



RESUMEN DE LA TESIS DOCTORAL

DATOS DEL/ DE LA DOCTORANDO/A:

Apellidos y nombre: Gojkovic Zivan	NIF/ Pasaporte: [REDACTED]	Nacionalidad: [REDACTED]
Dirección a efectos de notificaciones [REDACTED]		
Teléfono [REDACTED]	EMAIL [REDACTED]	

DATOS DE LA TESIS DOCTORAL:

Título: PRODUCTION, CHARACTERIZATION AND UTILIZATION OF THE BIOMASS FROM VARIOUS SOURCES
Programa Oficial de Doctorado al que se adscribe y órgano responsable: CIENCIA Y TECNOLOGÍA INDUSTRIAL Y AMBIENTAL
Director/es: DR. INES GARBAYO (UHU) doc. RNDr. IVANA MÁROVÁ, Csc. (Brno Univ.)

Fecha de lectura : 09.06.2014.

Resumen en castellano que será usado para la base de datos TESEO (máx. 4000 caracteres):

La utilización de la biomasa es uno de los principales temas de interés en Biotecnología. Ya sea de origen animal, vegetal o microbiano, la biomasa es una fuente de sustancias bioactivas cuya extracción puede resultar de interés en la obtención de nuevos productos destinados al consumo humano y/o animal. En esta tesis, se han utilizado dos tipos de biomasa de origen natural: piel de pollo como fuente de colágeno tipo I y biomasa enriquecida en selenometionina de *Chlorella sorokiniana*.

En la primera parte de esta tesis, la piel de pollo se presenta como una alternativa frente al empleo de otras fuentes de colágeno tales como el cerdo, el ganado vacuno o las carpas. El colágeno tipo I procedente de pollo ha sido aislado y sus propiedades moleculares comparadas con las del colágeno procedente de otros animales. Con técnicas como la espectroscopía ultrasónica, se ha determinado que la fase de licuefacción en el colágeno de origen bovino empezaba a 40 °C, mientras que para el colágeno de pollo era 50 °C. Usando la técnica de viscosimetría, se confirmó 50 °C como T^a de desnaturalización para el colágeno de pollo lo que representa 10 °C más que la obtenida con el colágeno de tendón bovino, confirmando así su alta estabilidad térmica debido posiblemente a su alto contenido en lisina. Basándonos en los resultados obtenidos, el colágeno de la piel de pollo podría ser usado como una excelente fuente alternativa de colágeno tipo I.

En la segunda parte de esta tesis, se realizaron experimentos enfocados al enriquecimiento de la biomasa de la microalga *Chlorella sorokiniana* en selenometionina añadiendo selenato Se (+VI) al medio de cultivo en condiciones de crecimiento tanto en discontinuo (baño) como en modo continuo. Esta parte se realizó en el laboratorio de Biotecnología de Algas de la Facultad de Experimentales de la Universidad de Huelva en España y fue parcialmente financiada con una ayuda eidA3-ceiA3 para la realización de tesis doctorales en cotutela por doctorandos extranjeros del Campus de Excelencia Internacional en Agroalimentación (ceiA3).

Los resultados muestran que la tasa de crecimiento en cultivos sometidos a concentraciones subletales de selenio de 40 mg·L⁻¹ (212 µM), disminuyó un 25 % respecto a la del cultivo control. También se determinó el valor de EC₅₀ siendo éste de 45 mg·L⁻¹ (238.2 µM). Estudios con microscopía electrónica revelaron daños en la estructura celular, mientras que los resultados de las electroforesis sugieren que se afecta al gen de la enzima Rubisco. Las células acumularon hasta 140 mg·kg⁻¹ of SeMet tras 120 horas de cultivo.

Se obtuvo biomasa de forma continua y con concentraciones crecientes de Se de 5 a 50 mg·L⁻¹ usando un fotobioreactor y consiguiendo un máximo en la acumulación de SeMet de 246 µg·L⁻¹·día⁻¹ con 40 mg·L⁻¹ de selenato. Los resultados apuntan a que es posible obtener biomasa enriquecida en SeMet en modo continuo y a lo largo del tiempo y con una máxima productividad de SeMet, escogiendo bien la concentración subletal de selenio y las tasas de dilución.



Resumen en inglés que será usado para la base de datos TESEO (máx. 4000 caracteres)

Biomass management is one of the most important issues in modern natural science as it is the basic category which spans through various disciplines of biotechnology. Whether animal, plant or microbial by its origin, biomass presents a vast source of food components, fine chemicals and bioactive molecules, which extraction, characterization and formulation can result in interesting new products destined for human consumption or as new materials in biomedicine.

In the scope of this work, two natural biomass types were investigated – chicken skin as a source of collagen type I, and green microalga *Chlorella sorokiniana* biomass enriched in selenomethionine (SeMet).

Chicken skin is a good alternative to traditional sources of collagen such as pork, bovine and carp that have some limitations. In the first part of this thesis, collagen type I from chicken skin was isolated, identified and characterized and molecular properties were compared to collagen from other animal skins. New methods (viscosimetry and ultrasonic spectroscopy) for molecular characterization of collagen were used. By ultrasonic attenuation, it has been determined that disaggregation and liquefaction phase starts at 40 °C in bovine collagen, whereas in chicken collagen starts at 50 °C. Using viscosimetry technique, denaturation temperature was found to be 50 °C, which is 10 °C higher than that obtained with bovine tendon collagen, confirming higher thermal stability of chicken skin collagen, probably because lysine levels in chicken collagen are two times higher than in bovine. Based on obtained results it could be concluded that due to its higher thermal stability and amino acid composition, chicken skin could be used as an excellent alternative source of collagen.

The second phase of the thesis focused on the enrichment of green microalga *C. sorokiniana* biomass in SeMet by exposing cultures to selenate Se (+VI) during batch and continuous cultivation, and it was performed at the laboratory of Biotechnology of Algae from the Faculty of Experimental Sciences at the University of Huelva in Spain.

Effect of selenate on viability, cell morphology and SeMet accumulation of the microalga *C. sorokiniana* grown in batch conditions was studied. Growth rate of cultures exposed to a sub-lethal 40 mg·L⁻¹ (212 µM) of Se decreased about 25 % compared to control. EC₅₀ of 45 mg·L⁻¹ (238.2 µM) was determined for selenate. Ultrastructural studies with electronic microscope revealed cellular alterations. Electrophoresis of Se-exposed cell proteins suggests that selenate affects expression of the Rubisco gene. Microalga was able to accumulate up to 140 mg·kg⁻¹ of SeMet in 120 h of cultivation.

The second type of microalgae experiments focused on the enrichment of *C. sorokiniana* in SeMet, grown in continuous conditions in a 2.2 L photobioreactor, in a medium supplemented with selenate concentrations ranging from 5 to 50 mg·L⁻¹. Continuous cultivation at several dilution rates was performed at 40 mg·L⁻¹ selenate obtaining a maximum of 246 µg·L⁻¹·day⁻¹ of SeMet. Results suggest that an efficient batch and continuous cultivation of *C. sorokiniana* for the production of biomass enriched in the high value amino acid SeMet, at laboratory scale is feasible by carefully selecting sub-lethal selenate concentrations in culture medium as well as the culture dilution rates.

Palabras claves en castellano que deben coincidir con las enviadas a la base de datos TESEO (máx. 5 descriptores o palabras claves, separadas por coma)

Colágeno, piel de pollo, viscosimetría, espectroscopia ultrasónica, selenio, microalga, fotobiorreactor, bioacumulación, selenometionina

Palabras claves en inglés que deben coincidir con las enviadas a la base de datos TESEO (máx. 5 descriptores o palabras claves, separadas por coma)

Collagen, chicken skin, viscosimetry, ultrasonic spectroscopy, selenium, photobioreactor, microalga, bioaccumulation, selenomethionine

En Huelva, 8 de Mayo de 2014

Firma del/de la interesado/a

Fdo.