

## **AVALIAÇÃO DO PERFIL LIPÍDICO DE MACROALGAS SUBANTÁRTICAS DO GÊNERO *Pyropia* (FILO RODOPHYTA) POR CROMATOGRAFIA GASOSA**

**BRUNO V. MUCHALE<sup>1</sup>; MARCO AURÉLIO ZIEMANN DOS SANTOS<sup>5</sup>; CAROLINE CARAPINA DA SILVA<sup>2</sup>; CHAYANE PORTO<sup>3</sup>; ANDRÉS MANSILLA<sup>4</sup>; CLÁUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>5</sup>**

<sup>1</sup>Curso de Farmácia - UFPel - [bruno.muchale@gmail.com](mailto:bruno.muchale@gmail.com), <sup>2</sup>Curso de Química Bacharelado – UFPel, <sup>3</sup>Curso de Química Industrial – UFPel, <sup>4</sup>Universidad de Magalhães – Chile, <sup>5</sup>Química Orgânica - UFPel - [claudiochemistry@gmail.com](mailto:claudiochemistry@gmail.com)

### 1. INTRODUÇÃO

Macroalgas são organismos que possuem uma grande complexidade estrutural e distintas formas de crescimento, em sua maioria são organismos autotróficos, ou seja, utilizam CO<sub>2</sub> como fonte de carbono em seu metabolismo por meio de processos fotossintéticos ou quimiossintéticos. Não apresentam raiz, folha e caule como as plantas, porém possuem uma estrutura denominada talo (CASTRO, 2012), habitam diferentes ambientes, desde pequenas poças de água até oceanos, ficando expostas a inúmeras adversidades ambientais como alta radiação solar, níveis elevados de salinidade e intensas variações climáticas.

As algas, como inúmeros seres vivos ao longo da sua evolução, criaram sofisticados mecanismos adaptativos em oposição às adversidades do ambiente onde se encontram. Uma das adaptações, talvez a mais importante para estes organismos, seja o controle do grau de fluidez das membranas biológicas abaixo da temperatura crítica, chamado de aclimatação homeoviscosa (LEMIEUX et al., 2008).

Este tipo de aclimatação, também conhecida como homeofásica, em baixas temperaturas é responsável pelo aumento de ácidos graxos poliinsaturados e decréscimo de ácidos graxos saturados em organismos vivos para aumentar a fluidez de membrana e manter a integridade das membranas celulares (LEMIEUX et al., 2008).

O aumento de ácidos graxos poliinsaturados está diretamente relacionado a reações catalisadas por enzimas dessaturases, responsáveis pela conversão de ligações simples entre carbonos em ligações duplas, as quais são chamadas de dessaturação da cadeia carbônica (ALONSO et al., 2003)

Os ácidos graxos, principalmente monoinsaturados e poliinsaturados encontrados nas algas tem se mostrado um importante alimento funcional com poder nutracêutico e de grande valor comercial para as indústrias farmacêuticas (SCHUCHARDT et al., 2010; BOUYER et al., 2012). A classe de ácidos graxos encontrada na biomassa algal e sua concentração estão diretamente relacionadas aos fatores nutricionais, climáticos e taxonômicos.

As macroalgas do filo Rodophyta apresentam grandes quantidades de ácidos graxos saturados, monoinsaturados e principalmente poliinsaturados das famílias  $\omega$ -3,  $\omega$ -6 e  $\omega$ -9 (SANTOS, 2013; PEREIRA et al., 2012).

Tendo em vista a importância dos ácidos graxos citados, o objetivo do trabalho foi identificar e comparar o percentual dos ácidos graxos em três espécies de macroalgas vermelhas subantárticas do gênero *Pyropia* coletadas em seis pontos na região de Punta Arenas (Chile).

## 2. METODOLOGIA

As algas *Pyropia* sp. C. Agardh, *Pyropia columbina* Montagne e *Pyropia linearis* Greville foram coletadas respectivamente nas localidades de Fuerte Bulnes, Fondeadero Kendal, Porvenir, Paso Stag Norte e Tortuoso no Chile.

O processo de preparação das amostras para análise de ácidos graxos por cromatografia gasosa seguiu as seguintes etapas:

**Extração:** As amostras algais liofilizadas, previamente moídas foram pesadas individualmente, cerca de 1g de cada alga. A extração dos lipídios seguiu o método modificado de BLIGH & DYER (1959), onde as amostras foram agitadas por 30min com auxílio de barra magnética em agitador juntamente com o meio extrator composto por 30mL de clorofórmio/metanol (1:2 v/v) e 10mL de sulfato de sódio 1,5% (m/v). Após a agitação foi adicionado 10mL de clorofórmio e 10mL de sulfato de sódio 1,5% (m/v). Os extratos foram centrifugados a 2500rpm por 25min. A fase orgânica foi recolhida e seca em rotaevaporador.

**Metilação dos Lipídeos:** Os lipídios extraídos das biomassas algais foram metilados e convertidos aos seus respectivos ésteres, seguindo a metodologia modificada de MOSS; LAMBERT E MERWIN (1974). Para isto, em balão de 50mL contendo os lipídeos foi acrescentado 4mL de solução de NaOH a 2% em metanol (m/v) sob agitação e aquecimento de 100°C em banho-maria, ficando por um período de 5min em refluxo, após foram adicionados 5mL de BF<sub>3</sub> (ácido de Lewis) seguindo com agitação por 2min e após adicionados 5ml da solução de NaCl a 20% (m/v). A amostra foi deixada em repouso em temperatura ambiente, sendo posteriormente transferida para funil de separação juntamente com 20mL de hexano. A fase orgânica foi separada e seca com 2g de sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado sob vácuo.

Os ácidos graxos metilados foram analisados e quantificados utilizando um GC/FID 2010 (Shimadzu) equipado com coluna Elite Wax (0,25µx30mx25mm); gás de arraste H<sub>2</sub>. A quantificação foi realizada por padronização interna utilizando padrão FAME MIX 37, marca Sigma-Aldrich, e como padrão interno o éster metílico do ácido nonadecanoato, marca Supelco.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As análises do perfil lipídico para as espécies do gênero *Pyropia* mostraram uma concentração alta para ácidos graxos saturados (SFA) nas amostras 20, 22, 23 e 28 (Figura 1) totalizando um percentual total de 80,7%, 67,3%, 51,6% e 85,6% respectivamente. Os maiores valores encontrados para ácidos graxos monoinsaturados (MUFA) foram de 14,5% e 21,6% para as amostras 20 e 22, e para poliinsaturados (PUFA) os maiores valores foram de 47,0% e 39,7% para as amostras 17 e 23 (Figura 1).

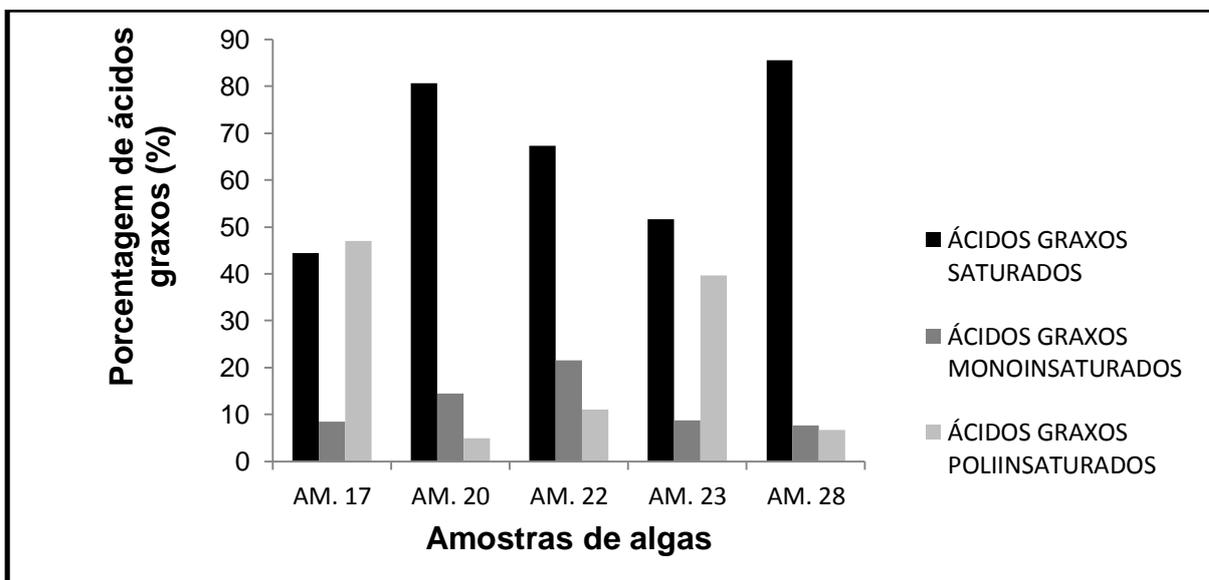
A Tabela 1 mostra os principais resultados para ácidos graxos identificados nas espécies de algas vermelhas do gênero *Pyropia* coletadas em diversos pontos no Estreito de Magalhães, próximo a cidade de Punta Arenas. Estes dados corroboram com a literatura a qual aponta concentrações mais altas para SFA e concentrações proporcionais entre SFA e PUFA (GINNEKEN et al., 2011) em regiões que apresentam águas tropicais (acima de 20°C), temperadas-frias (3°C-14°C) e temperada-fria mista (7°C-18°C). Os pontos subantárticos onde foram coletadas as algas dentro do território chileno, ficam em regiões de menor

profundidade, menor salinidade e de águas mais temperadas, próximo as cidades de Punta Arenas em regiões de baías e fiordes. Estas são características bem diferentes do clima de regiões antárticas, próximas ao Chile, onde encontramos regiões geladas com temperaturas do mar abaixo de zero, alta salinidade e grande incidência dos raios UV no verão, os quais podem influenciar diretamente no aumento da concentração de ácidos graxos poliinsaturados (SANTOS, 2013).

**Tabela 1** – Porcentagem dos principais ácidos graxos encontrados nas macroalgas do gênero *Pyropia* coletadas em Punta Arenas (Chile).

	AM. 17 <sup>a</sup>	AM. 20 <sup>b</sup>	AM. 22 <sup>c</sup>	AM.23 <sup>d</sup>	AM.28 <sup>e</sup>
<b>C14:0</b>	0,58	2,39	1,25	0,86	1,04
<b>C16:0</b>	41,12	70,22	56,00	48,27	79,23
<b>C16:1</b>	0,73	3,85	7,20	2,17	1,63
<b>C18:0</b>	1,07	3,80	5,58	1,04	1,67
<b>C18:1n9c</b>	2,97	6,68	8,41	2,26	3,19
<b>C18:2n6c</b>	2,43	1,76	1,43	1,44	1,13
<b>C20:1n9</b>	3,43	2,77	5,20	2,80	2,09
<b>C20:3n6</b>	2,10	0,36	1,82	0,97	0,29
<b>C20:4n6</b>	3,48	0,30	0,64	8,93	1,07
<b>C20:5n3</b>	36,70	0,72	6,01	27,09	3,21
<b>C22:1n9</b>	0,49	0,57	0,46	0,56	0,57
<b>C24:0</b>	0,29	0,56	0,20	0,18	0,43

<sup>a</sup>AM. 17- *Pyropia* sp. C. Agardh (Fuerte Bulnes); <sup>b</sup>AM. 20- *Pyropia* sp. C. Agardh (Fondeadero Kendall); <sup>c</sup>AM. 22 - *Pyropia columbina* Montagne; <sup>d</sup>AM. 23- *Pyropia columbina*. Montagne (Paso Stag Norte); <sup>e</sup>AM 28 *Pyropia linearis* Greville (Paso Tortuoso).



**Figura 1**- Perfil lipídico de três espécies de macroalgas subantárticas coletadas em Punta Arenas, Chile.

#### 4. CONCLUSÕES

As análises realizadas nas macroalgas do gênero *Pyropia* em seis diferentes pontos de coleta no Chile mostraram que a diferença entre as espécies, os locais de coletas e as adversidades climáticas influenciam surpreendentemente nas concentrações de ácidos graxos.

#### 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALONSO, D.L.; MAROTO, F.G.; RUIZ, J. R.; GARRIDO, J.A.; VILCHES, M.A. Evolution of the membrane-bound fatty acid desaturases. **Biochemical Systematics and Ecology**, v. 31, p.1111-1124, 2003.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method for total lipid extraction and purification, **Can. J. Biochem. Physiol.**, v. 37. P. 911-917, 1959.

CASTRO P., HUBE. E. M. **Biologia Marinha**. São Paulo: MCGRAW-HILL BRASIL. 480 p. 2012.

GINNEKEN, V. J. T.; HELSPER, J. P. F. G.; VISSER, W.; KEULEN, H.; BRANDENBURG, W. A Polyunsaturated fatty acids in various macroalgal species from north Atlantic and tropical seas. **Lipids in Health and Disease**, v.10, n.104, p.104-111, 2011.

LEMIEUX H, BLIER, P.U, TARDIF, J.C. Does membrane fatty acid composition modulate mitochondrial functions and their thermal sensitivities. **Comp Biochem Physiol**, v.149, n.1, p.20-29, 2008.

MOSS, C.W.; LAMBERT, M.A.; MERWIN, W.H. Comparison of rapid methods for analysis of bacterial fatty acids. **Appl Microbiol.**, v. 28, n. 1, p. 80–85, 1974.

PEREIRA, H.; BARREIRA, L.; FIGUEIREDO, F.; CUSTÓDIO, L.; VIZETTO-DUARTE, C.; POLO, C.; REŠEK, E.; ENGELEN, A.; VARELA, J. Polyunsaturated fatty acids of marine macroalgae: potential for nutritional and pharmaceutical applications. **Marine Drugs**, v.10, p.1920-1935, 2012.

SANTOS, M. A. Z. **Análise de ácidos graxos poliinsaturados em macroalgas vermelhas da Antártica por Cromatografia Gasosa**. 2013. 96f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica e Bioprospecção). Curso de Pós Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Universidade Federal de Pelotas.

SCHUCHARDT. J. P., HUSS M., STAUSS-GRABO M., HAHN A. Significance of long-chain polyunsaturated fatty acids (PUFAs) for the development and behaviour of children. **European Journal of Pediatrics**. v.169, n.2, p.149-164, 2010.