

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DE FICOCIANINA DE CIANOBACTÉRIAS

CAROLINA ELICKER¹; SUELEN RODRIGUES ALMEIDA¹; BRUNO MÜLLER VIEIRA¹; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA^{1,2}; MÁRIO LÚCIO MOREIRA^{1,3}; SERGIO DA SILVA CAVA¹

¹Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais (PPGCEM), Universidade Federal de Pelotas – carolinaelicker@yahoo.com.br; suelen.rs@hotmail.com; bruno.prppg@gmail.com; mlucio3001@gmail.com; sergiocava@gmail.com

²Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção (PPGBBio), Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com

³Programa de Pós-Graduação em Física (PPGFis), Universidade Federal de Pelotas

1. INTRODUÇÃO

A energia solar é uma excelente alternativa para suprimento da demanda por energia elétrica, pois o sol fornece anualmente para a atmosfera terrestre, $1,5 \times 10^{18}$ kWh de energia, cerca de 10.000 vezes mais do que a população global consome atualmente. Assim sendo, cobrindo 0,1% da superfície da Terra com células solares, e considerando uma eficiência de 10%, seria o suficiente para satisfazer a necessidade mundial de energia (GRÄTZEL, 2001). Células solares sensibilizadas por corante (*dye-sensitized solar cells*, DSSC) tem sua fotosensibilidade aumentada pela adsorção de um corante em sua superfície, tendo este corante um espectro de absorção luminosa compreendido no intervalo de comprimento de onda da radiação visível, o que aumenta a eficiência da célula solar (FEITOSA, 2011).

O melhor desempenho tanto em termos de rendimento de conversão quanto em estabilidade a longo prazo tem sido até agora alcançados com complexos polipiridínicos de Rutênio (Ru) desenvolvidas pelo grupo de Grätzel, especialmente os corantes denominados N3, N719 e "black dye" (NARAYAN, 2012; RYAN, 2009). Entretanto, os corantes fotossensibilizadores naturais figuram como uma alternativa promissora. As suas vantagens em relação aos corantes sintéticos incluem disponibilidade, abundância, possibilidade de ser aplicado sem qualquer purificação adicional, serem ambientalmente amigáveis e de baixo custo (WONGCHAREE, MEEYOO e CHAVADEJ, 2007).

Face às condições que devem ser atendidas, a busca por corantes naturais ideais é objeto de estudo em diversas pesquisas, e em levantamento realizado por HUG et al. (2014), conclui-se que estes fotosensitizantes pertencem a diferentes classes químicas, tais como clorofilas, carotenoides, flavonoides e betalaínas. Entretanto, muito embora uma grande variedade de pigmentos das mais diversas fontes sejam estudados, não existem reportes na literatura a respeito de ficobilinas, pigmentos azuis ou vermelhos presentes apenas em cianobactérias e em três grupos de algas.

Existem três tipos de ficobilinas principais, classificadas de acordo com seu pico de máxima absorbância (λ_{\max}) da radiação Vis: (a) ficocianina (PC, azul, $\lambda_{\max} = 590\text{-}640$ nm), (b) aloficocianina (APC, $\lambda_{\max} = 650\text{-}655$ nm, azul) e (c) ficoeritrina (PE, $\lambda_{\max} = 490\text{-}575$ nm, vermelho). Alguns autores consideram ainda um quarto pigmento denominado ficoeritrocianina (PEC), um pigmento vermelho com $\lambda_{\max} = 560\text{-}600$ (ABALDE, 1998; SUN e WANG, 2011). O objetivo deste trabalho é extrair e quantificar o pigmento ficocianina de cianobactérias *Spirulina sp.*, *Aphanothecace sp.*, *Phormidium sp.* e *Pseudanabaena sp.*

2. METODOLOGIA

Neste estudo foi utilizada biomassa seca das cianobactérias *Aphanothece* sp., *Phormidium* sp. e *Pseudanabaena* sp., cedidas pelo Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica (LLipBio) do Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos da Universidade Federal de Pelotas (CCQFA/UFPel), e *Spirulina* sp., adquirida comercialmente.

A extração das ficobilinas seguiu a metodologia proposta por SILVEIRA et al. (2007). Biomassa seca das cianobactérias foi imersa em água destilada em uma razão 0,08 g.mL⁻¹ e o sistema agitado durante 4 horas a 25°C. Após centrifugação, o sobrenadante foi transferido para cubeta de quartzo e analisado por espectroscopia UV-Vis, sendo medidas as absorbâncias em comprimentos de onda determinados. A estimativa da concentração de ficocianina (PC) foi realizada a partir da equação proposta por BENNET e BOGORARD (1975):

$$PC \text{ (mg. mL}^{-1}\text{)} = \frac{A_{615} - 0,474(A_{652})}{5,34}$$

A pureza do extrato (PE) foi estimada conforme equação proposta por ABALDE et al. (1998):

$$EP = \frac{A_{615}}{A_{280}}$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A concentração de ficocianina e pureza do extrato estimadas para as cianobactérias *Spirulina* sp., *Aphanothece* sp., *Phormidium* sp., e *Pseudanabaena* sp. podem ser visualizadas na Tabela 1.

Tabela 1 - Concentração de ficocianina e pureza do extrato estimadas para as cianobactérias consideradas neste estudo.

	PC (mg.mL⁻¹)	EP
<i>Aphanothece</i> sp.	0,0775±0,0358	0,0624±0,0248
<i>Phormidium</i> sp.	0,0970±0,0255	0,0841±0,0196
<i>Pseudanabaena</i> sp.	0,1800±0,1071	0,1278±0,0685
<i>Spirulina</i> sp.	0,3508±0,0882	0,3037±0,0162

Spirulina sp. apresentou os maiores valores médios de concentração de ficocianina e pureza de extrato seguido de *Pseudanabaena* sp., *Phormidium* sp. e *Aphanothece* sp., respectivamente. Entretanto, estatisticamente, *Aphanothece* sp. e *Phormidium* sp. apresentam resultados de concentração de ficocianina e pureza de extrato inferiores a *Spirulina* sp. e semelhantes a *Pseudanabaena* sp. *Pseudanabaena* sp., por sua vez, não diferiu estatisticamente de *Spirulina* sp., em relação a concentração de ficocianina, e diferiu com relação à pureza do extrato.

As concentrações de ficocianina de *Spirulina* sp. e *Pseudanabaena* sp. superiores a *Aphanothece* sp. e *Phormidium* sp. acompanharam mudança da

coloração dos extratos, de verde (característico da clorofila) para azul (característico da ficocianina).

As diferentes aplicações da ficocianina são determinadas pela sua pureza, em que a pureza de 0,7 é considerada para grau alimentar, 3,9 para grau reativo e superior a 4,0 para grau analítico (PATIL e RAGHAVARAO, 2007). Nas condições de extração empregadas neste estudo foi possível obter valores máximos de pureza de extrato de 0,3 (*Spirulina sp.*).

SILVEIRA et al. (2007) empregaram as mesmas condições de extração à biomassa de *Spirulina platensis* e obtiveram maior concentração de ficocianina e pureza do extrato a determinada neste trabalho, 3,68 mg.mL⁻¹ e 0,46, respectivamente.

PUMAS et al. (2011) quantificaram as ficobiliproteínas de diversos gêneros de cianobactérias, dentre os quais *Phormidium sp.* Empregando rompimento celular em ultrassom e a técnica de congelação e descongelamento em meio Tris-HCl, encontraram concentração de ficocianina 60 mg.g⁻¹.

PATEL et al. (2005) determinaram a concentração de ficocianina e a pureza do extrato de diversas cianobactérias, dentre as quais *Phormidium sp.* e *Spirulina sp.* Empregando rompimento celular em ultrassom e a técnica de congelação e descongelamento em meio fosfato de sódio, seguido de purificação por cromatografia de troca iônica, encontraram concentração de ficocianina 17,5 %p e pureza do extrato bruto 0,8 para *Spirulina sp.* e 4,1 %p e 0,69 para *Phormidium sp.* A pureza do extrato após purificação por cromatografia de troca iônica foi 4,42 e 4,43, respectivamente.

4. CONCLUSÕES

Os resultados encontrados neste trabalho demonstram o potencial de *Spirulina sp.* como fonte de ficocianina para uso em células solares sensibilizadas por corantes. Entretanto, é necessária otimização da técnica de extração e aplicação de etapas adicionais de purificação deste composto.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABALDE, J., BETANCOURT, L., TORRES, E., CID, A., BARWELL, C. Extraction and purification of phycocyanin from the marine cyanobacterium *Synechococcus sp.* IO9201. **Plant Science**, v. 136, p. 109-120, 1998.
- BENNETT, A., BOGORARD, L. Complementary Chromatic Adaptation in a Filamentous Blue-Green Algae. **The Journal of Cell Biology**, v. 58, n. 2, 1973.
- FEITOSA, A. V. **Estudo de novos corantes naturais fotoexcitáveis como sensibilizadores em células solares**. 2011. 112 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Físicas Aplicadas) - Universidade Estadual do Ceará. Fortaleza, 2011.
- GRÄTZEL, M. Photoelectrochemical cells. **Nature**, v. 414, p. 338-343, 2001.
- NARAYAN, M. R. Review: Dye sensitized solar cells based on natural photosensitizers. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, n. 16, p. 208-215, 2012.

HUG, R., BADER, M., MAIR, P., GLATZEL, T. Biophotovoltaics: Natural pigments in dye-sensitized solar cells. **Applied Energy**, n. 115, p. 216-225, 2014.

NARAYAN, M. R. Review: Dye sensitized solar cells based on natural photosensitizers. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, n. 16, p. 208-215, 2012.

PATEL, A.; MISHRA, S.; PAWAR, R.; GHOSH, P. K. Purification and characterization of C-Phycocyanin from cyanobacterial species of marine and freshwater habitat. **Protein Expression and Purification**, v. 40, p. 248–255, 2005.

PATIL, G.; RAGHAVARAO, K. S. M. S. Aqueous two phase extraction for purification of C-phycocyanin. **Biochemical Engineering Journal**, v. 34, n. 2, p. 156-164, 2007.

PUMAS, C.; VACHARAPIYASOPHON, P.; PEERAPORNPIRAL, Y.; LEELAPORNPIRID, P.; BOONCHUM, W.; ISHII, M.; KHANONGNUCH, C. Thermostability of phycobiliproteins and antioxidant activity from four thermotolerant cyanobacteria. **Phycological Research**, v. 59, p. 166–174, 2011.

RYAN, M. Progress in ruthenium complexes for dye sensitised solar cells. **Platinum Metals Review**, v. 53, p. 216–218, 2009.

SILVEIRA, S. T., BUKERT, J. F. M., COSTA, J. A. V., BUKERT, C. A. V., KALIL, S. J. Optimization of phycocyanin extraction from *Spirulina platensis* using fatorial design. **Bioresource Technology**, n. 98, p. 1629-1634, 2007.

SUN, L., WANG, S. Phycobiliprotein componentes and characteristics of the phycobilisome from a thermophilic cyanobacterium *Myxosarcin concinna*. **Journal of Phycology**, v. 47, p. 1304-1315, 2011.

WONGCHAREE, K., MEEYOO, V., CHAVADEJ, S. Dye-sensitized solar cell using natural dyes extracted from rosella and blue pea flowers. **Solar Energy Materials and Solar Cells**, v. 91, p. 566-571, 2007.