



República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0801702-6 A2**

(22) Data de Depósito: 12/02/2008  
(43) Data da Publicação: 01/02/2011  
(RPI 2091)



(51) *Int.Cl.:*  
C07K 1/14  
A23L 1/275  
A61K 8/64  
A61K 38/16

---

(54) Título: **OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE Spirulina sp.**

(73) Titular(es): FUNDAÇÃO UNVERSIDADE FEDERAL DO RIO GRANDE

(72) Inventor(es): Carlos André Veiga Burkert, Caroline Costa Moraes, Janaína Fernandes de Medeiros Burkert, Jorge Alberto Vieira Costa, Silvana Terra Silveira, Susana Juliano Kalil

(57) Resumo: OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE Spirulina sp. A ficocianina é uma ficobiliproteína de cor azul intensa extraída das células de Spirulina (Arthrospira). A partir de condições de tempo, agitação e temperatura controladas ou não, utilizando solvente aquoso, podendo ser utilizada como corante na indústria de alimentos e de cosméticos, como agente terapêutico na indústria farmacêutica, e como traçador em imunoenaios fluorescentes e em microscopia para diagnóstico e pesquisa biomédica, devido à sua alta absorbância e fluorescência.



PI0801702-6

“OBTENÇÃO DO EXTRATO DE  
FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina sp*”.

A presente invenção refere-se à obtenção do corante azul, líquido, na forma de gel ou em pó, a temperatura ambiente, refrigerado ou congelado, de ficocianina, obtido a partir de biomassa de *Spirulina* ou *Arthrospira*, para colorir produtos alimentícios ou cosméticos, em qualquer proporção, adicionado ou não de outros corantes, ou para uso como agente terapêutico na indústria médica ou farmacêutica.

Corantes apresentam um papel especial nos alimentos que consumimos. Em geral os corantes são adicionados a várias guloseimas como balas, gelatinas, sobremesas, sucos entre outras. Cada vez mais o mercado consumidor vem clamando por produtos mais naturais, alegando que aditivos artificiais não são saudáveis e em alguns casos podem causar alergias. Sendo as crianças os principais consumidores, é relativamente fácil elas ingerirem quantidades excessivas destes aditivos, o que torna atrativo a adição de um corante natural como aditivo alimentar visto que essa prática já faz parte de nossa cultura há séculos.

Muitos aditivos alimentares naturais têm sido empregados em grande escala nos produtos comercializados no mercado atualmente. Esta demanda acima citada pode ser atendida (em todo ou em parte) pela obtenção deste corante, ficocianina, a partir da biomassa de *Spirulina sp*. Ficocianina pode ser utilizada como corante em alimentos (sorvetes, geléias, produtos lácteos, chicletes, etc.) e em cosméticos, como delineadores e batom. Estudos têm mostrado que a ficocianina age como um estimulante do sistema imunológico, aumentando a contagem de leucócitos, cuja função principal é manter a saúde dos órgãos do corpo, proteger contra o câncer e úlceras. Este produto também tem

propriedade antioxidante, anti-artrite e anti-inflamatória, podendo ainda atuar como um agente hepatoprotetor.

No entanto, não se tem ainda um corante natural azul de origem microbiológica, que é uma fonte não dispendiosa e segura para obtenção de metabólicos.

5 O gênero *Arthrospira* (ordem *Oscillatoriales*) contém o grupo de cianobactérias filamentosas caracterizadas por uma cadeia de células na forma de espiral e envolvida por uma bainha fina, cujas paredes transversas podem ser vistas sob microscopia ótica. Embora o gênero *Arthrospira* tenha sido oficialmente incluído no Bergey's Manual of Systematic Bacteriology em 1989, as espécies *Arthrospira maxima* e *Arthrospira*  
10 *platensis*, que são cultivadas em nível industrial em diversas regiões do mundo, são freqüentemente referidas como *Spirulina maxima* e *Spirulina platensis*, e a biomassa destas cianobactérias é comercializada com a denominação de 'Spirulina'.

*Spirulina* é uma cianobactéria aeróbica fotossintética que tem despertado interesse de muitos pesquisadores devido ao seu alto poder nutricional, produção de  
15 substâncias de alto valor agregado e propriedades nutracêuticas. No Brasil, a *Spirulina* tem sido empregada, basicamente, na produção de cápsulas destinadas a dietas de emagrecimento. De acordo com os fabricantes, o efeito de controlar o apetite ocorre se ingerida uma ou duas horas antes da refeição, em função da presença de aminoácidos essenciais em quantidades balanceadas, assim como da sua composição química rica em  
20 proteínas e ácidos graxos.

As proteínas que possuem maior potencial econômico são as biliproteínas. *Spirulina* contém duas biliproteínas: C-ficocianina e aloficocianina. A fração protéica pode conter mais de 20% de ficocianina, um pigmento azul solúvel em água. As subunidades a e b da ficocianina mostraram pesos moleculares de 20500 Da e 23500 Da,

respectivamente, enquanto que as subunidades de aloficocianina são menores, em torno de 18000 Da e 20000 Da.

Um dos mais importantes requerimentos para obtenção de ficobiliproteínas de cianobactérias é encontrar um procedimento ótimo de extração. Industrialmente ainda não há produção do corante natural ficocianina no Brasil.

A etapa de extração das ficobiliproteínas envolve a ruptura da célula e liberação dessas proteínas no meio, para isso faz-se uso de variações na pressão osmótica, condições abrasivas entre outras. Em geral, a extração é seguida de purificação por meio de técnicas cromatográficas, sendo que estas técnicas, muitas vezes requerem extratos de alimentação livres ou com o menor grau de interferentes possível, pois estes podem provocar uma redução na eficiência na cromatografia. Dessa forma, o sucesso da extração será decisivo na redução do número de passos durante a purificação. A extração e a purificação representam componentes importantes no custo do processo global.

Para fins da presente invenção, ficocianina é usada adicionada ao produto alimentício ou composição farmacêutica a ser colorida, ou de outro modo, incorporado no produto alimentício ou composição farmacêutica, seja como corante ou como aditivo funcional, é abrangida pela presente inovação. A composição da ficocianina pode ser sólida, gelatinosa ou líquida, armazenada a temperatura ambiente, sob refrigeração ou congelada.

A extração é realizada utilizando qualquer proporção de biomassa seca, congelada ou úmida (base seca) por mL do solvente. O material é agitado de 0 a 75°C, 0 – 800 min<sup>-1</sup>, por um período de 0 a 500 horas. A agitação é suspensa quando avaliado no extrato a concentração de ficocianina.

Após a extração, a ficocianina pode ser separada da biomassa por centrifugação, sedimentação ou filtração, e a biomassa (com alto valor nutricional) pode ser comercializada úmida ou seca para enriquecimento nutricional de produtos. Neste caso, ficocianina pode utilizada na forma de extrato aquoso sem células, com algum fungicida  
5 com azida sódica, ou ainda ser liofilizada, congelada, resfriada à temperatura ambiente, e comercializada para indústrias alimentícias, de cosméticos ou farmacêutica.

A presente invenção também permite que o extrato aquoso (com ou sem células) ou em pó seja utilizado para purificação e ficocianina seja então empregada como corante puro ou de acordo com suas propriedades medicinais, tais como traçador de  
10 imunoenaios, atividade anti-tumoral e antioxidante.

O extrato tem coloração azul intensa, muito brilhante. Dependendo do tipo de cultivo da biomassa de *Spirulina*, o extrato pode se apresentar mais, ou menos concentrado, causando variação na tonalidade do azul.

## REIVINDICAÇÕES

1. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.", caracterizada pelo fato de serem extraídos com solventes aquosos, no território brasileiro;
- 5 2. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.", puro ou em mistura, dentro do território brasileiro, caracterizado pelo fato do uso em qualquer proporção relativa como agente de coloração para produto alimentício ou composição farmacêutica;
- 10 3. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.", em território brasileiro, de acordo com as reivindicações 1 e 2, caracterizado pela aplicação de ficocianina de que contém ficocianina como agente terapêutico ou de coloração em alimentos, cosméticos ou fármacos;
- 15 4. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.", caracterizados por serem obtidos com soluções aquosas em qualquer proporção de biomassa por mL de solvente extrator ou meio de cultivo do microrganismo;
- 20 5. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.", de acordo com a reivindicações de 1 a 4, caracterizados por serem obtidos de biomassa úmida, *in natura*, seca, liofilizada ou congelada, tratada ou não com ácidos, álcalis, ou enzimas;
6. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.", de acordo com as reivindicações de 1 a 5, caracterizados por serem obtidos na faixa de temperatura compreendida entre 0 e 75°C, preferencialmente entre 10 e 45°C;

7. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.", de acordo com as reivindicações de 1 a 6, caracterizados por serem obtidos sem ou com agitação compreendida entre 0 e 800 min<sup>-1</sup>, preferencialmente entre 0 e 200 min<sup>-1</sup>, num período de 0 a 500 horas, preferencialmente no período entre 5 0 e 24 horas;
8. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.", de acordo com as reivindicações de 1 a 7, caracterizados por serem obtidos a sob igual, menor ou superior a atmosférica;
9. "OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.",, usando solvente aquoso, a partir de biomassa úmida, *in natura*, seca, 10 liofilizada ou congelada, de qualquer biomassa ou mistura de biomassas *Spirulina*, de acordo com as reivindicações de 1 a 8, caracterizado pelo fato de que:
- a biomassa, seja úmida, *in natura*, seca, liofilizada ou congelada, sofrerá um 15 processo de lise para que o biocorante ficocianina possa ser liberado para o meio contendo solvente através de processos químicos, físicos ou enzimáticos, podendo ficar na forma de pó ou líquido, armazenado em ambiente natural ou refrigerado artificialmente;
  - após a lise, a biomassa entrará em contato com o solvente, nas proporções 20 estabelecidas pela reivindicação 4, em condições de temperatura, tempo e agitação apresentados nas reivindicações 6 e 7.
10. O extrato resultante de acordo com as reivindicações de 1 a 9, pode ter seu uso destinado à corante de alimentos e/ou cosmético, e produtos farmacêuticos após a retirada das células remanescentes ou ser purificado com ou sem a retirada das

células remanescentes e ser posteriormente empregado para fins de corante de alimentos e/ou cosméticos e fins terapêuticos na indústria farmacêutica.

## RESUMO

**Patente de Invenção: “OBTENÇÃO DO EXTRATO DE FICOCIANINA A PARTIR DE *Spirulina* sp.”**

A ficocianina é uma ficobiliproteína de cor azul intensa extraída das células de *Spirulina* (*Arthrospira*). A partir de condições de tempo, agitação e temperatura controladas ou não, utilizando solvente aquoso, podendo ser utilizada como corante na indústria de alimentos e de cosméticos, como agente terapêutico na indústria farmacêutica, e como traçador em imunossaios fluorescentes e em microscopia para diagnóstico e pesquisa biomédica, devido à sua alta absorbância e fluorescência.