

INFLUÊNCIA DAS VARIÁVEIS DO MEIO DE CULTIVO PARA A BIOPRODUÇÃO DE ASTAXANTINA

Thais de Matos de Borba; Danielle Alves da Silva; Susana Juliano Kalil;
Janaína Fernandes de Medeiros Burkert

Introdução

A astaxantina é um carotenóide amplamente distribuído na natureza, utilizada para prover colorações características em alguns animais. Suas funções biológicas têm proporcionado um alto valor no mercado para indústrias nutraceuticas e de alimentos. Apesar da disponibilidade de astaxantina sintética, esta pode conter compostos indesejáveis, o que não ocorre na produção a partir de fontes naturais, como a levedura *Phaffia rhodozyma*. (Ni et al., 2008).

Por outro lado, o Brasil é um dos maiores produtores de arroz, sendo sua parboilização um dos processos mais importantes, resultando em um volume considerável de efluente rico em matéria orgânica e nitrogênio, podendo ser utilizado como nutriente para aumentar a composição bioquímica de biomassas (Queiroz et al., 2007).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência das variáveis concentrações de extrato de levedura, extrato de malte, peptona, sacarose, água de parboilização do arroz e do pH inicial do meio, durante o cultivo para a bioprodução de astaxantina pela levedura *P. rhodozyma* utilizando planejamento experimental 2_{IV}^{6-2} .

Metodologia

Foi utilizado a cepa *P. rhodozyma* NRRL Y-17268, com aprovação GRAS (*Generally Recognized As Safe*). No inóculo foram adicionados 10 mL da cultura armazenada em glicerol 20% à -18°C, previamente descongelado, em 90 mL de caldo YM (g.L⁻¹: extrato de levedura 3, extrato de malte 3, peptona 5, glicose 10, KNO₃ 0,2), durante 48 h, em 25° C e 150 rpm para atingir 1x10⁸ células.mL⁻¹.

Os cultivos foram realizados com a adição de 10% de inóculo, totalizando 180 mL com a composição variando de acordo com o planejamento experimental 2_{IV}^{6-2} , a 150 rpm, 25° C por 168 h.

A concentração celular foi estimada por leitura da absorbância a 620 nm, utilizando-se uma curva padrão (Silva, 2009).

Para a determinação da concentração de astaxantina, foi realizado o método de ruptura com dimetilsulfóxido, e após a extração utilizando éter de petróleo (Bonfim et al., 1999).

Resultados e Discussão

O planejamento experimental 2_{IV}^{6-2} apresentado na Tabela 1 foi realizado para avaliar o efeito das variáveis independentes nas respostas máximas obtidas na produção de biomassa, produção específica e volumétrica de astaxantina.

A partir da Tabela 1 foi observado que os máximos para as diferentes respostas foram alcançados em ensaios distintos. O máximo para a concentração celular foi de 8,9 g.L⁻¹ 120 h e 168 h (ensaios 15 e 16), respectivamente, para astaxantina específica foi 505,3 µg.g⁻¹ em 168 h (ensaio 4) e, para concentração volumétrica de astaxantina foi 3,1 µg.mL⁻¹ em 144 h (ensaio 15).

Tabela 1: Matriz do planejamento experimental fracionário 2_{IV}^{6-2} com valores reais e codificados.

Ensaio	Extrato de Levedura (g.L ⁻¹)	Extrato de Malte (g.L ⁻¹)	Peptona (g.L ⁻¹)	Sacarose (g.L ⁻¹)	Efluente (g.L ⁻¹)	pH inicial	Biomassa (g.L ⁻¹)	ATX específica (µg.g ⁻¹)	ATX volumétrica (µg.mL ⁻¹)
1	1 (-1)	1 (-1)	1 (-1)	5 (-1)	0 (-1)	4 (-1)	1,8	317,5	0,4
2	10 (+1)	1 (-1)	1 (-1)	5 (-1)	180 (+1)	4 (-1)	3,4	375,0	1,0
3	1 (-1)	10 (+1)	1 (-1)	5 (-1)	180 (+1)	6 (+1)	4,1	402,7	1,5
4	10 (+1)	10 (+1)	1 (-1)	5 (-1)	0 (-1)	6 (+1)	4,3	505,3	1,6
5	1 (-1)	1 (-1)	10 (+1)	5 (-1)	180 (+1)	6 (+1)	3,2	423,9	0,8
6	10 (+1)	1 (-1)	10 (+1)	5 (-1)	0 (-1)	6 (+1)	2,3	538,4	1,3
7	1 (-1)	10 (+1)	10 (+1)	5 (-1)	0 (-1)	4 (-1)	4,7	482,7	1,8
8	10 (+1)	10 (+1)	10 (+1)	5 (-1)	180 (+1)	4 (-1)	4,5	378,6	1,7
9	1 (-1)	1 (-1)	1 (-1)	20 (+1)	0 (-1)	6 (+1)	3,2	370,0	0,9
10	10 (+1)	1 (-1)	1 (-1)	20 (+1)	180 (+1)	6 (+1)	6,8	323,0	1,8
11	1 (-1)	10 (+1)	1 (-1)	20 (+1)	180 (+1)	4 (-1)	7,6	348,1	2,5
12	10 (+1)	10 (+1)	1 (-1)	20 (+1)	0 (-1)	4 (-1)	7,1	364,3	2,6
13	1 (-1)	1 (-1)	10 (+1)	20 (+1)	180 (+1)	4 (-1)	7,1	350,8	2,1
14	10 (+1)	1 (-1)	10 (+1)	20 (+1)	0 (-1)	4 (-1)	5,6	410,4	2,3
15	1 (-1)	10 (+1)	10 (+1)	20 (+1)	0 (-1)	6 (+1)	8,9	379,5	3,1
16	10 (+1)	10 (+1)	10 (+1)	20 (+1)	180 (+1)	6 (+1)	8,9	307,1	1,4
17	5,5 (0)	5,5 (0)	5,5 (0)	12,5 (0)	90 (0)	5 (0)	5,3	399,9	1,8
18	5,5 (0)	5,5 (0)	5,5 (0)	12,5 (0)	90 (0)	5 (0)	5,2	396,8	1,8
19	5,5 (0)	5,5 (0)	5,5 (0)	12,5 (0)	90 (0)	5 (0)	5,4	435,5	2,0
20	5,5 (0)	5,5 (0)	5,5 (0)	12,5 (0)	90 (0)	5 (0)	4,5	448,9	1,7

ATX= astaxantina.

A análise dos efeitos das variáveis dos componentes do meio de cultivo e do pH inicial, está apresentada na Figura 1.

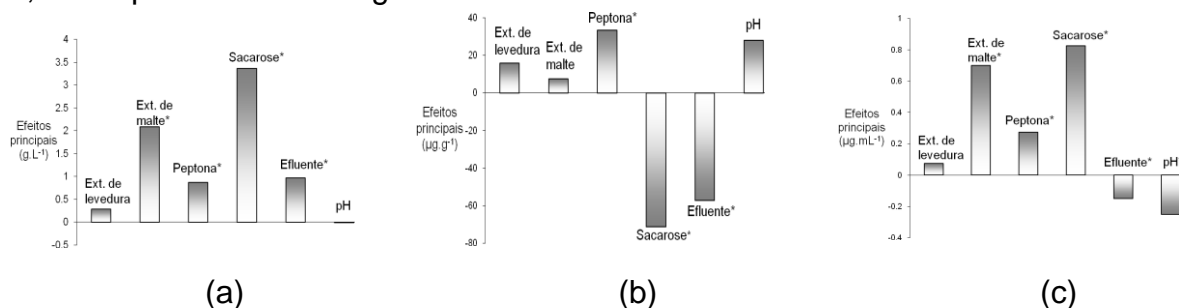


Figura 1. Efeitos principais na bioprodução de astaxantina no crescimento celular (a), produção específica de astaxantina (b), produção volumétrica de astaxantina (c). *p<0,1

Através da Figura 1 verificou-se que o aumento na concentração do extrato de levedura não mostrou-se significativo, na faixa analisada, em nenhuma das respostas estudadas.

O incremento do extrato de malte de 1 para 10 g.L⁻¹ apresentou efeito positivo e estatisticamente significativo, para as respostas concentração de biomassa e produção volumétrica de astaxantina, aumentando respectivamente em média 2,1 g.L⁻¹ e 0,7 µg.mL⁻¹.

A modificação na variável independente concentração de peptona de 1 para 10 g.L⁻¹, resultou num efeito positivo e significativo para as respostas estudadas, incrementando em média 0,9 g.L⁻¹ na biomassa, 33,2 µg.g⁻¹ na produção específica de astaxantina e 0,3 µg.mL⁻¹ na produção volumétrica de astaxantina.

O efeito mais significativo apresentado foi pelo incremento na concentração de sacarose. Para a concentração de biomassa e produção volumétrica do carotenóide esse efeito foi positivo, aumentando em média $3,4 \text{ g.L}^{-1}$ e $0,8 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente. Para a produção específica ocorreu o inverso, apresentando um decréscimo em média de $71,4 \text{ }\mu\text{g.g}^{-1}$.

Na variável efluente de parboilização do arroz, quando houve incremento do nível de -1 para +1, a produção da biomassa aumentou em média 1 g.L^{-1} , e na produção específica e volumétrica de astaxantina ocorreu um decréscimo em média $57,4 \text{ }\mu\text{g.g}^{-1}$ e $0,1 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$, respectivamente.

O incremento do pH inicial do meio de cultivo de 4,0 para 6,0 apresentou efeito significativo apenas para a concentração volumétrica de astaxantina, diminuindo em média $0,2 \text{ }\mu\text{g.mL}^{-1}$ na bioprodução do carotenóide.

Conclusões

Pode-se concluir que o aumento da concentração de sacarose foi a variável que mais influenciou no cultivo de astaxantina, o contrário ocorreu para a concentração do extrato de levedura, que não apresentou efeito para nenhuma das respostas estudadas. A partir dos resultados obtidos no planejamento experimental fracionário 2_{IV}^{6-2} selecionou-se as variáveis extrato de malte ($8,75$ a $16,25 \text{ g.L}^{-1}$), peptona ($8,75$ a $16,25 \text{ g.L}^{-1}$), sacarose (15 a 35 g.L^{-1}), efluente de parboilização do arroz ($87,5$ a $162,5 \text{ g.L}^{-1}$), para o seqüenciamento da maximização da bioprodução do carotenóide.

Agradecimentos

Ao CNPq pela bolsa de Iniciação Científica, Capes e Fapergs.

Referências Bibliográficas

- BONFIM, T.M.B. Produção de astaxantina pela levedura *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) a partir de meios de cultura de baixo custo. Curitiba, 1999. **Tese (PhD. Thesis)** – Universidade Federal do Paraná.
- Ni, H.; CHEN, Q.; HE, G.; WU, G. YANG, Y. Optimization of acidic extraction of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*. **Journal of Zhejiang University SCIENCE B**, v.9, n.1, p. 51-59, 2008.
- Queiroz, M.I.; Lopes, E.J.; Zepka, L.Q.; Bastos, R.G.; Goldbeck, R. The kinetics of the removal of nitrogen and organic matter from parboiled rice effluent by cyanobacteria in a stirred batch reactor. **Bioresource Technology**, v.98, p.2163-2169, 2007.
- SILVA, D. A. Maximização da produção de astaxantina por *Phaffia rhodozyma* (*Xanthophyllomyces dendrorhous*) utilizando água de parboilização do arroz. **FURG**, Rio Grande, 2009.