

AVALIAÇÃO DO PERFIL CROMATOGRÁFICO DE MACROALGAS VERMELHAS DA ANTÁRTICAS POR CROMATOGRAFIA GASOSA (CG-FID)

LUCAS M. BERNEIRA¹; MARCO A. Z. DOS SANTOS²;CAROLINE C. SILVA³;
BRUNA S. PACHECO⁴;SAMANTHA C. DE FREITAS⁵;CLAUDIO M. P. PEREIRA⁶

¹UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica - lucas.berneira@hotmail.com

²UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica - marcziemann@gmail.com

³UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica- carapina7@hotmail.com

⁴UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica- pacheco.sbruna@gmail.com

⁵UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica - samanthabibipe@gmail.com

⁶UFPel – Laboratório de Lipidômica e Bio-orgânica - claudiochemistry@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As algas marinhas são organismos fotossintetizantes extremamente complexos de forma que apresentam uma ampla diversidade e adaptabilidade aos mais diversos ambientes. Um destes locais o qual se pode citar é o Continente Antártico, onde organismos como as algas devem se adaptar rapidamente as condições adversas e abruptas que ocorrem neste ambiente. Dessa maneira, conseguem manter sua integridade e seu metabolismo em condições ideais para seu pleno desenvolvimento (CABALLERO et al., 2015).

A grande diversidade das espécies de macroalgas marinhas está disposta em três grandes filos: Rodophytas, Clorophytas e Phaeophytas, denominadas algas vermelhas, verdes e pardas, respectivamente. As algas do filo Rodophyta, por sua vez, representam um dos maiores filos em espécies dentre os três grupos. Esse filo é caracterizado principalmente pela presença de pigmentos ficocianina (azul), ficoeritrina (vermelho) e carotenóides (amarelos e laranja). O pigmento vermelho encontrado nessas algas é responsável pela absorção da luz azul entre 450–495 nm, o qual penetra a grandes profundidades, permitindo que estas algas sobrevivam em locais extremamente profundos e inóspidos. Tal fato não observado em outros filos (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004).

O mecanismo de sobrevivência existente nas algas vermelhas faz com que seja observado grandes processos de síntese responsáveis pela formação de moléculas importantes como os ácidos graxos. Essas biomoléculas são encontrados na natureza em organismos vegetais e animais. Caracterizam-se por um número variado de carbonos e pela quantidade de insaturações nas suas cadeias carbônicas. Os ácidos graxos desempenham as mais diversas funções nos sistemas biológicos. Dessa forma, podem atuar como reserva energética, constituintes da bicamada lipídica em membranas celulares, mensageiros intra/extracelulares como também na forma de co-fatores enzimáticos em reações de transferências de elétrons em mitocôndrias e cloroplastos (VANCE; VANCE, 2008; SIMOPOULOS, 2008).

Os ácidos graxos podem ser diferenciados pelo número de instaurações na cadeia carbônica. Nessa classificação, os ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) assim como a família de ácidos graxos ômega (n) são conhecidos por suas diversas propriedades benéficas ao metabolismo humano além do seu amplo potencial biotecnológico. Dessa forma, esses compostos, podem prevenir doenças cardiovasculares além de apresentarem resultados contra inflamações e diversos carcinomas (SIDDIQUI, 2007). Esses compostos estão presentes nos mais diversos tipos de alimentos como óleos vegetais e principalmente em óleos de peixe (RODACCI et al., 2012), pescados e algas (CABALLERO et al., 2015).

Portanto, esse trabalho tem por objetivo caracterizar o perfil de ácidos graxos das macroalgas vermelhas da Antártica.

2. METODOLOGIA

As algas *Gigartina skottsbergii*, *Plocamium cartilagineum* e *Pyropia endiviifolia* foram coletadas na Península Antártica durante o mês de dezembro de 2013. A coleta foi realizada manualmente e todas as algas foram lavadas com água do mar, sendo após liofilizadas e acondicionadas em sacos escuros, para evitar o contato da luz.

A extração dos lipídeos seguiu a metodologia modificada de Bligh & Dyer (1959). Nesse contexto, foram adicionados 30 mL de uma solução metanol/clorofórmio (2:1) a biomassa algal, sendo posteriormente agitado com o auxílio de um agitador magnético durante 30 min sob temperatura ambiente. Foram adicionados ao sistema 10 mL de clorofórmio e 10 mL da solução aquosa de sulfato de sódio a 1,5% (m/v). A mistura foi centrifugada a 2500 rpm durante 30 min, onde ocorreu a separação de fases. A fase orgânica foi separada, seca em sulfato de sódio anidro e seu volume reduzido em rotaevaporador rotativo até a secura total.

O processo de derivatização seguiu a metodologia modificada de Moss et al. (1974). Inicialmente os lipídeos extraídos foram diluídos em 5 mL de uma solução metanólica de hidróxido de sódio 0,5 M e colocada sob refluxo a 80 °C durante cerca de 8 min, sendo logo após adicionados 5 mL de trifluoreto de boro em methanol (BF_3 - 14% v/v) e refluxado por mais 5 min. Foram acrescentados, ao final da reação, 3 mL de uma solução saturada de cloreto de sódio e 20 mL de *n*-hexano. A fase orgânica foi separada, filtrada e seca com sulfato de sódio anidro, sendo posteriormente evaporada em rotaevaporador rotativo e seca em fluxo de nitrogênio até peso constante.

Os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAMEs) foram caracterizados e quantificadas em um GC-FID (Shimadzu) com coluna SP2560 (Supelco). A análise quantitativa foi realizada por comparação ao padrão Mix 37 (Supelco) e área normatizada através do Programa *GC Solution*.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises cromatográficas dos FAMEs em macroalgas das espécies *Gigartina skottsbergii*, *Plocamium cartilagineum* e *Pyropia endiviifolia* da Antártica (Figura) indicou uma grande variedade de ácidos graxos presente nesses organismos. De uma forma geral, os ácidos graxos saturados foram os mais significativos representando uma concentração de 70,3%, 78,2% e 50,7% em *Gigartina skottsbergii*, *Plocamium cartilagineum* e *Pyropia endiviifolia*. Por sua vez, *Pyropia endiviifolia* obteve uma quantidade significativa do ácido eicosapentaenoico (EPA, C20:5n3) a qual chegou a 22,3%. Estas características em tipos de ácidos graxos entre as algas estão relacionadas principalmente as diferenças genéticas entre as espécies, assim como, a condições ambientais nas quais esses organismos estão expostos. GRAEVE et al. (2002) reportou que as macroalgas antárticas do filo Rodophyta apresentam em maiores concentrações aos ácidos graxos C16:0, C20:5n3 (EPA) e C20:4n6 (ARA) os quais concordam parcialmente com os resultados obtidos.

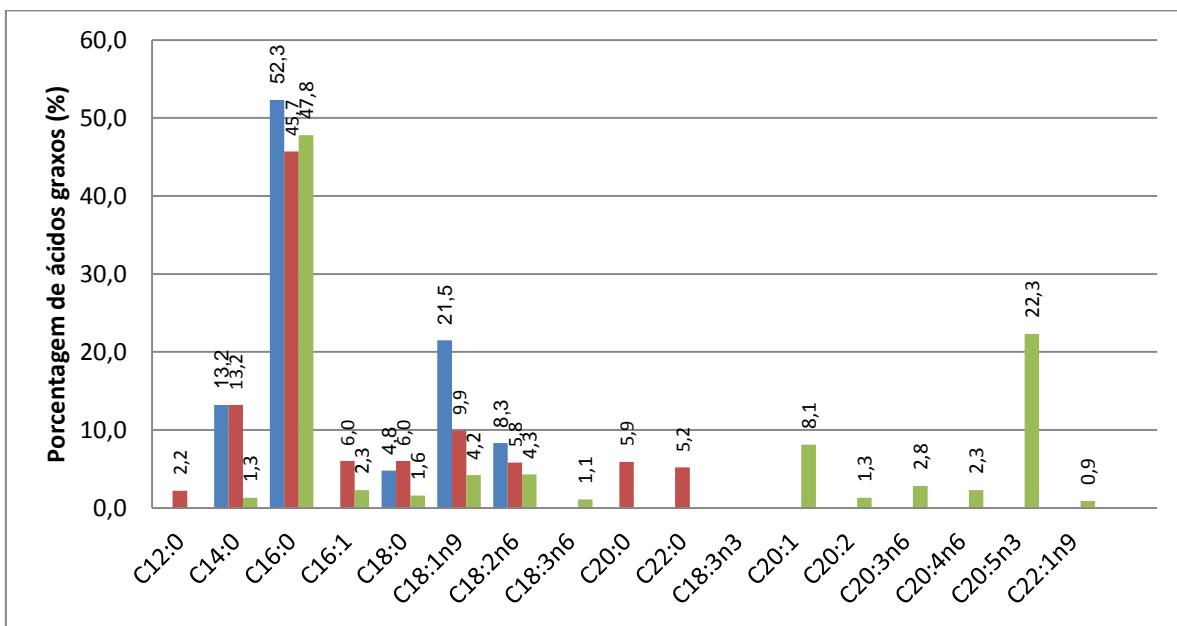


Figura. Perfil de ácidos graxos das amostras

O ácido palmítico (16:0) foi o mais representativo entre as macroalgas correspondendo a cerca de 45,7 % a 52,3 % do total de ácidos graxos. Essa maior presença pode ser explicada pelo fato que esse ácido graxo é o substrato para a produção de outros de cadeia maior através do processo de elongação (CABALLERO et al., 2015). Essa classe de ácido graxo está relacionada com problemas cardiovasculares. Todavia, o ácido palmítico pode ter seus efeitos prejudiciais bloqueados a partir da ingestão conjunta de *n*-3 e *n*-6 indicando que esse ácido graxo apresenta poucos riscos à saúde (FRENCH et al., 2002).

Em uma concentração intermediária quando comparada a outras classes, os ácidos graxos monoinsaturados também foram encontrados nas macroalgas analisadas. Em *Gigartina skottsbergii*, *Plocamium cartilagineum* e *Pyropia endiviifolia* esse percentual variou entre 4,2% e 21,5%. O ácido oleico (C18:1n9) foi o mais representativo entre as amostras. Também se nota a presença do ácido palmitoléico (C16:1) e do ácido paulínico (C20:1). Essa classe de ácido graxos está relacionada ao combate a diversas doenças crônicas tais como problemas cardíacos, tumores e desordens inflamatórias (CABALLERO et al., 2015).

Dentre as macroalgas analisadas, *Pyropia endiviifolia* obteve a maior concentração de PUFA como também de ácidos graxos do tipo *n*-3 (22,3 %). Nesses organismos, o teor de PUFA pode chegar a 60%-80% e varia de acordo com fatores ambientais tais como intensidade da luz, salinidade e temperatura (GRAEVE et al., 2002). A síntese de PUFA de cadeia longa para *n*-6, quanto para *n*-3, se utiliza das mesmas enzimas e, geralmente, o aumento da quantidade de um ácido graxo essencial reduz os níveis do outro devido à competição metabólica entre as enzimas. Uma dieta rica em *n*-6, por exemplo, pode estar associada a processos fisiológicos trombóticos (PEREIRA et al., 2012). Para manter um balanço ideal entre essas classes, a OMS indica uma razão da ingestão de *n*-6 e *n*-3 na faixa de 5:1 até 10:1 (VISENTAINER et al., 2006). Dentre as algas analisadas, nota-se que essa proporção é facilmente alcançada, pois a presença de *n*-3 é geralmente de 2 a 3 vezes maior que *n*-6.

4. CONCLUSÕES

Com base nos dados obtidos, pode ser concluído que as algas marinhas provenientes da Antártica apresentam um diversificado no perfil lipídico, sendo uma excelente fonte de PUFA, principalmente ácidos das classes *n*-3 e *n*-6, importantes para outras espécies dentro da cadeia alimentar, bem como para o metabolismo humano.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLIGH, E. G.; DYER, W. J.; A rapid method of total lipids extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.**, Halifax, v.37, p.911-917, 1959
- CABALLERO, B.; ALLEN, L.; PRENTICE, A. **Encyclopedia of Food and Health**. Waltham: Academic Press, 2015
- FRENCH, M.A.; SUNDARAM, K.; CLANDINIM, T.M. Cholesterolaemic effect of palmitic acid in relation to other dietary fatty acids. **Asia Pacific Journal of Clinical Nutrition**, Alberta, p401-407, 2002
- GRAEVE, M.; KATTNER, G.; WIENCKE, C.; KARSTEN, U. Fatty acid composition of Arctic and Antarctic macroalgae: indicator of phylogenetic and trophic relationships. **Marine Ecology**, Bremerhaven, v.231, p67-74, 2002
- MOSS, C. W.; LAMBERT, M. A., MERWIN, W. H.; Comparison of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids. **Appl. Microbiol.** Raleigh, v.28 n.1, p80-85, 1974
- PEREIRA, H.; BARREIRA, L.; FIGUEIREDO, F.; CUSTÓDIO, L., VIZETTO-DUARTE, C.; POLO, C.; REZEK, E.; ENGELEN, A.; VARELA, J. Polyunsaturated fatty acids of marine algae: potential for nutritional and pharmaceutical applications. **Marine Drugs**. Algarve, v.10, n.9, p1920-1935, 2012
- RODACKI, C. L.; RODACKI, A. L.; PEREIRA, G.; NALIWAIKO, K.; COELHO, I.; PEQUITO, D.; FERNANDES, L. C. Fish-oil supplementation enhances the effects of strength training in elderly women. **The American journal of clinical nutrition**. Curitiba, v.95, n.2, p428-436, 2012
- SIMOPOULOS, A. P. The importance of the omega-6/omega-3 fatty acid ratio in cardiovascular disease and other chronic diseases. **Experimental biology and medicine**. Washington, v. 233, n. 6, p. 674-688, 2008.
- SIDDQUI, R. A.; HARVEY, K. A.; ZALOGA, G. P.; STILLWELL, W. Modulation of lipids rafts by ω -3 fatty acids in inflammation and cancer: implications for use of lipids during nutrition support. **Nutrition in Clinical Practice**, Indianapolis, v. 22, n. 1, p. 74-88, 2007
- VANCE, J. E.; VANCE, D. E. **Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes**. Amsterdã: Elsevier, 2008.
- VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E.; Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremedação e a química analítica. **Química Nova**, Maringá, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004
- VISENTAINER, V. J.; MATSHUSHITA, M.; SOUZA E. N.; MARTIN A. C.; ALMEIDA, V. V.; RUIZ R. M. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, Campinas, v.19, n.6, 2006