

ISSN - 2175.8395



# Anais do VIII Workshop de Nanotecnologia Aplicada ao Agronegócio

2014

Editores:  
Luiz Henrique Capparelli Mattoso  
Caue Ribeiro de Oliveira  
Humberto de Mello Brandão  
Marlene de Barros Coelho  
Daniel Souza Corrêa  
Maria Alice Martins

**Embrapa**

## REFERÊNCIAS

ABBAS, S.; HAYAT, K.; KARANGWA, E.; BASHARI, M.; ZHANG, X. An overview of ultrasound-assisted food-grade nanoemulsions. *Food Engineering Reviews*, v. 5, n. 3, p. 139-157, 2013.

MASON, T. G.; WILKING, J. N.; MELESON, K.; CHANG, C. B.; GRAVES, S. M. Nanoemulsions: formation, structure, and physical properties. *Journal of Physics: Condensed Matter*, v. 18, n. 41, p. R635, 2006.

OTONI, C. G.; MOURA, M. R.; AOUADA, F. A.; CAMILLOTO, G. P.; CRUZ, R. S.; LOREVICE, M. V.; SOARES, N. F. F.; MATTOSO, L. H. C. Antimicrobial and physical-mechanical properties of pectin/papaya puree/cinnamaldehyde nanoemulsion edible composite films. *Food Hydrocolloids*, v. 41, p. 188-194, 2014.

DU, W.-X.; OLSEN, C. W.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; MCHUGH, T. H.; LEVIN, C. E.; FRIEDMAN, M. Effects of allspice, cinnamon, and clove bud essential oils in edible apple films on physical properties and antimicrobial activities. *Journal of Food Science*, v. 74, n. 7, p. M372-M378, 2009.

BILBAO-SÁINZ, C.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; WOOD, D. F.; WILLIAMS, T. G.; MCHUGH, T. H. Nanoemulsions prepared by a low-energy emulsification method applied to edible films. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 58, n. 22, p. 11932-11938, 2010.

---

## DETERMINAÇÃO DA COMPOSIÇÃO QUÍMICA DA *SPIRULINA PLATENSIS*

\*Anny Manrich<sup>1</sup>, Beatriz da Cruz Mermejo<sup>1</sup>, Jheyce Cristina Moraes<sup>1</sup>, Juliano Elvis de Oliveira<sup>2</sup>, Luiz Henrique Capparelli Mattoso<sup>1</sup> Maria Alice Martins<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Embrapa Instrumentação, LNNA, São Carlos, SP. <sup>2</sup> Universidade Federal da Paraíba, João Pessoa, PB.  
\*anny.manrich@gmail.com

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

A microalga verde-azulada do grupo *Cyanobacter* denominada *Spirulina platensis* tem sido alvo de pesquisa e exploração em diversas áreas, como suplementação proteica de dieta humana e de animais, obtenção de substâncias bioativas para desenvolvimento de fármacos, produção de filmes de embalagens e para uso terapêutico no tratamento de determinadas doenças. Em sua composição estão aminoácidos essenciais e outros compostos de alto valor nutricional, entretanto relatos sobre a caracterização química da alga produzida no Brasil ainda não são conhecidos. Neste trabalho, a *Spirulina*, cultivada no Estado da Paraíba, foi caracterizada quanto a sua composição de lipídeos, clorofila, proteína, carboidratos, umidade, cinzas e análise química elementar por espectroscopia de energia dispersiva (EDS). Resultados mostram que a *Spirulina* brasileira possui 53% de proteína, 33% de carboidratos, 3% de lipídeos e 10% de cinzas. Análise qualitativa de elementos demonstrou a presença de metais e microelementos pertencentes à dieta humana, como K, Mg, Zn, e Na; e também a presença de alumínio em pequenas quantidades, o que pode ser resultado de contaminação de solo ou água de cultivo, indicando que deve ser estabelecido limite para o consumo diário deste material. Desta forma, a composição química da *Spirulina* brasileira é favorável ao seu uso em diversas áreas, incluindo alimentação humana.

**Palavras-chave:** *Spirulina platensis*; microalga; caracterização química; EDS.

### CHEMICAL CHARACTERIZATION OF *SPIRULINA PLATENSIS*

#### Abstract

The blue-green microalgae *Spirulina platensis* from the *Cyanobacter* group has been subject of research and exploration in various areas, such as for use as protein supplement in human and animal diets, to obtain bioactive substances for pharmaceutical developments, in film and packaging production and for therapeutic use in the treatment of certain diseases. It contains essential amino acids and other com-

pounds of high nutritional value. Reports on the chemical characterization of this algae produced in Brazil are not yet known. In this work, *Spirulina* cultivated in the state of Paraíba was characterized by moisture, ash, lipids, chlorophyll, protein and carbohydrates contents and chemical elements by energy dispersive spectroscopy (EDS). Results showed that *Spirulina* has a favorable chemical composition for food applications among other applications.

**Keywords:** *Spirulina*; microalgae; chemical characterization; EDS.

**Publicações relacionadas:** Caracterização da *Spirulina platensis* por termogravimetria, VI Jornada científica – Embrapa São Carlos

## 1 INTRODUÇÃO

A *Spirulina* é uma microalga verde-azulada pertencente ao grupo *Cyanobacter*, de micro-organismos fotossintetizantes que, apesar de serem unicelulares, agrupam-se formando filamentos. O grande interesse pelo estudo dessa microalga se deve ao seu alto potencial de aplicação, pois, além de conter entre 50 e 70%, em massa seca, de proteínas e aminoácidos essenciais; e possuir lipídeos, vitaminas e minerais de importante valor nutricional; estudos indicam que ela possui propriedades terapêuticas no tratamento de algumas doenças. Além de uso para suplementação de dieta humana e de animais, algumas áreas de aplicação da *Spirulina* são: tratamento de efluentes, obtenção de energia e obtenção de substâncias bioativas para uso em fármacos e cosméticos (Habib et al., 2008). Outra possível aplicação é na área de materiais, na produção de filmes comestíveis e de embalagens biodegradáveis, em substituição ao uso de materiais derivados de petróleo. Isso porque filmes produzidos à base de proteínas costumam ter propriedades superiores de barreira a gases ( $\text{CO}_2$  e  $\text{O}_2$ ) em comparação com filmes biodegradáveis à base de lipídeos e carboidratos (Zeller et al., 2012; Ou et al., 2005). A caracterização química de *Spirulina* comercial e não comercial já foi realizada por alguns autores. Ortega-Calvo, 1993 analisaram algumas espécies de algas vendidas como suplementação alimentar na Espanha, e Gaese, 2012 analisou *Spirulina platensis* cultivada no lago El Khadra, no Egito. Ambos verificaram que a microalga possui teores de proteínas acima de 50%, lipídeos em torno de 8% e carboidratos em torno de 16%, além de cinzas, com cerca de 10%. No entanto, não há relatos dessa caracterização realizada para a microalga no Brasil.

Neste trabalho, a caracterização química da *Spirulina platensis* cultivada na Fazenda Tamanduá, PB, foi realizada. Determinou-se a umidade, o teor de lipídios, clorofila, proteínas, carboidratos, cinzas e de elementos químicos por espectroscopia de energia dispersiva (EDS).

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Material

*Spirulina platensis* comercial na forma de pó seco foi cedida pela Fazenda Tamanduá, PB, Brasil. Os padrões de carboidratos de grau de HPLC foram adquiridos da Sigma-Aldrich: celobiose, glicose, xilose, ácido glucurônico, ácido galacturônico e arabinose. Outros reagentes foram grau PA.

### 2.2 Métodos

#### 2.2.1 Determinação do teor de umidade

O teor de umidade foi determinado usando uma balança de umidade de marca Marte, modelo ID50, operando a 105 °C até peso constante. Amostras analisadas continham 1,0 g e as medidas foram realizadas em triplicata.

#### 2.2.2 Determinação de extrativos

Extrações solventes sequenciais usando éter de petróleo e acetona foram utilizadas para determinar lipídios totais e teor de clorofila da *Spirulina*. Extrações foram feitas usando método de extração sólido-líquido com extrator tipo Soxhlet. Para o ensaio, 2 g de amostra foram envoltos com um filtro de papel e posicionado sobre o extrator 250 mL de solvente foram colocados em frascos previamente pesados para extração contínua de 8 horas com 10 ciclos por hora. Após remoção completa do solvente

num forno a 50 °C, o frasco foi pesado e o teor de extrativos calculado. As amostras foram secas e usadas para a caracterização de carboidratos.

### 2.2.3 Determinação de carboidratos

A determinação da composição de carboidratos foi realizada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC), seguindo o procedimento descrito na norma ASTM E1758-01 para determinação de carboidratos em biomassa. Uma massa de 0,3 g de *Spirulina* livre de extrativos foi pesada. Foram adicionados 3,0 mL de ácido sulfúrico a 72%, sob agitação à temperatura ambiente durante 60 minutos. O material é submetido a autoclave a 121 °C durante 30 minutos e deixado resfriar até temperatura ambiente. O material foi filtrado e o pH foi ajustado a 5-6; filtrada e analisada por HPLC, utilizando um equipamento de cromatografia Varian 356 - LC (Agilent, EUA) com detector de RID 410 de troca iônica uma coluna Amimex HPX 87 H (Bio - Rad, EUA) e fase móvel H<sub>3</sub>SO<sub>4</sub> 5mM, a 50 °C, fluxo de 0,6 mL min<sup>-1</sup>. Os cromatogramas foram analisados e os carboidratos quantificados por meio da curva de calibração determinado para cada composto padrão (celobiose, glicose, xilose, arabinose, ácido galacturônico e ácido glucurônico).

### 2.2.4 Determinação do teor de cinzas

A determinação de cinzas foi realizada de acordo com a norma NREL/TP 510-42618 para biomassa. 200 mg de *Spirulina* foram colocados em cadinhos pré-pesados e levados a um forno tipo Mufla. O teor de cinzas foi calculado pesando-se os cadinhos no final do procedimento.

### 2.2.5 Determinação do teor de proteína

O teor de nitrogênio foi determinado por meio de análise elementar (CHN) com uso de equipamento da Perkin Elmer, modelo 2400. A porcentagem de proteína presente no material foi calculada multiplicando a porcentagem de nitrogênio por 6,25, como descrito na norma NREL/TP-510-42625 para determinação de proteína em biomassa.

### 2.2.6 Espectroscopia de energia dispersiva (EDS)

EDS é uma técnica analítica utilizada para a análise elementar de uma amostra. Esta análise foi realizada com o um microscópio de varredura da marca Jeol, modelo JSM 6510 oi operado em modo EDS (raios X) e 10 kV. A preparação das amostras foi feita a deposição de carbono pelo método de “Sputtering”, utilizando-se um equipamento Leica EM SCD 050 Sputter Coater.

## 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 3.1 Composição Química

A *Spirulina* apresentou 10,05% ± 0,05 de umidade. A composição química completa em porcentagem de massa seca é apresentada na Tabela 1. A porcentagem de proteína da alga representa mais de 50% em base seca, o que está de acordo com o descrito pela literatura (Habib et.al., 2008; Zeller, et. al., 2012).

Tabela 1. Composição química da *Spirulina platensis* em massa seca.

Componente	Porcentagem (% massa seca)	Desvio padrão (%)
<b>Proteína</b>	53,1	0,1
<b>Carboidratos</b>	33,6	1,9
<b>Lipídeos</b>	2,87	0,16
<b>Clorofila</b>	0,74	0,02
<b>Cinzas</b>	9,86	0,35

Componente	Porcentagem (% massa seca)	Desvio padrão (%)
<b>Total</b>	100,2	

Análise cromatográfica por HPLC apresentou os seguintes carboidratos para a Spirulina: celobiose: 3,2%; ácido glucorônico: 8,1%; ácido galacturônico: 2,9%; glicose: 8,1%; xilose: 7,2%; arabinose: 3,0%. Isso significa que a Spirulina contém 11,3% de celulose; 19,3% de hemicelulose e 2,9% de pectina; em massa seca. Autores referem-se à composição prevalente hemicelulósica e menos celulósica de carboidratos de algas verdes (Domozyk et. al., 1980).

A análise de extrativos realizada em duas etapas teve como objetivo a caracterização de lipídeos e clorofilas (ou extrativos não lipídicos) separadamente. Sendo o solvente de baixa polaridade, o éter de petróleo deve extrair os lipídeos e certas vitaminas lipofílicas da Spirulina. O método mais utilizado para extração de lipídeos totais é a extração Folch, empregando uma mistura 2:1 clorofórmio:metanol. No entanto, devido à toxicidade do clorofórmio, outros solventes ou misturas utilizando solventes de alcanos com álcoois podem ser eficientemente utilizados. Utiliza-se éter de petróleo ou éter etílico para a determinação rotineira de lipídeos, denominada também como extrato etérico. (Akoh, 2008). A clorofila, por sua vez, pode ser seletivamente extraída por acetona (Kobayashi et.al. 1997).

A composição de elementos químicos encontrados na Spirulina pela técnica de EDS é mostrada na Tabela 2. Por ser uma biomassa, a microalga contém majoritariamente os elementos orgânicos C, N e O. Outros elementos presentes como S e P, também fazem parte da construção das proteínas e células. Cu, Zn, Mg, K, Na e Cl estão entre os minerais e microelementos essenciais à ingestão humana. No entanto, os limites de ingestão diários para cada elemento devem ser observados para que este não se torne tóxico. O limite de ingestão de cobre para um homem adulto, segundo o Conselho regulatório do Governo dos Estados Unidos para alimentos e nutrição, *U.S. Food and Nutrition Board of the National Academies Institute of Medicine* (IOM), é de 10 mg por dia e para o zinco é de 40 mg. O alumínio, também detectado pela análise qualitativa de EDS, é considerado tóxico. Segundo a FAO, o limite de ingestão diária máxima é de 7 mg/Kg de massa corporal (FAO/WHO Desta forma, a presença de Al na Spirulina não impediria seu consumo como alimento, desde que respeitados os limites de ingestão diários A Spirulina pode concentrar íons encontrados no seu ambiente de cultivo (água e solo). Ela cresce preferencialmente em água alcalina, incorporando minerais e elementos químicos, que incorpora em sua constituição química. Por esse motivo, a alta capacidade de biossorção da Spirulina deve ser levada em consideração quando se escolhe o meio de cultivo, pois ela pode também absorver metais pesados como chumbo e mercúrio, caso presentes no meio de cultivo (Gaese, 2012).

**Tabela 2.** Elementos químicos presentes na Spirulina platensis e seu teor em porcentagem.

C	N	O	Na	Mg	Al	P	S	Cl	K	Cu	Zn
24,67	7,44	25,29	6,29	0,70	0,44	3,20	3,05	11,42	13,31	2,25	1,94

#### 4 CONCLUSÃO

A Spirulina platensis comercial cultivada no Brasil (fazenda Tamanduá) foi caracterizada neste trabalho. Resultados mostram que a Spirulina brasileira possui 53% de proteína, 33% de carboidratos, 3% de lipídeos e 10% de cinzas. Análise qualitativa de elementos por EDS demonstra a presença de K, Mg, Zn, e Na; Cl, Cu, os quais pertencentes à dieta humana. Entretanto demonstra a presença de alumínio, elemento considerado tóxico, geralmente originário de contaminações do meio (solo, água), indicando que deve ser estabelecido limite para o consumo diário deste material. Desta forma, a composição química da Spirulina é favorável ao seu uso na alimentação e em outras aplicações, como a de produção de filmes biodegradáveis, devido à alta quantidade de proteínas.

#### AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Capes, ao CNPq, FINEP e Projeto MP1 Rede Agronano – Embrapa.

## REFERÊNCIAS

AKOH, C. C. E MIN, D. B. Food Lipids: Chemistry, Nutrition, and Biotechnology, 3<sup>rd</sup>. Edition CRC Press 2008, 928 p.

DOMOZYCH, D.S.; STEWART, K.D.; MATTOX, K.R. The comparative aspects of cell wall chemistry in the green algae (Chlorophyta). *Journal of Molecular Evolution*, v. 15, p. 1-12, 1980.

FAO/WHO. Expert Committee on Food Additives. Evaluation of certain food additives and contaminants. 33rd Report. Geneva: World Health Organization – WHO, 1989. p. 26, 27, 47. (Technical Report Series n 776). Disponível em: <[http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO\\_TRS\\_776.pdf](http://whqlibdoc.who.int/trs/WHO_TRS_776.pdf)>. Acessado em: 01 julho 2014.

GAESE, H. Chemical Composition and Potential Application of *Spirulina platensis* Biomass. *International Journal of Agriculture & Environment*, n. 4, 2012.

HABIB, M.A.B.; PARVIN, M; HUNTINGTON, T.C.; HASAN, M.R. A review on culture, production and use of *Spirulina* as food for humans ad feeds for domestic animals and fish. FAO Fisheries and Aquaculture Circular No. 1034. Rome, 2008.

KOBAYASHI, Y. KURIMURA, Y. SAKAMOTO e TSUJI, Y. Selective extraction of astaxanthin and chlorophyll from the green alga *Haematococcus pluvialis* M. *Biotechnology Techniques*, v. 11, v. 9, p. 657–660, 1997.

ORTEGA-CALVO, J.J.; MAZUELOS, C.; HERMOSIN, B. AND SAIZ-JIMENEZ, C. Chemical composition of *Spirulina* and eukaryotic algae food products marketed in Spain. *Journal of Applied Phycology*, n. 5, p.425-435, 1993.

OU, S.; WANG, Y.; TANG, S.; HUANG, C.; JACKSON, M.G. Role of ferulic acid in preparing edible films from soy protein isolate. *Journal of Food Engineering*, n.70, p.205–210, 2005.

U.S. Food and Nutrition Board of the National Academies Institute of Medicine (IOM). Disponível em <<http://www.iom.edu/Activities/Nutrition/SummaryDRIs/DRI-Tables.aspx>>. Acessado em: 30 de julho de 2014.

ZELLER, M.A.; HUNT, R.; JONES, A.; SHARMA, S. Bioplastic blends from *Spirulina* and *Chlorella* Microalgae. *Journal of Applied Polymer Science*, v. 150, n. 5, p. 3264-3275, 2013.

---

## QUALIDADE PÓS-COLHEITA DE MAMÕES “GOLDEN” UTILIZANDO NANOEMULSÃO DE CERA DE CARNAÚBA

\*Thaís L. Ohashi<sup>1</sup>, Lucimeire Pilon<sup>2</sup>, Poliana C. Spricigo<sup>1</sup>, Marcela Miranda<sup>1</sup>, Daniel S. Correa<sup>1,3</sup>, Marcos D. Ferreira<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de São Carlos, São Carlos, SP. <sup>2</sup>Embrapa Hortaliças, Gama, DF. <sup>3</sup>Embrapa Instrumentação, São Carlos, SP.

\*thais\_ohashi@yahoo.com.br

**Classificação:** Filmes, revestimentos comestíveis e embalagens funcionais para alimentos.

### Resumo

O presente estudo propôs caracterizar uma emulsão comercial de cera de carnaúba (Tanwax®) e avaliar a influência de diferentes concentrações desta emulsão comercial (2.4 e 4.8%) como revestimento para mamões ‘Golden’ durante o armazenamento. Análises físico-químicas foram realizadas, tais como perda de massa fresca, coloração da casca, índice de doenças, firmeza, pH, teor de sólidos solúveis, acidez titulável, *ratio* e teor de ácido ascórbico. A caracterização da emulsão de cera de carnaúba apresentou