

## BIOMASSA DE *NANNOCHLOROPSIS OCEANICA* CULTIVADA EM BIORREATORES: ANÁLISE DA FRAÇÃO LIPÍDICA

JULIANA PORCIUNCULA DA SILVA<sup>1</sup>; GABRIELLY QUARTIERI SEJANES<sup>2</sup>;  
RAYANE BRAGA MARTINS<sup>2</sup>; DANIELLE TAPIA BUENO<sup>2</sup>; CRISTINA JANSEN  
ALVES<sup>2</sup>; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>3</sup>.

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – julianaporciuncula@hotmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – lahbbiufpel@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

O termo classificatório "microalgas" é usado para se referir a organismos microscópicos que incluem algas unicelulares, colônias, filamentos e cianobactérias. Este conjunto está atraindo a atenção de diversas indústrias devido ao conteúdo promissor de diversos metabólitos e subprodutos potenciais derivados da biomassa de microalgas. É de considerável importância o uso de microrganismos e/ou seus derivados como fontes alimentares, principalmente quando se têm deficiências nutricionais não resolvidas (CARNEVALLI, 2021).

A biomassa da microalga é conhecida pela sua riqueza e diversidade de bioprodutos como lipídios, carboidratos, proteínas e pigmentos, sendo alguns deles com ação antioxidante. Pode ser utilizado para diversos fins, como para a produção de biocombustíveis, nutrição alimentar (humana e animal) e farmacológica (DE SOUZA et al., 2019). Uma área de notável importância entre as diversas aplicações das microalgas reside no setor alimentar. Isso se deve a variedade de nutrientes presentes na biomassa das microalgas, bem como à sua capacidade de conservar-se por meio de técnicas de cultivo (CANTÚ, 2016).

Uma característica inerente de microalgas é a sua dinâmica de crescimento. Em ecossistemas naturais, como oceanos, rios, lagos e lagoas, esse comportamento é influenciado por uma série de fatores, como físicos (intensidade luminosa e temperatura), químicos e parâmetros biológicos (presença de vírus, bactérias, fungos, interações predador-presa). A complexidade deste cenário torna difícil avaliar com precisão o impacto de cada fator na regulação do crescimento de microalgas. Por outro lado, em ambientes controlados, como os fotobiorreatores, é possível controlar esses parâmetros, permitindo uma análise mais detalhada de seus efeitos (CARDOSO et al., 2007).

O fotobiorreator (FBR) é um dispositivo utilizado para cultivar e controlar o crescimento de tipos específicos de microalgas. Um FBR típico passa por quatro estágios: fase líquida (meio de cultura), fase sólida (células de microalgas em crescimento), moléculas de gás circulando no meio (principalmente nitrogênio, oxigênio e dióxido de carbono) e composição de luz. A luz é composta por fótons com comprimentos de onda entre 400 - 700 nanômetros, que definem a região fotossintética ativa do espectro (RODRIGUES, 2020).

Nesse sentido, destacamos a *Nannochloropsis Oceanica*, uma microalga marinha conhecida por suas pequenas células esféricas, de 2 a 4 µm de dimensão e apresenta uma interessante taxa de crescimento. Esta espécie apresenta uma série de propriedades físico-químicas, tem tendência a acumular-se, e mais da metade de sua massa seca é composta por lipídios. Também, distingue-se pela sua resistência específica à contaminação biológica (MOAZAMI et al. 2012).

Dessa forma, esta pesquisa tem como objetivo investigar e analisar os ácidos graxos provenientes da biomassa da microalga *Nannochloropsis Oceanica* cultivada em um fotobiorreator, utilizando cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas (GC-MS).

## 2. METODOLOGIA

A derivatização dos ácidos graxos para torna-los voláteis foi realizada com base no método de Moss (1974) que descreve a preparação de ésteres metílicos a partir do agente derivatizante trifluoreto de boro ( $\text{BF}_3$ ), grau analítico para cromatografia, 99,85 % m/v (Sigma-Aldrich). A solução metanólica de hidróxido de sódio a 2% m/v foi previamente preparada a partir de NaOH (pureza  $\geq 97\%$  m/v) e MeOH (grau GC,  $\geq 97\%$  m/v, Sigma Aldrich). Uma amostra de 250 mg de óleo foi pesada em um frasco de vidro fosco e 6 mL da solução NaOH/MeOH foram adicionados sob agitação constante, o balão foi então conectado ao sistema de refluxo durante 5 minutos. Posteriormente, 5 mL de  $\text{BF}_3/\text{MeOH}$  derivatizados foram adicionados e o refluxo continuou por 5 min. Em seguida, 20 mL de hexano (grau GC,  $\geq 99\%$ , Sigma Aldrich) foi adicionado e a mistura foi deixada repousar dentro de um funil de separação até ocorrer a separação das fases. Após a fase aquosa (inferior) foi descartada e a fase oleosa (superior) foi coletada. A fase oleosa coletada em um béquer foi filtrada através de funil com algodão e 3 g do reagente secante, sulfato de sódio anidro ( $\text{Na}_2\text{SO}_4$ ). A solução filtrada foi rota-evaporada (Buchi, Rotavapor RII) até a secura do solvente e o frasco foi lavado com 1 mL de hexano. (Moss,1974).

Para determinar a composição dos ácidos graxos presentes no óleo foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo GC-2010) acoplado a um espectrômetro de massas (GC-MS-QP2020) e equipado com coluna capilar de sílica fundida SP 2560 (100 mx 0,25 mm x 0,10  $\mu\text{m}$ ). O volume da amostra injetada foi de 8  $\mu\text{L}$  na proporção de 1:50 (v/v) e em modo split. As condições de temperatura para a interface e a fonte de íons foram 280 °C e 200 °C, respectivamente. Para o injetor, a temperatura foi ajustada em 200 °C e o gás de arraste Hélio foi utilizado a uma vazão de 3 mL/min. Para a coluna, a temperatura inicial foi fixada em 100°C e deixada nesta condição por 5 minutos. Em seguida, a temperatura foi aumentada para 250 °C com uma taxa de aquecimento constante de 5 °C/min, de modo que o tempo total de análise foi de 55 min. A identificação dos compostos contidos no óleo foi realizada através de uma comparação com a biblioteca *Mass Spectral Database*, NIST/EPA/NIH, já a concentração (%) relativa foi de acordo com os valores obtidos para à área/altura de cada pico.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a Tabela 1, pode-se observar que o óleo da alga *Nannochloropsis oceanica* possui 54,0% de somatório entre os ácidos insaturados e poli-insaturados, e 42,2% de ácidos graxos saturados. Dentre os ácidos graxos saturados, a microalga possui 1,3% de ácido láurico (C12:0), um ácido graxo que possui propriedades antimicrobianas (FEBRI et al., 2022).

Além disso, a microalga *Nannochloropsis oceanica* contém os ácidos graxos considerados essenciais (ácido linoleico e linolênico). Os ácidos graxos poli-insaturados representam cerca de 16,7 % da amostra, sendo 13% de ácido linoléico (C18:2), e de 3,7% para o ácido eicosapentaenóico (C20:5n3). Esses ácidos graxos poli-insaturados são essenciais para o corpo humano, o que significa que não

podem ser produzidos internamente e devem ser obtidos através da dieta. Além disso, estes componentes desempenham um papel importante em várias funções corporais, como a saúde cardiovascular, cerebral e a redução da inflamação (VIEIRA, 2006).

**Tabela 1.** Concentração (%) relativa de ácidos graxos em microalgas *Nannochloropsis oceanica*

Ácidos graxos	Nomenclatura usual	Concentração (%)
C12:0	Éster metílico do ácido láurico	1,3
C13:0	Tridecano	0,8
C14:0	Éster metílico do ácido mirístico	3,0
C16:0	Éster metílico de ácido palmítico	28,3
C16:1	Éster metílico do ácido palmitoleico	13,1
C18:0	Éster metílico do ácido esteárico	5,1
C18:2	Éster metílico do ácido linoléico	13,0
C18:1	Éster metílico de ácido oleico	24,2
C20:5n3	Ácido eicosapentaenóico	3,7
C20:0	Éster metílico do ácido araquídico	3,7
Outros	-	3,8
Saturado	-	42,2
Monoinsaturado	-	37,3
Poli-insaturado	-	16,7

A microalga também é uma fonte significativa de ácido oleico (C18:1) (24,2 %) e ácido palmitoleico (C16:1) (13,1 %), que são ácidos graxos monoinsaturados e somam 37,3 % na microalga analisada, e já reconhecidos por seus efeitos benéficos à saúde. O ácido palmitoleico por exemplo, aumenta a ação da insulina no músculo e suprime a esteatose hepática (CRUZ, 2015).

#### 4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos revelaram uma composição de ácidos graxos poli-insaturados de destaque, com alta concentração de ômega 6 e ômega 9, e também a presença do ômega 3 em menores concentrações. Dessa forma, a biomassa de microalga se mostrou uma fonte versátil para a produção de bioprodutos, incluindo sua inserção na alimentação humana e, também na forma de suplemento para a ração animal. Em estudos futuros, objetiva-se a quantificação desses ácidos graxos utilizando uma curva com o padrão FAME (*Fatty acid methyl esters*), e a aplicação da biomassa em estudos de citotoxicidade *in vitro*.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

CANTÚ, L. **Desenvolvimento de um complemento para ração animal a partir da biomassa de microalgas**. 2016. Monografia de Conclusão de Curso (Bacharelado em Química) – Departamento Acadêmico de Química e Biologia, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba.

CARDOSO, K. H. M. *et al.* Metabolites from algae with economical impact. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 146, n. 1-2, p. 60-78, 2006.

CARNEVALLI, F. R. **Uso de Biomassa de Microalgas e seus Derivados em Alimentos**. 2021. Monografia de Conclusão de Curso (Bacharelado em Farmácia), Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

CRUZ, M. M. **Efeitos dos ácidos graxos palmítico e palmitoleico sobre parâmetros metabólicos de adipócitos**. 2015. Dissertação (Mestrado) - Instituto de Ciências Ambientais, Químicas e Farmacêuticas, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), Diadema.

de SOUZA, M. P. *et al.* Potencial dos Bioprodutos de Microalgas: Perspectivas Gerais e Principais Desafios. **Resíduos de Biomassa**, v. 10, p. 2139–2156, 2019.

FEBRI, O. N. *et al.* Antimicrobial Properties of Lauric Acid and Monolaurin in Virgin Coconut Oil: A Review. **Chem Bio Eng reviews**, v. 9, n. 5, p. 442–461, 2022.

MOAZAMI, N. *et al.* Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*. **Biomass and Bioenergy**, v. 39, p. 449-453, 2012.

MOSS, C. W.; LAMBERT, M. A.; MERWIN, W. H. Comparison of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids. **Journal of Applied Microbial**, v.28, n.1, p.80-85, 1974.

RODRIGUES, L. A. **Caracterização Espectroscópica de Microalgas Cultivadas em Reatores Automatizados**. 2020. Dissertação de Mestrado, Instituto de Física- Universidade de Brasília, Brasília.

VIEIRA, M. M. **O Enriquecimento Da Carne de Aves Com Ácidos Graxos Poli-Insaturados**. 2006. Monografia - Especialização em Produção, Tecnologia e Higiene de Alimentos de Origem Animal, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.