



Área: Ciência de Alimentos

ESTABILIDADE ANTIOXIDANTE DE MICROCÁPSULAS DE FICOCIANINA

Thanise Antunes Dias*, Samuel Teixeira Lopes, Telma Elita Bertolin

Laboratório de Biotecnologia de Alimentos, Curso de Engenharia de Alimentos, Departamento de Alimentos, Universidade Regional de Alimentos, Passo Fundo, RS

**E-mail: thanise066@hotmail.com*

RESUMO – Os compostos bioativos são buscados como terapias alternativas devido às suas propriedades funcionais. A ficocianina, um pigmento proteico, é um composto bioativo com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, hepatoprotetoras, potencial anticâncer, entre outros. Devido à instabilidade da ficocianina em condições adversas, como pH ácido e presença de luz, faz-se necessário a microencapsulação da ficocianina. O objetivo deste estudo foi avaliar a estabilidade antioxidante das microcápsulas durante o armazenamento. A microencapsulação foi realizada por gelificação iônica, seguida de aspersão e liofilização. A estabilidade foi analisada durante cinco semanas de armazenamento, em temperatura ambiente, através do teor de ficocianina, teor de compostos fenólicos totais e capacidade antioxidante por ABTS. A microcápsula apresentou estabilidade quanto ao teor de ficocianina e de compostos fenólicos totais. No entanto, apresentou redução da capacidade antioxidante a partir da primeira semana. A microencapsulação preservou a ficocianina e a atividade antioxidante, porém ocorreram perdas durante o armazenamento.

Palavras-chave: Armazenamento. Estabilidade. Ficocianina. Microcápsulas.

1 INTRODUÇÃO

A busca por terapias alternativas como o uso de compostos bioativos tem aumentado em diferentes campos, incluindo áreas biomédicas, cosméticas e farmacêuticas, mostrando um crescimento considerável (BAI et al., 2021; MANDAL et al., 2009). Um dos compostos bioativos com grande potencial é a ficocianina. A ficocianina é um pigmento de natureza proteica, característico por sua coloração azul intensa e por suas propriedades funcionais, como propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, hepatoprotetoras, proteção anticâncer, entre outros (PATEL et al., 2005; FERNÁNDEZ-ROJAS et al., 2014; BERTOLIN et al., 2017; LIMA et al., 2018; HSIEH-LO et al., 2019).

Apesar da ficocianina já ser utilizada na indústria alimentícia e nutracêutica, seu uso ainda é limitado devido à sua instabilidade à luz e a outros fatores, como baixos valores de pH, fortes forças iônicas, altas temperaturas e presença de álcool (CHAIKLAHAN et al., 2012; FALKEBORG et al., 2018). Para preservar as propriedades bioativas dos compostos funcionais, utiliza-se o método de microencapsulação, no qual o composto é retido dentro de um material polimérico protetor (DIAS; FERREIRA; BARREIRO, 2015).

O método de encapsulação de gelificação iônica é baseado em interações iônicas entre polímeros carregados de forma oposta (SARAVANAN; RAO, 2010). A qualidade da microencapsulação irá depender do aumento da capacidade de carga, da eficiência do encapsulamento e do rendimento obtido das microesferas (CHAN, 2011). O alginato de sódio é um polímero biodegradável comumente utilizado como material de revestimento, devido à sua facilidade em formar grânulos de gel na presença de íons multivalentes em uma solução sem o uso de solventes orgânicos e em temperatura ambiente (BENAVIDES et al., 2016). Sendo importante a preservação da bioatividade do composto após a microencapsulação. Diante disso, este estudo objetiva avaliar a estabilidade antioxidante das microcápsulas durante o armazenamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Material

A ficocianina (E18200815) utilizada neste estudo foi adquirida da empresa Zhejiang Binmei Biotechnology Co., China. O alginato de sódio foi adquirido da empresa Dinâmica. Todos os reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.2 Métodos

Microencapsulação por gelificação iônica



Para a microencapsulação através de gelificação iônica por aspersão, utilizou-se alginato de sódio como material encapsulante, reticulado com solução de CaCl_2 2,5%, segundo Hadyanto et al. (2017) e Yan et al. (2014). A partir de testes preliminares, a microcápsula foi composta de 1:1 (material encapsulante:ficocianina). As soluções aquosas de alginato de sódio e ficocianina foram preparadas sob agitação por 24h e submetidas à aspersão em atomizador. As microcápsulas atomizadas foram recolhidas em uma solução de cloreto de cálcio, sob agitação, por 30 minutos, para reticulação. Na sequência, as microcápsulas foram separadas da solução através de filtração e foram liofilizadas.

Estabilidade de armazenamento das microcápsulas

As microcápsulas foram armazenadas no escuro, em temperatura ambiente, por cinco semanas. A estabilidade foi analisada, uma vez por semana, através do teor de ficocianina, análise de capacidade antioxidante pelo radical ABTS e compostos fenólicos totais após o rompimento da microcápsula em pH básico (7,4), por 2 h.

Teor de ficocianina

A concentração de ficocianina foi determinada por espectrofotometria, utilizando a Equação 1, conforme Ge et al. (2009).

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

Compostos fenólicos totais

O conteúdo total de polifenóis dos extratos foi determinado baseado no método descrito por Souza e Correia (2012), com modificações. Para realização dos testes, foi utilizada uma diluição apropriada para a concentração da solução, que deverá ser oxidada utilizando 0,5mL de Folin-Ciocalteu. Logo após, a reação foi neutralizada utilizando 1mL de carbonato de sódio 7,5%. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro UV-Vis a 765 nm, após repouso de 60 minutos em ambiente com abrigo de luz. Para quantificação foi empregada uma curva padrão com solução de ácido gálico. O resultado da análise foi expresso como equivalentes de ácido gálico em miligramas por 1 mL de extrato (mg GAE/ mL).

Capacidade antioxidante pelo radical ABTS

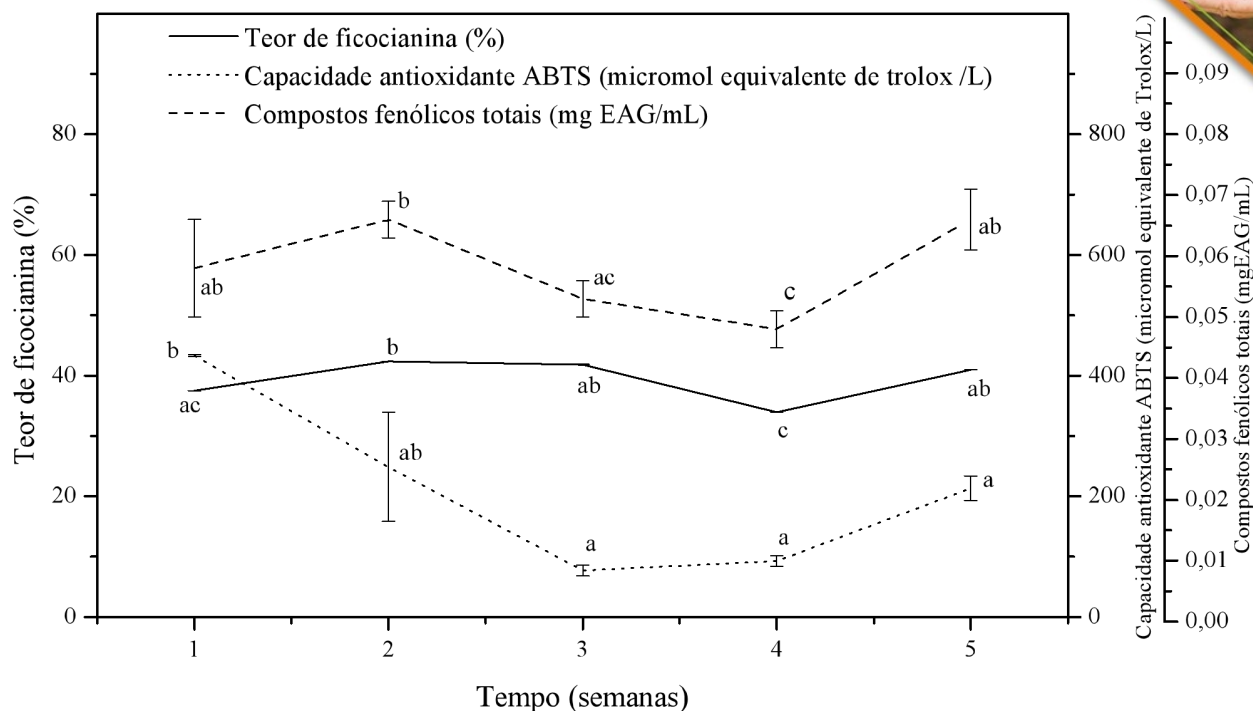
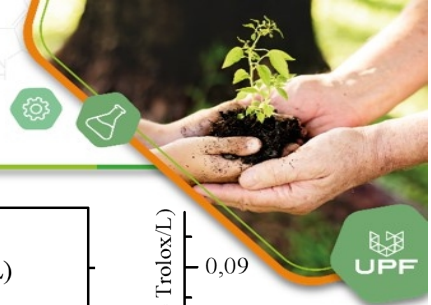
A análise da capacidade antioxidante pelo método do radical ABTS (ácido 2,2'- azinobis-(3-etilbenzotiasolina-6-ácido sulfônico)) baseia-se na metodologia adaptada de Re et al. (1999). Foi preparada uma solução de radical ABTS e persulfato de potássio 1:1, que permaneceu em ambiente escuro, por 16 horas. Posteriormente, foram adicionados 980 μL desta solução com 20 μL de amostra. Após 6 minutos de reação no escuro, a leitura foi realizada em 734 nm com um espectrofotômetro UV-Vis. Para obtenção do resultado foi utilizada uma curva padrão de ácido ascórbico 2 mmol/L e os valores serão expressos em mmol/g amostra.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A microencapsulação apresentou eficiência de $76,19 \pm 1,23$. Segundo Hadyanto et al. (2019), quanto maior a concentração do material encapsulante maior a eficiência de encapsulação. No entanto, pesquisa conduzida por Hadyanto et al. (2017) e Yan et al. (2014) apresentaram eficiência de 71,75% e 53,84%, respectivamente, em microencapsulação utilizando 2,5% de alginato como material encapsulante.

A microencapsulação apresentou retenção da atividade antioxidante, preservando o composto bioativo e sua bioatividade. As microcápsulas apresentaram estabilidade quanto ao teor de ficocianina e quanto aos compostos fenólicos (Figura 1). Houve uma redução significativa da capacidade antioxidante através de ABTS, a partir da terceira semana, com redução de aproximadamente 49%. Segundo Zapata et al. (2021), isso significa que a perda de atividade antioxidante ocorre antes da degradação dos compostos fenólicos totais, quando armazenado em temperatura ambiente.

Figura 1 - Estabilidade das microcápsulas de alginato de sódio carregadas com ficocianina



Fonte: Autora (2021).

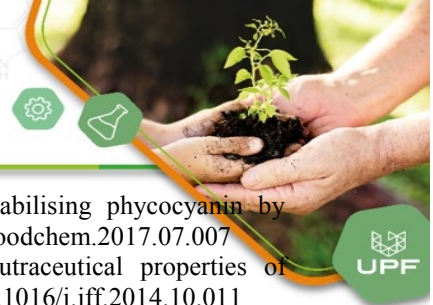
Essas observações indicam que a estrutura do alginato de sódio foi capaz de preservar o teor de ficocianina e evitar danos aos compostos fenólicos durante o armazenamento por cinco semanas, assim como observou também Wang et al. (2014). Segundo Wu et al. (2016), o método de microencapsulação da ficocianina aumenta a estabilidade do composto, já que a estabilidade da ficocianina pode ser afetada pelo pH, temperatura e luz. Além disso, o material encapsulante pode agir também como agente estabilizador, protegendo a estrutura das cadeias proteicas, assim como outros agentes estabilizantes comumente usados, como ácido cítrico, ácido sórbico, cloreto de sódio, ácido ascórbico, entre outros (WU et al., 2016).

4 CONCLUSÃO

A microencapsulação apresentou retenção da ficocianina, bem como a preservação de sua atividade antioxidante, devido a eficiência de microencapsulação. A microcápsula apresentou estabilidade antioxidante durante o armazenamento, mantendo o teor de ficocianina e o teor de compostos fenólicos totais estável, ao longo das cinco semanas estudadas.

5 REFERÊNCIAS

- BAI, R.; YAO, C.; ZHONG, Z.; GE, J.; BAI, Z.; YE, X.; XIE, Y. Discovery of natural anti-inflammatory alkaloids: Potential leads for the drug discovery for the treatment of inflammation. **European Journal of Medicinal Chemistry**, v. 213, 2021.
- BENAVIDES, S.; CORTÉS, P.; PARADA, J.; FRANCO, W. Development of alginate microspheres containing thyme essential oil using ionic gelation. **Food Chemistry**, v. 204, p. 77-83, 2016. DOI: 10.1016/j.foodchem.2016.02.104
- BERTOLIN, T.E.; MACEDO, D.; ORO, T.; BACKES, L.T.H.; BRÁS, I.C.; SANTOS, C.N.; TENREIRO, S.; OUTEIRO, T.F. Phycocyanin protects against Alpha-Synuclein toxicity in yeast. **Journal of Functional Foods**, v. 38, p. 553-560, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2017.09.044>
- CHAIKLAHANA, R.; CHIRASUWAN, N.; BUNNAG, B. Stability of phycocyanin extracted from *Spirulina sp.*: Influence of temperature, pH and preservatives. **Process Biochemistry**, v. 47, n. 4, p. 659-664, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2012.01.010>
- CHAN, E.S. Preparação de contas ca-alginato contendo alto teor de óleo: Influência de variáveis de processo sobre eficiência de encapsulamento e propriedades. **Polímeros de Carboidratos**, v. 84, p. 1267-1275, 2011. DOI: 10.1016/j.carbpol.2011.01.01
- DIAS, M.I.; FERREIRA, I.C.F.R.; BARREIRO, M.F. Microencapsulation of bioactives for food applications. **Food Funct.**, v. 6, p. 1035-1052, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1039/c4fo01175a>



- FALKEBORG, M.F.; RODA-SERRAT, M.C.; BURNAES, K.L.; NIELSEN, A.L.D. Stabilising phycocyanin by anionic micelles. **Food Chemistry**, v. 239, p. 771-780, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2017.07.007>
- FERNÁNDEZ-ROJAS, B.; HERNÁNDEZ-JUÁREZ, J.; PEDRAZA-CHAVERRI, J. Nutraceutical properties of phycocyanin. **Journal of Functional Foods**. V. 11, p. 375-392, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2014.10.011>
- GE, X.; WAN, Z.; SONG, N.; FAN, A.; WU, R. Efficient methods for the extraction and microencapsulation of red pigments from a hybrid rose. **J. Food Eng.**, v. 10, p. 122-128, 2009.
- HADIYANTO; SUZERY, M.; SETYAWAN, D.; MAJID, D.; SUTANTO, H. Encapsulation of Phycocyanin-Alginate for High Stability and Antioxidant Activity. **IOP Conf. Series: Earth and Environmental Science**, v. 55, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/55/1/012030>
- HSIEH-LO, M., CASTILLO G., OCHOA-BECERRA, M. A., MOJICA, L. Phycocyanin and phycoerythrin: Strategies to improve production yield and chemical stability. **Algal Research**, v. 42, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101600>
- LIMA, G.M.; TEIXEIRA, C.N.; TEIXEIRA, C.M.L.L.; FILÓCOMO, D.; LAGE, C.L.S. Influence of spectral light quality on the pigment concentrations and biomass productivity of *Arthrospira platensis*. **Algal Research**, v. 31, p. 157-166, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.02.012>
- MANDAL, S.; HAZRA, B.; SARKAR, R.; BISWAS, S.; NRIPENDRANATH. Hemidesmus indicus, an age-old plant: Study of its in vitro Antioxidant and free radical scavenging potentials. **Pharmacologyonline**, v. 1, p. 604-617, 2009.
- 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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.pep.2004.10.028>
- RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radic Biol Med.**, 1999. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0891-5849\(98\)00315-3](https://doi.org/10.1016/s0891-5849(98)00315-3)
- SARAVANAN, M.; RAO. Pectin-gelatin and alginate-gelatin complex coacervation for controlled drug delivery: Influence of anionic polysaccharides and drugs being encapsulated on physicochemical properties of microcapsules. **Carbohydrate Polymers**, v. 80, p. 808-816, 2010. DOI: [10.1016/j.carbpol.2009.12.036](https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2009.12.036)
- WANG, S.; SU, R.; NIE, S.; SUN, M.; ZHANG, J.; WU, D.; MOUSS-MOUSTAID, N. Application of nanotechnology in improving bioavailability and bioactivity of diet-derived phytochemicals. **Journal of Nutritional Biochemistry**, v. 25, n. 4, p. 363-376, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2013.10.002>
- WU, H. L.; WANG, G. H.; XIANG, W. Z.; LI, T.; HE, H. Stability and antioxidant activity of food-grade phycocyanin isolated from *Spirulina platensis*. **International Journal of Food Properties**, v. 19, p. 2349-2362, 2016.
- WU, H. L.; WANG, G. H.; XIANG, W. Z.; LI, T.; HE, H. Stability and antioxidant activity of food-grade phycocyanin isolated from *Spirulina platensis*. **International Journal of Food Properties**, v. 19, p. 2349-2362, 2016.