

PROGRAMA DE VINCULACIÓN DE CIENTÍFICOS Y TECNÓLOGOS - Convocatoria 2018

CARACTERIZACIÓN E HIDRÓLISIS ENZIMÁTICA DE MICROALGAS

Rebeca Prieto¹, Marina Vittone², Fernández Compás Andrea², Lamas Daniela Lorenza³

¹ Facultad de Ciencias Exactas y Naturales, FACEN – Universidad Nacional de Asunción, UNA, Asunción, Paraguay.

² Instituto Nacional de Investigación y Desarrollo Pesquero, INIDEP. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

³ Instituto de Investigaciones Marinas y Costeras (IIMyC), CONICET- Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas. Mar del Plata, Buenos Aires, Argentina

Beneficiario: Lic. Rebeca Prieto, priorebe@gmail.com

RESUMEN

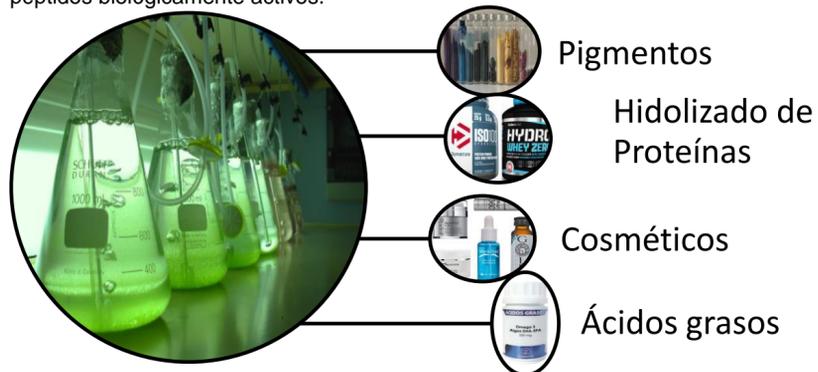
Las microalgas son microorganismos fotosintéticos capaces de producir fácilmente biomasa a partir de energía solar, CO₂ y nutrientes. La biomasa de microalgas y sus derivados ha sido un tema de gran interés en los últimos tiempos, debido a sus posibles aplicaciones en diversos campos, como en suplementación animal, nutrición humana, medicamentos y biocombustibles. En su composición, se destaca el alto contenido proteico de buena digestibilidad cuyo perfil de aminoácidos es de alta calidad nutricional. El objetivo del presente trabajo fue caracterizar e hidrolizar diferentes muestras de microalgas a fin de estudiar sus posibles aplicaciones. Se estudió una cepa aislada de Laguna Capitán del chaco Paraguayo *Arthrospira sp.*, una cepa de origen Venezolano *Pseudanabaena sp.*, una cepa comercial Argentina de *Arthrospira platensis*, una cepa Chilena *Arthrospira sp.* y un alga de origen asiático Wakame *Undaria pinnatifida* cosechada en la Patagonia Argentina con equipos de pesca artesanal. Si bien las algas del genero *Pseudanabaena* poseen contaminantes tóxicos, diferentes investigaciones han demostrado que tienen efectos antioxidantes y antiinflamatorios que podrían ser explotados. Para evaluar la composición proximal de estas cepas se realizaron las determinaciones de humedad, cenizas, proteínas y lípidos de acuerdo con los métodos oficiales de la AOAC, 1990. Los lípidos fueron analizados por el método de Bligh y Dyer el perfil de ácidos grasos fue evaluado mediante cromatografía gaseosa. La ruptura celular se realizó por congelamiento a -20°C durante 20h, seguido de descongelamiento a temperatura ambiente y sonicación. Posteriormente, se realizó la hidrólisis de la suspensión de biomasa con una concentración de proteína bruta 3% (v/v) en buffer fosfato 0,2M, utilizando 3 enzimas comerciales Alcalasa, Flavourzyme y Protex 6L. La reacción se llevó a cabo en un reactor batch, en las condiciones óptimas para cada enzima durante 2h. Finalmente las enzimas fueron inactivadas en baño de agua (90° C, 10 min) y la solución obtenida fue centrifugada a 4000 rpm (15° C, 15 min). El sobrenadante fue purificado con sulfato de amonio 4M. El contenido de proteínas solubles de todos los extractos crudos, hidrolizados y purificados fue determinado mediante el método de Lowry. Las cepas Paraguaya y Venezolana arrojaron valores de proteína total de alrededor del 67%, la *Arthrospira platensis* un 63,55% y la muestra Chilena 73,69%. El contenido proteico de wakame fue aproximadamente del 16%.

OBJETIVOS

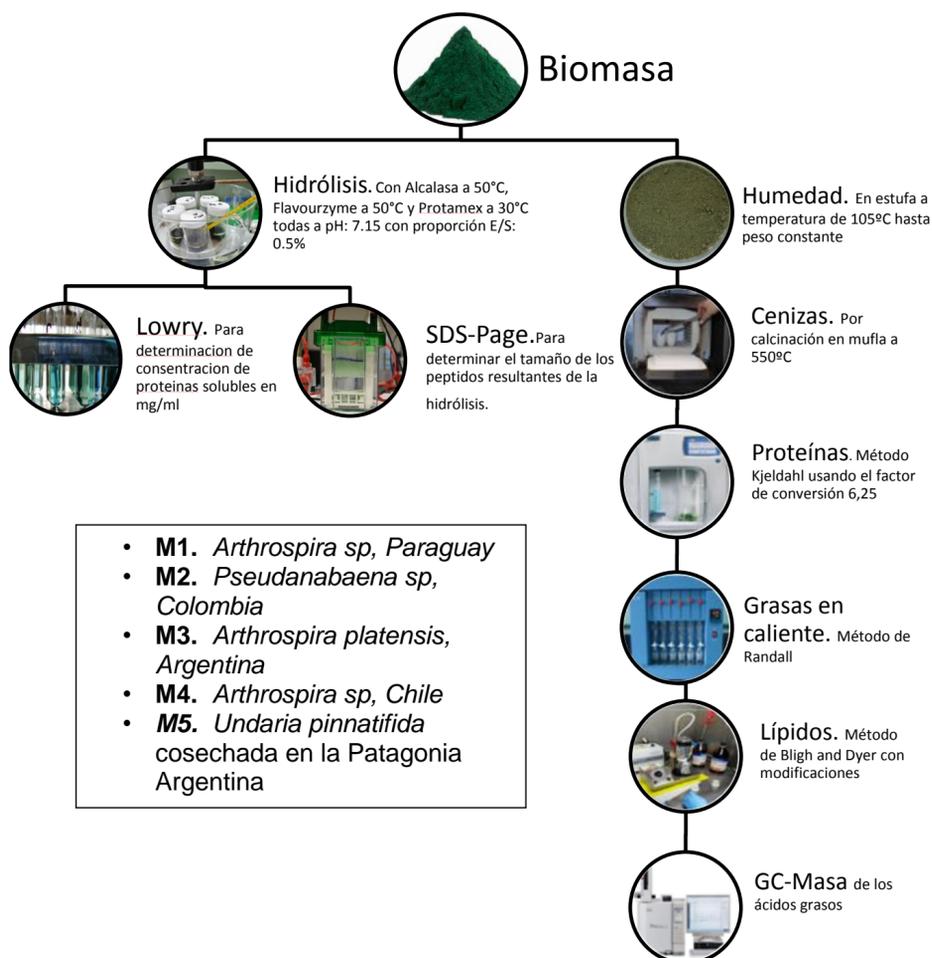
El objetivo del presente trabajo fue caracterizar e hidrolizar diferentes muestras de microalgas a fin de estudiar sus posibles aplicaciones.

INTRODUCCION

El papel de las proteínas como componentes fisiológicamente activos en la dieta se reconoce cada vez más. Muchas de las proteínas que se encuentran naturalmente en los alimentos crudos ejercen su acción fisiológica ya sea directamente o por hidrólisis enzimática in vitro o in vivo. En los últimos años se ha reconocido que las proteínas de la dieta proporcionan una rica fuente de péptidos biológicamente activos.



MATERIALES Y METODOS



RESULTADOS

Composición del análisis proximal de las cepas analizadas.

Muestra	%Humedad	%Cenizas	%Proteína	%Grasas	%H de C
M1	20,91	8,40	67,00	3,69	-
M2	14,33	13,33	67,63	4,71	-
M3	9,11	7,43	63,55	3,11	16,80
M4	6,37	6,31	73,69	6,85	6,78
M5	13,33	35,81	16,70	2,93	31,23

El contenido de humedad, cenizas, proteínas, grasas crudas y carbohidratos, de las cepas analizadas se resume en la Tabla 1. El mayor contenido de humedad, expresado como se observó para cepa Paraguaya seguido de la Venezolana y la Patagónica. Las cepas Argentina y Chilena, mostraron valores que se encuentran dentro del rango reportado por otros autores (Molino et al., 2018) para diferentes especies de microalgas, como *Scenedesmus almeriensis*, *Arthrospira platensis* y *Dunaliella salina*. El contenido de cenizas es coincidente con el 9% reportado por Yucetepe et al., (2018) para *Spirulina platensis*, sin embargo la muestra de la Patagonia difiere notablemente, mostrando un valor de cenizas similar al 29% reportado por Molino et al., (2018) para *Haematococcus pluvialis*. Un alto porcentaje de ceniza puede estar relacionado con la presencia de sales en la superficie de la biomasa seca (Matos et al., 2016) y con el alto contenido de metales alcalinos y alcalinotérreos (Lopez Gonzalez et al., 2014).

Cantidad de Proteínas Solubles Alcalasa

Muestras	Hidrolizado	Purificado
M1	1,15	1,76
M2	39,41	3,74
M3	5,13	4,20
M4	9,79	3,74
M5	1,48	0,05

Cantidad de Proteínas Solubles Flavourzyme

Muestras	Hidrolizado	Purificado
M1	33,86	49,75
M2	22,13	32,87
M3	9,58	2,61
M4	2,79	37,24
M5	3,49	2,32

Cantidad de Proteínas Solubles Protamex

Muestras	Hidrolizado
M1	4,88
M2	4,70
M3	4,97
M4	5,06
M5	3,24

En general, los péptidos obtenidos de la hidrólisis enzimática de proteínas tienen una alta digestibilidad y biodisponibilidad, en comparación con las proteínas (Korhonen, 2009). En la hidrólisis con alcalasa en la tabla 4, la mayor cantidad de proteínas solubles en el hidrolizado crudo detectadas con el método de (Lowry, 1951) fueron para la Venezolana, Paraguaya y la Patagónica, lo que indica una buena respuesta para la hidrólisis con esta enzima a diferencia de la hidrólisis con Flavourzyme, la única cepa con mayor cantidad de enzima soluble fue la Patagónica, con la enzima Protamex 6L no presentaron diferencias significativa en la cantidad de proteínas solubles para las cepas analizadas.

La cantidad de proteínas solubles precipitadas para el hidrolizado con alcalasa con mayor valor fueron para las cepas Paraguaya, Venezolana y Chilena lo que indica que esta técnica de precipitación es aceptable para los péptidos generados en la hidrólisis con esta enzima. Para la precipitación de los hidrolizados con la enzima Flavourzyme la que menor rendimiento presentó fue con la cepa Venezolana, en cambio para las cepas Paraguaya, Patagónica y Chilena presentó un rendimiento de más de 80%.

Los datos obtenidos en el presente trabajo, sugieren que las cepas estudiadas contienen diferentes compuestos de potencial valor industrial.

BIBLIOGRAFIA

- Blinkova, L. P., Gorobets, O. B., & Baturo, A. P. (2001). Biological activity of Spirulina. Zhurnal Mikrobiologii Epidemiologii Immunobiologii, 2, 114–118 (in Russian).
- Camacho Ayala, T. X. (2017). Obtención de un hidrolizado de Spirulina (*Arthrospira platensis*) en polvo, mediante secado por aspersión, como ingrediente funcional. Retrieved from.
- Chamorro, G., Salazar, M., Araujo, K. G., dos Santos, C. P., Ceballos, G., & Castillo, L. F. (2002). Update on the pharmacology of Spirulina (*Arthrospira*), an unconventional food. Archivos Latinoamericanos Nutrición, 52, 232–240.
- DEPRAETERE, O.; PIERRE, G.; NOPPE, W.; VANDAMME, D.; FOUBERT, I.; MICHAUD, P.; MUYLEAERT, K. Influence of culture medium recycling on the performance of *Arthrospira platensis* cultures. Algal Res. 2015, 10, 48–54.
- D'Alessandro, E.B.; Antoniosi Filho, N.R. Concepts and studies on lipid and pigments of microalgae: A review. Renew. Sustain. Energy Rev. 2016, 58, 832–841. [CrossRef]
- Gershwin, M. E., & Belay, A. (2008). Spirulina in human nutrition and health. Boca Raton: CRC Press.