

## OBTENÇÃO DE LIPOSSOMAS CONTENDO MICROALGA *CHLORELLA PYRENOIDOSA* COMO FONTE PROTEICA

CAROLINA DA S. GRAÇA<sup>1</sup>; ADRIANA R. MACHADO<sup>1</sup>; RAQUEL B. DE OLIVEIRA<sup>1</sup>, ANTÔNIO M. NAVARRETE<sup>1</sup> LETÍCIA M. DE ASSIS<sup>2</sup>; LEONOR A. DE SOUZA SOARES<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Rio Grande – [carolinasgraca@hotmail.com](mailto:carolinasgraca@hotmail.com);  
[adriso@hotmail.com](mailto:adriso@hotmail.com); [leonor.souza-soares@gmail.com](mailto:leonor.souza-soares@gmail.com)

<sup>2</sup>Instituto Federal Sul-Rio-Grandense, Campus Pelotas, Visconde da Graça/COAGRO

### 1. INTRODUÇÃO

As microalgas vêm ganhando grande atenção no cenário mundial, devido a sua importância em pesquisas biotecnológicas. Estudos vêm sendo desenvolvidos em relação a sua utilização na alimentação, na obtenção de diversos compostos com alto valor agregado, como corantes, ácidos graxos e também para biofixar CO<sub>2</sub> (HoLZ *et al.*, 2012). *Chlorella* é uma microalga utilizada como suplemento alimentar, pois possui elevado teor proteico em sua biomassa (50-60%) e grandes quantidades de vitaminas, minerais, fibras dietéticas e ácidos nucleicos.

Com relação à encapsulação, seu principal objetivo é proteger uma substância sensível na cápsula ou na parede, isolando fisicamente o ingrediente do meio ambiente (ASSIS *et al.*, 2012). Como também a encapsulação, tem como vantagem a utilização em alimentos para mascarar odores ou gostos. As aplicações da técnica de encapsulação têm aumentado na indústria alimentar uma vez que os materiais encapsulados podem ser protegidos do calor, umidade ou de outras condições extremas, aumentando assim a sua estabilidade e manter a viabilidade (GIBBS *et al.*, 1999). As principais nanoestruturas utilizadas para encapsulação de substâncias ativas são os lipossomas (LASIC, 1993).

Lipossomas são vesículas esféricas formadas por bicamadas lipídicas com capacidade de incorporar compostos hidrofílicos e hidrofóbicos. Os lipídios mais utilizados nas formulações de lipossomas são os que têm uma forma cilíndrica, como fosfatidilcolinas, fosfatidilserina, fosfatidil glicerol, esfingomiélna, e que são susceptíveis de formar uma bicamada estável em solução aquosa (MACHADO *et al.*, 2014).

Uma importante característica da encapsulação em lipossomas é que ela pode facilmente permitir o controle da liberação dos compostos encapsulados, dependendo das condições de temperatura, pH e presença de íons ao que o alimento é submetido (MACHADO *et al.*, 2013). O objetivo deste trabalho foi avaliar a composição da microalga *Chlorella pyrenoidosa* e características dos lipossomas.

### 2. METODOLOGIA

#### Obtenção da biomassa

A biomassa da microalga de *Chlorella pyrenoidosa* utilizada foi obtida no comércio local em forma de pó fino, com tamanho de partícula de 0,125mm. A lecitina de soja utilizada para o preparo dos lipossomas foi obtida no comércio local em forma de pó.

### Composição proximal

As análises foram realizadas de acordo com a AOAC (2000). A umidade foi determinada por gravimetria, pela perda de peso após secagem em estufa à temperatura de 105°C, até peso constante. O teor de cinzas foi determinado por método gravimétrico em mufla à temperatura de 550°C. O teor de proteína bruta foi determinado pelo método micro-Kjeldahl, utilizando-se como fator de conversão 6,25 para todas as amostras. O teor lipídico foi determinado utilizando o extrator de Soxhlet e éter de petróleo como solvente.

### Obtenção dos lipossomas

O método selecionado foi da hidratação do filme lipídico, que consiste em adicionar, em balão de fundo redondo para evaporador rotatório, 1 g de composto fonte de fosfolipídio e 10 mL de clorofórmio. Agitou-se por 2 minutos até completa dispersão e, em seguida, o clorofórmio foi removido em evaporador rotatório, até que fosse observado um filme de lipídios depositado no fundo do balão. Os traços de solvente orgânico foram removidos através da estocagem do balão por 18h em dessecador a vácuo.

Em seguida, adicionou-se ao filme lipídico 20 mL de tampão fosfato pH 7,0, 0,2M contendo 2 g de microalga *Chorella pyrenoidosa* e levou-se ao homogeneizador Ultra-turrax à 10000 rpm por 10 minutos, após levou-se à agitação sob aquecimento (60°C). Posteriormente os lipossomas foram submetidos a tratamentos de sonicação, homogeneização em vórtex, agitação utilizando banho ultrassônico (40 kHz, Unique USC 700) à 60°C durante 30 minutos de acordo com Malheiros (2010), com modificações.

### Medidas de potencial zeta

O tamanho da partícula e o valor de potencial zeta (mV) foi determinado pela técnica de laser doppler velocimetria associada à microeletroforese no aparelho Zetasizer (Malvern- Nano Zs a) à 25 °C. As análises foram realizadas diluindo-se 1/2 (v/v) as suspensões de nanocápsulas em água Milli-Q.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição proximal das microalgas *Chlorella* está demonstrada na Tabela 1.

Tabela 1 – Composição proximal da *Chlorella pyrenoidosa*.

Determinações (%) b.s Microalga	Umidade	Cinza	Lipídios	Proteína
<i>Chlorella pyrenoidosa</i>	6,49±0,09	6,67±0,03	5,88±0,29	40,17±1,69

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença estatística pelo teste de Tukey( $\alpha < 0,05$ ).

Pode-se observar o alto teor proteico, sendo uma característica das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Spirulina* de acordo com Souza(2012).

O tamanho médio e polidispersão estão apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 – Tamanho médio, polidispersão e potencial zeta do lipossoma controle e Microalga *Chlorella* encapsulada com lipossoma.

Amostra	Tamanho médio (nm)	Polidispersão	Potencial zeta(mV)
LS	117,85±1,48 <sup>b</sup>	0,47±0,08 <sup>b</sup>	-15,95±0,49 <sup>b</sup>
LMC	759,65±0,21 <sup>a</sup>	0,90±0,01 <sup>a</sup>	-39,65±1,76 <sup>a</sup>

OBS.: Controle:LS; LMC:Lipossoma da microalga *Chlorella*. Letras diferentes

na mesma coluna indicam diferença estatística pelo teste de Tukey( $\alpha < 0,05$ ).

O tamanho médio pode-se verificar que houve diferença estatística, ou seja, verificou-se de acordo com a Tabela 1 que os diâmetros dos lipossomas elaborados neste estudo variaram de unilamelares pequenos à grandes. Tipicamente, o diâmetro médio dos lipossomas varia de 20 à 5000 nm (FRÉZARD, *et al.* 2005). Apesar das amostras passarem por processos semelhantes de homogeneização, em algumas etapas, verifica-se que a amostra encapsulada apresenta maior tamanho das partículas em relação à amostra controle. Isso se deve às condições em relação ao número de ciclos de homogeneização, que é geralmente determinada experimentalmente para cada sistema desenvolvido e tipo de equipamento utilizado.

O índice de polidispersão, que representa quanto o tamanho de cada partícula desviou-se do tamanho médio, demonstra que o lipossoma com microalga *Chlorella* possui vesículas menos uniformes.

O potencial zeta foi negativo para as preparações, pois as análises potenciais zeta indicam a obtenção de partículas com carga negativa, devido à presença de lecitina, para todas as amostras (ASSIS *et al.*,2014). A carga da superfície das vesículas pode ser avaliada com base nas medidas do potencial zeta que é o potencial elétrico teórico entre o ambiente aquoso e uma região difusa de carga predominante oposta à superfície da célula. Este potencial pode ser calculado medindo-se a mobilidade eletroforética celular em um campo elétrico.

De acordo com Morais (2003), uma das vantagens associadas ao emprego de lipossomas refere-se à preservação da qualidade nutricional dos hidrolisados de caseína. Pesquisas revelam que a encapsulação aumenta a estabilidade de carotenoides, antocianinas e betalainas (AZEREDO, 2005).

#### 4. CONCLUSÕES

Portanto, foi possível elaborar lipossomas de controle e contendo microalga *Chlorella* na escala nanométrica, utilizando como fonte lipídica a lecitina de soja bruta, tendo nesta uma possibilidade viável no emprego para encapsulação de fonte proteica. Com isso, a nanotecnologia pode potencialmente ser empregada para alterar produtos alimentares de forma mais eficaz e eficiente podendo fornecer nutrientes, proteínas e antioxidantes para o corpo.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ASSIS, L.M; ZAVAREZE, E. R; PRENTICE-HERNÁNDEZ, C; SOUZA-SOARES,L. A. Revisão: Características de nanopartículas e potenciais aplicações em alimentos. **Braz. J. Food Technol.** Campinas, v. 15, n. 2, p. 99-109, abr./jun. 2012 .

ASSIS, L.M.; MACHADO, A.R.; MOTTA, A.S.; COSTA, J.A.V. AND SOUZA-SOARES, L.A. Development and Characterization of Nanovesicles Containing Phenolic Compounds of Microalgae *Spirulina* Strain LEB-18 and *Chlorella pyrenoidosa*. **Advances in Materials Physics and Chemistry**, vol. 4, n.1: p. 6-12. 2014.

AZEREDO, H.M.C.; Encapsulação: aplicação a tecnologia de alimentos. **Alim. e Nut. Arar.** v. 16, p. 89-97, 2005.

FRÉZARD, F.; SCHETTINI, D. A.; ROCHA, O. G. F.; DEMICHELI, C. Lipossomas: propriedades físico-químicas e farmacológicas, aplicações na quimioterapia à base de antimônio. **Quim. Nova**, São Paulo, v. 28, p.511-518, 2005.

GIBBS, B.F.; KERMASHA, S.; ALLI, I.; MULLIGAN, C.N. Encapsulation in the food industry: a review. **Int J Food Sci Nutr.** 1999 May. 50 (3) :213-24. Department of Food Science and Agricultural Chemistry, McGill University, Ste-Anne-de-Bellevue, Quebec, Canadá.

HOLZ, J. C. P.; FERREIRA S. P.; LISBOA, C. R.; COSTA, J. A. V. Avaliação do crescimento das microalgas *Chlorella sp.* e *Chlorella homosphaera* em cultivo heterotrófico com diferentes concentrações de glicose e meios de cultura. **XIII Salão de Iniciação Científica – PUCRS**, 01 a 05 de outubro de 2012.

LASIC, D. D. **Liposomes: from physics to applications.** 1ª ed. Amsterdam: Elsevier Science Publishers B. V., cap.3, p.63-90, 1993.

MALHEIROS, P. DA S.; DAROIT, D.J.; BRANDELLI, A. Food applications of liposome-encapsulated antimicrobial peptides Review. **Food Science & Technology** 21284 e 292; 2010.

MACHADO, A.R.; ASSIS, L.M.; COSTA, J.A.V.; SOUZA-SOARES, L.A. Potencial aplicação da lecitina de soja para elaboração de lipossomas. **Simpósio Brasileiro de óleos e gorduras-SBOG**, 20nos, Florianópolis, Santa Catarina, Novembro de 2013.

MACHADO, A.R.; ASSIS, L.M.; MACHADO, M.I.R.; SOUZA-SOARES, L.A. Importance of lecithin for encapsulation processes. **African Journal of Food Science**, vol. 8, n.4, p. 176-183. April, 2014. DOI:10.5897/AJFS2013.1092

MORAIS, H.A.; BARBOSA, C.M.S.; DELVIVO, F.M.; SILVA, V.D.M.; MANSUR, H.S.; OLIVEIRA, M.C.; SILVESTRE, M.P.C. Estabilidade e avaliação sensorial de lipossomas contendo hidrolisados de caseína. **Braz. J. Food Technol.**, 6, 213, 2003.

SOUZA, M. M. **Potencial antifúngico e antioxidante dos extratos fenólicos de *Chlorella sp.* e *Spirulina platensis* e a capacidade desta de inibir a síntese de aflatoxinas.** Tese (Doutorado em Engenharia e Ciência de Alimentos), Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência de Alimentos, Escola de Química de Alimentos, Fundação Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande do Sul, p.165. 2012.