

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção



Dissertação

**Análise de ácidos graxos poliinsaturados em macroalgas vermelhas da
Antártica por Cromatografia Gasosa**

Marco Aurélio Ziemann dos Santos

Pelotas, 2013

MARCO AURÉLIO ZIEMANN DOS SANTOS

Análise de ácidos graxos poliinsaturados em macroalgas vermelhas da Antártica por
Cromatografia Gasosa

Dissertação apresentada ao programa de
Pós-Graduação em Bioquímica e
Bioprospecção da Universidade Federal
de Pelotas, como requisito à obtenção do
título de Mestre em Ciências (Área do
conhecimento: Bioquímica e
Bioprospecção)

Orientador: Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira
Co-Orientador: Prof.^a. Dr.^a. Márcia Foster Mesko

Pelotas, 2013

Dados de catalogação na fonte:
(Marlene Cravo Castillo – CRB-10/744)

S237a Santos, Marco Aurélio Ziemann dos

Análise de ácidos graxos polinsaturados em macroalgas vermelhas da Antártica por Cromatografia Gasosa / Marco Aurélio Ziemann dos Santos ; orientador Claudio Martins Pereira de Pereira- Pelotas,2013.-73f. : il. -Dissertação (Mestrado) –Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos . Universidade Federal de Pelotas. Pelotas, 2013.

1.Polininsaturados 2.Antártica 3.GC/FID 4.GC-MS
I.Pereira, Claudio Martin Pereira de(orientador) II .Título.

CDD 544.92

A Comissão Examinadora, abaixo assinada, aprova a Dissertação de Mestrado

**Análise de ácidos graxos poliinsaturados em macroalgas vermelhas da
Antártica por Cromatografia Gasosa**

elaborada por

Marco Aurélio Ziemann dos Santos

Como requisito à obtenção do título de **Mestre em Ciências (Área do
conhecimento: Bioquímica e Bioprospecção)**

Banca Examinadora

Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira (UFPeI/CCQFA) - ORIENTADOR

Prof. Dr. Luciano da Silva Pinto (UFPeI – CDTec/BIOTECNOLOGIA)

Prof. Dr. Luiz Antonio Mazzini Fontoura (ULBRA/QUÍMICA)

Pelotas, 2013

“NÃO É O MAIS FORTE QUE SOBREVIVE,
NEM O MAIS INTELIGENTE, MAS O QUE
MELHOR SE ADAPTA ÀS MUDANÇAS...”

CHARLES DARWIN

Agradecimentos

Primeiramente a Deus por permitir estar vivenciando este momento mantendo minha mente e alma tranquilas em todos os momentos e me dando forças para superar as dificuldades que passamos em nossas vidas.

Aos meus pais pelo incentivo, pelas conversas e conselhos, quando os dias se tornam pesados e difíceis, amo vocês.

Um agradecimento especial a minha esposa Patricia que sempre esta ao meu lado, me apoiando, incentivando se mantendo firme em todos os momentos, seja na doença, nos momentos de mau humor ou nos momentos bons que passamos juntos. Obrigado por ser minha esposa, companheira, mulher e principalmente minha amiga. Te amo.

Aos meus filhos Lorrان e Richele por me mostrarem que filhos dão trabalho, mas que também nos dão muitas e muitas alegrias, felicidades e no fazem ver que a vida tem mais sentido quando temos alguém para transmitirmos nosso conhecimento e amor.

Ao Prof. Dr. Claudio pela orientação em vários trabalhos. Obrigado pelas oportunidades, pelo incentivo a pesquisa, pela confiança em mim e pelas conversas entre um café e outro que permitiu mantermos um laço grande de amizade.

Ao Prof. Dr. Rogério Freitag pelos vários anos de amizade, sugestões, conselhos, ensinamentos e orientações.

Aos amigos do laboratório, Marina, Caroline, Vanderléia, Camilinha, Bruna, Bruno, Silvana, Emanuel, Jéssica, Carolina e Priscila, por permitirem que eu faça parte de suas vidas, como amigo, colega, como conselheiro em momentos difíceis ou simplesmente como o “cara” que incomoda vocês.

Ao meu colega de serviço e curso José Coan, pelas caronas, pelas conversar na solução de alguns problemas e pelo auxílio em minha pesquisa.

Aos professores Dr. Pio Colepicolo (USP-SP) e Dr. Mutue Toyota Fujii (IBt-SP) por disponibilizarem as algas, a qual sem elas este trabalho não poderia ser realizado.

Aos professores Dr. Luiz Antonio Mazzini Fontoura e Dr. Luciano da Silva Pinto por deixarem seus afazeres e prontamente se disponibilizarem a participar de minha Banca de Defesa de Dissertação.

Aos coordenadores e todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, pelo aprendizado, companheirismo, dedicação, crescimento profissional e pessoal.

Por fim, a todos aqueles que aqui não foram citados, mas de alguma forma fizeram parte da minha vida e me auxiliaram neste momento tão importante.

Resumo

SANTOS, Marco Aurélio Ziemann dos. **Análise de ácidos graxos poliinsaturados em macroalgas vermelhas da Antártica por Cromatografia Gasosa**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

A flora macroalgal da Antártida apresenta baixa riqueza de espécies em comparação a regiões subantárticas sul-americanas. Algas do continente antártico são caracterizadas pela alta produção de ácidos graxos poliinsaturados de membrana, utilizados para manter as condições ideais destes organismos no ambiente antártico. Atualmente, os organismos que contêm compostos nutracêuticos de interesse, tais como ácidos graxos poliinsaturados, têm sido objeto de inúmeros estudos na área médica, farmacêutica e bioprospecção. O objetivo da nossa investigação é determinar as quantidades de ácidos graxos poliinsaturados presentes em algas vermelhas das espécies *Pyropia endiviifolia*, *Palmaria decipiens*, *Plocamium cartilagineum* e *Irídeae cordata* do continente antártico por cromatografia gasosa (GC). As análises quantitativas foram realizadas utilizando um cromatógrafo gasoso GC/FID e expressas em mg/g de massa seca (MS). Os principais ácidos graxos insaturados encontrados no óleo das algas em todas as espécies foram o ácido oleico (C18:1n-9c), ácido linoleico (C18:2n-6c), ácido α -linolênico (C18:3n-3), γ -linolênico (C18:3n-6) e eicosatrienóico (C20:3n-6), ocorrendo também quantidades significativas de ácido araquidônico (C20:4n-6) onde foram encontrados valores entre 0,02mg/g de MS para *P. decipiens* e 0,94mg/g de MS para *P. endiviifolia*. Altas concentrações de ácido eicosapentaenóico (C20:5n-3) foram encontradas em todas as espécies, sendo: 65,72% de FA total em *P. endiviifolia*; 78,91% de FA total em *P. decipiens*; 52,78% da FA total em *I. cordata* e 21,04% do total de FA para *P. cartilagineum*. Em conclusão as algas vermelhas investigadas possuem grande potencial na produção de ácidos graxos poliinsaturados com teores significativos de ômega-3 e ômega-6.

Palavra chave: Poliinsaturados. Antártica. Eicosapentaenóico. GC/FID. GC-MS.

Abstract

SANTOS, Marco Aurélio Ziemann dos. **Analysis of polyunsaturated fatty acids in red macroalgae from Antarctica by Gas Chromatography**. 2013. 73f. Dissertação (Mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas.

The Antarctic macroalgal flora is characterized by low species richness in comparison with South American subantarctic regions. Algae of the Antarctic continent are characterized for producing high concentrations of polyunsaturated fatty acids to maintain optimal conditions membrane. Currently, organisms that contain nutraceutical compounds of interest, such as polyunsaturated fatty acids, have been the subject of numerous studies in the medical, pharmaceutical and bio-prospecting. The objective of our investigation is to determine the quantities of omegas present in algae red the species *Pyropia endiviifolia*, *Palmaria decipiens*, *Plocamium cartilagineum* and *Irídeae cordata* of the continent Antarctic by gas chromatography (CG). The quantitative GC analyses have been a gas chromatograph GC/FID. The major unsaturated acids in the seed oils of all species were oleic acid (C18:1*n*-9c), linoleic acid (C18:2*n*-6c), α -linolenic acid (C18:3*n*-3), γ -linolenic acid (C18:3*n*-6) and eicosatrienoic acid (C20:3*n*-6), occur also significant amounts of arachidonic acid (C20:4*n*-6) in algae oils of all the examined species were found getting between 0,02mg/g DM to *P. decipiens* and 0,94mg/g DM for *P. endiviifolia*. High concentrations were found to eicosapentaenoic acid (C20:5*n*-3) in all species, being concentrations found: 65,72% of total FA in *P. endiviifolia*; 78,91% of total FA in *P. decipiens*; 52,78% of total FA in *I. cordata* and 21,04% of total FA for *P. cartilagineum*. In conclusion red algae investigated have potential of producing polyunsaturated fatty acid significant amounts of omega-3 and omega-6.

Keywords: Polyunsaturated. Antarctica. Eicosapentaenoic. GC/FID. GC-MS.

Lista de Figuras

Figura 1	Continente antártico.....	18
Figura 2	Localização da Estação de Pesquisa Antártica Brasileira e outras estações de pesquisa internacionais na Ilha Rei George.....	19
Figura 3	Macroalga <i>Iridaea cordata</i>	24
Figura 4	Macroalga <i>Palmaria decipiens</i>	25
Figura 5	Macroalga <i>Plocamium cartilagineum</i>	26
Figura 6	Macroalga <i>Pyropia endiviifolium</i>	27
Figura 7	Estrutura do ácido 6,9,12,15-octadecatetraenóico.....	29
Figura 8	Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados das famílias ômega 3 e 6 em vegetais.....	30
Figura 9	Cascata do ácido araquidônico (ARA) e formação de eicosanoides bioativos.....	31
Figura 10	Cromatograma do padrão FAME Mix 37 (Sigma-Aldrich).....	37
Figura 11	Curva de calibração do ácido <i>all</i> - <i>cis</i> -5,8,11,14,17-eicosapentaenóico (C20:5 n -3).....	38
Figura 12	Cromatograma da coeluição dos ácidos oleico e elaídico no padrão FAME Mix 37 (Sigma-Aldrich).....	39
Figura 13	Cromatograma dos ácidos oleico e elaídico em <i>Iridaea cordata</i>	39
Figura 14	Curva de calibração em coluna capilar RTX WAX para os padrões de ácido graxo oleico e elaídico.....	40
Figura 15	Cromatograma dos padrões de ácidos oleico e elaídico na concentração de 1,25mg/mL.....	40
Figura 16	Teor total de lipídeos em macroalgas vermelhas da Antártica.....	42
Figura 17	Cromatograma da espécie <i>Palmaria decipiens</i>	43
Figura 18	Espectro de massas do ácido <i>all</i> , <i>cis</i> -5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (C20:5 n -3).....	44
Figura 19	Média dos percentuais de ácidos graxos poliinsaturados em algas vermelhas.....	46

Lista de tabelas

Tabela 1	Composição (%) de ácidos graxos em algas da Antártica.....	45
----------	--	----

Lista de abreviaturas

PUFA	Ácido graxo poliinsaturado
EPA	Ácido eicosapentaenóico (C20:5 n -3)
DHA	Ácido docosahexaenóico (C22:6 n -3)
ARA	Ácido araquidônico (C20:4 n -6)
GC/FID	Cromatografia gasosa com detector por ionização em chama
GC-MS	Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
EACF	Estação Antártica Comandante Ferraz
pH	Grandeza físico-química potencial hidrogeniônico
ω -3	Ômega 3
ω -6	Ômega 6
MS	Massa seca
FA	Ácido graxo (Fatty acid)
FAS	Ácido graxo saturado (Fatty acid saturated)
m/z	Relação massa/carga
LDL-c	Lipoproteína de baixa densidade - colesterol
DGAT	Enzima 1,2 - diacilglicerol aciltransferase
[M ⁺]	Íon molecular

SUMÁRIO

1.	INTRODUÇÃO.....	14
2.	OBJETIVOS DO TRABALHO.....	17
2.1	Objetivo geral.....	17
2.2	Objetivos específicos.....	17
3.	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3.1	Ambiente antártico.....	18
3.1.1	Caracterização do ambiente antártico.....	18
3.2	Algas.....	20
3.3	Algas da divisão Rhodophyta.....	21
3.3.1	Características da divisão Rhodophyta.....	21
3.3.2	Substâncias do metabolismo da divisão Rhodophyta.....	22
3.3.3	Espécies de algas vermelhas na Antártica.....	23
3.3.4	Classificação e características das espécies.....	24
3.3.4.1	Macroalga <i>Iridaea cordata</i> (Turner) Bory de Saint-Vincent.....	24
3.3.4.2	Macroalga <i>Palmaria decipiens</i> (Reinsch) RW Ricker.....	25
3.3.4.3	Macroalga <i>Plocamium cartilagineum</i> (Linnaeus) PS Dixon 1967.....	26
3.3.4.4	Macroalga <i>Pyropia endiviifolia</i> (A. Gepp & E. Gepp) H.G. Choi & M.S. Hwang.....	27
3.4	Ácidos graxos.....	28
3.4.1	Características de ácidos graxos.....	28
3.4.2	Nomenclatura.....	28
3.4.3	Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados e ecosenóides.....	29
3.4.4	Ácidos graxos das famílias ômega-3 e ômega-6 na prevenção de doenças.....	32
4.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	35
4.1	Matéria prima.....	35
4.2	Extrações de lipídeos.....	35
4.3	Preparação do éster metílico de ácidos graxos das macroalgas vermelhas.....	36
4.4	Condições cromatográficas do GC/FID e GC-MS para análises de FAME por cromatografia gasosa.....	36
4.5	Curva de calibração em GC/FID.....	38

4.6	Quantificação dos ácidos graxos em macroalgas vermelhas.....	41
4.7	Análises estatística.....	41
5.	RESULTADOS	42
5.1	Lipídeos totais.....	42
5.2	Ácidos graxos.....	42
6.	DISCUSSÃO	47
7.	CONSIDERAÇÕES FINAIS	50
8.	REFERÊNCIAS	59
	APÊNDICES	65
	Apêndice A.....	66
	Apêndice B.....	69

1. INTRODUÇÃO

As macroalgas do Filo Rhodophyta, conhecidas como algas vermelhas, apresentam em torno de 4000 a 6000 espécies, sendo sua maioria encontrada principalmente em ambientes bentônicos marinhos, e em regiões intertidal, podendo algumas delas ser encontradas em águas doces (VIDOTTI; ROLLEMBERG, 2004; COELHO et al., 2013).

Algumas espécies de macroalgas vermelhas apresentam uma enorme diversidade de substâncias de interesse nutricional, farmacêutico e nutracêutico, importantes ao metabolismo humano (POOYA et al., 2010; SETHOM et al., 2010; YUAN et al., 2010; GOPINATH et al., 2011). Entre as substâncias, estão os ácidos graxos que desempenham as mais diferentes funções nos sistemas biológicos, desde reserva energética até funções mais complexas como formação da bicamada lipídica em membranas celulares, como mensageiros intra/extracelulares e como cofatores enzimáticos em reações de transferências de elétrons em mitocôndrias e cloroplastos (VANCE; VANCE, 2008; SIMOPOULOS, 2008).

Em especial, os ácidos graxos são encontrados na natureza em organismos vegetais e animais, variando em número de carbonos e quantidade de insaturações nas suas cadeias carbônicas. Ácidos graxos poliinsaturados de importância nutracêutica (DAS, 2012), estão presentes nos mais diversos tipos de alimentos como óleos vegetais e principalmente em óleo de peixe (RODAKLI et al., 2012), pescados e algas (KRIS-ETHERTON; HARRIS; APPEL, 2002).

Os peixes, principalmente marinhos, apresentam grandes concentrações de compostos bioativos, entre eles os ácidos graxos poliinsaturados das famílias ômega 3 e ômega 6. O declínio gradativo das populações mundiais de peixes tem aumentado principalmente em países orientais devido à pesca predatória (YE et al., 2012), o qual originou a procura por outros organismos marinhos que possuam boas qualidades nutricionais ou que contenham compostos bioativos de interesse nutracêutico (WEN; CHEN, 2003; SCOTT et al., 2010).

Entre os seres vivos que suprem algumas ou todas estas necessidades estão às algas, as quais vêm sendo estudados há muitos anos principalmente para alimentação humana, porém, com novas descobertas de compostos bioativos do metabolismo secundário destes organismos associado a procura por uma vida

saudável, o consumo e os estudos sobre a biossíntese destas algas tem se intensificado (ADIBA et al., 2011). Além de substâncias do metabolismo secundário, vários metabólitos primários das algas tem sido alvo de estudos, entre os quais podemos citar os aminoácidos, proteínas, carboidratos e principalmente os ácidos graxos (CHEN; JIANG; CHEN, 2007; GRESSLER et al., 2010; GRESSLER et al., 2011).

É importante destacar que as algas são organismos de rápido desenvolvimento e fácil manipulação, proporcionando pesquisas em ambientes controlados com a finalidade de aumentar os níveis de compostos bioativos, como os ácidos graxos poliinsaturados (BECKER; GRAEVE; BISCHOF, 2010; KUMARI et al., 2010; GINNEKEN et al., 2011; PEREIRA et al., 2012).

Na busca por algas que produzam biocompostos de interesse está o filo Rhodophyta. Estas algas são conhecidas por possuírem um dos mais completos sistemas metabólicos (LOURENÇO, 2006). Esta complexidade de compostos produzidos por este filo tem levado pesquisas ao estudo mais aprofundado sobre espécies de ambientes inóspitos como a Antártica.

O continente antártico abriga uma enorme diversidade de espécies, muitas endêmicas, de algas com características anatômicas e fisiológicas particulares deste ambiente (WIENCKE et al. 2007). Em particular, o filo Rhodophyta é caracterizado em apresentar níveis altos de ácidos graxos saturados (FAS), poliinsaturados (PUFA) e compostos bioativos diferenciados utilizados para suprir suas necessidades de sobrevivência a baixas temperaturas e grandes variações sazonais (LORDAN; ROSS; STANTON, 2011). Muitos destes ácidos graxos poliinsaturados produzidos pelas algas são sintetizados pelo nosso organismo, porém, outros não podem ser e devem estar presentes em nossa dieta, são denominados de ácidos graxos essenciais. Os dois ácidos essenciais os quais necessitamos são o linoleico (ômega-6) e o α -linolênico (ômega-3) (MURRAY et al., 2009).

Os ácidos graxos essenciais são precursores de ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa como o eicosapentaenóico (EPA), docosahexaenóico (DHA) e o araquidônico (ARA), responsáveis principalmente pela formação de potentes reguladores de funções celulares, os eicosanoides (BERG et al., 2002).

As vias normais de nosso organismo para obter ácidos graxos poliinsaturados como o EPA e DHA podem ocorrer de duas maneiras, pelo consumo

direto a partir de alimentos ou pela conversão a partir do ácido graxo α -linoleico, porém, esta conversão ocorre em baixas concentrações, estando em média entre 0,2% a 8% para EPA e entre 0% a 4% para DHA (MOZAFFARIAN; WU, 2011).

A dieta de ácidos graxos monoinsaturados e poliinsaturados, principalmente os da família ômega-3 tem se mostrado como um grande aliado ao combate de doenças cardiovasculares seja auxiliando na hemodinâmica ou mantendo os níveis normais de triglicerídeos no organismo (SKULAS-RAY et al., 2012).

Inversamente, o déficit de ômega-3 na alimentação é apresentado como uma das causas de doenças no sistema nervoso, baixo QI em recém-nascidos estando diretamente relacionado a doenças como a síndrome de Zellweger, a qual impossibilita o organismo de realizar a β -oxidação, consequentemente não há formação de do ácido graxo docosahexaenóico (C22:6n-3) sendo sua deficiência relacionada diretamente a problemas da retina, músculos e fígado (PAKER et al., 2010).

Na biossíntese de ácidos graxos os compostos poliinsaturados das famílias ômega-6 e ômega-3 são formados separadamente, porém, ocorre competição entre estes ácidos pelas mesmas enzimas dessaturases e alongases. A presença de teores elevados de ômega-6 e baixa concentração de ômega 3 na dieta, tende a aumentar a concentração de ácido araquidônico (ARA), consequentemente irá ocorrer um aumento elevado em níveis de prostaglandinas, tromboxanos da série 2 e leucotrienos da série 4. Estes eicosanoides da série 2 e 4 são responsáveis pelo aumento de trombos, alergias e mudanças indesejáveis no estado fisiológico do organismo ocasionando problemas cardiovasculares (SMITH et al., 2009).

O consumo balanceado de alimentos ricos em ômega 3 e 6 tem se mostrado ideal na obtenção destes ácidos graxos poliinsaturados para manutenção de nosso organismo.

2. OBJETIVOS DO TRABALHO

2.1 Objetivo Geral

O objetivo do trabalho compreende a identificação e quantificação de ácidos graxos poliinsaturados em macroalgas das espécies *Iridaea cordata*, *Palmaria decipiens*, *Plocamium cartilagineum*, *Pyropia endiviifolia* do filo Rhodophyta encontradas no continente antártico através da Cromatografia Gasosa (GC/FID) e Espectrometria de Massas (GC-MS).

2.2 Objetivos Específicos

- Desenvolvimento de metodologia para caracterização e quantificação de ácidos graxos em macroalgas por Cromatografia Gasosa.
- Comparação da quantidade de ácidos graxos entre as espécies do filo Rhodophyta.
- Obtenção de dados sobre ácidos graxos de macroalgas da Antártica, visando uma futura biblioteca para identificação destes compostos.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Ambiente antártico

3.1.1 Caracterização do ambiente antártico

O continente antártico está localizado na região polar austral dentro do círculo polar com uma área aproximada de 14 milhões de km² banhado pelos oceanos Atlântico, Pacífico e Índico conhecido como Confluência Antártica. Aproximadamente 95% do território são cobertos por gelo com camadas que chegam a 2700m de espessura. Esta região está dividida em duas partes importantes em relação ao meridiano de Greenwich, a Antártica Oriental, onde ocorrem paredões de gelo e a Antártica Ocidental formada principalmente por arquipélagos de ilhas, unidas entre si por grandes extensões de gelo (CANDE et al., 2000; VIEIRA, 2006).

Como principal formação do relevo pode ser observada na região Oriental às chamadas Cadeias Transantárticas que ocorrem entre os Mares de Ross e Weddell e na parte Ocidental a Península Antártica com os montes Ellsworth e maciço Vilson (Fig. 1) (SUGDEN; BENTLEY; COFAIGH, 2006).

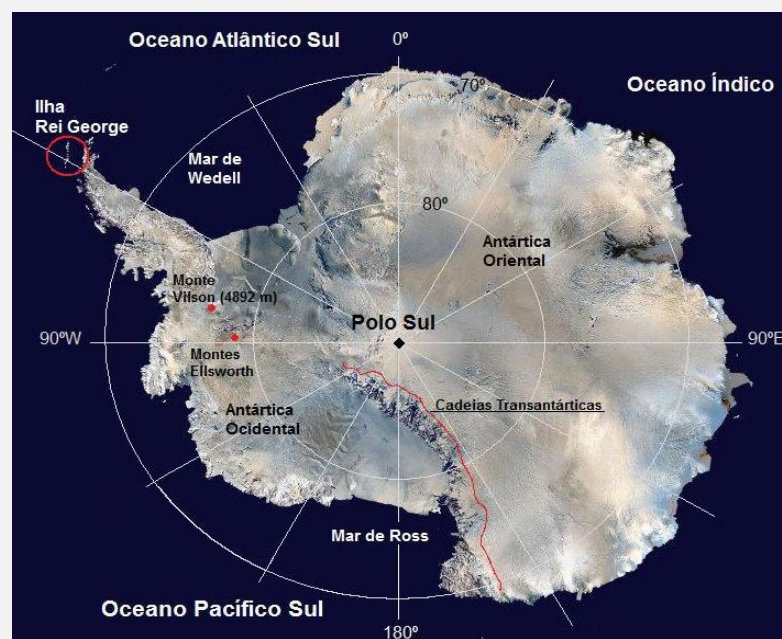


Figura 1 – Continente antártico

Fonte: <http://cienciahoje.uol.com>

As temperaturas baixas, normalmente negativas, associadas a ventos em média de 100km/h fazem surgir nesta região ecossistemas terrestres e aquáticos únicos deste local, muitas vezes com espécies endêmicas que suportam as mais adversas variações climáticas. O clima nesta região é caracterizado por temperaturas extremamente baixas, ficando em média nos -10°C . Já foram registradas temperaturas de -89°C nas proximidades da base russa de Vostok a uma altitude de 3400m. Possui uma flora constituída principalmente de briófitas, musgos, líquens, fungos, algas bentônicas, algas intertidais e criobiontes (KENNEDY, 1995).

O continente antártico apresenta inúmeras perspectivas de estudos ambientais servindo de estação de pesquisa em diversas áreas, principalmente na geológica, meteorológica, fauna e flora (ZACHER et al., 2009; RIBEIRO et al., 2011; RYAN et al., 2012). O Brasil aderiu ao Protocolo do Tratado da Antártica em 1975, começando suas pesquisas entre os anos de 1982 e 1983 com o surgimento do Programa Antártico Brasileiro. A base brasileira foi instalada em 1984, sendo denominada de Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF), localizada na Península Keller, na parte interna da Bahia do Almirantado (Fig. 2), na Ilha Rei George (PROANTAR).



Figura 2 – Localização da estação de pesquisa antártica brasileira e outras estações de pesquisa internacionais na Ilha Rei George.

Fonte: <http://cienciahoje.uol.com.br/galeria>

3.2 Algas

Em um parâmetro conceitual, as algas são organismos vegetais em sua maioria fotossintetizantes, desprovidos de folhas, caules, raízes e um sistema vascular definido, comumente são chamadas de talófitas. A estrutura celular divide as algas em dois grandes grupos, as que pertencem ao grupo procarioto, representadas pelas cianobactérias (algas azuis ou cianofíceas) e as eucarióticas que englobam as demais algas (LEE, 2008).

As cianobactérias são organismos que pertencem à divisão Chloroxybacteria (LOURENÇO, 2006) com sistema fotossintetizante semelhante às algas vermelhas, porém seu material genético não apresenta limitações por membranas assemelhando-se a bactérias. São encontradas nos mais diversos locais o qual podemos citar os oceanos, locais de grande salinidade, em ambientes com presença excessiva de enxofre, como também em locais extremamente gelados como o Continente Antártico (DE LOS RÍOS et al., 2004; NOLD et al., 2010).

O restante das algas, macroalgas ou microalgas, estão dentro do domínio eucariota. Podem apresentar estruturas unicelulares sem motilidade como no gênero *Nannochloropsis*, *Porphyridium* que não apresentam flagelo, podem ser unicelulares moveis com flagelo como o gênero *Dunaliella*, filamentosas ou parenquimatosas como os gêneros *Ulva* e *Fucus* ou ainda coloniais flageladas ou sem flagelo (LOURENÇO, 2006; ADL et al., 2012).

As algas apresentam grande tolerância a variações sazonais, de pH, O₂ e CO₂ (BARSANTI et al., 2007) podendo ser encontradas em locais úmidos, em lagos, mares e oceanos, habitando zonas intertidal, bentônicas (BÜDENBENDER; RIEBESELL; FORM, 2011), supralitoral, sublitoral, zonas de pulverização (STEVENSON; BOTHWELL; LOWE, 1996) ou simplesmente na suspensão na coluna de água formando o fitoplâncton (RIEMANN et al., 2011).

Na sua nutrição, algumas algas se utilizam de sistemas de captação de energia solar, chamadas de fototróficas. Neste sistema a luz solar é captada servindo como fonte de energia e o CO₂ como fonte de carbono para produção de ATP. Muitas destas algas quando estão em regiões com pouca luminosidade podem se utilizar de sistemas osmotrófico ou fagotrófico como complemento em suas necessidades nutricionais (LEE, 2008; TITTEL et al., 2009).

Algumas espécies de algas apresentam limitações na síntese de substâncias como a glicose a partir da energia solar, necessitando de outros alimentos para suprir suas necessidades, são organismos heterotróficos obrigatórios (BARSANTI et al., 2007). Outras algas, porém, adaptaram seu sistema nutricional paralelamente a sua evolução, mantendo os dois sistemas de nutrição, fototrofismo e heterotrofismo no mesmo organismo, são as chamadas mixotróficas. Muitas se utilizam de aminoácidos e ácidos graxos encontrados nos locais onde vivem para manter sua taxa de crescimento em ambientes rigorosos (LEE, 2008; JEONG, 2011).

No mesmo sentido que o sistema nutricional das algas se adaptou às diferentes situações bióticas e abióticas, o sistema reprodutor também evoluiu, apresentando-se de modo variado e permitindo que a reprodução no meio algal seja rápida. Neste sentido muitas espécies apresentam como meio reprodutivo a forma vegetativa por divisão celular e a forma sexuada com produção de esporos, zoósporos, se forem flageladas, e aplanósporos se não possuírem flagelo. Algumas algas como no filo Rhodophyta é comum a forma sexuada por gametas (oogamia) e assexuada por meio vegetativo (BARSANTI; GUALTIERI, 2006; KRUEGER-HADFIELD; KEUBLER; DUDGEON, 2013).

3.3 Algas da Divisão Rhodophyta

3.3.1 Características da Divisão Rhodophyta

As algas vermelhas são organismos que apresentam em sua estrutura clorofila "a", em todas as classes, ausência de clorofila "c" e ocorrência de clorofila "d" na espécie *Erythrophyllum delesserioides*, entre outras espécies (LOURENÇO, 2006). A presença desta clorofila "d" em algas vermelhas apresenta divergência de opiniões no meio científico. Parte da comunidade científica acredita que a clorofila "d" seja produto de degradação da clorofila "a" e outros que esta clorofila faça parte de organismos epífitas em rodófitas como a cianobactéria *Acaryochloris marina* (IWAMOTO et al., 2012).

Em especial, nas algas vermelhas podem ser encontrados outros pigmentos conhecidos como ficobiliproteínas ou bilicromoproteínas. São holoproteínas ligadas covalentemente a cromóforos denominados ficobilinas. Estas estruturas estão

presentes em complexos multiproteicos, os ficobilissomas, ligados à membrana tilacóide que tem a função de captação de energia luminosa (YOON et al., 2006). Os principais carotenoides, considerados também como pigmentos acessórios, presentes nas algas vermelhas são as zeaxantinas, neoxanantinas e luteína, entre os carotenos há principalmente o β -caroteno, sendo que o principal pigmento que proporciona a cor avermelhada às rodófitas é a ficoeritrina-b. Outros pigmentos em maior concentração que a ficoeritrina-b podem estar presentes e são responsáveis por uma coloração muitas vezes escurecida ou esverdeada (SCHUBERT; GARCÍA-MENDOZA, 2008; BJORNLAND; AGUILAR-MARTINEZ, 1976).

Na região extraplastidial pode ser encontrado polissacarídeos como material de reserva similar à amilopectina comum as Rhodophyceae, chamado amido das florídeas, que apresenta em sua estrutura ligações glicosídicas α -1,4 e ramificações laterais com ligações glicosídicas α -1,6 (LOURENÇO, 2006). A parede celular é formada internamente por microfibrilas de celulose onde apresenta associada externamente polissacarídeos sulfatados de galactose chamados de agaranas e carragenanas, responsáveis pela permeabilidade seletiva das células (BOUZON, 2006).

3.3.2 Substâncias do metabolismo da divisão Rhodophyta

A divisão Rhodophyta apresenta compostos elaborados no metabolismo secundário os quais dão origem a isoprenóides e acetogeninas. Compostos halogenados são comuns em algas vermelhas, sendo citado na literatura o bromo e cloro entre os mais frequentes. Muitos diterpenos policíclicos e sesquiterpenos halogenados são citados para o gênero *Laurencia* como o irieol, laurinterol (KIM; MENDIS; KIM, 2008) e elatol (LHULLIER et al., 2009; CAMPOS et al., 2012).

Algumas famílias como Rhizophyllidaceae, Plocamiaceae e Delesseriaceae são caracterizadas por apresentarem monoterpenos halogenados. Já na espécie *Delisea pulchra*, ocorrem derivados halogenados de furanonas, composto que possui a capacidade de interferir na sinalização entre bactérias (RASMUSSEN et al., 2000).

O metabolismo primário, diferentemente do metabolismo secundário, é o processo metabólico que ocorre em todos os seres vivos sendo responsável pelas funções essenciais, onde participam macromoléculas como proteínas,

polissacarídeos, ácidos nucleicos e lipídeos. Este processo metabólico origina em algas moléculas mais simples como ácidos graxos poliinsaturados, os quais desempenham papéis importantes nestes organismos como a fluidez da membrana celular, quando submetidas a diversas condições de estresse, entre elas, temperaturas muito baixas ou negativas. (BECKER; GRAEVE; BISCHOF, 2010).

Na divisão Rhodophyta os ácidos graxos saturados predominantes são C14:0 (mirístico), C16:0 (palmítico) e C18:0 (esteárico); entre os monoinsaturados os predominantes são C16:1 n -7 (palmitoleico) e C18:1 n -9c (oleico); e entre os poliinsaturados estão C18:2 n -6c (linoleico), C20:4 n 6 (araquidônico) e C20:5 n -3 (eicosapentaenóico) (KUMARI et al., 2010; PEREIRA et al., 2012).

3.3.3 Espécies de Algas Vermelhas na Antártica

Modificações abruptas no clima da Antártica associada a condições rigorosas de baixas temperatura, exposição fotossintética limitada pelas estações, altos índices de salinidade e locais profundos no mar (GÓMEZ et al., 1997) fazem com que esta região não apresente grandes diversidades de macroalgas como as encontradas em regiões tropicais, porém a pouca diversidade é superada pela grande quantidade de biomassa formada pelas algas, muitas endêmicas desta região (WIENCKE; DIECK, 1989).

Segundo Nedzarek e Rakusa-Suszczewski (2004) a biomassa algal formada em microfitobentos e macrofitobentos que são levadas pelas correntes para as praias da Baía do Almirantado após sua decomposição formam grandes massas de matéria orgânica e nutrientes que favorecem muitas espécies pelo enriquecimento do solo e água daquela região.

Na Ilha Rei George na região da Baía do Almirantado, Zieliński (1981) em seus estudos citou a coleta e identificação de cinco espécies de algas vermelhas, seis espécies pardas e uma espécie verde, novas pesquisas realizadas por Zieliński (1990) cita a identificação de 31 espécies no mesmo local.

Oliveira et al. (2009) encontrou 42 espécies de macroalgas, das quais 21 espécies eram Rhodophyta, 14 Phaeophytas e 7 espécies Chlorophyta, representando um aumento na diversidade de algas citadas até o momento.

3.3.4 Classificação e características das espécies *Iridaea cordata*, *Palmaria decipiens*, *Plocamium cartilagineum* e *Pyropia endiviifolia*.

3.3.4.1 Macroalga *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent

Características: a macroalga *I. cordata* ocorre em toda extensão na Baía do Almirantado (Fig. 3). Apresenta talo lamelar irregular, lâmina lisa e plana de forma foliácea em formato de coração (cordata) ou lanceolada. Atingem comprimento de 15cm individualmente ou em torno de 30cm quando agrupada. Estão presas ao fundo em zonas de correntes ou sublitoral na região entre marés, podendo ser encontrada em locais entre 10m e 60m de profundidade (ZIELINSKI, 1990).



Figura 3 – Macroalga *Iridaea cordata*

Fonte: Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto Botânico de São Paulo

Foto: Prof. Dra. Mutue Toyota

Classificação:	Filo:	Rhodophyta
	Subfilo:	Eurhodophytinatruturas
	Classe:	Florideophyceae
	Subclasse:	Rhodymeniophycidae
	Ordem:	Gigartinales
	Família:	Gigartinaceae
	Gênero:	Iridaea

3.3.4.2 Macroalga *Palmaria decipiens* (Reinsch) RW Ricker

Características: a espécie *P. decipiens* apresenta uma lâmina entre 8-15cm de largura, não ramificada, lanceolada (Fig. 4). Tem ocorrência em toda Antártica, sendo observada também em ilhas subantárticas. Habita zonas entre marés, podendo ser encontrada até 30m. Temperaturas entre 0° e 10°C se mostram ideais para um melhor crescimento e desenvolvimento desta espécie (BECKER et al., 2011).



Figura 4 – Macroalga *Palmaria decipiens*

Fonte: Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto Botânico de São Paulo

Foto: Prof. Dra. Mutue Toyota

Classificação:	Filo:	Rhodophyta
	Subfilo:	Eurhodophytina
	Classe:	Florideophyceae
	Subclasse:	Nemaliophycidae
	Ordem:	Palmariales
	Família:	Palmariaaceae
	Gênero:	Palmaria

3.3.4.3 Macroalga *Plocamium cartilagineum* (Linnaeus) PS Dixon 1967

Características: *Plocamium cartilagineum* pode ser encontrada em toda Baía do Almirantado principalmente na entrada Mackellar (Fig. 5). Possui talos eretos, elípticos, ramificados e cartilagosos, sendo pouca ramificação na base e possuindo de 2-5 ramos podendo crescer até 30cm de comprimento. Encontrada na região infralitoral, em profundidades de 5m a 60m, raramente ocorre abaixo desta profundidade (ZIELINSKI, 1990).



Figura 5 – Macroalga *Plocamium cartilagineum*

Fonte: Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto Botânico de São Paulo

Foto: Prof. Dra. Mutue Toyota

Classificação:	Filo:	Rhodophyta
	Subfilo:	Eurhodophytina
	Classe:	Florideophyceae
	Subclasse:	Rhodymeniophycidae
	Ordem:	Plocamiales
	Família:	Plocamiaceae
	Gênero:	Plocamium

3.3.4.4 Macroalga *Pyropia endiviifolia* (A. Gepp & E. Gepp) H.G. Choi & M.S. Hwang

Características: a espécie *P. endiviifolia* apresenta talo lamelar sésil, com coloração verde oliva escura ficando acastanhado ao secar (Fig. 6). Lâmina brilhante com bordas finas, membranosas e onduladas, podendo ser inteira ou dividida profundamente em vários lobos, tendo de 2cm a 20cm de diâmetro e espessura entre 60 μ e 70 μ . Seu ciclo de vida é heteromórfico com duas fases alternantes distintas entre si, com gametófitos folhosos alternando com a fase “conchocelis” diplóide. São macroalgas encontradas em paredões ou fendas rochosas na região intertidal superior (ZIELINSKI, 1990; WIENCKE; CLAYTON, 1998).



Figura 6 – Macroalga *Pyropia endiviifolium*

Fonte: Núcleo de Pesquisa em Ficologia, Instituto Botânico de São Paulo

Foto: Prof. Dra. Mutue Toyota

Classificação:	Filo:	Rhodophyta
	Subfilo:	Eurhodophytina
	Classe:	Bangiophyceae
	Subclasse:	Bangiophycidae
	Ordem:	Bangiales
	Família:	Bangiaceae
	Gênero:	Pyropia

3.4 Ácidos Graxos

3.4.1 Características de Ácidos graxos

Os ácidos graxos são ácidos monocarboxílicos alifáticos, podendo variar de 4 a 36 átomos de carbono. A cadeia carbônica pode apresentar somente ligações simples (hibridação sp^3) entre os átomos de carbono, sendo chamada de cadeia saturada ou pode ocorrer uma ou mais duplas ligações (hibridação sp^2) entre os carbonos a que chamamos de cadeias insaturadas. O número de insaturações definirá o ácido graxo como monoinsaturado (uma dupla ligação) ou poliinsaturado (duas ou mais insaturações) (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2008).

O tamanho da cadeia carbônica e o número de insaturações influenciam diretamente nas propriedades físicas dos ácidos graxos, como sua solubilidade em água, isto é, quanto maior a cadeia carbônica e menor número de insaturações, menor sua solubilidade em água. Na natureza a maior parte dos ácidos graxos possui alto peso molecular, conseqüentemente alto ponto de fusão. Normalmente ácidos graxos saturados acima de C12 são sólidos a temperatura ambiente e ácidos graxos com insaturações são líquidos oleosos (NELSON et al., 2011).

Uma das características mais importantes dos ácidos graxos são suas funções fisiológicas dentro dos seres vivos. Funcionalmente os ácidos graxos são estruturas básicas para formação de moléculas anfipáticas como glicolípídeos e fosfolípídeos, os quais são responsáveis na flexibilidade e fluidez da bicamada lipídica (MURRAY et al. 2009).

3.4.2 Nomenclatura

A nomenclatura de ácidos graxos é especificada pelo número de átomos de carbono e o número de duplas ligações ao longo da cadeia carbônica. Quando o ácido graxo não possuir insaturações o nome do ácido será constituído pela substituição da terminação “o” do hidrocarboneto pela terminação “óico”. Como exemplo pode ser citado o ácido hexadecanóico (C16:0) que contém 16 carbonos e se origina do hidrocarboneto hexadecano (BERG; TYMOCZKO; STRYER, 2008).

Quando houver insaturações, ramificações ou substituintes estas deverão ser identificadas a partir do carbono que contiver o grupo carboxila e será utilizada a

mesma regra para nomenclatura com terminação “óico” e como exemplo podemos citar o ácido *all- cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenóico* (C20:5) que contém 20 carbonos e cinco insaturações. Outra situação para a regra anterior é a utilização do símbolo Δ (delta) seguido da posição das insaturações. Como exemplo temos o ácido C20:3 (11,14,17-eicosatrienóico), o qual possui 20 carbonos e três insaturações, o qual podemos representar como C20:3 ($\Delta^{11,14,17}$) (MURRAY et al., 2009; NELSON et al., 2011).

O nome sistemático dos ácidos graxos poliinsaturados pode ser representado se utilizando a letra grega “ ω ” (ômega). Esta nomenclatura segue a regra na qual o primeiro carbono após o grupo carboxílico deve ser denominado de alfa (α) e o carbono da extremidade oposta será denominado ômega (ω) (Fig. 7). No exemplo do ácido 6, 9, 12, 15-octadecatetraenóico a representação da estrutura será C18:4 ω -3, indicando que a cadeia possui 18 carbonos com quatro duplas ligações e a primeira dupla ligação ocorre no terceiro carbono da extremidade inversa à carboxila (Fig. 7) (MURRAY et al., 2009; NELSON et al., 2011).

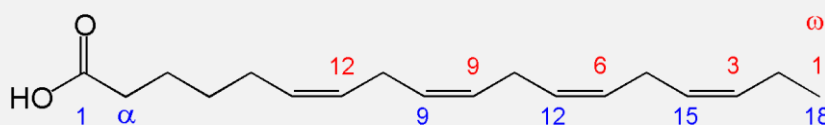


Figura 7 – Estrutura do ácido 6,9,12,15-octadecatetraenóico; α -alfa; ω - ômega.

3.4.3 Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados e eicosanóides

A biossíntese de ácidos graxos da série ômega nos organismos ocorre a partir do ácido palmítico (C16:0), o qual sofre alongamento na cadeia por enzimas alongases formando o ácido esteárico (C18:0). A Δ^9 dessaturase atua acrescentando uma insaturação formando o ácido oleico (C18:1 n -9). Em vegetais ocorre a presença de duas enzimas importantes que atuam no processo de dessaturação a Δ^{12} e a Δ^{15} dessaturase (Fig. 8). Estas enzimas não estão presentes em animais, impossibilitando a formação do ácido α -linolênico (C18:3 n -3) e do linoleico (C18:2 n -6) no organismo humano (VANCE; VANCE, 2008; TVRZICKA et al., 2011).

Os ácidos essenciais α -linolênico (C18:3 n -3) e linoleico (C18:2 n -6) são formadores de ácidos graxos importantes das séries ômegas 3 e 6 como o

eicosapentaenóico (C20:5n-3 - EPA) descrito como antibacteriano (MIL-HOMENS; BERNARDES; FIALHO, 2012), anti-inflamatório (CALDER, 2003; MAROON; BOST, 2006), auxilia na prevenção da fibrose e disfunções cardíacas (JAKOBSEN et al., 2009; CHEN, 2011) e em doenças graves como o câncer (GIROS et al., 2009; AMISSAH et al., 2011). O docosahexaenóico (C22:6n-3 - DHA), também formado pela síntese dos ácidos graxos essenciais, é particularmente importante no desenvolvimento neuronal de crianças prematuras e auxilia no melhor desenvolvimentos de tecidos do cérebro e retina (VAN PELT et al., 1999; SANGIOVANNI; CHEW, 2005).

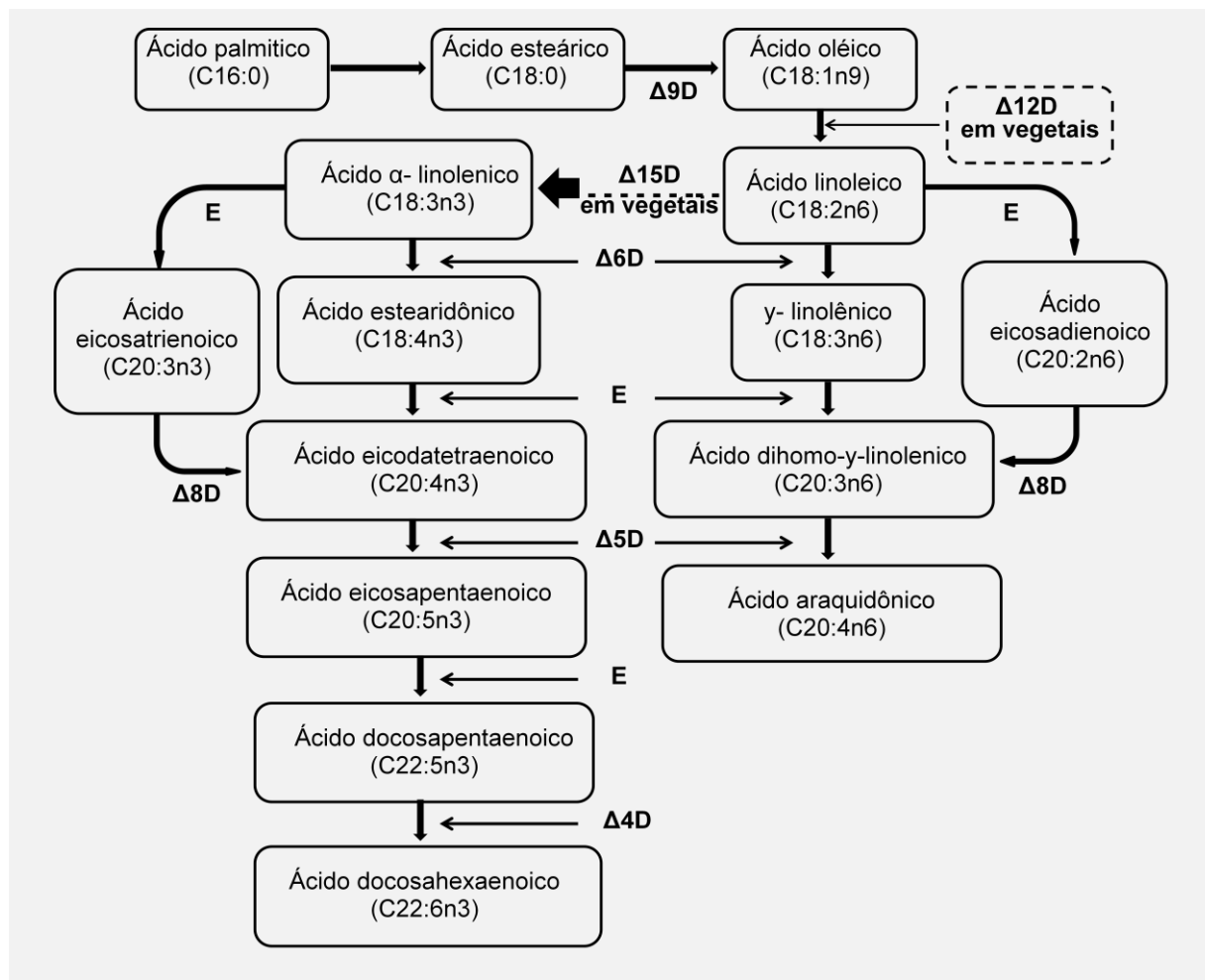


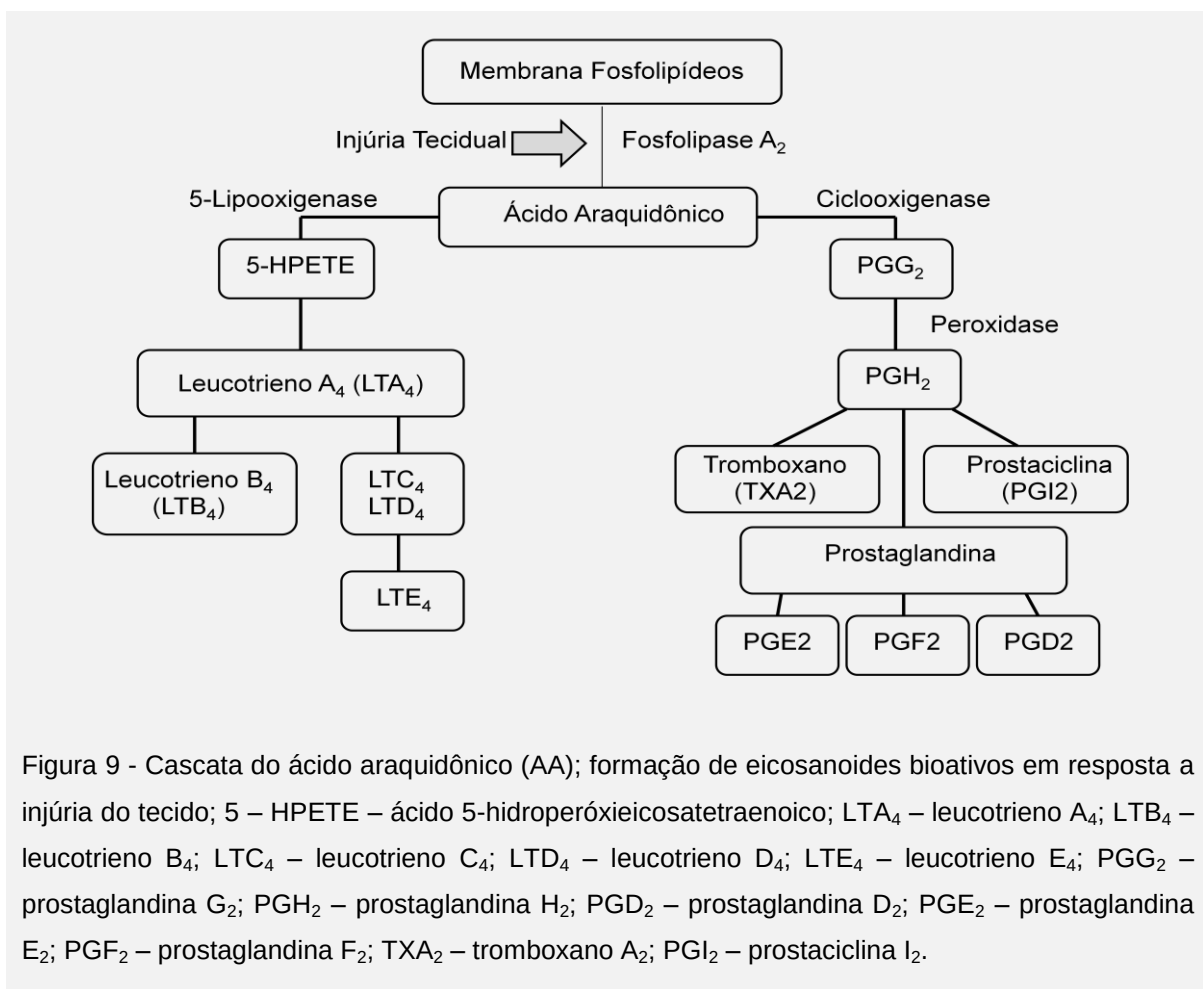
Figura 8 - Biossíntese de ácidos graxos poliinsaturados das famílias ômega 3 e 6 em vegetais.

Δ4D – enzima delta 4 dessaturase; Δ5D – enzima delta 5 dessaturase; Δ8D – enzima delta 8 dessaturase; Δ9D – enzima delta 9 dessaturase; Δ12D – enzima delta 12 dessaturase; Δ15D – enzima delta 15 dessaturase; E - enzimas elongase.

Na série ômega-6 o ácido araquidônico ($C_{20:4n-6}$) é precursor de moléculas sinalizadoras que atuam a curtas distâncias nas células, chamadas de tromboxanos, prostaglandinas, leucotrienos, hidroperóxidos e tem sua formação a partir da cascata do ácido araquidônico (Fig. 9) (MAROON; BOST, 2006; HAMMOND; O'DONNELL, 2012).

Estas moléculas sinalizadoras são produzidas em todo tecido humano e são responsáveis principalmente pelas respostas inflamatórias, contração do músculo liso do intestino e útero, alguns servem como vasodilatadores e outros como vasoconstritores, por isso estão ligados intimamente com a pressão sanguínea (SMITH et al., 2009).

Alguns destes eicosanoides como as prostaglandinas A_2 podem ser sintetizados por organismos marinhos como a *Plexaura gorgonian homomalla* um cnidário encontrado nas ilhas do Caribe (LIGHT; SAMUELSSON, 1972).



3.4.4. Ácidos graxos das famílias ômega-3 na prevenção de doenças

A ingestão balanceada diária de ácidos graxos poliinsaturados e a diminuição do consumo de ácidos graxos saturados, associado à prática de exercícios físicos tem mostrado ser a união ideal para manutenção de uma condição saudável para o organismo humano.

Algumas doenças que afetam diretamente a saúde humana podem ser prevenidas ou ter seus sintomas atenuados quando da ingestão controlada de ácidos graxos poliinsaturados da família ômega 3 como suplemento ou a partir de uma dieta balanceada de alimentos rica em ômegas (CHOWDHURY et al., 2012; ECKERT; LIPKA; MULLER, 2013).

A literatura tem reportado dados sobre dois tipos de síndromes associadas a ácidos graxos: a síndrome relacionada ao consumo excessivo de ácido graxo saturado aliado à falta de PUFA na dieta, chamada de síndrome metabólica e as síndromes genéticas, relacionada com a falta de determinados ácidos graxos poliinsaturados no metabolismo humano.

Doenças como a síndrome metabólica (SM) que atinge principalmente pessoas adultas, hoje já constatada em adolescentes, é uma doença associada a riscos cardiovasculares. Suas características estão principalmente associadas a uma má alimentação, rica em FAS e baixo consumo de PUFA associada ao sedentarismo. Suas consequências são aumento de colesterol, aumento de pressão arterial, hiperglicemia podendo evoluir para diabetes e nos casos mais complexos, enfarte do miocárdio e derrame vascular cerebral (KLEIN-PLATAT et al., 2005; MIRMIRAN et al., 2012).

A síndrome de Zellweger é uma doença genética relacionada a distúrbios na biogênese do peroxissoma (PBD) podendo ocorrer em qualquer gene formador desta organela. Enzimas relacionadas ao metabolismo de lipídeos estão localizadas no interior dos peroxissomas. Distúrbios relacionados a este metabolismo ocasiona acúmulo de ácido fitânico, de ácidos graxos de cadeia longa, defeito no ácido plasmogênio (fosfolipídio presente principalmente nos tecidos do coração e cérebro) e deficiência na formação de DHA em pessoas com a síndrome (KRUSKA; REISER, 2011).

Testes foram realizados com crianças entre 9 meses e 9 anos com a síndrome de Zellweger, tendo como finalidade melhorar o estado clínico destes

pacientes. Foram administrados diariamente doses entre 100mg e 500mg do éster etílico do ácido docosahexaenóico (DHA). As quantidades do ácido foram administradas pelo grau da doença e pela idade dos pacientes, pois doentes com pouca idade requerem doses maiores de DHA. Os resultados demonstraram uma melhora na função hepática, visão e tônus muscular em mais da metade dos pacientes tratados com DHA. (MARTINEZ, 2001).

Inúmeros trabalhos com ácidos graxos poliinsaturados têm sido realizado para identificar a eficiência de dietas ricas em ômega 3 e 6, principalmente EPA e DHA, na morte de células cancerígenas ou seu efeito protetor em células normais contra o câncer (FASANO et al., 2012)

O câncer de cólon tem sido citado como um dos tipos mais agressivos de câncer que ocorrem internamente. Várias causas têm sido citadas para seu surgimento, mas em especial a apoptose desordenada no intestino é a de maior ocorrência (QIAO; WONG, 2009).

Estudos realizados por Fukunaga, Hossain e Takahashi (2008) mostraram “*in vivo*” que ratos induzidos ao câncer de cólon tiveram um aumento nas células apoptóticas (macrófagos) quando tratados com quatro tipos de dietas a base de lulas, ricas em DHA; estrelas do mar ricas em EPA e outras duas dietas enriquecidas com DHA, EPA e fosfatidilcolina.

O trabalho envolveu teste “*in vitro*” com células de carcinoma de cólon humano (Caco-2). Os resultados do estudo mostraram que as dietas com PUFA inibiram o crescimento de Caco-2 e apresentaram “*in vivo*” um efeito protetor sobre células de ratos.

O carcinoma de pâncreas representa 4% das mortes causadas por câncer no mundo. Este órgão de grande importância no organismo humano é uma glândula que se localiza na região próximo ao estômago entre o baço e o duodeno. Muitos fatores levam ao aparecimento deste câncer em pessoas, os quais podemos citar a obesidade, álcool, tabagismo e o consumo exagerado de gordura animal, rica em ácidos graxos saturados (KUZMICKIENE et al., 2013).

O consumo excessivo de gorduras saturadas estimula a liberação de colecistoquinina, sendo que o excesso deste hormônio pode causar a hiperplasia ou hipertrofia das células pancreáticas.

Recente trabalho realizado por Fukui et al. (2013) “*in vitro*” com células de carcinoma pancreático humano MIA-PaCa-2 e Capan-2 e “*in vivo*” com células

humanas MIA-PaCa-2 injetadas em ratos, mostrou que “*in vitro*” os ácidos graxos EPA e DHA induziram a morte das células cancerígenas e “*in vivo*” nos ratos que utilizaram rações com 5% de óleo de peixe, rico em DHA e EPA suprimiu as células de cancro humano MIA-PaCa-2.

Inúmeras evidências tem mostrado a eficiência da suplementação da dieta com PUFA no combate de doenças graves relacionadas ao coração, as quais têm afetado 7,3 milhões de pessoas/ano no mundo e no Brasil. As doenças cardiovasculares tem sido a principal causa de morte de pessoas em idade produtiva, chegando a 300 mil pessoa/ano por acidente vascular encefálico, infarto e morte súbita. Entre as causas principais esta a falta de exercícios regulares e uma má alimentação (RAMEL et al., 2009).

Hoje no Brasil a sociedade Brasileira de Cardiologia, juntamente com outros órgãos mundiais tem como meta a redução de 15% para menos de 10% da ingestão de ácidos graxos saturados das necessidades diárias de gordura.

Algumas pesquisas tem ido além de provar que o consumo de PUFA traz grandes benefícios à saúde. Estes estudos mostram que o consumo de ômega 3 e 6 devem ser de forma balanceada, pois o excesso destes ácidos graxos provoca processos inflamatórios graves levando também a problemas coronarianos (KIECOLT-GLASER et al., 2007; SIMPOPULOS, 2008).

4. MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Matéria-prima

Quatro espécies de macroalgas marinhas da região antártica do filo Rhodophyta foram coletadas na Baía do Almirantado, Ilha Rei George próximo a Estação Antártica Comandante Ferraz (EACF-Brasil). A coleta foi realizada entre os meses de janeiro e fevereiro de 2012. As espécies de macroalgas coletadas e seus respectivos pontos de coleta foram:

- *Iridaea cordata* (Turner) Bory de Saint-Vincent 1826: coletada na região próxima a base polonesa de Arctowski. Coordenadas: 62°7'32.77" x 58°23'38.03" em 03/02/2012.

- *Palmaria decipiens* (Reinsch) RW Ricker 1987: ponto de coleta Botany Point. Coordenadas: 62°5'56.16" x 58°19'44.13" em 20/01/2012.

- *Plocamium cartilagineum* (Linnaeus) PS Dixon 1967: coletada no ponto Punta Plaza. Coordenadas: 62°5'34.69" x 58°24'37.47 em 30/01/2012.

- *Pyropia endiviifolia* (A.Gepp & E.Gepp) HGChoi & MSHwang em Sutherland et al. 2011: coletada no ponto Demay. Coordenadas: 62°13'21.01" x 58°26'36.59" em 27/01/2012.

O material coletado foi identificado botanicamente pela Prof. Dra. Mutue Toyota Fujii (IBt-SP), sendo posteriormente congelado a -70°C e liofilizado.

4.2 Extrações de lipídios

As amostras algais foram moídas em moinho de facas tipo Willey da marca Biothec (Brasil) modelo B-602 até pulverização. Posteriormente foram pesadas individualmente 1g de cada alga liofilizada. A extração dos lipídios seguiu o método modificado de Bligh & Dyer (1959). Este método baseia-se na extração dos ácidos graxos (FA) por meio de clorofórmio e metanol a temperatura ambiente. As amostras foram agitadas por 30min com auxílio de barra magnética em agitador marca QUIMIS modelo Q-225M, sendo o meio extrator composto por 30mL de clorofórmio/metanol (1:2 v/v) e 10mL de sulfato de sódio 1,5% (m/v). Após 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 marca BÜCHI (Suiça) com bomba de vácuo modelo V-700 e resfriador de destilação modelo B-741.

4.3 Preparação dos ésteres metílicos de ácidos graxos das macroalgas

Os lipídios extraídos das biomassas algais foram metilados e convertidos aos respectivos ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME) seguindo a seguinte metodologia modificada de Moss, Lambert e Merwin (1974): em balão de 50mL contendo os lipídeos foi acrescentado 6mL de solução de KOH a 2% em metanol (m/v) sob agitação e aquecimento de 80°C, ficando por um período de 8min em refluxo. Foram adicionados 7mL de BF₃ (ácido de Lewis) seguindo com agitação por 2min, para que ocorra a catálise ácida, sendo após adicionados 5ml da solução de NaCl a 20% (m/v). A amostra foi deixada em repouso até 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. A evaporação do solvente foi realizado com N_{2(g)} e a amostra pesada para posterior análise em GC/FID 2010 e GC-MS QP 2010S.

4.4 Condições cromatográficas do GC/FID e GC-MS para análises de FAME por cromatografia gasosa

Os FAME foram analisados qualitativamente em cromatógrafo a gás acoplado a um detector de massas, modelo GC-MS-QP 2010SE (Shimadzu, Japão) equipado com autoinjeter AOC-20i. Foi utilizada uma coluna capilar ELITE-WAX 30m x 0,25mm x 0,25µm (PerkinElmer, EUA), sendo as condições cromatográficas: temperatura inicial de 100°C subindo a 7°C/min até 165°C passando a 5°C/min até 230°C permanecendo nesta temperatura por 10min; volume injetado: 1µL ; interface: 200°C; temperatura do injetor: 230°C; gás de arraste: hélio; fluxo linear de gás: 1,20 mL/min; split: 1:25; corrida em modo scan; faixa de massa 40 a 700 m/z e voltagem do filamento 70eV. As identificações foram feitas utilizando padrão FAME Mix 37 (Sigma-Aldrich) e a biblioteca NIST 8 do GC-MS.

A análise quantitativa foi realizada em um cromatógrafo a gás GC/FID 2010 (Shimadzu, Japão) equipado com injetor split/splitless, detector por ionização em chama (FID), auto injetor AOC-20i e coluna RTX-WAX 30m x 0,25mm x 0,25µm

(Restek Corporation, EUA). As condições de análise foram: hidrogênio como gás carreador na vazão de 1,2 mL/min; split: 1:25; volume injetado da amostra: 1µL; as condições do forno foram: temperatura inicial 100°C, seguindo a 7°C/min até 200°C e, a seguir, rampa de 5°C/min até 202,6°C permanecendo nesta temperatura por 2min, subindo a 5°C/min até 222,9°C ficando por 2min nesta temperatura, logo a pós subindo 5°C/min até 230°C, ficando constante nesta temperatura por 10min. Sendo tempo total da corrida de 34,29min. Temperatura do injetor e detector ambos em 250°C. A Fig. 10 mostra o cromatograma do padrão FAME Mix 37 (Sigma-Aldrich) analisado em coluna RTX-WAX 30m x 0,25mm x 0,25µm (Restek Corporation, EUA).

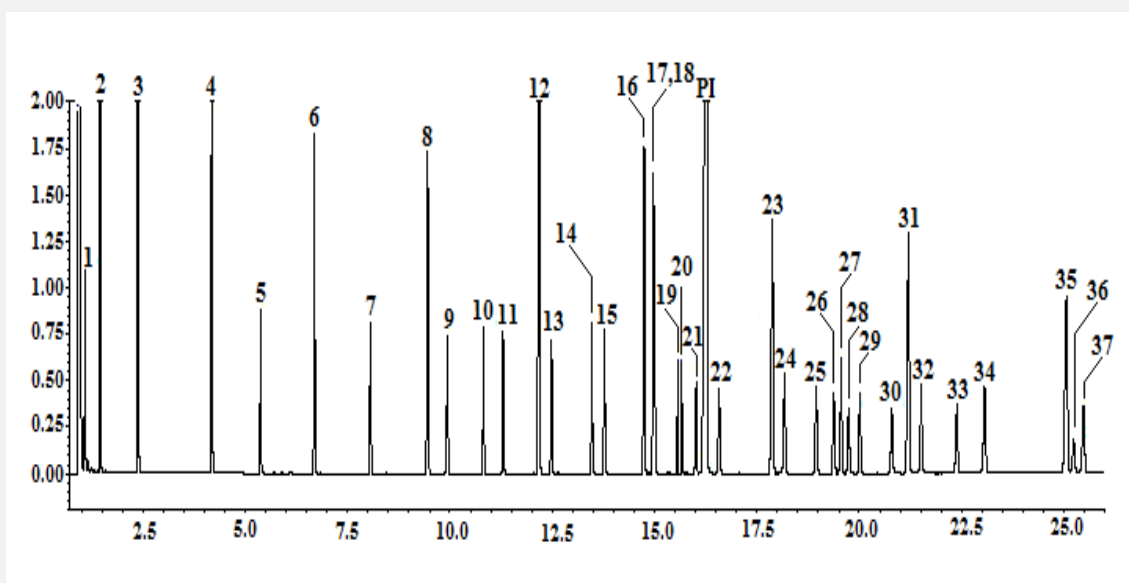


Figura 10– Cromatograma do Padrão FAME MIX 37 (Sigma-Aldrich). A numeração indica: 1 (C4:0); 2 (C6:0); 3 (C8:0); 4 (C10:0); 5 (C11:0); 6 (C12:0); 7 (C13:0); 8 (C14:0); 9 (C14:1n5); 10 (C15:0); 11 (C15:1n-5); 12 (C16:0); 13 (C16:1n-7); 14 (C17:0); 15 (C17:1n-7); 16 (C18:0); 17 (C18:1n-9c); 18 (C18:1n-9t); 19 (C18:2n-6c); 20 (C18:2n-6t); 21 (C18:3n-6); PI (C19:0 - padrão interno); 22 (C18:3n-3); 23 (C20:0); 24 (C20:1n-9); 25 (C20:2n-6); 26 (C20:3n-6); 27 (C21:0); 28 (C20:4n-6); 29 (C20:3n-3); 30 (C20:5n-3); 31 (C22:0); 32 (C22:1n-9); 33 (C22:2n-6); 34 (C23:0); 35 (C24:0); 36 (C22:6n-3); 37 (C24:1n-9).

4.5 Curva de calibração em GC/FID

A construção da curva de calibração foi feita a partir da diluição do padrão FAME Mix 37 (Sigma-Aldrich – 100mg) em hexano, utilizando como método quantitativo a padronização interna. Este método consiste em adicionar uma quantidade conhecida de uma dada substância (padrão interno) na amostra a ser analisada e nos padrões que irão compor a curva de calibração. A substância que irá ser utilizada na padronização interna deve possuir características tais como: ser similar ao composto em análise, não fazer parte da amostra e não apresentar coeluição com os compostos da amostra (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006).

A Fig. 11 representa a curva de calibração para o ácido graxo *all, cis-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico* (C20:5 n -3) com coeficiente de correlação (r) de 0,9996. As diluições do padrão originaram seis concentrações: 0,625 mg/mL; 1,25 mg/mL; 2,5 mg/mL; 5,0 mg/mL; 10,0 mg/mL e 20,0 mg/mL, as quais continham como padrão interno o éster metílico do ácido nonadecanóico (C19:0 $\geq$ 99% - Sigma-Aldrich) na concentração 2mg/mL. O tratamento dos dados foi realizado através do programa GC Solution Postrun.

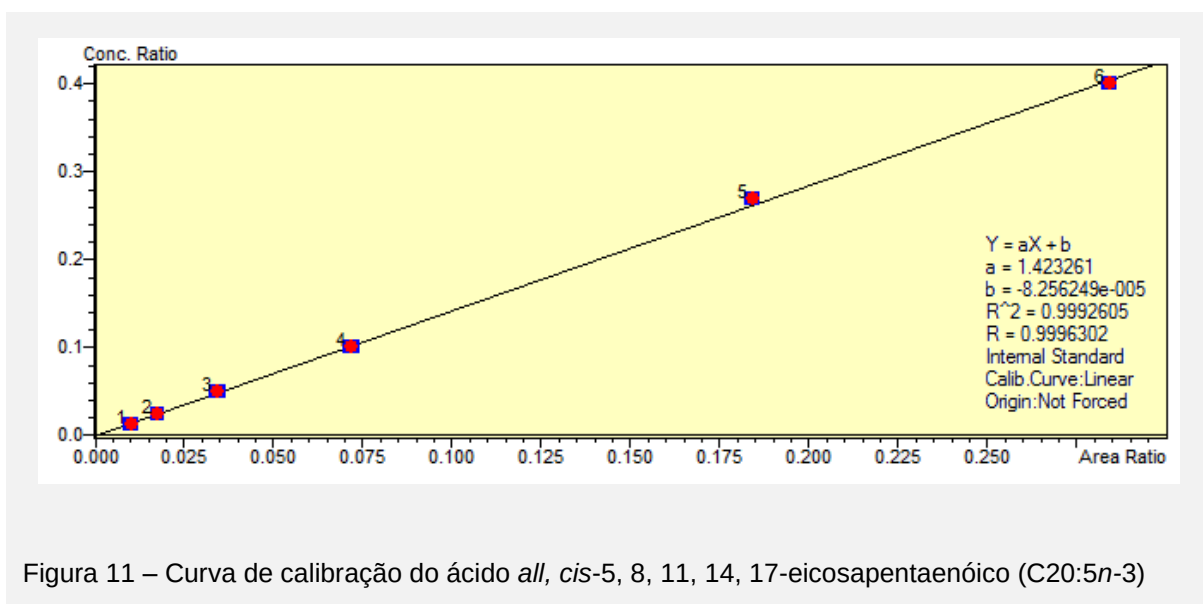


Figura 11 – Curva de calibração do ácido *all, cis-5, 8, 11, 14, 17-eicosapentaenóico* (C20:5 n -3)

Os ácidos oleico (C18:1 n -9c) e elaídico (C19:1 n -9t) devido a coeluição dos picos foram calculados separadamente. A Fig. 12 mostra a coeluição dos compostos no padrão FAME Mix 37 (Sigma-Aldrich), problema não constatado nas amostras de

algas analisadas por GC/FID (Fig. 13). Foram necessárias curvas individuais para análise quantitativa dos ésteres metílicos dos ácidos oleico e elaídico,

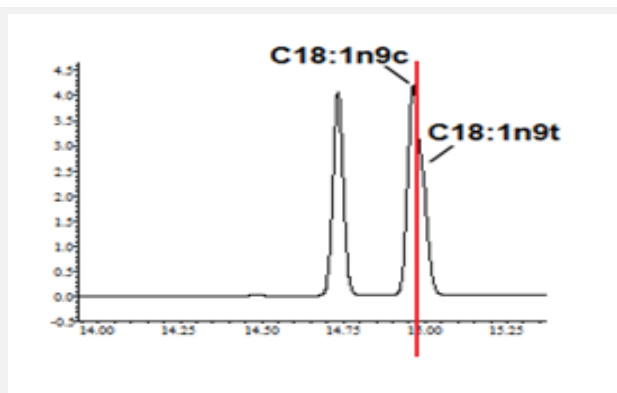


Figura 12 – Cromatograma do padrão FAME Mix 37 referentes a coeluição dos ácidos graxos oleico (C18:1*n*-9c) e elaídico (C18:1*n*-9t) em coluna RTX WAX (Restek Corporation, EUA)

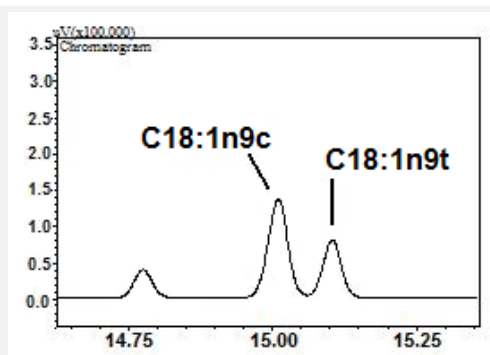


Figura 13 - Cromatograma da amostra de *I. cordata* referentes aos ácidos graxos oleico (C18:1*n*-9c) e elaídico (C18:1*n*-9t) em coluna RTX WAX (Restek Corporation, EUA)

As Fig. 14 e Fig. 15 representam respectivamente as curvas de calibração e cromatogramas analisadas com auxílio do programa GC Solution Postrun, para os ácidos oleico (C18:1*n*-9c) e elaídico (C19:1*n*-9t) em coluna RTX WAX (Restek Corporation, EUA) utilizando como padrão interno o éster metílico do ácido nonadecanóico (C19:0 $\geq$ 99% - Sigma-Aldrich) na concentração de 2mg/mL em *n*-hexano. As curvas apresentaram linearidade, apresentando coeficientes de correlação (*r*) entre 0,996 e 0,999.

Os coeficientes de correlação (*r*) das curvas para FAME Mix 37 (Sigma-Aldrich) e para os ácidos oleico (C18:1*n*-9c) e elaídico (C19:1*n*-9t) ficaram dentro do

critério mínimo aceitável pela ANVISA (2003) e INMETRO (2007) para validação de métodos analíticos e bioanalíticos em cromatografia gasosa.

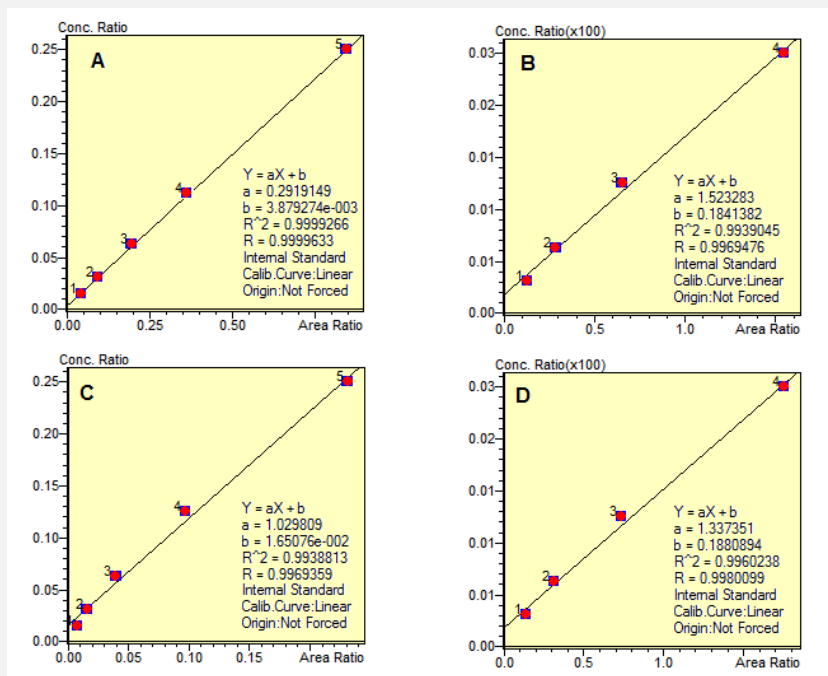


Figura 14 – Curvas de calibração em coluna RTX WAX (Restek Corporation, EUA), utilizando o programa GC Solution Postrun (Shimadzu, Japão); **(A)** concentrações 0,0315 mg/mL; 0,0625 mg/mL; 0,125 mg/mL; 0,5 mg/mL e **(B)** 0,625 mg/mL; 1,25 mg/mL; 2,50 mg/mL; 5,0 mg/mL para ácido oleico (C18:1n-9c); **(C)** 0,0315 mg/mL; 0,0625 mg/mL; 0,125 mg/mL; 0,5 mg/mL e **(D)** 0,625 mg/mL; 1,25 mg/mL; 2,50 mg/mL; 5,0 mg/mL para elaídico (C19:1n-9t)

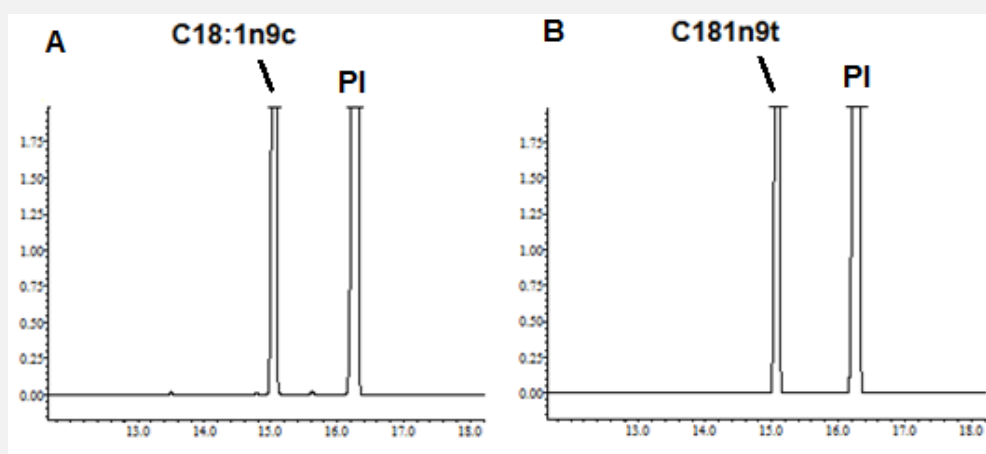


Figura 15 – Cromatograma da curva de calibração na concentração de 1,25 mg/mL para: **(A)** ácido graxo oleico (C18:1n-9c); **(B)** ácido graxo elaídico (C18:1n-9t) em coluna RTX WAX (Restek Corporation, EUA); PI – padrão interno.

4.6 Quantificação dos ácidos graxos de macroalgas vermelhas

Os lipídeos das macroalgas *I. cordata*, *P. decipiens*, *P. endiviifolia*, *P. cartilagineum* após serem extraídos pelo método Bligh & Dyer (1959), item 4.2, e derivatizadas segundo metodologia modificada de Moss; Lambert e Merwin (1974), item 4.3, foram diluídos em 2mL de padrão interno (C19:0 $\geq$ 99%-Sigma) com concentração de 2mg/mL em *n*-hexano.

As amostras derivatizadas e diluídas com padrão interno foram analisadas em triplicata no GC/FID 2010 (Shimadzu, Japão) segundo as condições especificadas no item 4.4. O tratamento dos dados foi realizado através do programa GC Solution Postrun, sendo os resultados expressos em mg/g de composto em biomassa seca.

4.7 Análises estatística

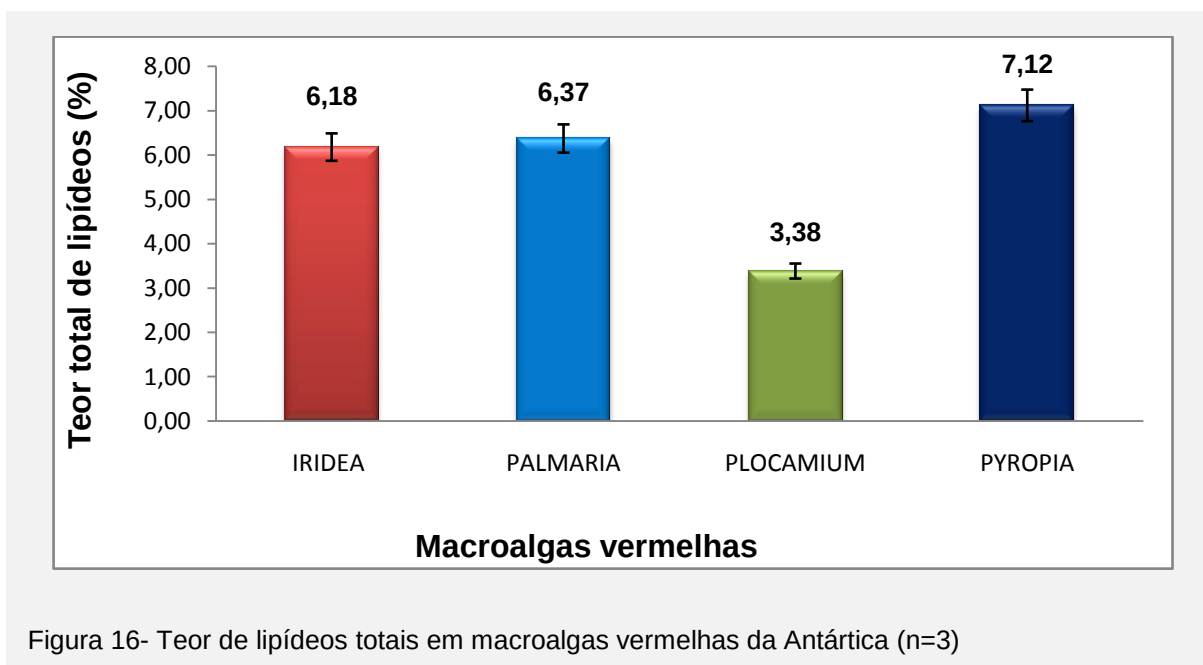
Os resultados obtidos para FAME são apresentados como média $\pm$ desvio padrão, sendo feitos em triplicatas e todos os resultados obtidos para ésteres dos ácidos graxos foram avaliados através de análise de variância (ANOVA) com diferenças significativas consideradas quando $p < 0,05$.

5. RESULTADOS

5.1 Lipídeos totais

Os lipídeos totais foram extraídos seguindo a metodologia de Bligh & Dyer (1959), o qual se utiliza uma mistura de clorofórmio, metanol e água na proporção de 1:1:1 v/v/v com agitação e temperatura ambiente. A mistura de solventes extrativos de acordo com a metodologia de Bligh & Dyer (1959) apresenta uma ampla faixa de polaridade, onde podem ser extraídos lipídeos neutros e polares, tornando a extração lipídica das algas mais eficiente. As concentrações de lipídeos totais se baseiam na quantidade de lipídeo extraído em 20mL de clorofórmio pela massa total da amostra.

Os teores de lipídios totais encontrado para as macroalgas da Divisão Rhodophyta extraídos segundo metodologia descrita no item 4.2 estão expressos na Fig.16.



5.2 Ácidos graxos

Na Fig. 17 pode ser visto o cromatograma das análises quantitativas realizadas por GC/FID da macroalga *P. decipiens* do filo Rhodophyta, o qual

apresenta como resultados a identificação de 28 ácidos graxos entre saturados, monoinsaturados e poliinsaturados. Os mesmos ácidos graxos foram identificados nas macroalgas *P. cartilagineum*, *I. cordata* e *P. endiviifolia*.

As quatro espécies de algas estudadas apresentaram perfil lipídico de poliinsaturados característico de algas vermelhas onde prevalecem as maiores concentrações de ácidos graxos entre C20 e C22.

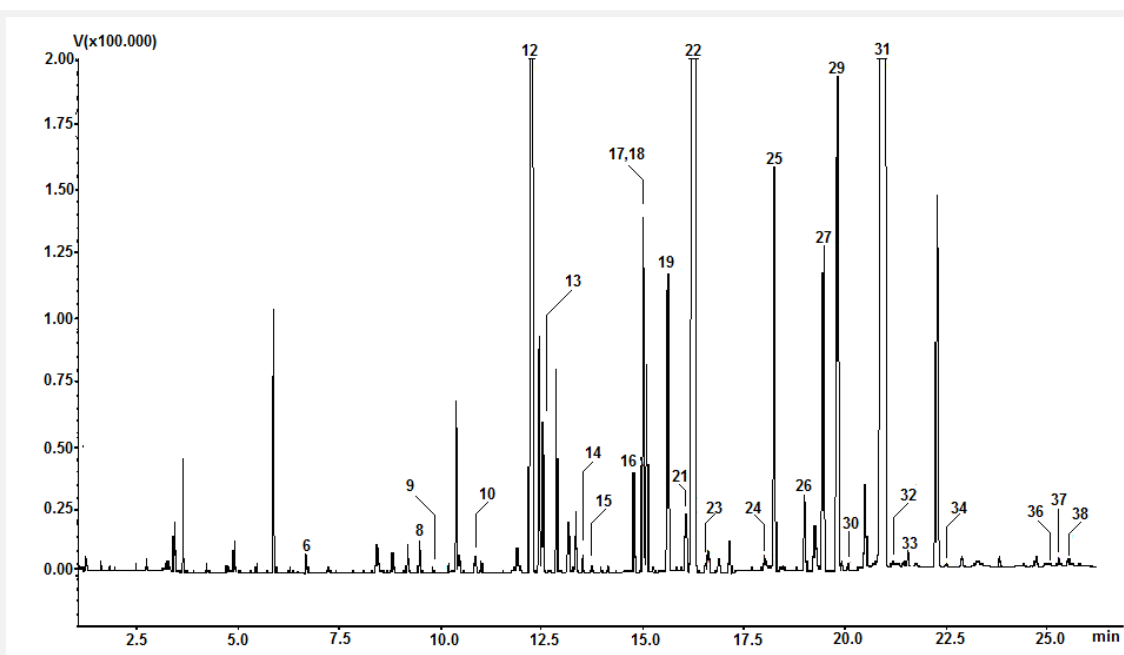


Figura 17 – Cromatograma da espécie *P. decipiens*. A numeração indica: 6 (C12:0); 8 (C14:0); 9 (C14:1n5); 10 (C15:0); 12 (C16:0); 13 (C16:1n7); 14 (C17:0); 15 (C17:1n-7); 16 (C18:0); 17 (C18:1n-9c); 18 (C18:1n-9t); 19 (C18:2n-6c); 21 (C18:3n-6); 22 (C19:0 - padrão interno); 23 (C18:3n-3); 24 (C20:0); 25 (C20:1n-9); 26 (C20:2n-6); 27 (C20:3n-6); 29 (C20:4n-6); 30 (C20:3n-3); 31 (C20:5n-3); 32 (C22:0); 33 (C22:1n-9); 34 (C22:2n-6); 36 (C24:0); 37 (C22:6n-3); 38 (C24:1n-9).

Os resultados encontrados para ácidos graxos poliinsaturados em *P. cartilagineum*, *I. cordata*, *P. endiviifolia*, *P. decipiens* foram respectivamente $45,04 \pm 0,02\%$, $65,14 \pm 0,06\%$, $76,70 \pm 0,05\%$ e $84,83 \pm 0,05\%$ (Tab. 1).

A Fig. 18 apresenta o espectro de massas de $[M^+]$ 316 do ácido graxo *all-cis*-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (C20:5n-3) analisado por GC-MS presente em maior concentração nas macroalgas vermelhas da Antártica.

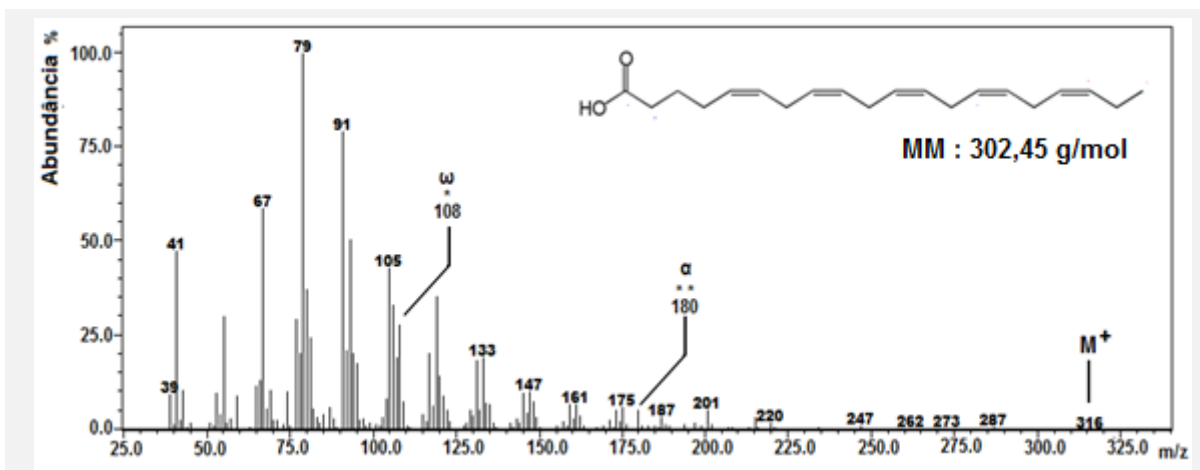


Figura 18 – Espectro de massas do ácido graxo *all, cis*-5,8,11,14,17 eicosapentaenoico (C20:5n-3)

Entre as médias percentuais apresentadas para ácidos graxos saturados encontrados em algas vermelhas do filo Rhodophyta, pode ser observado uma concentração elevada para espécie *P. cartilagineum*, bem acima dos valores encontrados para as demais algas. Este percentual alto está representado principalmente pelos ácidos mirístico com 7,12% e o ácido palmítico com 29,54% (Tab. 1).

Os resultados das extrações encontrados para ácidos graxos monoinsaturados para as algas da Antártica (Tab. 1) foram o ácido miristoleico (C14:1n-5), presente em níveis mais altos em *P. cartilagineum*, *I. cordata* e *P. endiviifolia*, não sendo detectado em *P. decipiens*. O ácido graxo palmitoléico (C16:1n-7) foi detectado em todas as espécies, estando em maior concentração em *P. endiviifolia* com 0,14mg/g em MS (0,72% de FA total). O teor de ácido oleico (C18:1n-9c) encontrado em maior concentração foi em *I. cordata* com 0,38mg/g de MS (3,87% de FA total) e em nível mais baixo em *P. decipiens*, a qual apresentou 0,12mg/g MS representando 1,06% do total de FA.

Entre os ácidos graxos monoinsaturados encontrado nas algas (Tab. 1), outro que se destacou foi o ácido eicosenóico (C20:1n-9), detectado em todas as espécies, mas a um nível mais elevado em *P. endiviifolia* com 0,50mg/g de MS representando 2,60% de FA total. Outros ácidos apareceram em quantidades menores como o ácido erúico (C22:1n-9) em maior concentração em *P. decipiens* 0,05mg/g de MS (0,44% de FA total) e em *P. endiviifolia* com 0,04mg/g de MS (0,22% de FA total). O ácido α -linolenico também foi detectada ao nível baixo em *P. decipiens* 0,03mg/g de MS (0,23% de FA total).

Tabela 1 – Composição (%) de ácidos graxos em algas da Antártica

Ácidos Graxos	<i>Iridaea cordata</i>	<i>Palmaria decipiens</i>	<i>Plocamium cartilagineum</i>	<i>Pyropia endiviifolia</i>
C12:0	0.93 ± 0.00	0.19 ± 0.00	1.31 ± 0.01	0.18 ± 0.00
C14:0	1.71 ± 0.00	4.73 ± 0.01	7.12 ± 0.05	0.22 ± 0.00
C15:0	0.29 ± 0.00	0.17 ± 0.00	0.54 ± 0.03	0.12 ± 0.00
C16:0	23.35 ± 0.02	6.01 ± 0.02	29.54 ± 0.16	16.18 ± 0.02
C17:0	0.10 ± 0.00	0.11 ± 0.11	1.15 ± 0.03	0.09 ± 0.01
C18:0	1.09 ± 0.03	0.41 ± 0.01	2.60 ± 0.01	0.47 ± 0.00
C20:0	0.22 ± 0.00	0.21 ± 0.00	1.33 ± 0.05	0.12 ± 0.01
C21:0	0.10 ± 0.00	0.09 ± 0.00	0.71 ± 0.04	nd
C22:0	0.41 ± 0.01	0.23 ± 0.01	1.70 ± 0.09	0.17 ± 0.01
C23:0	0.07 ± 0.00	nd	nd	nd
C24:0	0.23 ± 0.00	0.22 ± 0.01	0.61 ± 0.02	0.15 ± 0.02
ΣSFA	28.50 ± 0.06	12.38 ± 0.03	46.61 ± 0.07	17.70 ± 0.02
C14:1n-5	0.18 ± 0.00	nd	0.36 ± 0.00	0.08 ± 0.00
C15:1n-5	nd	nd	0.38 ± 0.00	nd
C16:1n-7	0.72 ± 0.00	0.20 ± 0.01	1.51 ± 0.07	0.74 ± 0.00
C17:1n-7	0.22 ± 0.00	0.15 ± 0.01	1.20 ± 0.03	0.11 ± 0.00
C18:1n-9c	3.87 ± 0.01	1.06 ± 0.00	2.94 ± 0.05	1.46 ± 0.01
C18:1n-9t	0.20 ± 0.00	0.10 ± 0.00	0.36 ± 0.01	0.23 ± 0.00
C20:1n-9	0.24 ± 0.00	0.33 ± 0.00	0.74 ± 0.07	2.60 ± 0.04
C22:1n-9	0.36 ± 0.01	0.44 ± 0.01	0.57 ± 0.02	0.22 ± 0.01
C24:1n-9	0.57 ± 0.02	0.51 ± 0.01	0.30 ± 0.03	0.16 ± 0.00
ΣMUFA	6.36 ± 0.02	2.77 ± 0.02	8.35 ± 0.08	5.60 ± 0.05
C18:2n-6c	1.11 ± 0.03	0.37 ± 0.02	1.84 ± 0.09	1.73 ± 0.03
C18:3n-6	0.90 ± 0.03	0.16 ± 0.00	0.85 ± 0.03	0.45 ± 0.02
C18:3n-3	0.36 ± 0.02	0.23 ± 0.01	0.31 ± 0.03	0.16 ± 0.01
C20:2n-6	0.25 ± 0.00	0.10 ± 0.01	0.73 ± 0.08	0.56 ± 0.00
C20:3n-6	0.78 ± 0.02	3.30 ± 0.02	3.58 ± 0.15	2.71 ± 0.03
C20:4n-6	8.59 ± 0.00	0.22 ± 0.01	12.83 ± 0.08	4.87 ± 0.01
C20:3n-3	0.09 ± 0.01	0.14 ± 0.00	0.82 ± 0.04	0.14 ± 0.01
C20:5n-3	52.78 ± 0.09	78.91 ± 0.02	21.04 ± 0.19	65.72 ± 0.05
C22:2n-6	0.23 ± 0.00	0.99 ± 0.01	0.66 ± 0.03	0.13 ± 0.03
C22:6n-3	0.05 ± 0.01	0.42 ± 0.01	0.38 ± 0.01	0.22 ± 0.01
ΣPUFA	65.14 ± 0.06	84.83 ± 0.05	45.04 ± 0.02	76.70 ± 0.05

Resultados expressos em média ± desvio padrão de ácidos graxos totais (n=3); nd: não detectado; SFA: ácido graxo saturado; MUFA: ácido graxo monoinsaturado; PUFA: ácido graxo poliinsaturado; n-3: ômega-3; n-6: ômega-6

A Fig. 19 apresenta as médias percentuais para ácidos graxos poliinsaturados encontrados em algas rodófitas da Antártica. O maior percentual foi observado em *P. decepiens* com 84,8% da FA total. Os teores elevados de PUFA estão representados principalmente pelo ácido eicosapentaenóico (C20:5n-3) na grande maioria das algas analisadas.

A concentração para o ácido eicosapentaenóico (C20:5n-3) se apresentou elevada, isto é, acima de 50% em três espécies, ficando *P. cartilagineum* com concentração mais baixa entre as espécies estudadas. A concentração de EPA

encontrada para *P. endiviifolia* foi de 12,67mg/g de MS representando 65,72% de FA total, em *P. decipiens* a concentração encontrada ficou em 8,71mg/g de MS ou 78,91% do total de FA e para *I. cordata* a concentração foi de 5,16mg/g de MS correspondente a 52,78% do total de FA. A espécie *P. cartilagineum* apresentou 11,12mg/g MS de EPA representando 21,04% de FA total.

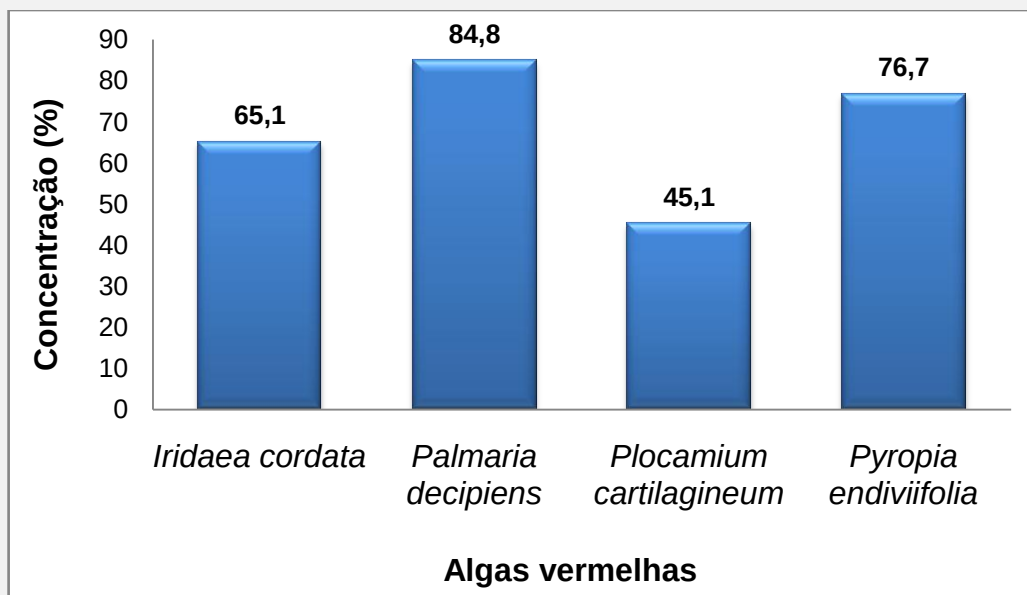


Figura 19 – Média dos percentuais de ácidos graxos poliinsaturados em algas vermelhas do filo Rhodophyta

A macroalga *P. endiviifolia* possui uma concentração mais elevada de ácido eicosadienóico (C20:2*n*-6) do que de alfa linolênico e γ -linolênico. As concentrações para ácido eicosatrienóico (C20:3*n*-6) foram detectados em *P. endiviifolia* com 0,52mg/g de MS (2,71% de FA total), 0,36mg/g de MS (3,36% de FA total) em *P. decipiens*, 0,19mg/g de MS (3,58% de FA total) em *P. cartilagineum* e *I. cordata* com 0,08mg/g de MS (0,78% da FA total). Além disso, quantidades significativas de ácido araquidônico (C20:4*n*-6) em óleos de algas de todas as espécies examinadas foram encontrados estando seus valores entre 0,02mg/g de MS (0,22% de FA total) para *P. decipiens* e 0,94mg/g MS (4,87% do total de FA) para *P. endiviifolia*.

6. DISCUSSÃO

Os níveis de ácido láurico (C12:0) e mirístico (C14:0) encontrados nas macroalgas da Antártica ficaram em média dentro dos resultados esperados para a divisão Rhodophyta (PEREIRA et al., 2012; GINNEKEN et al., 2011), são ácidos graxos que em níveis altos associados a baixos níveis de ácidos graxos poliinsaturados elevam a colesterolemia (aumento de LDL-c), proporcionando o surgimento de doenças coronarianas (SIRI-TARINO et al., 2010). No caso das espécies estudadas o índice elevado, principalmente de mirístico (C14:0) é contrabalanceado pelos altos níveis de ARA em *I. cordata* e *P. cartilagineum* e de EPA em *P. decipiens*. As concentrações encontradas para o ácido palmítico (C16:0) foram altas em todas espécies, porém altos níveis de PUFA nas algas associado a conversão do C16:0 à palmitoléico (C16:1n-7) pela enzima dessaturase $\Delta 9$ (desaturase do estearil-CoA) e a ácido esteárico (C18:0) pela ação de enzimas alongases (DOBRZYNA; NTAMBI, 2005) não torna o consumo destas algas, com níveis altos de C16:0, um agravante para problemas coronarianos. O ácido esteárico (C18:0) encontrado em concentrações moderados nas algas *I. cordata*, *P. decipiens*, *P. endiviifolia* e *P. cartilagineum* pode seguir duas rotas bioquímicas em mamíferos formando outros ácidos graxos saturados de cadeia longa ou podem sofrer a ação de enzimas dessaturases $\Delta 9$ e formar o ácido oleico (C18:1n-9c). A ação das dessaturases sobre o ácido esteárico (C18:0) é rápida, acontecendo no fígado convertendo-o rapidamente ao ácido oleico, um ácido monoinsaturado que não aumentando os níveis de colesterolemia no organismo humano (SIRI-TARINO et al., 2010).

A divisão Rhodophyta se caracteriza por apresentar, na maioria das espécies, grande concentração de ácidos graxos poliinsaturados das famílias ômega 3 e 6 em relação a ácidos graxos saturados (BERGÉ; BARNATHAN, 2005; PEREIRA et al., 2012). As algas *I. cordata*, *P. decipiens*, *P. endiviifolia* foram analisadas e apresentaram resultados satisfatórios em ácidos graxos totais com níveis altos de poliinsaturados, principalmente C20:5n-3, resultados semelhantes aos encontrados para *I. cordata* por Khotimchenko, Vaskovsky e Titlyanova (2002) e *Palmaria palmata* (Rhodophyta) por Ginneken et al. (2011). A espécie *P. cartilagineum* mostrou estatisticamente uma relação próxima entre ácidos graxos saturados (2,5mg/g MS) e poliinsaturados (2,4mg/g MS), resultado semelhante aos

encontrados para *Plocamium violaceum* (Rhodophyta) na relação PUFA/SFA (KHOTIMCHENKO; VASKOVSKY; TITLYANOVA, 2002). Este acúmulo de uma determinada classe de ácido graxo, saturado ou insaturado pelas algas, esta intimamente relacionado a disponibilidade de luminosidade e stress ambiental (variações grandes de temperatura da água). Algas como *I. cordata*, *P. decipiens*, *P. endiviifolia* ocorrem em regiões intertidais (WIENCKE; CLAYTON, 1988; ZIELINSKI, 1990; OLIVEIRA et al., 2009; BECKER et al., 2011) que se caracterizam por grandes variações nos níveis de marés, ocasionando grandes exposições a temperaturas negativas (CLARKE, 1988), consequentemente um aumento nos níveis de PUFA, essencial para manter a regulação dos fluídos de membranas (STEVENSON; BOTHWELL; LOWE, 1996) Na zona infralitoral, onde é encontrada a macroalga *P. cartilagineum* (ZIELINSKI, 1990; OLIVEIRA et al., 2009) as variações de temperatura são amenas, ocorrendo com diferença de no máximo 2°C (KAIN, 1989), não sendo necessário o acúmulo de PUFA pelas algas. Estudos de algas realizados por Graeve et al. (2002) em ambiente controlado mostraram valores elevados para ácidos graxos saturados e valores reduzidos para poliinsaturados, diferentes ao encontrados para a mesma espécie (*P. decipiens*) coletada na Antártica. Estes valores encontrados por Graeve et al. (2002) corroboram com estudos que mostram a influência de temperaturas amenas no aumento da concentração de SFA total (GRESSLER et al., 2010; KUMARI et al., 2010; GRESSLER et al., 2011; PEREIRA et al., 2012). Estes índices altos de poliinsaturados encontrado em algas de ambientes gelados, também esta relacionado à sua associação aos fosfolipídios, que são os principais constituintes das membranas celulares e são os responsáveis em fornecer proteção a grandes variações térmicas, auxiliam na fluidez de membrana e proteção a fotoinibição (BECKER; GRAEVE; BISCHOF, 2010). Entre os PUFA encontrados em maior concentração estão o EPA, AA e o ácido *cis*-8,11,14-eicosatrienóico (C20:3n-6). O DHA apareceu em baixa concentração em todas as espécies analisadas, sendo este resultado esperado, pois concentrações altas deste ácido graxo poliinsaturado são encontradas principalmente em peixes marinhos (RODACKI et al., 2012) que consomem algas e fitoplâncton ricos em EPA, e posteriormente os transforma bioquimicamente em DHA (SMITH et al., 2009). A maior concentração de EPA entre as quatro espécies foi encontrado em *P. endiviifolia*, são valores acima dos encontrados para o filo Rhodophyta de ocorrência em algas de clima temperado (KUMARI et al., 2010; GINENEKEN et al.,

2011; PEREIRA et al., 2012) e de ambientes controlados (GRAEVE et al., 2002; BECKER; GRAEVE; BISCHOF, 2010). O EPA tem sido descrito como modulador da colesterolemia, pois inibe a atividade da enzima acil-CoA:1,2- diacilglicerol aciltransferase (DGAT) responsável pela síntese de triacilglicerol na formação de tecido adiposo (RUSTAN et al., 1988) . Os dados encontrados por Khotimchenko, Vaskovsky e Titlyanova (2002) para algas vermelhas do norte de Califórnia coletadas no mês de novembro, onde as temperaturas naquela região são amenas entre 6°C e 12°C, se mostraram próximos para os ácidos palmítico (C16:0), ácido eicosapentaenóico (C20:5n-3) e araquidônico (20:4n-6) encontrados nas algas rodófitas da Antártica para o gênero *Plocamium*. Para os demais gêneros e para espécie *I. cordata* os valores encontrados corroboram com os dados da literatura, os quais mostram, para ambientes de temperaturas mais elevadas, um aumento nas concentrações para o ácido palmítico (C16:0) e valores abaixo de 50% para o ácido eicosapentaenóico (C20:5n-3) mostrando ser a temperatura um grande fator de aumento dos ácidos graxos poliinsaturados em algas.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Considerando os objetivos propostos para o trabalho de identificação e quantificação de ácidos graxos nas macroalgas *Iridaea cordata*, *Palmaria decipiens*, *Plocamium cartilagineum*, *Pyropia endiviifolia* do filo Rhodophyta pode se concluir que as macroalgas do continente antártico apresentaram concentrações baixas de ácidos graxos saturados na maioria das espécies, com exceção de *Plocamium cartilagineum*, a qual apresentou proporções similares de ácidos graxos saturados e poliinsaturados.

As macroalgas da Antártica do filo Rhodophyta apresentaram elevadas concentrações de ácidos graxos poliinsaturados com ênfase nos ácidos graxos *all-cis*-5,8,11,14,17-eicosapentaenoico (C20:5n3) e araquidônico (20:4n-6), os quais somados se apresentaram como majoritários na maioria das algas estudadas com exceção de *P. cartilagineum*.

Os resultados obtidos mostraram que fatores ambientais como a baixa temperatura influenciam na composição lipídica das macroalgas. Esta resposta das macroalgas da Antártica ao estresse ambiental se demonstra com o aumento de ácidos graxos poliinsaturados, os quais ficaram na faixa entre 45,04 e 84,83% e na baixa concentração de ácidos graxos saturados encontrados, entre 12,38% e 46,61%.

8. REFERÊNCIAS

ADIBA B. D.; SALEM B.; NABIL S.; ABDELHAKIM M. Preliminary characterization of food tablets from date (*Phoenix dactylifera* L.) and spirulina (*Spirulina* sp.) powders. **Powder Technology**, v.208, n.3, p.725–730, 2011.

ADL, S. M. et al. The Revised Classification of Eukaryotes. **Journal of Microbiology Eukaryotic** v.59, n.5, p. 429–493, 2012.

AMISSAH, F.; TAYLOR, S.; DUVERNA, R.; AYUK-TAKEM, L. T.; LAMANGO, N. S. Regulation of polyisoprenylated methylated protein methylesterase by polyunsaturated fatty acids and prostaglandins. **European Journal of Lipid Science and Technology**, v.113, n.11, p.1321–1331, 2011.

Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA), **Resolução RE nº 899**, de 29/05/2003. Disponível em < <http://portal.anvisa.gov.br> > Acesso em 20 dez. 2012

BARSANTI, Laura; GUALTIERI, Paolo. **Algae: anatomy, biochemistry, and biotechnology**. New York, USA: Taylor & Francis Group., 2006. 320p.

BARSANTI, L.; COLTELLI, P.; EVANGELISTA, V.; FRASSANITO, A. M.; PASSARELLI, V.; VESENTINI, N.; GUALTIERI, P. The world of algae. In: **Algal toxins: nature, occurrence, effect and detection**. Pisa, Italy: Proceedings of the NATO Advanced Study Institute, 2007. p. 1-16.

BECKER, S.; GRAEVE, M.; BISCHOF, K. Photosynthesis and lipid composition of the Antarctic endemic rhodophyte *Palmaria decipiens*: effects of changing light and temperature levels. **Polar Biology**, v.33, p.945-955, 2010.

BECKER, S.; QUARTINO, M. L.; CAMPANA, G. L.; BUCOLO P.; WIENCKE, C.; BISCHOF K. The biology of an antarctic rhodophyte, *Palmaria decipiens*: recent advances. **Antarctic Science**. v.23, n.5, p.419–430, 2011.

BERG, J. M., TYMOCZKO, J. L., STRYER, L., **Biochemistry**, 6ed. New York, Ed. WH Freeman, 1120 p., 2008.

BERGÉ, J. P.; BARNATHAN, G. Fatty acids from lipids of marine organisms: molecular biodiversity, roles as biomarkers, biologically active compounds, and economical aspects. **Advances in Biochemical Engineering Biotechnology**, v.96. p.49-125, 2005.

BJORNLAND, T.; AGUILAR-MARTINEZ, M. Carotenoids in red algae. **Phytochemistry**, v. 15, p. 291-296, 1976.

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.

BOUZON, Z. L. Histoquímica e ultra-estrutura da ontogênese dos tetrasporângios de *Hypnea musciformis* (Wulfen) J. V. Lamour. (Gigartinales, Rhodophyta). **Revista Brasileira de Botânica**, v.29, n.2, p.229-238, 2006.

BÜDENBENDER, J.; RIEBESELL, U.; FORM, A. Calcification of the Arctic coralline red algae *Lithothamnion glaciale* in response to elevated CO₂. **Marine Ecology Progress Series**, v. 441, p.79–87, 2011.

CALDER, P. C. Long-chain n-3 fatty acids and inflammation: potential application in surgical and trauma patients. **Brazilian Journal of Medical and Biological Research**, v.36, n.4, p.433-446, 2003.

CAMPOS, A.; SOUZA, C. B.; LHULLIER C.; FALKENBERG, M.; SCHENKEL E. P.; RIBEIRO-DO-VALLE, R. M.; SIQUEIRA, J. M. Anti-tumour effects of elatol, a marine derivative compound obtained from red algae *Laurencia microcladia*. **Journal of Pharmacy and Pharmacology**, v.64, n.8, p.1146–1154, 2012.

CANDE, S. C.; STOCK, J. M.; MÜLLER, R. D.; ISHIHARA, T. Cenozoic motion between: east and west Antarctica. **Nature**, v.404, p.145-150, 2000.

CHEN, G. Q.; JIANG, Y.; CHEN, F. Fatty acid and lipid class composition of the eicosapentaenoic acid-producing microalga, *Nitzschia laevis*. **Food Chemistry**, v. 104, n.4, p.1580–1585, 2007.

CHEN, J.; SHEARER, G. C.; CHEN, Q.; HEALY, C. L.; BEYER, A. J.; NAREDDY, V. B.; GERDES, A. M.; HARRIS, W. S.; O'CONNELL, T. D.; WANG, D. ω -3 fatty acids prevent pressure overload-induced cardiac fibrosis through activation of cGMP/PKG signaling in cardiac fibroblasts. **Circulation**, v.123, n.6, p.584–593, 2011.

CHOWDHURY, R.; STEVENS, S. GORMAN, D.; AN PAN; WARNAKULA, S.; CHOWDHURY, S.; WARD, H.; JOHNSON, L.; CROWE, F.; HU, F. B.; FRANCO, O. H. Association between fish consumption, long chain omega 3 fatty acids, and risk of cerebrovascular disease. **British Medical Journal**, v. 345 , p.1-9, 2012.

CLARKE, A. Seasonality in the Antarctic marine environment. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v.90, n.3, p.461-273, 1988.

COELHO, S. M.; SIMON, N.; AHMED, S.; COCK, J. M.; PARTENSKY, F. Ecological and evolutionary genomics of marine photosynthetic organisms. **Molecular Ecology**, v.22, n.3, p.867–907, 2013.

COLLINS, C. H.; BRAGA, G. L.; BONATO, P. S. (Orgs.), **Fundamentos de cromatografia**, Campinas, S.P, Ed. da UNICAMP, 456p., 2006.

DAS, L.; BHAUMIK, E.; RAYCHAUDHURI, U.; CHAKRABORTY, R. Role of nutraceuticals in human health. **Journal of Food Science and Technology**, v.49, n.2, p.173–183, 2012.

DOBRZYNA, A.; NTAMBI, J. M. The role of stearyl-CoA desaturase in the control of metabolism. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.73, n.1, p.35–41, 2005.

DE LOS RÍOS, A.; WIERZCHOS, J.; SANCHO, L. G.; ASCASO, C. Exploring the physiological state of continental Antarctic endolithic microorganisms by microscopy. **FEMS Microbiology Ecology**, n.50, p.143–152, 2004.

ECKERT, D. P.; LIPKA, U.; MULLER, W. Omega-3 fatty acids in neurodegenerative diseases: focus on mitochondria. **Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids**, v.88, p.105–114, 2013.

FASANO, E.; SERINI, S.; PICCIONI, E.; TOESCA, A.; MONEGO, G.; CITTADINI, A. R.; RANELLETTI, F. O.; CALVIELLO, G. DHA induces apoptosis by altering the expression and cellular location of GRP78 in colon cancer cell lines. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1822, p.1762–1772, 2012.

FUKUI, M.; KANG, K. S.; OKADA, K.; ZHU, B. T. EPA, an omega-3 fatty acid, induces apoptosis in human pancreatic cancer Cells: role of ROS accumulation, Caspase-8 activation, and autophagy induction. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.114, n.1, p.192–203, 2013.

FUKUNAGA, K.; HOSSAIN, Z.; TAKAHASHI, K. Marine phosphatidylcholine suppresses 1,2-dimethylhydrazine-induced colon carcinogenesis in rats by inducing apoptosis. **Nutrition Research**, v.28, n.9, p.635–640, 2008.

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.

GIROS, A.; GRZYBOWSKI, M.; SOHN V. R.; PONS, E.; MORALES J, F.; XICOLA, R. M.; SETHI P.; GRZYBOWSKI J.; GOEL A.; BOLAND R.; GASSULL M. A.; LLOR X. Regulation of colorectal cancer cell apoptosis by the n-3 polyunsaturated fatty acid docosahexaenoic and eicosapentaenoic. **Cancer Prevention Research**, v.2, n.8, p.732-742, 2009.

GÓMEZ, I.; WEYKAM G.; KLÖSER H.; WIENCKE, C. Photosynthetic light requirements, metabolic carbon balance and zonation of sublittoral macroalgae from King George Island (Antarctica). **Marine Ecology Progress Series**, v.148, p.281-293, 1997.

GOPINATH, B.; HARRIS, D. C.; FLOOD, V. M.; BURLUTSKY, G.; BRITISH, P. M. Consumption of long-chain n-3 PUFA, α -linolenic acid and fish is associated with the prevalence of chronic kidney disease. **Journal of Nutrition**, v.105, n.9, p.1361–1368, 2011.

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.

GRESSLER, V.; YOKOYA, N. S.; FUJII M. T.; COLEPICOLO, P.; MANCINI FILHO J.; TORRES R. P.; PINTO, E. Lipid, fatty acid, protein, amino acid and ash contents in four Brazilian red algae species. **Food Chemistry**, v.120, p.585–590, 2010.

GRESSLER, V.; YOKOYA, N. S.; FUJII, M. T.; MARTINS, A. P.; COLEPICOLO, P.; MANCINI FILHO, J.; PINTO, E. Biochemical composition of two red seaweed species grown on the Brazilian coast. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, v.91, n.9, p.1687–1692, 2011.

HAMMOND, V.; O'DONNELL, V. B. Esterified eicosanoids: generation, characterization and function. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.1818, p.2403–2412, 2012.

Instituto Nacional de Metrologia, Normalização e Qualidade Industrial (INMETRO) **Orientação sobre validação de métodos de ensaios químicos**. DOQ-CGCRE-008 – Revisão 02, 24p., junho/2007. Disponível em < <http://www.inmetro.gov.br> > Acesso em 20 dez. 2012.

IWAMOTO, K.; FUKUYO, S.; OKUDA, M.; KOBAYASHI, M.; SHIRAIWA, Y. Cryopreservation of the chlorophyll d-containing cyanobacterium *Acaryochloris marina*. **Procedia Environmental Sciences**, v.15, p.118 – 125, 2012

JAKOBSEN, M. U.; O'REILLY, E. J.; HEITMANN, B. L.; PEREIRA, M. A.; BÄLTER, K.; FRASER, G. E.; GOLDBOURT, U.; HALLMANS, G.; KNEKT, P.; LIU, S.; PIETINEN P, SPIEGELMAN D, STEVENS J, VIRTAMO J, WILLETT WC, ASCHERIO, A. Major types of dietary fat and risk of coronary heart disease: a pooled analysis of 11 cohort studies. **American Journal Clinical Nutrition**, v.89, n.5, p.1–8, 2009.

JEONG, H. J. Mixotrophy in Red Tide Algae Raphidophytes. **Journal Eukaryotic Microbiology**, v.58, n.3, p. 215–222, 2011.

KAIN, J. M. The seasons in the subtidal. **Journal Brazilian Phycology**, v.24, p.203-215, 1989.

KARENTZ, D.; BOSCH, I. Influence of ozone-related increases in ultraviolet radiation on Antarctic marine organisms. **American Zoologist**, v.4, n.1, p.3–16, 2001.

KENNEDY, A. D. Antarctic Terrestrial Ecosystem Response to Global Environmental Change **Annual Review of Ecology and Systematics** , v.26, p. 683-704, 1995.

KHOTIMCHENKO, S.V.; VASKOVSKY, V. E.; TITLYANOVA, T. V. Fatty acids of marine algae from the Pacific Coast of North California. **Botanica Marina**, v.45, p.17-22, 2002.

KIECOLT-GLASER, J. K.; BELURY, M. A.; PORTER, K.; BEVERSDORF, D. Q.; LEMESHOW, S.; GLASER, R. Depressive Symptoms, omega-6:omega-3 Fatty Acids, and Inflammation in Older Adults. **Psychosomatic Medicine**, v.69, n.3, p.217–224, 2007.

KIM, MM.; MENDIS, E.; KIM, SK. *Laurencia okamurai* extract containing laurinterol induces apoptosis in melanoma cells. **Journal Medicinal Food**, v.11, n.2, p.260–266, 2008.

KLEIN-PLATAT, C.; DRAI, J.; OUJAA, M.; SCHLIENGER, J. L.; SIMON, C. Plasma fatty acid composition is associated with the metabolic syndrome and low-grade inflammation in overweight adolescents^{1–3}. **American Journal Clinical Nutrition**, v.82, n.6, p.1178–84, 2005.

KRIS-ETHERTON P. M.; HARRIS W. S.; APPEL L. J. Fish Consumption, Fish Oil, Omega-3 Fatty Acids, and Cardiovascular Disease. **Circulation**, v.106, p.2747–2757, 2002.

KRUEGER-HADFIELD, S. A.; K€UBLER, J. E.; DUDGEON, S. R. Reproductive effort of *mastocarpus papillatus* (Rhodophyta) along the california coast. **Journal Phycology**, *in press*, 2013.

KRUSKA, N.; REISER, G. Phytanic acid and pristanic acid, branched-chain fatty acids associated with Refsum disease and other inherited peroxisomal disorders, mediate intracellular Ca²⁺ signaling through activation of free fatty acid receptor GPR40. **Neurobiology of Disease**, v.43, p.465–472, 2011.

KUMARI, P.; KUMAR, M.; GUPTA, V.; REDDY, CRK, J. H. A B. Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. **Food Chemistry**, v.120, n.3, p.749–757, 2010.

KUZMICKIENE, I.; EVERATT, R.; VIRVICIUTE, D.; TAMOSIUNAS, A.; RADISAUSKAS, R.; REKLAITIENE, R.; MILINAVICIENE, E. Smoking and other risk factors for pancreatic cancer: a cohort study in men in Lithuania. **Cancer Epidemiology**, v.37, p.133–139, 2013.

LEE, Robert E. **Phycology**. 4 ed. Colorado, USA: CAMBRIDGE UNIVERSITY PRESS, 2008. 561p.

LHULLIER, C.; DONNANGELO, A.; CARO, M.; PALERMO, J. A.; HORTA, P. A.; FALKENBERG, M.; SCHENKEL, E. P. Isolation of elatol from *Laurencia microcladia* and its palatability to the sea urchin *Echinometra lucunter*. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.37, n.4, p.254–259, 2009.

LIGHT, R. J.; SAMUELSSON, B. Identification of prostaglandins in the Gorgonian, *Plexaura homomalla*. **European Journal Biochemistry**, v.28, n.2, p.232-240, 1972.

LORDAN S.; ROSS R. P.; STANTON C. Marine bioactives as functional food ingredients: potential to reduce the incidence of chronic diseases. **Marine Drugs**, v.9, n.6, p.1056-1100, 2011.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. São Carlos: RiMa, 2006. 606p.

MAROON J. C.; BOST J. W. ω -3 fatty acids (fish oil) as an anti-inflammatory: an alternative to nonsteroidal anti-inflammatory drugs for discogenic pain. **PAC Surgical Neurology**, v.65, n.4, p.326–331, 2006.

MARTINEZ, M. Restoring the DHA levels in the brains of Zellweger patients. **Journal of Molecular Neuroscience**, v.16, n.2-3, p.309-316, 2001.

MIL-HOMENS, D.; BERNARDES, N.; FIALHO, A. M. The antibacterial properties of docosahexaenoic omega-3 fatty acid against the cystic fibrosis multiresistant pathogen *Burkholderia cenocepacia*. **FEMS Microbiology Letters**, v.328, n.1, p.61–69, 2012.

MIRMIRAN, P.; HOSSEINPOUR-NIAZI, S.; NADERI, Z.; BAHADORAN, Z.; SADEGHI, M.; AZIZI, F. Association between interaction and ratio of ω -3 and ω -6 polyunsaturated fatty acid and the metabolic syndrome in adults. **Nutrition**, v.28, n.9, p.856–863, 2012.

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

MOZAFFARIAN, D.; WU, J. H. Y. Omega-3 fatty acids and cardiovascular disease effects on risk factors, molecular pathways, and clinical events. **Journal of the American College of Cardiology**, v.58, n.20, p.2047-2067, 2011.

MURRAY, Robert K. et al. **Harper's illustrated biochemistry**. 28. ed. USA: Lange Medical Books/McGraw-Hill, 2009. 704p.

NEDZAREK. A.; RAKUSA-SUSZCZEWSKI, S. Decomposition of macroalgae and the release of nutrient in Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. **Polar Bioscience**, v.17, p.26-35, 2004.

NELSON David L. et al.: **Princípios de Bioquímica de Lehninger**. 5.ed. São Paulo: SARVIER, 2011. 1304p.

NOLD, S. C.; PANGBORN, J. B.; ZAJACK, H. A.; KENDALL, S. T.; REDISKE, R. R.; BIDDANDA, B. A. Benthic bacterial diversity in submerged sinkhole ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, v. 76, n. 1, p. 347–351, 2010.

Núcleo de Pesquisa em Ficologia, **Instituto Botânico de São Paulo**. Foto: Prof. Dra. Mutue Toyota.

OLIVEIRA, E. C.; ABSHER, T. M.; PELLIZZARI, F. M.; OLIVEIRA, M. C. The seaweed flora of Admiralty Bay, King George Island, Antarctic. **Polar Biology**, v.32, n.11, p.1639–1647, 2009.

PAKER A. M.; SUNNESS J. S.; BRERETON N. H.; SPEEDIE L. J.; ALBANNA L.; DHARMARAJ S.; MOSER A. B.; JONES R. O.; RAYMOND G. V. Docosaheptaenoic acid therapy in peroxisomal diseases: results of a double-blind, randomized trial. **Neurology**, v.75, n.9, p.826-830, 2010.

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.

POOYA Sh.; JALALI M. D.; JAZAYERY A. D.; SAEDISOMEOLIA A.; ESHRAGHIAN M. R.; TOORANG F. The efficacy of omega-3 fatty acids supplementation on plasma homocysteine and malondialdehyde levels of type 2 diabetic patients. **Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases**, v.20, n.5, p.326-331, 2010.

PROGRAMA ANTÁRTICO BRASILEIRO (PROANTAR): Responsável: CMG José Corrêa Filho. Disponível em:< <http://www.mar.mil.br/secirm/proantar.htm>> Acesso em: 28 nov 2012.

QIAO, L.; WONG, B. C.Y. Targeting apoptosis as an approach for gastrointestinal cancer therapy. **Drug Resistance Updates**, v.12, p.55–64, 2009.

RAMEL, A.; PUMBERGER, C.; MARTINÉZ, J. A.; KIELY, M.; BANDARRA, N. M.; THORSDOTTIR, I. Cardiovascular risk factors in young, overweight, and obese European adults and associations with physical activity and omega-3 index. **Nutrition Research**, v.29, p.305–312, 2009.

RASMUSSEN, T.B.; MANEFIELD, M.; ANDERSEN, J.B.; EBERL, L.; ANTHONI, U.; CHRISTOPHERSEN, C.; STEINBERG, P.; KJELLEBERG, S.; GIVSKOV, M. How *Delisea pulchra* furanones affect quorum sensing and swarming motility in *Serratia liquefaciens* MG1. **Microbiology**, v.146, p.3237–3244, 2000.

RYAN, K. G.; MCMINN, A.; HEGSETH, E. N.; DAVY, S. K. The effects of ultraviolet-b radiation on antarctic sea-ice algae. **Journal Phycology**, v. 48, 74–84, 2012.

RIBEIRO, A. P.; FIGUEIRA, B. C. L.; MARTINS, C.C.; SILVA, C. R. A.; FRANÇA, E. J.; BÍCEGO, M. C.; MAHIQUES, M. M.; MONTONE, R. C. Arsenic and trace metal contents in sediment profiles from the Admiralty Bay, King George Island, Antarctica. **Marine Pollution Bulletin**, v.62, p.192–196, 2011.

RIEMANN, L.; NIELSEN, T. G.; KRAGH, T.; RICHARDSON, K.; PARNER, H.; JAKOBSEN, H. H.; MUNK, P. Distribution and production of plankton communities in the subtropical convergence zone of the Sargasso Sea. I. Phytoplankton and bacterioplankton. **Marine Ecology Progress Series**, v.426, p.57–70, 2011

RODACKI, C. L. N.; RODACKI, A. L. F.; PEREIRA, G.; NALIWAICO, K.; COELHO, I.; PEQUITO, D.; FERNANDES, L. C. Fish-oil supplementation enhances the effects of strength training in elderly women. **American Journal Clinical Nutrition**, v.95, n.2, p.428–436, 2012.

RUSTAN, A.C.; NOSSEN, J. O.; CHISTIANSEN, E. N.; DREVON, C. A. Eicosapentaenoic acid reduces hepatic synthesis and secretion of triacylglycerol by decreasing the activity of acyl-coenzyme A: 1,2-diacylglycerol acyl transferase. **Journal of Lipid Research**. v.29, p.1417-1426, 1988.

SAN GIOVANNI, J. P; CHEW, E. Y. The role of omega-3 long-chain polyunsaturated fatty acids in healthand disease of the retina. **Progress in Retinal and Eye Research** 24:87–138, 2005.

SCHUBERT, N.; GARCÍA-MENDOZA, E. Photoinhibition in red algal species with different carotenoid profiles. **Journal Phycology**, v.44, 1437–1446, 2008.

SCOTT, S. A.; DAVEY, P. M.; DENNIS, J. S.; HORST, I.; HOWE, C. J.; LEA-SMITH, D. J.; SMITH, A. G. Biodiesel from algae: challenges and prospects. **Current Opinion in Biotechnology**, v.21, n.3, p.277–286, 2010.

SETHOM, M. M.; FARES, S.; BOUAZIZ, N.; MELKI, W.; JEMAA, R.; FEKI, M.; HECHMI, Z.; KAABACHI, N. Polyunsaturated fatty acids deficits are associated with psychotic state and negative symptom sin patients with schizophrenia.

Prostaglandins, Leukotrienes and Essential Fatty Acids, v.83, n.3, p.131–136, 2010.

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**, v.233, n.6, p.674-688, 2008.

SIRI-TARINO, P.W.; SUN, Q.; HU, F. B.; KRAUSS, R. M. Saturated fatty acids and risk of coronary heart disease:modulation by replacement nutrients. **Current Atherosclerosis Reports**, v.12, n.6, p.384–390, 2010.

SKULAS-RAY, A. C.; KRIS-ETHERTON, P. M.; HARRIS, W. S.; WEST, S. G. Effects of marine-derived omega-3 fatty acids on systemic hemodynamics at rest and during stress: a dose–response study. **Annals Behavioral Medicine**, v.44, n.3, p.301–308, 2012.

SMITH Colleen et al. **Marks' basic medical biochemistry: a clinical approach**. 3 ed. Philadelphia: Ed. Lippincott Williams & Wilkins, 2009. 1011p.

STEPHEN C. NOLD, S. C.; PANGBORN,J. B.; ZAJACK,H. A.; KENDALL, S. T.; REDISKE, R. R.; BIDDANDA, B. A. Benthic bacterial diversity in submerged sinkhole ecosystems. **Applied and Environmental Microbiology**, v.76, n.1, p. 347–351, 2010.

STEVENSON, R. J. ; BOTHWELL, M. L.; LOWE, R. L. **Algal ecology: freshwater benthic ecosystems**. San Diego, Califórnia: Elsevier, 1996. 781p.

SUGDEN, D. E.; BENTLEY, M. J.; COFAIGH, C. Ó. Geological and geomorphological insights into Antarctic ice sheet evolution. **Philosophical Transactons Royal Society: A**, v.364, p.1607–1625, 2006.

TITTEL, J.; WIEHLE, I.; WANNICKE, N.; KAMPE, H.; POERSCHMANN, J.; MEIER, J.; KAMJUNKE, N. Utilisation of terrestrial carbon by osmotrophic algae. **Aquatic Science**, v.71, p.46 – 54, 2009.

TVRZICKA, E.; KREMMYDA, L.S.; STANKOVA, B.; ZAK, A. Fatty acids as biocompounds: their role in human metabolism, health and disease – a review. Part1: classification, dietary sources and biological functions. **Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czch Repub.**, v.155, n.2, p. 117-130, 2011.

VANCE, D. E.; VANCE, J. E. **Biochemistry of lipids, lipoproteins and membranes**, 5nd. Ed. Elsevier Science, 2008, 638p.

VAN PELT, C. K.; HUANG, M. C.; TSCHANZ, C. L.; BRENNAN, J. T. An octaene fatty acid, 4,7,10,13,16,19,22,25-octacosaoctaenoic acid (28:8n–3), found in marine oils. **Journal of Lipid Research**, v.40, n.8, p.1501-1505, 1999.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. **Química Nova**, v.27, n. 1, p.139-145, 2004.

VIEIRA, F. B. O Tratado da Antártica: perspectivas territorialista e internacionalista. **Cadernos PROLAM/USP**, v.2, n.5, p. 49 – 82, 2006.

WEN, Z. Y.; CHEN, F. Heterotrophic production of eicosapentaenoic acid by microalgae. **Biotechnology Advances**, v.21, n.4, p.273–294, 2003.

WIENCKE, C.; DIECK, I. tom. Temperature requirements for growth and temperature tolerance of macroalgae endemic to the antarctic region. **Marine Ecology Progress Series**, v.54, p.189-197, 1989

WIENCKE, C.; CLAYTON, M. N. The life history of *Porphyra endiviifolium* from the South Shetland Islands, Antarctica. **Polar Biology**, v.19, 257-263, 1998.

WIENCKE, C.; CLAYTON, M. N.; GÓMEZ, I.; IKEN, K.; LÜDER, H. U.; AMSLER, C. D.; KARSTEN, U.; HANELT, D.; BISCHOF, K.; DUNTON, K. Life strategy, ecophysiology and ecology of seaweeds in polar waters. **Review Environmental Science Biotechnology**, v.6, n. 1-3, p.95–126, 2007.

YE, Y.; COCHRANE, K.; BIANCHI, G.; WILLMANN, R.; MAJKOWSK, J.; TANDSTAD, M.; CAROCCI, F. Rebuilding global fisheries: the World Summit Goal, costs and benefits. **Fish and Fisheries** [on line version], p.1-12, 2012.

YOON, H. S.; MÜLLER, K. M.; SHEATH, R.G.; OTT, F. D.; BHATTACHARYA, D. Defining the major lineages of red algae (Rhodophyta), **Journal Phycology**, v.42, p.482-492, 2006.

YUAN, J.; AKIYAMAA, M.; NAKAHAMAA, K.; SATO, T.; UEMATSUB, H.; MORITA, I. The effects of polyunsaturated fatty acids and their metabolites on osteoclastogenesis in vitro. **Prostaglandins & other Lipid Mediators**, v.92, n.1-4, p.85–90, 2010.

ZACHER, K.; ROLEDA, M. Y.; WULFF, A.; HANELT, D.; WIENCKE, C. Responses of Antarctic *Iridaea cordata* (Rhodophyta) tetraspores exposed to ultraviolet radiation. **Phycological Research**, v.57, p.186–193, 2009.

ZIELINSKI, K. Benthic macroalgae of Admiralty Bay (King George Island, South Shetland Islands) and circulation of algal matter between the water and the shore. **Polish Polar Research**, v.2, n.3-4, p.71-94, 1981.

ZIELINSKI, K. Bottom macroalgae of the Admiralty Bay (King George Island, South Shetlands, Antarctica). **Polish Polar Research**, v.11, n.1-2, p.95-131, 1990.

APÊNDICES

APÊNDICE A

Cromatogramas de *Iridaea cordata*, *Palmaria decipiens*, *Plocamium cartilagineum* ,
Pyropia endiviifolia

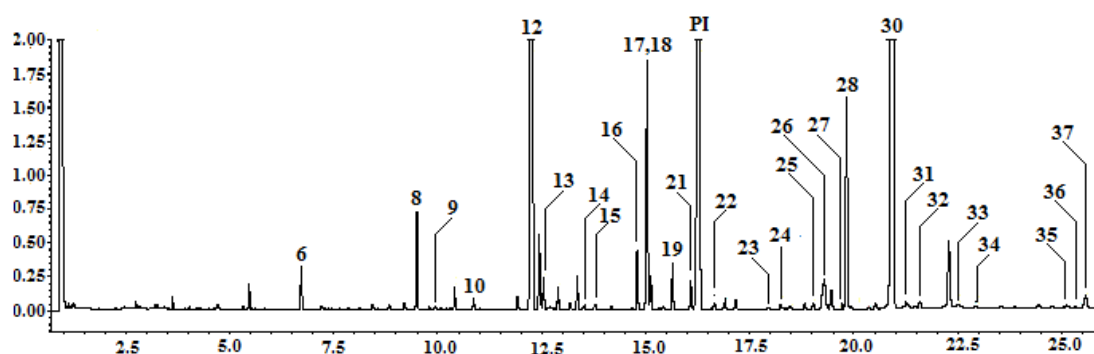


Figura – Cromatograma da espécie *I. cordata*. A numeração indica: 6 (C12:0); 8 (C14:0); 9 (C14:1*n*-5); 10 (C15:0); 12 (C16:0); 13 (C16:1*n*-7); 14 (C17:0); 15 (C17:1*n*-7); 16 (C18:0); 17 (C18:1*n*-9c); 18 (C18:1*n*-9t); 19 (C18:2*n*-6c); 21 (C18:3*n*-6); PI (C19:0 - padrão interno); 22 (C18:3*n*-3); 23 (C20:0); 24 (C20:1*n*-9); 25 (C20:2*n*-6); 26 (C20:3*n*-6); 27 (21:0); 28 (C20:4*n*-6); 29 (C20:3*n*-3); 30 (C20:5*n*-3); 31 (C22:0); 32 (C22:1*n*-9); 33 (C22:2*n*-6); 34 (C23:0); 35 (C24:0); 36 (C22:6*n*-3); 37 (C24:1*n*-9).

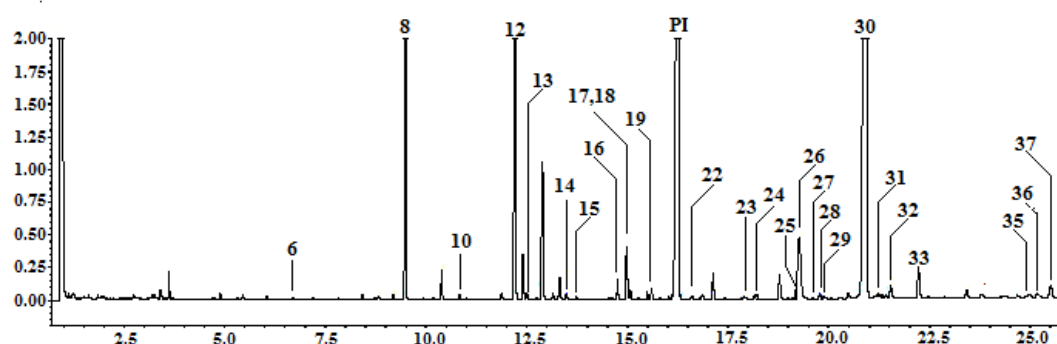


Figura – Cromatograma da espécie *P. decipiens*. A numeração indica: 6 (C12:0); 8 (C14:0); 9 (C14:1*n*-5); 10 (C15:0); 12 (C16:0); 13 (C16:1*n*-7); 14 (C17:0); 15 (C17:1*n*-7); 16 (C18:0); 17 (C18:1*n*-9c); 18 (C18:1*n*-9t); 19 (C18:2*n*-6c); 21 (C18:3*n*-6); PI (C19:0 - padrão interno); 22 (C18:3*n*-3); 23 (C20:0); 24 (C20:1*n*-9); 25 (C20:2*n*-6); 26 (C20:3*n*-6); 27 (21:0); 28 (C20:4*n*-6); 29 (C20:3*n*-3); 30 (C20:5*n*-3); 31 (C22:0); 32 (C22:1*n*-9); 33 (C22:2*n*-6); 35 (C24:0); 36 (C22:6*n*-3); 37 (C24:1*n*-9).

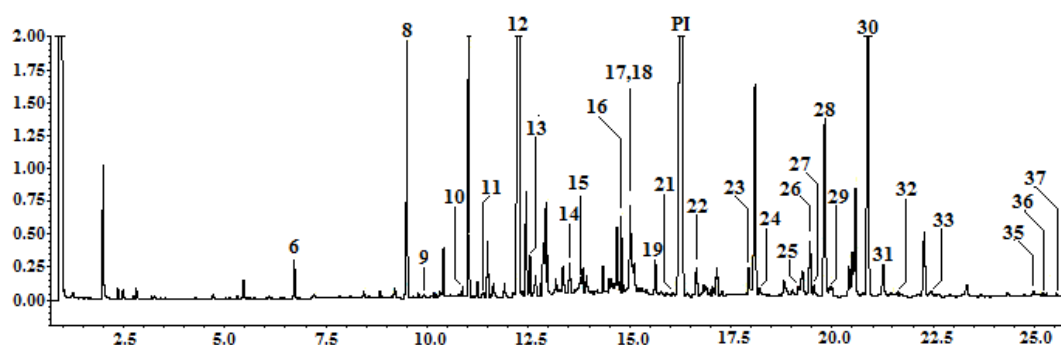


Figura – Cromatograma da espécie *P. cartilagineum*. A numeração indica: 6 (C12:0); 8 (C14:0); 9 (C14:1*n*-5); 10 (C15:0); 11 (C15:1*n*-5); 12 (C16:0); 13 (C16:1*n*-7); 14 (C17:0); 15 (C17:1*n*-7); 16 (C18:0); 17 (C18:1*n*-9*c*); 18 (C18:1*n*-9*t*); 19 (C18:2*n*-6*c*); 21 (C18:3*n*-6); PI (C19:0 - padrão interno); 22 (C18:3*n*-3); 23 (C20:0); 24 (C20:1*n*-9); 25 (C20:2*n*-6); 26 (C20:3*n*-6); 27 (C21:0); 28 (C20:4*n*-6); 29 (C20:3*n*-3); 30 (C20:5*n*-3); 31 (C22:0); 32 (C22:1*n*-9); 33 (C22:2*n*-6); 35 (C24:0); 36 (C22:6*n*-3); 37 (C24:1*n*-9).

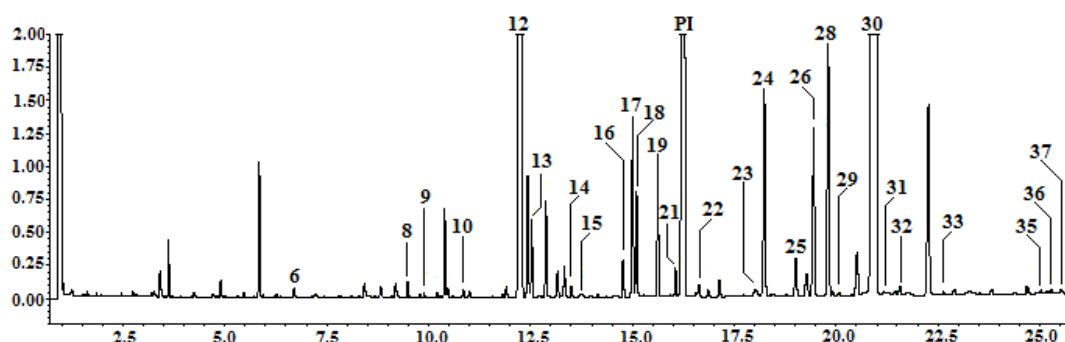


Figura – Cromatograma da espécie *P. endiviifolia*. A numeração indica: 6 (C12:0); 8 (C14:0); 9 (C14:1*n*-5); 10 (C15:0); 12 (C16:0); 13 (C16:1*n*-7); 14 (C17:0); 15 (C17:1*n*-7); 16 (C18:0); 17 (C18:1*n*-9*c*); 18 (C18:1*n*-9*t*); 19 (C18:2*n*-6*c*); 21 (C18:3*n*-6); PI (C19:0 - padrão interno); 22 (C18:3*n*-3); 23 (C20:0); 24 (C20:1*n*-9); 25 (C20:2*n*-6); 26 (C20:3*n*-6); 28 (C20:4*n*-6); 29 (C20:3*n*-3); 30 (C20:5*n*-3); 31 (C22:0); 32 (C22:1*n*-9); 33 (C22:2*n*-6); 35 (C24:0); 36 (C22:6*n*-3); 37 (C24:1*n*-9).

APÊNDICE B

Espectros de massas dos ácidos graxos poliinsaturados encontrados em
Iridaea cordata, *Palmaria decipiens*, *Plocamium cartilagineum* , *Pyropia endiviifolia*

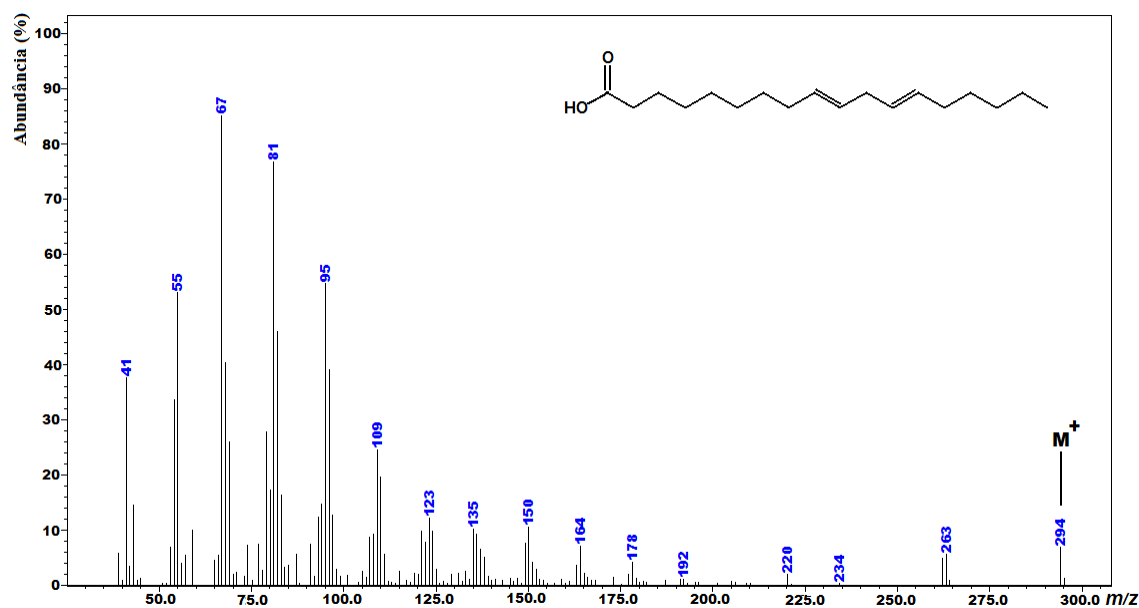


Figura – Espectro de massas do éster metílico do ácido graxo *cis,cis*- 9,12-octadecadienóico (C18:2n-6c)

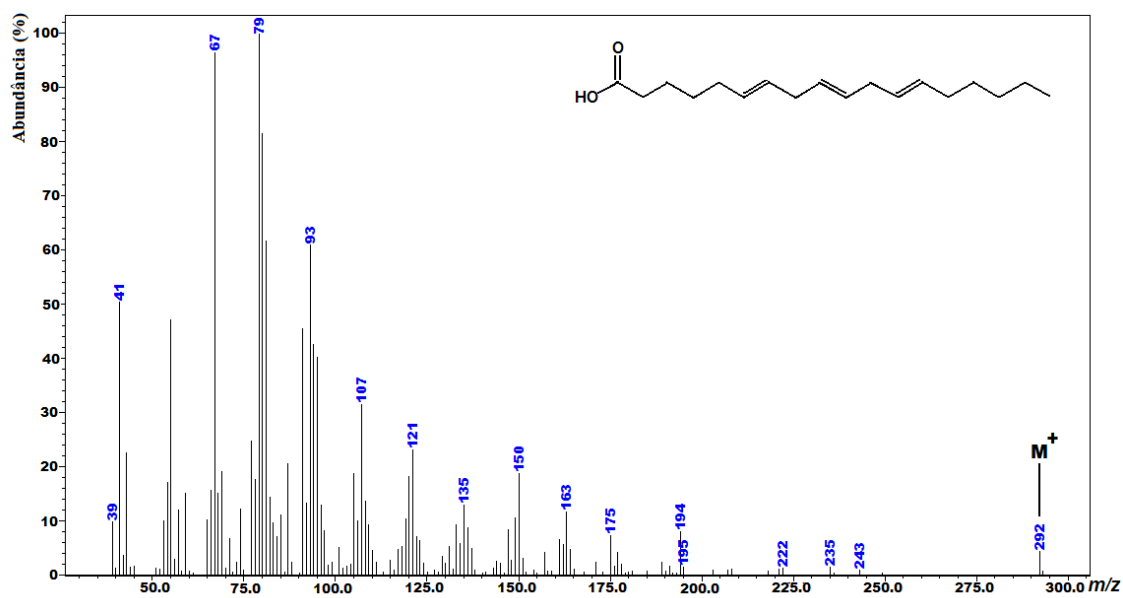


Figura – Espectro de massas do éster metílico do ácido graxo *all,cis*- 6, 9,12-octadecatrienóico (C18:3n-6)

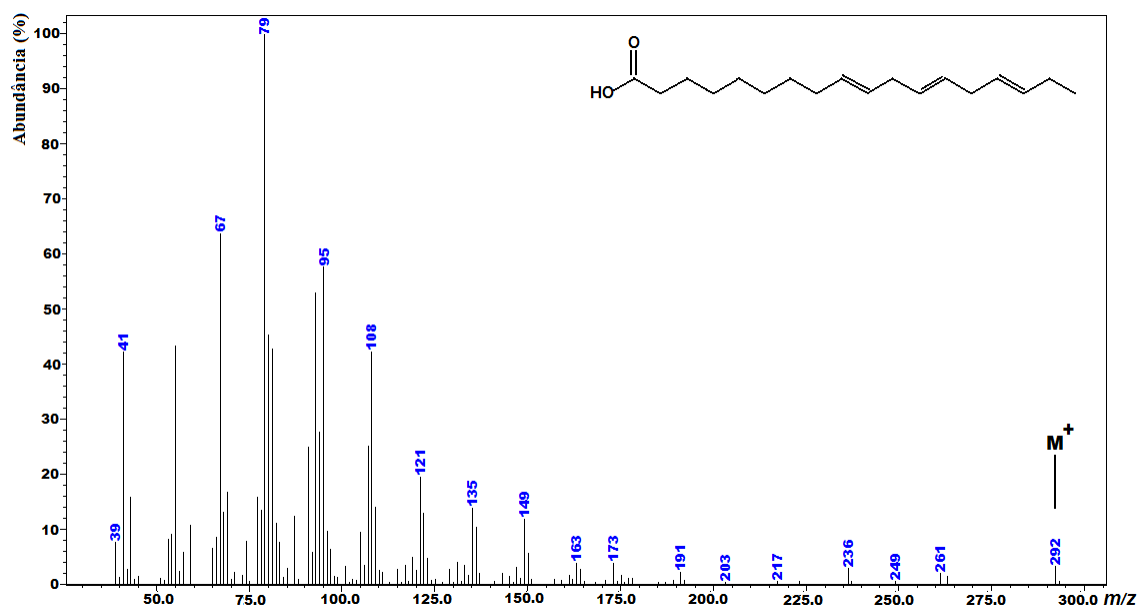


Figura – Espectro de massas do éster metílico do ácido graxo *all,cis*- 9, 12,15-octadecatrienóico (C18:3n-3)

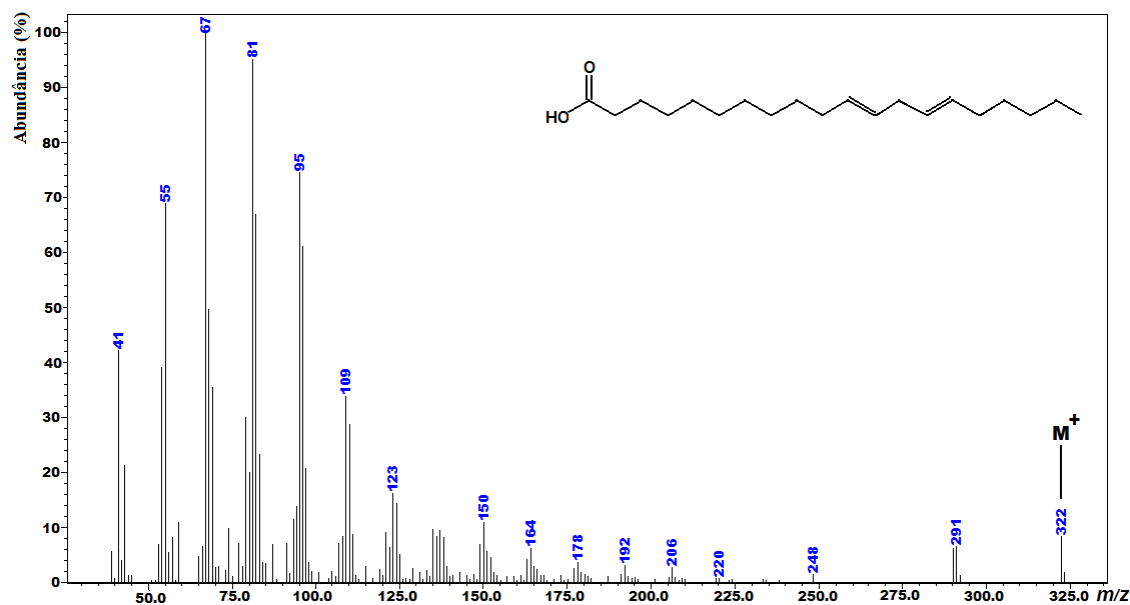


Figura – Espectro de massas do éster metílico do ácido graxo *cis,cis*- 11, 14-eicosadienóico (C20:2n-6)

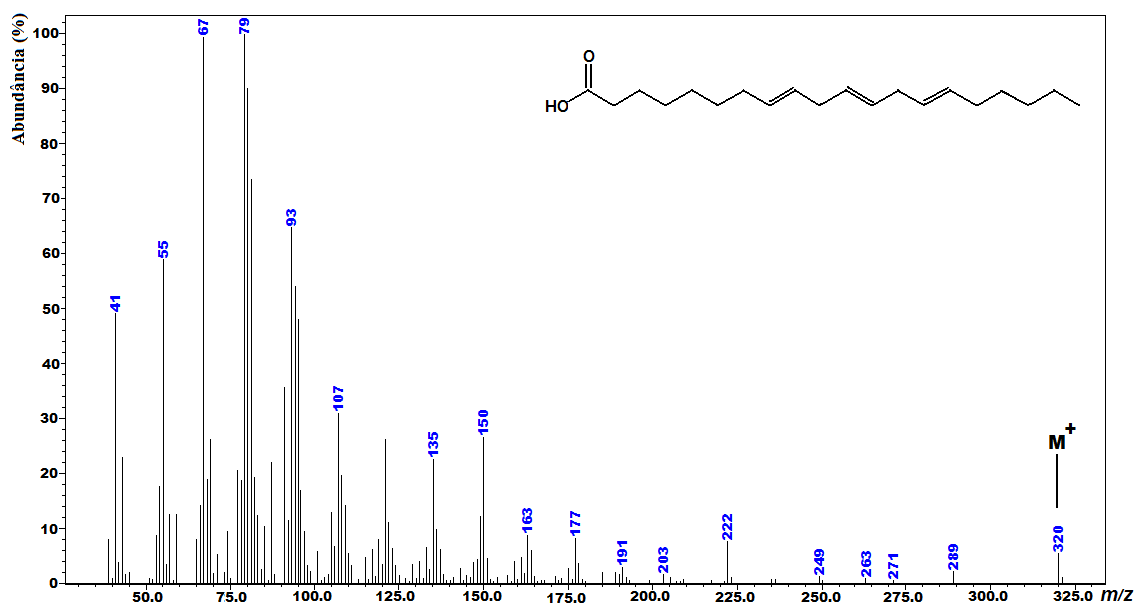


Figura – Espectro de massas do éster metílico do ácido graxo *all,cis*- 8, 11, 14-eicosatrienóico (C20:3n-6)

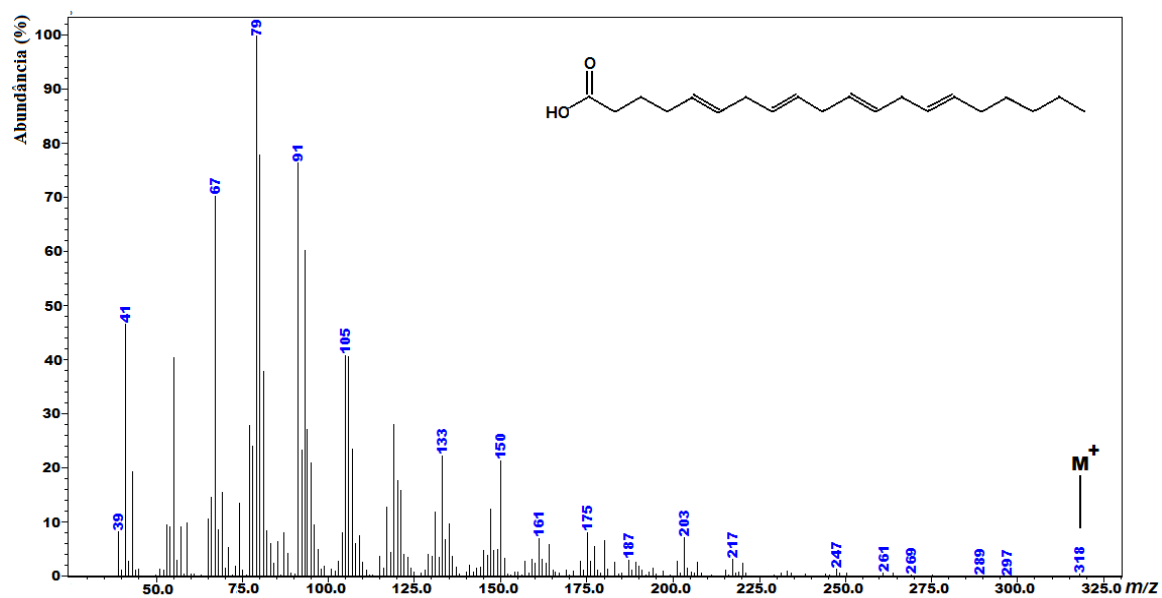


Figura – Espectro de massas do éster metílico do ácido graxo *all,cis*- 5, 8, 11, 14-eicosatetraenóico (C20:4n-6)

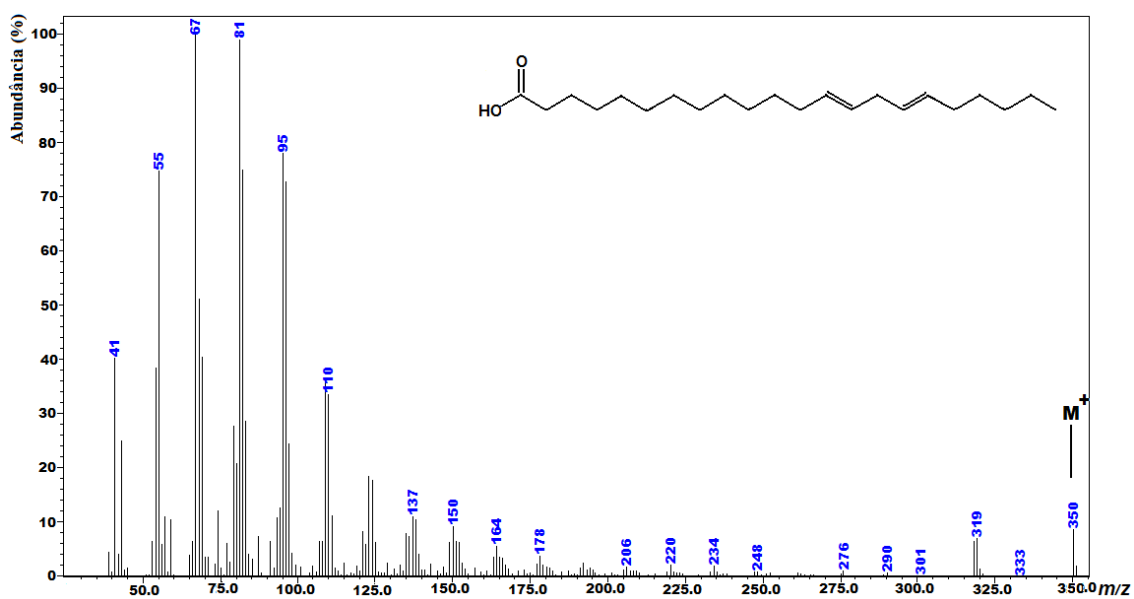


Figura – Espectro de massas do éster metílico do ácido graxo *cis,cis*- 13, 16-docosadienóico (C22:2n-6)

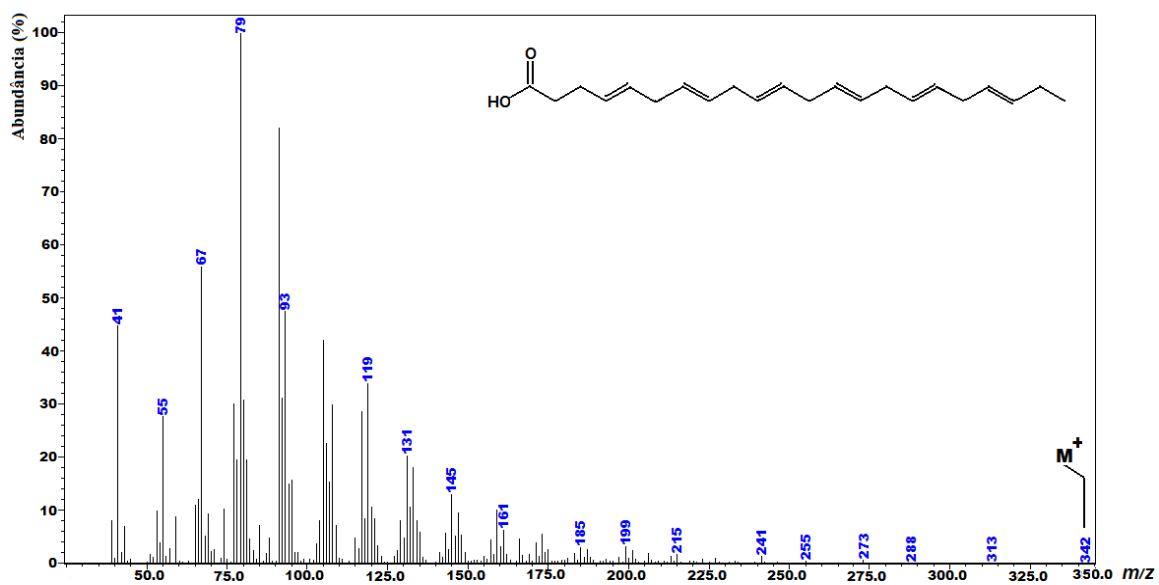


Figura – Espectro de massas do éster metílico do ácido graxo *all,cis*- 4, 7, 10, 13, 16, 19-docosahexaenóico (C22:6n-3)