

ACTIVITATEA ANTIOXIDANTĂ A PREPARATULUI ETANOLIC ÎN BAZA BIOMASEI DE *PORPHYRIDIDIUM CRUENTUM*

Daniela SADOVNIC, Liliana CEPOI, Ludmila RUDI, Ana VALUȚA, Tatiana CHIRIAC, Svetlana CODREANU, Vera MISCU, Angela COJOCARI
Institutul de Microbiologie și Biotehnologie, Academia de Științe a Moldovei, rudilugmila@gmail.com

Abstract. There was studied the impact of antioxidant complex from microalga *Porphyridium cruentum* biomass on the antioxidant activity of vegetable oils and their oxidation process. The antioxidant complex was obtained by extracting in 96% ethylalcohol. Antioxidant assay using the radical 1,1-diphenyl-2-picryl-hydrazil (DPPH) revealed an increase of the antioxidant activity of oils supplemented with microalgal antioxidant complex. There was determined a decrease (up to 40% for olive oil) in fatty acid oxidation for vegetable oils with microalgal antioxidant extract.

Cuvinte cheie: complex antioxidant, *Porphyridium cruentum*, activitate antioxidantă, ulei vegetal, protecție antioxidantă

Introducere

În studiul surselor naturale de antioxidanți, microalgele au ocupat un loc stabil datorită componentelor antioxidante determinate. Microalgele sunt recunoscute surse comerciale de antioxidanți carotenoizi (*Haematococcus pluvialis*, *Dunaliella salina*) care sunt aplicați în calitate de aditivi în industria alimentară și farmaceutică [10].

La momentul actual sunt deja informații despre utilizarea practică a produselor din microalge. Astfel, antioxidanții obținuți din biomasa algei *Porphyridium cruentum* au fost testați în calitate de componente antioxidante în procesarea alimentelor. Aprecierea activității antioxidante a extractelor etanolice din biomasa de *Porphyridium cruentum* prin aplicarea modelului β -caroten-linoleat a demonstrat superioritatea lor față de antioxidanții sintetici BHA (hidroxianizol butilat) și BHT (hidroxitoluen butilat) [8].

Extractele de pigmenți clorofilieni și carotenoizi din biomasa microalgei *Chlorella vulgaris* și de astaxantină din biomasa algei *Haematococcus pluvialis* au fost utilizați în calitate de antioxidant în stabilizarea emulsiilor hidro-uleioase. Rezultatele obținute au determinat posibilitatea aplicării concentrațiilor mici de pigmenți oranj-roșii în calitate de antioxidant al maionezelor care au potențialul de a preveni oxidarea primară și secundară a produsului [3]. Studii recente au determinat existența unor flavanoizi în biomasa microalgelor și cianobacteriilor [5, 7]. Studiul a 32 de microalge și cianobacterii a demonstrat impactul conținutului componentelor fenolice asupra activității antioxidante a biomasei [6].

În acest studiu a fost determinat impactul complexului antioxidant, obținut din biomasa microalgei *Porphyridium cruentum* asupra activității antioxidante a uleiurilor vegetale și asupra procesului de oxidare a lor.

Material și metode

Microalga *Porphyridium cruentum* a fost cultivată pe mediul mineral VP2 cu durata ciclului de cultivare de 10 zile [9].

Complexul antioxidant din biomasa de *Porphyridium cruentum* AA-Pcr a fost obținut prin extragere în etanol de 96%. Raportul dintre biomasă și solvent în procesul de extragere a fost stabilit în cadrul cercetărilor anterioare și este susținut de mai mulți autori, constituind 10 mg biomasă la 1,0 ml soluție extractantă [2, 7]. Durata de extragere a fost de 12 ore, la temperatura camerei de 18-20°C în condiții de agitație permanentă pe agitator orbital. Extractele au fost separate de biomasă prin centrifugare și filtrare.

În studiu au fost incluse patru tipuri de uleiuri care se deosebesc după componența acizilor grași și respectiv după capacitatea de autooxidare și de incorporare a produsului antioxidant: ulei de in, produs la fabrica „Divevo”, Moscova, Rusia, seria de producere 180912; uleiul de olive IBERICA, produs de Olive Line S.L., Madrid, Spania, seria L:7885; ulei de porumb, produs Unilever, Hamburg, Germania, seria L 315400916; ulei de floarea soarelui, produs la AO „Floarea soarelui”, Bălți, Moldova, seria 29.05.2014/1.

Pentru incorporarea complexului antioxidant AA-Pcr în uleiurile vegetale, la 9 ml ulei s-au adăugat 3 ml extract etanolic. Pentru a spori incorporarea antioxidantilor, amestecul obținut a fost emulsionat puternic. Separarea uleiului de restul etanolic s-a produs timp de 24 ore la temperatura camerei. Reziduul a fost înlăturat prin decantare.

Activitatea antioxidantă a fost determinată prin metoda reducerii radicalului DPPH (1,1 difenil-2-picril hidrazil) [1]. Pentru determinarea activității antioxidante a uleiurilor a fost preparată soluția în acetonă de 0,6 mM DPPH. Amestecul reagent a fost obținut din 0,1 ml soluție ulei în acetonă și 3,0 ml soluție DPPH. După 5 min de incubare la temperatura camerei a fost măsurată absorbanta la 517 nm. Valorile testului antioxidant au fost prezentate în % Inhibiție DPPH.

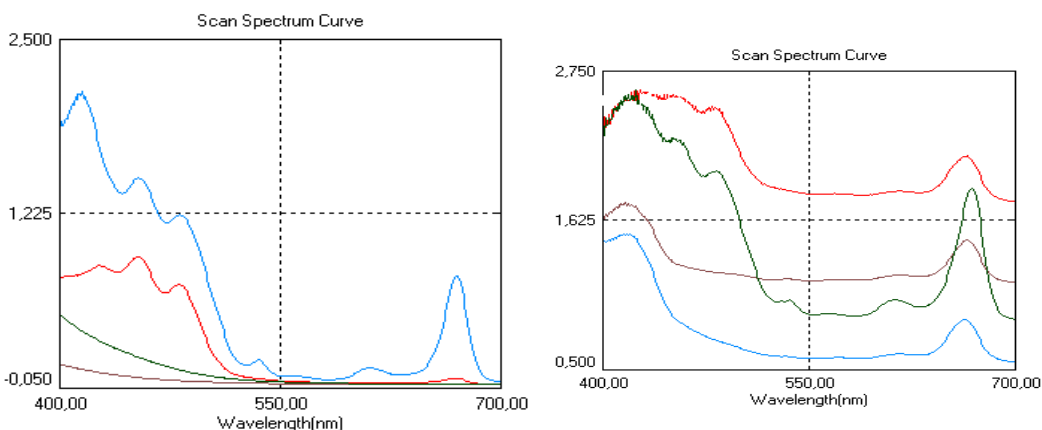
Nivelul de oxidare a uleiurilor a fost stabilit prin testul determinării produselor de reacție ale acidului tiobarbituric (TBARS) [4]. Valoarea gradului de oxidare al uleiurilor a fost determinată prin conținutul malondialdehidei (MDA). La probele de ulei (1 ml) s-au adăugat 1 ml acid tiobarbituric 0,67% și 1 ml acid tricloracetic 15%, după care probele au fost supuse incubării pentru 1 oră la 95°C. După răcirea pe gheață 5 min probele au fost centrifugate 15 min la 3000g. Concentrația complexului malondialdehidei cu acidul tiobarbituric a fost măsurată la 535 nm.

Toate rezultatele prezentate în acest studiu au fost prelucrate statistic cu aprecierea valorilor medii și a abaterilor standarde în comparație cu valorile coeficientului de variație stabilit pentru fiecare metodă în parte. Au fost considerate semnificative diferențele între valorile obținute, pentru care $p < 0,05$.

Rezultate și discuții

În scopul monitorizării procesului de incorporare a complexului antioxidant microalgal în uleiuri au fost înregistrate spectrele în domeniul vizibil al uleiurilor până la și după 24 ore de la incorporare. Nivelul de solubilizare a componentelor preparatului antioxidant depinde de conținutul acizilor grași polienici și de raportul lor în componența uleiului utilizat.

Spectrele suprapuse după nivelul maximal al absorbanțelor formează șirul constituit din ulei de porumb, ulei de floarea soarelui, ulei de in și ulei de olive (Figura 4.17), în rezultatul încorporării preparatului antioxidant *AA-Pcr* în baza biomasei de *Porphyridium cruentum*, șirul uleiurilor format după principiul creșterii absorbanței s-a modificat: ulei de porumb, ulei de floarea soarelui, ulei de olive și ulei de in (Figura 1).



Spectrele uleiurilor vegetale native:
1 – ulei de porumb; 2 – ulei de floarea soarelui; 3 – ulei de in; 4 – ulei de olive

Spectrele uleiurilor vegetale după încorporarea preparatului *AA-Pcr*:
1 – ulei de porumb; 2 – ulei de floarea soarelui; 3 – ulei de olive; 4 – ulei de in

Figura 1. Spectrele uleiurilor vegetale native și suplimentate cu complex antioxidant AA-Pcr

Uleiurile vegetale comercializate pe piață sunt foarte variate nu numai după materia primă vegetală și modul de extragere, dar și după conținutul acizilor grași polienici (Tabelul 1). Conținutul acizilor grași $\omega 6$ – acidul linolic și $\omega 3$ – acidul

linolenic, precum și raportul lor determină utilitatea alimentară și sanogenă a uleiurilor. Acidul oleic, prezent în diferite cantități în uleiuri este considerat unul din factorii de protecție antioxidantă a componentelor liposolubile din ulei.

Tabelul 1.

Conținutul acizilor grași în uleiurile selectate [11]

Tipul de ulei	Acizi grași nesaturați, % din suma acizilor grași				Acizi grași saturați % suma AG	
	C18:3 ω 3	C18:2 ω 6	ω 3+ ω 6	C18:1 ω 9	18:0	16:0
Semințe de in	58	14	72	19	4	5
Floarea soarelui	-	75	75	13	12	-
Porumb	-	59	59	24	17	-
Olive	-	8	8	75	16	-

Cele mai mari valori ale absorbției au fost înregistrate pentru uleiurile de in și olive, care se deosebesc după conținutul acizilor grași. Pentru uleiul de in este specific conținutul mare de acid linolenic (C18:3 ω 3), iar pentru uleiul de olive cel al acidului oleic (C18:1 ω 9).

Raportul cantitativ al acizilor grași din uleiuri determină și activitatea lor antioxidantă (figura 2). Activitatea antioxidantă a uleiurilor native de porumb și floarea soarelui este de 8-10 % inhibiție DPPH, iar activitatea antioxidantă a uleiurilor native de in și olive este mai mare cu valorile testului DPPH de 13-14 % inhibiție. Pentru uleiurile vegetale suplimentate cu complexul antioxidant AA-Pcr, activitatea antioxidantă are valori majorate (figura 2). Valorile testului antioxidant au crescut cu 24-38%. Astfel a fost demonstrată încorporarea complexului antioxidant în structura uleiurilor.

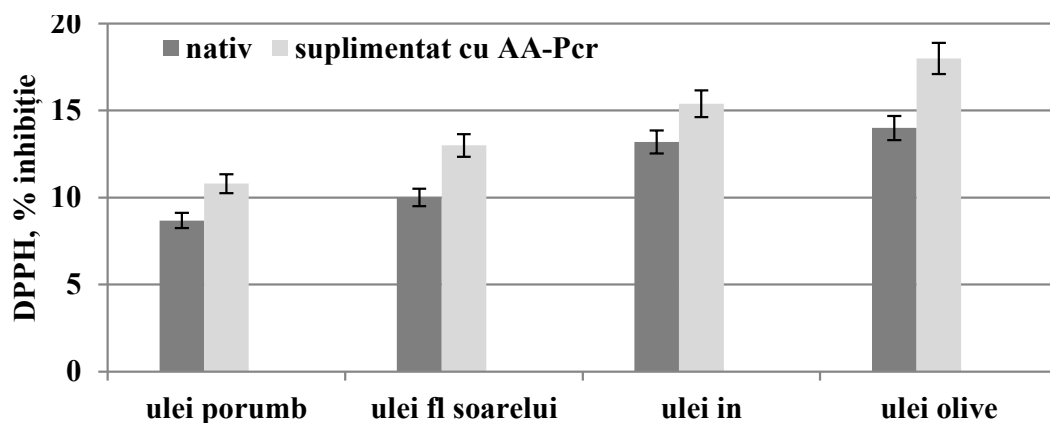


Figura 2. Activitatea antioxidantă (% Inhibiție DPPH) a uleiurilor vegetale native și suplimentate cu complexul antioxidant AA-Pcr

Pentru a determina implicarea antioxidanților din preparatul antioxidant obținut pe baza biomasei de *Porphyridium cruentum* în protecția oxidativă a uleiurilor a fost efectuat testul TBARS.

Rezultatele determinării produselor de reacție ale acidului tiobarbituric sunt prezentate în Figura 3.

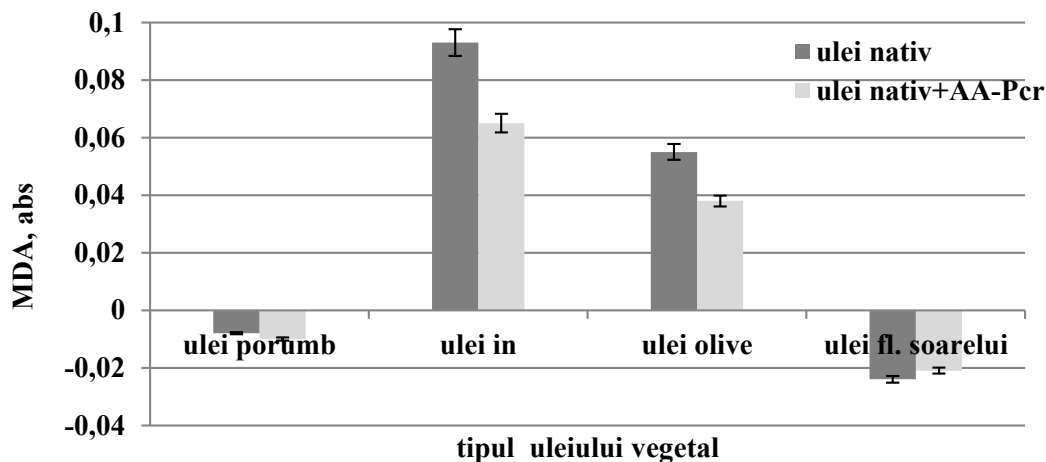


Figura 3. Testul determinării produselor de reacție ale acidului tiobarbituric (MDA, abs) în uleiurile vegetale native și cu adaos de antioxidant AA-Pcr

Pentru uleiurile de porumb și floarea soarelui, valorile negative ale testului TBARS, care nu sunt semnificative, indică sigur prezența a antioxidanților puternici, care stabilizează structura acidului linolic. Pentru uleiurile de in a fost stabilită cea mai mare valoare a testului TBARS, un rezultat veridic, confirmat prin conținutul sporit al acidului linoleic. Complexul antioxidant microalgal, încorporat în uleiurile de in și olive a redus valoarea testului cu 40%.

Prin urmare, complexul antioxidant în baza biomasei de *Porphyridium cruentum* sporește activitatea antioxidantă a unor uleiuri vegetale și reduce oxidarea lor.

Bibliografie

1. Brand-Williams W. et al. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und –Technologie*. In: *Food Science and Technology*, 1995, v. 28, p. 25-30.
2. Cepoi L., Rudi L., Miscu V., Cojocari A., Chiriac T., Sadovnic D. Antioxidative activity of ethanol extracts from *Spirulina platensis* and *Nostoc linckia* by various methods. In: *The Annals of Oradea University, Biology Fascicle*, 2009, Tom XVI/2, p. 43-48.

3. Gouveia L., Raymundo A., Batista AP., Sousa I., Empis E. *Chlorella vulgaris* and *Haematococcus pluvialis* biomass as colouring and antioxidant in food emulsions. *Eur Food Res Technol*, 2006, 222: 362–367.
4. Hodges DM, DeLong JM, Forney CF, Prange RK. Improving the thiobarbituric acid-reactive-substances assay for estimating lipid peroxidation in plant tissues containing anthocyanin and other interfering compounds. *Planta*, 1999, 207,604–611.
5. Klejduš B, Lojtková L, Plaza M, Snóblová M, Štěrbová D. Hyphenated technique for the extraction and determination of isoflavones in algae: Ultrasound-assisted supercritical fluid extraction followed by fast chromatography with tandem mass spectrometry. *J Chromatogr*, 2010, A 1217:7956 – 7965.
6. Koen Goiris, Koenraad Muylaert, Ilse Fraeye, Imogen Foubert, Jos De Brabander, Luc De Cooman. Antioxidant potential of microalgae in relation to their phenolic and carotenoid content. *J Appl Phycol*, 2012, 24:1477–1486.
7. Li H.B. et al. Evaluation of antioxidant capacity and total phenolic content of different fractions of selected microalgae. In: *Food Chem*, 2007, vol. 102, p.771–776.
8. Rodriguez-Garcia I., Guil-Guerrero J.L. Evaluation of the antioxidant activity of three microalgal species for use as dietary supplements and in the preservation of foods. In: *Food Chemistry*, 2008, vol. 108, p. 1023–1026.
9. Rudic, V. ș.a. *Ficobiotehnologie – cercetări fundamentale și realizări practice*. Chișinău: Elena VI, 2007, 362 p.
10. Spolaore P, Joannis-Cassan C, Duran E, Isambert A. Commercial applications of microalgae. *J Biosci Bioeng*. 2006, 101:87–96.
11. Strayer D. et al. Food fats and oils. In: Washington, 2006, <http://www.iseo.org/foodfats.htm>