



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA**

VANESSA RODRIGUES FERREIRA

**CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MICROCÁPSULA DO
PIGMENTO NATURAL R-FICOERITRINA DA MACROALGA MARINHA
VERMELHA *Solieria filiformis***

FORTALEZA

2021

VANESSA RODRIGUES FERREIRA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MICROCÁPSULA DO PIGMENTO
NATURAL R-FICOERITRINA DA MACROALGA MARINHA VERMELHA

Solieria filiformis

Monografia apresentada ao Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia. Área de concentração: Insumos Biotecnológicos.

Orientador: Prof. Dr. Márjory Lima Holanda Araújo.
Coorientador Me. Acrisio José Uchôa Bastos Filho.

FORTALEZA

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

F444c Ferreira, Vanessa Rodrigues.

Caracterização físico-química da microcápsula do pigmento natural R-Ficoeritrina da macroalga marinha vermelha *Solieria filiformis* / Vanessa Rodrigues Ferreira. – 2021.

71 f. : il. color.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Curso de Biotecnologia, Fortaleza, 2021.

Orientação: Prof. Dr. Májory Lima Holanda Araújo.

Coorientação: Prof. Me. Acrisio José Uchôa Bastos Filho.

1. Solubilidade. 2. Higroscopicidade, . 3. Iotacarragenana. 4. Atividade de Água. I. Título.
CDD 661

VANESSA RODRIGUES FERREIRA

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA MICROCÁPSULA DO PIGMENTO
NATURAL R-FICOERITRINA DA MACROALGA MARINHA VERMELHA

Solieria filiformis

Monografia apresentada ao Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia. Área de concentração: Insumos Biotecnológicos.

Aprovada em: 08/04/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Márjory Lima Holanda Araújo (Orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Acrisio José Uchôa Bastos Filho (Co-orientador)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Me. Antonia Carlota de Souza Lima
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, Lindalva e Adailton

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, Lindalva Rodrigues e Adailton Vitoriano, de quem herdei os princípios e esse jeito um tanto quanto comunicativo de ser. Obrigada pelo suporte incondicional, pela proteção e por sempre lutarem por mim. Se estou onde estou hoje, devo tudo a vocês.

À minha avó, Aureliana Mauriza, por ter sido também minha segunda mãe e ter me acolhido no seu lar por vinte e um anos. Pela criação, pelos inúmeros ensinamentos de vida e por todo o cuidado que sempre teve comigo.

À toda minha família, que eu tanto amo e é a melhor base que eu poderia ter. Em especial à minha madrinha Manoela Rodrigues e ao meu tio José Hélder. Pelo incentivo, pelas conversas e pelo constante cuidado com minha educação. Talvez vocês não saibam, mas contribuíram enormemente para minha chegada até aqui. Vocês são minha inspiração desde pequena, seja pelo âmbito profissional ou pela coragem de levantar bandeiras e defender seus ideais.

À minha orientadora, Professora Dra. Márjory Holanda, a quem muito admiro, por ter me recebido na sua equipe, mesmo num momento atípico como o que vivemos atualmente. Por todo conhecimento e orientação, pela excelência ao lecionar e pela sua paciência e compreensão como coordenadora do curso de Biotecnologia.

Aos meus co-orientadores, Acrísio Bastos e Lucas Lopes, pela paciência, pela ajuda durante todo esse período e pelo prazer de poder dividir a mesma bancada que vocês. Acima de tudo, pela honra de poder chamá-los de amigos e por todos os momentos de alegria e descontração que dividimos juntos no laboratório.

A todos os membros do Laboratório de Biotecnologia de Algas e Bioprocessos (BioAP) pelo apoio, carinho e acolhimento. Em especial, aos amigos: Éwerton, João Neto e Pedro Victor.

Aos integrantes do Laboratório de Química Medicinal, grupo que me acolheu por três anos e foi fundamental na minha formação como biotecnologista. Em especial à Vilmara Farias, minha ex co-orientadora e amiga tão querida, que esteve comigo desde o meu primeiro dia numa bancada de laboratório. Pelo carinho, atenção e também pelos inúmeros puxões de orelha. Por me ensinar muito do que aprendi em

pesquisa, seja fazendo uma solução tampão ou conduzindo um experimento organizadamente desde o seu início.

À profa. Dra. Norma Maria Barros Benevides que permitiu o uso de equipamentos e reagentes do seu laboratório, CARBOLEC, contribuindo para a realização deste trabalho.

Ao corpo docente da graduação em Biotecnologia e aos outros professores da Universidade Federal do Ceará envolvidos na minha formação, que, com sua dedicação, possibilitaram o meu acesso a uma educação de excelência e também à sétima turma da Biotecnologia UFC.

Ao querido Gilmar Ferreira, secretário do curso de Biotecnologia, pela sua constante disponibilidade para esclarecer infinitas dúvidas, por ajudar nos processos burocráticos e pela sua infinita gentileza.

Aos amigos que ganhei durante a graduação e que estiveram ao meu lado ao longo desses cinco anos, compartilhando inúmeros momentos de descontração e também de apoio. Em especial ao Joaquim, Guilherme, Lennon, Larissa, Milena, Amanda, Cris, Rhaynan, Luca, Madu, Ítalo e Caio. Muito obrigada por todos os momentos que passamos juntos ao longo dessa jornada intensa que é cursar Biotecnologia.

Às minhas amidas, Clara, Raissa e Luzia, que não têm tamanho de gente, mas têm o coração do tamanho do mundo; Por estarem ao meu lado nessa caminhada literalmente desde o primeiro dia. Pelo companheirismo, parceria e pelas inúmeras trufas de café ao longo desses cinco anos.

Aos meus amigos Heitor Bantim, Diego Furtado, Davi Santiago, Fábio Farias, Rodrigo Bezerra, Mariana Vieira, Francisco Cardoso, Felipe Carvalhedo, Ana Letícia e Natan Freitas, com quem tive o prazer de compartilhar inúmeros momentos marcantes, fossem meus, deles ou nossos. Agradeço pela companhia e ajuda constante, por todas as risadas, lágrimas e abraços. Por, muitas vezes, terem mais fé em mim do que eu mesma. Obrigada por serem minha segunda família. Amo vocês num tanto impossível de mensurar.

Aos meus amigos Saulo Cruz e Camila Muniz, pela amizade, pela confiança e companheirismo diário na construção do nosso querido 402. Aos queridos felinos da casa, Ypi, Mia e Tchan, que também fazem parte dessa família nada tradicional e que são responsáveis por deixar o ambiente sempre mais leve.

Ao Gabriel Leal, por ter estado sempre ao meu lado, desde o período em que cursar Biotecnologia parecia apenas um sonho distante. Por todas as vezes que me foi apoio, por todas as noites que passou em claro ao meu lado, só pra não me deixar só e pelas inúmeras apresentações de seminário que você, pacientemente, assistiu às 3 da manhã, mesmo sem entender nada. Pelo laço tão bonito que construímos juntos e pelo companheirismo e apoio, mesmo que de longe.

Ao Programa Integrado de Qualificação Discente e à Empresa Júnior do Bacharelado em Biotecnologia (AUG Biotec), em nome dos professores André Luís Coelho da Silva e Ana Lúcia Ponte Freitas, pelo aprendizado e experiência de trabalho em equipe que pude vivenciar.

Ao Movimento Ocupa Biotec e aos companheiros da Resistência Tricolor, pelas amizades conquistadas, pelo momento de organização e pela coragem de resistir sempre.

À UFC, por meio do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, que disponibilizou o espaço físico para execução do referido trabalho.

Às agências de fomento CAPES e CNPq, pela disponibilização de recursos para realização deste trabalho.

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho: meu muito obrigada!

“Yo *sigo avanti*.
Avanti antes
y *avanti siempre*.”
(Vientos de Agua).

RESUMO

As macroalgas marinhas vermelhas biossintetizam uma ficobiliproteína denominada R-ficoeritrina, um pigmento fotossintético acessório vermelho, cuja aplicação biotecnológica e industrial é bastante promissora. Todavia, essa molécula apresenta instabilidade espectroscópica, química e biológica, e as técnicas de encapsulamento, por sua vez, surgem como alternativa para aumentar a estabilidade da molécula, mas conferem às microcápsulas propriedades físico-químicas diferentes, decorrentes do material de parede utilizado. Sendo assim, o presente trabalho objetivou avaliar as características físico-químicas da microcápsula de R-Ficoeritrina pura, extraída de *Solieria filiformis*, obtida pelo método de secagem por liofilização e utilizando iota-carragenana como agente encapsulante. A extração e a purificação da R-Ficoeritrina foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia de Algas e Bioprocessos, bem como o encapsulamento do pigmento. As microcápsulas foram avaliadas quanto à atividade de água, solubilidade, higroscopicidade, umidade e colorimetria, em tratamentos variando a concentração do material de parede (0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0%), na presença, ou não, de R-Ficoeritrina. Os resultados obtidos demonstraram que a concentração de iota-carragenana utilizada no encapsulamento interferiu no teor de umidade das micropartículas. Os teores de umidade e atividade de água ($3,63 \pm 0,36$ a $11,43 \pm 2,25$) e ($0,14 \pm 0,003$ a $0,35 \pm 0,001$), respectivamente. O perfil higroscópico variou de $10,57 \pm 0,63$ a $11,94 \pm 0,67$. O índice de solubilidade variou entre 63,63% - 80,47%. Os testes colorimétricos, por sua vez, sinalizaram a presença da cor vermelha, com a intensidade variando de acordo com a concentração de material de parede utilizada para obtenção da micropartícula. Diante dos resultados, as microcápsulas de R-Ficoeritrina apresentaram características físico-químicas promissoras para aplicação do pigmento em diferentes áreas da biotecnologia e da indústria.

Palavras-chave: Solubilidade, Atividade de Água, Higroscopicidade, Cor, Iota-carragenana.

ABSTRACT

The red marine macroalgae biosynthesize a phycobiliprotein called R-phycoerythrin, a red accessory photosynthetic pigment, whose biotechnological and industrial application is very promising. However, this molecule has spectroscopic, chemical and biological instability, and encapsulation techniques, in turn, appear as an alternative to increase the stability of the molecule, but give microcapsules different physical and chemical properties, resulting from the wall material used. Thus, the present study aimed to evaluate the physical-chemical characteristics of the pure R-Ficoeritina microcapsule, extracted from *Solieria filiformis*, obtained by the freeze-drying method and using iota-carrageenan as an encapsulating agent. The extraction and purification of R-Ficoeritina were carried out at the Algae and Bioprocess Biotechnology Laboratory, as well as the pigment encapsulation. The microcapsules were evaluated for water activity, solubility, hygroscopicity, humidity and colorimetry, in treatments varying the concentration of the wall material (0.5%, 1.0%, 1.5% and 2.0%), in presence or not of R-Phycoerythrin. The results obtained demonstrated that the concentration of iota-carrageenan used in the encapsulation interfered in the moisture content of the microparticles. The moisture content and water activity (3.63 ± 0.36 to 11.43 ± 2.25) and (0.14 ± 0.003 to 0.35 ± 0.001), respectively. The hygroscopic profile ranged from 10.57 ± 0.63 to 11.94 ± 0.67 . The solubility index varied between 63.63% - 80.47%. The colorimetric tests, in turn, signaled the presence of the red color, with the intensity varying according to the concentration of wall material used to obtain the microparticle. In view of the results, the R-Ficoeritina microcapsules showed promising physical-chemical characteristics for application of the pigment in different areas of biotechnology and industry.

Keywords: Solubility, Water Activity, Hygroscopicity, Color, Iota-Carrageenan.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Produtos oriundos das macroalgas e seus métodos e processos de obtenção	20
Figura 2 – Aspecto da coloração dos pigmentos azul e vermelho purificados da macroalga marinha <i>Hypnea musciformis</i>	22
Figura 3 – Valores da receita do mercado mundial de corantes.....	23
Figura 4 – Relação mercado <i>versus</i> portencial de valor agregado das biomoléculas e produtos derivados de macroalgas marinhas	26
Figura 5 – Espectro de absorção dos pigmentos fotossintetizantes: ficoeritrina, ficocianina e clorofila a, presentes em macroalgas vermelhas.....	31
Figura 6 – Radiação eletromagnética.....	31
Figura 7 – Representação esquemática da membrana do tilacóide e dos ficobilissomos	33
Figura 8 – Representação da estrutura de um ficobilissomo encontrado em macroalgas vermelhas.....	33
Figura 9 – Via de transferência de energia luminosa através de ficobilissomos.....	34
Figura 10 – Formação dos discos hexaméricos das ficobiliproteínas.....	35
Figura 11 – Estruturas químicas das ficobilinas.....	36
Figura 12 – Fluorescência da R-Ficoeritrina de <i>Solieria filiformis</i> . Pico da cromatografia de troca iônica.....	37
Figura 13 – Representação das estruturas dos tipos de ficoeritrinas.....	38
Figura 14 – Estrutura tridimensional das subunidades α e β , do trímero e do hexâmero da R-Ficoeritrina da macroalga vermelha <i>Gracilaria chilensis</i>	39
Figura 15 – Características espectroscópicas da R-Ficoeritrina pura extraída de <i>Solieria filiformis</i>	40
Figura 16 – Modelos de microcápsulas.....	41
Figura 17 – Representação de um liofilizador.....	42

Figura 18 – Representação esquemática das diferentes estruturas de unidades diméricas de carragenanas.....	45
Figura 19 – Protocolo de extração da R-Ficoeritrina de <i>S. filiformis</i>	48
Figura 20 – Protocolo de purificação da R-Ficoeritrina da macroalga vermelha <i>S. filiformis</i>	49

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Atividade de água dos encapsulados na presença e na ausência da R-Ficoeritrina.....	60
Gráfico 2 – Índice de umidade dos encapsulados na presença e na ausência da R-Ficoeritrina.....	60
Gráfico 3 – Índice de solubilidade dos encapsulados na presença e na ausência da R-Ficoeritrina.....	63
Gráfico 4 – Índice higroscópico dos encapsulados na presença e na ausência da R-Ficoeritrina.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Principais espécies de algas cultivadas no mundo em milhares de toneladas entre 2000 e 2018.....	21
Tabela 2 – Corantes artificiais permitidos e seus respectivos códigos de rotulagem.....	24
Tabela 3 – Valor comercial de ficobiliproteínas.....	25
Tabela 4 – Organização celular, pigmentos, substâncias de reserva e componente da parede celular de macroalgas marinhas verdes, marrons e vermelhas.....	29
Tabela 5 – Propriedades físicas dos encapsulados na presença e na ausência da R-Ficoeritrina.....	60

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

α	Alfa
β	Beta
γ	Gama
ι	Iota
κ	Kappa
$\lambda_{\text{max.}}$	Comprimento de onda de absorção máxima
A0	Absorbância a 517 ou 562 de DPPH ou FeSO4
A208	Absorbância a 280 nm
A564	Absorbância a 564 nm
A618	Absorbância a 618 nm
A730	Absorbância a 730 nm
Ab	Ab - Absorbância a 517 ou 562 de R-FE
AC	Alga congelada
AFC	Aloficocianina
AIE	Agência Internacional de Energia
ANVISA	Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APAFG	Associação de Produtores de Algas de Flecheiras e Guajiru
AS	Alga seca
AU	Alga úmida
B-FE	B-Ficoeritrina
b-FE	b-Ficoeritrina
BioAP	Laboratório de Biotecnologia de Algas e Bioprocessos
BSA	BSA - Albulina sérica bovina
CARBOLEC	Laboratório de Carboidratos de Lectinas
CF	Fator de acoplamento
C-FE	C-Ficoeritrina
CU-FE	CU-Ficoeritrina
DBBM	Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular
ETP-Sf	Extrato total proteico de <i>Solieria filiformis</i>
FAO	Food and Agriculture Organization of the United Nations
FC	Ficocianina

FE	Ficoeritrina
IDA	Ingestão Diária Aceitável
IEA	International Energy Agency
IP	Índice de Pureza
JECFA	Joint Expert Committee on Food Additives
kDa	Quilodalton
m/v	Massa/volume
OMS	Organização Mundial de Saúde
PCB	Ficocianobilina
PEB	Ficoeritrobilina
PB	Tampão fosfato de potássio, 0,025M, pH 6,5
PCB	Ficocianobilina
PEB	Ficoeritrobilina
pH	Potencial Hidrogeniônico
PS	Fotossistema
PUB	Ficourobilina
PXB	Ficoviolobilina
R-FE	R-Ficoeritrina; Concentração de R-Ficoeritrina
RFU	Unidade Relativa de Fluorescência
SNI	Sistema de Numeração Internacional
TERF	Transferência de energia de ressonância por fluorescência
UFC	Universidade Federal do Ceará
US\$	Dólar dos Estados Unidos

SUMÁRIO

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	19
1.1 Importância econômica, aplicações das macroalgas marinhas e conceito de biorrefinaria.	19
1.2 Algas Marinhas: características gerais e classificação.	28
1.2.1 Filo Rhodophyta.....	29
1.3 Propriedades estruturais e espectroscópicas das ficoliproteínas.	30
1.3.1 Ficoeritrinas (FE)	36
1.4 Encapsulamento da R-Ficoeritrina	39
1.4.1 Carragenanas.....	43
2 OBJETIVOS	45
2.1 Objetivo Geral	45
2.2 Objetivos Específicos	45
3 MATERIAIS E MÉTODOS	46
3.1 Materiais	46
3.1.1 Macroalga marinha vermelha <i>Solieria filiformis</i>	46
3.1.2 Reagentes Químicos	46
3.2 Métodos.....	46
3.2.1 Extração da R-Ficoeritrina de <i>Solieria filiformis</i>.....	46
3.2.2 Purificação da R-Ficoeritrina de <i>S. filiformis</i>	47
3.2.3 Microencapsulação da R-ficoeritrina de <i>S. filiformis</i>.....	48
3.2.4 Caracterização da microcápsula de R-Ficoeritrina	49
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO	51
4.1 Caracterização da microcápsula de R-Ficoeritrina	51
4.1.1 Atividade de água e Umidade.	51
4.1.2 Solubilidade.....	54
4.1.3 Higroscopidade	56
4.1.4 Colorimetria	57
5 CONCLUSÃO.....	60
6 PERSPECTIVAS FUTURAS.....	61
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	62

1 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 Importância econômica, aplicações das macroalgas marinhas e conceito de biorrefinaria.

A diversa utilização de algas marinhas data a partir dos primeiros registros que temos acesso das civilizações humanas. Ao redor do mundo, as algas vêm sendo utilizadas em vários contextos, uma vez que sua diversidade de espécies e sua ampla composição bioquímica faz com que elas representem uma fonte potencial de compostos bioativos para aplicações em diversos setores da indústria (HOLDT; KRAAN, 2011; IOANNOU; ROUSSIS, 2009; MAYER *et al.*, 2008). Atualmente, algumas das utilizações mais comuns das macroalgas marinhas são: alimentação, produção de biocombustível, fertilizantes e produção de compostos bioativos (HU, 2019).

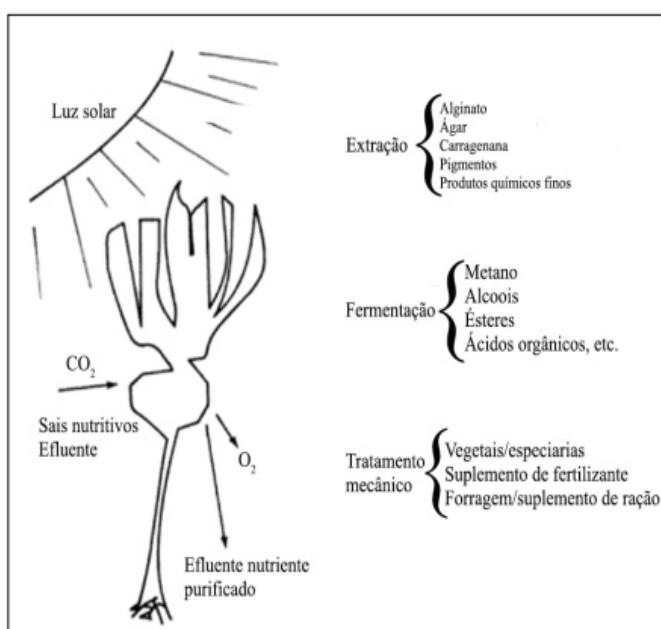
Por muitos anos, as macroalgas foram componentes essenciais da dieta do Leste Asiático. Atualmente, além de utilizadas para consumo direto, atuam também como fonte de diversos ingredientes funcionais e tecnológicos para as indústrias do ramo alimentício, cosmético e farmacêutico (BAWEJA *et al.*, 2016; SÁNCHEZ & VÁZQUEZ, 2017). O alto teor de proteína nestes organismos é o motivo para o desenvolvimento das algas como fonte proteica desde os anos 70 (BOROWITZKA, 2013).

As macroalgas são um importante recurso ecológico e econômico (GHADIRYANFAR *et al.*, 2016). O aumento da exploração destes organismos para a obtenção de novos produtos coincide com o desenvolvimento de novas tecnologias, o que veio a desempenhar um papel chave na elucidação da estrutura dos produtos naturais marinhos (HU *et al.*, 2011). Por sua vez, estes organismos têm ganhado importância como componente integral dos ecossistemas marinhos, uma vez que são a base da cadeia alimentar e, de igual modo, também têm ganhado cada vez mais importância econômica (DENNY & GAINES, 2007; YASUHARA-BELL *et al.*, 2010).

As macroalgas são fontes de matéria mineral (11–55% de peso seco, na forma de cinzas), polissacarídeos (15–76% de peso seco), proteínas (1–50% de peso

seco), lipídios (0,3– 5% de peso seco), fito-hormônios e pigmentos, bem como uma ampla variedade de metabólitos secundários (compostos fenólicos, terpenóides e compostos halogenados, derivados de enxofre e derivados de nitrogênio), dentre outros (BEDOUX et al., 2014; KADAM et al., 2015). Esses e outros produtos podem ser obtidos através de diversos métodos e processos, como apresentado na **Figura 1**.

Figura 1 – Produtos oriundos das macroalgas e seus métodos e processos de obtenção



Fonte: Adaptado de Lobban e Harrison (1997), tradução Lopes (2018).

A partir das algas são obtidos produtos imprescindíveis para a vida do homem moderno, com valores que ultrapassam alguns bilhões de dólares anuais (VIDOTTI, ROLLEMBERG, 2004). De acordo com a FAO, entre 1981 e 2002, a colheita total mundial de macroalgas aumentou de 3 milhões para quase 13 milhões de toneladas (peso úmido). Atingiu 30,1 milhões de toneladas em 2016, o que representa 11,67 bilhões de dólares, com significativa participação de países asiáticos (11,63 bilhões de dólares) para atender a demanda alimentícia e industrial (FAO, 2018).

Esse crescimento observado tem sido exponencial nas últimas décadas, apresentando uma produtividade (biomassa cultivada), nos últimos vinte anos, três vezes maior, atingindo 32,4 milhões de toneladas em 2018, representando um valor estimado de 13,3 bilhões de dólares (US\$) (FAO, 2020). Estima-se que o crescimento deva atingir US\$ 44,7 bilhões até 2023 (FISH 2.0, 2017). Com uma grande

predominância de produção por países do Leste e Sudeste asiáticos, as espécies mais significativas no cultivo e produção de macroalgas estão listadas na **Tabela 1**.

Tabela 1 - Principais espécies de algas cultivadas no mundo em milhares de toneladas, entre 2000 e 2018.

	2000	2005	2010	2015	2016	2017	2018
Milhares de Toneladas (peso vivo)							
Kelp japonês (<i>Laminaria japonica</i>)	5.380,9	5.699,1	6.525,6	10.302,7	10.662,6	11.174,5	11.448,3
Macroalga euchema nieol ¹ (<i>Euchema spp.</i>)	215,3	986,9	3.479,5	10.189,8	9.775,9	9.578,0	9.237,5
Macroalga Gracilaria (<i>Gracilaria spp.</i>)	55,5	933,2	1.657,1	3.767,0	4.248,9	4.174,2	3.454,8
Wakame (<i>Undaria pinnatifida</i>)	311,1	2.439,7	1.505,1	2.215,6	2.063,5	2.341,7	2.320,4
Nori nieol (<i>Porphyra spp.</i>)	424,9	703,1	1.040,7	1.109,9	1.312,9	1.733,1	2.017,8
Musgo marinho Elkhorn (<i>Kappaphycus alvarezii</i>)	649,5	1.283,5	1.884,2	1.751,8	1.524,5	1.545,2	1.597,3
Algás pardas (<i>Phaeophyceae</i>)	2852,8	1.827,2	3.021,2	436,8	805,0	666,6	8915
Laver (<i>Porphyra tenera</i>)	529,2	584,2	565,2	688,5	713,4	831,2	855
Hikiji (<i>Sargassum fusiforme</i>)	12,1	115,6	97	209,3	216,4	254,6	268,7
Eucheuma espinhosa (<i>Eucheuma denticulatum</i>)	84,3	171,5	258,7	274	214	193,8	174,9
Spirulina nieol (<i>Spirulina spp.</i>)	...	48,5	93,5	81,2	73,4	72,0	69,6
Macroalgas nieol	32,5	13,6	8,9	15,2	15,8	20,0	22,5
Outras algas	47,4	25,2	37,6	22,1	24,2	28,1	27,8
Total	10.595,6	14.831,3	20.174,3	31.063,8	31.650,5	32.612,9	32.386,2

Fonte: FAO (2020). Legenda: ¹nieol – Não Incluída Em Outro Lugar; (...) – Sem produção, ou sem dados disponíveis.

Focando no mercado brasileiro, verifica-se que, num período de dez anos (1997 - 2017), o país importou 20,3 mil toneladas em biomassa e compostos bioativos de origem algácea, tendo um retorno de, aproximadamente, 79,45 milhões de dólares. Entretanto, no mesmo período, o país exportou apenas 2 mil toneladas, equivalente a um valor de US\$ 2,4 milhões (DANTAS, 2018).

O potencial biotecnológico das algas marinhas é bastante diversificado, podendo ser empregado direta ou indiretamente em diversos setores, como: farmacêutico, alimentício e alimentar, agrícola, bioenergético e cosmético (PEREIRA,

2018; THIYAGARASAIYAR *et al.*, 2020; NURJANAH *et al.*, 2016; GARCÍA-POZA *et al.*, 2020; COTAS *et al.*, 2020). Na economia mundial o setor de cosméticos apresenta-se entre um dos mais lucrativos e em constante crescimento. Segundo o Eurostat, o mercado de cosméticos prevê uma receita total anual de US\$ 170 bilhões (JESUMANI *et al.*, 2019; ARORA *et al.*, 2012). Em 2016, o mercado europeu de cosméticos foi estimado em € 77 bilhões, seguido pelos países da América do Norte e do Sul, respectivamente EUA e Brasil (WANG *et al.*, 2015; JESUMANI *et al.*, 2019).

Essa análise sugere que a indústria cosmética se apresenta como um mercado em expansão, onde a inovação também é priorizada, levando à pesquisa e busca por novos produtos, uma vez que, atualmente, produtos de base natural são preferidos entre os consumidores (PEREIRA, 2018; JESUMANI *et al.*, 2019). Há também grande atenção sobre os pigmentos das macroalgas, principalmente das vermelhas, como as ficocianinas e as ficoeritinas. Por exemplo, a autoridade regulatória competente norte-americana, Food and Drug Administration, autorizou a aplicação de ficocianina, geralmente produzida por macroalgas vermelhas, como aditivo de cor natural nas indústrias de alimentos e cosméticos (THIYAGARASAIYAR *et al.*, 2020). Estes pigmentos tornam-se moléculas de alto potencial de aplicação biotecnológica, como mostra a **Figura 2**, sobretudo porque há uma carência de corantes naturais na indústria GLAZER, 1984; REIS *et al.*, 1998; SCHIOZER; BARATA, 2007).

Figura 2 - Aspecto da coloração dos pigmentos azul e vermelho purificados da macroalga marinha *Hypnea musciformis*.



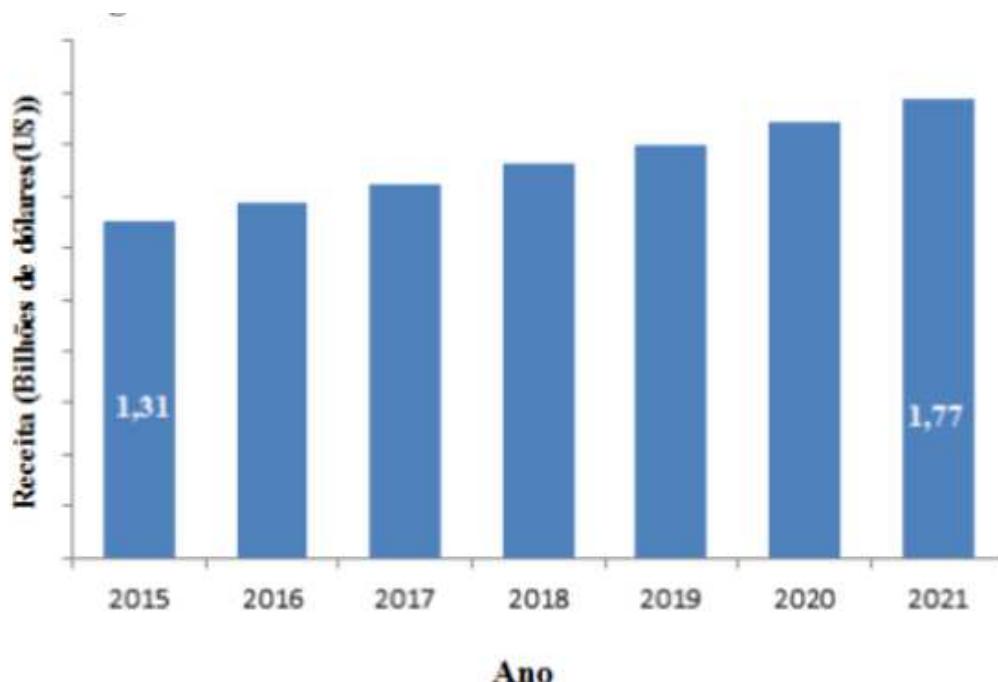
Fonte: Costa (2016)

Tais pigmentos ganham importante destaque, em relação aos já conhecidos corantes sintéticos, principalmente por serem compostos atóxicos e não carcinogênicos (HEMLATA; FATMA, 2009). Dessa forma, a aplicação de pigmentos obtidos de macroalgas marinhas tem despertado o interesse de algumas das principais empresas da

indústria cosmecêutica, como Unilever (Reino Unido), L’Oreal (França), Henkel e Beiersdorf (Alemanha) (THIYAGARASAIYAR *et al.*, 2020; COUTEAU; COIFFARD, 2020).

O crescimento anual de corantes sintéticos tem girado em torno de 2 a 5%, enquanto o de corantes naturais gira em torno de 5 a 10% (SCHIOZER; BARATA, 2007; RODRIGUES, 2015), um indicativo de que o mercado tem cada vez mais se voltado para este lado. Segundo o relatório de mercado elaborado pela Zion Market Research, em 2015, os corantes naturais representaram 55% do mercado mundial de corantes, um valor equivalente a 1,31 bilhões de dólares. A expectativa é que, para este ano, estes produtos atinjam 60% do mercado de corantes (**Figura 3**).

Figura 3 - Valores da receita do mercado mundial de corantes.



Fonte: Adaptado de Zaion Research (2016)

A legislação brasileira permite o uso de dezenove corantes artificiais, que estão apresentados na **Tabela 2**, junto ao seu número de SNI (Sistema de Numeração Internacional) (BRASIL, 2015). Além disso, a consolidação de pautas ecológicas fez com que a utilização destes corantes nas indústrias alimentícia, farmacêutica e de cosméticos se tornasse uma exigência por parte dos consumidores (MORITZ, 2005).

Tabela 2 – Corantes Artificiais permitidos e seus respectivos códigos de rotulagem.

Corante Artificial	SNI
Tartrazina, laca de Al	102
Amarelo de quinoleína	104
Amarelo sunset, amarelo crepúsculo FCF, laca de Al	110
Azorrubina	122
Amaranto, bordeaux S, laca de Al	123
Ponceau 4R, laca de Al	124
Eritrosina, laca de Al	127
Vermelho 2G	128
Vermelho 40, vermelho allura AC, laca de Al	129
Azul patente V, laca de Al	131
Indigotina, carmim de índigo, laca de Al	132
Azul brilhante FCF, laca de Al	133
Verde rápido FCF, verde indelével, fast green FCF, laca de Al	143
Negro brilhante BN, negro PN	151
Marrom HT	155
Litol rubina BK	180

Fonte: Informe Técnico nº. 68/2015 – GEARE/GGALI/ANVISA (BRASIL, 2015)

As vantagens dos corantes naturais são diversas, o que justifica o fato de que, apesar do alto custo de produção, 55% das indústrias acreditam e investem na tendência de maior consumo desses tipos corantes (EMBRAPA, 2009). Além disso, as limitações dos corantes sintéticos têm encorajado o desenvolvimento de pigmentos naturais para utilização em alimentos através do descobrimento de novas fontes. O Brasil, por ser o país de maior biodiversidade mundial, (BRANDON *et al.*, 2005; FERRO; BONACELLI; ASSAD, 2006) possui matéria-prima suficiente para realização de pesquisa básica e aplicada, com a finalidade de obter novas fontes de corantes naturais, embora essa área ainda seja pouco estudada (SATO *et al.*, 1992).

Ainda se tratando da utilização desses pigmentos, a ficoeritrina, extraída macroalga *Solieria filiformis*, foi utilizada como corante em formulações de iogurte de morango (BRITO, 2017). Apesar da ampla aplicação dessas proteínas, as ficobiliproteínas de macroalgas ainda são consideravelmente subaproveitadas. O mercado apresenta uma demanda considerável para essas biomoléculas, que possuem um alto valor comercial (com base no grau de pureza), como mostrado na **Tabela 3**. Sekar *et al.* (2008) apresentou a existência de, aproximadamente, 300 patentes associadas ao tema “ficobiliproteínas” depositadas em diversos bancos ao redor do mundo, sendo a maioria nos Estados Unidos e no Japão. Buowitzka (2013) estimou o mercado global de ficobilinas em mais de US\$ 60 milhões.

Tabela 3 – Valor comercial de ficobiliproteínas

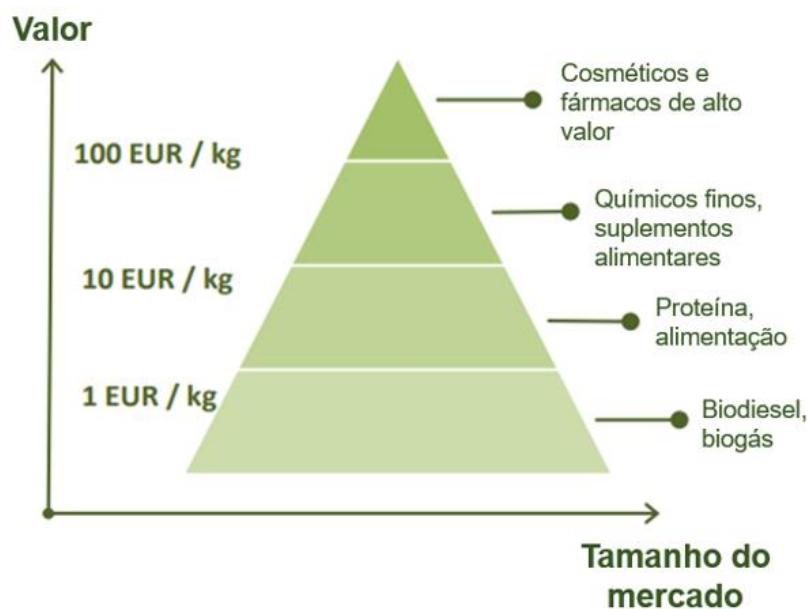
Molécula	Prefixo	Marca	Valor (em US\$/mg)	Referência
Ficoeritrina (FE)	B	Columbia Biosciences	20,80	(BIOSCIENCES, 2021a)
	R	Columbia Biosciences	22,80	(BIOSCIENCES, 2021b)
	R	Agilent	26,00	(AGILENT, 2020a)
	B	Sigma-Aldrich	3776,00	(ALDRICH, 2021a)
	R	Sigma-Aldrich	1412,00	(ALDRICH, 2021b)
Ficocianina (FC)	C	Agilent	26,00	(AGILENT, 2020b)
	C	Sigma-Aldrich	1547,00	(ALDRICH, 2021c)
Aloficocianina (AFC)	-	Columbia Biosciences	66,60	(BIOSCIENCES, 2021c)
	-	Agilent	26,00	(AGILENT, 2020c)
	-	Sigma-Aldrich	1968,00 ^a	(ALDRICH, 2021d)

Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: a – AFC vendida em volume de 0,5 mL.

Diversas atividades biológicas das ficobiliproteínas já foram relatadas na literatura, tais como: atividade antioxidante (PALIWAL *et al.*, 2015; SONANI *et al.*, 2017), imunomodulatória (CHEN *et al.*, 2014), anticâncer (PAN *et al.*, 2013),

antiinflamatória (LEE *et al.*, 2017), demonstrando seu amplo potencial de aplicação também no ramo da indústria farmacêutica. A **Figura 4** apresenta e exemplifica a relação mercado *versus* valor agregado potencial para derivados de macroalgas, mostrando quais compostos possuem esse maior potencial de aplicação no mercado.

Figura 4 - Relação mercado *versus* potencial de valor agregado das biomoléculas e produtos derivados de macroalgas marinhas.



Fonte: Fish 2.0 (2017). Traduzido por Peixoto (2020).

É sabido que diversos compostos extraídos de macroalgas, como os polissacarídeos, são substâncias naturalmente ativas e também possuem importantes aplicações. Ágar, carragenanas e fucoidanas, por exemplo, são bastante conhecidas por terem vasta aplicação na indústria alimentícia, farmacêutica e biotecnológica (PENGZHAN *et al.*, 2003). Apesar da ampla aplicação dessas proteínas e do grande volume de produção de macroalgas no mundo, verifica-se que as ficobiliproteínas desses organismos ainda são subaproveitadas. Além disso, o mercado de corantes destinados a alimentos projeta 3,75 bilhões de dólares para 2022, com grande tendência e participação dos pigmentos naturais (MARKETSANDMARKET, 2017 apud ARYEE; AGYEI; AKANBI, 2018).

As macroalgas, ainda, apresentam alto potencial para obtenção de produtos de uso agrícola (DAPPER *et al.*, 2014), como sua utilização como fertilizante orgânico do solo, com o intuito de gerar uma maior produtividade de cultivares no campo (ABDEL-RAOUF N, 2012; CALVO; NELSON; KLOEPPER, 2014). Oliveira (2017)

também evidenciou o potencial de um extrato bruto da macroalga vermelha *Gracilaria birdiae* como biofertilizante para culturas de alface (*Lactuca sativa*). Rathore *et al.* (2009) avaliou o efeito do extrato aquoso de *Kappaphycus alvarezi* sobre o crescimento, rendimento e assimilação de nutrientes em culturas de soja. Jimenéz *et al.* (2011) avaliou a atividade inibitória da macroalga vermelha *Gracilaria chilensis* no crescimento do fungo *Phytophtora cinnamomi*. Segundo o portal GlobalFert (2019), o mercado global de bioestimulantes de algas deve alcançar a marca de 17,1 milhões de dólares até 2025.

Embora estas sejam relativamente fáceis e baratas de se cultivar, a maior parte do valor econômico das macroalgas é agregada apenas durante o processamento e extração de seus compostos de interesse (FISH 2.0, 2018). Portanto, o refinamento, e a integração vertical, dos métodos de produção, com o processamento do valor agregado pode vir a promover um maior desenvolvimento econômico deste setor. Visando o aproveitamento máximo da biomassa macro algácea, surge o conceito de biorrefinaria, que é identificado como o caminho mais promissor de uma indústria baseada na biomassa, por adotar uma abordagem de produção em cascata que visa a recuperação de vários compostos de algas, valorizando a biomassa completa e melhorando a economia da cadeia de valores (BASTIAENS *et al.*, 2017; TRIVEDI *et al.*, 2015).

“Biorrefinar”, segundo Agência Internacional de Energia (AIE) (do inglês, International Energy Agency – IEA), é “o processamento sustentável de utilização de biomassa em um espectro de produtos comercializáveis (alimentos, rações, materiais e produtos químicos) e energia (combustíveis, energia, calor)” (SONNENBERG; BAARS; HENDRICKX, 2007). As algas, como um grupo, permanecem relativamente pouco exploradas e, portanto, oferecem uma grande oportunidade para o aprimoramento de desempenho e funcionalidade em relação a vários parâmetros desejados. Devido à sua alta diversidade de espécies, os produtos de algas podem ser selecionados para requisitos altamente especializados. Diferenciar na funcionalidade, ao invés de competir no preço, será a chave para estabelecer as algas como uma alternativa viável para alguns dos produtos de alto volume em rações, alimentos e cosméticos (FISH 2.0, 2018).

Nessa perspectiva e visando mostrar a importância ambiental e econômica da biomassa algácea e dos seus derivados é que o nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo métodos de cultivo, prospectando, estabelecendo e otimizando processos de extração de moléculas bioativas e desenvolvendo bioprocessos para obtenção de químicos e biocombustíveis utilizando macroalgas (LOPES, 2018). Lima (2012) avaliou

o cultivo de *Solieria filiformis* por esporulação natural no mar, enquanto Alves (2016) avaliou o cultivo de *Gracilaria birdiae* também no mar. Por sua vez, Holanda (2016) e Maia (2016) desenvolveram cultivos de *G. birdiae* e *Gracilaria cornea*, respectivamente, sob condições de laboratório.

1.2 Algas Marinhas: características gerais e classificação.

As macroalgas podem ser classificadas de acordo com sua organização celular, com os tipos e combinações de pigmentos fotossintéticos produzidos, substâncias de reserva, componentes da parede celular e substância de reserva, conforme apresentado na **Tabela 4**. Uma vez que apresentam origem polifilética, são atualmente distribuídas em dois reinos: as macroalgas verdes e vermelhas pertencem ao reino Plantae, enquanto que as macroalgas marrons pertencem ao Reino Chromista (LIN; QIN, 2014; MAKKAR *et al.*, 2016). De acordo com Makkar *et al.* (2016), as macroalgas podem ser classificadas, também, nos seguintes filos:

- **Chlorophyta:** possui coloração verde, principalmente, pela predominância das clorofilas a e b, apesar de também possuir caroteno e xantofila, com predominância de β -caroteno. Os principais gêneros desse filo incluem *Ulva*, *Codium*, *Enteromorpha*, *Chaetomorpha* e *Cladophora*.
- **Ochrophyta:** possui coloração marrom, principalmente pela presença de ficoxantina. Seus principais gêneros incluem *Ascophyllum*, *Laminaria*, *Saccharina*, *Macrocystis*, *Nereocystis* e *Sargassum*.
- **Rhodophyta:** possui coloração vermelha devido à predominância do pigmento ficoeritrina. Os principais gêneros incluem *Pyropia*, *Porphyra*, *Chondrus*, *Palmaria* e *Gracilaria*.

Tabela 4 - Organização celular, Pigmentos, Substâncias de Reserva e Componentes da Parede Celular de Macroalgas Marinhas Verdes, Marrons e Vermelhas.

Filo	Organização celular	Pigmentos fotossintéticos	Substância de reserva	Componentes da parede celular
Chlorophyta (algas verdes)	Uni ou Pluricelular	Clorofila <i>a</i> , <i>b</i> , carotenóides	Amido	Celulose, carbonato de cálcio em algas calcárias
Rhodophyta (algas vermelhas)	Pluricelular	Clorofila <i>a</i> , ficobilinas (ficoeritrina e ficocianina), carotenóides.	Amido	Ágar, carragenana, carbonato de cálcio em algas coralinas
Rhodophyta (algas vermelhas)	Pluricelular	Clorofila <i>a</i> , ficobilinas (ficoeritrina e ficocianina), carotenóides.	Amido	Ágar, carragenana, carbonato de cálcio em algas coralinas

Fonte: Modificado de Morais *et al.* (2021)

1.2.1 Filo Rhodophyta

O grupo de algas vermelhas é constituído por macroalgas marinhas e também microalgas unicelulares de vida livre (BARSANTI; GUALTIERI, 2006). Esta divisão constitui uma das principais linhagens monofiléticas dentro dos eucariotos e, segundo Yoon *et al.* (2006), está subdividida em seis classes: *Bangiophyceae*, *Compsopogonophyceae*, *Florideophyceae*, *Porphyridiophyceae*, *Rhodellophyceae* e *Stylonematophyceae*. Cerca de 700 gêneros e 7.000 espécies de algas compõem esse filo e, apesar de estarem presentes, predominantemente, em ecossistemas marinhos, também podem ser encontradas em ambientes de água doce e terrestres (FRANCESCHINI *et al.*, 2010; GUIRY, 2021).

Uma das vantagens evolutivas das algas vermelhas é a presença majoritária de pigmentos acessórios azuis e vermelhos, o que possibilita a sobrevivência dessas algas em profundidades onde a luz quase não penetra (FRANCESCHINI *et al.*, 2010). Estes pigmentos acessórios, que geralmente denotam a cor do talo da alga, são conhecidos como “ficobiliproteínas” (BAWEJA *et al.*, 2016).

O aparato fotossintético das *Rhodophytas* apresenta as ficobiliproteínas como principal pigmento atuando na absorção de luz. Os ficobilissomos são aglomerados polipeptídicos dessas ficobiliproteínas presentes na membrana do tilacóide das macroalgas vermelhas. Em algumas algas vermelhas a coloração varia com a razão ficoeritrina/ficocianina (VAN DEN HOEK *et al.*, 2009).

No litoral brasileiro há ocorrência de várias espécies de macroalgas vermelhas, e, na costa cearense, a espécie *Solieria filiformis* é abundante. Essa espécie tropical é uma fonte sustentável de ficobiliproteínas, principalmente da R-ficoeritrina (BASTOS-FILHO, 2016), um pigmento pertencente ao grupo das ficoeritrinas, conhecidas por sua coloração vermelha e fluorescência laranja/dourada (ALBERTSSON, 2003). Além disso, as macroalgas vermelhas contêm, também, polissacarídeos sulfatados denominados galactanas, classificados em carragenanas ou ágares, bastante utilizados como agentes espessantes e gelificantes na indústria alimentícia (FRANCESCHINI *et al.*, 2010).

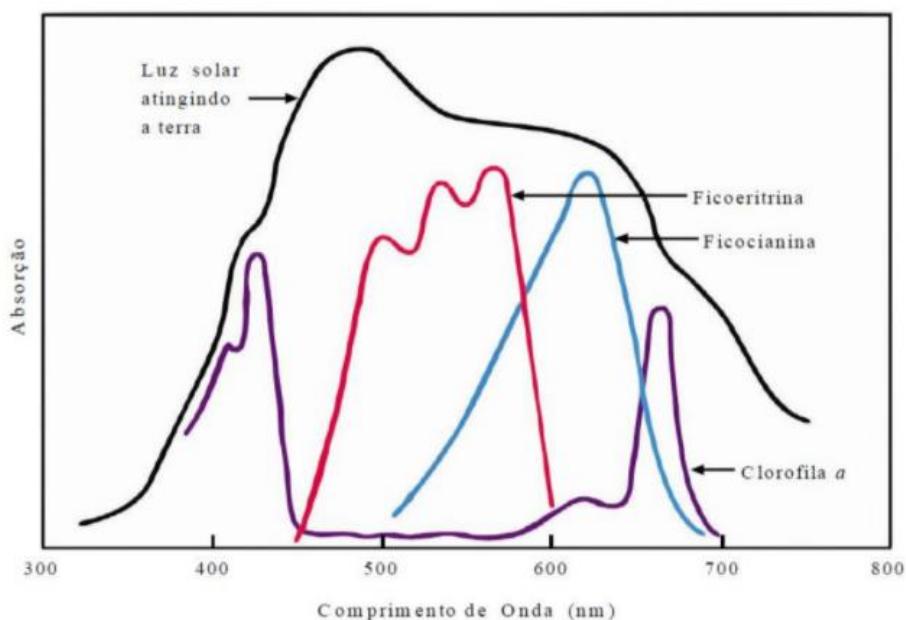
1.3 Propriedades estruturais e espectroscópicas das ficobiliproteínas.

As ficobiliproteínas, encontradas principalmente em *Rhodophytas*, são uma família de complexos protéicos hidrossolúveis, tendo a sua cor e as suas características espectrais decorrentes da presença de grupos prostéticos lineares tetrapirrólicos (bilinas ou ficobilinas), as quais estão ligadas covalentemente, via ligações tioéter, aos resíduos de cisteína da porção proteica (JIANG; ZHANG; LIANG, 1999; MANIRAFASHA *et al.*, 2016).

Segundo Lourenço (2006), a ficobilina trata-se de um pigmento fotossintético que, para apresentar atividade, necessita de uma proteína acoplada a sua estrutura. Em *Rhodophytas*, o conteúdo relativo dessas proteínas é alto, podendo chegar a 50% do total de proteínas hidrossolúveis (GANTT AND LIPSCHULTZ, 1974; KE, 2001) e pode representar até 20% da alga seca (BOGORAD, 1975).

De acordo com suas propriedades de absorção de luz, as ficobiliproteínas podem ser classificadas em quatro classes distintas, de acordo com seus comprimentos de onda máximos (λ_{max}) na região do espectro de absorção da luz visível, como apresenta a **Figura 5**, sendo: ficoeritrina (FE) ($\lambda_{\text{max}} = 495\text{-}570$ nm), ficoeritrocianina (FEC) ($\lambda_{\text{max}} = 575$ nm), ficocianina (FC) ($\lambda_{\text{max}} = 610\text{-}620$ nm) e aloficocianina (AFC) ($\lambda_{\text{max}} = 650\text{-}655$ nm) (BRYANT; GLAZER; EISERLING, 1976; GLAZER, 1984).

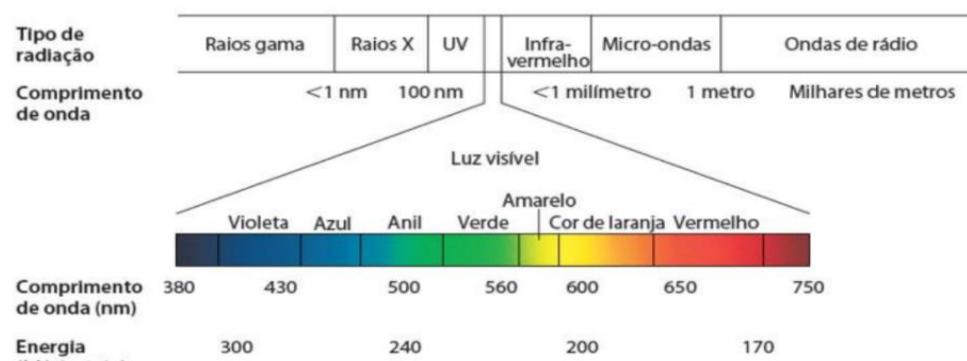
Figura 5 - Espectro de Absorção dos Pigmentos Fotossintetizantes Ficoeritrina, Ficocianina e Clorofila *a* presentes em Macroalgas Vermelhas.



Fonte: Adaptado de Nelson e Cox (2014).

As ficobiliproteínas estão estruturalmente organizadas em complexos proteicos supramoleculares denominados ficobilissomos, os quais estão situados na membrana externa dos tilacóides (APT; COLLIER; GROSSMAN, 1995; GANTT, 1980). Os ficobilissomos constituem eficientes cadeias de transferência de radiação eletromagnética do espectro da luz visível (**Figura 6**), sendo capazes de absorvê-la em comprimentos de onda (450-670 nm) em que a clorofila *a* é ineficiente, fornecendo energia suficiente para canalizar uma série de reações de transferência de elétrons para o centro de reação do fotossistema II, integrando uma complexa e eficiente cadeia de transmissão essencial à fotossíntese (GLAZER, 1989; SFRISO; GALLO; BALDI, 2018, NELSON; COX, 2014).

Figura 6 - Radiação eletromagnética.



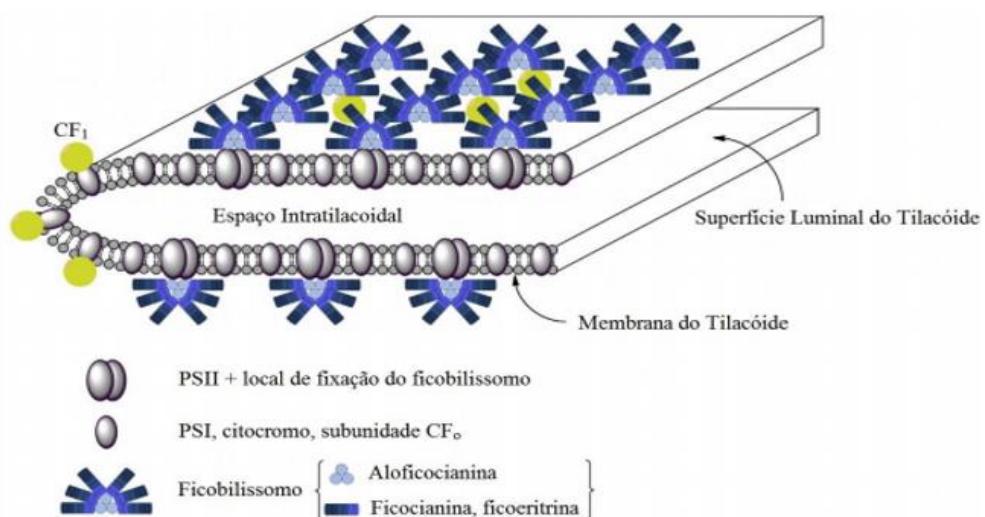
Fonte: Nelson e Cox (2019)

A determinação experimental da efetividade da luz de diferentes cores em promover a fotossíntese gera um espectro de ação, normalmente útil na identificação do pigmento primariamente responsável por um efeito biológico da luz (NELSON; COX, 2019). Os organismos fotossintetizantes ajustam sua estrutura de captação de luz para absorver os vários comprimentos de onda de luz desse espectro, que varia com a profundidade da água (GRAHAM; GRAHAM; WILCOX, 2009; KAISER *et al.*, 2011). Ou seja, captando luz na região do espectro não utilizada por outros organismos, um organismo fotossintético pode ocupar um nicho ecológico singular (NELSON; COX, 2019).

Sendo assim, a água atua como um filtro, gerando o processo conhecido por “aclimatação cromática complementar”, que produz dois tipos principais de organismos fotossintetizantes aquáticos: os que crescem em águas rasas e tendem a conter ficobiliproteínas especializadas em absorver a luz amarela/vermelha (FC), e os que estão em águas mais profundas, e que tendem a conter ficobiliproteínas especializadas em absorver a luz verde/azul (FE), que é a luz mais abundante em altas profundidades (GLAZER; STRYER, 1984; KEHOE, 2010; KEHOE; GUTU, 2006; NELSON; COX, 2019; SAGERT; SCHUBERT, 1995).

A principal função desse coletor de fótons é a sobrevivência dos organismos em ambientes com baixa intensidade de luz (GLAZER, 1989; KE, 2001). Além disso, eles são encontrados na parede externa do tilacóide (estroma), como mostra a **Figura 7**, e são constituídos por uma associação de ficobiliproteínas e peptídeos de ligação (LUNDELL; WILLIAMS; GLAZER, 1981; APT; COLLIER; GROSSMAN, 1995).

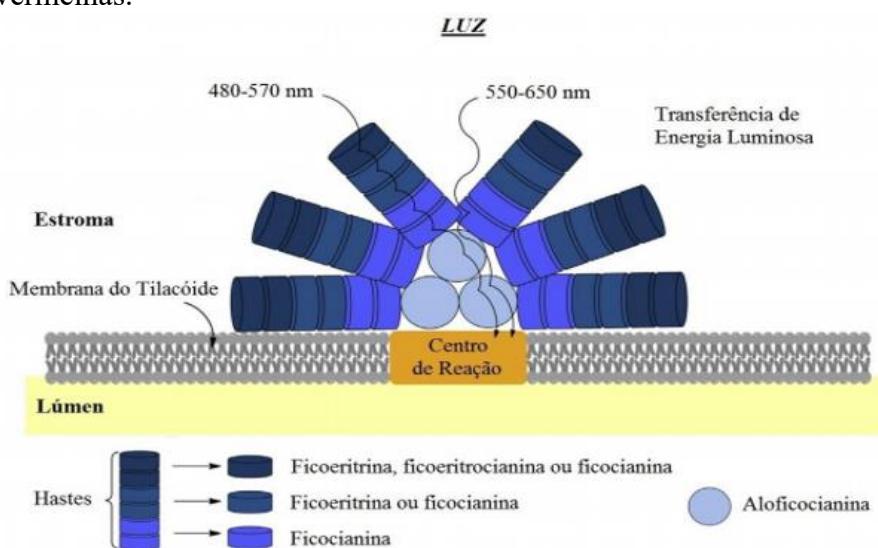
Figura 7 - Representação esquemática da membrana do tilacóide e dos ficobilissomos.



Fonte: Dumay *et al.*, 2014. Legenda: PS - Fotossistema; CF - Fator de acoplamento.

A estrutura dos ficobilissomos (**Figura 8**) funciona como uma antena capaz de absorver energia a qual é diretamente transferida para o centro de reação fotossintético II, com eficiência de captação e transferência de energia próximos a 100%, *in vivo* (GLAZER, 1989; MURAMATSU; HIHARA, 2012). A transferência de energia se dá a partir da disposição espectral dos pigmentos (**Figura 9**), isto é, a energia absorvida pela ficoeritrina é transmitida para a ficocianina, em seguida para a aloficocianina, e, enfim, para a clorofila a do centro de reação, por transferência de excitons (GLAZER; HIXSON, 1975; HURD *et al.*, 2014; NELSON; COX, 2014; PARMAR *et al.*, 2011).

Figura 8 - Representação da estrutura de um ficobilissomo encontrado em macroalgas vermelhas.



Fonte: Dumay *et al.* (2014)

Figura 9 - Via de transferência de energia luminosa através de ficobilissomos.



Fonte: Dumay *et al.* (2014)

Além de aumentar o espectro de captação de luz, as ficobiliproteínas têm como segunda função atuar como reserva de nitrogênio, onde, em situações de carência, as proteínas que as compõem são degradadas, eliminando os ficobilissomos e liberando nitrogênio para os processos metabólicos essenciais, ocasionando uma mudança de coloração nas algas para um tom esverdeado, e por consequência, realizando menos fotossíntese (LOURENÇO, 2006; JOHNSON; KUMAR; DAS, 2014).

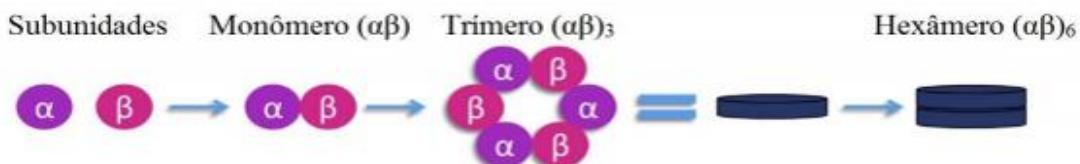
Nas macroalgas vermelhas, os ficobilissomos assumem uma estrutura hemi-elipsoidal, compondo-se de duas subestruturas distintas, sendo elas: haste e núcleo. Este último é essencialmente composto por aloficocianinas (AFC). As hastes, por sua vez,

são constituídas por fíocianina e ficoeritrina. O pigmento de maior energia fica situado na ponta da haste (FE), enquanto o de menor energia fica alojado na sua base (FC) (DUMAY *et al.*, 2014; GLAZER *et al.*, 1983; GLAZER, 1984).

A conexão entre as hastes, o núcleo e a membrana do tilacóide se dá pelos peptídeos de ligação, que, a depender da espécie, podem representar cerca de 15 % do total de proteínas dos fíobilissomos (DE MARSAC; COHEN-BAZIRE, 1977). Suas principais funções, são: fixar a estrutura do fíobilissomo ao tilacóide e oferecer estabilidade a essa estrutura, assegurando a coesão entre as fíobiliproteínas (DUMAY *et al.*, 2014). Os polipeptídios de ligação são classificados em três tipos de acordo com sua massa molecular: o peptídeo de ligação do núcleo a membrana (LCM) com massa molecular que varia de 70 a 120 kDa, tendo como função ligar o núcleo do fíobilissomo a membrana do tilacóide, e, também, atuar como receptor final de éxitons contribuindo para a transferência dessa energia para o centro de reação; o peptídeo de ligação LC (9-12 kDa) que tem, por finalidade, a montagem e a fixação do núcleo do fíobilissomo; e, por fim, o peptídeo de ligação LRC (25-35 kDa) que tem, por função, estabilizar a estrutura da fíobiliproteína e fazer a conexão da haste do fíobilissomo ao seu núcleo (DUCRET *et al.*, 1998; GLAZER, 1984).

As fíobiliproteínas são constituídas por duas subunidades diferentes (α e β) e uma terceira subunidade (γ), encontrada nas ficoeritrinas, atuando como peptídeo de ligação (GALLAND-IRMOULI *et al.*, 2000; GLAZER *et al.*, 1975). As subunidades estão dispostas na forma de discos hexaméricos, como mostra a **Figura 10**.

Figura 10 - Formação dos Discos Hexaméricos das Fíobiliproteínas.



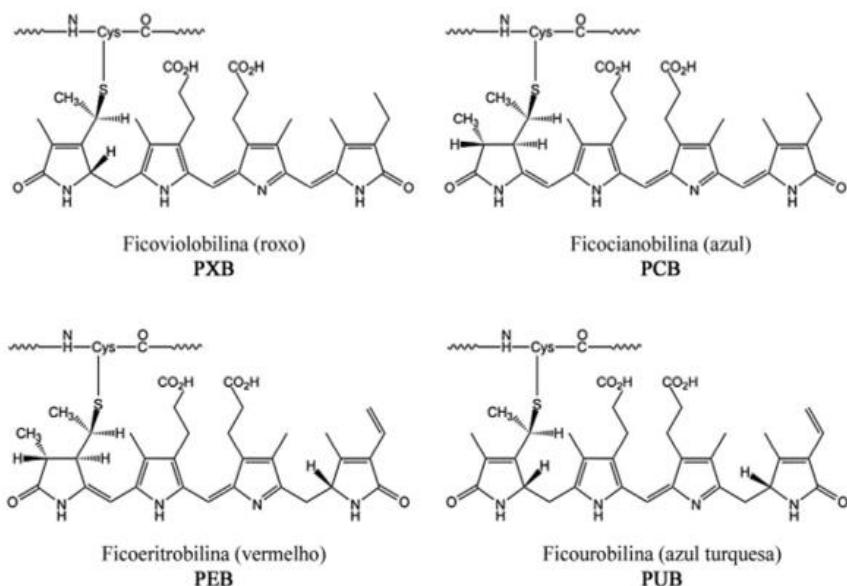
Fonte: Adaptado de Dumay *et al.* (2014).

Todas as principais fíobiliproteínas são oligômeros de um monômero $\alpha\beta$, onde α e β são cadeias polipeptídicas diferentes de aproximadamente 160-180 resíduos de aminoácidos (GLAZER, 1984). A ficoeritrina, por sua vez, é encontrada tanto na forma hexamérica, com as subunidades α e β e γ $[(\alpha\beta)6\gamma]$, como sem a subunidade gama γ $[(\alpha\beta)6]$, variando de acordo com o tipo de ficoeritrina isolada; a ficoeritrocianina pode

ser encontrada tanto na forma trimérica $[(\alpha\beta)3]$, como na forma hexamérica $[(\alpha\beta)6]$; a ficocianina é encontrada, no pH 5-6, na forma hexamérica $[(\alpha\beta)6]$ e, no pH 7, na forma trimérica $[(\alpha\beta)3]$ e a aloficocianina é comumente encontrada na forma trimérica $[(\alpha\beta)3]$ (DUMAY et al., 2014; GLAZER, 1984; WANG et al., 2015).

Há uma ou mais ficobilinas ligadas, pelos resíduos de cisteína, a cada subunidade de ficobiliproteína, separando-se em quatro diferentes tipos: ficoeritrobilina (PEB, $\lambda_{max} = 560$ nm), ficourobilina (PUB, $\lambda_{max} = 450$ nm), ficocianobilina (PCB, $\lambda_{max} = 620$ -650 nm) e ficoviolobilina (PXB, $\lambda_{max} = 575$ nm) (DUMAY et al., 2014; GLAZER, 1985, 1984; ISAILOVIC; LI; YEUNG, 2004; ZHAO et al., 2015). Suas estruturas químicas estão representadas na **Figura 11**.

Figura 11 - Estruturas Químicas das Ficobilinas.



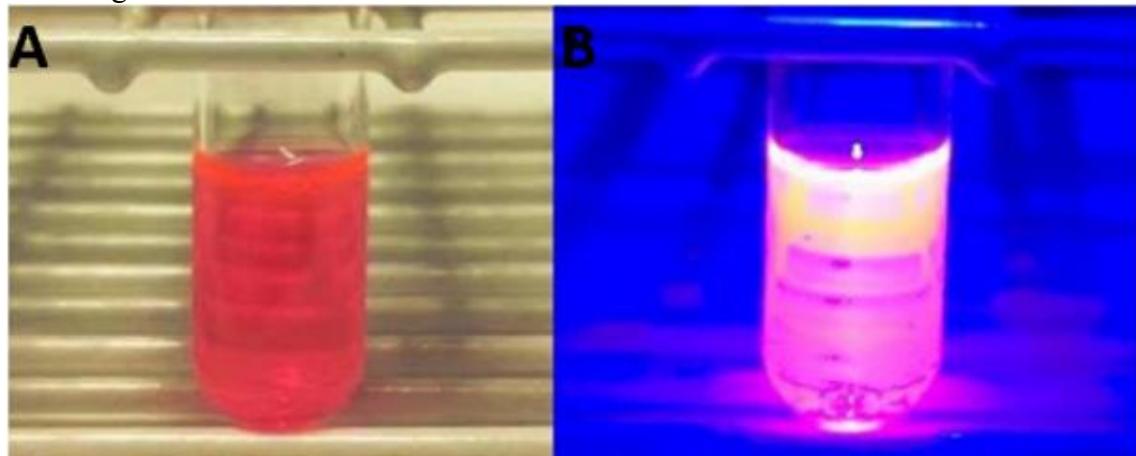
Fonte: Dumay et al. (2014), tradução nossa.

PEB é encontrada nas C-Ficoeritritas, R-Ficoeritritas, B-Ficoeritritas e ficocianinas, PUB é encontrada nas R-Ficoeritritas e B-ficoeritritas, PCB é encontrada nas ficocianinas, aloficocianinas e ficoeritrocianinas, e PXB é encontrada nas ficoeritrocianinas, fazendo com que os tipos de ficobilinas presentes nos organismos variem de espécie para espécie, conservando os locais de ligação das ficobilinas (APT; COLLIER; GROSSMAN, 1995; ISAILOVIC; LI; YEUNG, 2004; NIU; WANG; TSENG, 2006).

1.3.1 Ficoeritrinas (FE)

As ficoeritrinas são os principais pigmentos encontrados nas macroalgas vermelhas, sendo amplamente distribuídas entre os grupos taxonômicos. Em relação às características espectroscópicas, constituem o grupo mais variável das ficobiliproteínas (HOFFMANN; TALARICO; WILMOTTE, 1990; GLAZER, 1994). Elas também são conhecidas por representarem a classe das ficobiliproteínas mais dinâmicas, devido aos seus picos de absorção e a sua emissão de fluorescência (em torno de 575 nm), como mostra a **Figura 12** (SUN *et al.*, 2003), facilitando a adaptação das macroalgas vermelhas frente às alterações ambientais (RODRÍGUEZ *et al.*, 1991)

Figura 12 - Fluorescência da R-Ficoeritrina de *Solieria filiformis*. Pico da cromatografia de troca iônica.



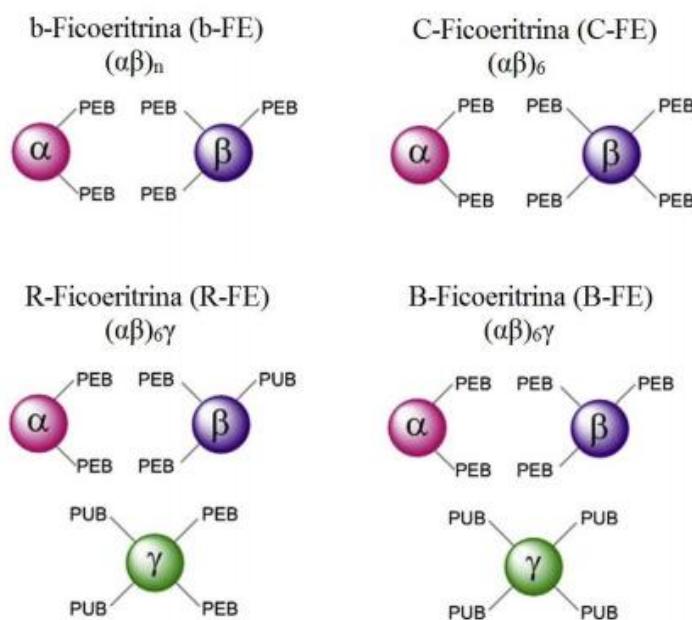
Fonte: Bastos-Filho, 2016. Legenda: A - Coloração da R-Ficoeritrina sob luz branca; B – Fluorescência da R-ficoeritrina sob luz azul.

De acordo com suas características espectrais de absorbância, as ficoeritrinas podem ser divididas em cinco grupos: R-Ficoeritrina (R-PE) [$(\lambda_{\text{max}} = 565 \text{ nm}, 498 \text{ nm e um ombro/pico a } 545 \text{ nm})$] encontrado nas Rhodophytas, B-Ficoeritrina (B-PE) [$(\lambda_{\text{max}} = 565 \text{ nm, } 545 \text{ nm, e um ombro a } 499 \text{ nm})$] encontrado nas algas da ordem Bangiales, b-Ficoeritrina (b-PE) [$(\lambda_{\text{max}} = 545 \text{ nm, e um ombro a } 565 \text{ nm})$], C-Ficoeritrina (C-PE) [$(\lambda_{\text{max}} = 560 \text{ nm})$] e CU-Ficoeritrina (CU-FE) [$(\lambda_{\text{max}} = 498 \text{ nm, } 540 \text{ nm e/ou } 565 \text{ nm})$] encontrado nas cianobactérias (BOGORAD, 1975; GLAZER *et al.*, 1976; BRYANT, 1982; SIDLER, 1994; D'AGNOLO *et al.*, 1993, BERMEJO; TALAVERA; ALVAREZ, 2001; VIDOTTI & ROLLEMBERG, 2004). B-PE e R-PE aparecem como os tipos de ficoeritrina mais abundantes nas macroalgas vermelhas, sendo ambos compostos de complexos $(\alpha\beta)_6\gamma$, com um peso molecular variando entre

240 e 260 kDa (SUN *et al.*, 2009), enquanto C-PE e b-PE são complexos ($\alpha\beta$) sem qualquer subunidade γ . A diferença espectral de absorbância entre os diferentes tipos de ficoeritrinas é justificado pela quantidade de ficobilinas totais presentes em sua estrutura (LUNDELL *et al.*, 1984; CHANG *et al.*, 1996; SUN *et al.*, 2003, 2004; ISAILOVIC; LI; YEUNG, 2004), como mostra a **Figura 13**.

A R-Ficoeritrina é uma proteína oligomérica que possui duas bilinas em sua estrutura: ficoeritobilinas (PEB) e ficourobilinas (PUB). Cada subunidade α possui duas ficoeritobilinas, enquanto a subunidade β possui duas ficoeritobilinas e uma ficourobilina (SEPULVEDA-UGARTE *et al.* 2011). Tanto a ficoeritobilina quanto a ficourobilina conferem um grande espectro de absorção, podendo apresentar diversas interações com a estrutura polipeptídica (GLAZER, 1994). A transferência de energia de ressonância por fluorescência (TERF) da PUB para PEB resulta no pico de emissão máximo de fluorescência a 575 nm (JIANG; ZHANG; LIANG, 1999), que exibe uma intensidade 20 vezes maior do que o relatado para outros pigmentos, como a fluoresceína. (FLEURENCE, 2004).

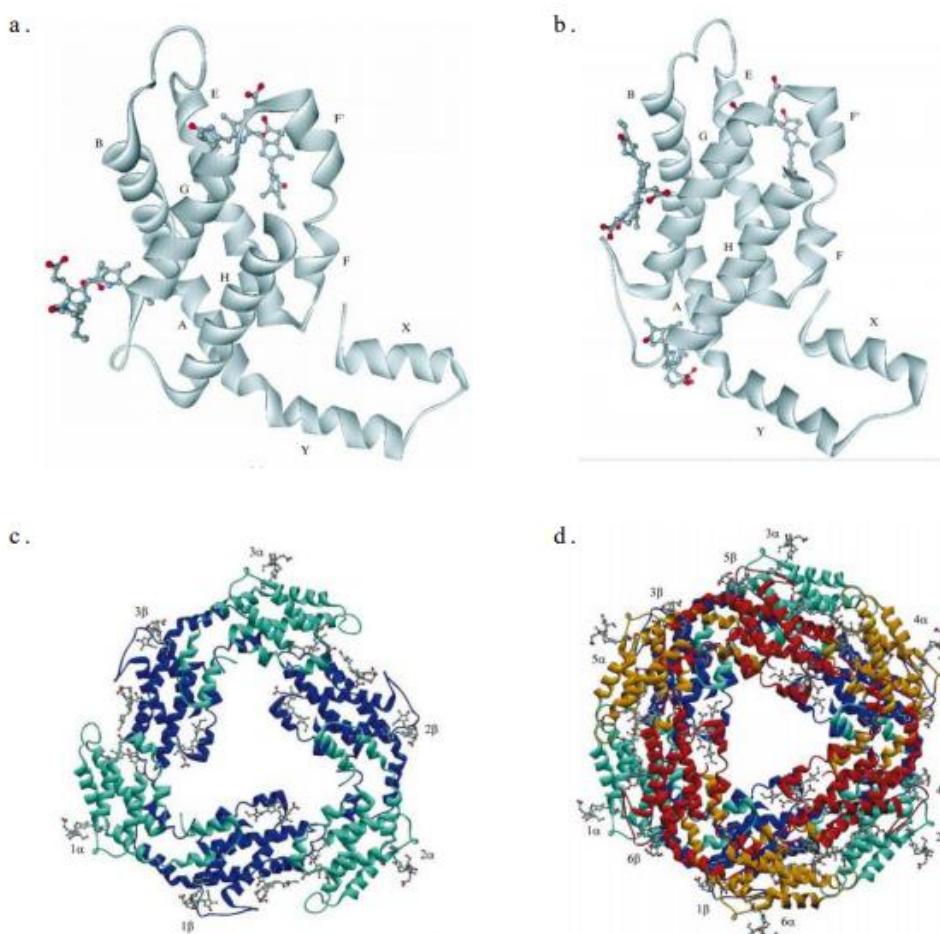
Figura 13 - Representação das estruturas dos tipos de Ficoeritrinas.



Fonte: Adaptado de Dumay *et al.* (2014)

A estrutura tridimensional da R-Ficoeritrina foi determinada através de estudos cristalográficos (CHANG *et al.*, 1996; JIANG; ZHANG; LIANG, 1999; CONTRERAS-MARTEL *et al.*, 2001) da macroalga vermelha *Gracilaria chilensis*, onde foi possível observar a ligação dos cromóforos às subunidades α (Figura 14a) e β (Figura 14b), onde os cromóforos estão representados por bolas e bastões. Os trímeros (Figura 14c) e hexâmeros (Figura 14d), formados pelas subunidades α e β , também foram determinados. Também há relatos de outros estudos de cristais de R-Ficoeritrina de outras macroalgas (CHANG *et al.*, 1996; MIYABE *et al.*, 2017).

Figura 14 - Estrutura tridimensional das subunidades α e β , do trímero e do hexâmero da R-Ficoeritrina da macroalga vermelha *Gracilaria chilensis*.

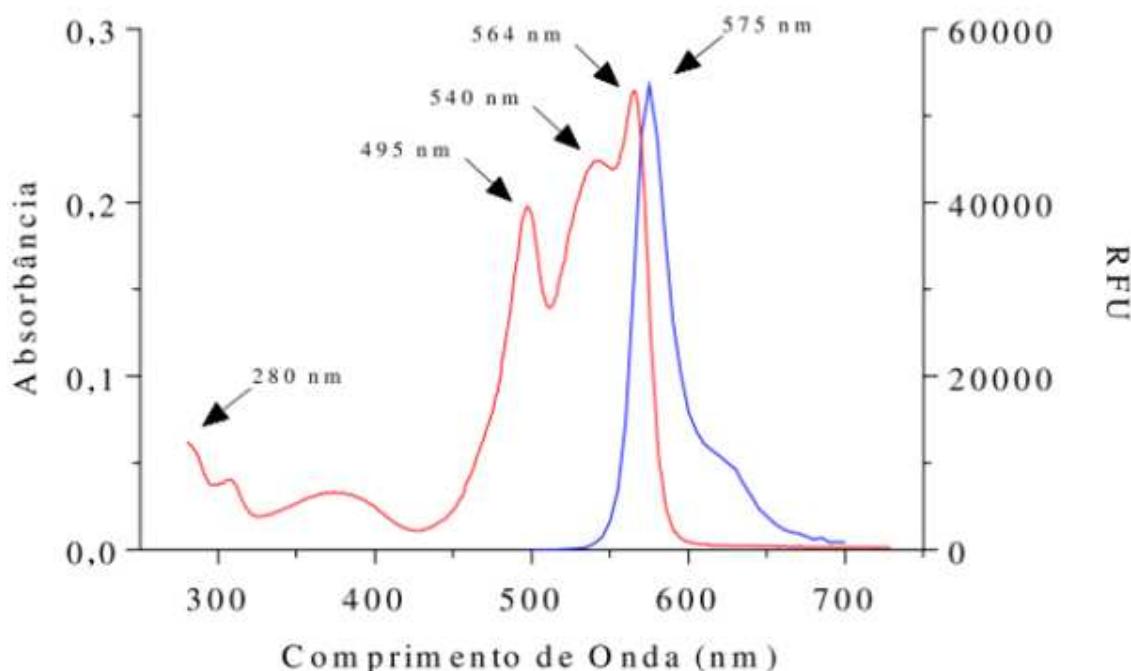


Fonte: Adaptado de CONTRERAS-MARTEL *et al.* (2001). Legenda: (a) estrutura da subunidade α ligada a duas ficobilinas; (b) estrutura da subunidade β ligada a três ficobilinas; (c) estrutura trimérica da R-Ficoeritrina ($\alpha\beta_3$); (d) estrutura hexamérica da R-Ficoeritrina ($\alpha\beta_6$).

A R-ficoeritrina (R-FE), ficobiliproteína extraída de macroalgas Rhodophytas é usada como corante natural vermelho e representa uma alternativa para a redução do uso de pigmentos sintéticos na formulação de cremes e produtos de maquiagem (BEDOUX *et al.*, 2014). Como outras ficobiliproteínas, a R-FE é altamente

solúvel em água e sua natureza protéica sugere muitas aplicações (SEKAR & CHANDRAMOHAN, 2008), entretanto, uma vez que se trata de um composto intracelular, são necessários métodos de rompimento da parede celular para a sua eficiente liberação durante o processo de extração (MITTAL *et al.*, 2017). As características espectroscópicas da R-Ficoeritrina pura, extraída da macroalga vermelha *S. filiformis*, foram relatadas por Bastos-Filho (2016). A **Figura 15** mostra os picos de absorção a 495 e 564 nm, o ombro de absorção a 540 nm e o pico de fluorescência a 575 nm quando excitada a 495 nm.

Figura 15 - Características espectroscópicas da R-Ficoeritrina pura extraída de *Solieria filiformis*



Fonte: Bastos-Filho, 2016. Legenda: Linha vermelha – perfil de absorbância; Linha Azul – perfil de fluorescência. RFU – Unidade Relativa de Fluorescência

1.4 Encapsulamento da R-Ficoeritrina

É sabido que as ficoeritrinas apresentam coloração rosa vibrante, corante bastante atrativo para a indústria, com potencial aplicação no ramo alimentício. O potencial antioxidante destes pigmentos já foi relatado, evidenciando que, seu consumo, pode trazer benefícios à saúde. Entretanto, de acordo com a literatura, a R-FE, quando armazenada em temperatura ambiente, apresenta instabilidade. Esse comportamento também é observado quando da sua exposição à temperaturas elevadas, pHs extremos e

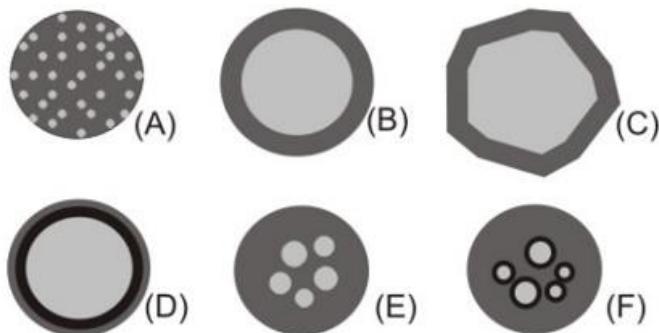
intensidade de luz durante um período longo de tempo (ZHAO *et al.*, 2013; SENTHILKUMAR *et al.*, 2013a; MUNIER *et al.*, 2014; WU *et al.*, 2015). Como alternativa à essa instabilidade, a microencapsulação surge como uma estratégia para manter e/ou aumentar a estabilidade do pigmento, bem como ampliar a possibilidade de aplicações em produtos industrializados, como, por exemplo, corante alimentício (BASTOS-FILHO, 2016; BRITO, 2017; GANESAN & SHANMUGAM, 2020).

A encapsulação trata-se de um processo de empacotamento de partículas, como compostos de sabor, pigmentos, acidulantes, nutrientes, enzimas e conservantes, em cápsulas comestíveis (KAREL, LANGER, 1988). O material encapsulado é chamado de ‘núcleo’, enquanto o material que forma a cápsula é chamado de ‘encapsulante’, ‘cobertura’ ou ‘parede’ (GIBBS, 1999). As cápsulas são classificadas de acordo com seu tamanho, por sua vez, divididas em três categorias: macro- ($>5000\mu\text{m}$), micro- (0,2 - 5000 μm) e nanocápsulas ($<0,2\ \mu\text{m}$) (BAKER, 1986).

As cápsulas, ainda, podem ser divididas em dois grupos, de acordo com a disposição de seus materiais: aquelas cujo núcleo é nitidamente concentrado na região central, circundado por um filme definido e contínuo do material de parede, sendo chamadas de cápsulas do tipo ‘reservatório’, conhecidas como as “verdadeiras” microcápsulas; e aquelas cujo núcleo é uniformemente disperso em uma matriz, conhecidas pelo sistema matricial e chamadas ‘microsferas’ (KING, 1995; RÉ, 1998).

A principal diferença entre as microcápsulas e as microsferas está no fato de que, nas microsferas, uma pequena fração do material “encapsulado” permanece exposto na superfície, o que é evitado pela verdadeira encapsulação. No entanto, o termo ‘encapsulação’ tem sido usado em seu sentido mais amplo, englobando tanto a formação de microcápsulas quanto de microsferas (DEPYPERE, 2003). As microcápsulas podem ter ainda mais de um núcleo, ou várias paredes para um mesmo núcleo (CONSTANT; STRINGHETA, 2002). A **Figura 16** apresenta alguns dos principais modelos de microcápsulas

Figura 16 - Modelos de microcápsulas.



Fonte: Azeredo, 2005. Legenda: (A) – Matriz (microsfera); (B) – Microcápsula simples; (C) – Simples; Irregular; (D) – Duas paredes; (E) – Vários núcleos; (F) – Agrupamento de microcápsulas.

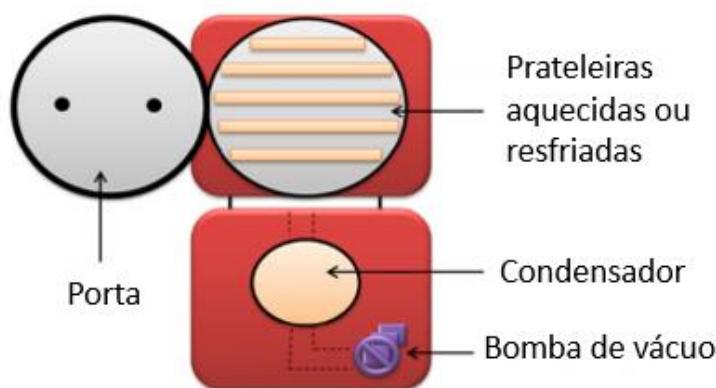
O processo de encapsulação de componentes alimentícios tem, como objetivos o retardamento de alterações que podem resultar na perda do aroma, alteração de cor e perda do valor nutricional; a separação de componentes reativos ou incompatíveis; a redução da taxa de migração do material do núcleo para o ambiente externo; evitar reações prematuras de um substrato; mascarar compostos de sabor indesejável; promover maior solubilidade do material contido no núcleo; facilitar manuseio e transporte (DEPYPERE, 2003; PSZCZOLA, 1998; REINECCIU, 1991; EUN et al., 2019).

A escolha do método de encapsulação para uma aplicação específica depende de uma série de fatores, como: tamanho de partículas requerido, propriedades físicas e químicas do núcleo e da parede, aplicação do produto final, mecanismos desejados de liberação, escala de produção e custo (RÉ, 1998). Diversos métodos são conhecidos e podem ser utilizados no processo de encapsulação, sendo alguns deles: secagem por atomização, extrusão, leito fluidizado, coacervação, liofilização, secagem em tambor, entre outros (CELESTINO, 2010; EUN, 2019). Dentre esses, o procedimento mais utilizado pela indústria de alimentos, por possuir tempo de secagem curto e apresentar um custo associado relativamente baixo, é a técnica da secagem por atomização, também conhecida por *spray dryer* (BAKRY et al., 2015).

Por sua vez, a técnica da liofilização trata-se de um método baseado na desidratação por sublimação de um produto congelado e consiste em duas etapas, sendo a primeira o congelamento rápido do produto; e posteriormente, a sublimação do gelo

sob vácuo (UNIVERSITY OF IDAHO, 2004; AZEREDO, 2005). O processo de encapsulação, quando feito a partir da técnica de liofilização, ocorre através da emulsão do material do núcleo com um agente encapsulante. O método gera produtos de excelente qualidade, uma vez que minimiza as alterações associadas a altas temperaturas (CELESTINO, 2010). Algumas desvantagens do método são a alta quantidade de energia utilizada, longos períodos de processamento e maiores custos associados à produção do material (DESOBRY *et al.*, 1997; BAKRY *et al.*, 2015). A representação de um liofilizador está ilustrada na **Figura 17**.

Figura 17 - Representação de um liofilizador.



Fonte: Bakry *et al.* (2015).

O material de revestimento utilizado na encapsulação é um dos principais fatores que irão influenciar na estabilidade desses compostos (ROSENBERG, 1990). Para ser considerado um bom material de revestimento deve-se atender a alguns requisitos, como boas propriedades para formar filme, baixa higroscopicidade e baixo custo, sendo selecionado de acordo com sua eficiência de encapsulação, grau de proteção do núcleo e características microscópicas da superfície (BRAZEL, 1999). Os carboidratos são os mais utilizados para os processos industriais de microencapsulação (DZIEZAK, 1988), como por exemplo a goma arábica, pois é solúvel, pouca viscosa e com boas propriedades emulsificantes, porém, por apresentar um alto custo de produção e problemas na sua disponibilidade, a busca por carboidratos que possam substituir a goma arábica é encorajada (SERVAT *et al.*, 2010). Uma opção para revestir a microcápsula de R-FE seria a carragenana, polissacarídeo presente nas macroalgas marinhas vermelhas, que pode ser extraído do resíduo da extração de pigmentos.

1.4.1 Carragenanas

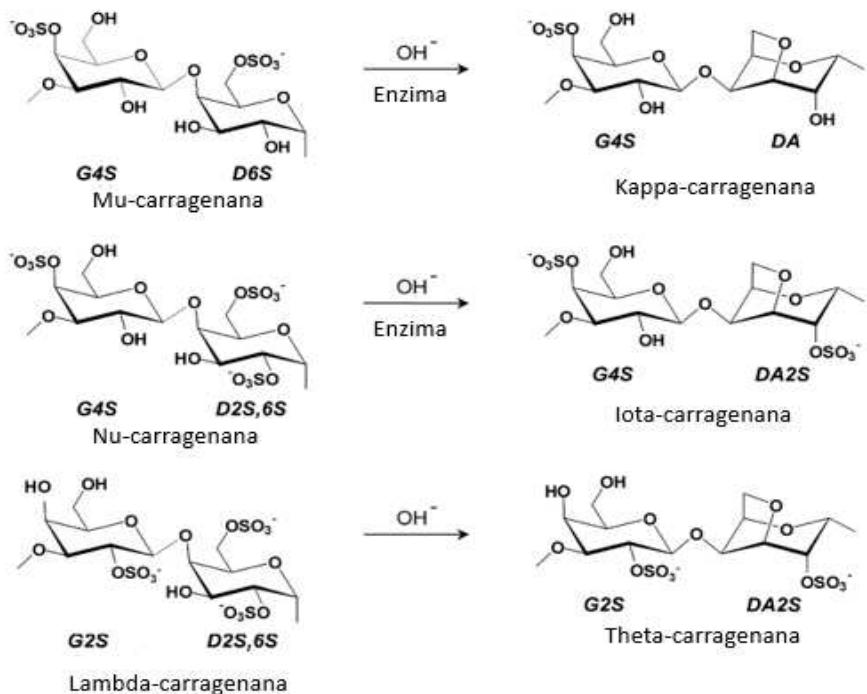
Como alternativa à substituição da goma arábica surgem os polissacarídeos de origem marinha (ex: alginato, quitosana, carragena), cujos quais possuem uma aplicação interessante para processos de encapsulação, podendo criar um ambiente mais adequado em regiões específicas do alimento (KAREL; LANGER, 1988). Pensando no conceito de biorrefinaria, a carragenana, polissacarídeo presente nas macroalgas vermelhas que pode ser obtido do resíduo da extração de pigmentos, surge como uma opção promissora.

São constituídas de unidades (1→3)- β -D-galactopiranose (unidade G) e (1→4)- α -D-galactopiranose (unidade D) ou (1→4)-3,6-anidro- α -D-galactopiranose (unidade DA), formando a unidade de repetição de dissacarídeo das carragenanas (Figura 16). As carragenanas são classificadas de acordo com a quantidade de grupos sulfatos das unidades G e D da cadeia principal (VAN DE VELDE *et al.*, 2002)

As três carragenanas mais relevantes, do ponto de vista comercial, são: a ι - (iota), κ - (kappa) e λ - (lambda) carragenana (KNUTSEN *et al.*, 1994). Além desses três tipos mais comuns, outros dois tipos, conhecidos como μ - (mu) e ν - (nu) carragenana são encontrados em amostras comerciais. Os diferentes tipos de carragenana são obtidos de diferentes espécies de macroalgas. κ -carragenana, por exemplo, é predominantemente extraída da macroalga tropical *Kappaphycus alvarezii*. Por sua vez, *Eucheuma denticulatum* apresenta-se como a principal espécie produtora de ι -carragenana, que pode ser extraída também da macroalga *Solieria filiformis* (RUDOLPH, 2000).

κ - e ι -carragenanas atuam como agentes gelificantes, enquanto λ -carragenanas são utilizadas como agente espessante. Essa diferença no comportamento reológico das carragenanas se dá pelo fato da unidade DA de κ - e ι - possuírem a conformação 1C_4 (carbono tetravalente) e as unidades D de λ -carragenana não apresentarem essa conformação (Figura 18). Essa conformação (1C_4) da unidade DA em ι - e κ -carragenana permite uma conformação helicoidal da estrutura secundária, que é essencial às propriedades de formação do gel (HANSEN, LARSEN, & GRØNDAL, 2000; VAN DE VELDE *et al.*, 2002).

Figura 18 – Representação esquemática das diferentes estruturas de unidades diméricas de carragenanas



Fonte: Van de Velde *et al* (2002).

Diante disso, e visando mostrar a importância ambiental e econômica da biomassa algácea e dos seus compostos derivados, nosso grupo de pesquisa vem desenvolvendo métodos de cultivo, prospectando, estabelecendo e otimizando processos de extração de moléculas bioativas utilizando macroalgas. Bastos-Filho (2016) purificou e caracterizou parcialmente o pigmento fotossintético fluorescente R-ficoeritrina da macroalga marinha vermelha *S. filiformis*, Brito (2017) otimizou o rendimento do processo de extração e purificação deste mesmo pigmento, verificando seu uso como corante natural em alimentos. Peixoto (2020) obteve microcápsulas de R-FE a partir do processo de encapsulação, utilizando secagem por liofilização e *spray dryer*, utilizando iota-carragenana como material de parede. Sendo assim, o presente busca avaliar as propriedades funcionais e espectroscópicas da microcápsula de R-FE obtida por liofilização, visando aumentar a estabilidade do pigmento encapsulado e sua posterior aplicação biotecnológica e industrial.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Caracterizar as propriedades físico-químicas da microcápsula do pigmento R-Ficoeritrina da macroalga *Solieria filiformis* utilizando iota-carragenana como material de parede.

2.2 Objetivos Específicos

- Extrair e Purificar a R-Ficoeritrina de *Solieria filiformis*.
- Microencapsular a R-Ficoeritrina purificada utilizando iota carragenana;
- Caracterizar as propriedades físico-químicas da microcápsula de R-Ficoeritrina quanto à solubilidade; índice colorimétrico; taxa de umidade; taxa higroscópica; e atividade de água;

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Materiais

3.1.1 *Macroalga marinha vermelha Solieria filiformis*

A macroalga marinha vermelha *Solieria filiformis* (Kützing) P.W. Gabrielson foi coletada em cordas de cultivo localizadas aproximadamente 200 metros da costa, na praia de Flecheiras ($03^{\circ}13'06''$ S – $39^{\circ}16'47''$ W), município de Trairi, a 130 Km de Fortaleza, no litoral Oeste do Estado do Ceará, onde são mantidas pela Associação de Produtores de Algas de Flecheiras e Guajiru (APAFG).

A macroalga foi lavada exaustivamente com água corrente para retirada de epífitas, incrustantes, sal e grãos de areia e, então, foi armazenada em sacos plásticos pretos para ser levada ao laboratório. No Laboratório, a alga foi lavada com água destilada e, em seguida, armazenada a -20°C até sua utilização.

3.1.2 *Reagentes Químicos*

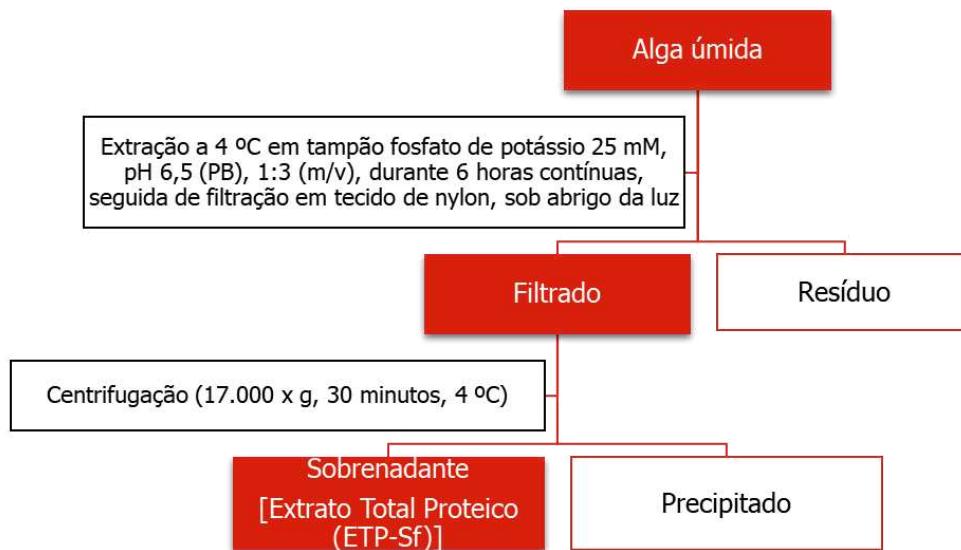
A albumina sérica bovina (BSA) e o Coomassie Brilliant Blue G-250 foram obtidas da Sigma-Aldrich. Todos os demais reagentes utilizados no trabalho foram de grau analítico e obtidos comercialmente.

3.2 Métodos

3.2.1 *Extração da R-Ficoeritrina de Solieria filiformis*

O protocolo de extração utilizado foi proposto por Bastos-Filho (2016), apresentado na **Figura 19**. A macroalga úmida foi colocada em contato com tampão fosfato de potássio 0,025 M (PB) na proporção de 1:3 (m/v), pH 6,5, e, em seguida, foi mantida sob agitação constante em agitador mecânico por 6 horas contínuas no escuro. Posteriormente, o material obtido foi filtrado em tecido de trama fina, os resíduos descartados, e os filtrados centrifugados a 17.000 x g, 4°C por 30 minutos. O sobrenadante obtido foi denominado extrato total proteico de *Solieria filiformis* (ETP-Sf).

Figura 19 – Protocolo de extração da R-Ficoeritrina de *S. filiformis*.



Fonte: Bastos-Filho (2016).

3.2.2 Purificação da R-Ficoeritrina de *S. filiformis*

O protocolo de purificação da R-FE adotado no presente trabalho foi proposto por Lopes (2018) e está esquematizado na **Figura 20**.

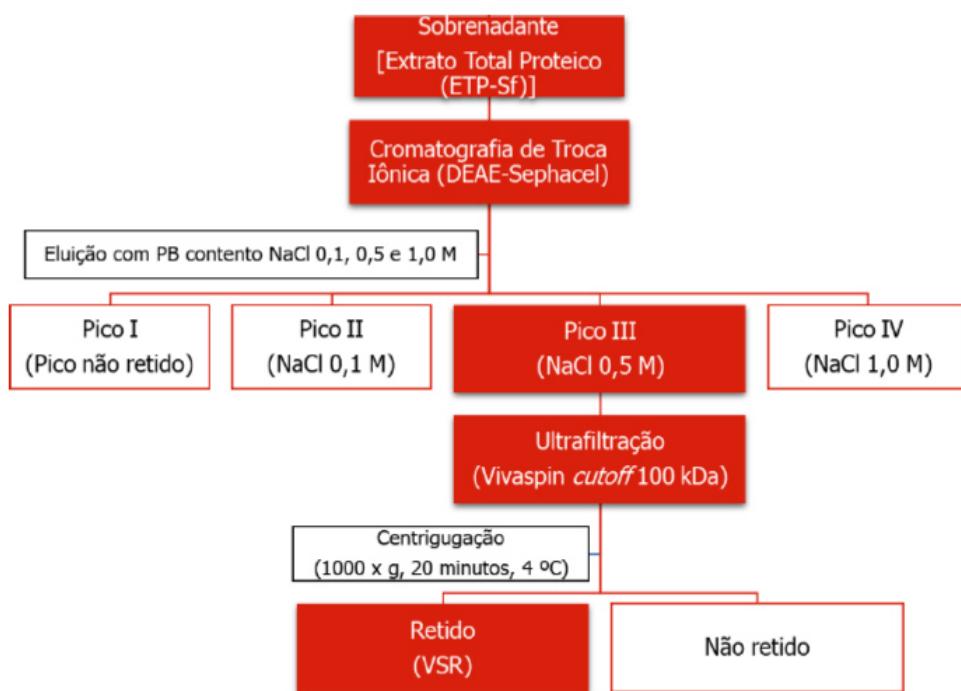
3.2.2.1 Cromatografia de troca iônica

A cromatografia de troca iônica em matriz DEAE Sephadex foi previamente equilibrada com tampão PB, em coluna de vidro de dimensões de 4 x 50 cm, sob fluxo de 2,5 mL/min. Após a eluição da fração não retida, as proteínas adsorvidas na matriz foram eluídas com PB contendo NaCl na concentração 0,5M (fração mais pigmentada). Em seguida, a fração cromatográfica foi dialisada (*cutoff* 12 kDa) contra água destilada.

3.2.2.2 Ultrafiltração

A fração cromatográfica contendo R-Ficoeritrina previamente dialisada foi submetida à ultrafiltração em concentrador de amostra Vivaspin (*cutoff* 100 kDa), a 1000 x g, a 4 °C, durante 20 minutos. A fração retida no filtro foi posteriormente utilizada para a microencapsulação do pigmento.

Figura 20 – Protocolo de purificação da R-Ficoeritrina da macroalga vermelha *Solieria filiformis*



Fonte: Lopes (2018).

3.2.3 Microencapsulação da R-ficoeritrina de *S. filiformis*

3.2.3.1 Efeito da concentração de iota-carragenana como matriz encapsulante

Soluções contendo iota-carragenana nas concentrações de 0,5%, 1,0%, 1,5% e 2,0% foram preparadas em água destilada sob aquecimento até o ponto de fervura. As soluções foram misturadas com auxílio de agitador mecânico. Após resfriamento à temperatura ambiente, o pigmento R-Ficoeritrina foi adicionado à solução até se estabelecer uma solução com concentração final de 0,002%. A mistura foi homogeneizada até a sua completa dissolução.

Após o revestimento com iota-carragenana, as cápsulas foram encaminhadas para o processo de secagem por liofilização.

3.2.3.2 Liofilização

A microencapsulação da R-Ficoeritrina por liofilização foi realizada utilizando o liofilizador L101 da Liotop® com volume máximo de processamento de 5,0 L por ciclo.

As soluções aquosas foram desidratadas por liofilização à temperatura mínima de -55º C e sob condições de vácuo. Após a secagem, o material obtido foi macerado até atingir a consistência de pó, sendo esse denominado de microcápsula de R-Ficoeritrina.

3.2.4 Caracterização da microcápsula de R-Ficoeritrina

3.2.4.1 Atividade de água

A análise da atividade de água (Aw) da microcápsula foi realizada no Departamento de Engenharia de Alimentos da UFC e foi medida através do equipamento medidor de atividade de água (AQUALAB, série 3TE Decagon, Pullman, USA), a 25 °C.

3.2.4.2 Solubilidade

A solubilidade das amostras foi determinada segundo a metodologia de Cano-Chauca *et al.* (2005). A amostra foi pesada em 1g, solubilizada, e, posteriormente, centrifugada a 5.000 x g por 10 min. O sobrenadante foi colocado em um cadrinho, com massa previamente pesada e foi posteriormente colocado em uma estufa de circulação de ar a 105 °C, até o peso ficar constante. A solubilidade foi calculada pela diferença de massa, antes e após processo de secagem, e os resultados foram expressos em percentual (%) de solubilidade.

3.2.4.3 Higroscopiedade

Essa técnica foi realizada de acordo com a metodologia proposta por Cai e Corke (2000), com algumas modificações. Foi pesado 1g da microcápsula de R-Ficoeritrina, espalhado uniformemente em uma placa de petri e levado para um dessecador a 25 °C com uma umidade de 75% (solução saturada com NaCl). A amostra foi pesada até que o peso se tornasse constante. Os resultados foram expressos em g de água adsorvida/100g de sólidos secos.

3.2.4.4 Umidade

O teor de umidade das microcápsulas foi medida através de determinador de umidade digital (ID50, Marte, São Paulo), em que 1g da microcápsula de R-Ficoeritrina

foi colocada na bandeja de alumínio previamente tarada. A balança, então, foi fechada e a temperatura elevada a 105 °C para evaporação total da água livre, onde o vapor d'água foi lido e determinado em % pela balança, até uma variação menor que 0,5% de umidade.

3.2.4.5 Colorimetria

As coordenadas de cor da microcápsula de R-Ficoeritrina foram determinadas através de um colorímetro (Konica Minolta Spectrophotometer modelo CR410), utilizando sensor de refletância da amostra, de acordo com o sistema CIELAB (L *, a *, b *). O parâmetro L * indica luz (0 = preto e 100 = branco), a * e b * são coordenadas para verde (-a *) / vermelho (+ a *) e azul (-b *) / amarelo (+ b *).

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

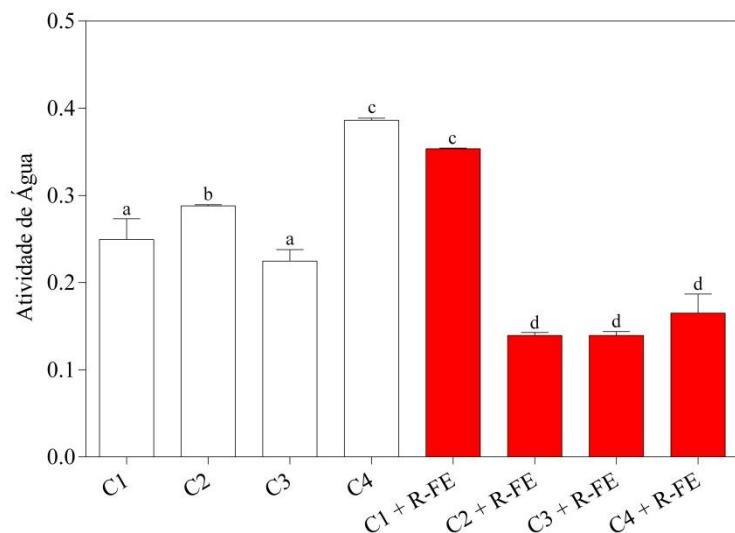
4.1 Caracterização da microcápsula de R-Ficoeritrina

4.1.1 Atividade de água e Umidade.

O teor de umidade das microcápsulas, contendo a R-FE, variou de $3,63 \pm 0,36$ (C2 + R-FE) a $11,43 \pm 2,25$ (C1 + R-FE), com o tratamento de 0,5% iota + R-FE (C1 + R-FE) diferindo significativamente das demais, enquanto que os tratamentos contendo maiores concentrações diferiram entre si ao nível de 5% de significância ($p < 0,05$). Isso mostra que a concentração de iota utilizada no processo interferiu no teor da umidade das micropartículas.

A umidade é um parâmetro crucial que influencia a cor e a textura dos produtos (BHANDARI; HARTEL, 2005), enquanto a atividade de água influencia a estabilidade de alimentos (ONWULATA, 2005). Tratam-se de propriedades importantes de pós, secos e granulados, e que estão intimamente relacionadas à eficiência de secagem, desempenhando um papel importante na determinação da fluidez e armazenamento de partículas (ROCHA, 2017). Os resultados obtidos para estas variáveis estão apresentados nos **Gráfico 1** e **Gráfico 2**.

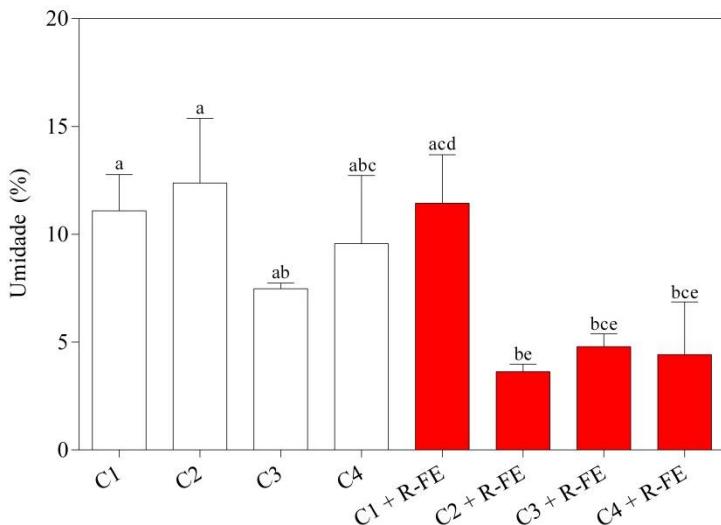
Gráfico 1 – Atividade de água dos encapsulados na presença e na ausência da R-Ficoeritrina



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: valores expressos como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística. Os resultados foram analisados por ANOVA unidirecional, seguido pelo

teste de Turkey ($p < 0,05$).

Gráfico 2 – Índice de umidade dos encapsulados na presença e na ausência da R- Ficoeritrina



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: valores expressos como média \pm desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística. Os resultados foram analisados por ANOVA unidirecional, seguido pelo teste de Turkey ($p < 0,05$).

Foo, Khong e Yusoff (2020) verificaram, em estudo sobre a preservação da atividade antioxidante da fração rica de fucoxantina através da técnica de encapsulação, que, em análises de umidade, o tratamento com menor concentração de agente encapsulante resultou em um teor de umidade maior, quando comparado aos tratamentos com maior concentração. A concentração do material de parede influenciou diretamente nos índices de umidade das microcápsulas obtidas, uma vez que os tratamentos com menor concentração obtiveram um teor de umidade significativamente maior. Isso se dá pelo aumento no teor de sólidos totais no meio, reduzindo o teor de umidade. Essa relação também foi observada com a atividade de água, em que, quanto menor a concentração do agente carreador, maior foram os valores observados (FOO; KHONG & YUSOFF, 2020).

Silva *et al.* (2013) obtiveram resultados que se aproximaram dos resultados deste estudo, com valores acima de 5,3% ao secar extratos das cascas de jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) encapsulados por maltodextrina como agente carreador. Já Otálora *et al.* (2018), em seu estudo sobre encapsulamento de betaxantinas de palma (*Opuntia megacantha*), obtiveram valores de umidade das micropartículas de $1,18 \pm$

0,02 para secagem em *spray dryer* e $2,86 \pm 0,01$ para secagem em estufa de circulação de ar. As micropartículas foram obtidas pelo método de gelificação iônica com alginato, obtendo valores relativamente mais baixos que os desse estudo, possivelmente devido as temperaturas mais elevadas usadas nos processos de secagem utilizados.

Segundo Laokuldilok e Kanha (2015), quanto maior a temperatura de secagem, maior a força motriz utilizada na evaporação da água, resultando em um material encapsulado com menor de teor de umidade e atividade de água. Além disso, o processo de liofilização trata-se de uma técnica realizada sob baixas temperaturas de operação, possibilitando assim uma maior presença de umidade após o processo de secagem (ANWAR; KUNZ, 2011).

A secagem por liofilização gera microcápsulas relativamente grandes, variando entre 15 e 100um (EZHILARASI *et al.*, 2013), devido a baixa temperatura envolvida no processo e a falta de forças que quebrariam o líquido congelado em pequenas gotas, ou que alterariam substancialmente a topologia da superfície da amostra durante a fase de evaporação (CHEN *et al.*, 2011), o que justifica o alto valor de umidade no tratamento com a menor concentração de material de parede (0,5% iota + R-FE), uma vez que a água pode acabar retida dentro da microcápsula.

O estudo da quantidade de água presente em microcápsulas é de enorme importância, uma vez que diversos trabalhos relatam que o aumento no índice de umidade de armazenamento pode levar ao aumento nas constantes da taxa de reação de degradação do produto (MAHFOUDHI; HAMDI, 2014; OTÁLORA *et al.*, 2015; RAMONEDA *et al.*, 2011). Entretanto, embora seja sabido que a água age como um meio para reações químicas e biológicas, vale ressaltar que o conteúdo de água no material da parede, por si só, não age como indicador de atividade biológica (SOUSA, 2019).

A diferença no valor de umidade entre as microcápsulas de diferentes concentrações pode, ainda, ter a ver com outros fatores, como: as diferentes densidades presentes na rede das microcápsulas formadas, o que influencia diretamente na afinidade da água com os polímeros (ROCHA, 2017), entretanto, para que isso se comprove, testes subsequentes devem ser feitos.

As secagens das microesferas, juntamente com o material carreador realizada por meio da liofilização, apresentaram bom perfil de resposta quando avaliados quanto à redução do teor de umidade e atividade de água das amostras. Os valores recomendados, na maioria das indústrias, para produtos em pó, são menores de

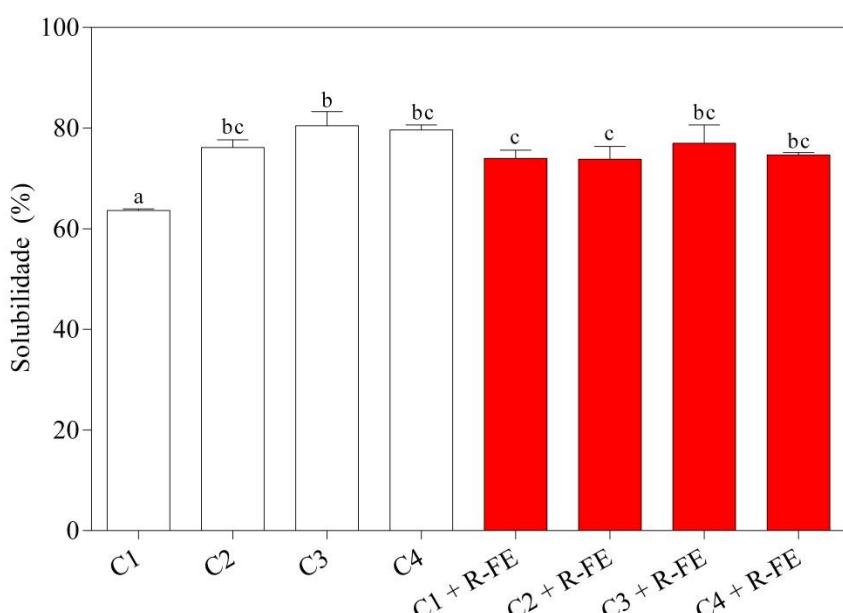
6% de umidade e 0,6 para atividade de água, que representa o limite das condições de atividade de microrganismos (FOO; KHONG; YUSOFF, 2020). Portanto, constatou-se que as microcápsulas produzidas neste estudo, com maior concentração de material de parede, apresentaram valores que estão dentro da faixa estável permitida (RODRÍUEZ-HUEZO *et al.*, 2004).

4.1.2 Solubilidade

O índice de solubilidade em água, para microcápsulas secas pelo processo de liofilização variou de 63,63 (C1) - 80,47% (C3), em que o tratamento C1 (0,5% iota) apresentou diferença significativa ($p<0,05$) dos demais. Esses valores são mais altos que os observados em outros trabalhos, como os pós de frutas Gac (37%) (TUYEN; NGUYEN; ROACH, 2010), mas inferiores quando comparados àqueles cujo índice de solubilidade obtido foi caracterizado como muito bom (acima de 90%) (MOREIRA *et al.*, 2009).

A solubilidade atua como uma das características funcionais mais importantes, desempenhando um papel de influência nas propriedades funcionais das proteínas, como estabilidade térmica, emulsificação e gelificação (TRAINOR; BROOM; MEIERING, 2017). Os resultados obtidos, observados na **Gráfico 3**, demonstram que o índice de solubilidade em água da maioria das microcápsulas produzidas está entre a faixa de 73%-80%.

Gráfico 3 – Índice de Solubilidade dos encapsulados na presença e na ausência de R-Ficoeritrina.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: valores expressos como média \pm desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística. Os resultados foram analisados por ANOVA unidirecional, seguido pelo teste de Turkey ($p < 0,05$).

Fatores como a porosidade e a topografia da superfície contribuem, também, para o índice de solubilidade da microcápsula formada, o que leva à necessidade de estudos microestruturais. Na secagem por liofilização, a água é removida de uma solução aquosa por sublimação, deixando o produto desidratado. Durante esse processo, o produto seco torna-se poroso, em razão dos “caminhos percorridos” pelo vapor d’água através das microcápsulas (LABUSCHAGNE, 2018). Dessa forma, essa porosidade pode atuar como porta de entrada para agentes externos, interferindo na retenção do pigmento pelas cápsulas e no seu processo de degradação (SOUZA, 2019).

A estrutura porosa de uma microcápsula auxilia numa maior proporção entre a área de superfície/volume disponível para hidratação, dessa forma, aumentando a taxa de solubilidade, enquanto a camada superficial mais macia permite que as moléculas de água se difundam mais facilmente através das microcápsulas e promovam a “molhabilidade” e a dissolução do pó (FOO; KHONG & YUSOFF, 2020).

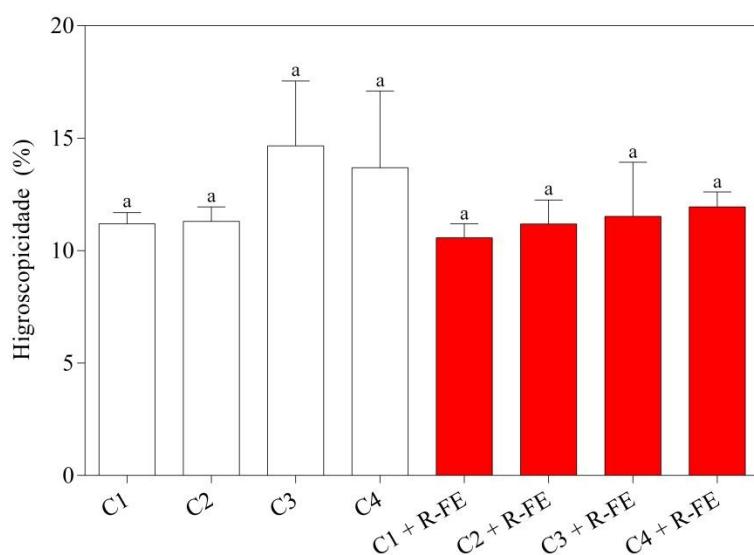
A solubilidade atua como critério na determinação da reconstituição do pó e como indicador do comportamento do produto em bebidas. A microencapsulação está mais associada à melhor solubilidade em água de um produto final (microcápsula contendo extrato). Isso é especialmente importante quando o objetivo foi incorporar mais antioxidantes lipofílicos em futuras aplicações alimentares, por exemplo, bebidas de água fria, formulações instantâneas ou infantis (FOO; KHONG & YUSOFF, 2020).

Na literatura, atualmente, não há informações científicas sobre a solubilidade, ou outras características funcionais, para microcápsulas contendo R-Ficoeritrina encapsulada. Este estudo, portanto, demonstra que o processo de encapsulação com iota-carragenana apresentou bom desempenho quando avaliado com relação à solubilidade das microcápsulas de R-FE obtidas, ao subsequente deve ser realizada, a fim de aprofundar o conhecimento acerca da viscosidade conferida à solução pela adição e solubilização das microcápsulas.

4.1.3 Higroscopicidade

A higroscopicidade observada para as diferentes microcápsulas não apresentou diferença significativa ($p < 0,05$) entre si, variando entre $10,57 \pm 0,63$ (C1 + R-FE) a $11,94 \pm 0,67$ (C4 + R-FE). Pode-se observar que o aumento da concentração do material de parede promoveu, também, um aumento da taxa higroscópica das amostras, entretanto, esse valor foi muito baixo e difere, significativamente, dos outros obtidos. Os valores de higroscopicidade das microcápsulas de R-Ficoeritrina obtidos pela secagem por meio de liofilização estão expressos na **Gráfico 4**.

Gráfico 4 – Índice higroscópico dos encapsulados na presença e na ausência de R-Ficoeritrina.



Fonte: Elaborado pela autora. Legenda: valores expressos como média \pm desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística. Os resultados foram analisados por ANOVA unidirecional, seguido pelo teste de Turkey ($p < 0,05$).

Os índices observados para essa análise indicam que a matriz encapsulante utilizada nesse estudo contribuiu para a higroscopicidade média de 10% da microcápsula, uma vez que se trata de uma galactana. O conhecimento sobre o comportamento higroscópico de produtos secos, em relação à absorção de água, é um fator essencial, uma vez que a presença de água pode influenciar na oxidação dos compostos e na aglomeração do pó. É importante, também, para elaborar o planejamento do sistema de secagem, manuseio, armazenagem, embalagem e

transporte, com o objetivo de conferir maior vida útil ao produto final (SILVA *et al.*, 2015)..

A absorção de água está diretamente correlacionada com a estrutura química e características dos compostos envolvidos no processo (ROCHA, 2017). Este comportamento se deve ao fato de a iota-carragenana ser um material de baixa higroscopidade, confirmando a eficiência do seu uso como agente carreador, no sentido de reduzir a higroscopidade dos produtos desidratados, aumento a estabilidade do produto final (FERRARI; GERMER; AGUIRRE; 2012).

4.1.4 Colorimetria

A análise colorimétrica das microcápsulas de R-Ficoeritrina de *Solieria filiformis* está mostrada na Tabela 7.

Tabela 7 - Análise colorimétrica dos encapsulados na ausência e na presença da R-Ficoeritrina

Amostras	Parâmetros Colorimétricos		
	L*	a*	b*
0,5% Iota	49,64	-1,78	2,59
1,0% Iota	50,81	-1,79	2,5
1,5% Iota	46,71	-1,72	2,58
2,0% Iota	57,22	-1,97	6,27
0,5% Iota + R-FE	42,26	10,84	-0,01
1,0% Iota + R-FE	44,19	8,75	0,62
1,5% Iota + R-FE	45,62	8,1	1,08
2,0% Iota + R-FE	46,67	7,66	1,53

Legenda: L* = Luminosidade; a* = coordenada vermelho/verde (+a indica cor vermelha e -a indica cor verde); b* = coordenada amarelo/azul (+b indicar cor amarela e -b indica cor azul).

Quando se compara as amostras obtidas nos ensaios de secagem, pode-se observar que o aumento na concentração total de material de parede produz pós com maiores valores de L*. Isso pode ser explicado pelo fato desses materiais serem brancos e, assim, produzirem amostras mais claras (SOUZA *et al.*, 2015), ou pela ausência da amostra corante (R-FE). Fato semelhante foi relatado no estudo de Ferreira (2018) e Tonon, Brabet e Hubinger (2009), que encontraram valores maiores para coordenada L* por conta da diluição das micropartículas em seus estudos de encapsulamento. O escurecimento das microcápsulas secas contendo R-FE podem, ainda, ser associadas à pouca quantidade de amostra utilizada no momento da análise. Para comprovação desta hipótese, a análise deve ser repetida.

Em relação à coordenada a*, todos os tratamentos com a presença de R-FE encapsulada obtiveram valores positivos, confirmado a presença da cor vermelha nas amostras. O valor dessa coordenada diminuiu conforme o aumento na concentração de iota-carragenana nos tratamentos, o que pode ser justificado por uma possível menor dissolução do corante em meio aquoso. Outros trabalhos, como o de Sousa (2019) obtiveram resultados parecidos aos obtidos neste trabalho para esta mesma coordenada. Quanto à coordenada b*, todos os tratamentos apresentaram valores que indicam a predominância da tonalidade vermelha na microcápsula, mostrando que o processo de encapsulamento foi eficiente na preservação da coloração do pigmento e que o método de purificação utilizado foi eficaz, não havendo contaminação por ficocianina, sendo percebidas instantaneamente após a dissolução das micropartículas em água.

Os resultados obtidos no presente trabalho para análises voltadas às propriedades físico-químicas do pó de R-FE estão reunidos na **Tabela 5**. As propriedades das microcápsulas de R-Ficoeritrina, em geral, são interdependentes. Uma modificação da distribuição do tamanho das partículas ou do teor de umidade pode resultar em uma mudança simultânea na densidade aparente, fluidez e aparência (ONWULATA, 2015). Peixoto (2020) observou que a encapsulação por liofilização resultou na formação de microcápsulas na formato de estruturas laminares, caracterizando filmes de revestimento. Isto pode ser atribuído à natureza da técnica

utilizada, cuja qual, geralmente, não forma cápsulas, mas sim um pó/filme com pouquíssima perda de material (BAKRY et al., 2015; VELASCO et al., 2003). Segundo Kaushik e Roos (2007), esse tipo de morfologia confere maior proteção ao material encapsulado contra fatores ambientais de degradação, como calor e oxidação.

Tabela 5 - Propriedades físico-químicas dos encapsulados na presença e na ausência da R- Ficoeritrina

Amostra	Solubilidade	Higroscopicidade	Umidade (%)	Atividade de água
0,5% Iota (C1)	63,63 ± 0,31 ^a	11,20 ± 0,49 ^a	11,09 ± 1,68 ^a	0,25 ± 0,024 ^a
1,0% Iota (C2)	76,16 ± 1,50 ^{bc}	11,30 ± 0,64 ^a	12,37 ± 3,00 ^a	0,29 ± 0,001 ^b
1,5% Iota (C3)	80,47 ± 2,83 ^b	14,66 ± 2,88 ^a	7,48 ± 0,27 ^{ab}	0,22 ± 0,013 ^a
2,0% Iota (C4)	79,61 ± 1,00 ^{bc}	13,69 ± 3,41 ^a	9,56 ± 3,16 ^{abc}	0,39 ± 0,002 ^c
0,5% Iota + R-FE (C1 + R-FE)	74,00 ± 1,64 ^c	10,57 ± 0,63 ^a	11,43 ± 2,25 _{acd}	0,35 ± 0,001 ^c
1,0% Iota + R-FE (C2 + R-FE)	73,84 ± 2,55 ^c	11,18 ± 1,51 ^a	3,63 ± 0,36 ^{bce}	0,14 ± 0,003 ^d
1,5% Iota + R-FE (C3 + R-FE)	76,99 ± 3,66 ^{bc}	11,52 ± 2,41 ^a	4,79 ± 0,59 ^{bce}	0,14 ± 0,005 ^d
2,0% Iota + R-FE (C4 + R-FE)	74,69 ± 0,44 ^{bc}	11,94 ± 0,67 ^a	4,43 ± 2,44 ^{bce}	0,16 ± 0,022 ^d

Legenda: valores expressos como média ± desvio padrão; Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença estatística. Os resultados foram analisados por ANOVA unidirecional, seguido pelo teste de Turkey ($p < 0,05$).

5 CONCLUSÃO

As microcápsulas de R-Ficoeritrina de *Solieria filiformis*, obtidas por liofilização utilizando iota-carragenana como material de parede, apresentaram teores de umidade e atividade de água condizentes com materiais secos e estáveis, boa solubilidade em água à temperatura ambiente e coloração vermelha com intensidade variando de acordo com a concentração do material de parede utilizado.

6 PERSPECTIVAS FUTURAS

Sabendo-se do potencial já demonstrado pela macroalga vermelha *S. filiformis* como fonte de R-FE, e compreendendo os resultados obtidos neste trabalho como ponto de partida no estudo da estabilização das propriedades espectroscópicas e físico-químicas deste pigmento, por meio da técnica de encapsulação, o planejamento das próximas etapas se faz necessário.

Quando se busca caracterizar uma microcápsula é preciso identificar compreender diversos parâmetros além dos estudados no presente trabalho, como aqueles relacionados às propriedades do pó: potencial zeta, densidade e porosidade da partícula, propriedades de superfície, pegajosidade, densidade e porosidade aparente; e aqueles relacionados às características espectroscópicas e sua variação frente às mais diversas variações de temperatura, pH, luz e diferentes condições de armazenamento. Estas seriam as próximas etapas dentro desse estudo, uma vez que, por conta da pandemia por coronavírus, o acesso ao laboratório para realização destes testes ficou impossibilitado.

Além disso, sabe-se que o presente trabalho optou pela utilização de metodologias e técnicas que visam o maior aproveitamento possível da biomassa da macroalga *Solieria filiformis*.. Seguindo por essa mesma linha de pensamento e pensando no conceito de biorrefinaria, pode-se adicionar às etapas futuras a possibilidade de extração do agente encapsulante iota-carragenana da própria macroalga.

A escolha pela utilização de enzimas para esse processo pode, também, estar associada à concepção de biorrefinaria. Assim, além de se obter maiores rendimentos de pigmento ou de outros bioativos intracelulares da macroalga, é possível aproveitar o seu resíduo de extração rico em carreganena.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABDEL-RAOUF N. Agricultural importance of algae. **AFRICAN JOURNAL OF BIOTECHNOLOGY**, [s. l.], v. 11, n. 54, 2012.

AGILENT. **Agilent (AFC)**. Disponível em:
https://www.chem.agilent.com/store/productDetail.jsp?catalogId=PB20-10&catId=SubCat2ECS_655142. Acesso em: 30 set. 2020^a.

AGILENT. **Agilent (C-FC)**. Disponível em:
https://www.chem.agilent.com/store/productDetail.jsp?catalogId=PB11&catId=SubCat2ECS_655142. Acesso em: 30 set. 2020^b.

AGILENT. **Agilent (R-FE)**. Disponível em:
https://www.chem.agilent.com/store/productDetail.jsp?catalogId=PB32-10&catId=SubCat2ECS_655142 Acesso em: 30 set. 2020^c.

ALDRICH, S. **Sigma-Aldrich (C-FC)**. Disponível em:
https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/52468?lang=en®ion=US&cm_sp=Insite-_caContent_prodMerch_gruCrossEntropy-_prodMerch10-2. Acesso: 16 mar. 2021a.

ALDRICH, S. **Sigma-Aldrich (AFC)**. Disponível em:
https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sial/a7472?lang=en®ion=US&cm_sp=Insite-_caContent_prodMerch_gruCrossEntropy-_prodMerch10-4. Acesso em: 16 mar. 2021b.

ALDRICH, S. **Sigma-Aldrich (R-FE)**. Disponível em:
https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/52412?lang=en®ion=US&cm_sp=Insite-_caContent_prodMerch_gruCrossEntropy-_prodMerch10-5. Acesso em: 16 mar. 2021c.

ALDRICH, S. **Sigma-Aldrich (B-FE)**. Disponível em:
https://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/p1286?lang=en®ion=US&cm_sp=Insite-_caContent_prodMerch_gruCrossEntropy-_prodMerch10-3 Acesso em: 16 mar. 2021d

ALVES, A. W. S. **Técnicas de maricultura da macroalga vermelha Gracilaria birdiae em Flecheiras, Trairi-Ceará: Rendimentos de biomassa e extração de ágar**. 2016. Universidade Federal do Ceará, [s. l.], 2016.

ANVISA. **Informe Técnico no 68/2015** – GEARE/GGALI/ANVISA - Pag 1 de 7
 Gerência de Avaliação de Risco e Eficácia para Alegações - GEARE Gerência Geral de Alimentos - GGALI. p. 1–7, 2015.

ANWAR, S. H.; KUNZ, B. The influence of drying methods on the stabilization of fish oil microcapsules: Comparison of spray granulation, spray drying, and freeze drying. **Journal of food Engineering**, [s.l.], v, 105, ed. 2, p. 367–378, 2011.

APT, K. E.; COLLIER, J. L.; GROSSMAN, A. R. Evolution of the phycobiliproteins. **Journal of Molecular Biology**, [s. l.], v. 248, n. 1, p. 79–96, 1995.

ARYEE, A. N. A.; AGYEI, D.; AKANBI, T. O. Recovery and Utilization of Seaweed Pigments in Food Processing. **Current Opinion in Food Science**, [s. l.], v. 19, p. 113–119, 2018.

AZEREDO, H.M.C., DIVISION, C., ESTEVINHO, B.N., ROCHA, F., SANTOS, L., ALVES, A., DE AZEREDO, H.M.C., AZEREDO, H.M.C. Encapsulação: aplicação à tecnologia de alimentos. **Alimentação e Nutrição**, Araraquara, v. 16, n. 1, p. 89–97, 2005

BAKER, R. **Controlled release of biologically active agents**, New York: John Wiley & Sons, p.206-214, 1986

BAKRY, A. M.; ABBAS, S.; ALI, B.; MAJEED, H.; ABOUELWAFA, M. Y.; MOUSA, A.; LIANG, L. Microencapsulation of Oils: A Comprehensive Review of Benefits, Techniques, and Applications, **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, 15(1), 143–182, 2015.

BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. General Overview. In: BARSANTI, L.; GUALTIERI, P. (Eds.). **Algae: Anatomy, Biochemistry, and Biotechnology**. 2. ed. London: CRC Press, 2014. p. 1–48.

BASTIAENS, L. *et al.* **Biorefinery of algae: Technical and economic considerations**. In: Microalgae-Based Biofuels and Bioproducts: From Feedstock Cultivation to End Products. [s.l: s.n.]. p. 327–345.

BASTOS FILHO, A. J. U. **Purificação e caracterização do pigmento vermelho R-Ficoeritrina da macroalga marinha vermelha Solieria filiformis (Kützing) P.W.Gabrielson**. 2016. Universidade Federal do Ceará, [s. l.], 2016.

BAWEJA, P. *et al.* Biology of Seaweeds. In: FLEURENCE, J.; LEVINE, I. (Eds.). **Seaweed in Health and Disease Prevention**. Lewiston: Elsevier Inc., 2016. p. 41–106.

BEDOUX, G. *et al.* Bioactive components from seaweeds: Cosmetic applications and future development. In: **Advances in Botanical Research**. [s.l.] : Elsevier, 2014. v. 71p. 345–378.

BERMEJO, R.; TALAVERA, E. M.; ALVAREZ-PEZ, J. M. Chromatographic purification and characterization of B-phycoerythrin from *Porphyridium cruentum*. Semipreparative high performance liquid chromatographic separation and characterization of its subunits. **Journal of chromatography**. A, v. 917, n. 1-2, p.135–45, 2001

BHANDARI, B. R; HARTEL, R. W; **Phase Transitions During Food Powder Production and Powder Stability**, 2005.

BIOSCIENCES, C. **Columbia Biosciences (R-FE)**. Disponível em:

< <https://columbiabiosciences.com/product/surelight-r-phycoerythrin/> >. Acesso em: 22 mar. 2021a.

BIOSCIENCES, C. **Columbia Biosciences (B-FE)**. Disponível em: <<https://columbiabiosciences.com/product/surelight-b-phycoerythrin-b-pe/>>. Acesso em: 22 mar. 2021b.

BIOSCIENCES, C. **Columbia Biosciences (AFC)**. Disponível em: <<https://columbiabiosciences.com/product/surelight-allophycocyanin-apc/>>. Acesso em: 22 mar. 2021c.

BOGORAD, L. Phycobiliproteins and complementary chromatic adaptation. **Annu. Rev. Plant Physiol.** 26, 369–401, 1975.

BOROWITZKA, M. A. High-value products from microalgae — their development and commercialisation. [s. l.], p. 743–756, 2013.

BRANDON, K.; FONSECA, G. A. B.; RYLANDS, A. B.; SILVA, J. M. C. Conservação brasileira: desafios e oportunidades. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 7–13, 2005.

BRASIL. **Informe Técnico no 68**, de 3 de setembro de 2015. Agência Nacional de Vigilância Sanitária, ANVISA, p. 1–7, 2015.

BRAZEL, C. S. Microencapsulation: offering solutions for the food industry. **Cereal Foods World**, v.44, n.6., p.388-393, 1999

BRITO MONTEIRO, Á. A. **Otimização da extração de R-ficoeritrina da macroalga marinha vermelha Solieria filiformis (Kützing) P. W. Gabrielson e sua aplicação como corante natural em alimentos**. 2017.

BRYANT, D. A. Phycoerythrocyanin and Phycoerythrin: Properties and Occurrence in Cyanobacteria. **Microbiology**, v. 128, n. 4, p. 835–844, 1982

BRYANT, D. A.; GLAZER, A. N.; EISERLING, F. A. Characterization and structural properties of the major biliproteins of *Anabaena* sp. **Archives of Microbiology**, v. 110, n. 1, p. 61–75, 1976

CALVO, P.; NELSON, L.; KLOEPPE, J. W. **Agricultural uses of plant biostimulants**, 2014.

CARNEIRO, J. G. *et al.* Analysis of some chemical nutrients in four Brazilian tropical seaweeds. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, v. 36, n. 2, 2014.

CHANG, W.; JIANG, T.; WAN, Z.; ZHANG, J.; YANG, Z.; LIANG, D. Crystal Structure of R-phycoerythrin from *Polysiphonia urceolata* at 2.8 Å Resolution, **Journal Of Molecular Biology**, v. 262, n. 5, p. 721-722, 1996.

COMUNIAN, T. A.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Microencapsulation using biopolymers as an alternative to produce food enhanced with phytosterols and omega-3 fatty acids: A review. **Food Hydrocolloids**, São Paulo, v. 61, p. 442–457, 2016.

CONSTANT, P. B. L.; STRINGHETA, P. C. Microencapsulação de ingredientes alimentícios. **Bol. SBCTA**, v.36, n.1, p.12-18, 2002.

CONTRERAS-MARTEL, C. Crystallization and 2.2 Å resolution structure of R-phycoerythrin from Gracilaria chilensis: A case of perfect hemihedral twinning, **Acta Crystallographica Section D: Biological Crystallography**, v. 57, n. 1, p. 52–60, 2001

COUPLAND, J. N.; JULIS. E. H. Physical approaches to masking bitter taste: Lessons from Food and Pharmaceuticals. **Pharmaceutical Research**, [s.l.], v. 31, p. 2921–2939, 2014.

DANTAS, A. C. M. **Gracilaria birdiae como biomassa para a produção de pigmento e ágar sob o conceito de biorrefinaria e sua importância no mercado brasileiro**. 2018. Universidade Federal do Ceará, [s. l.], 2018.

DEPYPERE, F.; DEWETTINCK, K.; RONSSE, F.; PIETERS, J. G. Food powder microencapsulation: principles, problems and opportunities, **Appl. Biotechnol. Food Sci. Pol.**, v.1, n.2, p.75-94, 2003.

DESAI, K. G. H.; JIN PARK, H. Recent developments in microencapsulation of food ingredients. **Drying Technology**, Seoul, Coreia do Sul, v. 23, n.7, 1361-1394, 2005.

DESOBRY, S. A.; NETTO, F. M.; LABUZA, T. P. Comparison of spray-drying, drum-drying and freezedrying for -carotene encapsulation and preservation, **J.Food Sci.**, v. 62, n.6, p.1158-1162, 1997.

DUCRET, A. et al. Reconstitution, characterisation and mass analysis of the pentacylindrical allophycocyanin core complex from the cyanobacterium Anabaena sp. PCC 7120. **Journal of Molecular Biology**, [s. l.], 1998.

DUMAY, J. et al. Phycoerythrins: Valuable proteinic pigments in red seaweeds. In: **Advances in Botanical Research**. [s.l: s.n.]. v. 71p. 321–343.

DZIEZAK, J. D. Microencapsulation and encapsulated ingredientes, **Food Technol.**, v. 42, n.4, p.136-151, 1988

EMBRAPA. A cultura do Urucum. **Coleção Plantar**, Brasília, 2a edição, 2009.

EUN, J. B.; MARUF, A.; DAS, P. R.; NAM, S. H. A review of encapsulation of carotenoids using spray drying and freeze drying, **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, 1–26, 2019.

EZHILARASI, P. N.; INDRANI, D.; JENA, B. S.; ANANDHARAMAKRISHNAN, C. Freeze drying technique for microencapsulation of Garcinia fruit extract and its effect on bread quality, **Journal of Food Engineering**, 117(4), 513–520, 2013

FAO. **Aquaculture Newsletter**, 2020.

FAO. **Aquaculture Newsletter**, [s. l.], v. 58, p. 66, 2018.

FERREIRA, L. P. C. **Microencapsulação de extrato de beterraba pelo processo de gelificação iônica. 60f.** (Dissertação) Mestrado em Ciência da Nutrição. Universidade Federal de Sergipe, São Cristóvão, Sergipe, 2018.

FERRO, A. F. P.; BONACELLI, M. B. M.; ASSAD, A. L. D. Oportunidades tecnológicas e estratégias concorrentiais de gestão ambiental: o uso sustentável da biodiversidade brasileira. **Gestão & Produção**, v. 13, n. 3, 2006.

FISH 2.0. FISH 2.0 ALGAE investor insights, 2017

FLEURENCE, J.; MORANÇAIS, M.; DUMAY, J. Seaweed proteins. In: YADA, R. Y. (Ed.). **Proteins in Food Processing (Second Edition).** 2. ed. Cambridge: Elsevier Ltd., 2018. P 245–262.

FOO, S. C; KHONG, N. M. H.; YUSOFF, F. M. D. Physicochemical, microstructure and antioxidant properties of microalgae-derived fucoxanthin rich microcapsules. **Algal Research**, v. 51, p. 102-113, out. 2020

GALLAND-IRMOULI, A. V. et al. One-step purification of R-phycoerythrin from the red macroalga *Palmaria palmata* using preparative polyacrylamide gel electrophoresis. **Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications**, [s. l.], v. 739, n.1, p. 117–123, 2000.

GALLO, M. Novel Foods: Insects - Safety Issues. **Elsevier**, 2018

GANESAN, A.R.; SHANMUGAM, M. Isolation of phycoerythrin from *Kappaphycus alvarezii*: a potential natural colourant in ice cream, **J Appl Phycol**, 2020

GIBBS, B. F.; KERMASHA, S.; MULLIGAN, C. N. Encapsulation in the food industry: a review, **Int. J. Food Sci. Nutr.**, v.50, p.213-224, 1999.

GILL, P; MOGHADAM, T. T; RANJBAR, B; Differential scanning calorimetry techniques: applications in biology and nanoscience. **Journal Biomolecular Techniques**. v.21, n. 4, p. 167-193, 2010.

GLAZER, A. L. E. X. A. N. D. E. R. N. A MACROMOLECULAR COMPLEX OPTIMIZED FOR LIGHT ENERGY TRANSFER Cyanobacteria (' blue-green algae ') are widely credited with the introduction of oxygen-evolving photosynthesis into the biosphere. Fossil stromatolites , believed to mark the appearance of bi., v. 768, p. 29–51, 1984a.

GLAZER, A. N. et al. The structure of a «simple phycobilisome. **Annales de l'Institut Pasteur Microbiology**, v. 134, n. 1, p. 159–180, 1983.

GLAZER, A. N. Light guides. Directional energy transfer in a photosynthetic antenna. **Journal of Biological Chemistry**, v. 264, n. 1, p. 1–4, 1989.

GLAZER, A. N. Phycobilisome a macromolecular complex optimized for light energy transfer. **BBA Reviews On Bioenergetics**, [s. l.], v. 768, n. 1, p. 29–51, 1984. b.

GLAZER, A. N.; STRYER, L. Phycofluor probes. **Trends in Biochemical Sciences**, [s.l.], v 9, n. 10, p. 423–427, 1984.

GLAZER, N.; HIXSON, C. S. Characterization of R-Phycocyanin. [s. l.], v. 2, n. 14, p. 5487–5495, 1975.

GRAHAM, J. E.; GRAHAM, L. E.; WILCOX, L. W. **Algae**. [s.l: s.n.].

GUIRY, M. D. **The Seaweed Site: information on marine macroalgae**. 2014. Disponível em: <<http://www.seaweed.ie/>>. Acesso em: 16 mar. 2021.

HAFTING, J. T. et al. Prospects and challenges for industrial production of seaweed bioactives. **Journal of Phycology**, 2015.

HANSEN, J. H.; LARSEN, H.; GRØNDAL, J. **Carrageenan compositions and methods for their production**. US patent application: US 6,063,915, 2000.

HEMLATA; FATMA, T. Screening of cyanobacteria for phycobiliproteins and effect of different environmental stress on its yield. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, [s. l.], 2009.

HOLANDA, T. de B. L. **Obtenção de biomassa da macroalga agarófita Gracilaria birdiae (Plastino & Oliveira) através da germinação de esporos em condições de laboratório**. 2016. Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Brasil, 2016.

HOLDT, S. L; KRAAN, S. **Bioactive compounds in seaweed: Functional food applications and legislation**, 2011.

HU, I. C. Production of potential coproducts from microalgae. **Biofuels from algae**, p. 345–358, 2019.

HURD, C. L. et al. **Seaweed ecology and physiology, second edition**. [s.l: s.n.], 2014.

IOANNOU, E.; ROUSSIS, V. Natural products from seaweeds. In: **Plant-derived Natural Products: Synthesis, Function, and Application**. [s.l: s.n.]. p. 51–81.

ISAILOVIC, D.; LI, H. W.; YEUNG, E. S. Isolation and characterization of R-phycoerythrin subunits and enzymatic digests. **Journal of Chromatography A**, [s. l.], v. 1051, n. 1–2, p. 119–130, 2004.

JIANG, T.; ZHANG, J. P.; LIANG, D. C. Structure and function of chromophores in R-Phycoerythrin at 1.9 Å Resolution. **Proteins: Structure, Function and Genetics**, [s. l.], v. 34, n. 2, p. 224–231, 1999.

KADAM, S. U. et al. Extraction of biomolecules from seaweeds. In: TIWARI, B. K.; TROY, D. J. (Eds.). **Seaweed Sustainability: Food and Non-Food Applications**. San Diego: Academic Press, 2015. p. 243–269.

KAISER, M. J. et al. Primary Production Processes. In: **Marine Ecology: Processes, Systems, and Impacts**. 2. ed. Oxford: Oxford University Press, 2011. p. 33–87.

KAREL, M.; LANGER, R. Controlled release of food additives. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Flavor encapsulation**. Washington, DC: ACS, p.29-36, 1988

KAUSHIK, V.; ROOS, Y. H. Limonene encapsulation in freeze drying of gum arabicsucrose-gelatin systems, **LWT Food Sci. Technol.** 40, 1381–1391, 2007

KEHOE, D. M. Chromatic adaptation and the evolution of light color sensing in cyanobacteria. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 107, n. 20, p. 9029–9030, 2010.

KEHOE, D. M.; GUTU, A. Responding to Color: The Regulation of Complementary Chromatic Adaptation. **Annual Review of Plant Biology**, [s. l.], v. 57, n. 1, p. 127–150, 2006.

KING, A. H. Encapsulation of food ingredients. In: RISCH, S.J.; REINECCIUS, G.A. **Encapsulation and controlled release of food ingredients**. Washington, DC: ACS, p.26 39, 1995.

KNUTSEN, S. H.; MYSLABODSKI, D. E.; LARSEN, B.; USOV, A. I. A modified system of nomenclature for red algal galactans. **Botanica Marina**, 37, 163–169, 1994

LAOKULDILOK, T.; KANHA, N. Effects of processing conditions on powder properties of black glutinous rice (*Oryza sativa* L.) bran anthocyanins produced by spray drying and freeze drying. **LWT-Food Science and Technology**, Chiang Mai, Tailandia, v. 64, n. 1, 405-411, 2015.

LEE, D. et al. Anti-inflammatory effects of dulse (*Palmaria palmata*) resulting from the simultaneous water-extraction of phycobiliproteins and chlorophyll a. **Food Research International**, [s. l.], v. 100, p. 514–521, 2017.

LIMA, T. de B. **Cultivo da alga marinha vermelha *Solieria filiformis* (Kützing) P.W.Gabrielson: textura de géis aquosos e lácteos**. 2012. Universidade Federal do Ceará, [s. l.], 2012.

LIN, H.; QIN, S. Tipping points in seaweed genetic engineering: Scaling up opportunities in the next decade. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 12, n. 5, p. 3025–3045, 2014.

LOURENÇO, S. O. A Diversidade das Algas. In: **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2006. a. p. 33–129.

LOURENÇO, S. O. Tópicos Especiais Sobre Cultivo de Microalgas. In: **Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicações**. 1. ed. São Carlos: RiMa, 2006. b. p. 453–475.

LUNDELL, D. J.; WILLIAMS, R. C.; GLAZER, A. N. Molecular architecture of a light-harvesting antenna. In vitro assembly of the rod substructures of *Synechococcus* 6301 phycobilisomes, **J. Biol. Chem.** 256, 3580–3592, 1981.

MAHFOUDHI, N.; HAMDI. S. Kinetic degradation and storage stability of β -carotene encapsulated by spray drying using almond gum and gum arabic as wall materials. **Journal of Polymer Engineering**, Tunis, Tunisia, v. 34, p. 683-693, 2014.

MAIA, R. A. **Estabelecimento de condições de cultivo in vitro e análise histológica da macroalga vermelha Gracilaria cornea J. Agardh**. 2016. Universidade Federal do Ceará, [s. l.], 2016.

MAKKAR, H. P. S. et al. Seaweeds for livestock diets: A review. **Animal Feed Science and Technology**, [s. l.], v. 212, p. 1-17, 2016.

MANIRAFASHA, E. et al. Phycobiliprotein: Potential microalgae derived pharmaceutical and biological reagent. **Biochemical Engineering Journal**, [s. l.], v. 109, p. 282-296, 2016.

MAYER, A. M. S. ET AL. Marine pharmacology in 2003-4 : Marine Compounds with Anthelmintic, Antibacterial, Anticoagulant, Antifungal, Anti- inflammatory, Antimalarial, Antiplatelet, Antiprotozoal, Antituberculosis, and Antiviral Activities; affecting the Cardiovascular, Immune . **Comparative Biochemistry & Physiology - Part C: Toxicology & Pharmacology**, v. 145, n. 1, p. 553-581, 2008.

MITTAL, R.; TAVANANDI, H. A.; MANTRI, V. A.; RAGHAVARAO, K. M. Ultrasound assisted methods for enhanced extraction of phycobiliproteins from marine macro-algae, *Gelidium pusillum* (Rhodophyta), **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 38, p. 92-103, 2017.

MIYABE, Y.; FURUTA, T.; TAKEDA, T.; KANNO, G.; SHIMIZU, T.; TANAKA, Y.; GAI, Z.; YASUI, H.; KISHIMURA, H. Structural Properties of Phycoerythrin from *Dulse**Palmaria palmata*, **Journal Of Food Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 1-11, 5 jul. 2017

MOHAMED, S.; HASHIM, S. N.; RAHMAN, H. A. Seaweeds: A sustainable functional food for complementary and alternative therapy. **Trends in Food Science and Technology**, 2012.

MOREIRA, G. E. G; COSTA, M. G. M; DE SOUZA, A. C. R; DE BRITO, E. S; DE MEDEIROS, M. D. F. D; AZEREDO, H. M; Physical properties of spray-dried acerola pomace extract as affected by temperature and drying aids. **LWT – Food Science Technology**, v. 42, p. 641-645, 2009.

MUNIER, M.; JUBEAU, S.; WIJAYA, A.; MORANÇAIS, M.; DUMAY, J.; MARCHAL, L.; JAOUEN, P.; FLEURENCE, J. Physicochemical factors affecting the stability of two pigments: R-phycoerythrin of *Grateloupia turuturu* and B-phycoerythrin of *Porphyridium cruentum*, **Food Chemistry**, v. 150, p. 400-407, 2014

MURAMATSU, M.; HIHARA, Y. **Acclimation to high-light conditions in cyanobacteria: From gene expression to physiological responses**, 2012.

NELSON, D. L.; COX, M. M. **Princípios de bioquímica de Lehninger**. 6. ed. Porto Alegre: Artmed, 2014.

NIU, J. F.; WANG, G. C.; TSENG, C. K. Method for large-scale isolation and purification of R-phycoerythrin from red alga *Polysiphonia urceolata* Grev. **Protein Expression and Purification**, [s. l.], 2006.

OLIVEIRA, A. C. V. **Efeitos da aplicação do extrato bruto da alga vermelha *Gracilaria birdiae* em cultura de alface (*Lactuca sativa*)**. 2017. Universidade Federal do Ceará, [s.l.], 2017.

ONWULATA, C. Encapsulated and Powdered Foods (**Food Science and Technology**); Boca Raton: Taylor & Francis Group, 2005. 501 p.

OTÁLORA, M. C.; CARRIAZO, J. G.; ITURRIAGA, L.; NAZARENO, M. A.; OS. Microencapsulation of betalains obtained from cactus fruit (*Opuntia ficus-indica*) by spray drying using cactus cladode mucilage and maltodextrin as encapsulating agentes. **Food Chemistry**, Bogotá, Colombia, v. 187, p. 174-181, 2015.

OTÁLORA, M. C.; CARRIAZO, J. G.; OSORIO, C.; NAZARENO, M. A. Encapsulation of cactus (*Opuntia megacantha*) betaxanthins by ionic gelation and spray drying: A comparative study. **Food Research International**, Bogotá, Colombia, v. 111, p.423-430, 2018.

PALIWAL, C. et al. Antioxidant, anti-nephrolithe activities and in vitro digestibility studies of three different cyanobacterial pigment extracts. **Marine Drugs**, [s. l.], v. 13, n. 8, p. 5384–5401, 2015.

PAN, Q. et al. **Antitumor function and mechanism of phycoerythrin from *porphyra haitanensis***, 2013.

PARMAR, A. et al. Purification, characterization and comparison of phycoerythrins from three different marine cyanobacterial cultures. **Bioresource Technology**, [s. l.], 2011.

PELISSARI, J.R.; SOUZA, V.B.; PIGOSO, A.A.; TULINI, F.L.; THOMAZINI, M.; RODRIGUES, C.E.C.; URBANO, A; FAVARO-TRINDADE, C.S.. Production of solid lipid microparticles loaded with lycopene by spray chilling : Structural characteristics of particles and lycopene stability. **Food and Bioproducts Processing**, Georgia, v. 98, p. 86–94, 2015.

PSZCZOLA, D. Encapsulated ingredients: providing the right fit, **Food Technol.**, v.52, n.12, p.70-77, 1998.

RAMONEDA, X. A.; PONCE-CEVALLOS, P. A.; BUERA, M. D. P.; ELIZALDE, B. E. Degradation of β -carotene in amorphous polymer matrices. Effect of water sorption properties and physical state. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Buenos Aires, Argentina, v. 91, p. 2587-2593, 2011.

RÉ, M. I. Microencapsulation by spray drying. **Drying Technol.**, v.16, p.1195-1236, 1998

REINECCIUS, G. A. Carbohydrates for flavor encapsulation, **Food Technol.**, v.51, n.3, p.144-146, 149, 1991.

REIS, A. et al. Production, extraction and purification of phycobiliproteins from *Nostoc* sp. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 66, n. 3, p. 181–187, 1998.

ROCHA, L. C. R. **Desenvolvimento de micropartículas contendo suco de tomate via gelificação iônica.** 87 f. Dissertação (Mestrado em Produtos e Nanoproductos Alimentícios) – Faculdade de Engenharia de Biomateriais, Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 2017.

RODRÍUEZ-HUEZO, M; PEDROZA-ISLAS, R.; PRADO-BARRAGÁN, L; BERISTAIN, C; VERNON-CARTER, E; Microencapsulation by spray-drying of multiple emulsions containing carotenoids. **J. Food Science**. v. 69, p. 351-359, 2004.

ROKSTAD, A. M; LACIK, I; DE-VOS, P; STRAND, B. L; Advanves in biocompatibility and physicochemical characterization of microspheres for cell encapsulation. **Advanced Drug Delivery Reviews**. v. 67, p. 111-130, 2014.

ROSENBERG, M.; KOPELMAN, I. J.; TALMON, Y. Factors affecting retention in spray-drying microencapsulation of volatile materials. **J. Agr. Food Chem.**, v.38, p.1288-1294, 1990.

RUDOLPH, B. Seaweed product: red algae of economic significance. In R. E. Martin, E. P. Carter, L. M. Davis, & G. J. Flieh (Eds.), **Marine and Freshwater Products Handbook** (pp. 515–529). Lancaster, USA: Technomic Publishing Company, Inc, 2000.

SAGERT, S.; SCHUBERT, H. ACCLIMATION OF THE PHOTOSYNTHETIC APPARATUS OF *PALMARIA PALMATA* (RHODOPHYTA) TO LIGHT QUALITIES THAT PREFERENTIALLY EXCITE PHOTOSYSTEM I OR PHOTOSYSTEM II1. **Journal of Phycology**, [s. l.], v. 31, n. 4, p. 547–554, 1995.

SATO, G. S. et al. Market Trends for Food Colours in the Food Industry. **Agricultura em São Paulo**, v. 39, p. 1–50, 1992.

SCHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S. Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal. **Revista Fitos**, v. 3, 2013.

SCHIOZER, A. L.; BARATA, L. E. S. Estabilidade de Corantes e Pigmentos de Origem Vegetal. **Revista Fitos**, v. 3, 2007.

SCHUMANN, S. P. A.; POLÔNIO, M. L. T.; GONÇALVES, É. C. B. DE A. Avaliação do consumo de corantes artificiais por lactentes, pré-escolares e escolares. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 28, n. 3, 2008.

SEKAR, S.; CHANDRAMOHAN, M. Phycobiliproteins as a commodity: trends in applied research, patents and commercialization, **J Appl Phycol** 20:113–136, 2008.

- SENTHILKUMAR, N., KURINJIMALAR, C., THANGAM, R., SURESH, V., KAVITHA, G., GUNASEKARAN, P., RENGASAMY, R. Further studies and biological activities of macromolecular protein R-Phycoerythrin from *Portieria hornemannii*, **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 62, p. 107–116, 2013.
- SERVAT, L.; SPINDOLA, H. M.; RODRIGUES, R. A. F.; FOGLIO, M. A. Microencapsulation: a Promising Alternative for Preserving Natural Products. **Revista Fitos**, v. 5, p. 52–57, 2010.
- SFRISO, A. A.; GALLO, M.; BALDI, F. Phycoerythrin productivity and diversity from five red macroalgae. **Journal of Applied Phycology**, [s. l.], p. 1–9, 2018.
- SIDLER, W. A. The Molecular Biology of Cyanobacteria. In: BRYANT, D. A. (Ed.). Dordrecht: Springer Netherlands, p. 139–216, 1994.
- SILVA, I. P.; STRINGHETAA, P. C.; TEÓFILO, R. F.; OLIVEIRA, I. R. N. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses. **Journal of Food Engineering**, Barra do Bugre, Mato Grosso, v. 117, p. 538-544, 2013.
- SILVA, H.M.; COSTA, L.M.; RESENDE, O.; OLIVEIRA, D.E.C.; SOARES, R.S.; VALE, L. S. R. Higroscopicidade das sementes de pimenta (*Capsicum chinense* L.). **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v. 19, n. 8, p. 780–784, 2015.
- SONANI, R. R. et al. Purification and antioxidant activity of phycocyanin from *Synechococcus* sp. R42DM isolated from industrially polluted site. **Bioresource Technology**, [s. l.], v. 245, p. 325–331, 2017.
- SONNENBERG, A.; BAARS, J.; HENDRICKX, P. Biorefineries: adding value to the sustainable utilisation of biomass. [s. l.], p. 1–16, 2007.
- SOUZA, V. B.; FUJITA, A.; THOMAZINI, M.; DA SILVA, E. R.; LUCON J. J. F.; GENOVESE, M. I.; FAVARO-TRINDADE, C. S. Functional properties and stability of spray-dried pigments from Bordo grape (*Vitis labrusca*) winemaking pomace. **Food Chemistry**, São Paulo, Brasil, v. 164, p. 380-386, 2014.
- SUN, L. et al. Isolation, purification and characteristics of R-phycoerythrin from a marine macroalga *Heterosiphonia japonica*. **Protein Expression and Purification**, [s. l.], 2009.
- SUN, L. et al. Promising fluorescent probes from phycobiliproteins. **IEEE Journal on Selected Topics in Quantum Electronics**, [s. l.], 2003.
- TANDEAU DE MARSAC N, C.-B. G. Molecular composition of cyanobacterial. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, [s. l.], v. 74, n. 4, p. 1635–1639, 1977.

TEIXEIRA, V. L. Marine natural products from seaweeds. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, 2013.

TONON, R. V.; BRABET, C.; HUBINGER, M. D. Influência da temperatura do ar de secagem e da concentração de agente carreador sobre as propriedades físico-químicas do suco de açaí em pó. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 29, ed. 2, p. 444-450, 2009.

TRAINOR, K.; BROOM, A.; MEIERING, E. M.; Exploring the relationships between protein sequence, structure and solubility. **Curr Opin Struct Biol**, 42, 136-146, 2017.

TRIVEDI, J. et al. Algae based biorefinery - How to make sense? **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, [s. l.], v. 47, p. 295–307, 2015.

TUYEN, C.K; NGUYEN, M.H; ROACH, P. D; Effects of spray-drying conditions on the physicochemical and antioxidant properties of the Gac (*Momordica cochinchinensis*) fruit aril powder. **J. Food Eng.** v. 98, p. 385-392, 2010.

UNIVERSITY OF IDAHO. Department of Chemistry. **Phases of matter**. Disponível em: <<http://www.chem.uidaho.edu/~honors/phases.html>>. Acesso em: 02 ago. 2004

VAN DE VELDE, F.; KNUTSEN, S.H.; USOV, A. I.; ROLLEMA, H. S.; CEREZO, A. S. ¹H and ¹³C high resolution NMR spectroscopy of carrageenans: application in research and industry, **Trends in Food Science & Technology**, v. 13, n. 3, p. 73–92, 2002

WANG, L. et al. Characteristics of an R-phycoerythrin with two γ subunits prepared from red macroalga *Polysiphonia urceolata*. **PLoS ONE**, [s. l.], v. 10, n. 3, 2015.

WU, Q.; FU, X. P.; SUN, L. C.; ZHANG, Q.; LIU, G. M.; CAO, M. J.; CAI, Q. F. Effects of physicochemical factors and in vitro gastrointestinal digestion on antioxidant activity of R-phycoerythrin from red algae *Bangia fusco-purpurea*, **International Journal of Food Science & Technology**, p. n/a–n/a, 2015.

ZHAO, M. et al. Phycoerythrins in phycobilisomes from the marine red alga *Polysiphonia urceolata*. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s. l.], v.73, n. 1, p. 58–64, 2015.

ZHAO, M.; SUN, L.; SUN, S.; GONG, X.; FU, X.; CHEN, M. The 42.1 and 53.7 kDa bands in SDS-PAGE of R-phycoerythrin from *Polysiphonia urceolata*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 60, p. 405–411, 2013