

## Área: Tecnologia de Alimentos

# AVALIAÇÃO DAS PROPRIEDADES SECUNDÁRIAS DAS PROTEÍNAS DE *Spirulina platensis* POR FTIR

Anne Luize Lupatini<sup>1\*</sup>, Larissa O. Bispo<sup>2</sup>, Lizana Emanuele S. Souza<sup>2</sup>, Elizandra Sehn<sup>3</sup>,  
Cristiane Canan<sup>1</sup>, Eliane Colla<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Medianeira, PR

<sup>2</sup> Departamento de Alimentos, Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Medianeira, PR

<sup>3</sup> Programa de Pós-graduação em Tecnologias Ambientais, Universidade Tecnológica Federal do Paraná,  
Medianeira, PR

\*E-mail: [annelupatini@yahoo.com.br](mailto:annelupatini@yahoo.com.br)

**RESUMO** – Entre as microalgas, a *Spirulina platensis* é muito valorizada pelo seu alto conteúdo proteico, contendo entre 60 a 70% deste componente, além de poder ser considerada uma fonte não convencional deste nutriente. Contudo, ainda existem poucos dados científicos referentes à caracterização da fração proteica desta microalga. Neste contexto, a técnica de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) pode quantificar as estruturas secundárias de proteínas, sendo estas informações obtidas a partir da análise da amina I. Desta forma, o intuito deste estudo foi alcançar maiores informações sobre as proteínas componentes do concentrado proteico de *S. platensis* obtido por extração alcalina assistida por ultrassom e agitação mecânica. Conforme os resultados verificou-se que a partir da técnica de FTIR foi possível identificar as proteínas secundárias presentes no concentrado proteico de *S. platensis* assim como na sua biomassa e, relacionar sua estrutura com algumas propriedades funcionais esta proteína pode apresentar. Assim, é possível destacar a importância das proteínas de *S. platensis*, tanto nutricional como tecnologia, possuindo grande potencial para aplicação industrial.

**Palavras-chave:** Estrutura secundária de proteínas; identificação de parâmetros espectrais; potencial microalgal.

## 1 INTRODUÇÃO

O consumo de microalgas na alimentação humana ocorre há séculos, contudo seu cultivo de iniciou há poucas décadas (PRIYADARHANI; RATH, 2012), com a justificativa principal de utilização como fonte de proteína unicelular ou *single cell protein*, devido ao fato de pesquisadores, nas décadas de 60 e 70, haverem mencionado a possibilidade de falta de alimento devido ao crescimento exponencial da população da terra (UGALDE; CASTRILLO, 2002). Neste contexto, a *Spirulina platensis* vem recebendo muita atenção pelos pesquisadores, além do seu elevado percentual proteico (60 a 70% em peso seco), pode apresentar apreciáveis propriedades funcionais as quais podem contribuir durante e/ou após o processamento de alimentos (BENELHADJ et al., 2016).

A análise de parâmetros espectrais utilizando espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) permite a quantificação das estruturas secundárias; na região do infravermelho, as frequências de bandas correspondentes às vibrações amina I, II e III são sensíveis à estrutura secundária das proteínas, sendo a banda da amina I a mais sensível às alterações na estrutura secundária (MIYAZAWA; BLOUT, 1961; KRIMM, 1962). As conformações  $\alpha$ -hélice e  $\beta$ -folha são as principais estruturas secundárias em proteínas, sendo que devido a sua constituição por aminoácidos polares e apolares, a  $\alpha$ -hélice possui características anfífilas, podendo contribuir com as propriedades emulsificantes da proteína e, a  $\beta$ -folha por ser construída por aminoácidos hidrofóbicos, podem favorecer a maior estabilidade da proteína a altas temperaturas (NELSON; COX, 2002).

Estas evidências, aliadas a necessidade de suprir informações sobre as proteínas de *S. platensis*, as tornam um importante objeto de estudo de diversas áreas de investigação científica. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi determinar as propriedades secundárias das proteínas da biomassa e do concentrado proteico de *S. platensis* obtido por extração alcalina assistida por ultrassom e agitação mecânica, através da identificação dos parâmetros espectrais utilizando FTIR.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Matéria-prima e reagentes

A biomassa inativa da microalga *S. platensis* LEB 52 (Costa et al., 2000) foi cedida pela Universidade de Passo Fundo (UPF), sendo obtida a partir de cultivos realizados em planta piloto, em tanques abertos de 3.000 L do tipo *raceways*. Todos os reagentes químicos utilizados foram obtidos de procedências comerciais distintas, com alto grau de pureza (PA).

### 2.2 Obtenção do concentrado proteico de *S. platensis*

O processo de extração proteica foi realizado conforme Lupatini et al. (2017); primeiramente a biomassa de *S. platensis* foi submetida a extração lipídica em um extrator *Soxhlet* (AOAC, 1998) utilizando hexano como solvente, em seguida realizou-se a suspensão da biomassa desengordurada em água ultra pura (30 g.L<sup>-1</sup>) e o pH foi ajustado para 9,0; a suspensão foi submetida a um banho ultrassom (37 kHz de frequência, 100% de amplitude, 30 °C, 35 min) e posteriormente à agitação mecânica (80 rpm, 30 °C, 50 min). Por fim, a suspensão foi centrifugada para separação das fases (7493 g, 25 °C, 15 min). O CPSP foi obtido por precipitação; o sobrenadante coletado no processo de extração teve seu pH ajustado para 3,0, ponto isoelétrico das proteínas de *S. platensis* (CHRONAKIS et al., 2000). A amostra permaneceu por 30 min em temperatura de refrigeração (10 °C), seguido de centrifugação (Hettich Routine, 420R, Alemanha) (7493 g, 25 °C, 15 min). O precipitado coletado foi lavado três vezes com água ultra pura e neutralizado (pH 7,0). Finalmente, a amostra foi congelada a -18 °C e liofilizada (Labconco, FreeZone, EUA) em pressão absoluta menor que 0,8 mBar (40 °C, 48h).

## 2.3 Identificação de parâmetros espectrais

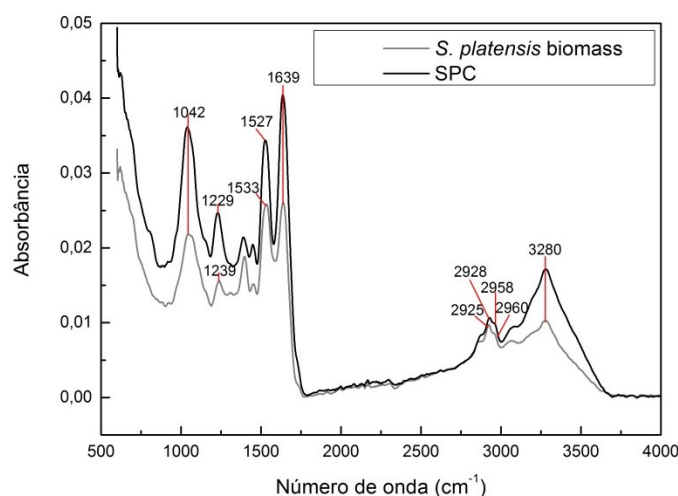
A análise da estrutura proteica do concentrado proteico de *S. platensis* foi realizada pela técnica de FTIR. O concentrado proteico liofilizado foi submetido à análise em espectrômetro de infravermelho com transformada de Fourier (PerkinElmer, FT-IR Spectrum 100S, Estados Unidos) acoplado com o acessório de reflexão total atenuada (ATR), no intervalo de número de onda de 600–4000  $\text{cm}^{-1}$ .

As estruturas secundárias das proteínas de *S. platensis* foram avaliadas por meio de deconvolução da região de interesse (1800 – 1500  $\text{cm}^{-1}$ , correspondente à região da amina I), por meio da segunda derivativa e do *curve-fitting* (ajuste das curvas por deconvolução espectral). Os picos foram ajustados e a área medida por funções gaussianas tendo sido observados os centros e áreas dos mesmos. O ajuste dos dados experimentais foram tratados com o programa OriginPro 7.0 (OriginLab Corporation, EUA).

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Figura 1 estão ilustrados os espectros de FTIR da biomassa e do concentrado proteico de *S. platensis*. Em ambos os espectros é possível identificar bandas características de proteínas; em 1639  $\text{cm}^{-1}$  as duas amostras apresentaram o pico de maior intensidade, característico do grupamento amina I, o qual é atribuído devido ao estiramento da ligação C=O da ligação peptídica (HARIS; SEVERCAN, 1999). Esta estrutura presente na molécula proteica permite interação com a água por ligações de hidrogênio, proporcionando um melhor desempenho das propriedades funcionais das proteínas, em especial capacidade de absorção de água e formação de gel (NELSON; COX, 2002). Também, foi possível identificar a banda da amina II (1533 e 1527  $\text{cm}^{-1}$  para biomassa e para o concentrado de *S. platensis*, respectivamente) que é decorrente, principalmente, do estiramento C–N juntamente com N–H. O estiramento vibracional das ligações C–N e as flexões entre N–H, são característicos da amina III que pode ser identificada pela banda 1239  $\text{cm}^{-1}$  (HARIS; SEVERCAN, 1999).

**Figura 1.** Espectros de FTIR da biomassa e do concentrado proteico de *S. platensis*.

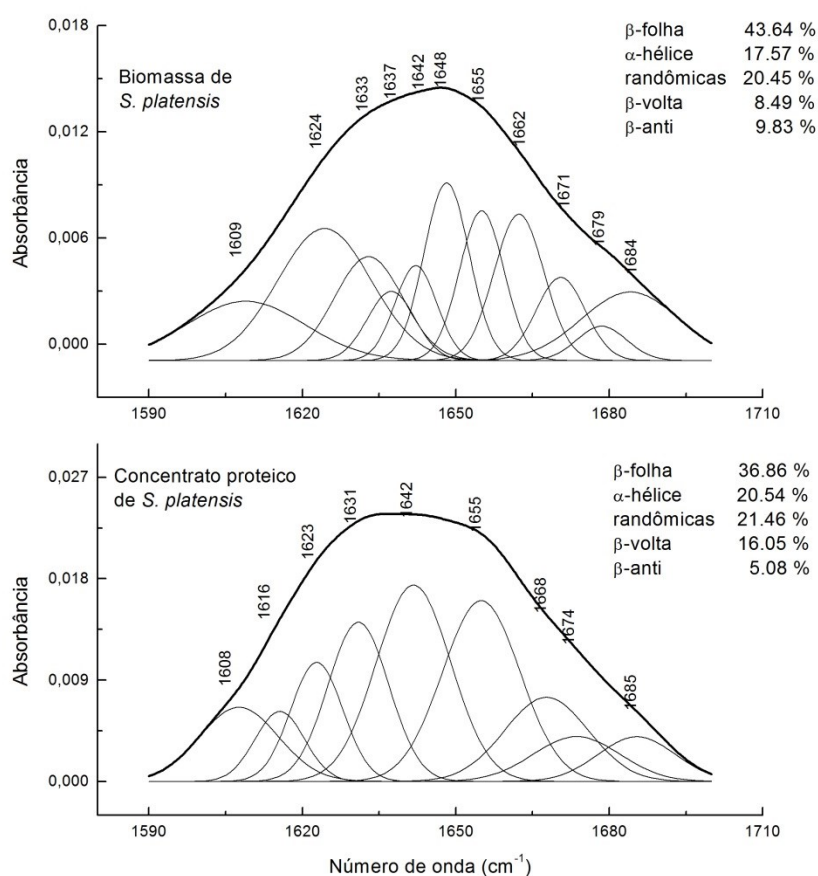


Outras bandas de alta intensidade visualizadas em 2928 e 2958  $\text{cm}^{-1}$  para biomassa e 2925 e 2960  $\text{cm}^{-1}$  para o concentrado proteico de *S. platensis* ocorreram devido ao estiramento da ligação C–H e, a banda em 3280

$\text{cm}^{-1}$  é resultado da deformação axial de N-H, bandas geralmente presentes na região da anina II (SILVERSTEIN et al., 2007). De acordo com Xin et al. (2014), a área de absorvância de carboidratos apresenta semelhanças com as bandas de absorção das proteínas, podendo destacar que a banda em  $1042 \text{ cm}^{-1}$  possivelmente esta relacionada à presença de carboidratos totais nas amostras avaliadas.

Os resultados obtidos por meio das análises de *curve-fitting* revelaram quais as estruturas secundárias, e seus respectivos percentuais, presentes na biomassa e no concentrado proteico de *S. platensis* (Figura 2). Para determinação das bandas pertencentes aos diferentes grupos das estruturas secundarias, levaram-se em consideração os intervalos para proteína do leite  $\beta$ -lactoglobulina (LI; MA; NGADI, 2013).

**Figura 2.** *Curve-fitting* por meio da segunda derivativa da região amina I da biomassa e do concentrado proteico de *S. platensis*.



A estrutura secundária predominante nas duas amostras foi a  $\beta$ -folha (43,64 e 36,86% para biomassa e para o concentrado proteico, respectivamente), sendo que a presença desta estrutura promove o aumento da estabilidade da proteína à altas temperaturas. A  $\alpha$ -hélice apresentou maior percentual no concentrado proteico que na biomassa, provavelmente favorecendo o concentrado proteico com melhores propriedades emulsificantes. Segundo Jiang et al. (2014), o tratamento com ultrassom é capaz de afetar as estruturas secundárias e terciárias das proteínas, melhorando a solubilidade proteica devido à ruptura das interações hidrofóbicas e ao movimento molecular; este fato justifica as alterações nas estruturas secundarias da biomassa e do concentrado proteico de *S.*

*platensis*, onde a diminuição no percentual de  $\beta$ -folha e o aumento de  $\alpha$ -hélice estão diretamente relacionados com a solubilidade proteica.

## 4 CONCLUSÃO

Além das diversas qualidades nutricionais que as proteínas de *S. platensis* podem apresentar, suas propriedades químicas e funcionais também são de extrema importância visando sua aplicação industrial. De acordo com os resultados obtidos pela técnica de FTIR foi possível identificar as proteínas secundárias presentes na biomassa e no concentrado proteico de *S. platensis*, verificando-se que estas estruturas proteicas foram alteradas com o processo de extração; ocorreu uma redução de  $\beta$ -folha e um aumento de  $\alpha$ -hélice, sendo que esta modificação está diretamente relacionada com a solubilidade das proteínas, garantindo a possibilidade do concentrado proteico apresentar resultados mais apreciáveis para algumas propriedades funcionais, tais como capacidade emulsificante e gelificante.

## 5 AGRADECIMENTOS

Ao CNPq pelo suporte financeiro acordo 445806/2014-1, a UPF pela doação da biomassa de *S. platensis*, a CAPES pela bolsa de mestrado do primeiro autor e, a UTFPR.

## 6 REFERÊNCIAS

- BENELHADJ, S.; GHARSALLAOUI, A.; DEGRAEVE, P.; ATTIA, H.; GHORBEL, D. Effects of pH on the functional properties of *Arthrospira (Spirulina) platensis* protein isolate. **Food Chemistry**, v. 196, p. 1056-1063, 2016.
- CHRONAKIS, I. S., GALATANU, A. N., NYLANDER, T; LINDMAN, B. The behaviour of protein preparations from blue-green algae (*Spirulina platensis* strain *Pacifica*) at the air/water interface. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 173, p. 181-192, 2000.
- COSTA, J. A. V.; LINDE, G. A.; ATALA, D. I. P.; MIBILELI, G. M.; KRÜGER, R. T. Modelling of growth conditions for cyanobacterium *Spirulina platensis* in microcosms. **World Journal of Microbiology Biotechnology**, v. 16, p. 15-18, 2000.
- HARIS, P. I.; SEVERCAN, F. FTIR spectroscopic characterization of protein structure in aqueous and non-aqueous media. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, v. 7, p. 201-221, 1999.
- JIANG, L.; WANG, J.; LI, Y.; WANG, Z.; LIANG, J.; WANG, R.; CHEN, Y.; MA, W.; QI, B.; ZHANG, M. Effects of ultrasound on the structure and physical properties of black bean protein isolates. **Food Research International**, v. 62, p. 595-601, 2014.
- LI, M.; MA, Y.; NGADI, M. O. Binding of curcumin to  $\beta$ -lactoglobulin and its effect on antioxidant characteristics of curcumin. **Food Chemistry**, v. 141, p. 1504-1511, 2013.

LUPATINI, A. L.; BISPO, L. O.; COLLA, L. M.; COSTA, J. A. V.; CANAN, C.; COLLA, E. Protein and carbohydrate extraction from *S. platensis* biomass by ultrasound and mechanical agitation. **Food Research International**, v.99, p. 1028-1035, 2017.

MIYAZAWA, T.; BLOUT, E. R. The infrared spectra of polypeptides in various conformations: Amide I and II bands. **Journal of the American Chemical Society**, v. 83, p.712-719, 1961.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Lehninger princípios de bioquímica**. 3 ed. São Paulo: Sarvier Editora de Livros Médicos LTDA, 2002.

PRIYADARSHANI, I.; RATH, B. Commercial and industrial applications of micro algae – A review. **Journal of Algal Biomass Utilization**, v. 3, p. 89-100, 2012.

SILVERSTEIN, R. M.; WEBSTER, F. X.; KIEMLE, D. J. **Identificação espectrométrica de compostos orgânicos**. 7 ed. Rio de Janeiro: LTC, 2007.

UGALDE, U. O.; CASTRILLO, J. I. Single cell proteins from fungi and yeasts. **Applied Mycology and Biotechnology**, v. 2, p. 123-149, 2002.

XIN, H.; ZHANG, Y.; WANG, M.; LI, Z.; WANG, Z.; YU, P. Characterization of protein and carbohydrate mid-IR spectral features in crop residues. **Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy**, v. 129, p. 565-571, 2014.