

ÁCIDOS GRAXOS DA MACROALGA SUB-ANTÁRTICA *GIGARTINA SKOTTSBERGII*: UM PROMISSOR SUPLEMENTO Á SAÚDE

THAIS FIGUEIREDO RODEGHIERO¹; SAMANTHA DE FREITAS¹; LUCAS BERNEIRA¹; LUCIANO SISCONETTO¹; MARCO AURÉLIO ZIEMANN DOS SANTOS¹; CLAUDIO DE PEREIRA²

¹Universidade Federal de Pelotas - thaisfigueiredor@gmail.com

²Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com

1. INTRODUÇÃO

As algas são um grupo polifilético de organismos fotossintéticos divididas nos filos Ocrophyta (algas pardas), Chlorophyta (algas verdes) e Rhodophyta (algas vermelhas) segundo sua pigmentação, fatores bioquímicos e fisiologia (VIDOTTI et al., 2004; LEAL et al., 2013). A distribuição destas algas é universal, tanto em águas doces como salgadas, podendo ocorrer em lugares úmidos em locais com pouca acumulação de água e principalmente nos oceanos. Alguns lugares como as regiões Antártica e Sub-Antártica, com grandes variações climáticas, apresentam uma enorme riqueza na diversidade destes organismos.

O clima frio, tanto no verão como no inverno, nas regiões do extremo sul do Continente Americano é caracterizado por longos períodos de temperaturas extremamente baixas e muitas vezes negativas. Este clima proporciona um aumento das concentrações de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), os quais servem como proteção, isto é, o aumento de PUFAs nas algas faz com que ocorra um aumento da fluidez nas membranas, evitando o congelamento e a morte celular.

Os PUFAs abrangem duas grandes classes de ácidos graxos muito importante para o metabolismo humano, os ômegas 3 (*n*3) e ômegas 6 (*n*6). Estes ácidos se apresentam em grandes concentrações nas macroalgas de águas frias.

Alguns ácidos, tais como ácidos α -linolênico (18:3*n*3) e o ácido linoleico (18:2*n*6) não são metabolizados pelo organismo humano (RADWAN, 1991; SCHMITZ et al., 2008), porém são metabolizados por estas algas. O consumo destes organismos pode suprir as necessidades destes ácidos essenciais ao nosso metabolismo. Neste contexto, o consumo de produtos marinhos, como as algas, aparece como uma grande perspectiva para novos estudos, pois já é constatado na literatura a ocorrência significante destes organismos com aplicação farmacêutica, os quais trazem inúmeros benefícios clínicos contra doenças cardíacas, neurológicas e algumas autoimunes (SIDDIQUI et al., 2007; BROWN et al. 2014).

Embora apresentem um amplo potencial nutracêutico que pode ser aplicado a diversas áreas da saúde, o perfil de ácidos graxos ainda não foi elucidado para grande parte das macroalgas. No caso de organismos que habitam a região Sub-Antártica, o estudo do perfil dessas substâncias é menor devido a dificuldades climáticas, geográficas e de coleta. Nesse contexto, o objetivo deste trabalho foi de caracterizar o perfil de ácidos graxos presente na macroalga *Gigartina skottsbergii* da região Sub-Antártica de Magalhães (Chile) nas fases de desenvolvimento tetrasporofítica e carposporofítica.

2. METODOLOGIA

As algas da espécie *Gigartina skottsbergii* nas fases de desenvolvimento tetrasporofítica e carposporofítica foram coletadas na Região do Estreito de Magalhães (Punta Arenas, Chile) na localidade de Puerto del Hambre ($53^{\circ}36'46.6S, 70^{\circ}55'46.6W$) entre Dezembro de 2016 a Fevereiro de 2017 na região infralitoral na profundidade de 5 a 7 m.

As algas coletadas foram acondicionadas em recipientes tipo “cooler” com água do mar até ao laboratório, onde foram separadas das sujidades e lavadas em água corrente, sendo posteriormente congeladas a -20°C. A secagem das algas ocorreu em estufa de circulação de ar a 35°C por um período de 30 h. Após foram trituradas, acondicionadas em sacos escuros e conservadas em dessecador.

A extração dos ácidos graxos foi realizada segundo o método modificado de Bligh & Dyer (1959). Primeiramente foi utilizado um 1 g de biomassa da alga, seca em estufa e pulverizada em moinho de facas. Posteriormente as amostras foram colocadas em um balão de 100 mL onde, foram adicionados 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 10 mL de solução aquosa a 1,5% de sulfato de sódio (Na_2SO_4). Em seguida, a mistura foi agitada à temperatura ambiente num agitador magnético durante 30 min. Após, foram adicionados novamente 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução aquosa de Na_2SO_4 a 1,5%. A mistura foi transferida para tubos tipo *falcon* e submetidos à centrifugação durante 30 min a 5000 rpm. Em seguida, a fase orgânica foi separada e evaporada sob pressão reduzida.

Posteriormente, se realizou a derivatização dos lipídios extraídos os quais foram aos seus respectivos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) segundo o método de Moss, Lambert e Merwin (1974). Nesse sentido, em um balão contendo os lipídeos extraídos, foram adicionados 6 mL de solução de NaOH a 2% em metanol (m/v) sob agitação e aquecimento de 80 °C por 8 min em refluxo. Após, foram adicionados 7 mL de fluoreto de boro/metanol (Aldrich 14% BF_3 em metanol) com agitação por 2 min e 5 mL de solução de NaCl a 20% (m/v). A fase orgânica, contendo os FAMEs, foi separada utilizando 20 mL de hexano, filtrada sob sulfato de sódio anidro e, por fim, evaporada sob pressão reduzida.

Na análise cromatográfica, os ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) foram analisados a partir de curva analítica usando FAME 37-MIX (Supelco, EUA) utilizando um Cromatógrafo Gasoso por Ionização de Chama (GC/FID 2010-Shimadzu) e coluna SP 2560 (Supelco - 100 m x 0,25 mm i.d., 0,20 μm). As condições operacionais para as análises de perfil de FAMEs foram: nitrogênio como gás carreador na vazão de 1,2 mL/min, modo split 1:100, volume injetado de amostra 1 μL ; temperatura inicial do forno 120 °C com aquecimento de 3 °C/min até 240 °C. Temperatura do injetor e detector ambas 250°C (SANTOS et al., 2017).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O perfil de ácidos graxos da macroalga *G. skottsbergi* (**Tabela 1**) apresentou qualitativamente a presença de 8 ácidos graxos para a fase carposporofítica e 11 para a fase tetraesporofítica. Foram observados 3 SFAs, 2 MUFA e 3 PUFA para a fase carposporofítica, bem como, 4 SFAs, 3 MUFA e 4 PUFA para a fase tetraesporofítica.

Na análise do perfil de SFAs, pode ser observado a presença em altas concentração de ácido mirístico (14:0) com $6,12 \pm 0,24$ e palmítico (16:0) $37,21 \pm 0,38$, ambos na fase carposporofítica. Cabe ressaltar que houve uma diferença significativa entre as concentrações do ácido esteárico (18:0) quando compararmos as fases de desenvolvimento e o ácido laurílico (12:0) foi somente observado na fase tetraesporofítica (Tabela 1).

Na classe dos MUFA, o ácido graxo encontrado em alta concentração nas duas fases foi o ácido oleico (18:1 $n9c$) com variação entre $13,14 \pm 0,19$ e $15,05 \pm 0,03$ %. Porém, no ácido palmitoléico (16:1) ocorreu diferença significativa entre as fases

de forma que a fase carposporofítica apresentou maior concentração desse composto ($4,17 \pm 0,2\%$) (Tabela 1).

Os PUFA s podem se observar diferenças significativas entre os constituintes presentes nas fases, sendo as maiores concentrações encontradas para o ácido araquidônico (20:4n6) e *cis*- 5, 8, 11, 14, 17 eicosapentaenoico (20:5n3) encontrados na fase tetraesporofítica e 18:2n6c na fase carposporofítica (Tabela 1).

Tabela 1. Composição de ácidos graxos (% molar) de *G. skottsbergii* da Região de Magalhães (Chile) nas fases carposporofítica e tetrasporofítica

Ácidos Graxos	GSC	GST
12:0	ND	$0,07 \pm 0,00$
14:0	$6,12 \pm 0,24$	$5,39 \pm 0,02$
16:0	$37,21 \pm 0,38$	$35,65 \pm 0,61$
16:1	$4,17 \pm 0,2$	$1,82 \pm 0,00$
18:0	$12,78 \pm 0,18$	$4,66 \pm 0,04$
18:1n9c	$13,14 \pm 0,19$	$15,05 \pm 0,03$
18:2n6c	$6,17 \pm 0,21$	$3,28 \pm 0,03$
20:3n6	ND	$1,26 \pm 0,01$
20:4n6	$6,43 \pm 0,27$	$15,22 \pm 0,17$
20:5n3	$7,63 \pm 0,06$	$14,74 \pm 0,04$
24:1	ND	$0,59 \pm 0,00$

Resultados expressos em média \pm desvio padrão de ácidos graxos totais (n=3); ND: não detectado; GSC - *G. skottsbergii* carposporofítica; GST - *G. skottsbergii* tetrasporofítica

Na macroalga *G. skottsbergii*, os mais prevalentes PUFA s foram os ácidos araquidônico e o eicosapentaenoico o qual está de acordo com KUMARI et al., (2010). Segundo GRAEVE et al. (2002) a fase tetraesporofítica de *G. skottsbergii* da região Antártica possui uma concentração de 22,2% para 20:4n6 e 25,2% para 20:5n3, sendo maiores quando comparada a fase de desenvolvimento tetrasporofítica coletada na região Sub-Antártica. As diferenças nas concentrações entre os AGs e a sua variabilidade podem estar atribuídas aos fatores ambientais, como intensidade de luz, salinidade e temperatura e sazonalidade (THOMAS; DIECKMANN, 2002).

A importância de quantificar e analisar os diferentes AGs presentes nas algas vem surgindo como uma alternativa comercial devido à possibilidade de produção em larga escala (KUMARI et al., 2010). Os ácidos graxos também podem ser utilizados em ações biológicas como, por exemplo, auxiliando a penetração do agente farmacêutico especificamente na célula-alvo devido a suas características lipofílicas particulares (PEREIRA et al., 2012). Os efeitos dos n3 e n6 contra o câncer de mama já foram evidenciados em estudos *in vitro* e *in vivo*, tendo-se diversos mecanismos de atuação como inibição do crescimento celular e aumento do apoptose (TERRY et al., 2004).

4. CONCLUSÕES

Portanto, com base nos resultados obtidos, se pode observar que as macroalgas apresentam um grande potencial como fonte de PUFA s, independente de sua fase de desenvolvimento, podendo ter sua aplicabilidade em formulações ou ainda como nutracêuticos.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BLIGH, E. G.; DYER, W. J. A rapid method for total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**. v. 37, p. 911-917, 1959.
- BROWN, E. M.; ALLSOPP, P. J.; MAGEE, P. J.; GILL, C. I.; NITECKI, S.; STRAIN, C. R.; MCSORLEY, E. M. Seaweed and human health. **Nutrition Reviews**, v. 72, n. 3, p. 205-216, 2014.
- GRAEVE, M.; KATTNER G.; WIENCKE, C.; KARSTEN U. Fatty acid composition of Arctic and Antarctic macroalgae: indicator of phylogenetic and trophic relationships. **Marine ecology progress series**, v. 231, p. 67–74, 2002.
- KUMARI, P.; KUMAR, M.; GUPTA, V.; REDDY, C. R. K.; JHA, B. Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFA. **Food Chemistry**, v. 120, n. 3, p. 749-757, 2010.
- LEAL, M.C.; MUNRO, M.H.G.; BLUNT, J.W.; PUGA, J.; JESUS, B.; CALADO, R.; ROSA, R.; MADEIRA, C. Biogeography and biodiscovery hotspots of macroalgal marine natural products. **Natural Products Reports**, Reino Unido, v. 30, p. 1380-1390, 2013.
- MOSS, C. W.; LAMBERT, M. A.; MERWIN, W. H. Comparation of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids. **Journal of Applied Microbial**. v. 28, n. 1, p. 80-85, 1974.
- PEREIRA, H.; POLO, C.; REŠEK, E.; ENGELEN, A. Polyunsaturated Fatty Acids of Marine Macroalgae : Potential for Nutritional and Pharmaceutical Applications. **Mar Drugs**, Suiça, v. 10, n.9, p. 1920–1935, 2012.
- RADWAN, S.S. Sources of C20-polyunsaturated fatty acids for biotechnological use. **Applied Microbiology and Biotechnolog**. v. 35, p. 421–430, 1991.
- SCHMITZ, G.; ECKER, J. The opposing effects of n-3 and n-6 fatty acids. **Progress in Lipid Research**, v. 47, 147–155, 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**, v. 22, n. 1, p. 74-88, 2007.
- SANTOS, MAS.; COLEPICOLI P.; PUPO, D.; FUJII, MT.; DE PEREIRA, CMP.; MESKO, MF. Antarctic red macroalgae: a source of polyunsaturated fatty acids, **Journal of Applied Phycology**, v. 29 p.759–767, 2017.
- TERRY, P. D.; TERRY, J. B.; ROHAN, T. E. Long-Chain (n-3) Fatty Acid Intake and Risk of Cancers of the Breast and the Prostate: Recent Epidemiological Studies, Biological Mechanisms, and Directions for Future Research. **The Journal of Nutrition**, v. 134, p. 3412S–3420S, 2004.
- THOMAS, D. N.; DIECKMANN, G. S. Antarctic Sea Ice—a Habitat for Extremophiles. **Science**, v. 295, n. 5555, p. 641-644, 2002.
- VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e a química analítica. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004.