*, como prebióticos que favoreçam a colonização de bactérias ácido lácticas no trato intestinal humano.

Outro uso possível para *A. platensis* seria como inibidor de reações anafiláticas. Yang et al. (1997), ao estudarem o efeito de *A. platensis* em pó, descobriram que este inibia choques anafiláticos produzidos pelo composto 48/80 (uma mistura de polímeros policatiônicos), além de diminuir os níveis de histamina, induzida pelo composto 48/80, no sangue de ratos de laboratório.

Chamorro et al. (2002) citam diversos efeitos farmacológicos de *Arthrospira*. Entre eles: antialérgico, antihepatotóxico, antianêmico, anticancerígeno, antiviral, anticoagulante, antígeno tóxico, antitóxico, antiinflamatório e antiparasitário. Estes autores também relatam

efeitos benéficos para o sistema cardiovascular, principalmente a aorta; além de atuar como hipoglicemiante, hipolipidêmico e como imunoestimulante.

Com relação à segurança do consumo de microalgas e, neste caso, de *Arthrospira*, foram realizados diversos estudos quanto ao prejuízo na ingestão de ácidos nucléicos e toxinas formadas por algas. No caso de toxinas, todas as microalgas cultivadas atualmente sofreram exaustivos testes, tanto *in vitro* quanto *in vivo*, para assegurar sua inocuidade (RICHMOND, 2004).

Uma outra possibilidade de uso das microalgas é em missões espaciais. Gòdia et al. (2002) citam a utilização de *A. platensis* em um sistema de suporte de vida para futuras bases na Lua e Marte. Neste sistema, chamado MELISSA (*Micro Ecological Life Support System Alternative*), em conjunto com plantas superiores e bactérias nitrificantes e termofílicas, *A. platensis* é utilizada para a produção de oxigênio, além de servir como fonte de biomassa. Gros et al. (2003) reportam que a produção de biomassa por *A. platensis*, neste sistema, pode suprir em até 40% as necessidades alimentares diárias da tripulação.

### 1.3. Cultivo unicelular

Para a obtenção de energia ou para a construção de componentes celulares, os organismos retiram do ambiente as substâncias necessárias. Estas são chamadas de nutrientes e são divididas em dois grandes grupos: macronutrientes e micronutrientes. Ambos são necessários, porém os macronutrientes (carbono, oxigênio, hidrogênio, nitrogênio e enxofre) precisam ser fornecidos em maiores quantidades, já que correspondem por mais de 90% da composição celular. Os micronutrientes, que constituem os 10% restantes, são formados por potássio, cálcio, ferro, manganês, entre outros (TRABULSI et al., 1999).

De acordo com Round (1983) e Trabulsi et al. (1999), quanto maiores forem os conhecimentos sobre a distribuição na natureza e a ecologia dos microrganismos (pH, temperatura e composição do ambiente), mais fácil e melhor será o cultivo destes em condições laboratoriais.

### 1.3.1 Ciclo de crescimento microbiano

Segundo Forsythe (2002), o ciclo de crescimento dos microrganismos é composto por seis fases. Sendo elas:

- Fase lag: nesta fase as células não estão em divisão, mas sintetizando constituintes celulares. De acordo com Trabulsi et al. (1999), dependendo de certos fatores, como idade e concentração do inóculo além de condições de incubação, esta fase pode não ocorrer.
- Fase de aceleração: corresponde à fase onde uma proporção crescente de células está se multiplicando.
- Fase exponencial (ou log ou logarítmica): a população duplica-se de forma exponencial (1-2-4-8-16-32-64, etc.). O número de células cresce de maneira tal que, para visualização gráfica, melhor seria utilizar valores logarítmicos.
- Fase de desaceleração: ocorre quando uma proporção crescente de células não está mais se multiplicando.
- Fase estacionária: a taxa de geração é igual à de morte, sendo esta fase causada pela diminuição dos nutrientes, acumulação de produtos finais tóxicos e/ou outras mudanças ambientais, como variações no pH.
- Fase da morte: o número de células morrendo supera às que são geradas.

As características do organismo, bem como as condições ambientais, determinarão a duração de cada uma das fases (FORSYTHE, 2002).

Para se determinar o desenvolvimento de uma cultura, número ou massa dos microrganismos pode-se utilizar métodos diretos e indiretos. Entre os diretos, existem os métodos de centrifugação e peso seco. Já os indiretos incluem métodos de quantificação de nitrogênio, de consumo ou acúmulo de metabólitos, além de métodos de turbidimetria e estimativas espectrofotométricas. Os métodos indiretos devem, no entanto, ser relacionados com métodos diretos (TRABULSI et al., 1999).

Células suspensas em meio líquido causam turvação, que pode ser medida por meio de espectrofotômetros em amplitudes específicas. Assim, quanto maior o número de células, maior

a absorvância. No entanto, curvas padrão, calibradas com base em outros métodos, devem ser construídas para cada espécie, bem como para cada meio de cultivo (HOFF e SNELL, 1999).

### 1.3.2 Condições de cultivo

O conteúdo químico das microalgas não é dependente apenas da espécie, mas também de fatores relacionados às condições do cultivo, entre eles: composição do meio, taxa de aeração, intensidade luminosa, duração do fotoperíodo, temperatura e idade da cultura (MEDINA et al., 1998).

Demonstrou-se que, quando cultivada em ambiente externo, a síntese de carboidratos por *A. platensis* era mais elevada em dias ensolarados do que nos nebulosos, indicando que quanto maior a intensidade luminosa, maior a produção de polissacarídeos. A intensidade luminosa, por outro lado, tem sido referida como o fator limitante principal em cultivos em massa de microalgas. Demonstrou-se que *A. platensis*, cultivada em condições ótimas, apresenta uma queda na eficiência fotoquímica da PS II ( $F_v/F_m$ ) da ordem de 10% por volta do meio dia quando exposta a insolação direta. Este tipo de inibição luminosa é conhecido como fotoinibição diurna (RICHMOND, 2004).

Quando cultivada em temperaturas abaixo da ótima, a fotoinibição em *A. platensis* também ocorre, porém fluxos fotônicos bem inferiores aos que normalmente ocasionariam fotoinibição são necessários. Isto se deve ao fato de que as flutuações de intensidade luminosa e temperatura não são sincronizadas, o que gera uma condição de estresse singular, sob a qual a fotoinibição é induzida mesmo em níveis de intensidade luminosa baixa (RICHMOND, 2004).

Outro fator que pode facilitar o aparecimento de fotoinibição é o estresse salino. *A. platensis* cultivada sob estresse salino apresenta menores taxas de crescimento e fotossíntese quando iluminadas a  $200 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  do que a  $100 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ . O estresse salino também afeta o crescimento de *A. platensis* pelo aparecimento da fase lag. Isto foi observado ao cultivar-se *A. platensis* em meio Zarrouk suplementado com concentrações crescentes de NaCl. Conforme aumentava a salinidade, maior foi a fase lag (ZENG e VONSHAK, 1998).

A combinação de temperaturas baixas e altas concentrações de oxigênio também afetam de maneira drástica os níveis de fotoinibição. Enquanto a fotoinibição reduziu na ordem de 33% a produtividade diária de cultivos crescidos sob temperatura ótima (35°C) e concentrações de oxigênio na faixa de 60±19 mg.L<sup>-1</sup>, cultivos crescidos em temperaturas de 25°C e níveis de oxigênio de 58±16 mg.L<sup>-1</sup> sofreram fotoinibição de 60% (RICHMOND, 2004).

Costa et al. (2004) reportam a possibilidade do uso de águas da Lagoa da Mangueira, no Rio Grande do Sul, para o cultivo de *A. platensis*. Estas águas, ricas em carbonatos e apresentando pH elevado, quando suplementadas com 1,125 mg.L<sup>-1</sup> de uréia, mostraram-se viáveis para produção desta microalga, sendo capazes de diminuir os custos de produção e melhorar a economia em cultivos de larga escala.

Santos et al. (2003) pesquisaram variações na composição final de *A. platensis* cultivada em duas temperaturas diferentes, 25 e 35°C, em meio Paoletti com 2,5 g.L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub> (2,5) e em meios modificados com 0,2 g.L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub> (0,2) e sem fonte de nitrogênio (SN). Os meios 0,2 e SN, em ambas as temperaturas de cultivo, apresentaram quedas nos níveis de proteínas, quando comparados com o meio 2,5, sendo esta de até 40,28%. No entanto, níveis aumentados de carboidratos e lipídios totais foram reportados para os meios 0,2 e SN, quando comparados ao 2,5, sendo este aumento mais expressivo na temperatura de 25°C.

Costa et al. (2002) avaliaram o efeito de diferentes condições de cultivo no perfil de ácidos graxos de *A. platensis*. Para tanto, foi utilizado o meio Zarrouk, suplementado com 0,6375; 1,2750; 1,9125 e 2,5500 g.L<sup>-1</sup> de nitrato de sódio e, duas diferentes temperaturas de cultivo (30 e 35°C). Foi determinado que as alterações nas concentrações de nitrogênio não afetaram o perfil de ácidos graxos, no entanto, a temperatura exerceu forte influência sobre este perfil. Na temperatura a 30°C foi observado um maior percentual de ácido  $\gamma$ -linolênico, bem como a de ácidos graxos insaturados. O total do ácido  $\gamma$ -linolênico variou entre 20 e 23% do total de ácidos graxos analisados.

## 1.4 Compostos unicelulares

Atualmente há grande preocupação relacionada à falta de alimentos para suprir a população em expansão, o que leva à procura de novas fontes de alimentos (RAJOKA et al., 2004). Assim, necessita-se de fontes que sejam nutricionalmente completas e que utilizem espaço, tempo e custos de produção mínimos (BELITZ e GROSCH, 1997).

Desta forma, o cultivo de microrganismos, em sistemas independentes dos agrícolas tradicionais, é muito promissor (RAJOKA et al., 2004). Apesar de parecer inaceitável para algumas pessoas, a utilização destes como fontes alimentares, tanto humanas quanto animais, certamente é uma idéia inovadora para a resolução do problema mundial da fome (UYSAL et al., 2002).

Além de preencher esses requisitos, os microrganismos podem ser cultivados a partir de vários materiais que normalmente são desperdiçados (JAY, 2005).

### 1.4.1 Proteínas unicelulares (*Single-Cell Proteins*)

Juntamente com os lipídios e os carboidratos, as proteínas encontram-se entre os nutrientes mais importantes. Isto se deve não por sua função energética, mas porque são necessárias para a síntese de compostos, em funções de lubrificação, além de serem utilizadas na síntese das próprias proteínas do organismo, na formação dos cromossomos e na divisão celular (MATISSEK et al., 1998). Sgarbieri (1996) cita diversas propriedades das proteínas, sendo elas: função estrutural e contrátil, catalisadores biológicos (enzimas), hormônios, proteínas de transporte, antígenos/anticorpos e funções nutricionais.

As proteínas com valor nutritivo são aquelas que são digeríveis, não-tóxicas e aproveitáveis pelo organismo, além de estarem presentes em quantidades e proporções significativas nos alimentos (SGARBIERI, 1996; ORDÓÑEZ et al., 2005). Sua qualidade relaciona-se à composição de aminoácidos essenciais e a sua digestibilidade (FENNEMA, 2000).

As principais fontes de proteínas que são utilizadas na alimentação animal e humana são tradicionalmente de origem animal e vegetal. As fontes convencionais de proteínas de origem animal são o leite e derivados, ovos, e os vários tipos de carne, já as de origem vegetal são principalmente os grãos de cereais e leguminosas (SGARBIERI, 1996).

Além de animais e plantas, algas (*Chlorella*, *Scenedesmus*, *Arthrospira* spp.) leveduras e bactérias também podem ser destinadas à produção de proteínas (proteínas unicelulares, *Single-Cell Proteins*, SCP's) (BELITZ e GROSCH, 1997).

O cultivo de microrganismos unicelulares como fonte de alimentação humana foi sugerido no início do século XX, sendo a expressão *Single-Cell Protein* criada em 1966 no Massachusetts Institute of Technology. Esta expressão, embora incorreta, pois as proteínas não são os únicos elementos presentes nas células, é utilizada para descrever a idéia de microrganismos como fontes protéicas (JAY, 2005).

As SCP's são baratas e competem bem com outras fontes protéicas e, dependendo de sua composição aminoacídica, podem possuir um bom valor nutritivo. Porém, a produção de proteínas de alto valor nutritivo pode apresentar custo elevado, sendo necessária a pesquisa de sistemas que aliem alta produção de biomassa com proteínas de qualidade comparável à animal, além de baixo custo (RAJOKA et al., 2004).

Segundo Jay (2005), a utilização de microrganismos como fontes de proteínas apresentam diversas vantagens quando comparada a proteínas vegetais e animais, entre elas:

- tempo de geração curto, ocasionando rápido aumento de biomassa;
- facilidade na manipulação gênica, possibilitando a produção de compostos desejados;
- alto conteúdo protéico;
- a produção é independente do clima.

A escolha do microrganismo a ser utilizado depende, principalmente, do substrato. Assim, cianofíceas do gênero *Arthrospira* estão aptas para crescer em: águas com altas concentrações de bicarbonato, pH elevado (8,5 a 11,0) e temperaturas de 30°C. Outros organismos podem se desenvolver em diversos outros materiais, como soro de queijo, mosto,

resíduos do processamento de batatas, café e enlatados, além de resíduos industriais, de celulose, entre outros. As células produzidas podem ser utilizadas de forma direta na alimentação humana ou animal, onde podem substituir componentes da ração como o milho, que pode ser empregado na alimentação humana (JAY, 2005).

#### 1.4.2 Óleos unicelulares (*Single-Cell Oils*)

Os lipídios têm sido reconhecidos como nutrientes essenciais tanto nas dietas animais quanto na humana. Estes constituem a fonte energética mais concentrada conhecida, produzindo  $9 \text{ kcal.g}^{-1}$ , o que equivale a 2,25 vezes mais do que a energia produzida por proteínas e açúcares. Além disso, são fontes de ácidos graxos essenciais, transportam vitaminas lipossolúveis, entre outras funções (ZILLER, 1996; ORDÓÑEZ et al., 2005).

Os ácidos graxos podem ser classificados de acordo com a presença ou não de duplas ligações, ou seja: ácidos graxos insaturados, que podem apresentar uma, duas ou, às vezes, até seis duplas ligações e saturados, respectivamente (FENNEMA, 2000; FRANCO, 2002; COULTATE, 2004; ORDÓÑEZ et al., 2005).

Tradicionalmente, os ácidos graxos essenciais podem ser obtidos a partir de fontes animais e vegetais. A escolha da fonte dá-se em função do ácido graxo desejado, sua disponibilidade no material cru e a presença e natureza de impurezas. Dentre estas fontes, os óleos de pescado são os principais, porém a produção é insuficiente para suprir a demanda (ALVEAL et al., 1995; MEDINA et al., 1998; KROES et al., 2003).

Nem todos os microrganismos possuem a capacidade de acumular lipídios. Por exemplo, entre as mais de 600 espécies de leveduras, menos de 30 têm a capacidade de acumular mais de 20% de sua biomassa na forma de óleos (RATLEDGE, 2002).

A produção de óleos microbianos, também chamados de *single-cell oils* (SCO), iniciou-se em 1985, apesar de ser conhecida há mais de 100 anos (RATLEDGE, 2002). No princípio utilizou-se o fungo *Mucor circinelloides* para a produção de ácido  $\gamma$ -linolênico como uma

alternativa para o óleo de prímula. Porém, devido aos custos elevados, a produção cessou 6 anos após (RATLEDGE, 2004).

Após este relativo fracasso inicial, houve a necessidade da procura de óleos produzidos por métodos tradicionais que fossem caros e de difícil obtenção, justificando os custos da produção alternativa pelos SCO's. Assim, atualmente estes requisitos são atingidos pelos ácidos graxos poliinsaturados (PUFA's), que originalmente eram obtidos apenas a partir de óleos de pescado, não sendo encontrados nem mesmo em plantas (RATLEDGE, 2004). Além disso, os PUFA's obtidos a partir de pescados podem apresentar problemas como: cheiro desagradável, contaminação por metais pesados, presença de colesterol, um complexo perfil de ácidos graxos, além de apresentar produtividade variável (dependendo do estágio de vida, alimentação e estações do ano) (MEDINA et al., 1998; RENAUD et al., 2002; WEN e CHEN, 2003). Por outro lado, PUFA's extraídos a partir de microalgas, e outros microrganismos, não possuem estas desvantagens e a presença de um perfil de ácidos graxos mais simples facilita a purificação (MEDINA et al., 1998; ZITTELLI et al., 1999; WEN e CHEN, 2003).

Desta forma o interesse atual nos SCO's advém de sua capacidade de produção de óleos ricos em PUFA, que são utilizados como suplementos dietéticos ou na nutrição infantil (RATLEDGE, 2002).

No passado, diversas espécies de microrganismos foram reconhecidas como possíveis fontes produtoras de ácidos graxos. Fungos, especialmente os da ordem Mucorales, e bactérias dos gêneros *Shewanella*, *Alteromonas*, *Flexibacter* e *Vibrio* podem acumular grande quantidade de ácidos graxos. Entretanto, o longo período fermentativo e baixas taxas de produtividade de bactérias e fungos não permitem que estes organismos compitam comercialmente com fontes tradicionais de ácidos graxos. Porém, por meio de alterações nas condições de cultura, pode-se direcionar o cultivo das microalgas, aumentando-se a produtividade (ZITTELLI et al., 1999).

### 1.4.3 Nutrição e segurança

Os organismos utilizados na produção de compostos unicelulares apresentam teores aminoacídicos similares às fontes protéicas animais e vegetais, porém os níveis de metionina na maioria dos casos são inferiores. Também possuem carboidratos, lipídios e minerais em quantidades aceitáveis, além de serem ótimas fontes de vitaminas do grupo B. Com relação ao conteúdo de gorduras, as algas apresentam maiores níveis quando comparadas aos outros microrganismos, já no caso dos ácidos nucléicos ocorre o inverso (JAY, 2005).

Segundo Jay (2005), em estudos realizados em cobaias alimentadas com produtos à base de microrganismos, os resultados obtidos foram excelentes, no entanto, quando estes foram testados na alimentação humana, os resultados não se mostraram tão bons. Normalmente distúrbios gastrintestinais são associados ao consumo de SCP's provenientes de algas e bactérias, mas isto varia conforme a espécie utilizada.

Um dos problemas associados ao consumo de microrganismos é o seu elevado nível de ácidos nucléicos, que podem levar à formação de pedras nos rins e/ou gota. Isto ocorre devido à metabolização das purinas a ácido úrico, que é fracamente solúvel no plasma sanguíneo. Atualmente as concentrações de ácidos nucléicos podem ser reduzidas para níveis inferiores a 2% por meio de precipitação ácida, hidrólise ácida ou alcalina ou pelo uso de RNAses. A recomendação de consumo máximo diário de ácidos nucléicos é de aproximadamente 2 gramas (JAY, 2005).

Antes de poderem ser comercializados como produtos alimentícios, no entanto, os microrganismos devem passar por todos os testes de toxicidade, de modo a garantir a segurança do consumidor (UYSAL et al., 2002).

No caso de cianofíceas do gênero *Arthrospira*, estas possuem o *status* de GRAS (*Generally Regarded as Safe* – geralmente considerada como segura) tanto para alimentos quanto para suplementos (OHR, 2005). Este *status* permite que humanos utilizem os produtos oriundos dos microrganismos assim classificados (WALKER et al., 2005).

## 2 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALBINATI, R.C.B.; ALBINATI, A.C.L.; MEDEIROS, Y.D. Utilização de águas desprezadas para a produção de alimentos no semiárido. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO DE RECURSOS HÍDRICOS, XV, 2003, Curitiba.

ALVEAL, K.; FERRARIO, M.E.; OLIVEIRA, E.C.; SAR, E. **Manual de métodos ficológicos**. Concepción, Chile: Aníbal Pinto. 1995. 863p.

BELITZ, H.D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2ed. Zaragoza: Acribia, 1997. 1087p.

BERTOLDI, F.C. **Solução hidropônica residual como meio de cultura para cultivo de *Chlorella vulgaris***. 2006. 121 f. Tese (Doutorado em Ciência dos Alimentos) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Recursos genéticos e melhoramento: Microrganismos**. Jaguariúna: Embrapa Meio Ambiente, 2002. 743p.

\_\_\_\_\_. Agência Nacional de Águas. **Projeto de gerenciamento integrado das atividades desenvolvidas em terra na Bacia do São Francisco ANA/GEF/PNUMA/ OEA: Subprojeto 4.5C – Plano Decenal de Recursos Hídricos da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco - PBHSF (2004-2013). Módulo 2 – Diagnóstico da Bacia e cenários de desenvolvimento**. Brasília, 2004. 234p.

BOLD, M.C.; WYNNE, M.J.; **Introduction to the algae: structure and reproduction**. Englewood Cliffs: Printice-Hall, 1985. 720p.

CHAMORRO, G.; SALAZR, M.; ARAÚJO, K.G.L; SANTOS, C.P.; CEBALLOS, G.; CASTILLO, L.F. Actualización en la farmacología de *Spirulina (Arthrospira)*, un alimento no convencional. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, v. 52, n. 3, p. 232-240, 2002.

CONSELHO NACIONAL DO MEIO AMBIENTE. Resolução nº 357, de 17 de março de 2005.

COSTA, J.A.V.; COLLA, L.M.; DUARTE FILHO, P.F. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. **Bioresource Technology**, v. 92, p. 237-241, 2004.

COSTA, J.A.V.; COLLA, L.M.; VENDRUSCOLO, F. Perfis de ácidos graxos da microalga *Spirulina platensis* cultivada sob diferentes condições de crescimento. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, XVIII, 2002, Porto Alegre.

COULTATE, T.P. **Alimentos: a química de seus componentes**. 3ed. Porto Alegre: Artmed, 2004. 368p.

COZZA, K.L.; COSTA, J.A.V. Lipídios em *Spirulina*. **Vetor, Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, v. 10, p. 69-80, 2000.

DANESI, E.D.G.; RANGEL-YAGUI, C.O.; CARVALHO, J.C.M.; SATO, S. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. **Biomass and Bioenergy**, v. 23, p. 261-269, 2002.

DUARTE FILHO, P.; SILVA, P.; COSTA, J.A.V. Estudo do crescimento de duas cepas de *Spirulina platensis* em diferentes meios de cultura e níveis de agitação. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, XVIII, 2002, Porto Alegre.

FATH, H.E.S. Solar distillation: a promising alternative for water provision with free energy, simple technology and a clean environment. **Desalination**, v. 116, p. 45-56, 1998.

FENNEMA, O.R. **Química de los alimentos**. 2ed. Zaragoza: Acribia, 2000. 1258p.

FORSYTHE, S.J. **Microbiologia da segurança alimentar**. Porto Alegre: Artmed, 2002. 424p.

FRANCO, G. **Tabela de composição química dos alimentos**. 9ed. São Paulo: Atheneu, 2002. 307p.

FURTADO, F.N.; MOTA, S. Impactos do uso de rejeitos de um dessalinizador de água na irrigação da erva-sal, sobre a planta e o solo. **Saneas**, v. 15, p. 6-10, 2003.

GÒDIA, F.; ALBIOL, J.; MONTESINOS, J.L.; PÉREZ, J.; CREUS, N.; CABELLO, F.; MENGUAL, X.; MONTRAS, A.; LASSEUR, Ch. MELISSA: a loop of interconnected bioreactors to develop life support in Space. **Journal of Biotechnology**, v. 99, p. 319-330, 2002.

GROS, J.B.; POUGHON, L.; LASSEUR, C.; TIKHOMIROV, A.A. Recycling efficiencies of C,H,O,N,S, and P elements in a biological life support system based on microorganisms and higher plants. **Adv. Space Res.**, v. 31, n. 1, p. 195-199, 2003

HOFF, F.H.; SNELL, T.W. **Plankton Culture Manual**. 5 ed. Dade City, Florida, Florida Aqua Farms, Inc., 1999.

HUSSAIN, I.; RASCHID, L.; HANJRA, M.A.; MARIKAR, F.; VAN DER HOEK, W. **Wastewater use in agriculture: Review of impacts and methodological issues in valuing impacts. (With an extended list of bibliographical references)**. Working Paper 37. Colombo, Sri Lanka: International Water Management Institute, 2002.

KEBEDE, E. Response of *Spirulina platensis* (= *Arthrospira fusiformis*) from Lake Chitu, Ethiopia, to salinity stress from sodium salts. **Journal of Applied Phycology**, v.9, p. 551-558, 1997.

KROES, R.; SCHAEFER, E.J.; SQUIRE, R.A.; WILLIAMS, G.M. A review of the safety of DHA45-oil. **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 1433-1446, 2003.

JAY, J.M. **Microbiologia de alimentos**. 6ed. Porto Alegre: Artmed, 2005. 711p.

LABORDE, H.M.; FRANÇA, K.B.; NEFF, H.; LIMAB, A.M.N. Optimization strategy for a small-scale reverse osmosis water desalination system based on solar energy. **Desalination**, v. 133, p. 1-12, 2001.

LU, J.; TAKEUCHI, T. Spawning and egg quality of the tilapia *Oreochromis niloticus* fed solely on raw *Spirulina* throughout three generations. **Aquaculture**, v. 234, p. 625-640, 2004.

LU, J.; TAKEUCHI, T.; SATOH, H. Ingestion and assimilation of three species of freshwater algae by larval tilapia *Oreochromis niloticus*. **Aquaculture**, v. 238, p. 437-449, 2004.

MAHI, P. Developing environmentally acceptable desalination projects. **Desalination**, v. 138, p. 167-172, 2001.

MARGALEF, R. **Limnología**. Barcelona: Omega, 1983. 1010p.

MATISSEK, R.; SCHNEPEL, F.M.; STEINER, G. **Análisis de los alimentos: fundamentos, métodos, aplicaciones.** Zaragoza: Acribia, 1998. 416p.

MEDINA, A.R; GRIMA, E.M.; GIMÉNEZ, A.G.; GONZÁLEZ, M.J.I. Downstream Processing of Algal Polyunsaturated Fatty Acids. **Biotechnology Advances**, v. 16, n. 3, p. 517-580, 1998.

MIRA, N.V.M.; LANFER-MARQUEZ, U.M. Avaliação da composição centesimal, aminoácidos e mercúrio contaminante de surimi. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, v. 25, n. 4, p. 665-671, 2005.

MONTEIRO, V.P.; PINHEIRO, J.C.V. Critério para implantação de tecnologias de suprimentos de água potável em municípios cearenses afetados pelo alto teor de sal. **RER**, v. 42, n. 2, p. 365-387, 2004.

MORAIS, M.G.; JONG, E.V.; MIRANDA, M.Z., COSTA, J.A.V. Caracterização química, cor e digestibilidade de biscoitos de chocolate enriquecidos com *Spirulina platensis*. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA DE ALIMENTOS, XIX, 2004, Recife.

NANDEESHA, M.C.; GANGADHARA, B.; MANISSERY, J.K.; VENKATARAMAN, L.V. Growth performance of two Indian major carps, catla (*Catla catla*) and rohu (*Labeo rohita*) fed diets containing different levels of *Spirulina platensis*. **Bioresource Technology**, v. 80, p. 117-120, 2001.

OHR, L.M. Nutraceutical Trends Aplenty in the Big Easy. **Food Technology**, v. 59, n. 6, p. 84-100, 2005.

ORDÓÑEZ, J.A.; RODRÍGUEZ, M.I.C.; ÁLVAREZ, L.F.; SANZ, M.L.G.; MINGUILLÓN, G.D.G.F.; PERALES, L.L.H.; CORTECERO, M.D.S. **Tecnología de alimentos: componentes dos alimentos e processos.** Volume 1. Porto Alegre: Artmed, 2005. 294p.

PARADA, J.L.; CAIRE, G.Z.; MULE, M.C.Z.; CANO, M.M.S. Lactic acid bacteria growth promoters from *Spirulina platensis*. **International Journal of Food Microbiology**, v. 45, p. 225-228, 1998.

PENG, W.; WU, Q.; TU, P.; ZHAO, N. Pyrolytic characteristics of microalgae as renewable energy source determined by thermogravimetric analysis. **Bioresource Technology**, v. 80, p. 1-7, 2001.

RAJOKA, M.I.; KIANI, M.A.T.; KHAN, S.; AWAN, M.S.; HASHMI, A.-S. Production of single cell protein from rice polishings using *Candida utilis*. **World Journal of Microbiology & Biotechnology**, v. 20, p. 297-301, 2004.

RATLEDGE, C. Regulation of lipid accumulation in oleaginous micro-organisms. **Biochemical Society Transactions**, v. 30, p. 1047-1050, n. 6, 2002.

\_\_\_\_\_. Fatty acid biosynthesis in microorganisms being used for Single Cell Oil production. **Biochimie**, v. 86, p. 807-815, 2004.

RAVEN, P.H.; EVERT, R.F.; EICHHORN, S.E. **Biologia vegetal**. 5.ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1996. 728p.

RENAUD, S.M.; THINH, L.V.; LAMBRINIDIS, G.; PARRY, D.L. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. **Aquaculture**, v. 211, p. 195-214, 2002.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal mass culture**. Boston: CRC Press, 1990. 558p.

\_\_\_\_\_. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell Science, 2004. 566p.

RIFFEL, D.B. **Unidade de osmose reversa acionada por energia solar fotovoltaica sem baterias**: simulação, projeto e validação experimental. 2005. 125 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Elétrica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2005.

ROMAN, J.A.; SGARBIERI, V.C. Obtenção e caracterização química e nutricional de diferentes concentrados de caseína. **Rev. Nutr.**, v. 8, n. 1, p.75-83, 2005.

ROUND, F.E. **Biologia das algas. The biology of the algae**. 2ed. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 1983. 263p.

SANTOS, G.M.; MACEDO, R.V.T.; ALEGRE, R.M. Influência do teor de nitrogênio no cultivo de *Spirulina maxima* em duas temperaturas - Parte I: Alteração da composição da biomassa. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 23, p.17-21, 2003.

SGARBIERI, V.C. **Proteínas em alimentos protéicos: propriedades, degradações e modificações**. São Paulo: Livraria Varela, 1996. 517p.

SUASSUNA, J. Potencialidades hídricas do nordeste brasileiro. **Parcerias Estratégicas**, n. 20, p. 119-144, 2005.

TRABULSI, L.R.; ALTERTHUM, F.; GOMPERTZ, O.F.; CANDEIAS, J.A.N. **Microbiologia**. 3.ed. São Paulo: Editora Atheneu, 1999. 586p.

UTEX Culture Collection of Algae. Disponível em: <http://www.bio.utexas.edu/research/utex/>. Acesso em: 13 de agosto de 2006.

UYSAL, H.; AYDOGAN, M.N.; ALGUR, O.F. Effect of single cell protein as a protein source in *Drosophila* culture. **Brazilian Journal of Microbiology**, v. 33, p. 314-317, 2002.

VONSHAK, A. ***Spirulina platensis* (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology**. Londres: Taylor & Francis. 1996. 233 p.

WALKER, T.L.; PURTON, S.; BECKER, D.K.; COLLET, C. Microalgae as bioreactors. **Plant Cell Rep**, v. 24, p. 629-641, 2005.

WEN, Z.Y.; CHEN, F. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. **Biotechnology Advances**, v. 21, p. 273-294, 2003.

YANG, H.N.; LEE, E.H.; KIM, H.M. *Spirulina platensis* inhibits anaphylactic reaction. **Life Sciences**, v. 61, p. 1237-1244, 1997.

ZENG, M-T.; VONSHAK, A. Adaptation of *Spirulina platensis* to salinity-stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 120, p. 113-118, 1998.

ZILLER, S. **Grasas y aceites alimentarios**. Zaragoza: Acribia, 1996. 71p.

ZITTELLI, G.C.; LAVISTA, F.; BASTIANINI, A.; RODOLFI, L.; VINCENZINI, M.; TREDICI, M.R. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors. **Journal of Biotechnology**, v. 70, p. 299-312, 1999.

## **CAPÍTULO 2**

**Cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis* em rejeito de dessalinizador e meio salinizado:  
Teor protéico e perfil de aminoácidos**

**Cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis* em rejeito de dessalinizador e meio salinizado:  
Teor protéico e perfil de aminoácidos**

**RESUMO**

*Arthrospira (Spirulina) platensis* foi cultivada em laboratório sob condições controladas (30°C, iluminação de 140  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$ , 12 horas claro/escuro e insuflação constante de ar atmosférico). Como meios de cultivo foram utilizados: (1) o meio Paoletti (controle), (2) este mesmo meio suplementado com 1,0  $\text{g.L}^{-1}$  de NaCl (água salinizada) e (3) rejeito de dessalinizador. Foi verificado o efeito destes tratamentos no crescimento, teor de proteínas e aminoácidos. As concentrações celulares máximas obtidas foram de 2,587; 3,545 e 4,954  $\text{g.L}^{-1}$  no meio controle, água salinizada e rejeito de dessalinizador, respectivamente. Com relação às concentrações protéicas, estas foram maiores no meio com rejeito de dessalinizador, com 56,17%, enquanto que a água salinizada obteve 48,59%. No entanto, a biomassa cultivada na água salinizada possuiu maior concentração de aminoácidos em relação à proteína total. A maioria dos aminoácidos essenciais encontrou-se acima dos limites requeridos pela FAO, com exceção apenas de lisina e triptofano.

**Palavras-chave:** *Arthrospira (Spirulina) platensis*, rejeito de dessalinização, aminograma

## **Cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis* in desalinator wastewater and salinated medium: protein content and amino acids profile**

### **ABSTRACT**

*Arthrospira (Spirulina) platensis* was cultivated in laboratory under controlled conditions (30°C, photoperiod of 12 hours light/dark provided by fluorescent lamps at an intensity of 140  $\mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  and constant bubbling air). Three different culture media were used: (1) Paoletti (control), (2) Paoletti supplemented with 1  $\text{g.L}^{-1}$  of NaCl (salinated water) and (3) desalinator wastewater. Effect of these treatments was evaluated on growth, protein content and amino acid profile. Maximum cell concentrations observed in Paoletti, salinated water and desalinator wastewater were 2.587, 3.545 and 4.954  $\text{g.L}^{-1}$ , respectively. Concerning protein concentrations, desalinator wastewater presented the higher content (56.17%), while salinated water presented 48.59%. However, biomass cultivated in salinated water presented higher amino acid concentrations regarding to total protein. Majority of essential amino acids were found in concentrations higher than those stipulated by FAO, with the exception of lysin and tryptophan.

**Keywords:** *Arthrospira (Spirulina) platensis*, desalinator wastewater, aminogram

## 1 INTRODUÇÃO

A cianofícea *Arthrospira (Spirulina) platensis* é produzida comercialmente devido a seu alto valor nutricional, servindo como fonte de nutrientes para alimentos e rações, além de compostos para a indústria farmacêutica (ZENG e VONSHAK, 1998; OLIVEIRA et al., 1999; PELIZER et al., 2002; XUE et al., 2002). Constitui a maior fonte de vitamina B<sub>12</sub> conhecida, além do alto conteúdo protéico (ESTRADA et al., 2001; DUARTE FILHO et al., 2002). Apresenta efeitos imuno promotores, como aumento na função dos macrófagos, além de atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* (XUE et al., 2002). Além disso, devido à falta de celulose na parede celular, sua assimilação pelo organismo é de 85-95% (BABADZHANOV et al., 2004). Também é utilizada em aquicultura servindo de alimento para peixes, crustáceos, moluscos e bivalves (OLIVEIRA et al., 1999). Ainda, é aplicada em tecnologias ambientais, sendo utilizada em tratamento de rejeitos e na agricultura (OLIVEIRA et al., 1999; PELIZER et al., 2002). Naturalmente, é encontrada em regiões tropicais em lagos alcalinos (pH 11,0) com altas concentrações salinas e de bicarbonatos (RICHMOND, 1990; VONSHAK, 1996; COZZA e COSTA, 2000; RICHMOND, 2004). Estas condições limitantes para outros microrganismos possibilitam que esta microalga possa ser cultivada em reatores abertos (PELIZER et al., 2002).

O semi-árido nordestino do Brasil ocupa uma área aproximada de 900.000 Km<sup>2</sup>. Esta área, também conhecida como Polígono das Secas, está compreendida dentro da isoieta de 800 mm. Na tentativa de minimizar o problema e estabelecer alternativas, o governo tem incentivado o uso de captação de águas subterrâneas. Entretanto os aquíferos desta região apresentam altos índices de salinidade, o que torna obrigatório o uso de dessalinizadores. Porém, estes processos geram resíduos com alta concentração salina e grande impacto ambiental. O objetivo do presente trabalho foi cultivar *Arthrospira platensis* neste rejeito e em meio de cultivo salinizado, avaliando-se o perfil de aminoácidos e o teor protéico das células.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Microrganismo e condições de cultivo

A cepa de *Arthrospira platensis* utilizada neste trabalho foi cedida pelo Laboratório de Bioquímica do Departamento de Química da Fundação Universidade Federal do Rio Grande – FURG/RS, a qual foi mantida em meio de cultura Paoletti, citado por Ferraz et al. (1985), com modificações, apresentando a seguinte composição (g.L<sup>-1</sup>): 0,92 NaCl; 1,88 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,50 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 8,89 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 15,15 NaHCO<sub>3</sub>; 0,05 CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 2,57 KNO<sub>3</sub>; 0,25 MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1,0 mL.L<sup>-1</sup> de solução de micronutrientes (2,86 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 1,54 MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,22 ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,39 NaMoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 0,079 CuSO<sub>4</sub> . 5H<sub>2</sub>O e 0,038 CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O) e 1,0 mL.L<sup>-1</sup> de solução de Fe-EDTA (29,8 EDTA-Na<sub>2</sub>; 24,9 FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O).

## 2.2 Meios de cultura

Foram utilizadas três distintas formulações de meios de cultura, sendo o meio Paoletti utilizado como controle. O segundo meio de cultura, água salinizada, foi produzido adicionando-se 1,0 g.L<sup>-1</sup> de NaCl ao meio Paoletti básico e no terceiro meio substituiu-se a água destilada por rejeito de dessalinizador, além de reduzir em 50% a concentração de todos os constituintes do Paoletti. Para o preparo deste meio de cultura, após a solubilização dos componentes no rejeito de dessalinizador, este foi centrifugado a 4.000 rpm por 15 minutos, sendo descartado o precipitado. O rejeito do dessalinizador foi proveniente do Laboratório de Referência em Dessalinização, Campina Grande/PB, apresentando a seguinte composição básica, determinada conforme a United States Environmental Protection Agency (USEPA):

| Unidades     | Resultado (mg.L <sup>-1</sup> ) |
|--------------|---------------------------------|
| Bicarbonatos | 0,00                            |
| Cálcio       | 585,00                          |
| Carbonatos   | 38,10                           |
| Cloreto      | 4.340,04                        |
| Fosfato      | < 0,05                          |
| Magnésio     | 433,00                          |
| Nitrato      | 779,27                          |
| Potássio     | 101,50                          |
| Sódio        | 1.245,00                        |
| Sulfato      | 919,65                          |

O pH de todos meios de cultura foi ajustado a 9,4±0,2.

### 2.3 Preparo do inóculo

Foram realizados cultivos prévios, por sete dias, de *Arthrospira platensis* em todos os meios de cultura para a sua adaptação. As microalgas foram cultivadas em fotobiorreatores de 4 litros, com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, iluminação provida por lâmpadas fluorescentes de 40 W, com intensidade luminosa de  $140 \mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$  e temperatura constante de  $30\pm 1^\circ\text{C}$ . O inóculo inicial em cada meio de cultura foi de 10% (v/v), com concentração celular entre 80-100  $\text{mg}\cdot\text{L}^{-1}$ . Estes foram provenientes de cultivos prévios em fase exponencial de crescimento. A agitação dos meios de cultura foi realizada por insuflação constante de ar atmosférico.

### 2.4 Avaliação do crescimento

A cada 72 horas foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 560 nm com base nas equações de reta:  $y=-0,4404x^2+2,3763x-0,0438$  (Paoletti),  $y=0,2811x^2+1,925x-0,0128$  (água salinizada) e  $y=0,6135x^2+1,1365x-0,0013$  (rejeito de dessalinizador), em função das curvas de crescimento pré-estabelecidas. O experimento foi encerrado a partir do declínio no crescimento celular. Ao término do cultivo, procedeu-se a filtração (filtro de acetato de celulose 0,45  $\mu\text{m}$ ) e a biomassa úmida, liofilizada e armazenada em freezer. Também se determinou a produtividade.

### 2.5 Determinação do pH

As determinações de pH foram realizadas a cada 72 horas, através da leitura direta de uma alíquota da amostra, com o auxílio de potenciômetro.

### 2.6 Teor protéico e aminograma

A determinação de proteínas totais ocorreu pelo método de Kjeldahl (AOAC, 1990). O perfil de aminoácidos seguiu as orientações de White et al. (1986) e a determinação do triptofano foi segundo Spies (1967). Para tanto foi utilizado a técnica de HPLC.

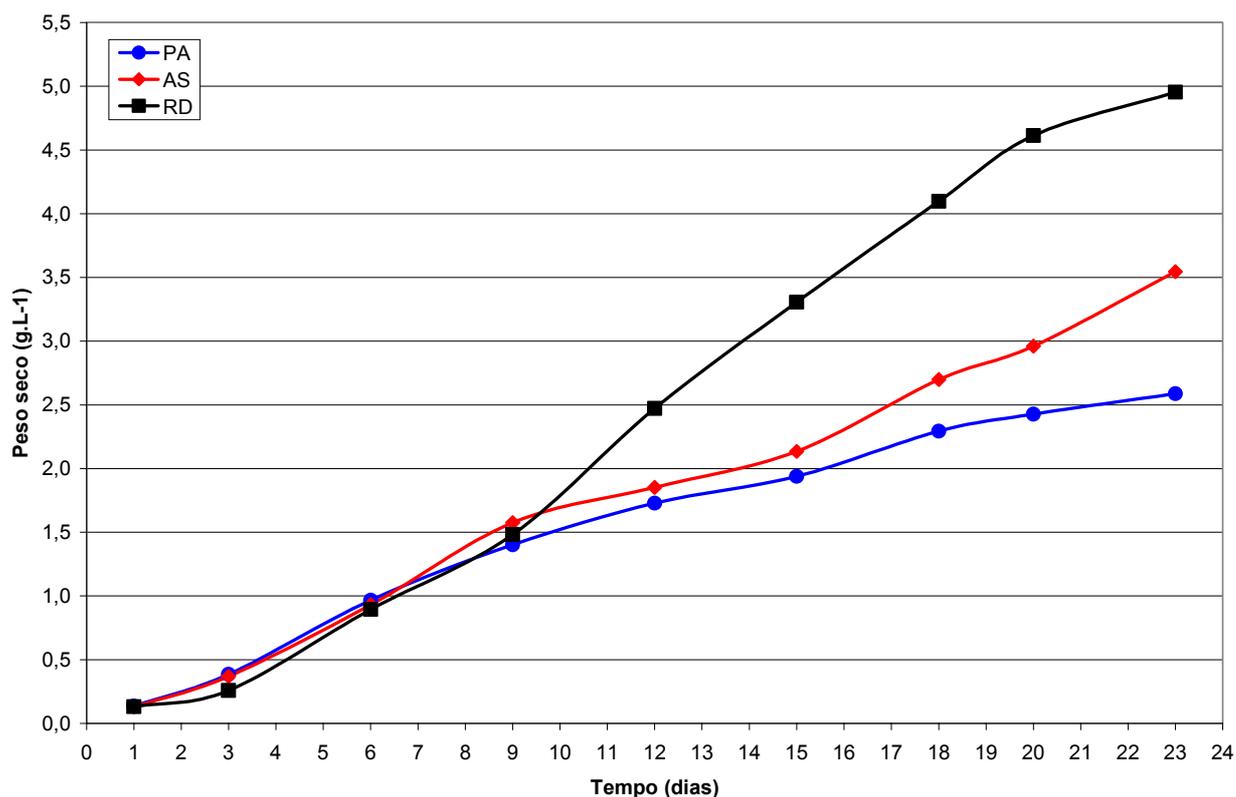
## 2.7 Análise estatística

Os resultados das análises foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) com um nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ) para verificar a existência de diferenças significativas. Para tanto foi utilizado o programa Statistica<sup>®</sup> (versão 6.0).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Efeito do meio de cultura no crescimento

A Figura 1 apresenta o crescimento de *Arthrospira platensis* ao longo do período de cultivo nos diferentes meios de cultura.



**Figura 1:** Curva de crescimento de *Arthrospira platensis* nos diferentes meios de cultura, valores médios de quatro repetições (PA: meio de cultura Paoletti; AS: água salinizada e RD: rejeito de dessalinizador).

Pode-se observar que, apesar da concentração celular do inóculo inicial em todos os meios ser praticamente a mesma, a partir do 9º dia ocorre um incremento do crescimento no meio de cultivo contendo o rejeito de dessalinizador. Este se torna bastante evidente no 23º dia, onde a concentração celular atingiu  $4,954 \text{ g.L}^{-1}$  (91,49% superior ao observado no controle - Paoletti). Observa-se também uma produção intermediária de biomassa por parte do cultivo em água salinizada, que apresentou um crescimento mais acentuado a partir do 15º dia, obtendo uma concentração celular final de  $3,545 \text{ g.L}^{-1}$  (37,03% superior ao controle). Os valores encontrados para a concentração celular máxima no meio Paoletti estão próximos aos relatados por Oliveira et al. (1999), de  $2,4 \text{ g.L}^{-1}$ , porém são inferiores aos dados de Rafiqul et al. (2005), que ao utilizar o meio Zarrouk, atingiu  $2,7 \text{ g.L}^{-1}$  no 20º dia de crescimento. No entanto, os valores obtidos foram 49% superiores aos relatados por Pelizer et al. (2003),  $1,3 \text{ g.L}^{-1}$ .

Pela análise de variância (ANOVA) é possível comprovar que existem diferenças significativas entre os tratamentos a um nível de significância de 95% ( $p=0,008722$ ). Ao realizar um estudo de comparação entre eles, observa-se que não existe diferença na concentração celular final entre a água salinizada e o controle, assim como entre a água salinizada e o rejeito de dessalinizador. Porém existe diferença significativa entre o controle e o rejeito de dessalinizador. A produtividade final para o meio Paoletti foi de  $0,109 \text{ g.L}^{-1}$ , para a água salinizada foi  $0,150 \text{ g.L}^{-1}$  e para o rejeito de dessalinizador foi de  $0,210 \text{ g.L}^{-1}$ . Nota-se que a produtividade do rejeito de dessalinizador foi 92,9% superior à do Paoletti. O pH dos cultivos variou de 9,6 a 10,5 no Paoletti, de 9,6 a 10,6 na água salinizada e de 9,4 a 10,2 no rejeito de dessalinizador.

### 3.2 Efeito do meio de cultura no teor protéico e de aminoácidos

As algas cultivadas no meio com água salinizada apresentaram um teor de proteína total de 48,59% do peso seco, enquanto que aquelas cultivadas com o rejeito de dessalinizador apresentaram 56,17%. Verificaram-se, estatisticamente, diferenças significativas entre estes dados ( $p=0,001661$ ). Apesar de Richmond (1990) comentar que os valores de proteína total variem de 46-50% do peso seco em *A. platensis*, os obtidos com o rejeito de dessalinizador são inferiores aos de Oliveira et al. (1999), com 64,35%. Já Pelizer et al. (2003), em um estudo com diferentes concentrações de inóculo inicial, obtiveram de 55,0-61,0%. No entanto, esses valores estão próximos aos encontrados por Rafiqul et al. (2005), com 58,6%, que cultivou a microalga

em meio Zarrouk. Zeng e Vonshak (1998) comentam que células sob condições de estresse, entre eles o salino, possuem menor capacidade de síntese protéica, podendo-se desta forma explicar as baixas concentrações de proteínas encontradas tanto no meio de água salinizada quanto no rejeito. Além disso, uma das formas de adaptação ao estresse salino seria o aumento no metabolismo de carboidratos (ZENG e VONSHAK, 1998).

Dentre os aminoácidos estudados, apenas quatro foram responsáveis por 39,33% (rejeito de dessalinizador) e 40,34% (água salinizada) da concentração total de aminoácidos (Tabela 1). No rejeito de dessalinizador estes foram: leucina, alanina, glutamina e histidina. Já na água salinizada, ocorre uma mudança de alanina para asparagina. Por outro lado, o triptofano foi o aminoácido encontrado em menor quantidade, correspondendo por 0,082 e 0,060 g/100g de proteína no rejeito e na água salinizada, respectivamente.

**Tabela 1:** Aminoácidos totais de *Arthrospira platensis*, em g/100g de proteína

| Aminoácidos    | Richmond <sup>a</sup> | Água salinizada | Rejeito de dessalinizador | FAO/WHO <sup>b</sup> |
|----------------|-----------------------|-----------------|---------------------------|----------------------|
| Isoleucina *   | 6,70                  | 5,71            | 6,49                      | 2,80                 |
| Leucina *      | 9,80                  | 9,26            | 10,17                     | 6,60                 |
| Valina         | 7,10                  | 6,45            | 6,54                      | 3,50                 |
| Lisina *       | 4,80                  | 4,42            | 4,99                      | 5,80                 |
| Fenilalanina * | 5,30                  | 4,45            | 5,16                      | 6,30                 |
| Tirosina       | 5,30                  | 5,26            | 5,69                      |                      |
| Metionina *    | 2,50                  | 2,05            | 2,16                      | 2,50                 |
| Cisteína       | 0,90                  | 0,59            | 0,57                      |                      |
| Triptofano     | 0,30                  | 0,06            | 0,08                      | 1,10                 |
| Treonina *     | 6,20                  | 4,65            | 5,31                      | 3,40                 |
| Histidina *    | 2,20                  | 9,17            | 10,41                     | 1,90                 |
| Alanina *      | 9,50                  | 8,51            | 9,27                      |                      |
| Arginina *     | 7,30                  | 7,09            | 8,00                      |                      |
| Asparagina *   | 11,80                 | 9,86            | 3,90                      |                      |
| Glutamina *    | 10,30                 | 13,40           | 9,47                      |                      |
| Glicina *      | 5,70                  | 1,10            | 2,98                      |                      |
| Prolina *      | 4,20                  | 3,33            | 3,75                      |                      |
| Serina *       | 5,10                  | 4,59            | 5,00                      |                      |

Legenda: <sup>a</sup> – Richmond (2004)

<sup>b</sup> – Recomendações para crianças na idade de 2-5 anos, segundo FAO/WHO (apud ROMAN e SGARBIERI, 2005)

\*existem diferenças estatísticas significativas entre os tratamentos água salinizada e rejeito de dessalinizador (p<0,05)

Comparando-se as concentrações aminoacídicas encontradas com as de Grinstead et al. (2000), verifica-se que todos os aminoácidos encontram-se em concentrações mais elevadas do que as publicadas por estes autores. As únicas exceções são o triptofano, cuja concentração foi de 0,6%, e a cisteína, 0,7%. Pode-se observar pela tabela, que 57,60% da concentração de aminoácidos em biomassa cultivada no rejeito de dessalinizador corresponde a aminoácidos essenciais, sendo esta concentração de 52,10% na biomassa cultivada em água salinizada. Os dados para o rejeito são próximos aos reportados por Babadzhanov et al. (2004), cuja biomassa de *A. platensis* produziu proteínas compostas em 60% por aminoácidos essenciais. Ainda com relação aos aminoácidos essenciais, nota-se que estes atingem os limites mínimos requeridos pela FAO. Vale ressaltar os valores obtidos para histidina, que superam em 483% (água salinizada) e 548% (rejeito de dessalinizador) os requerimentos da FAO. Os dois únicos aminoácidos que não atingem os limites mínimos são lisina e triptofano. Estes dados conflitam com os de Danesi et al. (2002), que afirma que dentre todos os aminoácidos de *A. platensis* apenas a metionina encontra-se abaixo dos níveis recomendados pela FAO.

Apesar da lisina suprir 76% (água salinizada) e 86% (rejeito de dessalinizador) dos requerimentos da FAO, a maior deficiência encontra-se com o triptofano que atinge apenas 5,45% e 7,45%, na água salinizada e rejeito de dessalinizador, respectivamente. Deve-se observar que os índices de triptofano para *A. platensis* geralmente não são elevados, sendo que Campanella et al. (1999) encontrou apenas uma concentração de 0,139-0,144 g/100g de proteína. Apesar do teor de proteína total ter sido superior no rejeito, a concentração de aminoácidos foi de 46,09 g/100g de biomassa seca enquanto que na água salinizada foi de 47,57 g/100g de biomassa seca. No entanto, analisando-se o perfil de aminoácidos, nota-se que a biomassa proveniente de cultivo em água salinizada apresenta maiores concentrações principalmente nos aminoácidos não essenciais, como asparagina e glutamina. Ainda, pode-se observar que apenas os aminoácidos valina, tirosina, cisteína e triptofano não apresentaram diferenças estatísticas entre os dois tratamentos.

Com base nos dados obtidos, pode-se afirmar que o cultivo de *A. platensis* em rejeito de dessalinizador produz uma elevada biomassa (4,954 g.L<sup>-1</sup>). Além disso, possui apenas dois aminoácidos essenciais, lisina e triptofano, abaixo dos requeridos pela FAO. Portanto, o cultivo é possível neste meio. Outros estudos podem ser voltados para cultivos em larga escala.

## REFERÊNCIAS

AOAC. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. Method nr 92307. AOAC: Washington D.C.

BABADZHANOV, A.S.; ABDUSAMATOVA, N.; YUSUPOVA, F.M.; FAIZULLAEVA, N.; MEZHLUMYAN, L.G.; MALIKOVA, M.K. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 40, n. 3, p. 276-279, 2004.

CAMPANELLA, L.; CRESCENTINI, G.; AVINO, P. Simultaneous determination of cysteine, cystine and 18 other amino acids in various matrices by high-performance liquid chromatography. **Journal of Chromatography A**, v. 833, p. 137-145, 1999.

COZZA, K.L.; COSTA, J.A.V. Lipídios em *Spirulina*. **Vetor, Revista de Ciências Exatas e Engenharias**, v. 10, p. 69-80, 2000.

DANESI, E.D.G.; RANGEL-YAGUI, C.O.; CARVALHO, J.C.M.; SATO, S. An investigation of effect of replacing nitrate by urea in the growth and production of chlorophyll by *Spirulina platensis*. **Biomass and Bioenergy**, v. 23, p. 261-269, 2002.

DUARTE FILHO, P.; SILVA, P.; COSTA, J.A.V. Estudo do crescimento de duas cepas de *Spirulina platensis* em diferentes meios de cultura e níveis de agitação. In: Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, XVIII, Porto Alegre, 2002.

ESTRADA, J.E.P.; BESCÓS, P.B.; FRESNO, A.M.V. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **II Farmaco**, v. 56, p. 497-500, 2001.

FERRAZ, C.A.M.; AQUARONE, E.; KRAUTER, M. Efeito da luz e do pH no crescimento de *Spirulina maxima*. **Revista de Microbiologia**, v. 16, n. 2, p. 132-137, 1985.

GRINSTEAD, G.S.; TOKACH, M.D.; DRITZ, S.S.; GOODBAND, R.D.; NELSSSEN, J.L. Effects of *Spirulina platensis* on growth performance of weanling pigs. **Animal Feed Science and Technology**, v. 83, p. 237-247, 2000.

OLIVEIRA, M.A.C.L.; MONTEIRO, M.P.C.; ROBBS, P.G.; LEITE, S.G.F. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. **Aquaculture International**, v. 7, p. 261-275, 1999.

PELIZER, L.H.; CARVALHO, J.C.M.; SATO, S.; MORAES, I.O. *Spirulina platensis* growth estimation by pH determination at different cultivations conditions. **Electronic Journal of Biotechnology**, v. 5, n. 3, p. 251-257, 2002.

PELIZER, L.H.; DANESI, E.D.G.A.; RANGEL, C.O.A.; SASSANO, C.E.N.; CARVALHO, J.C.M.; SATO, S.; MORAES, I.O. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina platensis* cultivation. **Journal of Food Engineering**, v. 56, p. 371-375, 2003.

RAFIQUL, I.M.; JALAL, K.C.A.; ALAM, M.Z. Environmental factors for optimisation of *Spirulina* biomass in laboratory culture. **Biotechnology**, v. 4, n. 1, p. 19-22, 2005.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal mass culture**. CRC Press, Boston, 1990. 558p.

\_\_\_\_\_. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Blackwell Science, Oxford, 2004. 566p.

ROMAN, J.A.; SGARBIERI, V.C. Obtenção e caracterização química e nutricional de diferentes concentrados de caseína. **Rev. Nutr. Campinas**, v. 18, n. 1, p. 75-83, 2005.

SPIES, J.R. Determination of tryptophan in proteins. **Analytical Chemistry**, v. 39, n. 12, p. 1412-1416, 1967.

VONSHAK, A. **Spirulina platensis (Arthrospira): Physiology, Cell Biology and Biotechnology**. Taylor & Francis: Londres, 1996, 233 p.

WHITE, J.A.; HART, R.J.; KRY, J.C. An evaluation of the Waters Pico-Tag system for the amino acid analysis of food materials. **J. Automatic Chem**, v. 8, p. 170-177, 1986.

XUE, C.; HU, Y.; SAITO, H.; ZHANG, Z.; LI, Z.; CAI, Y.; OU, C.; LIN, H.; IMBS, A.B. Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. **Food Chemistry**, v. 7, p. 9-13, 2002.

ZENG, M.-T.; VONSHAK, A. Adaptation of *Spirulina platensis* to salinity-stress. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 120, p. 113-118, 1998.

## AGRADECIMENTOS

Ao Professor Dr. Kepler Borges França, da Universidade Federal de Campina Grande, Laboratório de Referência em Dessalinização, por ter fornecido o rejeito de dessalinizador.

## **CAPÍTULO 3**

**Uso de rejeito de dessalinizador para o cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis*: perfil de ácidos graxos**

**Artigo enviado para a Revista Grasas y Aceites**

## Uso de rejeito de dessalinizador para o cultivo de *Arthrospira (Spirulina) platensis*: perfil de ácidos graxos

### RESUMO

Na região nordeste do Brasil, devido à salinização dos aquíferos, existe a necessidade da utilização de processos de dessalinização. No entanto, estes processos geram resíduos com alta concentração salina, com significativo impacto ambiental. Neste trabalho objetivou-se o cultivo de *Arthrospira platensis* em três meios de cultivo diferentes: meio Paoletti (controle), meio Paoletti suplementado com 1,0 g.L<sup>-1</sup> de NaCl (água salinizada) e rejeito de dessalinizador. As microalgas foram cultivadas sob condições laboratoriais controladas, em fotobiorreatores de 4 litros, 30°C, iluminação de 140 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>, 12 horas período claro/escuro e insuflação constante de ar atmosférico. Foi verificado o efeito dos diferentes meios na concentração celular, produtividade, velocidade específica de crescimento, teor total de lipídios e perfil de ácidos graxos. A maior concentração celular, bem como a maior produtividade máxima foram encontradas no rejeito de dessalinizador, 4,954 g.L<sup>-1</sup> e 0,225 g.L<sup>-1</sup>. Com relação aos lipídios totais, encontraram-se teores de 4,54% no rejeito de dessalinizador e 4,69% na água salinizada. No tocante aos ácidos graxos, houve alto índice de ácidos graxos saturados em ambos os tratamentos. No caso do ácido γ-linolênico, encontrou-se 13,09% e 11,95%, no rejeito de dessalinizador e água salinizada, respectivamente.

**Palavras-chave:** *Arthrospira (Spirulina) platensis*, rejeito de dessalinização, ácidos graxos

## Use of desalinator wastewater for cultivation of *Arthrospira (Spirulina) platensis*: fatty acids profile

### ABSTRACT

The need of desalination processes in northeastern Brazil is due to salination of water sources. However, these processes produce residues with high saline concentration and significant environmental impact. This work aimed to cultivate *Arthrospira platensis* in three different media: Paoletti medium (control), Paoletti medium added of 1.0 g.L<sup>-1</sup> of NaCl (salinated water) and desalinator wastewater. Microalgae were cultivated under controlled conditions, in 4 L Erlenmeyer flasks, at 30°C, photoperiod of 12 hours light/dark provided by fluorescent lamps at an intensity of 140 μmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup> and constant bubbling air. Effect of different media on cell concentration, yield, total content of lipids and fatty acids profile was verified. Higher cell concentrations, as well as higher productivity/yield were observed in desalinator wastewater: 4.954 g.L<sup>-1</sup> and 0.225 g.L<sup>-1</sup>.day<sup>-1</sup>, respectively. Concerning to total lipids, contents of 4.54 % and 4.69 % were observed in desalinator wastewater and salinated water, respectively. High levels of saturated fatty acids were observed in both treatments. Concerning to γ-linolenic acid, contents of 13.09 % and 11.95 % were found in desalinator wastewater and salinated water, respectively.

**Keywords:** *Arthrospira (Spirulina) platensis*, desalinator wastewater, fatty acids

## 1 INTRODUÇÃO

Vastas áreas do semi-árido nordestino brasileiro sofrem com o problema crônico das baixas precipitações pluviométricas e das secas periódicas, somados a ocorrência freqüente de elevados níveis de salinização dos seus mananciais (Monteiro e Pinheiro, 2004). Atualmente procura-se minimizar este problema com a captação de águas subterrâneas e conseqüente dessalinização por osmose reversa. Entretanto, a retrolavagem das membranas produz um rejeito altamente salinizado cujo destino é problemático, pois é disposto, normalmente, em lagoas de decantação ou mesmo ao ar livre. Assim, o presente trabalho pretende aproveitar este resíduo para compor meio de crescimento para *Arthrospira platensis*.

A produção de alimentos e compostos de interesse a partir de microalgas em sistemas não convencionais apresenta muitas vantagens, uma vez que permite elevados níveis de produção, operando em condições controladas e com baixo risco de contaminação. Mundialmente, *Arthrospira platensis* é produzida para a obtenção de proteína, carotenóides, vitaminas, minerais e de ácidos graxos poliinsaturados (PUFA), principalmente o ácido graxo  $\gamma$ -linolênico (Quoc e Dubacq, 1997; Xue *et al.*, 2002; Hongsthong *et al.*, 2003). Também constitui a maior fonte de vitamina B<sub>12</sub> conhecida (Estrada *et al.*, 2001; Duarte Filho *et al.*, 2002). Apresenta ainda compostos de interesse farmacêutico, possuindo efeitos imunopromotores, como aumento na função dos macrófagos, além de atividade antioxidante *in vitro* e *in vivo* (Xue *et al.*, 2002). Além disso, devido à falta de celulose na parede celular, sua assimilação pelo organismo é de 85-95% (Babadzhanov *et al.*, 2004).

A significância terapêutica dos PUFA's  $\omega$ -3 e  $\omega$ -6 tem sido recentemente indicada por estudos clínicos e epidemiológicos (Medina *et al.*, 1998; Renaud *et al.*, 2002; Kroes *et al.*, 2003; Wen e Chen, 2003). Estudos, principalmente com o ácido  $\gamma$ -linolênico, sugerem efeitos como redução do colesterol sanguíneo, proteção contra alguns tipos de câncer, melhora no sistema imunológico, redução de hiperlipidemia e obesidade, além de inibição parcial da replicação do vírus HIV-1 (Jiménez *et al.*, 2003). Estas descobertas levaram a um grande interesse no desenvolvimento comercial de processos para produção e extração destes lipídios. Os PUFA's podem ser obtidos de fontes animais e vegetais, sendo os óleos de pescado sua fonte principal. Porém, os óleos de pescado apresentam produção inferior à demanda, além de cheiro

desagradável, contaminação por metais pesados, presença de colesterol, produtividade variável e perfil complexo de ácidos graxos (Medina *et al.*, 1998; Renaud *et al.*, 2002; Kroes *et al.*, 2003; Wen e Chen, 2003). Por outro lado, PUFA's extraídos a partir de microalgas, e de outros microrganismos, não possuem estas desvantagens e, a presença de um perfil de ácidos graxos mais simples facilita a purificação (Medina *et al.*, 1998; Zittelli *et al.*, 1999; Wen e Chen, 2003). No entanto, o conteúdo de PUFA das microalgas não é dependente apenas da espécie, mas também de fatores relacionados às condições do cultivo (Volkman *et al.*, 1989; Medina *et al.*, 1998), razão deste trabalho.

## 2 MATERIAIS E MÉTODOS

### 2.1 Microrganismo e condições de cultivo

A cepa de *Arthrospira platensis* utilizada neste trabalho foi cedida pelo Laboratório de Bioquímica do Departamento de Química da Fundação Universidade Federal do Rio Grande – FURG/RS, a qual foi mantida em meio de cultura Paoletti, citado por Ferraz *et al.* (1985), com modificações, apresentando a seguinte composição (g.L<sup>-1</sup>): 0,92 NaCl; 1,88 Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>; 0,50 K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>; 8,89 Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>; 15,15 NaHCO<sub>3</sub>; 0,05 CaCl<sub>2</sub>.2H<sub>2</sub>O; 2,57 KNO<sub>3</sub>; 0,25 MgSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 1,0 mL.L<sup>-1</sup> de solução de micronutrientes (2,86 H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 1,54 MnSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O; 0,22 ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O; 0,39 NaMoO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O; 0,079 CuSO<sub>4</sub>.5H<sub>2</sub>O e 0,038 CoCl<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O) e 1,0 mL.L<sup>-1</sup> de solução de Fe-EDTA (29,8 EDTA-Na<sub>2</sub>; 24,9 FeSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O).

### 2.2 Meios de cultura

Foram utilizadas três distintas formulações de meios de cultura, sendo o meio Paoletti utilizado como controle. O segundo meio de cultura, água salinizada, foi produzido adicionando-se 1,0 g.L<sup>-1</sup> de NaCl ao meio Paoletti básico e no terceiro meio substituiu-se a água destilada por rejeito de dessalinizador, além de reduzir em 50% a concentração de todos os constituintes do Paoletti. Para o preparo deste meio de cultura, após a solubilização dos componentes no rejeito de dessalinizador, este foi centrifugado a 4.000 rpm por 15 minutos, sendo descartado o precipitado. O rejeito do dessalinizador foi proveniente do Laboratório de Referência em

Dessalinização, Campina Grande/PB, apresentando a seguinte composição básica, determinada conforme a United States Environmental Protection Agency (USEPA):

| Unidades     | Resultado (mg.L <sup>-1</sup> ) |
|--------------|---------------------------------|
| Bicarbonatos | 0,00                            |
| Cálcio       | 585,00                          |
| Carbonatos   | 38,10                           |
| Cloreto      | 4340,04                         |
| Fosfato      | < 0,05                          |
| Magnésio     | 433,00                          |
| Nitrato      | 779,27                          |
| Potássio     | 101,50                          |
| Sódio        | 1245,00                         |
| Sulfato      | 919,65                          |

O pH de todos meios de cultura foi ajustado a  $9,4 \pm 0,2$ .

### 2.3 Preparo do inóculo

Foram realizados cultivos prévios, por sete dias, de *Arthrospira platensis* em todos os meios de cultura para a sua adaptação. As microalgas foram cultivadas em fotobiorreatores de 4 litros, com fotoperíodo de 12 horas claro/escuro, iluminação provida por lâmpadas fluorescentes de 40 W, com intensidade luminosa de  $140 \mu\text{mol.m}^{-2}.\text{s}^{-1}$  e temperatura constante de  $30 \pm 1^\circ\text{C}$ . O inóculo inicial em cada meio de cultura foi de 10% (v/v), com concentração celular entre 80-100 mg.L<sup>-1</sup>. Estes foram provenientes de cultivos prévios em fase exponencial de crescimento. A agitação dos meios de cultura foi realizada por insuflação constante de ar atmosférico.

### 2.4 Avaliação do crescimento

A cada 72 horas foram realizadas leituras em espectrofotômetro a 560 nm com base nas equações de reta:  $y = -0,4404x^2 + 2,3763x - 0,0438$  (Paoletti),  $y = 0,2811x^2 + 1,925x - 0,0128$  (água salinizada) e  $y = 0,6135x^2 + 1,1365x - 0,0013$  (rejeito de dessalinizador), em função das curvas de crescimento pré-estabelecidas. O experimento foi encerrado a partir do declínio no crescimento celular. Ao término do cultivo, procedeu-se a filtração (filtro de acetato de celulose 0,45  $\mu\text{m}$ ) e a biomassa úmida, liofilizada e armazenada em freezer. Também se determinou a velocidade específica de crescimento e a produtividade.

## 2.5 Determinação do pH

As determinações de pH foram realizadas a cada 72 horas, através da leitura direta de uma alíquota da amostra, com o auxílio de potenciômetro.

## 2.6 Teor lipídico e perfil de ácidos graxos

A extração dos lipídios totais da biomassa foi de acordo com o método de Bligh e Dyer (1959) e a metilação dos ácidos graxos foi conforme Hartman e Lago (1976). A composição dos ácidos graxos foi determinada por cromatografia gasosa.

## 2.7 Análise estatística

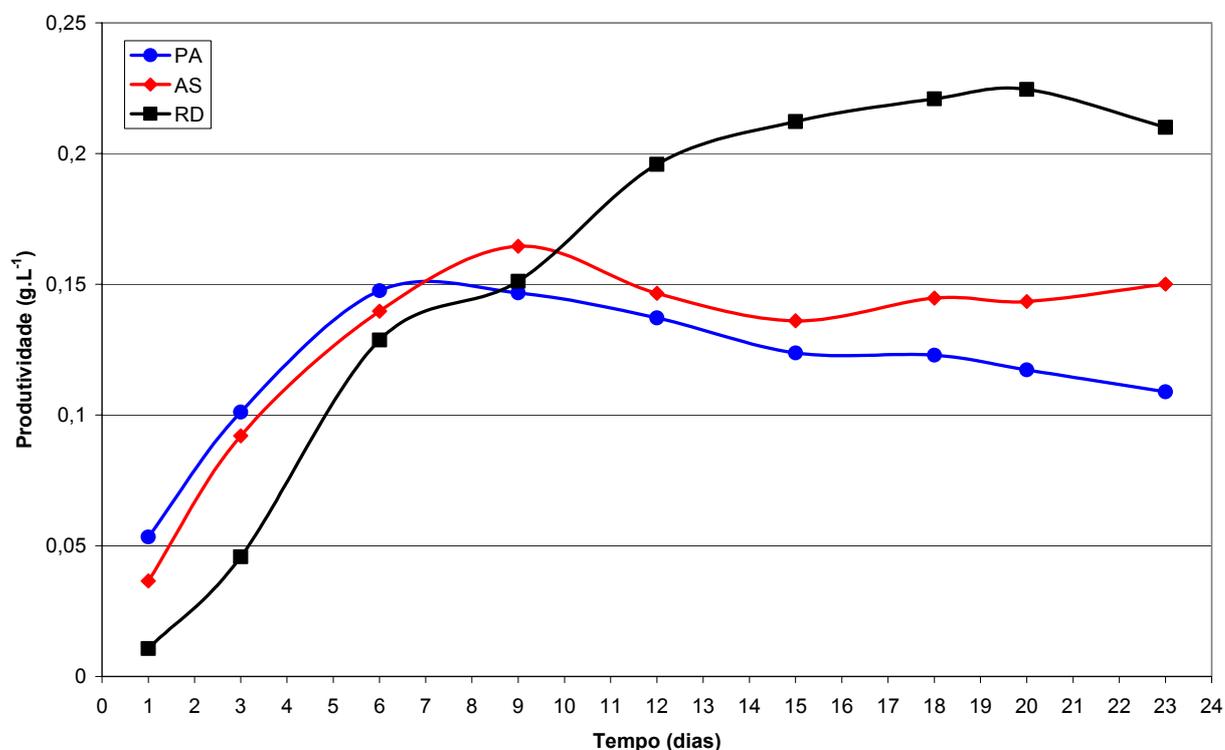
Os resultados das análises foram submetidos à Análise de Variância (ANOVA) com um nível de significância de 95% ( $p < 0,05$ ) para verificar a existência de diferenças significativas. Para tanto foi utilizado o programa Statistica<sup>®</sup> (versão 6.0).

# 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

## 3.1 Efeito do meio de cultura no crescimento

Todas as concentrações celulares máximas foram obtidas no 23º dia: 2,587 g.L<sup>-1</sup> no meio Paoletti; 3,545 g.L<sup>-1</sup> na água salinizada; e 4,954 g.L<sup>-1</sup> no rejeito de dessalinizador. Assim, os valores obtidos no rejeito e na água salinizada foram, respectivamente, 91,49% e 37,03% superiores ao observado no controle. Os valores encontrados para a concentração celular máxima no meio Paoletti estão próximos aos relatados por Oliveira *et al.* (1999), de 2,4 g.L<sup>-1</sup>, porém são inferiores aos dados de Rafiqul *et al.* (2005), que ao utilizar o meio Zarrouk, atingiu 2,7 g.L<sup>-1</sup> no 20º dia de crescimento. No entanto, os valores obtidos foram 49% superiores aos relatados por Pelizer *et al.* (2003), 1,3 g.L<sup>-1</sup>, ocorrendo diferenças significativas entre os tratamentos ( $p=0,008722$ ). Essas diferenças encontram-se entre o controle e o rejeito de dessalinizador. Quanto às velocidades específicas máximas de crescimento, os dados obtidos foram: 0,393 dia<sup>-1</sup> no Paoletti, 0,324 dia<sup>-1</sup> na água salinizada e 0,244 dia<sup>-1</sup> no rejeito de dessalinizador.

Estatisticamente não houveram diferenças significativas entre os tratamentos. A Figura 1 mostra a produtividade nos diferentes tratamentos, em relação ao primeiro dia.



**Figura 1:** Produtividade, em  $\text{g.L}^{-1}$ , da microalga *Arthrospira platensis* ao longo do tempo, valores médios de quatro repetições (PA: meio de cultura Paoletti; AS: água salinizada; RD: rejeito de dessalinizador).

Pode-se observar na Figura 1 que, apesar da microalga cultivada no rejeito de dessalinizador ter iniciado com produtividades inferior a dos demais tratamentos, a partir do 10º dia já se apresenta superior, atingindo o máximo no 20º dia ( $0,225 \text{ g.L}^{-1}$ ). Os valores máximos encontrados nos outros dois tratamentos foram  $0,148 \text{ g.L}^{-1} \cdot \text{dia}^{-1}$  no Paoletti (6º dia) e  $0,165 \text{ g.L}^{-1}$  na água salinizada (9º dia), ocorrendo diferenças significativas entre os tratamentos ( $p=0,044603$ ), sendo esta encontrada entre o controle e o rejeito de dessalinizador. Com relação ao meio composto por água salinizada, este não apresentou diferenças quando comparado aos outros dois tratamentos. Com base nos dados de Oliveira *et al.* (1999), observa-se que apenas a microalga cultivada em rejeito de dessalinizador obteve índices de produtividade superiores aos reportados ( $0,175 \text{ g.L}^{-1}$ ). Porém os dados obtidos são muito inferiores aos encontrados por Travieso *et al.* (2001), que ao cultivar *A. platensis* em meio BG 11, alcançou produtividades

máximas de 0,400 g.L<sup>-1</sup>. O pH dos cultivos variou de 9,6 a 10,5 no Paoletti, de 9,6 a 10,6 na água salinizada e de 9,4 a 10,2 no rejeito de dessalinizador.

### 3.2 Efeito do meio de cultura no teor lipídico e perfil de ácidos graxos

O perfil de ácidos graxos das biomassas encontra-se na Tabela 1.

**Tabela 1:** Composição de ácidos graxos dos lipídios totais para cada meio de cultura (%).

| Ácido graxo | Paoletti <sup>a</sup> | Rejeito | Água salinizada |
|-------------|-----------------------|---------|-----------------|
| C4:0        |                       | nd      | nd              |
| C6:0        |                       | nd      | nd              |
| C8:0        |                       | nd      | nd              |
| C10:0       |                       | nd      | 0,38            |
| C11:0       |                       | nd      | 9,40            |
| C12:0 *     |                       | 36,11   | 15,35           |
| C14:0       |                       | nd      | 0,50            |
| C14:1       |                       | nd      | 1,99            |
| C16:0       | 30,38                 | 1,26    | 1,00            |
| C16:1       | 3,39                  | nd      | 0,98            |
| C17:0 *     |                       | 17,29   | 12,63           |
| C17:1       |                       | 0,80    | 0,54            |
| C18:0 *     | 2,76                  | 0,97    | 12,19           |
| C18:1c      | 20,92                 | 5,62    | 5,06            |
| C18:1t *    |                       | 8,67    | 0,54            |
| C18:2c      | 8,69                  | 12,34   | 11,49           |
| C18:2t      |                       | nd      | 2,14            |
| C18:3γ      | 13,65                 | 13,09   | 11,95           |
| C18:3       |                       | nd      | 0,42            |
| C20:0       |                       | nd      | 2,01            |
| C20:1       |                       | nd      | 0,57            |
| C20:2       |                       | nd      | 0,75            |
| C20:3       |                       | nd      | nd              |
| C20:5       |                       | nd      | nd              |
| C22:0       |                       | 1,11    | 0,48            |
| C22:1       |                       | 0,60    | 0,61            |
| C22:6       |                       | nd      | 6,65            |
| C24:0       |                       | 0,95    | 0,85            |
| C24:1       |                       | nd      | 0,33            |
| NI          |                       | 1,87    | 1,17            |

Legenda: <sup>a</sup> – Oliveira *et al.* (1999)

nd – não detectado

t – ácido graxo trans

NI – total de não identificados

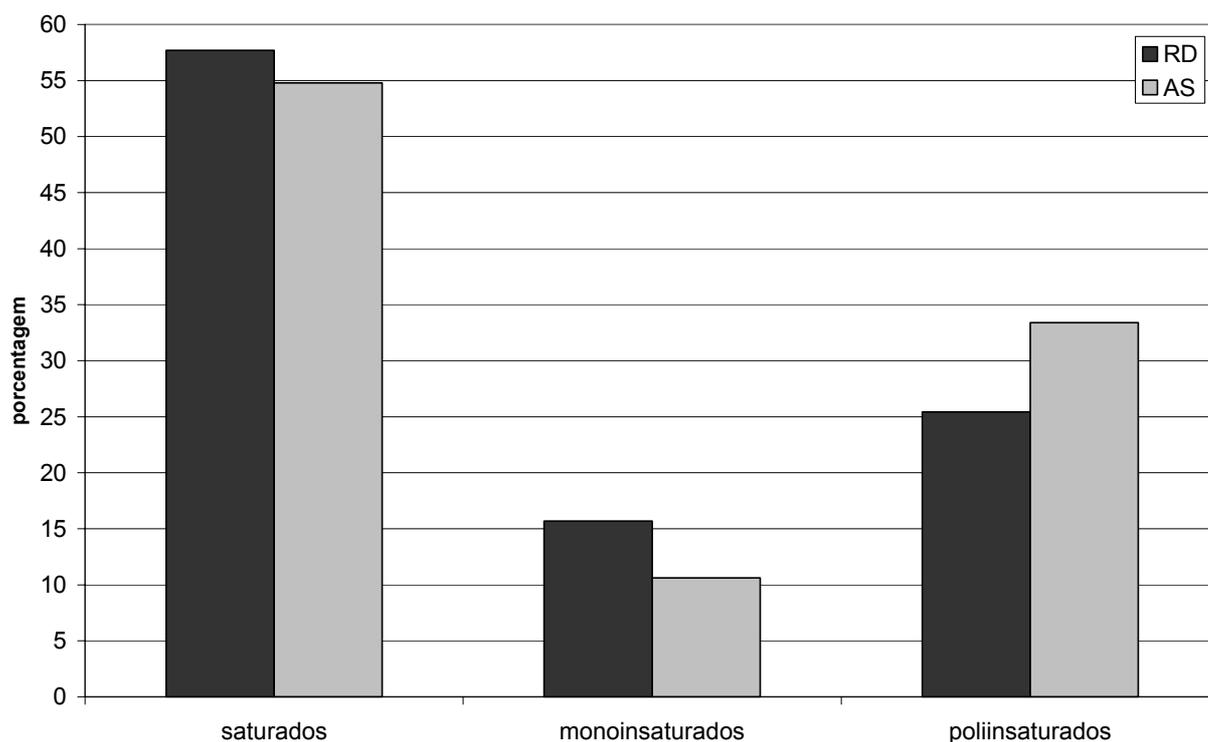
\*existem diferenças estatisticamente significativas entre os tratamentos água salinizada e rejeito de dessalinizador (p<0,05)

Com relação ao teor total de lipídios, este foi de 4,54% na biomassa cultivada no rejeito de dessalinizador e 4,69% na cultivada em água salinizada. Estatisticamente, estes valores não apresentam diferenças significativas ( $p > 0,05$ ), encontrando-se dentro dos valores descritos por Richmond (1990). Porém estão abaixo dos detectados por Oliveira *et al.* (1999), 6,96%, bem como daqueles reportados por Xue *et al.* (2002), 6,38%, e Tokuşoglu e Ünal (2003), que variaram de 7,09 a 8,03%.

Foram detectados 12 ácidos graxos nas amostras provenientes do cultivo em rejeito de dessalinizador. Por outro lado nas células desenvolvidas no meio salinizado detectou-se um total de 24 ácidos graxos. Os ácidos graxos encontrados em maiores proporções nas biomassas de ambos os cultivos foram o C12:0 e C17:0. Em conjunto, estes representam 53,40% e 27,98% do total de ácidos graxos do rejeito e da água salinizada, respectivamente, sendo estes valores estatisticamente diferentes. A presença do ácido graxo C17:0 em *A. platensis* foi reportada por Xue *et al.* (2002) e por Babadzhanov *et al.* (2004), porém com concentrações de 0,1% e 1,2%, respectivamente. Mühlhling *et al.* (2005) ao estudarem 40 cepas diferentes de *A. platensis* verificaram que apenas 16 delas não possuíam o ácido graxo C17:0 em seus perfis, indicando certa variabilidade entre elas. Ainda, encontram-se diferenças estatisticamente significativas nos seguintes ácidos graxos: C18:0 e C18:1t.

A presença de ácido  $\gamma$ -linolênico nas amostras situou-se em 13,09% (rejeito de dessalinizador) e 11,95% (água salinizada), dados próximos aos encontrados por Oliveira *et al.* (1999). Porém, estes são inferiores aos encontrados por Deshnum *et al.* (2000), que ao cultivarem *A. platensis* em meio Zarrouk a 35°C, encontraram concentrações de 20%, mesmo valor reportado por Xue *et al.* (2002) ao analisar *Arthrospira* desidratada. No entanto, Tokuşoglu e Ünal (2003) obtiveram valores que variam entre 3,64 a 5,52%, ao cultivarem *Arthrospira* em meio Conway em 20°C.

A presença de C22:6 ocorreu apenas na biomassa cultivada na água salinizada. Langdon e Ünal (1999), bem como Tadesse *et al.* (2003), ao pesquisarem biomassa de *Arthrospira platensis*, não encontraram este ácido graxo. Já Tokuşoglu e Ünal (2003) encontraram valores entre 2,30 a 3,51% do total de lipídios. A Figura 2 apresenta as proporções de ácidos graxos saturados e insaturados nas amostras.



**Figura 2:** Proporção de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e poliinsaturados, em % do total de lipídios, em *Arthrospira platensis* (AS: água salinizada; RD: rejeito de dessalinizador).

Nota-se uma alta proporção de ácidos graxos saturados em ambas as amostras, perfazendo um total de 57,69% no rejeito de dessalinizador e 54,79% na água salinizada. A presença de ácidos graxos saturados e monoinsaturados foi maior na biomassa cultivada em rejeito de dessalinizador, enquanto que na água salinizada foi maior a presença de poliinsaturados. Isto pode ser devido à presença de C18:2t, C18:3 ( $\alpha$ -linolênico), C20:2 e C22:6 (DHA), que foram encontrados apenas na biomassa proveniente do cultivo em água salinizada. Ao observarem-se os dados de Tokuşoglu e Ünal (2003), percebe-se uma melhor distribuição dos ácidos graxos dentro das três diferentes classes. Estes autores obtiveram de 36,40 a 39,29% de monoinsaturados, 34,09 a 35,89% de saturados e de 22,30 a 25,12% de poliinsaturados.

Estas variações no perfil de ácidos graxos encontradas entre os autores e mesmo entre as amostras analisadas podem ser explicadas pelas diferentes condições de cultivo ou por alguma situação estressante a qual a microalga foi exposta. Walsh *et al.* (1997) citam alterações nos perfis de ácidos graxos de microalgas, com o aumento da concentração de ácidos graxos saturados, quando sujeitas a estresse luminoso.

Os dados obtidos indicam a viabilidade do cultivo de *A. platensis* em rejeito de dessalinizador. Além de produzir grande quantidade de biomassa neste meio, também apresentou níveis de lipídios dentro dos esperados para esta espécie. A presença de maiores concentrações de ácidos graxos saturados e menores de  $\gamma$ -linolênico pode ser devida às condições do cultivo. A utilização desta microalga em rejeito de dessalinizador em cultivos de grande escala deve ser pesquisada.

**REFERÊNCIAS**

- Babadzhanov, A.S.; Abdusamatova, N.; Yusupova, F.M.; Faizullaeva, N.; Mezhlumyan, L.G.; Malikova, M.K. 2004. Chemical composition of *Spirulina platensis* cultivated in Uzbekistan. *Chemistry of Natural Compounds* **40** (3) 276-279.
- Bligh, E.G.; Dyer, J.W. 1959. A Rapid method of total lipid extraction and purification. *Canadian Journal of Biochemistry and Physiology* **37** 911-917.
- Deshnium, P.; Paithoonrangarid, K.; Suphatrakul, A.; Meesapyodsuk, D.; Tanticharoen, M.; Cheevadhanarak, S. 2000. Temperature-independent and -dependent expression of desaturase genes in filamentous cyanobacterium *Spirulina platensis* strain C1 (*Arthrospira* sp. PCC 9438). *FEMS Microbiol Letters* **184** 207-213.
- Duarte Filho, P.; Silva, P.; Costa, J.A.V. 2002. *Estudo do crescimento de duas cepas de Spirulina platensis em diferentes meios de cultura e níveis de agitação*. XVIII Congresso Brasileiro de Ciência e Tecnologia de Alimentos, Porto Alegre.
- Estrada, J.E.P.; Bescós, P.B.; Fresno, A.M.V. 2001. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. *Il Farmaco* **56** 497-500.
- Ferraz, C.A.M.; Aquarone, E.; Krauter, M. 1985. Efeito da luz e do pH no crescimento de *Spirulina maxima*. *Revista de Microbiologia* **16** (2) 132-137.
- Hartman, L; Lago, R.C.A. 1976. A rapid determination of fatty acid methyl esters from lipids. *Laboratory practice* **22** (8) 475-476.
- Hongsthong, A.; Deshnum, P.; Paithoonrangarid, K.; Cheevadhanarak, S.; Tanticharoen, M. 2003. Differential Responses of Three Acyl-Lipid Desaturases to Immediate Temperature Reduction Occurring in Two Lipid Membranes of *Spirulina platensis* Strain C1. *Journal Bioscience and Bioengineering* **96** (6) 519-524.

Jiménez, C.; Cossío, B.; Labella, D.; Niell, F.X. 2003. The Feasibility of industrial production of *Spirulina (Arthrospira)* in Southern Spain. *Aquaculture* **217** 179-190.

Kroes, R.; Schaefer, E.J.; Squire, R.A.; Williams, G.M. 2003. A review of the safety of DHA45-oil. *Food and Chemical Toxicology* **41** 1433-1446.

Langdon, C.; Önal, E. 1999. Replacement of living microalgae with spray-dried diets for the marine mussel *Mytilus galloprovincialis*. *Aquaculture* **180** 283-294.

Medina, A.R.; Grima, E.M.; Giménez, A.G.; González, M.J.I. 1998. Downstream Processing of Algal Polyunsaturated Fatty Acids. *Biotechnology Advances* **16** (3) 517-580.

Monteiro, V.P.; Pinheiro, J.C.V. 2004. Critério para implantação de tecnologias de suprimentos de água potável em municípios cearenses afetados pelo alto teor de sal. *RER* **42** (2) 365-387.

Mühling, M.; Belay, A.; Whitton, B.A. 2005. Variation in fatty acid composition of *Arthrospira (Spirulina)* strains. *Journal of Applied Phycology* **17** 137-146.

Oliveira, M.A.C.L.; Monteiro, M.P.C.; Robbs, P.G.; Leite, S.G.F. 1999. Growth and chemical composition of *Spirulina maxima* and *Spirulina platensis* biomass at different temperatures. *Aquaculture International* **7** 261-275.

Pelizer, L.H.; Danesi, E.D.G.A.; Rangel, C.O.A.; Sassano, C.E.N.; Carvalho, J.C.M.; Sato, S.; Moraes, I.O. 2003. Influence of inoculum age and concentration in *Spirulina platensis* cultivation. *Journal of Food Engineering* **56** 371-375.

Quoc, K.P.; Dubacq, J.-P. 1997. Effect of growth temperature on the biosynthesis of eukaryotic lipid molecular species by the cyanobacterium *Spirulina platensis*. *Biochimica et Biophysica Acta* **1346** 237-246.

Rafiqul, I.M.; Jalal, K.C.A.; Alam, M.Z. 2005. Environmental factors for optimisation of *Spirulina* biomass in laboratory culture. *Biotechnology* **4** (1) 19-22.

Renaud, S.M.; Thinh, L.-V.; Lambrinidis, G.; Parry, D.L. 2002. Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. *Aquaculture* **211** 195-214.

Richmond, A. 1990. Handbook of microalgal mass culture, CRC Press, Boston.

Tadesse, Z.; Boberg, M.; Sonesten, L.; Ahlgren, G. 2003. Effects of algal diets and temperature on the growth and fatty acid content of the cichlid fish *Oreochromis niloticus* L. – A laboratory study. *Aquatic Ecology* **37** 169-182.

Tokuşoglu, Ö.; Ünal, M.K. 2003. Biomass nutrient profiles of three microalgae: *Spirulina platensis*, *Chlorella vulgaris*, and *Isochrysis galbana*. *Journal of Food Science* **68** (4) 1144-1148.

Travieso, L.; Hall, D.O.; Rao, K.K.; Benítez, F.; Sánchez, E.; Borja, R. 2001. A helical tubular photobioreactor producing *Spirulina* in a semicontinuous mode. *International Biodeterioration & Biodegradation* **47** 151-155.

Volkman, J.K.; Jeffrey, S.W.; Nichols, P.D.; Rogers, G.I.; Garland, C.D. 1989. Fatty acid and lipid composition of 10 species of microalgae used in mariculture. *J. Exp. Mar. Biol. Ecol.* **128** 219-240.

Walsh, K.; Jones, G.J.; Dunstan, R.H. 1997. Effect of irradiance on fatty acid, carotenoid, total protein composition and growth of *Microcystis aeruginosa*. *Phytochemistry* **44** (5) 817-824.

Wen, Z-Y; Chen, F. 2003. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. *Biotechnology Advances* **21** 273-294.

Xue, C.; Hu, Y.; Saito, H.; Zhang, Z.; Li, Z.; Cai, Y.; Ou, C.; Lin, H.; Imbs, A.B. 2002. Molecular species composition of glycolipids from *Spirulina platensis*. *Food Chemistry* **77** 9-13.

Zittelli, G.C.; Lavista, F.; Bastianini, A.; Rodolfi, L.; Vincenzini, M.; Tredici, M.R. 1999. Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors. *Journal of Biotechnology* **70** 299-312.

### **AGRADECIMENTOS**

Ao Professor Dr. Kepler Borges França, da Universidade Federal de Campina Grande, Laboratório de Referência em Dessalinização, por ter fornecido o rejeito de dessalinizador.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando as condições às quais *Arthrospira platensis* foi submetida neste trabalho, os meios de cultura Paoletti (controle), água salinizada e rejeito de dessalinizador, mostraram-se aptos para o cultivo desta microalga.

Analisando-se os dados de concentração celular máxima e produtividade máxima, o rejeito de dessalinizador demonstrou melhores resultados do que os demais tratamentos, apresentando, respectivamente, 4,954 g.L<sup>-1</sup> (91,49% superior ao controle) e 0,225 g.L<sup>-1</sup>. Estes dados indicam a viabilidade do uso deste para a produção de biomassa de *A. platensis*.

O maior teor protéico encontrado foi em biomassa proveniente do rejeito (56,17%). Apesar da concentração de aminoácidos ter sido menor do que a encontrada na água salinizada, 46,09 g/100g e 47,57 g/100g, respectivamente, o conteúdo dos aminoácidos essenciais encontra-se acima dos limites requeridos pela FAO, com exceção da lisina e triptofano.

O teor de lipídios, 4,69%, e o número de ácidos graxos encontrados no perfil, 24, foram maiores na água salinizada. Ambas as amostras apresentaram altos níveis de ácidos graxos saturados, 57,69% no rejeito de dessalinizador e 54,79% na água salinizada. Com relação ao ácido graxo  $\gamma$ -linolênico, este foi encontrado em concentrações inferiores às esperadas, 13,09% e 11,95%, no rejeito de dessalinizador e na água salinizada, respectivamente.

Apesar das menores concentrações em aminoácidos e ácidos graxos encontradas no rejeito de dessalinizador, deve-se levar em consideração sua maior produção de biomassa.

## SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Estudar o comportamento de *Arthrospira platensis* em condições não controladas, bem como em escalas maiores, objetivando a aplicação no nordeste brasileiro.

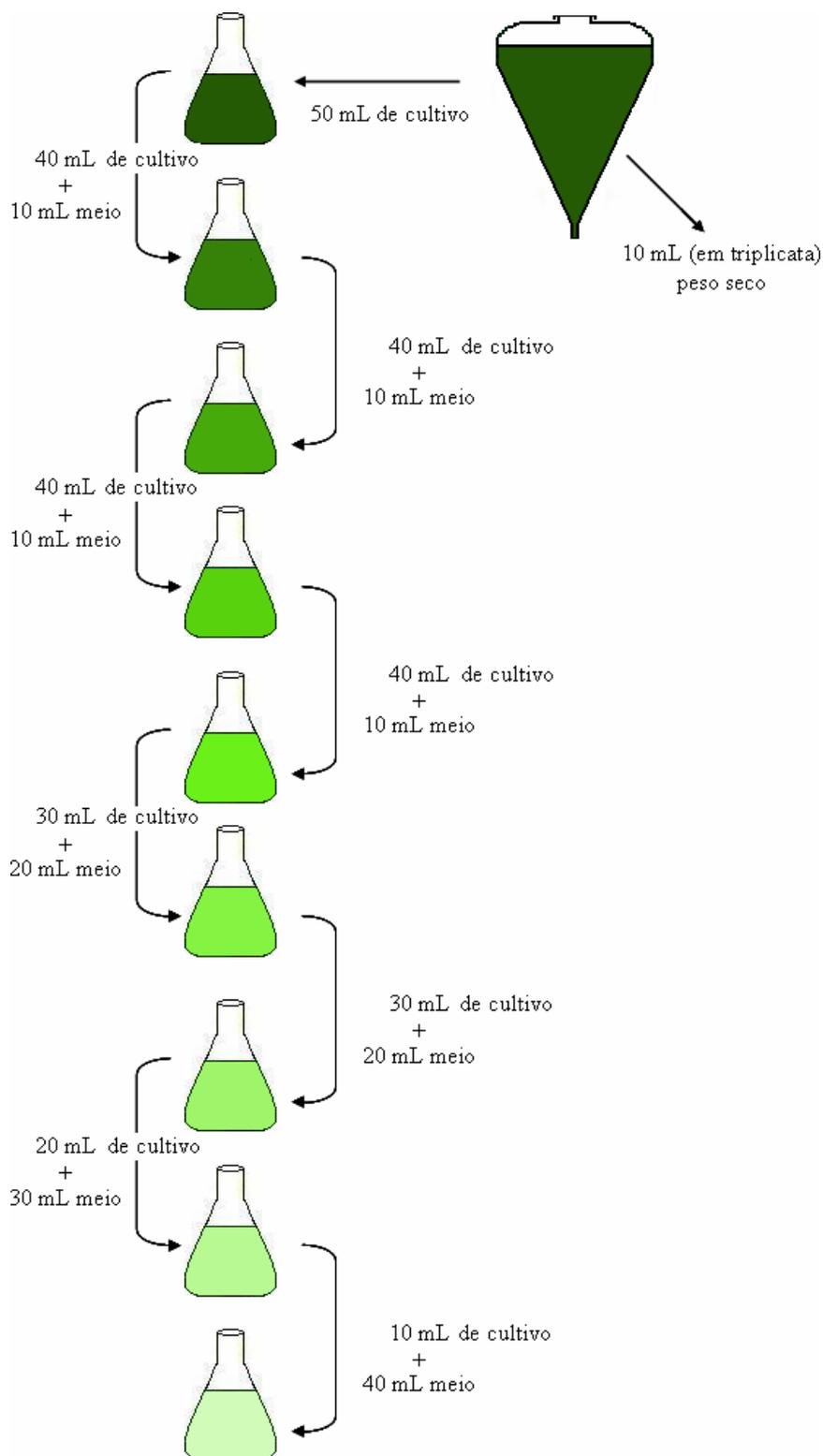
Verificar a viabilidade econômica do cultivo de *A. platensis* em rejeito de dessalinizador suplementado com Paoletti e outras formulações de nutrientes.

Determinar as composições de carboidratos, cinzas, vitaminas e ácidos nucléicos da biomassa produzida em rejeito de dessalinizador.

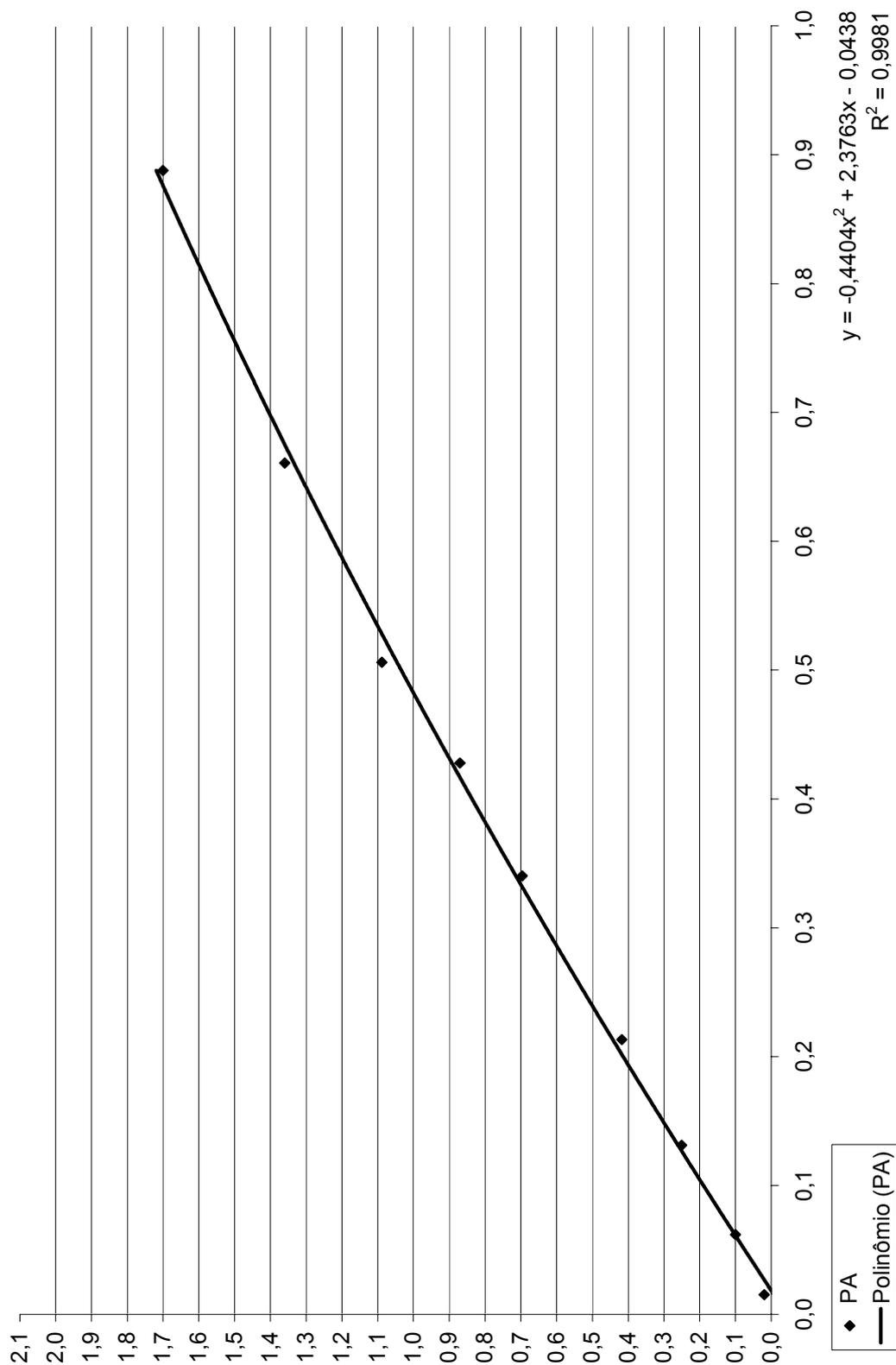
Realizar estudos nutricionais e toxicológicos com a biomassa produzida no rejeito de dessalinizador.

## **ANEXOS**

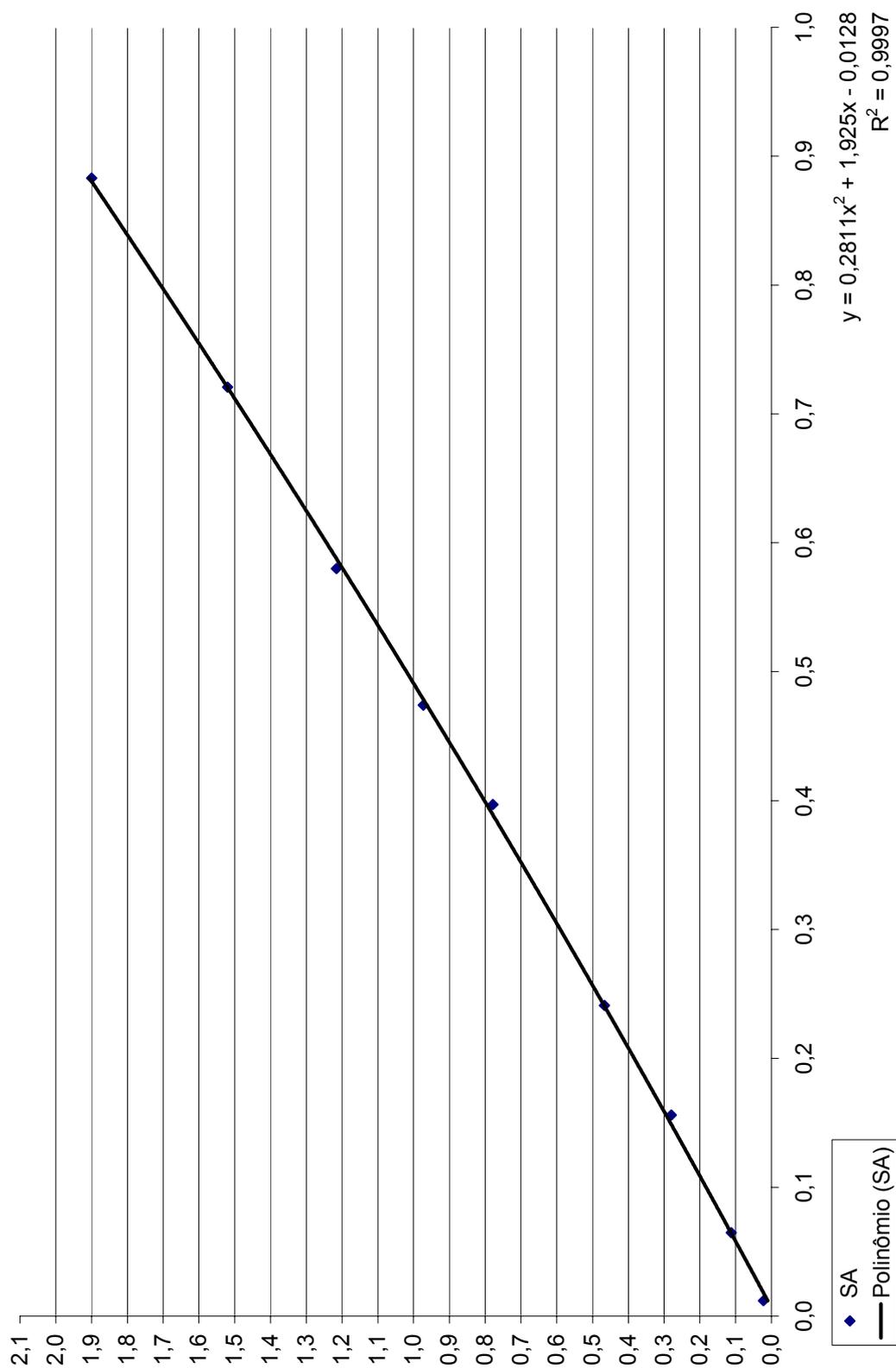
**Anexo 1 – Curvas de calibração de *Arthrospira platensis***



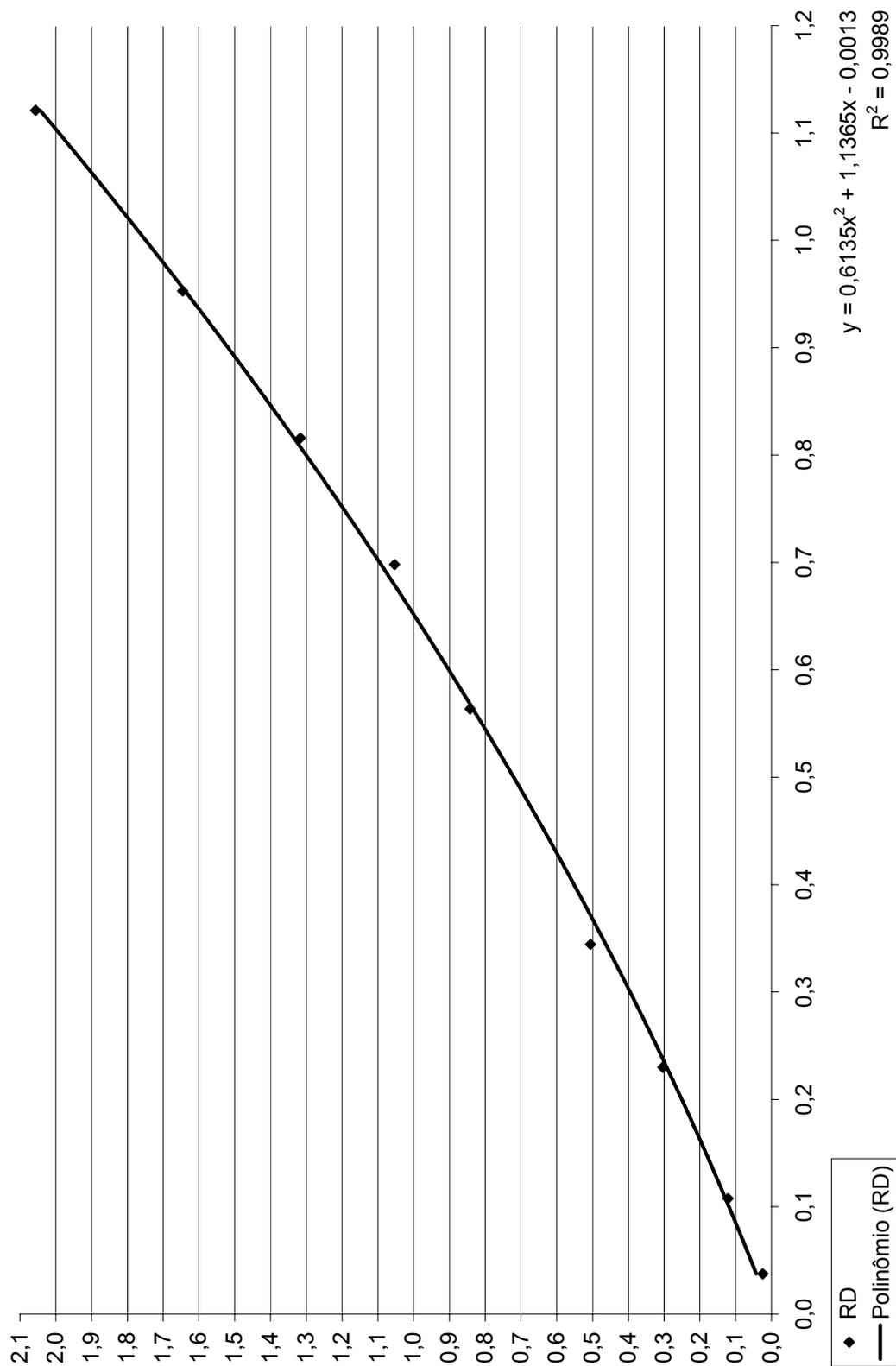
Esquema de elaboração da curva de calibração. Foram retirados 50 mL do cultivo e realizadas diluições conforme exposto acima. De cada frasco foi determinada a absorbância, a 560 nm. Concomitantemente, foram retirados 10 mL (em triplicata) para a determinação do peso seco (105°C até peso constante). Com base nestes dados, foram confeccionadas as curvas de calibração.



Curva de calibração de *Arthrospira platensis* no meio de cultura Paoletti (controle).



Curva de calibração de *Arthrospira platensis* no meio de cultura Paoletti suplementado com 1,0 g.L<sup>-1</sup> de NaCl (água salinizada).



Curva de calibração de *Arthrospira platensis* no meio de cultura com o rejeito de dessalinizador, suplementado com 50% da concentração dos sais do meio Paoletti.

## **Anexo 2 – Fluxograma do projeto**

