

SECAGEM A VÁCUO DE *SPIRULINA SP.* LEB 18: ANÁLISE DAS CARACTERÍSTICAS DOS COMPOSTOS BIOATIVOS DO PRODUTO DESIDRATADO

A. A. COMITRE¹, L. B. VAZ¹, L. A. SILVA¹, A. P. Q. LARROSA¹ e L. A. de A. PINTO¹

¹ Universidade Federal de Rio Grande, Escola de Química e Alimentos
E-mail para contato: dqmpinto@furg.br

RESUMO – As microalgas têm sido amplamente cultivadas e estudadas devido à sua rica composição química para fins alimentícios, farmacêuticos, biocombustíveis, biofilmes, dentre outras aplicações. A secagem é uma operação unitária que tem sido empregada para conservação dos nutrientes da biomassa, sendo a secagem a vácuo pouco explorada. Diante disso, este trabalho teve como objetivo de avaliar a secagem a vácuo da microalga *Spirulina* LEB-18 em relação ao conteúdo de ficocianina, compostos fenólicos e atividade antioxidante. A microalga foi cedida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da FURG, sendo cultivada em fotobiorreatores abertos, utilizando meio de cultivo Zarrouk. A biomassa era prensada atingindo uma concentração de sólidos de 18% (g/g). Os experimentos foram realizados em uma estufa a vácuo à pressão de 100 mmHg (13,3 kPa) nas temperaturas 40, 50 e 60°C. Os resultados mostraram que com o aumento da temperatura houve uma redução de 26% a 70% no conteúdo de ficocianina, sendo que na menor temperatura (40°C) obteve uma maior preservação da ficobiliproteína. Em relação às demais respostas, compostos fenólicos e atividade antioxidante, os resultados foram similares à amostra *in natura* independente da temperatura utilizada.

1. INTRODUÇÃO

As microalgas são uma das fontes mais promissoras para desenvolvimento de novos produtos alimentares e alimentos funcionais, sendo utilizadas para melhorar o valor nutritivo dos alimentos, devido à sua composição química equilibrada. Há um grande número de espécies de microalgas sendo cultivadas, sendo as cianobactérias as mais estudadas e utilizadas (Batista *et al.*, 2013).

A *Spirulina* é uma microalga fotossintética, filamentosa, espiralada, multicelular e de coloração azul-esverdeada que tem sido produzida em ampla escala (Koru, 2012). Possui elevado conteúdo de proteína (50-60%), ácidos graxos essenciais, vitaminas e minerais, sendo utilizada para fins farmacêuticos, suplementos alimentares, biocombustíveis, dentre outros. Na região sul do Brasil, situado na Lagoa da Mangueira, há uma planta piloto que possui uma capacidade de produzir 50 kg por mês de biomassa para enriquecer alimentos, nos quais são distribuídos como *snacks* para crianças na região (Morais *et al.*, 2010). Além da elevada concentração protéica, a *Spirulina* contém compostos antioxidantes que possuem efeitos terapêuticos e anti-cancerígenos, assim como pigmentos de interesse como clorofila e as

ficobiliproteínas. A principal ficobiliproteína é a ficocianina, pigmento verde-azulado que tem sido empregado como corantes naturais em cosméticos e alimentos. Porém, a sua aplicação é frequentemente limitada pela sua instabilidade à umidade, luz e temperatura devido à degradação da fração protéica (Chaiklahan *et al.*, 2012).

No entanto, para aumentar a vida útil da biomassa, é necessário empregar um método de conservação, sendo a secagem uma das operações mais utilizadas. Além de reduzir a atividade de água até um nível em que o crescimento microbiano e reações de deterioração são minimizados, a secagem reduz custos de transporte, embalagem e de armazenamento (Vega-Gálvez *et al.*, 2011). A secagem de microalgas tem sido realizada em secadores de bandeja (Oliveira *et al.*, 2010), spray dryer, freeze-dryer (Ryckebosch *et al.*, 2011), leite de jorro (Oliveira *et al.*, 2008) e secagem solar. Estudos utilizando secagem a vácuo em microalgas ainda não foram reportados na literatura.

A secagem a vácuo é um processo em que a conteúdo de umidade do material é removido através da pressão abaixo da atmosfera, apresentando diversas vantagens frente aos secadores convencionais, como por exemplo, a oxidação do produto é reduzida pela ausência de oxigênio. Além disso, a secagem a vácuo é um processo alternativo à liofilização por consumir menos energia, tornando-se uma técnica mais barata (Reis, 2011). Em vista, do pouco conhecimento sobre a influência da secagem a vácuo nas microalgas, este trabalho teve como objetivo de avaliar a secagem a vácuo da *Spirulina* LEB-18 nas suas características funcionais e físico-químicas, tais como: ficocianina, compostos fenólicos e atividade antioxidante.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Matéria-prima

Para a realização deste trabalho foi utilizada a microalga *Spirulina* Leb-18, a qual foi cedida pelo laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB/FURG/RS). A microalga foi cultivada em fotobiorreatores abertos em condições não controladas, utilizando meio de cultivo Zarrouk, preparado com água da Lagoa Mangueira para manutenção do inóculo e obtenção da biomassa. A biomassa foi filtrada (200 mesh) e prensada a 1 ton/cm², obtendo uma concentração de sólidos de 18% (g/g).

2.2. Experimentos de secagem

A secagem da microalga foi realizada num secador a vácuo sob pressão reduzida de 100 mm de Hg (13,3 kPa) nas temperaturas 40, 50 e 60°C. As condições de vácuo dentro da câmara foram mantidas por uma bomba de vácuo e monitoradas através de um manômetro. O sistema de aquecimento foi constituído por uma placa de aço inoxidável, com dimensões de 30 cm de largura e 26,5 cm de comprimento, aquecida por uma resistência elétrica de 443 W ligada a um regulador automático de temperatura. A *Spirulina* foi colocada em uma bandeja de dimensões (14,5 cm x 16 cm) no formato de pellets cilíndrico de 4 mm de diâmetro. A medida da massa das amostras durante a secagem foi determinada numa balança semi-analítica a cada 1 h, tendo um intervalo de 1 min, a cada pesagem. O término da secagem da *Spirulina* foi estabelecida até atingir umidade em torno de 0,10 g de água/g sólido seco. A

amostra seca foi submetida à redução de tamanho utilizando um moinho de facas para uniformizar o tamanho de partícula.

2.3. Metodologia analítica

Ficocianina: foi analisada utilizando o método de Moraes *et al.* (2010). O método utiliza uma proporção de $0,16g_{\text{biomassa seca}}/mL_{\text{solvente}}$, utilizando água destilada como solvente extrator. As amostras (*in natura* e seca) foram agitadas a 100 rpm durante 4 h em shaker, sendo centrifugadas a 3500 rpm por 20 min e filtradas em papel filtro. Retirou-se uma alíquota de 1 mL e diluída em 25 mL para leitura no espectrofotômetro nos comprimentos de onda de 620 e 652 nm. A ficocianina foi determinada de acordo com a Equação 1 segundo Bennet e Bogorad (1973), sendo os valores convertidos para mg/g.

$$F_c = \frac{abs_{620} - 0,474(abs_{652})}{5,34} \quad (1)$$

Compostos Fenólicos: foram determinados de acordo com a metodologia de Assis *et al.* (2014), utilizando uma extração com álcool metílico e precipitação dos compostos não-fenólicos com hidróxido de bário 0,1 M e sulfato de zinco 5% (p/v). A quantificação foi realizada empregando uma curva padrão de ácido gálico utilizando o reagente Folin-Ciocalteu e a leitura no espectrofotômetro em 750 nm. Os resultados foram expressos por mg de compostos fenólicos totais em equivalente de ácido gálico (EAG) por grama de amostra seca.

Atividade antioxidante: foi determinada pelo método da capacidade de sequestrar o radical estável 1,1-difenil-2-picrihidrazil (DPPH), segundo Brand-Williams *et al.*, (1995) com algumas modificações. Foi utilizada 500 μ L de amostra em contato com 3,5 mL de DPPH 0,06 mM em solução metanólica. Após a incubação durante 60 min em temperatura ambiente e no escuro, foram analisadas as leituras na absorbância de 515 nm. Os resultados foram expressos em % de inibição de DPPH de acordo com a equação 2.

$$\%AA = \frac{abs_{\text{branco}} - abs_{\text{amostra}}}{abs_{\text{branco}}} \quad (2)$$

2.4. Metodologia estatística

Os resultados foram tratados estatisticamente pelo teste de Tukey a um intervalo de 95% de confiança ($p < 0,05$). Os experimentos foram realizados em réplica e as análises em triplicata.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados dos experimentos na secagem a vácuo foram comparados com a amostra *in natura* conforme mostra a Tabela 1.

Tabela 1 – Conteúdo de ficocianina, compostos fenólicos e atividade antioxidante das amostras secas e *in natura*

Amostra	Tempo (h)	Ficocianina (mg/g)*	Fenóis (mg _{EAG} /g _{amostra})*	Atividade antioxidante (% DPPH)*
40°C	11±1	31,0±0,2 ^a	385,1±12,9 ^a	46,3±1,4 ^a
50°C	8±1	14,0±0,6 ^b	472,2±1,73 ^b	54,6±1,5 ^{b,c}
60°C	7±1	11,9±0,1 ^c	485,1±2,42 ^b	64,3±5,3 ^c
<i>In natura</i>	-	42,1±0,1 ^d	326,4±2,71 ^c	47,9±1,2 ^{a,b}

*Média ± desvio padrão. Letras diferentes na mesma coluna apresentam diferença significativa ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$).

Os resultados apresentados na Tabela 1 mostram que a ficocianina apresentou diferença significativa entre as amostras secas e *in natura* ao nível de 5% de significância ($p < 0,5$). Além disso, foi verificada uma redução da ficocianina com o aumento da temperatura, sendo que na temperatura de 40°C houve menor degradação do pigmento fotossintético presente na *Spirulina*, o qual representou 26% de perda. Apesar de que nessa condição experimental obteve um maior tempo de secagem, as maiores temperaturas exerceram maior efeito na sua degradação. Como a ficocianina é uma ficobiliproteína, ou seja, constituída por uma fração proteica, o aumento da temperatura fez com que esta proteína presente nos ficobilissomos sofresse uma degradação térmica. Estudos têm relatado que a estabilidade da ficocianina é influenciada por diversos fatores, como pH, temperatura e concentração protéica (Chaiklahan *et al.*, 2012). Oliveira *et al.* (2010) estudou a secagem em bandeja da *Spirulina*, mostrando que houve uma perda de 37% no conteúdo de ficocianina na temperatura de 55°C durante 210 min.

Em relação aos compostos fenólicos, as amostras obtidas pela secagem também apresentaram diferença significativa em relação à amostra *in natura* ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$), sendo que nas temperaturas de 50 e 60°C não apresentou diferença significativa entre elas. Além disso, observa-se na Tabela 1, que os compostos fenólicos aumentaram em torno de 18% a 48% em relação à biomassa *in natura*. Este comportamento pode ser explicado pela aplicação do vácuo, causando uma expansão do ar, o que pode ter liberado maior quantidade de compostos bioativos nas células da biomassa. Já em relação à atividade antioxidante dos extratos metanólicos, verificou-se que a maior temperatura apresentou maior capacidade de sequestrar o radical livre DPPH em relação à amostra *in natura*. Segundo Orikasa *et al.* (2014), a secagem a vácuo de kiwi também mostrou um aumento da atividade antioxidante. A energia térmica durante a secagem pode ter uma habilidade de quebrar as estruturas moleculares das ligações covalentes mais complexas e liberam alguns compostos antioxidantes.

4. CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos pode-se dizer que a secagem a vácuo na temperatura de 40°C apresentou resultados satisfatórios em relação aos compostos fenólicos, atividade antioxidante e menor degradação da ficocianina, sendo esta a condição mais adequada para secagem de *Spirulina*.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores deste trabalho agradecem ao Laboratório de Engenharia Bioquímica (LEB/FURG) pela matéria-prima e à Capes pelo apoio financeiro.

6. REFERÊNCIAS

- AOAC, 1995. AOAC. *Official Methods of Analysis of the Association of Official Analytical Chemists* (1995). Official Analytical Chemists, 16th ed., Washington, DC.
- ASSIS, L. M.; MACHADO, A. R.; MOTTA, A. S.; COSTA, J. A. V. SOUZA-SOARES, L. A. Development and characterization of nanovesicles containing phenolic compounds of microalgae *Spirulina* strain LEB-18 and *Chorella pyrenoidosa*. *Adv. Mat. Phys. Chem.*, v. 4, p. 6-12, 2014.
- BATISTA, A. P.; GOUVEIA, L.; BANDARRA, N. M.; FRANCO, J. M.; RAYMUNDO, A. Comparison of microalgal biomass profiles as novel functional ingredients for food products. *Algal Research*, v. 2, p. 164-173, 2013.
- BENNETT, A.; BOGORAD, L. Complementary chromatic adaptation in a filamentous blue-green alga. *J. Cell Biol.*, v. 58, p. 419-435, 1973.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET C. Use of free radical method to evaluate antioxidant activity. *LWT – Food Sci. Technol.*, v. 28, p. 25-30, 1995.
- CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWAN, N.; BUNNAG, B. Stability of phycoerythrin extracted from *Spirulina sp.*: influence of temperature, pH and preservatives. *Process Biochem.* v. 47, p. 659-664, 2012.
- KORU, E. *Earth Food Spirulina (Arthrospira): production and quality standards*. Food Additive, Prof. Yehia El-Samragy (Ed.), 2012.
- MORAES, C. C.; BURKERT, J. F. M.; KALIL, S. J. C-phycoerythrin extraction process for large-scale use. *J. Food Biochem.*, v. 34, p. 133-148, 2010.
- OLIVEIRA, E. G.; ROSA, G. S.; MORAES, M. A.; PINTO, L. A. A Phycoerythrin content of *Spirulina platensis* dried in spouted bed and thin layer. *J. Food Process Eng.*, v. 31, p. 34-50, 2008.

- OLIVEIRA, E. G.; DUARTE, J. H.; MORAES, K.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. A. Optimisation of *Spirulina platensis* convective drying: evaluation of phycocyanin loss and lipid oxidation. *Int. J. Food Sci. Tech.*, v. 45, p. 1572-1578, 2010.
- ORIKASA, T.; KOIDE, S.; OKAMOTO, S.; IMAIZUMI, T.; MURAMATSU, Y.; TAKEDA, J. I.; SHIINA, T.; TAGAWA, A. Impacts of hot air and vacuum drying on the quality attributes of kiwifruit slices. *J. Food Eng.*, v. 125, p. 51-58, 2014.
- REIS, R. F. *Secagem a vácuo de yacon: influência das condições de processo sobre parâmetros de qualidade e cinética de secagem*. Tese de doutorado de Engenharia de Alimentos, Universidade Federal do Paraná, 62 f., 2011.
- RYCKEBOSCH, E.; MUYLAERT, K.; EECKHOUT, M.; RUYSSSEN, T.; FOUBERT, I. Influence of drying and storage on lipid and carotenoid stability of the microalga *Phaeodactylum tricornutum*. *J. Agric. Food Chem.*, v.59, p. 11063-11069, 2011.
- VEGA-GÁLVEZ, A.; MIRANDA, M.; CLAVERÍA, R.; QUISPE, I.; VERGARA, J.; URIBE E.; PAEZ, H.; DI SCALA, K. Effect of air temperature on drying kinetics and quality characteristics of osmo-treated jumbo squid (*Dosidicus gigas*). *LWT-Food Sc. Technol.*, v. 4(1), p. 16-23, 2011.