

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIOXIDANTE DA FICOCIANINA EM SISTEMA LIPÍDICO ÓLEO DE SOJA E AZEITE DE OLIVA

Fernanda Taís SOUZA*
Ana Cláudia MARGARITES*
Luciane Maria COLLA*
Jorge Alberto Vieira COSTA**
Telma Elita BERTOLIN*

■**RESUMO:** Objetivou-se avaliar o potencial antioxidante da ficocianina, frente a peroxidação lipídica dos sistemas lipídicos óleo de soja e azeite de oliva. A ficocianina é uma ficobiliproteína extraída de algas verde-azuladas como a *Spirulina platensis*. Esta proteína apresenta três grupos cromogênicos (tetrapirrólicos lineares) por unidades monoméricas, que possuem uma estrutura muito similar a da bilirrubina, que é um reconhecido antioxidante endógeno. Para tal, o óleo de soja e o azeite de oliva foram submetidos à oxidação lipídica, através de aquecimento a 80°C durante 11 h, sob aeração constante, em presença e ausência de ficocianina. A ficocianina foi adicionada nas concentrações de 0,5, 1,0 e 1,5%. A oxidação lipídica foi avaliada nos óleos de soja e azeite de oliva através da determinação do índice de peróxidos a cada hora. A análise estatística demonstrou que as concentrações de 0,5% e 1% de ficocianina apresentaram igualdade quanto ao potencial antioxidante tanto para o óleo de soja como para o sistema azeite de oliva e superior potencial antioxidante quando comparadas à concentração de 1,5% de ficocianina.

■**PALAVRAS-CHAVE:** Lipídios; peróxidos; radicais livres; antioxidantes; ficocianina.

INTRODUÇÃO

A oxidação é a principal causa da deterioração de vários produtos biologicamente importantes, alterando diversas propriedades, como qualidade sensorial (sabor, aroma, textura e cor), valor nutricional, funcionalidade e toxidez. Tais mudanças podem ter origem durante a produção, o processamento, a preservação, o armazenamento e o preparo do alimento. Embora a oxidação em geral se inicie na fração lipídica, eventualmente outros componentes são afetados: proteínas, vitaminas e pigmentos.^{2,11}

A oxidação pode ser definida como o processo no qual o oxigênio é adicionado ou o hidrogênio, ou elétrons são removidos. O componente que é reduzido e ganha

elétrons é o oxidante. Em alimentos, o oxidante mais comum é o oxigênio, embora outras substâncias químicas adicionadas ou endógenas possam também servir como oxidante.²

Os óleos comestíveis, por conterem uma grande quantidade de ácidos graxos insaturados, como o oléico, o linoléico e o linolênico, são facilmente oxidados, pois se destacam mais facilmente da fração lipídica,¹³ sendo o número de insaturações nas moléculas correspondentes um fator decisivo para a velocidade da reação.⁶ A oxidação destes ácidos graxos produz diversos compostos, como, aldeídos, cetonas, álcoois e hidrocarbonetos, que são potencialmente tóxicos.¹²

Os antioxidantes são substâncias usadas para preservar alimentos através do retardo da deterioração, rancidez e descoloração decorrente da autooxidação.¹ Para ser empregado em alimentos, o antioxidante, além de ser efetivo em baixa concentração, deve atender aos seguintes requisitos: ser compatível com o substrato; não conferir odor ou sabor estranho ao produto; ser efetivo durante o período de estocagem do produto alimentício; ser estável ao processo de aquecimento, ser facilmente incorporado ao produto.⁹

O interesse pelos antioxidantes naturais teve início nos anos 80 diante da comprovação de efeitos maléficos causados por doses elevadas de Butil Hidroxitolueno (BHT), Butil Hidroxianisol (BHA) e t-Butil Hidroquinona (t-BHQ).⁴

A ficocianina é o principal pigmento da cianobactéria *Spirulina platensis*, podendo chegar a 20% em peso seco. Este pigmento apresenta-se como estimulante ao sistema imunológico, aumentando a contagem de leucócitos⁷ e propriedades antioxidantes, pois é capaz de seqüestrar radicais hidroxil.^{5,11} No presente trabalho objetivou-se verificar a capacidade antioxidante da ficocianina na peroxidação lipídica induzida em óleo de soja e azeite de oliva.

MATERIAIS E MÉTODOS

Para o desenvolvimento do presente trabalho foi utilizado ficocianina comercial na forma de pó. O índice de peróxidos, utilizado para medir a oxidação do óleo de soja e

*Laboratório de Fermentações - Curso de Engenharia de Alimentos - Universidade de Passo Fundo - 99001-970 - Passo Fundo - RS - Brasil.

**Laboratório de Engenharia Bioquímica - Fundação Universidade Federal do Rio Grande - FURG - 96201-900 - Rio Grande - RS - Brasil.

do azeite de oliva comerciais, foi realizado de acordo com o Método de Wheeler.²

Em béquer de 500 mL, foram adicionados 250 mL de óleo de soja e azeite de oliva. Aos sistemas lipídicos foi adicionada ficocianina em pó nas concentrações de 0,5% (Tratamento 1), 1,0% (Tratamento 2) e 1,5% (Tratamento 3). Foi realizado um experimento sem a adição de antioxidantes, denominado Controle. Todos os experimentos foram realizados em triplicata. A cada hora foram coletadas 5 gramas de óleo ou azeite de oliva e determinado o índice de peróxidos. A oxidação foi induzida por meio de aeração proveniente de uma bomba de diafragma (Rebello & Ferreira LTDA, Brasil) e aquecimento a 80°C. O índice de peróxidos foi calculado através da Equação 1.

$$IP = \frac{(V - Vb) \times N}{m} \times 1000 \quad \text{Equação 1}$$

Sendo: Ip = índice de peróxidos,
V = mL de solução de tiosulfato de sódio gastos na titulação do óleo com o extrato,
Vb = mL de solução de tiosulfato de sódio gastos na titulação do branco,
N = normalidade padronizada do tiosulfato de sódio,
m = massa da alíquota retirada.

O potencial antioxidante das diferentes concentrações de ficocianina foi avaliado conforme resultados obtidos para o índice de peróxidos do óleo de soja e do azeite de oliva, sujeito à oxidação na presença e ausência do pigmento antioxidante. Para este cálculo relacionaram-se os valores máximos das curvas de índice de peróxidos versus tempo de oxidação obtidas na presença e ausência de ficocianina. A Equação 2 foi utilizada para o cálculo do potencial antioxidante.

$$Pa = \left(\frac{Ip_o - Ip_{o+a}}{Ip_o} \right) \quad \text{Equação 2}$$

Sendo: Pa = potencial antioxidante,
Ip_o = índice de peróxido do óleo ou azeite de oliva sem antioxidante,
Ip_{o+a} = índice de peróxido do óleo ou azeite de oliva adicionado de antioxidante.

Os resultados de potencial antioxidante foram submetidos a Análise de Variância e teste de Tukey, utilizando o Programa R, versão 2.00 (Core Team), para comparação de médias.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 1 apresenta o gráfico do índice de peróxidos versus tempo de oxidação para o óleo de soja na presença e ausência de antioxidantes.

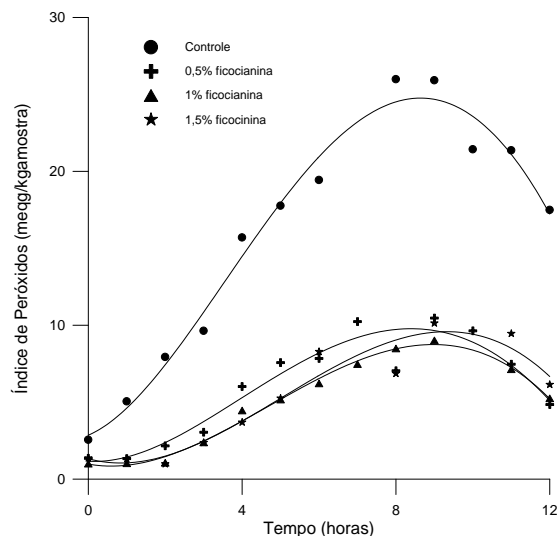


FIGURA 1 - Índice de peróxidos para o tempo de oxidação para o óleo de soja na presença e ausência de ficocianina.

O máximo índice de peróxidos para o óleo de soja foi observado no tempo de 8 hs de oxidação, com valores de 7,84 meq/kg_{amostra} para a concentração de 0,5%, 5,16 meq/kg_{amostra} para a concentração de 1,0%, enquanto que para a concentração de 1,5% foi de 12,94 meq/kg_{amostra}. Quando o óleo de soja foi oxidado na ausência do antioxidante estudado, o índice de formação de peróxidos foi de 17,76 meq/kg_{amostra}. A redução no índice de peróxidos foi maior com a utilização do pigmento ficocianina na concentração de 1%, seguida da concentração de 0,5%.

A Figura 2 apresenta os resultados de índice de peróxidos obtidos durante o processo de oxidação do azeite de oliva na presença e ausência de antioxidantes.

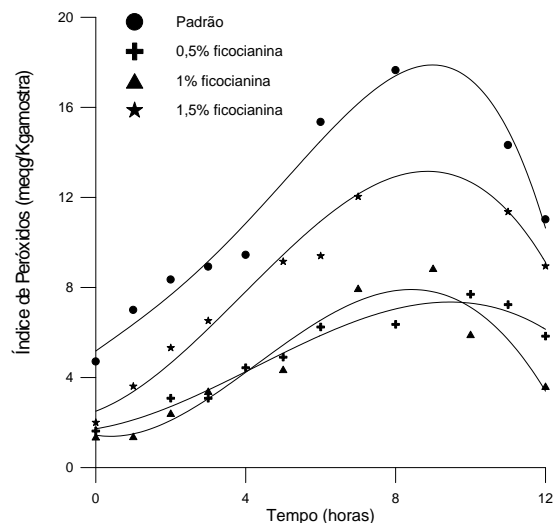


FIGURA 2 - Índice de peróxidos para o tempo de oxidação para o azeite de oliva na presença e ausência de antioxidantes.

Para o azeite de oliva (Figura 2) o máximo índice de peróxido também foi observado em 8 h, com valores 6,24 meq/kg_{amostra} para a concentração de 0,5%, 7,13 meq/kg_{amostra} para 1,0% e 11,81 meq/kg_{amostra} para a concentração de 1,5%. No azeite de oliva oxidado na ausência de ficocianina o índice de formação de peróxidos foi de 18,35 meq/kg_{amostra}. O índice de peróxidos máximo foi maior no azeite de oliva adicionado de 0,5% de ficocianina, seguido das concentrações de 1,0% e 1,5%.

O maior índice de peróxidos foi observado na oxidação do azeite de oliva e óleo de soja puros, sem a presença dos antioxidantes. Em presença do antioxidante ficocianina, observou-se um declínio na formação de peróxidos, evidenciando a atuação do pigmento como antioxidante nas diferentes concentrações avaliadas.

Os potenciais antioxidantes da ficocianina no óleo de soja e azeite de oliva estão apresentados na Tabela 1.

Analisando-se os potenciais antioxidantes (Tabela 1) obtidos para o óleo de soja verifica-se que a ficocianina na concentração de 1,0% apresentou um potencial antioxidante de 89,14%, 1,10 vezes maior que o potencial antioxidante da concentração de 0,5% e 2,29 vezes maior que para a concentração de 1,5%.

Para o potencial antioxidante no azeite de oliva, verifica-se que a ficocianina apresentou melhores resultados para a concentração de 0,5% com redução na formação de peróxidos de 83,96%, 1,05 vezes maior do que a ficocianina

a 1,0%, e 2,3 vezes maior que a concentração de 1,5%.

A análise estatística foi realizada considerando os dados de potencial antioxidante em função das diferentes concentrações de ficocianina. A fim de verificar a diferença entre as concentrações, realizou-se o teste de Tukey, ao nível de significância de 5%. As Tabelas 2 e 3 apresentam as diferenças significativas e não significativas entre as concentrações de ficocianina nos sistemas lipídicos óleo de soja e azeite de oliva, respectivamente, a 95% de confiança.

As Figuras 3 e 4 apresentam a influência da concentração de ficocianina sobre o potencial antioxidante para o tempo de 8 h de oxidação em óleo de soja e azeite de oliva, respectivamente. Verifica-se que as concentrações de 0,5% e 1,0% de ficocianina possibilitaram um maior potencial antioxidante no aquecimento do óleo de soja (Figura 3) e azeite de oliva (Figura 4). Entretanto, os resultados de potencial antioxidante obtidos nestas concentrações do pigmento foram estatisticamente iguais (Tabelas 2 e 3), com níveis de significância de 0,1887 e 0,3632 para o óleo de soja e azeite de oliva, respectivamente.

A concentração de 1,5% de ficocianina apresentou resultados de potencial antioxidante significativamente menores ($p < 0,05$ - Tabela 2 e 3) que os potenciais antioxidantes obtidos para as concentrações de 0,5% e 1,0% do pigmento, tanto para o óleo de soja como para o azeite de oliva.

Tabela 1 - Potencial antioxidante máximo para o óleo de soja e azeite de oliva em presença de ficocianina nas concentrações de 0,5, 1,0 e 1,5 %.

P.A	Ficocianina 0,5%	Ficocianina 1,0%	Ficocianina 1,5%
Óleo de Soja	80,52 ± 0,55	89,14 ± 0,17	38,95 ± 0,82
Azeite de Oliva	83,96 ± 0,81	79,68 ± 0,27	36,62 ± 0,90

P.A= potencial antioxidante.

* Resultados de média ± Desvio Padrão.

Tabela 2 - Níveis de significância estatística (p) entre médias para as diferentes concentrações de ficocianina avaliada no sistema lipídico óleo de soja.

[ficocianina]	0,5%	1,0%	1,5%
0,5%		0,1887	0,0071
1,0%	0,1887		0,0014
1,5%	0,0071	0,0014	

Tabela 3 - Níveis de significância estatística (p) entre médias para as diferentes concentrações de ficocianina avaliada no sistema lipídico azeite de oliva.

[ficocianina]	0,5%	1,0%	1,5%
0,5%		0,3632	0,0063
1,0%	0,3632		0,0018
1,5%	0,0063	0,0018	

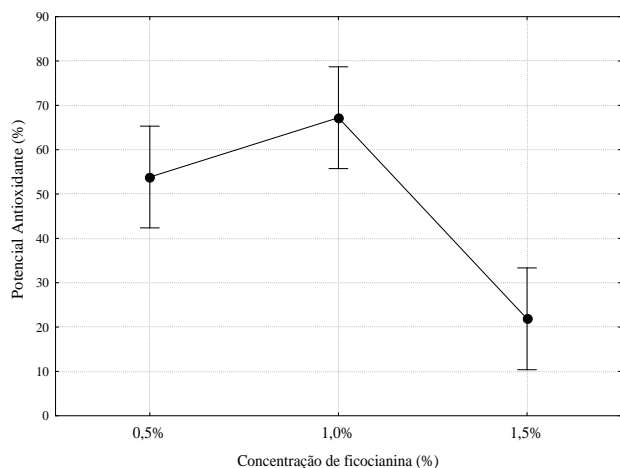


FIGURA 3 - Influência da concentração de ficocianina sobre o potencial antioxidante para o tempo de 8hs de oxidação em óleo de soja.

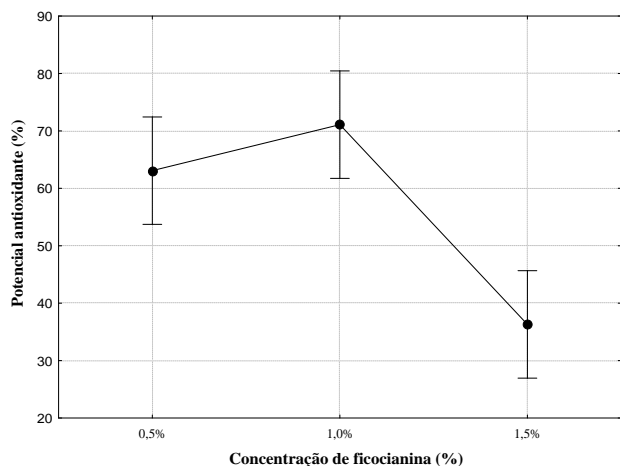


FIGURA 4 - Influência da concentração de ficocianina sobre o potencial antioxidante para o tempo e 8 h de oxidação em azeite de oliva.

O efeito da adição de substâncias antioxidantes, como o óleo de alecrim na estabilidade oxidativa depende do nível de adição deste antioxidante e das características do produto a que ele é adicionado. Contudo, sabe-se que algumas substâncias quando utilizadas em altos níveis, em geral, não apresentam efeito na oxidação de lipídios, e realçam a oxidação de proteínas. A presença de outros antioxidantes, como o tocoferol, pode ter influência sobre a atividade antioxidante, conduzindo a efeitos antioxidantes ou pró-oxidantes, variando conforme a composição de ácidos graxos e a condição oxidativa.¹⁰

Estudos realizados por Duarte³ demonstram que o ácido ascórbico, substância antioxidante, quando utilizado em altas concentrações passa a atuar como pró-oxidante.

Neste estudo, os melhores resultados obtidos para o potencial antioxidante foram para as concentrações mais

baixas (0,5% e 1,0%). A ficocianina quando colocada em contato com sistemas lipídicos formadores de radicais livres, promove uma conjugação que reduz sua parte protéica, o que indica que ocorre interação da mesma com os radicais peroxis. O efeito inibitório da peroxidação lipídica pode estar relacionado com a capacidade da ficocianina em sequestrar radicais hidroxil. Estes radicais podem ser os iniciadores da peroxidação lipídica.¹⁰

A ficocianina apresenta um grande número de insaturações, o que segundo Gray,⁶ está diretamente relacionado ao potencial antioxidante, sendo que, quanto maior o número de insaturações maior será a atuação frente a formação de peróxidos. Hirata et al.,⁸ afirma que a ficocianina apresenta atividade antioxidante em sistemas lipídicos contendo ácido linolênico e também em sistemas aquosos *in vitro*.

A atividade antioxidante da ficocianina na atenuação de radicais hidroxílicos foi também demonstrada por Estrada et al.,⁵ que purificaram e caracterizaram diferentes frações extraídas da microalga *Spirulina platensis*. Os autores concluíram que o principal componente antioxidante da microalga *Spirulina platensis* é a ficobiliproteína ficocianina.

A eficácia do sistema antioxidante depende do tipo de molécula geradora do estresse oxidativo, como também da localização intra ou extracelular dessa molécula. Como exemplo, temos que o dano à membrana celular pode ser mais eficazmente prevenido pela vitamina E, que reage com radicais peroxila e hidroxila, do que pelos carotenóides, que atuam reagindo com o oxigênio singlete.³ A ficocianina, substância de interesse nesse estudo atua mais diretamente no radical hidroxil, assim como o tocoferol, podendo assim ser utilizada para minimizar os danos à membrana celular, inibindo a formação de radicais livres e protegendo a saúde do homem.

CONCLUSÃO

O pigmento ficocianina apresentou potencial antioxidante frente a peroxidação lipídica no óleo de soja e azeite de oliva, podendo minimizar danos celulares e inibir a formação de radicais livres.

As concentrações de 0,5 e 1,0% de ficocianina obtiveram os melhores resultados de potencial antioxidante tanto para o óleo de soja quanto para o azeite de oliva.

SOUZA, F.T.; MARGARITES, A.C.; COLLA, L.M.; COSTA, J.A.V., BERTOLIN, T.E. Evaluation of the antioxidant potential of phycocyanin in soil and olive oils. *Alim. Nutr.*, Araraquara, v.17, n.3 p.275-279, jul./set. 2006.

■ **ABSTRACT:** The objective of this article was to evaluate the antioxidant potential of the phycocyanin, front the lipidis peroxidation of the lipidic systems soy oil and olive oil. The phycocyanin is a ficobiliproteins extracted from the green-bluish algae such as *Spirulina platensis*. This protein presents

three chromogenic groups per monometric unit that has a very similar structure to the bilirubin, which is a recognized endogenous antioxidant substance. For such, the soy oil and the olive oil had been submitted to the lipidic oxidation, by heating at 80°C during 11 h, under constant aeration, in presence and absence of phycocyanin. The phycocyanin was added in concentrations 0.5, 1.0 and 1.5%. The lipidic oxidation was evaluated in soy oil and olive oil by the determination of the peroxide rate each hour. The analysis statistics demonstrated that the concentrations 0.5% and 1.0% of phycocyanin had presented the same antioxidant potential, both to the soy and olive oils system. The 0.5% and 1.0% phycocyanin concentrations showed better antioxidant activity than the 1.5% experiments.

■ **KEYWORDS:** Lipids; peroxid; free radicals; antioxidants; phycocyanin.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADEGOKE, G.O. et al. Antioxidants and lipid oxidation in food: a critical appraisal. **J. Food Sci. Technol.**, v.35, n.4, p. 283-298, 1998.
2. ARAÚJO, J. M. A. **Química de alimentos: teoria e prática**. Viçosa: Imprensa Universitária, 2004. p.145.
3. DUARTE, A. et al. Evaluation of the antioxidant activity using the β -carotene/linoleic acid system and the DPPH scavenging method. **Ciênc. Tecnol. Alim.**, v. 26, n. 2, p 34-40, 2006.
4. DURAN, R.M.; PADILLA, R.B. Actividad antioxidante de los compuestos fenolicos. **Grasas e Aceites**, v.44, n.2, p. 101-106, 1993.
5. ESTRADA, J.E.P.; BESCÓS, P.; VILLAR DEL FRESNO, A.M. Antioxidant activity of different fractions of *Spirulina platensis* protean extract. **II Farmaco**, v.56, p.497-500, 2001.
6. GRAY, J.I. Measurement of lipid oxidation: a review. **J. Am. Oil Chem. Soc.**, Champaing, v.55. p.539-546, 1978.
7. HENRIKSON, R. **Microalga Spirulina** : superalimento del futuro. Barcelona: Urano, 1994. 112p.
8. HIRATA, T. et al. Antioxidant activities of phycocyanobilin prepared from *Spirulina platensis*. **J. Appl. Phycol.**, v.12, p.435-439, 2001.
9. RAJALAKSHMI, D.; NARASIMHAN, S. Food antioxidants: sources and methods of evaluation. In: MADHAVI, D.L.; DESHPANDE, S.S.; SALUNKHE, D.K. (Ed.) **Food antioxidants: technological, toxicological and health perspectives**. New York: Marcel Dekker, p. 65-157. 1995.
10. ROMAY, C. et al. Antioxidants used in oils, fats and fatty foods. **Inflamm. Res.**, v. 47, p. 36-41, 1998.
11. SILVA, F. A. M.; BORGES, M. F.; FERREIRA, M. A. Methods for the evaluation of the degree of lipid oxidation and the antioxidant activity. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 22, n. 1, p.115-232, 1999.
12. SPATZ, L. **Natural antioxidants in human health and disease**. Chicago: Academic, 1994. 230p.
13. WHANG, K.; PENG, I. Photosensitized lipid peroxidation in ground pork and turkey. **J. Food Sci.**, Chicago, v.34, n.7, p. 596-614, 1988.