

AValiação de Extratos de Microalgas para Potencial Aplicação em Alimentos Funcionais

Corrêa, P.S.¹; Freitas, M.M.A.¹; Caetano, N.S.^{1,2,3}

¹CIETI, Instituto Superior de Engenharia do Porto (ISEP), Politécnico do Porto (P.Porto), Portugal (prisa@isep.ipp.pt)

²LEPABE – Laboratório de Engenharia de Processos, Ambiente, Biotecnologia e Energia, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto (FEUP), Portugal

³ALiCE – Laboratório Associado para Inovação em Engenharia Química, Faculdade de Engenharia, Universidade do Porto (FEUP), Portugal



INTRODUÇÃO

Microalgas são micro-organismos fotossintéticos, que para além de servirem como fonte de proteínas, também são capazes de produzir uma gama de compostos bioativos, tais como, pigmentos, lípidos e compostos fenólicos. Tais características as tornam bastante promissoras para aplicação de suas biomassas em alimentos funcionais (Pina-Pérez et al., 2019). De modo geral, os alimentos funcionais além de terem elevado valor nutricional, também trazem algum benefício à saúde. *Chromochloris zoofingiensis*, *Koliella longiseta* e *Schizomeris leibleinii* são microalgas de água doce, relativamente pouco estudadas na literatura, mas potencialmente interessantes para produção de carotenoides, lípidos e compostos fenólicos (Fogliano et al., 2010; Zhang et al., 2021). A imposição de condições de estresse abiótico (i.e. variação na concentração de determinado nutriente no meio de cultivo, temperatura, pH, etc.), é uma das estratégias mais utilizadas para induzir uma maior produção de determinado composto de interesse (Suparmaniam et al., 2024). Desta forma, este trabalho se propôs a estudar o impacto de diferentes condições de cultivo na produção de carotenoides, clorofilas, lípidos e compostos fenólicos. Além disso, foram produzidos extratos em solventes diferentes (i.e. água e etanol) e testado o potencial antioxidante de cada um.

OBJETIVOS

- Identificar as condições de cultivo que favorecem a produção de compostos que aumentam a atividade antioxidante dos extratos de microalgas.
- Verificar a viabilidade de produção de biomassa em maior escala em cultivos externos.
- Selecionar o melhor solvente para produção de extratos em termos de atividade antioxidante.
- Identificar o potencial de cada espécie para aplicação em alimentos funcionais.

MATERIAIS E MÉTODOS

Etapa 1



Figura 1. Representação gráfica da etapa 1 do projeto.

Etapa 2

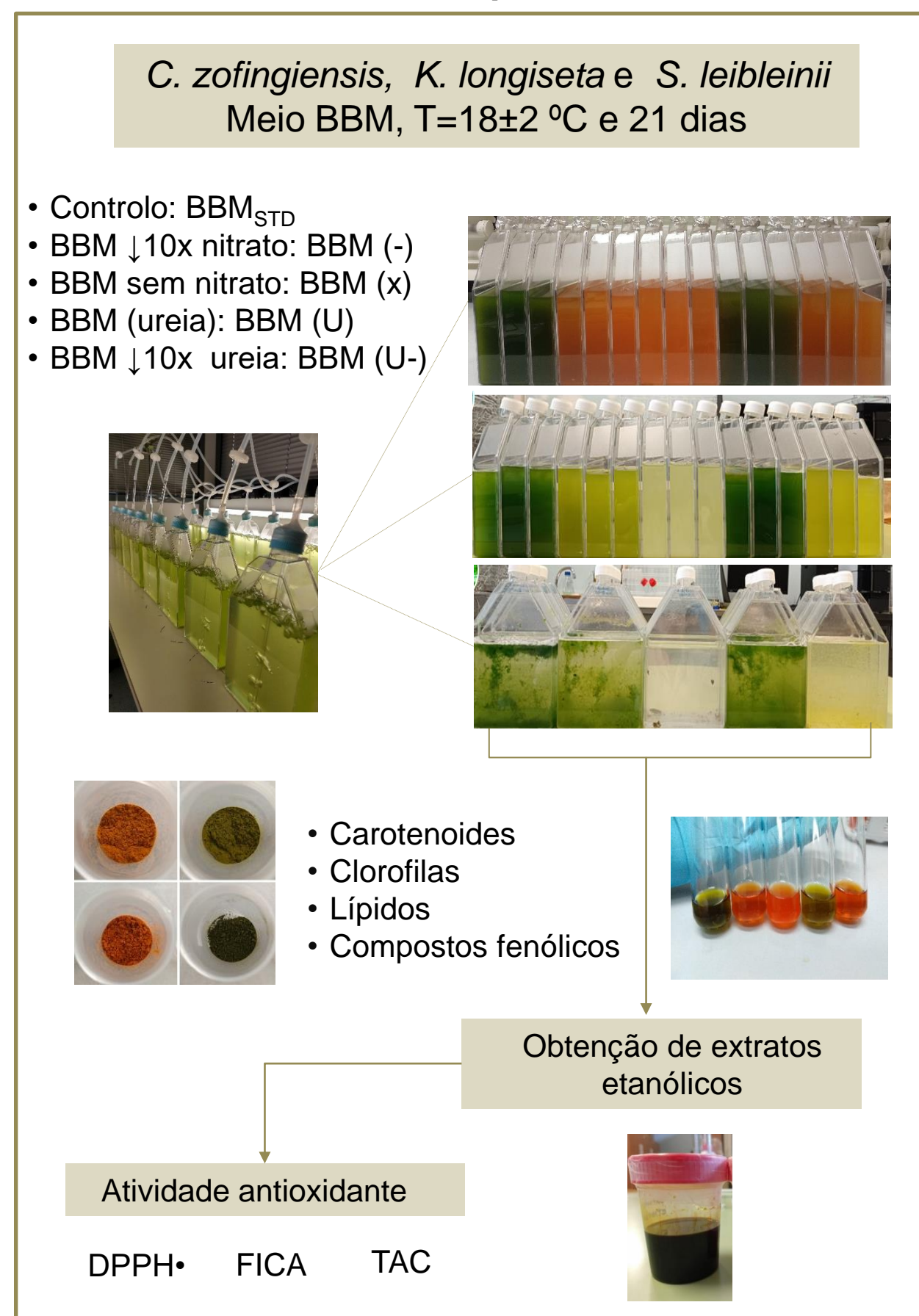


Figura 2. Representação gráfica da etapa 2 do projeto.

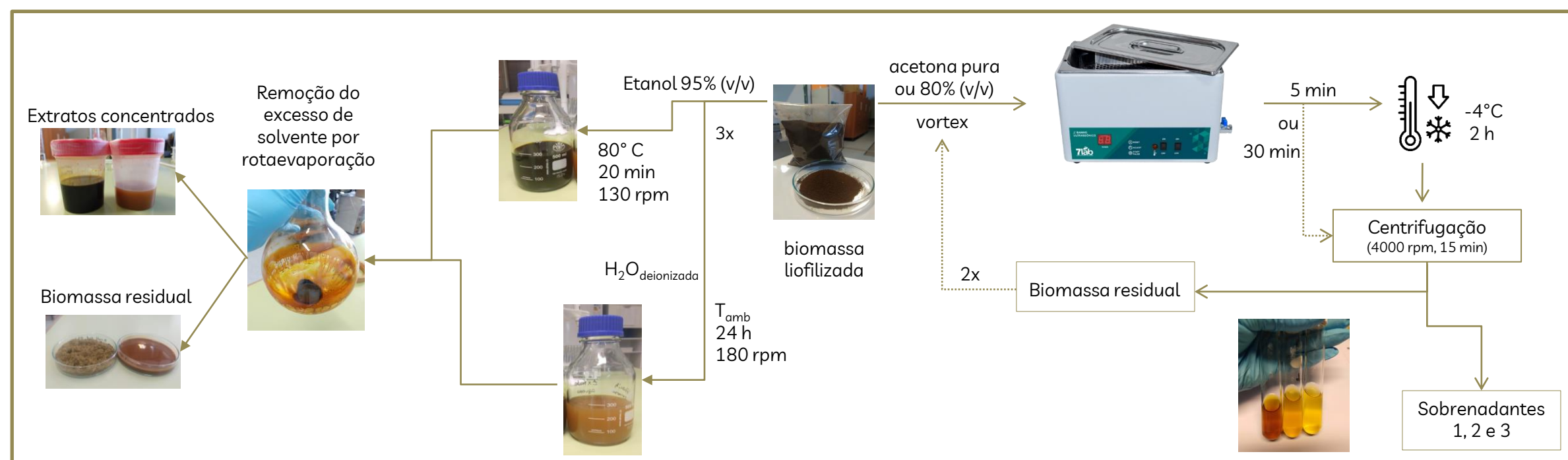


Figura 3. Representação esquemática dos processos de obtenção de extratos em diferentes solventes (esq.) e pigmentos (dir.).

Conforme Corrêa et al. (2022), a determinação de carotenoides totais ($Car_{T,E}$), clorofilas totais (Chl_T), compostos fenólicos (Phe), astaxantina (Ast), atividade antioxidante total (TAC), lípidos totais, habilidade de captura do radical livre DPPH• (RSA), habilidade quelante do íon ferro (FICA), foram dadas pelas Eqs. (1) a (7), respetivamente.

$$Car_{T,E} (mg \cdot L^{-1}) = \frac{(1000 \cdot A_{470} - 1.90 \cdot Chl_a - 63.14 \cdot Chl_b)}{214} \quad (1)$$

$$Phe (mg \text{ GAE} \cdot g^{-1}) = 0.0066 A_{765} + 0.0515; R^2 = 0.9994. \quad (3)$$

$$TAC (mg \text{ GAE} \cdot g^{-1}) = 0.0018 A_{695} + 0.0419; R^2 = 0.9842. \quad (5)$$

$$RSA (\%) = \left[\frac{A_0 - (A - A_b)}{A_0} \right] \cdot 100; \lambda = 517 \text{ nm}. \quad (7)$$

$$FICA (\%) = \left[\frac{A_0 - (A - A_b)}{A_0} \right] \cdot 100; \lambda = 562 \text{ nm}. \quad (8)$$

$$Chl_T (mg \cdot L^{-1}) = (11.24 \cdot A_{661.6} - 2.04 \cdot A_{644.8}) + (20.13 \cdot A_{644.8} - 4.19 \cdot A_{661.6}) \quad (2)$$

$$Ast (\mu g \cdot g^{-1}) = \frac{A_{468} \cdot V \cdot 10^4}{E_{1cm} \% \cdot G}; E_{1cm} \% = 2100. \quad (4)$$

$$Lipidos \text{ totais } (\%) = \frac{W - W_0}{DBW} \times 100 \quad (6)$$

A_0 : abs controle;
A: abs amostra ou referência
Ab: abs branco.

A análise estatística dos dados foi realizada no software IBM® SPSS® Statistics versão 27 por análise de variância (ANOVA) e poshoc teste de Tukey com 95 % de confiança ($p < 0.05$).

AGRADECIMENTOS

Este trabalho foi financiado por fundos nacionais através da FCT/MCTES (PIDDAC): CIETI, UIDB/04730/2020 (DOI:10.54499/UIDB/04730/2020) e UIDP/04730/2020 (DOI:10.54499/UIDP/04730/2020), LEPABE, UIDB/00511/2020 (DOI:10.54499/UIDB/00511/2020) e UIDP/00511/2020 (DOI:10.54499/UIDP/00511/2020) e ALiCE, LAMP/0045/2020 (DOI:10.54499/LAMP/0045/2020). Prisca Corrêa agradece a bolsa de referência UI/BD/151529/2021 (DOI:10.54499/UI/BD/151529/2021).



RESULTADOS

Etapa 1

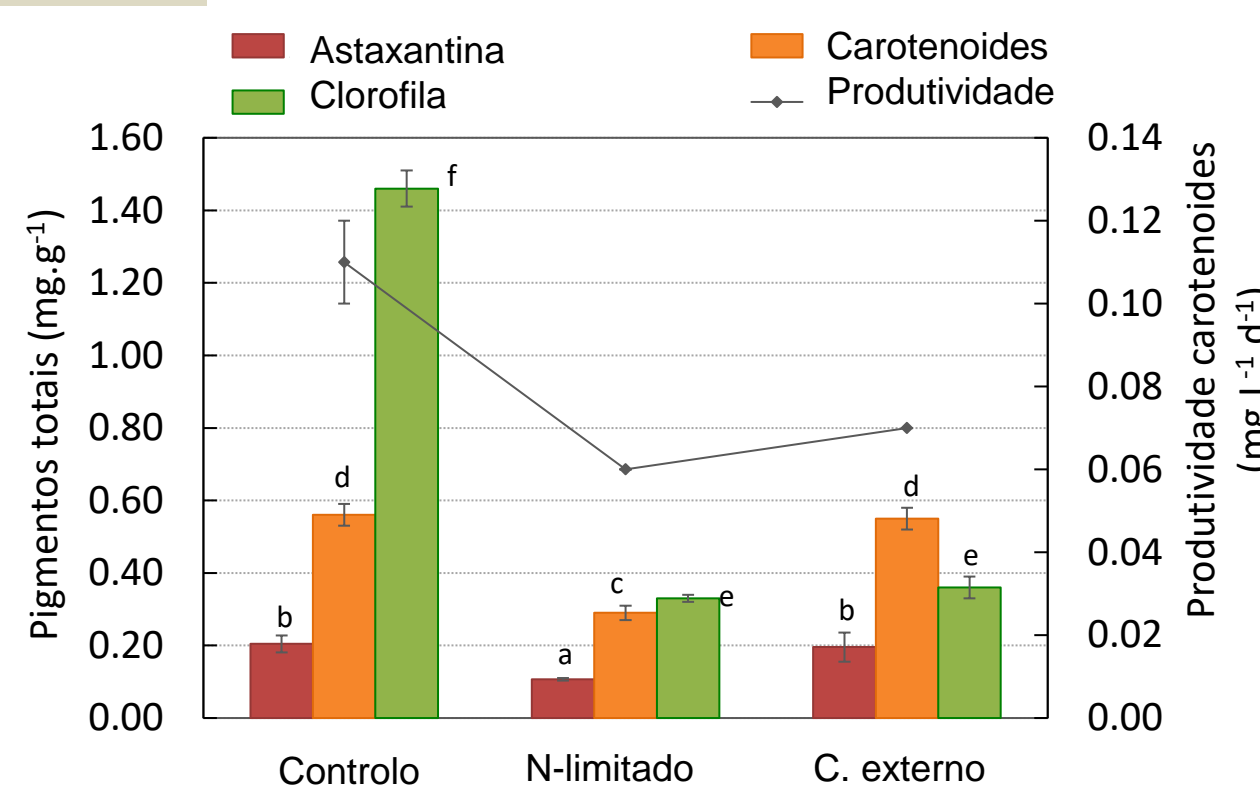
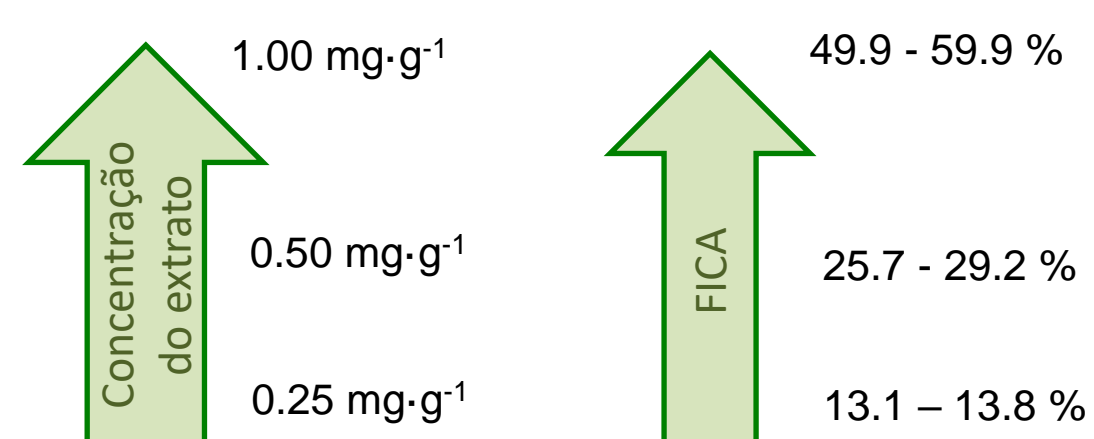


Figura 4. Concentração total de carotenoides, astaxantina e clorofilas.

- ✓ Maior concentração de compostos fenólicos (34.5 mg GAE·g⁻¹): extrato etanólico sob limitação de nitrogênio.
- ✓ Maior inibição de radical DPPH•: extratos aquosos e etanólicos de cultivos com limitação de NO₃⁻ (40.1 e 41.4% RSA).



✗ Nenhuma atividade antioxidante (TAC) foi detetada em extratos aquosos em até 60 minutos de reação.

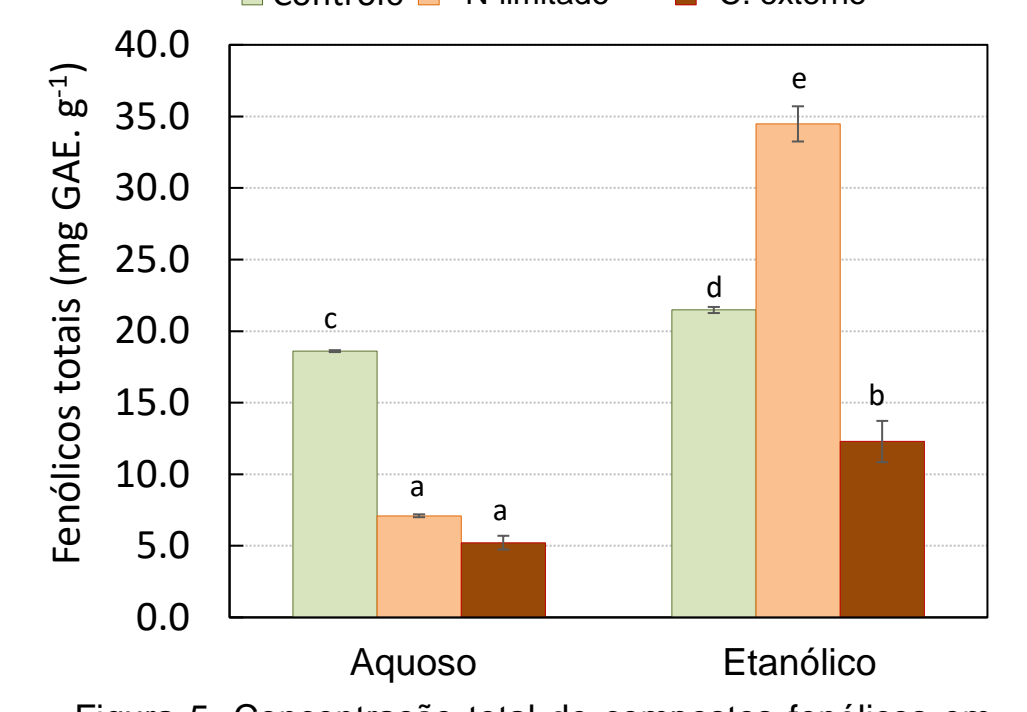


Figura 5. Concentração total de compostos fenólicos em extratos aquosos e etanólicos. GAE: ác. gálico equivalente.

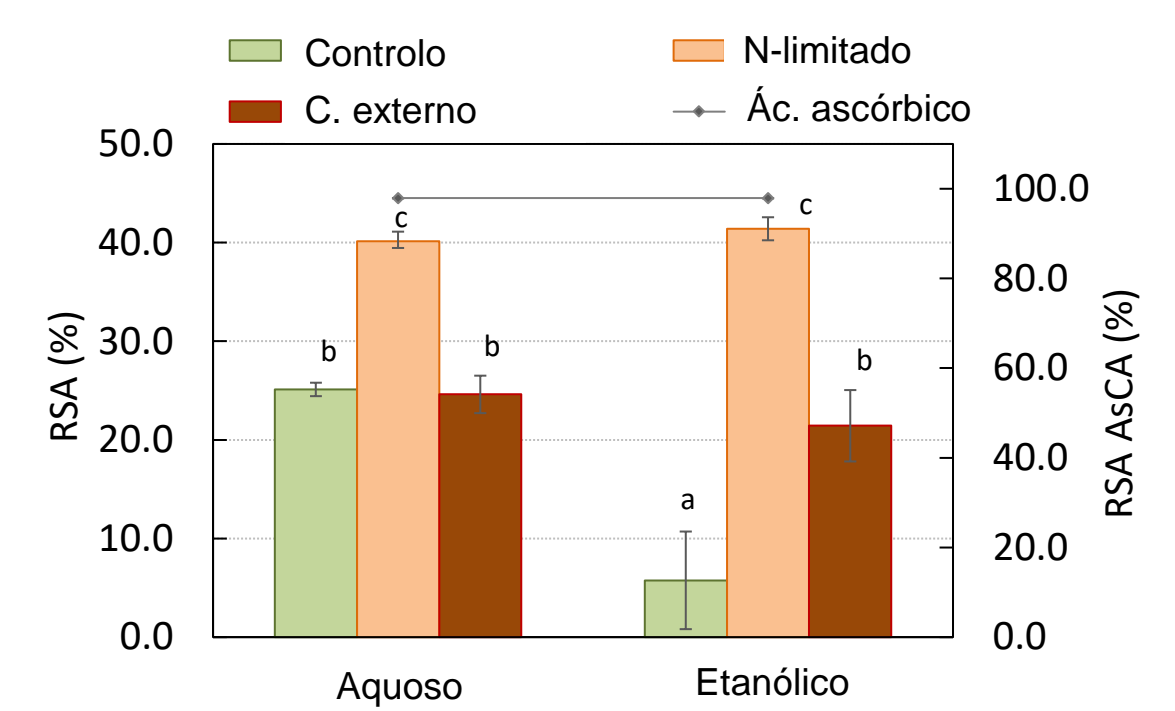


Figura 6. Habilidade de captura do radical livre DPPH• em extratos aquosos e fenólicos

Maior TAC em extratos etanólicos:

185.2 mg GAE·g⁻¹ (Controlo)
124.4 mg GAE·g⁻¹ (Interno N-limitado)
120.0 mg GAE·g⁻¹ (Externo N-limitado)

Etapa 2 Apenas resultados para C. zoofingiensis

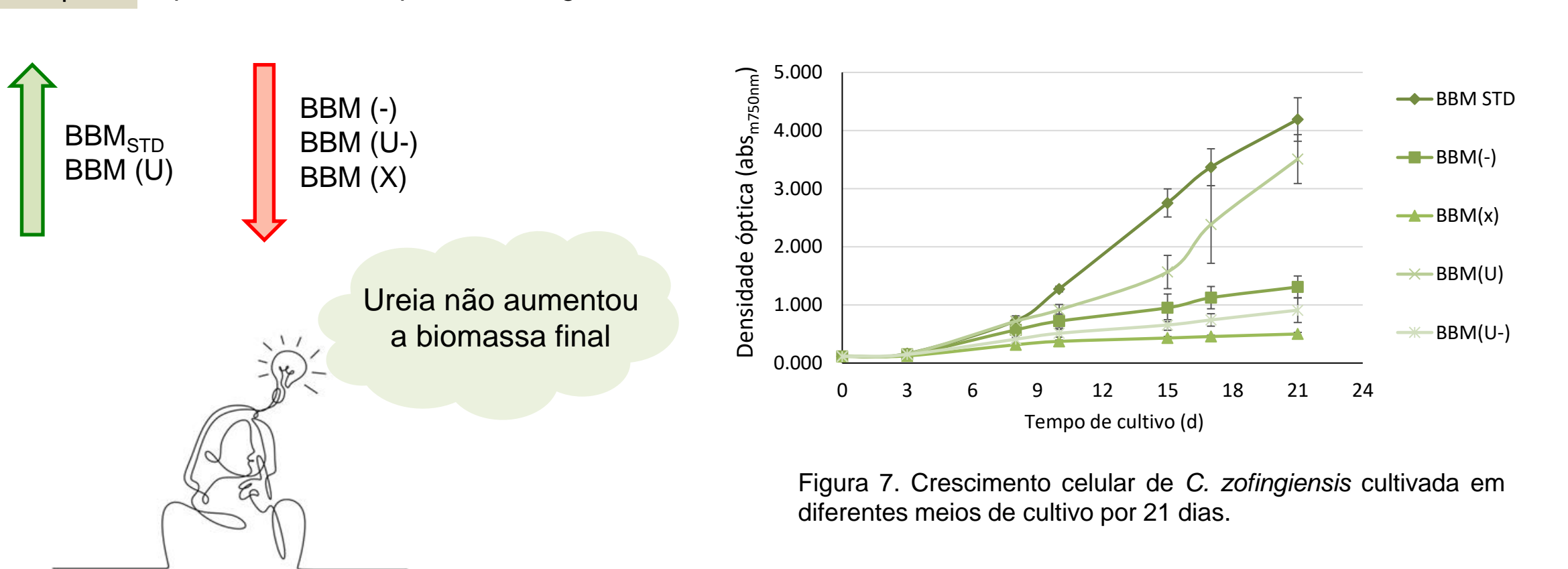


Figura 7. Crescimento celular de C. zoofingiensis cultivada em diferentes meios de cultivo por 21 dias.

Tabela 1. Concentração de biomassa final, carotenoides, clorofilas e lípidos totais em diferentes condições de cultivo.

Meio de cultivo	Concentração de biomassa (g·L ⁻¹)	Car _T (mg·g ⁻¹)	Chl _T (mg·g ⁻¹)	Lípidos totais (%)
BBM _{STD}	1.77 ± 0.16 ^d	1.17 ± 0.13 ^a	10.32 ± 1.07 ⁱ	25.9 ± 3.2 ^k
BBM (-)	0.54 ± 0.08 ^b	0.22 ± 0.05 ^b	0.56 ± 0.09 ^b	45.1 ± 2.5 ^m
BBM (X)	0.19 ± 0.01 ^a	0.39 ± 0.04 ^e	0.22 ± 0.04 ^b	33.1 ± 1.4 ^l
BBM (U)	1.48 ± 0.18 ^c	1.24 ± 0.19 ^a	8.90 ± 0.40 ⁱ	23.1 ± 0.1 ^k
BBM (U-)	0.36 ± 0.09 ^{a,b}	0.71 ± 0.05 ^f	1.14 ± 0.06 ^b	40.8 ± 1.3 ^m



CONCLUSÕES

- ✓ A grande variação da temperatura nos cultivos externos reduziu a produtividade em biomassa, mas não afetou significativamente o potencial antioxidante dos extratos.
- ✓ O teor de carotenoides foi fortemente afetado pelo longo período de cultivo, mas a sua contribuição para a atividade antioxidante total dos extratos pareceu ser baixa.
- ✓ O etanol provou ser uma opção interessante para a extração de compostos com atividade antioxidante.
- ✗ Apesar de não ter aumentado a biomassa final, o uso de ureia não prejudicou a produção de pigmentos e lípidos.
- ✗ De uma forma geral, a ureia se mostrou uma fonte de nitrogênio interessante para o cultivo de C. zoofingiensis.

REFERÊNCIAS

Corrêa, P.S., Wilson, W.G. and Caetano, N.S. (2022) 'Antioxidant potential of extracts of *Chromochloris zoofingiensis* cultivated in pilot-scale outdoor tubular photobioreactors under nitrogen limitation', *Algal Research*, 67. <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102859>.

Fogliano, V. et al. (2010) 'Functional ingredients produced by culture of *Koliella antarctica*', *Aquaculture*, 299(1–4), pp. 115–120. <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2009.11.008>.

Pina-Pérez, M.C. et al. (2019) 'Microalgae as healthy ingredients for functional foods', in *The Role of Alternative and Innovative Food Ingredients and Products in Consumer Wellness*. Elsevier, pp. 103–137. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-816453-2.00004-8>.

Suparmaniam, U. et al. (2024) 'Abiotic stress as a dynamic strategy for enhancing high value phytochemicals in microalgae: Critical insights, challenges and future prospects', *Biotechnology Advances*. Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2023.102880>.

Zhang, Y. et al. (2021) 'The oleaginous astaxanthin-producing alga *Chromochloris zoofingiensis*: potential from production to an emerging model for studying lipid metabolism and carotenogenesis', *Biotechnology for Biofuels*. BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13068-021-01969-z>.