

COMPOSIÇÃO PROXIMAL E DETERMINAÇÃO DO PERFIL DE ÁCIDOS FENÓLICOS DE MICROALGAS

CAROLINA DA SILVA GRAÇA¹; ADRIANA RODRIGUES MACHADO²; RENATA HEIDTMAN BENVENUTI²; ELIANA BADIALE FURLONG²; LEONOR ALMEIDA DE SOUZA SOARES³

¹ Universidade Federal de Rio Grande – carolinaspasgraca@hotmail.com

² Universidade Federal de Rio Grande – adririso@hotmail.com

³ Universidade Federal de Rio Grande – leonor.souzasoares@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As microalgas vêm ganhando grande atenção no cenário mundial, devido a sua importância em pesquisas biotecnológicas., assim como a relação às propriedades biológicas dos compostos fenólicos, sendo estes geralmente relacionadas com a atividade antioxidante que cada composto exerce sobre determinado meio (MEDINA, 2009).

A *Spirulina platensis* possui um grande potencial a ser explorado de maneira sustentável como fornecedora de biocompostos com alta atividade antioxidante. Assim como a *Chlorella*, que é uma microalga unicelular encontrada em tanques e lagos, com grande habilidade de realizar a fotossíntese, sendo amplamente usada como complemento alimentar (KAY, 1991; SHENG et al., 2007).

As microalgas *Spirulina* e *Chlorella* são certificadas pela FDA (Food and Drug Administration) como GRAS (geralmente Reconhecido como Seguro), e podem ser usadas como aditivo farmacêutico ou nutritivo, sem nenhum risco para a saúde (MORAIS, MIRANDA e COSTA 2009).

O objetivo do presente trabalho foi de avaliar a composição proximal e determinar o perfil de ácidos fenólicos das microalgas *Spirulina* LEB 18 e *Chlorella pyrenoidosa*.

2. METODOLOGIA

2.1 Matérias-primas

Foi utilizada a biomassa seca da microalga *Chlorella pyrenoidosa*, adquirida no comércio da cidade de Pelotas-RS, com granulometria das partículas de 125 µm. A biomassa seca de *Spirulina* LEB 18, lote 2013, foi fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica da FURG, sendo sua produção realizada na Planta Piloto localizada no município de Santa Vitória do Palmar, RS.

2.2 Composição centesimal

As amostras das microalgas estudadas foram analisadas conforme as metodologias descritas pela AOAC (2000). A umidade consiste na secagem direta em estufa com circulação de ar a 105 °C. O teor de cinzas foi determinado por método gravimétrico em mufla à temperatura de 550 °C. O teor de proteína bruta foi determinado pelo método micro-Kjeldahl, utilizando-se como fator de conversão 6,25 para todas as amostras. O teor lipídico foi determinado utilizando o extrator de Soxhlet e éter de petróleo como solvente.

2.3 Ácidos fenólicos

O perfil dos ácidos fenólicos das microalgas foi determinado através de método cromatográfico – CLAE, o qual consiste num grupo de técnicas de separação de misturas, de modo que o mesmo instrumento faz a separação dos analitos contidos na amostra e sua quantificação. Alíquotas de 20 µL de amostra dos extratos fenólicos de *Spirulina* e *Chlorella* (diluídos em água:metanol, 1:1) foram injetadas em um cromatógrafo, em fluxo de 0,9 mL/minutos, 103 Kgf, à temperatura de 35 °C. A separação dos ácidos fenólicos foi realizada utilizando uma coluna de fase reversa C18 (4,6 x 250 mm, 5 µm) e um gradiente isocrático de solventes constituído por metanol e água acidificada (ácido acético 1%) na relação 20:80 v/v, durante 25 min, usando detecção à 280 nm até 15 min e 320 nm até 25 min. Os ácidos fenólicos foram identificados por comparação dos tempos de retenção e espectros de absorção com diversos padrões de ácidos fenólicos presentes em farelo de arroz (cafeíco, clorogênico, felúrico, gálico, hidroxibenzoíco, protocatecóico e vanilina), conforme descrito na literatura (POURALI, ASGHARI e YOSHIDA, 2010; MIRA et al., 2008; ZHOU et al., 2004). O limite de detecção (LOD) foi calculado pela relação sinal ruído do branco (solução contendo os solventes utilizados na extração dos compostos fenólicos) de 3:1. O limite de quantificação (LOQ) foi estabelecido como sendo três vezes o valor do LOD (RIBANI et al., 2004). O método utilizado foi de acordo com SCHIMIDT (2013), com modificações.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com SOUZA (2012), os dados obtidos permitem afirmar que as microalgas estudadas são basicamente constituídas por proteínas e carboidratos, conforme mostra a Tabela 1. Os valores de umidade, cinzas e lipídios encontrados neste trabalho para a *Spirulina* LEB-18 foram superiores aos obtidos por MORAIS, MIRANDA e COSTA (2009) para a mesma microalga.

Tabela 1 – Composição proximal das microalgas.

Avaliações	<i>Spirulina</i> LEB-18	<i>Chlorella</i> <i>pyrenoidosa</i>
Umidade (%)	11,51±0,04 ^a	6,49±0,09 ^b
Proteína (%)	51,02±0,79 ^a	40,17±1,69 ^b
Cinzas (%)	11,72±0,12 ^a	6,67±0,03 ^b
Lipídios (%)	7,70±0,10 ^a	5,88±0,29 ^b
Carboidratos (%)*	18,05	40,79

Valores com letras diferentes na mesma linha diferem entre si pelo teste de Tukey ($p<0,05$); média

(n=3) ± DP; resultados em base seca. *Cálculo por diferença: 100-(U+P+C+L).

De acordo com a Tabela 2, todas as curvas apresentaram valores de correlação que possibilitaram quantificação confiável das amostras na faixa de linearidade determinada no instrumento.

Tabela 2 – Faixa de tempos de retenção (t_R), curvas analíticas dos padrões de ácidos fenólicos identificados por CLAE – UV.

Padrão	t_R (minutos)	curva analítica	R
Ácido Gálico	4,96	$y = 75433,68x + 10597,73$	0,98
Ácido Protocatecóico	8,15	$y = 39516,64x - 5851,92$	0,99
Ácido Clorogênico	13,76	$y = 33901,28x + 8508,61$	0,98
Ácido Hidroxibenzoico	14,96	$y = 47770,55x - 40064,28$	0,99
*Ácido Cafeico	18,45	$y = 101204,0x + 12415,70$	0,98
Ácido Vanilinico	21,52	$y = 77125,93x + 2985,14$	0,98
Ácido Ferulico	22,66	$y = 7071,405x - 842,986$	0,96

Conforme a Tabela 3, os ácidos fenólicos encontrados para a microalga *Spirulina* LEB-18 foram os ácidos Gálico, Protocatecoico e Clorogênico. Porém, para o extrato fenólico de *Chlorella pyrenoidosa* foi encontrado apenas o ácido Protocatecoico, podendo ser justificado pelas condições de cultivo. Existem poucas informações na literatura sobre o conteúdo de fenóis específicos em microalgas.

O ácido Gálico é um ácidos orgânicos que possui capacidade de capturar radicais livre, propriedades antimutagênicas , antimicrobianas e anticancerígenas reconhecidas (CHUNG et al., 1998).

De acordo com SOOBRATE et al. (2005) o ácido Protocatecóico considerado de alta atividade antioxidante *in vitro*, embora uma ordenação dos ácidos fenólicos por atividade seja difícil, pois ela pode variar em função do solvente, da concentração dos reagentes e do mecanismo de ação.

Tabela 3 – Quantificação por CLAE do teor de fenóis individuais.

Extrato fenólico	Ácido Gálico ($\mu\text{g/g}$)	Ácido Protocatecoico ($\mu\text{g/g}$)	Ácido Clorogênico ($\mu\text{g/g}$)
<i>Spirulina</i> LEB-18	18	15,25	4,5
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	-	9,75	-

4. CONCLUSÕES

Através do presente trabalho foi possível observar que as microalgas estudadas apresentam elevado teor proteico. Além disso, pôde-se quantificar o teor de fenóis presentes nas microalgas, deste lote 2013, onde para *Spirulina* LEB-18 o composto fenólico majoritário é o ácido gálico, presente em sua estrutura, como também ambas microalgas são compostas, pelo ácido Protocatecoico, devido as condições de produção a que estas foram submetidas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AOAC. Association of Official Analytical Chemists. Official Methods of Analysis of International. 17 th, CD-ROM, Wilian Horwitz, 2000.

CHUNG, K. T. et al. Tannins and human health. *Crit. Rev. Food Sci. Nutr.*, v. 38, n. 6, p. 421-464, 1998.

KAY, R. A. Microalgae as food and supplement. *Critical Reviews. Food Science And Nutrition*, v. 30, n. 6, p.555–573.1991.

MEDINA, A. L. **Atividade antioxidante e antimicrobiana de extratos de araçá (*Psidium cattleianum*)**. 2009. Dissertação (Mestrado em Ciência e Tecnologia Agroindustrial) - Programa de Pós-Graduação em Ciência e Tecnologia Agroindustrial da Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, RS.

MIRA, N. V. M.; BARROS, R. M. C.; SCHIOCCHET, M. A.; NOLDIN, J. A.; LANFER-MARQUEZ, U. M. Extração, análise e distribuição dos ácidos fenólicos em genótipos pigmentados e não pigmentados de arroz (*Oryza sativa*L.), *Ciênc. Tecnol. Aliment.* vol.28 n. 4 Campinas, 2008.

MORAIS, M. G. D.; MIRANDA, M. Z. D.; COSTA, J. A. V. Biscoitos de chocolate enriquecidos com Spirulina platensis: características físicoquímicas, sensoriais e digestibilidade. *Alimentos e Nutrição Araraquara*, v. 17, n. 3, p. 323-328, 2009.

POURALI, O.; ASGHARI, F. S.; YOSHIDA, H. Production of phenolic compounds from rice bran biomass under subcritical water conditions. *Chemical Engineering Journal*, v.160, p. 259-266, 2010.

RIBANI, M.; BOTTOLI, C. B. G.; COLLINS, C. H.; JARDIM, I. C. S. F.; MELO, L. F. C. Validação em Métodos Cromatográficos e Eletroforéticos. *Química Nova*, v. 27(5), p. 771-780, 2004.

SCHMIDT, C.G. **Valorização do farelo de arroz: elaboração de filmes biodegradáveis e coberturas comedíveis**. p.187. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos. Universidade Federal do Rio Grande – FURG.2013.

SHENG, J.; YU, F.; XIN, Z.; ZHAO, L.; ZHU, X.; HU, Q. Preparation, identification and their antitumor activities in vitro of polysaccharides from *Chlorella pyrenoidosa*. *Food Chemistry*, v. 105, p. 533–539, 2007.

SOUZA, M. M. **Potencial antifúngico, antioxidante e inibidor da síntese de aflatoxinas dos extratos fenólicos de *Chlorella* sp. e *Spirulina platensis***. 2012. 180p.Tese. Universidade Federal do Rio Grande. Rio Grande, Rio Grande do Sul.

SOOBRATTEE, M. A. et al. Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation research. Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, v. 579, n. 1-2, p. 200-213, 2005.

ZHOU, Z.; ROBARDS, K.; HELLIWELL, S.; BLANCHARD, C. The distribution of phenolic acids in rice. *Food Chemistry*, v. 87, p. 401–406, 2004.