

FERMENTAÇÃO DE *SPIRULINA PLATENSIS* SOB CONDIÇÕES NATURAIS DE TEMPERATURA E INSOLAÇÃO.

SPIRULINA PLATENSIS FERMENTATION UNDER TEMPERATURE AND INSOLATION NATURAL CONDITIONS.

Arruda ROM*, Brito AW**, da Silva RR***, Moraes IO****

RESUMO: A alga *Spirulina platensis* tem despertado interesse na área da saúde por sua constituição formada por aminoácidos essenciais e não essenciais ácidos graxos, insaponificáveis, carotenóides, minerais e oligoelementos e vitaminas como biotina, cianocobalamin, ácido fólico, inositol, niacina, pantotenato de cálcio, piridoxina, riboflavina, tiamina, tocoferol. O objetivo deste trabalho foi a produção da alga sob condições naturais de temperatura e insolação em reatores alternativos (sacos plásticos) de volume de 3 litros com 1,5 litro de cultura mineral. Variou-se o inoculo em 2,5 e 5,0%. A fermentação foi realizada em agitador horizontal a 125 rpm, por 20 dias. A biomassa foi separada por filtração e seca a 37°C. Dos binômios estudados, o que apresentou melhor produção de proteína (2,98 g.L⁻¹) foi 24,47°C e 140h insolação contra um resultado de 1,01 g.L⁻¹ de proteína nas condições de 17,26°C e 112h de insolação.

PALAVRAS-CHAVE: *Spirulina platensis*. Fermentação. Biorreator alternativo.

ABSTRACT: The *Spirulina platensis* is a very interesting seaweed, in the health area, due to its constitution in essentials and no essentials aminoacids, fat acids, insaponifiables, carotenoids, minerals, oligoelements and vitamins such as biotin, cianocobalamin, folic acid, inositol, niacin, calcium pantotenate, pyridoxine, riboflavin, tiamin, tocoferol. The objective of this work was the production of the seaweed under natural conditions of temperature and sunstroke in alternative bioreactors (plastic bags) with nominal volume of 3 liters and 1,5 liter volume of the standard mineral culture medium. The Inoculum concentration was varied from 2.5 to 5.0 %. Fermentative process was done in a horizontal agitator at 125 rpm, for 20 days. The biomass was separated by filtration, was dried at 37 °C. From the temperature-sunstroke rates studied, the best protein production (2.98 g.L⁻¹) was at 24.47°C and 140 h sunstroke. The worst protein result was 1.01 g.L⁻¹ protein at 17.26°C and 112 h of sunstroke.

KEYWORDS: *Spirulina platensis*. Fermentation. Alternative bioreactor.

INTRODUÇÃO

A produção de substâncias de interesse humano a partir de microrganismos é uma possibilidade bastante viável e vantajosa atualmente, visto que isso pode diminuir o custo da produção e propiciar a obtenção de produtos melhores. Entre vários microrganismos que produzem substância de interesse humano e animal, há a microalga verde azulada *Spirulina platensis*, grande produtora de biomassa e rica, principalmente, em proteína (70% em média). Além de proteínas, a *Spirulina platensis* apresenta lipídeos, carboidratos, ácidos, clorofila-a, carotenóides, vitaminas e xantofilas, podendo ser empregada na alimentação humana e animal, fixação de metais pesados e para fins farmacêuticos, por apresentar várias propriedades terapêuticas.

A espirulina, uma alga azul-esverdeada, se apresenta

na forma espiralada, o que dá origem a seu nome. Seu reconhecimento é fácil, já que forma uma espuma verde sobre a superfície da água. É encontrada em lugares ensolarados e em águas doces alcalinas. Seu *habitat* está localizado em territórios do México, Japão, Tailândia e alguns lagos da África. A alcalinidade desses lagos, com um pH em torno de 11, faz com que não exista neles outra vida orgânica, de maneira que a espirulina cresce como monocultivo. É o vegetal com o mais rico aporte de proteínas naturais que se conhece (variando de 65% a 71% do seu peso)¹.

A *Spirulina platensis* apresenta os principais ácidos graxos poli-insaturados e os 8 aminoácidos essenciais ao ser humano, entre os quais a fenilalanina, que age sobre o centro do apetite no cérebro para reduzir a sensação de fome. É considerada como um superalimento, pela extraordinária quantidade de nutrientes que apresenta em sua composição. Alguns desses

* Regina de Oliveira Moraes Arruda - Universidade de Guarulhos; Probiom Tecnologia – Indústria e Comércio de Bioprodutos Ltda. www.probiom.com.br e-mail: rarruda@prof.ung.br

** Angélica Wanderlei Brito - Universidade de Guarulhos

*** Rubens Rocha da Silva - Universidade de Guarulhos

**** Iracema de Oliveira Moraes - Probiom Tecnologia – Indústria e Comércio de Bioprodutos Ltda. www.probiom.com.br

nutrientes mais importantes são: aminoácidos essenciais, aminoácidos não essenciais, ácidos graxos, insaponificáveis, carotenóides, minerais e oligoelementos, e vitaminas como biotina (Vit. H) cianocobalamina (B12), ácido fólico, inositol, niacina (PP), pantotenato de cálcio, piridoxina (B6), riboflavina (B2), tiamina (B1), tocoferol (Vit. E) e outras².

As algas são usadas para prevenção de algumas enfermidades, Os alginatos com alguns minerais (alginato sódico) são por vezes empregados para recobrir comprimidos ou pílulas e protegê-los da ação do suco gástrico; o verniz que se forma resiste à ação desses sucos, atravessa o estômago e dissolve-se ao nível intestinal, melhorando assim a absorção do comprimido ou da pílula e a estabilidade dos princípios ativos que o compõem. Existem relatos de *Spirulina* como redutora dos riscos de câncer, pela presença de pigmentos carotenóides³, por apresentar atividade favorável à resposta imune⁴ e por ter atividade antimicrobiana⁵.

Em experimentos com ratos, constatou-se a diminuição dos níveis sanguíneos de glicose (18%) e de ácido úrico (13%) quando eles receberam 25 mg de *S. platensis* na dieta pelo período de 11 dias⁶.

A atividade antioxidante da biliproteína ficocianina de *Spirulina sp* foi comprovada e já é conhecida a importância dos antioxidantes para proteger as células contra o envelhecimento e o câncer, bem como contra doenças cardíacas⁷.

O crescimento desses microrganismos depende de muitas reações bioquímicas e biológicas, e pode praticamente duplicar a biomassa a cada aumento de 10°C na temperatura. A saturação da intensidade luminosa depende em grande parte da temperatura, daí a importância do estudo do binômio temperatura/insolação. Essas e outras variáveis são diferentes para cada espécie de microrganismo⁸.

Três principais fatores ambientais governam a produção de biomassa algal da *Spirulina sp*: nutrientes, temperatura e luz. As microalgas podem receber energia luminosa artificial ou natural, sendo a solar a mais importante fonte de energia, utilizada em tecnologia de produção em tanques abertos, em culturas externas, e podendo ser aplicada em sistemas semifechados. Existem algumas desvantagens técnicas na utilização da luz solar: não ser disponível o tempo todo (fotoperíodos), ter sua quantidade submetida a filtrações determinadas geograficamente – a reprodutibilidade das condições de iluminação não é possível, o espectro de emissão está entre 120 nm a 100 nm, significando que mais de 50% da energia radiante não pode ser utilizada fotossinteticamente. Fontes artificiais de iluminação são utilizadas exclusivamente em certos tipos de produção e em escala laboratorial⁹.

Alterações de períodos claro-escuro levam a um consumo seletivo de substâncias de reserva na fase sem luz. A luz, que

funciona como fonte de energia, quando ausente, induz, em primeiro lugar, ao consumo de carboidratos e, posteriormente, ao de ácidos graxos¹⁰.

No caso da produção de *S. platensis* a agitação tem por finalidade, produzir e manter uma distribuição uniforme e aumentar a velocidade de produção, bem como aumentar a superfície específica das diferentes fases que constituem a produção agitada¹¹.

Assim, o objetivo deste trabalho foi estudar a produção da alga sob condições naturais de temperatura e insolação em reatores alternativos (sacos plásticos) de volume de 3 litros com 1,5 litro de cultura mineral.

MATERIAL E MÉTODOS

- Microrganismo: *Spirulina platensis*.
- Meio de cultura: Padrão de Paoletti, et al., 1975. Dissolução de sais em água destilada, com agitação.
- Biorreator alternativo: saco plástico (polipropileno transparente) com volume de 3 litros.
- Agitador horizontal a 125 rpm.
- Espectrofotômetros e cubetas de 1 cm.
- Estufa para a secagem para obtenção da biomassa.

Realizou-se o experimento utilizando reatores plásticos (polipropileno com capacidade de 3 litros), com 1,5 litro de cultura mineral (Paoletti et al, 1975) e variou-se o inóculo em 2,5 e 5,0 %.

Depois dos 20 dias de fermentação, a biomassa foi coletada por filtração em tela de náilon e seca em estufa a 37°C por cerca de 12 horas. A resposta do ensaio foi a biomassa produzida. Para tanto, foi construída uma curva-padrão para relacionar a leitura no espectrofotômetro e a produção de biomassa (g/L de meio).

Para verificação da influência das condições naturais de temperatura e iluminação na fermentação, foram realizados quatro ensaios em épocas diferentes. Os dados dessas condições foram obtidos através do Instituto Nacional de Meteorologia, que possui uma estação meteorológica na Universidade Guarulhos, onde este trabalho foi realizado.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados se encontram na Tabela 1 e no Gráfico 1. De acordo com os ensaios realizados, pode-se verificar que os reatores com 5,0% de inóculo apresentaram maior biomassa que os experimentos com 2,5% de inóculo.

Tabela 1. Produção de *Spirulina platensis* em reator de 3 litros com 1 l de meio mineral padrão, com variação de inoculo.

% Inoculo	MASSA (g)			
	Ensaio 1	Ensaio 2	Ensaio 3	Ensaio 4
5,0 %	1,67	2,98	1,04	1,01
2,5 %	1,02	1,44	0,59	0,85
Temperatura média no período (°C) *	21,35	24,47	20,47	17,26
Insoleção no período (h) *	118	140	100	112

Fonte: Instituto Nacional de Meteorologia (<http://www.inmet.gov.br>)

Quanto à época de fermentação, observou-se que o ensaio n.º 2 foi o que teve maior crescimento, devido às altas temperaturas ocorridas no período, e isso influenciou o desenvolvimento da biomassa, acarretando consequentemente uma produção maior.

Os ensaios tiveram luz, temperatura e agitação constantes, mas, como foram realizados em épocas diferentes do ano, verifica-se que a temperatura ambiente e a luz solar influenciaram no desenvolvimento da biomassa. Existe uma correlação entre as curvas de produção e a quantidade de horas de insolação, e também entre a temperatura e a produção, como se pode observar nos Gráficos 2 e 3.

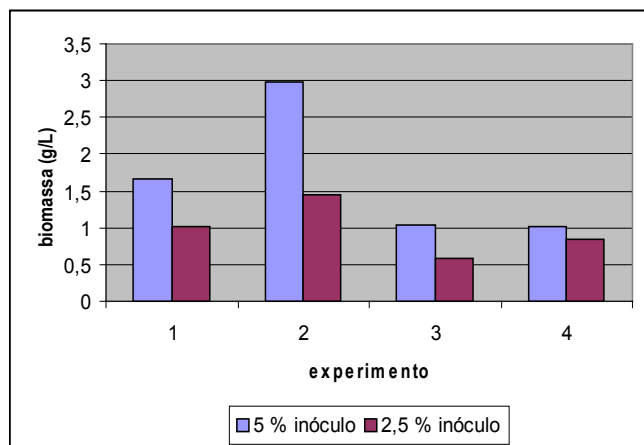


Gráfico 1. Produção de *Spirulina platensis* em reator de 3 litros com 1 l de meio mineral padrão.

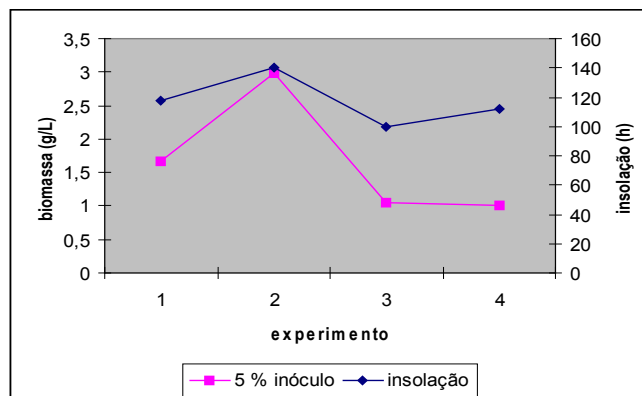


Gráfico 2. Comparação entre a produção de biomassa e a insolação.

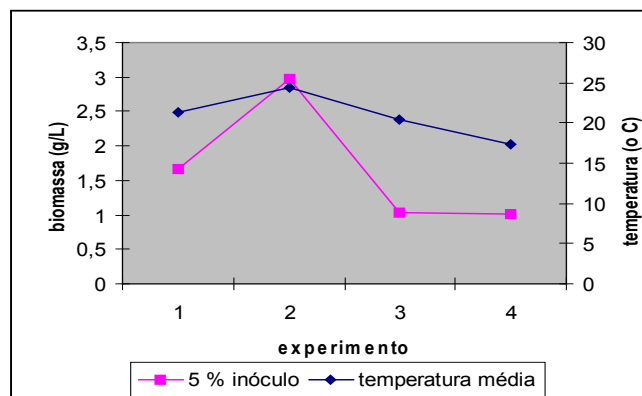


Gráfico 3. Comparação entre a produção de biomassa com 5% de inoculo, e a temperatura média.

Neste experimento também se estudou o aumento de escala, pois já havia sido estudada a produção em reator plástico de 1 l, sendo os melhores resultados quanto à produção de biomassa apresentados no tratamento com volume de meio de 300 cm³ e inoculo de 15%, com uma produção média de 2,32 g/l em 18 dias de fermentação¹¹ contra 2,98 g/l usando 1.000 cm³ de meio e 5 % de inoculo, obtidos neste experimento.

A produção da biomassa de espirulina é limitada, na prática, pela concentração de nutrientes do meio de cultura, pela variação de luminosidade e da temperatura ambiente.

REFERÊNCIAS

1. Alonso JR. Tratado de fitoquímica: bases clínicas y farmacológicas. Buenos Aires: Isis; 1998.
2. Rangel C. Influência da luz e da uréia no crescimento e conteúdo de clorofila da biomassa de *Spirulina platensis*. [Dissertação de Mestrado]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2000.
3. Krinsky NI. Actions of carotenoids in biological systems. Annual Reviews of Nutrition. 1993; 13:156-587.
4. Pascaud M (1993). The essential polyunsaturated fatty acids of *Spirulina* and our immune response. *Bulletin de l'Institut Oceanographique*, 1993, 12: 49-57.
5. Cannell R, Owsianke AM, Walker JM. Results of large scale screening programme to detect antibacterial activity from fishwater algae. *British Phycological Journal*. 1988;23:41-4.
6. Caire GZ, Cano MS, Mulé MCZ, Steyerthal N, Piantanida M. Effect of *Spirulina platensis* on glucose, uric acid and cholesterol levels in the blood of rodents. *Int J Experiment Bot*. 1995; 57:93-6.
7. Piñero-Estrada JE, Bermejo-Bescós P, Villar Del Fresno AM. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protein extract. *I Farmaco*. 2001;56:497-500.
8. Schaim H. Solar energy and industrial algology. *Solar Energy*. 1977; 19:407-10.
9. Pelizer LH. Desenvolvimento de um processo de produção de *Spirulina platensis* utilizando-se bagaço de cana-de-açúcar como suporte. [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo; 2000.
10. Mahajan G, Kamat M. g-Linolenic acid production from *Spirulina platensis*. *Applied Microbiology and Biotechnology*. 1995;43:466-9.
11. Arruda ROM, Carvalho VM, Lima MT, Sassano CEN. Produção de *Spirulina platensis* em reator de plástico. In: Anais do XIV Simpósio Nacional de Fermentações; 2003; Florianópolis: 2003.[CD-ROM]