

ATIVIDADE ANTIOXIDANTE UTILIZANDO O SISTEMA -CAROTENO/ÁCIDO LINOLÉICO DE EXTRATOS FENÓLICOS DE MICROALGAS

ASSIS, Letícia M¹; MACHADO, Adriana R¹; SANTANA, Bianca P²; BADIALE-FURLONG, Eliana¹; SOUZA-SOARES, Leonor.A¹

¹Universidade Federal do Rio Grande - leticiamassis@gmail.com / leonor.souzasoares@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas

1. INTRODUÇÃO

Microalgas são micro-organismos fotossintéticos com requerimentos nutricionais relativamente simples e cuja biomassa pode ser empregada para a obtenção de biocompostos (ANDRADE; COSTA, 2008). Os estudos com produtos naturais marinhos tornam-se atrativos devido à presença de metabólitos secundários estruturalmente muito diferentes dos encontrados em plantas terrestres, com combinações de grupos funcionais pouco comuns. As algas apresentam a vantagem sobre os demais organismos marinhos de apresentarem uma maior facilidade de obtenção. Dentre as microalgas que podem ser utilizadas como fonte de compostos bioativos de interesse estão a *Spirulina platensis* e a *Chlorella vulgaris*. A *Spirulina* é uma microalga amplamente estudada e utilizada para diversos fins, devido as suas características nutricionais importantes. Em sua composição destacam-se os altos teores de proteínas (64-74%), ácidos graxos poli-insaturados e vitaminas, além de compostos antioxidantes (COLLA et al., 2007) como os compostos fenólicos (ácidos caféico, clorogênico, salicílico, sináptico e trans-cinâmico), tocoferol e pigmentos como carotenóides, ficocianina e clorofila (PARISI, 2009; AMBROSI, 2008). Essa microalga é classificada como GRAS (Generally Recognized as Safe) pelo FDA (Food and Drug Administration), o que garante seu uso como alimento sem riscos à saúde. *Chlorella* é uma microalga verde unicelular do grupo das clorofíceas, encontrada tanto em água doce como em ambiente marinho, sendo amplamente utilizada como suplemento alimentar. É uma fonte valiosa de nutrientes e exibe uma notável diversidade de propriedades fisiológicas e bioquímicas (KRALOVEC, 2005).

Antioxidantes são substâncias que retardam as reações de degradação oxidativa, ou seja, reduzem a velocidade da oxidação por um ou mais mecanismos. Em geral, para prolongar a estabilidade no armazenamento de alimentos, antioxidantes sintéticos são utilizados no processamento industrial, como BHT e BHA, no entanto, de acordo com algumas evidências, estes podem causar efeitos carcinogênicos no organismo. A indústria de alimentos está buscando o uso de agentes naturais antioxidantes isolados de plantas, fungos e algas marinhas, para substituir os sintéticos. Entre os antioxidantes naturais destacam-se o ácido ascórbico, vitamina E, e -caroteno. A avaliação da atividade antioxidante pode ser realizada por meio espectrofotométrico baseado na descoloração ou oxidação do -caroteno induzida pelos produtos de degradação oxidativa de um ácido graxo, como o ácido linoléico. O objetivo do trabalho foi avaliar a influência do solvente na atividade antioxidante, utilizando o sistema -caroteno/ácido linoléico, em extratos fenólicos de *S. platensis* e *C. vulgaris*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Obtenção das microalgas

A biomassa da microalga *S. platensis* foi fornecida pelo Laboratório de Engenharia Bioquímica, FURG, (LEB, cepa-18) isolada da lagoa Mangueira, RS, Brasil, (MORAIS et al, 2008) e suplementada com 20% do meio Zarrouk (COSTA et al., 2004). A biomassa seca foi triturada em moinho de bolas e peneirada para se obter a granulometria das partículas em 88µm. A microalga *C. vulgaris* foi adquirida no comércio local, em forma de pó fino, com tamanho da partícula de 125µm.

Preparo dos extratos

Para o preparo dos extratos utilizou-se 3 g da biomassa das microalgas e 75 mL dos solventes metanol e etanol. A extração foi realizada em incubadora com agitação orbital a 230 rpm, a 35 °C, por 2 h, seguido da centrifugação a 5000 G por 15 min, filtração, evaporação em evaporador rotatório a 70 °C e solubilização em água destilada. O extrato foi clarificado com 20 ml de hidróxido de bário 0,1M e 20 ml de sulfato de zinco 5%, filtrado e ajustado o volume com água destilada para 100 mL em balão volumétrico. Para a quantificação dos compostos fenólicos foi construída uma curva analítica com uma solução padrão de ácido gálico na concentração de 10 a 100 µg/mL e medida a absorvância das soluções a 750 nm.

Determinação da atividade antioxidante utilizando o sistema - caroteno/ácido linoléico

Este método foi originalmente descrito por MARCO (1968) e posteriormente modificado por MILLER (1971). Para o preparo da mistura reativa, adicionou-se 27 µL de ácido linoléico, 0,1 mL de Tween 80, 1 mL de solução de -caroteno a 5 mg/mL em clorofórmio. Posteriormente, a mistura foi submetida à completa evaporação do clorofórmio em evaporador rotatório à 50 °C. A esta mistura isenta de clorofórmio, adicionou-se 50 mL de água deionizada e agitou-se vigorosamente para formar uma emulsão. A mistura reativa, assim preparada, apresentou-se límpida com absorvância entre 0,6 e 0,7 a 470 nm. Paralelamente, foi realizado um controle utilizando 27 µL de ácido linoléico, 0,1 ml de Tween 80 e 50 mL de água deionizada. Para as reações, adicionaram-se 5 mL da emulsão em tubos de ensaio contendo 0,5 mL dos extratos e a absorvância foi medida a 470 nm no tempo zero e em intervalos de 15 min até completar 120 min. Em cada tempo de leitura foi verificado a absorvância da amostra e do controle. A queda da absorvância das amostras (A_{am}) foi correlacionada com a queda do controle (A_c), obtendo-se a porcentagem da atividade antioxidante (%AA) através das equações:

$$A_c = Abs_{inicial} - Abs_{final}$$
$$A_{am} = Abs_{inicial} - Abs_{final}$$
$$\%AA = A_c / A_{am} \times 10$$

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

O teor de compostos fenólicos totais dos extratos metanólicos e etanólicos das microalgas *Spirulina* e *Chlorella* estão apresentados na Tabela 1. A curva padrão de ácido gálico obtida foi: $y = 0,0341x$ com $R^2 = 0,994$ e os resultados foram expressos em mg de fenóis totais.g⁻¹de biomassa.

Tabela 1. Fenóis totais dos extratos etanólicos e metanólicos das microalgas *Spirulina platensis* e *Chlorella vulgaris*.

Microalga	mg de fenóis.g ⁻¹ de biomassa	
	Etanol	Metanol
<i>Spirulina platensis</i>	0,59	1,06
<i>Chlorella vulgaris</i>	0,35	0,43

Os percentuais de atividade antioxidante (%AA) utilizando o sistema β -caroteno/ácido linoléico dos extratos etanólicos e metanólicos de *S. platensis* e *C. vulgaris* estão apresentadas na Tabela 2.

Tabela 2. Percentual de atividade antioxidante dos extratos etanólicos e metanólicos das microalgas *Spirulina platensis* e *Chlorella vulgaris*

Microalga	% AA	
	Etanol	Metanol
<i>Spirulina platensis</i>	26,61	29,20
<i>Chlorella vulgaris</i>	48,79	37,96

As curvas de decréscimo da absorbância utilizando o sistema β -caroteno/ácido linoléico dos extratos etanólicos e metanólicos de *S. platensis* e *C. vulgaris* estão apresentadas nas Figuras 1 e 2, respectivamente.

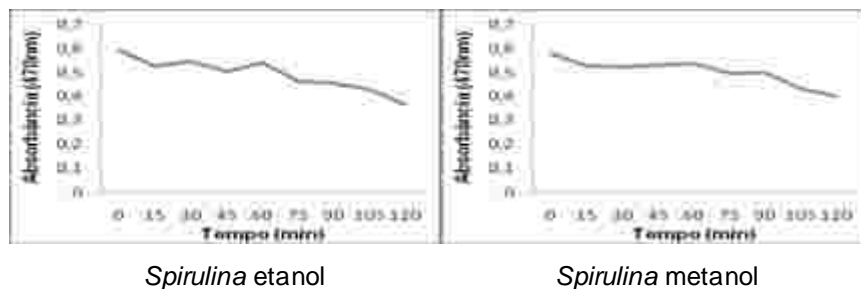


Figura 1. Decréscimo da absorbância dos extratos etanólicos e metanólicos de *Spirulina platensis*

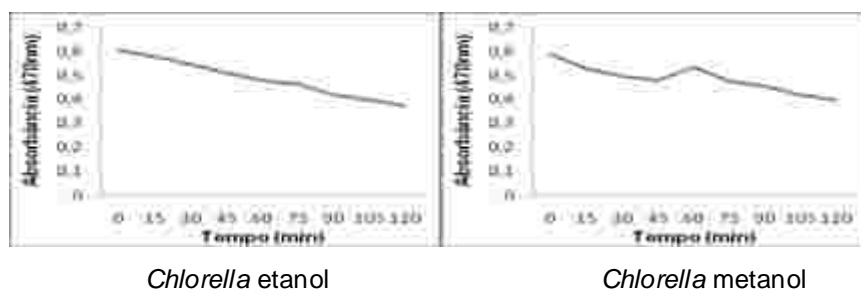


Figura 2. Decréscimo da absorbância dos extratos etanólicos e metanólicos de *Chlorella vulgaris*

Para a microalga *Spirulina* pode-se verificar a atuação dos compostos fenólicos como antioxidantes, pois os maiores teores destes compostos foram obtidos no extrato metanólico e este também apresentou maior capacidade de inibir os produtos da oxidação do ácido linoléico. No entanto, esta correlação não foi positiva para a microalga *Chlorella*. A atividade antioxidante baseia-se na reação dos radicais livres do ácido linoléico atacando os modelos de β -caroteno altamente insaturados. A presença de diferentes antioxidantes pode impedir o

ataque ao β -caroteno, clareando, por neutralização, os radicais livres do linoleato e outros radicais livres formados no sistema. RODRIGUEZ-GARCIA (2008) obteve a maior atividade antioxidante usando o sistema β -caroteno/ácido linoléico para extratos etanólicos de *Chlorella*, comparado a duas outras microalgas (*Porphyridium cruentum*, *Porphyridium tricorutum*), e atribuiu aos altos teores de ácido graxos poli-insaturados presentes na microalga.

4. CONCLUSÕES

Para a microalga *S. platensis* o metanol apresentou-se mais eficiente na extração de compostos responsáveis pela inibição da peroxidação lipídica, utilizando o sistema β -caroteno/ácido linoléico, comparado ao etanol. No entanto, para a microalga *C. vulgaris* o etanol mostrou-se mais eficiente para este objetivo.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AMBROSI, M.A.; REINEHR, C.O.; BERTOLIN, T.E.; COSTA, J.A.V.; Colla, L.M. Propriedades de saúde de *Spirulina spp.* **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v.29, n.2, p.109-117, 2008.
- ANDRADE, M.R.; COSTA, J.A.V. Cultivo da microalga *spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. **Ciência e Agrotecnologia**, v.32, n.5, p.1551-1556, 2008.
- COLLA, L. M.; REINEHR, C. O.; REICHERT, C.; COSTA, J.A. V. Production of biomass and nutraceutical compounds by *Spirulina platensis* under different temperature and nitrogen regimes. **Bioresource Technology**, v.98, n.7, p.1489-1493, 2007.
- COSTA, J.A.V.; COLLA, L.M.; DUARTE-FILHO, P.F. Improving *Spirulina platensis* biomass yield using a fed-batch process. **Bioresource Technology**, v.92, p.237 – 241, 2004
- KRALOVEC, J.A.; POWER, M.R.; LIU, F.; MAYDANSKIB, E.; EWARTA, H.S.; WATSONA, L.V.; BARROWA, C.J. LIN, T.J. An aqueous *Chlorella* extract inhibits IL-5 production by mast cells in vitro and reduces ovalbumin-induced eosinophil infiltration in the airway in mice in vivo. **International Immunopharmacology**, v.5, p. 689–698, 2005
- MARCO, G.J. A rapid method for evaluation of antioxidants. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 45, p. 594-598, 1968.
- MILLER, H.E. A simplified method for the evaluation of antioxidant. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.48, p.91, 1971
- MORAIS M. G., COSTA J. A. V. Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 32, p. 1245-1251, 2008
- PARISI, A.S.; YOUNES, S.; REINEHR, C.O.; COLLA, L.M.. Avaliação da atividade antibacteriana da microalga *Spirulina platensis*. **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada**, v. 30, n.3, p.297-301, 2009.
- RODRIGUEZ-GARCIA, I.; GUIL-GUERRERO, J.L. Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. **Food Chemistry**, v.108, p.1023–1026, 2008.

Agradecimentos: CAPES, UFPEL