

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
CURSO DE LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS



Extração e caracterização de extratos lipídicos obtidos da biomassa de *Tetrademus (Scenedesmus) obliquus* com propriedades antimicrobianas

MILLENA PATRÍCIO DO NASCIMENTO FERREIRA

RECIFE

2021

MILLENA PATRÍCIO DO NASCIMENTO FERREIRA

**Extração e caracterização de extratos lipídicos obtidos da biomassa de
Tetrademus (Scenedesmus) obliquus com propriedades antimicrobianas**

Monografia apresentada ao Curso de
Licenciatura em Ciências
Biológicas/UFRPE como requisito
parcial para obtenção do grau de
Licenciado em Ciências Biológicas.

Orientador: Raquel Pedrosa Bezerra

RECIFE

2021

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Sistema Integrado de Bibliotecas
Gerada automaticamente, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- F383e Ferreira, Millena Patrício do Nascimento
Extração e caracterização de extratos lipídicos obtidos da biomassa de *Tetrademus (Scenedesmus) obliquus* com propriedades antimicrobianas / Millena Patrício do Nascimento Ferreira. - 2021.
33 f. : il.
- Orientadora: Raquel Pedrosa Bezerra.
Inclui referências e anexo(s).
- Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal Rural de Pernambuco, , Recife, 2022.
1. microalgas. 2. chlorophyta. 3. ácidos graxos. 4. atividade antimicrobiana. I. Bezerra, Raquel Pedrosa, orient. II. Título

CDD

MILLENA PATRÍCIO DO NASCIMENTO FERREIRA

**Extração e caracterização de extratos lipídicos obtidos da biomassa de
Tetrademus (Scenedesmus) obliquus com propriedades antimicrobianas**

Comissão Avaliadora:

Prof^a Dr^a Raquel Pedrosa Bezerra – UFRPE
Orientador

Prof^a Dr^a Rebeca Gonçalves de Melo – UFPE
Titular

Prof^a Dr^a Marllyn Marques da Silva – UFRPE
Titular

Prof^a MSc^a Elaine Cristina da Silva – UFRPE
Suplente

RECIFE

2021

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais Márcia Maria do Nascimento Ferreira e Josemir Patrício de Andrade Ferreira pela criação e pelo amor que me guiou até aqui.

A Prof^a Dra. Raquel Pedrosa Bezerra e a Doutoranda Alexsandra Frazão de Andrade pelos ensinamentos e instruções necessárias para a conclusão dessa etapa importante da minha vida profissional. Devo agradecer também por todo o apoio, incentivo, disponibilidade e atenção dada ao longo de todos os meses passados no laboratório e durante a pandemia.

Ao meu companheiro Hugo Nascimento por estar comigo durante toda a graduação e em momentos que eu achei que não conseguiria, ele me fez mudar de ideia todas as vezes.

Ao meu amigo Falber Ximenes, sem ele eu não teria chegado tão longe no curso e por aguentar todas as vezes que eu fui teimosa nos trabalhos em grupo, sempre vai ser a melhor dupla que eu já tive.

Ao meu irmão Müller Patrício e a toda minha família por constituírem a base de tudo que eu sou hoje.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	10
2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
2.1 Microalgas.....	12
2.2 <i>Tetrademus obliquus</i> e suas atividades biológicas.....	12
2.3 Extração de metabólitos de microalgas.....	14
2.3.1 Extração de lipídios.....	14
2.4 Lipídios e atividade antimicrobiana.....	15
3. REFERÊNCIAS.....	17
4. Capítulo 1 – Artigo 1.....	22
1. Introdução.....	23
2. Materiais e métodos.....	24
2.1. Microalga and condições de cultivo.....	24
2.2 Processo de extração lipídica.....	24
2.3 Cromatografia gasosa.....	24
2.4 Atividade antimicrobiana.....	25
2.5 Análises estatísticas.....	25
3. Resultados e discussão.....	25
3.1 Rendimento lipídico dos extratos.....	25
3.2 Perfil de ácidos graxos.....	26
3.3 Atividade antimicrobiana.....	27
4. Conclusão.....	28
Agradecimentos.....	29
Conflitos de interesse.....	29
Referências.....	29
5. Anexos.....	31

LISTA DE FIGURAS

Fundamentação Teórica

Figura 1. Microalga *Tetrademus obliquus*.....21

Capítulo 1 – Artigo 1

Gráfico 1. Rendimento lipídico dos extratos obtidos no primeiro processo de extração (E1) e re-extração (E2).....25

LISTA DE ABREVIações E SIGLAS

µm – micrômetro

µmol – micromol

DHA – ácido docosahexaenoico

EPA – ácido eicosapentaenoico

AG – ácido graxo

FAME – éster metílico de ácido graxo

g - Grama

GC – gas chromatography

L – litro

mg – miligramas

mL – mililitro

min – minuto

OMS – Organização Mundial da Saúde

pH – Potencial Hidrogeniônico

PUFAs – ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa

RESUMO

As microalgas têm se tornado uma fonte promissora de energia renovável, além de fornecerem bioativos a partir de carboidratos, proteínas, vitaminas e lipídios. Os lipídios desempenham diversas funções biológicas e são fundamentais para a sobrevivência da maioria dos seres vivos. A extração é uma etapa importante do processo de obtenção de lipídios a partir da biomassa microalgal e pode ser realizada de diferentes formas a fim de alcançar maior rendimento e custo-benefício. Este estudo foi desenvolvido com o objetivo de realizar a extração e caracterização do extrato lipídico da biomassa de *Tetradismus obliquus* e avaliar sua propriedade antimicrobiana. A microalga foi cultivada em frascos de Erlenmeyers por 15 dias até atingir a fase estacionária de crescimento celular. A biomassa seca permaneceu em contato por 48h com solventes de diferentes polaridades: hexano, acetato de etila e etanol P.A. Posteriormente, a partir dos extratos foi determinado o rendimento de lipídios e o perfil dos ácidos graxos por cromatografia gasosa. Os extratos de hexano (EHT), acetato de etila (EAT) e etanol (EET) foram submetidos a atividade antimicrobiana nas concentrações de 100, 50, 25, 12,5, 6,25 e 3,12 mg/mL frente às bactérias *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. O solvente acetato de etila obteve o maior rendimento em lipídios com 5.05±0.01% na primeira extração, enquanto o EHT obteve 3.50±0% e o EET rendeu 1.30±0%. Em uma segunda extração o EAT teve resultado superior em rendimento com 11.1±0% e o EET conseguiu atingir 4.40±0.01%, apresentando melhor resultado na reextração. Os ácidos graxos essenciais mais presentes nos extratos foram o ácido palmítico (18.7% a 20.6%), α-linolênico (15,4% a 19,9%) e ácido oleico (5,74% a 8,93%), sendo estes mais presentes no extrato EHT e EAT. O EAT conseguiu atingir melhor resultado inibindo o crescimento de todas as bactérias até a menor concentração. EHT teve resultado positivo até a concentração de 6,25 mg/mL e o EET apenas conseguiu inibir totalmente o crescimento da bactéria *E.coli* na concentração de 100 mg/mL. Até o momento, pode-se concluir que o solvente acetato de etila é mais adequado para extração de lipídios de *T. obliquus* com atividade antimicrobiana contra *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*.

Palavras-chave: microalgas, chlorophyta, ácidos graxos, atividade antimicrobiana.

ABSTRACT

Microalgae have become a source promising renewable energy, in addition it provides bioactive substances such as carbohydrates, proteins, vitamins and lipids. Lipids perform several biological functions and are fundamental to the survival of most living beings. Extraction is an important step in the process of obtaining lipids from microalgal biomass and can be performed in different ways in order to achieve greater yield and cost-benefit. This study performed the extraction and characterization of the lipid extract from the biomass of *Tetrademus obliquus* and evaluated its antimicrobial property. Microalgae was cultivated in Erlenmeyers flasks for 15 days until it reached the stationary phase of cell growth. The dry biomass remained in contact with the solvents hexane, ethyl acetate and ethanol P.A, all with different polarities, for 48 hours in which the lipid yield and the fatty acid profile were determined by gas chromatography. Extracts of hexane (EHT), ethyl acetate (EAT) and ethanol (EET) were subjected to antimicrobial activity at concentrations of 100, 50, 25, 12.5, 6.25 and 3.12 mg/mL against bacteria *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. EET obtained the highest lipid yield with $1.49\pm 0.01\%$ in the first extraction, while EAT obtained $1.22\pm 0.02\%$ and EHT yielded $0.52\pm 0.03\%$. In a second extraction EHT doubled the yield with $1.17\pm 0.00\%$ and EAT managed to reach $2.47\pm 0.00\%$, presenting better results with an reextraction. The essential fatty acids most present in the extracts were α -linolenic (15.4% to 19.9%) and oleic acid (5.74% to 8.93%), which are most present in the extract EHT and EAT. EAT managed to achieve better results by inhibiting the growth of all bacteria to the lowest concentration. EHT was positive until the concentration of 6.25 mg/mL and EET only managed to totally inhibit the growth of the *E.coli* bacteria at the concentration of 100 mg/mL. So far, it can be concluded that the ethyl acetate solvent is more suitable for extraction of *T. obliquus* lipids with antimicrobial activity.

Keywords: microalgae, chlorophyte, fatty acids, antimicrobial activity.

1. INTRODUÇÃO

As microalgas são microrganismos fotossintetizantes unicelulares com a capacidade de crescer em diversas condições ambientais (MEHARIYA et al., 2021). Como produtores primários, por meio da fotossíntese, as microalgas conseguem absorver fótons solares e utilizam o CO₂ atmosférico para a produção de biomassa (DANESHVAR et al., 2021). Desta forma, são importantes para a indústria nutracêutica, cosmética e farmacêutica, uma vez que são capazes de acumular carboidratos, proteínas, carotenóides, lipídios e outras biomoléculas importantes (SATHASIVAM et al., 2019).

Dentre as diversas espécies de microalgas, a *Tetrademus (Scenedesmus) obliquus* ganhou destaque industrial devido a presença de bioativos importantes em seus extratos que promovem atividades antimicrobianas, anticancerígenas, antioxidantes e cicatrizantes (MARREZ et al., 2021; AFIFY et al., 2018; HUSSEIN et al., 2019). *T. obliquus* tem alta adaptabilidade a diversos ambientes, além de uma alta acumulação de lipídios em sua biomassa (LEÓN-SAIKI et al., 2018; SHEN et al., 2020).

Os lipídios, especialmente os ácidos graxos, existem nas mais diversas formas de vida e desempenham um papel importante nos processos metabólicos e na composição da membrana celular (MARTIN et al., 2006). Os ácidos graxos podem ter efeitos benéficos contra uma variedade de doenças, incluindo doenças cardiovasculares, câncer, artrite e outras que estão relacionadas aos seus efeitos inflamatórios (LOFTSSON et al., 2016). Além disso, os ácidos graxos também são conhecidos pelas suas atividades antimicrobianas e antivirais (THORMAR, 2011). A extração dos ácidos graxos acumulados nas células das microalgas é uma das etapas mais importantes do processo de obtenção, a qual precisa ser eficiente para obter uma maior quantidade desta matéria prima (ZORN et al., 2017).

Entre os métodos de extração de lipídios destacam-se: Soxhlet, sonicação, método proposto por Bligh & Dyer e maceração. No entanto, poucos testes foram realizados para determinar o método com maior eficiência e custo-benefício representando uma oportunidade para a pesquisa definir tecnologias eficientes para a extração de óleo de microalgas (ALMEIDA, 2017).

Desta forma, o presente trabalho teve por objetivo realizar a extração com diferentes solventes e a caracterização de lipídios provenientes da biomassa da microalga *T. (Scenedesmus) obliquus*, além de analisar a atividade antimicrobiana dos extratos e determinar um método mais eficaz, que proporcione a obtenção de ácidos graxos essenciais relevantes também para a indústria farmacêutica e cosmética.

2. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1 Microalgas

As microalgas são microrganismos fotossintéticos, geralmente encontrados em ambientes marinhos e de água doce (ABU-GHOSH et al., 2021). A sua coloração é diversificada pela variedade de pigmentos fotossintéticos como clorofila, ficocianina e carotenóides que auxiliam na adaptação contra o estresse do meio ambiente (MEHARIYA et al., 2021). Sob estresse, microalgas possuem diversos mecanismos de adaptação, já que conseguem realizar modificações fisiológicas que alteram a composição da sua biomassa prolongando sua sobrevivência (YAP et al., 2021).

As microalgas possuem a capacidade de produção de oxigênio atmosférico via fotossíntese, que converte água e dióxido de carbono em biomoléculas através de energia solar. No entanto, em virtude da sua estrutura celular simplificada, a conversão da energia é mais eficiente, sendo 10 a 50 vezes superior em comparação com as plantas terrestres (BARATA, 2016). As microalgas possuem crescimento rápido e atingem alto teor de lipídios (>50% de sua biomassa), além de outras biomoléculas de alta relevância (JUNIOR et al., 2020).

Para seu desenvolvimento e divisão celular e posteriores aplicabilidades biotecnológicas, necessitam de fontes de carbono e energia para a realização da biossíntese (DANESHVAR et al., 2021). O cultivo das microalgas não requer grande área, herbicidas e pesticidas e podem ser cultivadas em água não-potável (TAN et al., 2020). A iluminação e o uso de ciclos de luz, também são capazes de influenciar as taxas de crescimento e manipular a constituição bioquímica da biomassa cultivada (SCARDOELI-TRUZZI, 2019).

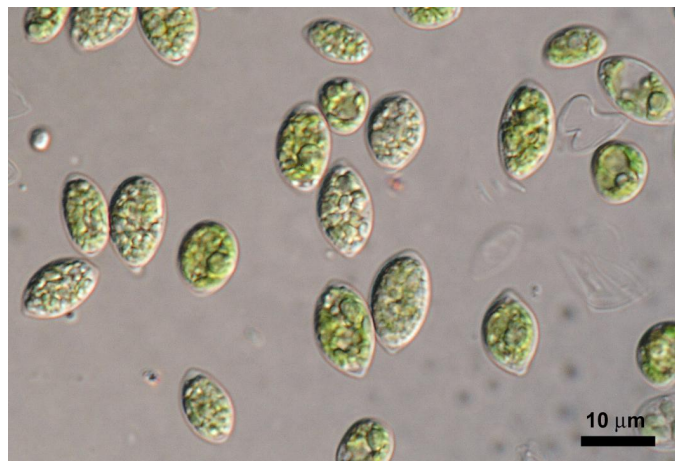
2.2 *Tetradismus obliquus* e suas atividades biológicas

Espécies classificadas como *Tetradismus* podem ser encontradas como *Acutodesmus* ou *Scenedesmus*, devido à dificuldade na identificação das espécies de microalgas e a sua plasticidade fenotípica. Além disso, o início da

identificação taxonômica de elementos da família *Scenedesmaceae* foi unicamente baseada em seus aspectos morfológicos (RIBAS, 2020).

T. obliquus (conhecida como *S. obliquus*) é uma espécie de microalga verde pertencente a classe *Chlorophyceae*, ordem *Sphaeropleales*, família *Scenedesmaceae* e gênero *Tetradesmus* que habita lagos e rios de água doce (CHRONOPOULOU et al., 2019) (GUIRY e GUIRY, 2021). São microscópicas, possuem cerca de 10 µm apresentando a formação de cenóbios, sua biomassa se apresenta como pequenos agregados de células (VIEIRA, 2019; VENÂNCIO, 2016). A parede celular de *T. obliquus* é majoritariamente composta de açúcares e ácidos graxos, apresentando reprodução assexuada na qual são liberados autósporos com a ruptura da parede celular (OLIVEIRA et al., 2021).

Figura 1. Microalga *T. obliquus*.



Fonte: Culture Collection of Autotrophic Organisms:
(<https://ccala.butbn.cas.cz/cs/node/13683>)

O gênero *Tetradesmus* sp. é conhecido pela sua facilidade de cultivo, sendo principalmente utilizado para a produção de combustíveis e biomateriais (MSANNE et al., 2020). Além de ser uma fonte de diversos metabólitos como carotenóides e carboidratos a biomassa de *Tetradesmus* sp. também tem sido utilizada para o tratamento de efluentes e águas residuais urbanas e produção de alimentos (RAMIREZ, 2013). O teor lipídico das microalgas do gênero varia entre 11% a 20% do peso da biomassa seca e pode diversificar de acordo com

o meio de cultivo utilizado, podendo atingir até 70% (FERNANDES et al., 2020).

T. obliquus é atualmente utilizada como um novo organismo modelo para várias aplicações na área da biotecnologia, incluindo produção de combustível e suplementos alimentares para ração humana e animal. Além disso, os metabólitos secundários derivados de microalgas possuem um grande potencial biológico uma vez que possuem atividades antioxidantes, antivirais, antimicrobianas, antiinflamatórias e antitumorais (AFIFY et al., 2018; MARREZ et al., 2019).

2.3 Extração de metabólitos de microalgas

As biomoléculas derivadas de microalgas geram interesse e competição entre diferentes tipos de mercados. Entre suas moléculas de elevado valor estão incluídos ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs) como ácido eicosapentaenoico (EPA) e ácido docosahexaenoico (DHA), carotenóides, como β -caroteno e astaxantina, além de ficobiliproteínas, proteínas, carboidratos e clorofilas (KAPOORE et al., 2018; AMORIM et al., 2020).

Muitas pesquisas trabalham com o objetivo de obter elevada quantidade de biomassa e alto rendimento de metabólitos das microalgas, dessa forma, é necessário utilizar métodos com custo-benefício e menor impacto ambiental para a obtenção eficiente de bioativos (LEE et al., 2020). A etapa de extração de metabólitos de microalgas é importante para torná-los economicamente atrativos e mais eficientes em relação aos compostos químicos promovendo a utilização de bioprodutos (CORRÊA et al., 2021).

2.3.1 Extração de lipídios

A extração de substâncias como ômega 3 e ômega 6 requer métodos eficientes e com custo reduzido a fim de promover uma extração adequada e facilmente reprodutível, uma vez que a metodologia de obtenção fornece os lipídios necessários para realizar as atividades biológicas (ZORN et al., 2017). Existem diversas formas de extrair lipídios, entre elas: fluido supercrítico, com Soxhlet, método de Bligh and Dyer, extração via solventes orgânicos por

sonicação ou maceração que pode ser assistida por métodos de ruptura celular como ultrassom ou microondas (VASISTHA et al., 2020). Cada metodologia possui resultados e suas vantagens e desvantagens que estão muitas vezes relacionadas com o investimento em equipamentos, solventes ou consumo de energia (JARENKOW, 2014).

Solventes orgânicos são amplamente utilizados para a extração de ácidos graxos de microalgas, no entanto, o rendimento de óleo pode variar devido ao potencial antioxidante e a polaridade dos compostos a serem extraídos (CARDOSO, 2014). O solvente penetra através da parede celular das microalgas e forma o complexo orgânico solvente-lipídico através de forças de van der Waals, ligações de hidrogênio ou forças eletrostáticas e dessa forma, os lipídios neutros são conduzidos por um gradiente de concentração para fora da célula (DAHMER, 2020). Clorofórmio, etanol, hexano e acetato de etila são solventes regularmente utilizados para a extração de lipídios provando ser um método confiável, eficiente e acessível para a extração de ácidos graxos da biomassa de microalgas (ALMEIDA, 2017).

2.4 Lipídios e atividade antimicrobiana

Lipídios, como os ácidos graxos, com atividades antimicrobianas são comumente encontrados em plantas e animais e atuam como potentes moléculas antimicrobianas capazes de inibir bactérias Gram-negativas e Gram-positivas que infectam a pele e a mucosa dos animais (BERGSSON et al., 2011). A atividade antibacteriana de cada ácido graxo é determinada de acordo com a sua estrutura, comprimento da cadeia e orientação das ligações duplas (NASCIMENTO, 2013).

A Organização Mundial da Saúde (OMS) iniciou um plano mundial em 2015 o Plano de Ação Global em Resistência a Antimicrobianos a fim de desenvolver estratégias para o enfrentamento das ameaças da resistência antimicrobiana (JINKS et al., 2016). Nos últimos dez anos, a resistência das bactérias patogênicas aos agentes antibacterianos aumentou significativamente, o que tem impacto direto nos cuidados de saúde humana. Dessa forma, o esforço para compreender de forma detalhada os mecanismos subjacentes à resistência antimicrobiana, bem como a busca por novas

substâncias antimicrobianas a partir de fontes naturais como extratos de plantas e microrganismos (AMARO et al., 2011). Os extratos lipídicos de microalgas como *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella vulgaris* e *T. obliquus* foram testados contra bactérias gram-positivas e gram-negativas e mostram atividade antibacteriana significativa contra microrganismos patogênicos (ALSENANI et al., 2020). Os ácidos graxos insaturados de cadeia longa, como o ácido linoleico e os ácidos oleicos, são bactericidas para microrganismos patogênicos importantes, tais como *Staphylococcus aureus*, *Helicobacter pylori* e *Candida albicans* (SURESH et al., 2014)

Ainda não está claro exatamente como os ácidos graxos exercem suas atividades antibacterianas, mas o alvo principal parece ser a membrana celular bacteriana e os vários processos essenciais que ocorrem dentro das células. Alguns dos efeitos prejudiciais sobre as células bacterianas podem ser atribuídos às propriedades detergentes dos lipídios devido à sua estrutura anfipática que permite a interação com a membrana celular para criar poros transitórios ou permanentes de tamanho variável. Outros processos que podem contribuir para a inibição do crescimento bacteriano incluem a lise celular, a inibição da atividade enzimática, o comprometimento da absorção de nutrientes e a geração de peroxidação tóxica (DESBOIS e SMITH, 2010).

Dessa forma, torna-se necessário o desenvolvimento de pesquisas com o objetivo de obtenção de ácidos graxos da biomassa microalgal levando em consideração suas aplicabilidades a fim de colaborar com os avanços científicos e a busca de novos agentes terapêuticos com potencial antimicrobiano.

3. REFERÊNCIAS

ABU-GHOSH, S., DUBINSKY, Z., VERDELHO, V., & ILUZ, D. Unconventional high-value products from microalgae: A review. **Bioresource Technology**, v. 329, p. 124895, 2021.

AFIFY, A. E. M. M., EL BAROTY, G. S., EL BAZ, F. K., ABD EL BAKY, H. H., & MURAD, S. A. *Scenedesmus obliquus*: Antioxidant and antiviral activity of proteins hydrolyzed by three enzymes. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, v. 16, n. 2, p. 399-408, 2018.

ALMEIDA, G. F. **Determinação do perfil de ácidos graxos produzidos por microalgas e cianobactérias da região amazônica, Macapá-AP**. 2017. 114f. Dissertação (Mestrado) – Fundação Universidade Federal do Amapá, Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas.

AMARO, H. M.; GUEDES, A. C.; MALCATA, F. X. Antimicrobial activities of microalgae: an invited review. **Science against microbial pathogens: communicating current research and technological advances**, v. 3, p. 1272-1284, 2011.

AMORIM, M. L., SOARES, J., VIEIRA, B. B., BATISTA-SILVA, W., & MARTINS, M. A. Extraction of proteins from the microalga *Scenedesmus obliquus* BR003 followed by lipid extraction of the wet deproteinized biomass using hexane and ethyl acetate. **Bioresource technology**, v. 307, p. 123190, 2020.

ALSENANI, F., TUPALLY, K. R., CHUA, E. T., ELTANAHY, E., ALSUFYANI, H., PAREKH, H. S., & SCHENK, P. M. Evaluation of microalgae and cyanobacteria as potential sources of antimicrobial compounds. **Saudi Pharmaceutical Journal**, v. 28, n. 12, p. 1834-1841, 2020.

BARATA, A. F. L. **Microalgas: produção econômica e ambientalmente sustentável**. 2016. 99f. Dissertação (Mestrado Integrado em Engenharia da Energia e do Ambiente) - Universidade de Lisboa, Lisboa.

BERGSSON, G., HILMARSSON, H., & THORMAR, H. Antibacterial, antiviral and antifungal activities of lipids. **Lipids and Essential Oils**, p. 47, 2011.

CARDOSO, W. A., DE ALMEIDA, W. B., GEREMIAS, R., PUCKOSKI, A. G., & ANGIOLETTO, E. Comparação entre métodos de extração de óleo de microalgas. **Revista de Iniciação Científica**, v. 12, n. 1, 2014.

CHRONOPOULOU, L., DAL BOSCO, C., DI CAPRIO, F., PROSINI, L., GENTILI, A., PAGNANELLI, F., & PALOCCI, C. Extraction of carotenoids and fat-soluble vitamins from *Tetradasmus Obliquus* microalgae: an optimized approach by using supercritical CO₂. **Molecules**, v. 24, n. 14, p. 2581, 2019.

CORRÊA, P. S., MORAIS JÚNIOR, W. G., MARTINS, A. A., CAETANO, N. S., & MATA, T. M. Microalgae biomolecules: Extraction, separation and purification methods. **Processes**, v. 9, n. 1, p. 10, 2021.

DAHMER, M. N., & BENITEZ, L. B. Comparação de métodos de ruptura celular e extração de lipídios de biomassa perifítica. **Revista Jovens Pesquisadores**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020.

DANESHVAR, E., OK, Y. S., TAVAKOLI, S., SARKAR, B., SHAHEEN, S. M., HONG, H; YONGKANG, LUO; JÖRG, RINKLEBE; HOCHEOL, SONG; AMIT, BHATNAGARA. Insights into upstream processing of microalgae: A review. **Bioresource Technology**, p. 124870, 2021.

DESBOIS, Andrew P.; SMITH, Valerie J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. **Applied microbiology and biotechnology**, v. 85, n. 6, p. 1629-1642, 2010.

FERNANDES, M. S. M., FRANÇA, K. B., ALVES, R. V., PEARSON, H. W., LIMA, S. A., COSTA, T. S., & GUIMARÃES, B. D. S. Avaliação do crescimento da microalga *Scenedesmus* sp. em diferentes concentrações de NaCl. **Engevista**, v. 19, n. 1, p. 185-193, 2017.

GUIRY, M.D. & GUIRY, G.M. 2021. **AlgaeBase**. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponível em: <http://www.algaebase.org>. Acesso em 20 maio, 2021.

HUSSEIN, R. A., SALAMA, A. A., EL NAGGAR, M. E., & ALI, G. H. Medicinal impact of microalgae collected from high rate algal ponds; phytochemical and pharmacological studies of microalgae and its application in medicated bandages. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, v. 20, p. 101237, 2019.

JARENKOW, A. **Estudo da produção e extração de lipídeos na microalga *Chlorella* sp.** 2014. 79f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química. Universidade Federal do Rio grande do Sul, Porto Alegre.

JINKS, T., LEE, N., SHARLAND, M., REX, J., GERTLER, N., DIVER, M., JONES, I.; JONES, K.; MATHEWSON, S.; CHIARA, F., FARRAR, J. A time for action: antimicrobial resistance needs global response. **Bulletin of the World Health Organization**, v. 94, n. 8, p. 558, 2016.

JUNIOR, W. G. M., GORGICH, M., CORRÊA, P. S., MARTINS, A. A., MATA, T. M., & CAETANO, N. S. Microalgae for biotechnological applications: Cultivation, harvesting and biomass processing. **Aquaculture**, v. 528, p. 735562, 2020.

KAPOORE, R. V., BUTLER, T. O., PANDHAL, J., & VAIDYANATHAN, S. Microwave-assisted extraction for microalgae: from biofuels to biorefinery. **Biology**, v. 7, n. 1, p. 18, 2018.

LEE, S. Y., KHOIROH, I., VO, D. V. N., KUMAR, P. S., & SHOW, P. L. Techniques of lipid extraction from microalgae for biofuel production: a review. **Environmental Chemistry Letters**, p. 1-21, 2020.

- LEÓN-SAIKI, G. M., LEDO, N. F., LAO-MARTIL, D., VAN DER VEEN, D., WIJFFELS, R. H., & MARTENS, D. E. Metabolic modelling and energy parameter estimation of *Tetradismus obliquus*. **Algal research**, v. 35, p. 378-387, 2018.
- LOFTSSON, T., ILIEVSKA, B., ASGRIMSDOTTIR, G. M., ORMARSSON, O. T., & STEFANSSON, E. Fatty acids from marine lipids: Biological activity, formulation and stability. **Journal of drug delivery science and technology**, v. 34, p. 71-75, 2016.
- MARINHO-SORIANO, E.; PINTO, E.; YOKOYA, N.S.; et al. Avanços na Pesquisa de bioativos de algas. *Revista Brasileira de Farmacognosia*, v. 21, n. 2, 2011.
- MARREZ, D. A., NAGUIB, M. M. SULTAN, Y. Y., & HIGAZY, A. M. Antimicrobial and anticancer activities of *Scenedesmus obliquus* metabolites. **Heliyon**, v. 5, n. 3, 2019.
- MARTIN, C. A., ALMEIDA, V. V. D., RUIZ, M. R. VISENTAINER, J. E. L., MATSHUSHITA, M., SOUZA, N. E. D., & VISENTAINER, J. V. Ácidos graxos poliinsaturados ômega-3 e ômega-6: importância e ocorrência em alimentos. **Revista de Nutrição**, v. 19, p. 761-770, 2006.
- MEHARIYA, S., GOSWAMI, R. K., KARTHIKEYSAN, O. P., & VERMA, P. Microalgae for high-value products: A way towards green nutraceutical and pharmaceutical compounds. **Chemosphere**, v. 280, p. 130553, 2021.
- MSANNE, J., POLLE, J., & STARKENBURG, S. An assessment of heterotrophy and mixotrophy in *Scenedesmus* and its utilization in wastewater treatment. **Algal Research**, v. 48, p. 101911, 2020.
- NASCIMENTO, R. S. **Ácidos graxos e óleo essencial de sementes de *Syagrus coronata* (Mart.) Becc.(Arecaceae): composição química e atividade anti-*Staphylococcus aureus***. 2013. 78f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- OLIVEIRA, C. Y. B., OLIVEIRA, C. D. L., PRASAD, R., ONG, H. C., ARAUJO, E. S., SHABNAM, N., & GÁLVEZ, A. O. A multidisciplinary review of *Tetradismus obliquus*: a microalga suitable for large-scale biomass production and emerging environmental applications. **Reviews in Aquaculture**, v. 13, p. 1594-1618. 2021.
- RAMIREZ, N. N. V. **Estudo do crescimento da microalga *Scenedesmus* sp. em vinhaça**. 2013. 87f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.
- RIBAS, P. G. **Taxonomia de *Tetradismus* sp. Isolado no Paraná e composição da sua biomassa em diferentes concentrações de nutrientes**.

2020. 68f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós Graduação em Genética, Setor de Ciências Biológicas - Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

SATHASIVAM, R., RADHAKRISHNAN, R., HASHEM, A., & ABD_ALLAH, E. F. Microalgae metabolites: A rich source for food and medicine. **Saudi journal of biological sciences**, v. 26, n. 4, p. 709-722, 2019.

SCARDOELI-TRUZZI, B. **Otimização do cultivo da microalga *Haematococcus pluvialis* em sistema mixotrófico e potencial uso na alimentação do camarão *Macrobrachium amazonicum***. 2019. 127f. Tese (Doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias, Jaboticabal.

SHEN, X. F., GAO, L. J., ZHOU, S. B., HUANG, J. L., WU, C. Z., QIN, Q. W., & ZENG, R. J. High fatty acid productivity from *Scenedesmus obliquus* in heterotrophic cultivation with glucose and soybean processing wastewater via nitrogen and phosphorus regulation. **Science of the Total Environment**, v. 708, p. 134596, 2020.

SURESH, A., PRAVEENKUMAR, R., THANGARAJ, R., OSCAR, F. L., BALDEV, E., DHANASEKARAN, D., & THAJUDDIN, N. Microalgal fatty acid methyl ester a new source of bioactive compounds with antimicrobial activity. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease**, v. 4, p. S979-S984, 2014.

TAN, J. S., LEE, S. Y., CHEW, K. W., LAM, M. K., LIM, J. W., HO, S. H., & SHOW, P. L. A review on microalgae cultivation and harvesting, and their biomass extraction processing using ionic liquids. **Bioengineered**, v. 11, n. 1, p. 116-129, 2020.

THORMAR, H (Ed.). **Lipids and essential oils as antimicrobial agents**. 2010.

VASISTHA, S., KHANRA, A., CLIFFORD, M., & RAI, M. P. Current advances in microalgae harvesting and lipid extraction processes for improved biodiesel production: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 137, p. 110498, 2020.

VENÂNCIO, H. C. **Produção da microalga *Scenedesmus obliquus* em um sistema laminar de cultivo de algas**. 2016. 69f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências Agrárias, Florianópolis.

VIEIRA, B. B. **Indicadores de rompimento mecânico de células visando a extração de biocompostos de *Scenedesmus obliquus***. 2019. 169f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.

YAP, J. K., SANKARAN, R., CHEW, K. W., HS, H. M., HO, S. H., & SHOW, P. L. Advancement of green technologies: A comprehensive review on the potential application of microalgae biomass. **Chemosphere**, v. 281, 2021.

ZORN, S. M. F. E., PEDRO, G. A., AMARAL, M. S., LOURES, C. C. A., & SILVA, M. B. Avaliação Dos Fatores Envolvidos Na Extração De Lipídios Da

Biomassa Da Microalga *Chlorella minutissima* Via Solventes. **Holos**, v. 2, p. 66-78, 2017.

Capítulo 1 – Artigo 1

Artigo a ser enviado para a revista *Acta Scientiarum: Biological Sciences*

Fator de impacto 0.633 e classificação Qualis Q3

Extração de ácidos graxos de *Tetrademus obliquus*

Millena Patrício do Nascimento Ferreira¹ ; Alexsandra Frazão de Andrade¹ ;
Jorge Vinícius Fernandes Lima Cavalcanti²; Ana Lúcia Figueiredo Porto¹,
Raquel Pedrosa Bezerra^{1*};

Departamento de Morfologia e Fisiologia Animal, Universidade Federal Rural
de Pernambuco (UFRPE), 52171-900 Recife, PE, Brazil¹

Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal de Pernambuco
(UFPE), Recife 50670-901, Brazil² *Autor correspondente.

Tel: +55.81.3320-6345 Fax: +55.81.3320-6345

E-mail: raquel.pbezerra@ufrpe.br

Resumo

As microalgas são microrganismos unicelulares ricos em compostos bioativos, como ácidos graxos, com forte potencial terapêutico, incluindo atividades antioxidantes e antibacterianas. No entanto, a extração de ácidos graxos é um passo importante para a obtenção de lipídios de microalgas, a fim de obter o melhor método com maior eficácia e custo benefício. Este trabalho teve como objetivo realizar a extração e caracterização do extrato lipídico da biomassa de *Tetrademus obliquus* e avaliar sua propriedade antimicrobiana. A biomassa seca das microalgas permaneceu em contato com os três solventes (hexano, acetato de etila e etanol P.A) durante 48 horas nas quais o rendimento lipídico e o perfil de ácidos graxos foram determinados por cromatografia gasosa. Os extratos foram submetidos à atividade antimicrobiana em diferentes concentrações contra as bactérias *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Escherichia coli*. O extrato de acetato de etila apresenta maior rendimento em óleo e maior atividade antimicrobiana, sendo considerado como o melhor solvente para a extração de lipídios.

Palavras-chave: microalgas, ácidos graxos, atividade antimicrobiana

1. Introdução

As microalgas são microrganismos fotossintéticos unicelulares que usam energia da luz e dióxido de carbono (CO₂) para produzir componentes altamente valiosos, como proteínas, carboidratos e lipídios, com amplas aplicações como ração animal, bio-fertilizantes, nutracêuticos e bio-óleo (Mathimani et al., 2019) (Katiyar; Arora, 2020). *Tetrademus (Scenedesmus) obliquus* é uma microalga verde caracterizada por sua capacidade de se adaptar a diversas condições ambientais e seus extratos contêm uma rica quantidade de bioativos e provaram ter um efeito notável em uma grande quantidade de indústrias e potencial biológico em atividades antivirais e antibacterianas (Ishaq et al., 2016; Afify et al., 2018).

Ácidos graxos, encontrados em plantas e animais atuam como potentes moléculas antimicrobianas capazes de inibir bactérias gram-negativas e

gram-positivas que infectam a pele e as membranas mucosas dos animais (Bergsson et al., 2011). A etapa de extração é essencial para alcançar alta eficiência na obtenção de ácidos graxos adequados às suas aplicações. Pesquisas recentes estudam a obtenção de uma alta quantidade de biomassa e alto rendimento de metabólitos de microalgas, portanto, é necessário usar métodos com custo-benefício e menor impacto ambiental para obter bioativos (Lee et al., 2020). Diferentes métodos são atualmente usados como método Soxhlet, Bligh e Dyer, extração via solventes orgânicos por sonicação ou maceração, cada metodologia possuindo suas vantagens e desvantagens que muitas vezes estão relacionadas a equipamentos, solventes ou consumo de energia (Vasistha et al., 2020).

Portanto, para colaborar com os avanços científicos e a busca por novos agentes antimicrobianos, o objetivo deste estudo foi realizar a extração com diferentes solventes e a caracterização de lipídios a partir da biomassa de microalgas *T. obliquus*, além de analisar a atividade antimicrobiana dos extratos determinando um método eficaz que forneça ácidos graxos essenciais relevantes também para a indústria farmacêutica e cosmética.

2. Materiais e métodos

2.1 Microalga e condições de cultivo

A microalga de água doce *T. obliquus* (Sisgen A5F5402) foi previamente isolada do Açude de Apipucos (Recife, Pernambuco, Brasil, coordenadas 8° 1' 13.08" S; 34° 55' 56.51" W). As microalgas foram inoculadas em frascos Erlenmeyer de 1 L contendo 400 mL de meio BG-11 (Stanier et al., 1971) com concentração inicial de biomassa de 50 mg L⁻¹, temperatura de 27±1 °C, intensidade luminosa de 52 ± 5 μmol fótons m⁻²s⁻¹, pH 7,2, sob aeração constante de CO₂. Após atingir a fase estacionária de crescimento, a biomassa foi coletada, seca e armazenada a 4°C para posterior extração.

2.2 Processo de extração lipídica

A biomassa seca e cada solvente orgânico (hexano, acetato de etila e etanol) foram misturados na proporção 1:10 (m/v). e permaneceu em contato por 48h e depois foi filtrado para separar o sobrenadante (Almeida et al., 2018). Os lipídios em sobrenadante seguiram para o rotaevaporador para eliminação completa do solvente. Os extratos foram identificados como EHT (extrato de hexano de *T. obliquus*), EAT (extrato de acetato de etila de *T. obliquus*) e EET (extrato de etanol de *T. obliquus*). Após o primeiro processo de extração (E1), a biomassa residual foi resgatada e submetida a uma re-extração (E2) utilizando o método empregado anteriormente. O conteúdo obtido foi utilizado para determinar o rendimento lipídico.

2.3 Cromatografia gasosa

Inicialmente, os extratos celulares foram convertidos em éster metílico de ácidos graxos (FAME) através da esterificação de acordo com Hartman (1973). A composição dos fames foi analisada utilizando-se um cromatógrafo a gás HP 5890 (GC) e uma coluna capilar (Carbowax 20M, 60m x 0,25mm) acoplada a um detector de ionização de chama (GC-FID). As temperaturas do

injetor e do detector foram fixadas em 200°C e a temperatura do forno foi mantida em 180 ° C. O hidrogênio foi usado como gás transportador em uma taxa de fluxo constante de 2 mL/min com uma razão de divisão de 1:20. Uma mistura de fábulas foi usada como um padrão externo.

2.4 Atividade antimicrobiana

Os ensaios antibacterianos de extratos de microalgas foram conduzidos utilizando concentração inibitória mínima (CIM) através do teste de microdiluição em caldo descrito pelo Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI 2017). As cepas bacterianas utilizadas foram *Staphylococcus aureus* UFPEDA700, *Klebsiella pneumoniae* UFPEDA1019B e *Escherichia coli* ATCC25922, todas cultivadas em 4 mL de caldo de Mueller-Hinton em incubadora bacteriológica por 18h a 37°C. Cada cepa bacteriana foi inoculada a 1×10^8 CFU mL⁻¹. As concentrações dos extratos celulares foram 100 mg/ml, 50 mg/ml, 25 mg/ml, 12,5 mg/ml, 6,25 mg/ml e 3,12 mg/ml. Após 24h de incubação a 37 °C, a absorbância a 600 nm foi utilizada para determinar o crescimento microbiano.

2.5 Análises estatísticas

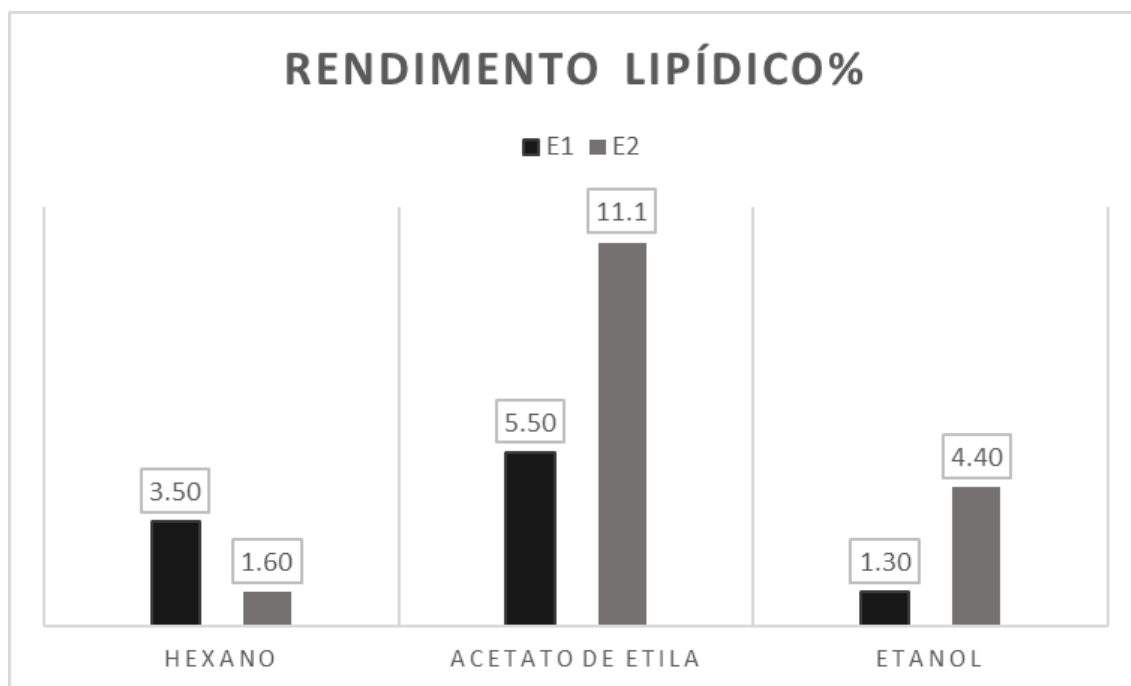
Todos os valores experimentais foram realizados em triplicata e apresentados como média DP. Os dados foram analisados por meio de ANOVA seguido do teste de Tukey (p<0,05), utilizando o software Statistic 8.0.

3. Resultados e discussão

3.1 Rendimento lipídico dos extratos

A extração lipídica da biomassa seca de *T. obliquus* submetida a três diferentes solventes resultou em diferentes rendimentos lipídicos, conforme mostrado na Tabela 1. Os resultados mostraram que o solvente acetato de etila produziu maior quantidade de lipídios durante a primeira extração (E1) obtendo um rendimento de 5,05%. O uso de hexano resultou em rendimento de 3,5% e etanol de 1,3%. No processo de re-extração (E2), EAT e EET renderam 11,1% e 4,4%, valores superiores à primeira extração.

Gráfico 1 - Rendimento lipídico dos extratos obtidos no primeiro processo de extração (E1) e re-extração (E2).



E1: Primeiro processo de extração; E2: Re-extração.

Solventes orgânicos como hexano, etanol e acetato de etila atuam desintegrando componentes da membrana celular hidrofóbica e, conseqüentemente, extraíndo os lipídios de armazenamento (Nagappan et al., 2019). Além disso, a eficácia da extração lipídica de microalgas é reforçada com a quantidade e o grau de ruptura da parede celular quando os lipídios intracelulares são liberados no meio (Halim et al., 2012). Neste estudo, ao promover a extração do resíduo de biomassa, as paredes celulares das microalgas foram danificadas e tornaram-se suscetíveis ao processo de extração forçando a exposição de lipídios intracelulares.

Ryckebosch et al. (2012) submetem 100 mg da biomassa liofilizada de *T. obliquus* ao clorofórmio-metanol 1:1, seguida de centrifugação a 2.000 rpm por 10 min. Foi realizada uma segunda extração com adição do mesmo solvente. Em relação ao rendimento lipídico, obtiveram em torno de 23,6% de rendimento na primeira extração e em torno de 6,1% na segunda, comprovando que ainda é possível obter conteúdo lipídico após uma segunda extração devido à sensibilização das células.

3.2 Perfil de ácidos graxos

Os teores de ácidos graxos (AG) de cada extrato lipídico estão resumidos na Tabela 2 e os picos de GC estão descritos nas Figuras 1, 2 e 3. Os FAMES foram separados e identificados de acordo com os padrões de tempo de retenção da cromatografia gasosa. Os percentuais de AG foram dados por meio de uma proporção entre as áreas de cada pico e a área total.

O perfil de AG foi dominado pelo ácido palmítico (C16:0) que apresentou a maior concentração entre todos os ácidos graxos variando de 18,7% a 20,6%. Além disso, o α -linolênico, mais conhecido como ácido ômega 3, está

presente em todos os três extratos em quantidades significativas (C18:3; 15,4% a 19,9%). Outros AG também foram encontrados, como D (16,5% a 21,3%), oleico (C:18:1; 5,74% a 8,93%), láurico (C12:0; 3,28 a 3,07), esteárico (C18:0; 1,82% a 2,33%), palmitoleico (C18:1%) e ácido linoleico (1,1,1%).

O extrato de hexano apresentou uma quantidade substancial de ácido α -linolênico (19,91%) e ácido palmítico (20,49%). Também contém ácido oleico (5,47%), ácido linoleico (1,21%) e maior concentração de G entre os outros solventes (10,52%). O extrato de acetato de etila apresentou maiores quantidades de ácido α -linolênico (19,93%), ácido palmítico (20,67%) e ácido linoleico (1,46%). O extrato etanólico obteve ácido palmítico (18,79%), ácido α -linolênico (15,24%), menor concentração de ácido linoleico entre todos (0,86%) e maior concentração de ácido oleico que outros extratos (8,93%), bem como D (21,03%).

Esses resultados corroboram com Ismagulova et al. (2017), quando cultivaram a microalga *T. obliquus* em dois meios distintos, BG-11 completo e BG-11 livre de nitrogênio. O extrato foi obtido da mistura de clorofórmio e metanol como solventes e os ácidos graxos predominantes nas condições experimentais foram o ácido palmítico, oleico e o ácido α -linolênico. A cultura livre de nitrogênio alterou o perfil de ácidos graxos devido ao aumento da saturação (C16:0), monoinsaturação (C18:1) e declínio de AG polinsaturados, principalmente α -linolênico.

Em uma caracterização, também com *T. obliquus*, Nadzir et al. (2019) extraíram seu óleo usando clorofórmio e metanol e construíram um perfil em que o ácido linoleico representava mais de 49,47% do extrato total, seguido pelo ácido palmítico (37,91%) e ácido linolênico (12,75%). As análises com a metodologia da superfície de resposta (RSM) mostraram que fatores como a intensidade da luz interferem no rendimento de biomassa e no seu teor lipídico. Os resultados mostraram que *T. obliquus* é promissora como matéria-prima para a produção de biocombustíveis.

Jia et al. (2016) cultivaram *Scenedesmus* sp. com a remoção total de nitrogênio e fósforo. Os ácidos graxos dominantes incluíram ácido palmítico, oleico, linolênico e linoleico, que representaram 87% do total de ácidos graxos. A presença de C16:0 e C18:1 em grandes quantidades é considerada um indicador da qualidade do biodiesel.

3.3 Atividade antimicrobiana

O resultado da inibição do crescimento bacteriano em relação às quatro bactérias patogênicas frente aos diferentes extratos expressou um resultado variável (Tabela 3). Em relação à EHT, foi possível notar 100% de inibição até a concentração de 6,25 mg/mL para *S. aureus* e *K. pneumoniae*. Na concentração de 3,12 mg/mL, a maior taxa de inibição foi de 83% contra *S. aureus*. Ao manusear EAT, a inibição total contra os três patógenos testados foi de 100% até uma concentração de 25 mg/mL. A EET foi a que apresentou menor atividade antimicrobiana, uma vez que a inibição de 100% só pôde ser

observada na concentração de 100 mg/mL contra a *E. coli*. Nesta concentração, *E. coli* apresentou inibição total para todos os extratos. Com a redução da concentração do extrato microalgal, observou-se diminuição do grau de inibição.

Anteriormente, Marrez et al. (2019) puderam observar a atividade antibacteriana do extrato sonificado de acetato de etila da biomassa da microalga *Scenedesmus obliquus* contra as bactérias: *S. aureus*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Bacillus cereus* e *Salmonella Typhi*. Em outro estudo, também com a microalga *S. obliquus*, Najdenski et al., (2013) verificaram a atividade antimicrobiana de seu extrato etanólico que se mostrou eficiente contra as bactérias *S. aureus* e *E. coli*.

Habibi et al. (2018) avaliaram o papel antibacteriano de extratos lipídicos de microalgas *Scenedesmus dimorphus* derivados de hexano, metanol, etanol e éter dietílico contra as bactérias *Bacillus subtilis*, *Micrococcus luteus*, *Aeromonas hydrophila* e *E. coli*. Desta forma, o extrato etanólico foi capaz de inibir o crescimento de *M. luteus*, *E. coli* e *B. subtilis*. O extrato de hexano foi positivo contra *M. luteus*, *B. subtilis*, *A. hydrophila* e *E. coli*, comprovando assim o potencial antimicrobiano dos extratos de microalgas do gênero *Scenedesmus*. Os autores também apontaram que os extratos de etanol e hexano tiveram maior efeito antimicrobiano contra as bactérias Gram+.

Os antibióticos, na maioria dos casos, são menos eficazes contra bactérias gram-negativas devido à estrutura complexa da parede celular que dificulta a ação dos agentes antimicrobianos. No entanto, extratos de microalgas também parecem ter uma atividade biológica positiva contra bactérias gram-negativas em geral, bem como no presente estudo onde *E. coli* apresentou inibição total na concentração de 100 mg/mL para todos os extratos (Alsenani et al., 2020). Segundo Desbois et al. (2010) a atividade dos extratos lipídicos pode ser dada pela presença de ácidos graxos responsáveis pela ação antibacteriana, que é influenciada por sua estrutura e forma. Desbois também afirma que o mecanismo de ação de AG contra bactérias é desconhecido, mas está ligado à lise na parede bacteriana, inibição de sua atividade enzimática, perturbação na absorção de nutrientes e geração de peroxidação tóxica.

4. Conclusão

De acordo com os resultados obtidos em relação ao rendimento lipídico dos extratos obtidos é possível concluir que o extrato no qual o acetato de etila foi utilizado como solvente, o EAT, apresentou um resultado considerável na primeira extração e na segunda extração. Os resultados do perfil do extrato demonstraram a presença de ácidos graxos com importância biotecnológica e farmacêutica como ácido palmítico (C16:0), ácido oleico (C18:1) e α -linolênico (C18:3). Associado a esses fatores está o benefício do uso de produtos lipossolúveis com maior facilidade em penetrar na membrana citoplasmática, pois possui, em sua maioria, uma composição lipídica.

Em relação aos resultados da atividade antimicrobiana, a EAT atingiu um grau de inibição de 100% até uma concentração de 25 mg/ml. O EHT obteve 100% de inibição até a concentração de 6,25 mg/mL e para o EET foi observada apenas inibição total na concentração de 100 mg/mL. O extrato de acetato de etila apresenta maior rendimento em óleo e apresenta melhores resultados em relação à atividade antimicrobiana, sendo considerado como o melhor solvente para a extração de lipídios até um determinado momento. A microalga *T. obliquus* demonstra importância biotecnológica, pois possui importantes agentes bioativos para a indústria da saúde, além de mostrar seu potencial como uma nova alternativa antimicrobiana.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, à Fundação de Amparo à Ciência e Tecnologia do Estado de Pernambuco e ao Centro de Apoio à Pesquisa (CENAPesq) da Universidade Federal Rural de Pernambuco. Este estudo foi financiado em parte pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) - Finance Code 001.

Conflitos de interesse

Os autores não relatam conflito de interesses.

5. Referências

- Almeida, G. F. D., de Araújo, P. H., Florentino, A. C., Bezerra, R. M., Carvalho, J. C., Faustino, S. M., & Ferreira, I. M. Fatty acid ethyl esters from microalgae of *scenedesmus ecornis* by enzymatic and acid catalysis. **Química Nova**. 2018, v. 41, p. 1-4.
- Alsenani, F., Tupally, K. R., Chua, E. T., Eltanahy, E., Alsufyani, H., Parekh, H. S., & Schenk, P. M. Evaluation of microalgae and cyanobacteria as potential sources of antimicrobial compounds. *Saudi Pharmaceutical Journal*. 2020, v. 28, n. 12, p. 1834-1841.
- Bergsson, G., Hilmarsson, H., & Thormar, H. Antibacterial, antiviral and antifungal activities of lipids. *Lipids and Essential Oils*. 2011, p. 47.
- Clinical and Laboratory Standards Institute (2017) Performance standards for antimicrobial susceptibility testing, 27th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA, USA
- Desbois, A. P., Smith, V. J. Antibacterial free fatty acids: activities, mechanisms of action and biotechnological potential. *Appl Microbiol Biotechnol*. 2010, 85 (6), 1629–1642.
- Habibi, Z.; Namin, J.I.; Ramezanzpour, Z. Evaluation of antimicrobial activities of microalgae *Scenedesmus dimorphus* extracts against bacterial strains. *Caspian Journal of Environmental Sciences*. 2018, 16(1), 23-34.

- Halim, R., Danquah, M. K., & Webley, P. A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. *Biotechnology advances*. 2012, v. 30, n. 3, p. 709-732.
- Hartman, L.; Lago, B.C. A rapid preparation of fatty methyl esters from lipids. *Laboratory Practice*. 1973, 22, 475-477.
- Ishaq AG, Matias-Peralta HM, Basri H. Bioactive compounds from green microalga – *Scenedesmus* and its potential applications: a brief review. *Pertanika J Trop Agric Sci*. 2016, 39, n. 1.
- Ismagulova, T.; Chekanov, K.; Gorelova, O.; Baulina. O.; Semenov, L. *et al.* A new subarctic strain of *Tetradesmus obliquus*—part I: identification and fatty acid profiling. *J. Appl. Phycol.* 2017, 30(5), 2737–2750.
- Jia, Q; Xiang, W; Yang, F; Hu, Q; Tang, M; Chen, C. Low-cost cultivation of *Scenedesmus* sp. with filtered anaerobically digested piggery wastewater: biofuel production and pollutant remediation. *J. Appl. Phycol.* 2015, 28(2), 727-736.
- Katiyar, R.; Arora, A. Health promoting functional lipids from microalgae pool: A review. *Algal Research*. 2020, 46.
- Lee, S. Y., Khoiroh, I., Vo, D. V. N., Kumar, P. S., & Show, P. L. Techniques of lipid extraction from microalgae for biofuel production: a review. *Environmental Chemistry Letters*. 2020, p. 1-21.
- Marrez, D.A.; Naguib, M.M.; Sultan, Y.Y.; Higazy, A.M. Antimicrobial and anticancer activities of *Scenedesmus obliquus* metabolites. *Heliyon*. 2019, 5(3).
- Mathimani, T.; Baldinelli, A.; Rajendran, K.; Prabakar, D.; Matheswaran, M.; Pieter Van Leeuwen, R.; Pugazhendhi, A. Review on cultivation and thermochemical conversion of microalgae to fuels and chemicals: Process evaluation and knowledge gaps. *J. Clean. Prod.* 2019, 208, 1053-1064.
- Nadzir, S.M; Yusof, N; Nordin, N; Abdullah, H.; Kamari, A. Optimisation of carbohydrate, lipid and biomass productivity in *Tetradesmus obliquus* using response surface methodology. *Biofuels*. 2019, 1-10.
- Najdenski, H.M.; Gigoca, L.G.; Iliev, I.I.; Pilarski, P.S.; Lukavský, J.; Tsvetkova, I.V.; Ninova, M.S.; Kussovski, V.K. Antibacterial and antifungal activities of selected microalgae and cyanobacteria. *Int. J. Food Sci. Technol.* 2013, 48, 1533–1540.
- Nagappan, S., Devendran, S., Tsai, P. C., Dinakaran, S., Dahms, H. U., & Ponnusamy, V. K. Passive cell disruption lipid extraction methods of microalgae for biofuel production—a review. *Fuel*. 2019, v. 252, p. 699-709.
- Ryckebosch, E., Muylaert, K., & Foubert, I. Optimization of an analytical procedure for extraction of lipids from microalgae. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 2012, v. 89, n. 2, p. 189-198.
- Stanier, R.Y.; Kunisawa, R.; Mandel, M., Cohen-Bazire, G. Purification and Properties of Unicellular Blue-Green Algae (Order Chroococcales). *Bacteriological Reviews*. 1971, 35: 171-205.

Vasistha, S., Khanra, A., Clifford, M., & Rai, M. P. Current advances in microalgae harvesting and lipid extraction processes for improved biodiesel production: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2020, p. 110498.

5. ANEXOS

Cursos realizados

Biotecnologia de fungos na biorremediação de efluentes industriais. (Carga horária: 12h). Universidade Federal de Pernambuco, UFPE, Brasil.

Bioativos Extraídos de Microalgas. (Carga horária: 8h). Universidade Federal Rural de Pernambuco, UFRPE, Brasil.

A microbiota que habita em nós. (Carga horária: 6h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Antimicrobial resistance - theory and methods. (Carga horária: 8h). Technical University of Denmark, DTU, Dinamarca.

Minicurso 1: Área Biologia Molecular. (Carga horária: 5h). Universidade Estadual de Santa Cruz, UESC, Brasil.

Cronobiologia, sono e sonhos. (Carga horária: 9h). Universidade de São Paulo, USP, Brasil.

Boas Práticas de Pipetagem para Resultados Mais Consistentes. (Carga horária: 2h). Nova Analítica Importação e Exportação Ltda, Analítica, Brasil.

Western Blotting. (Carga horária: 2h). Nova Analítica Importação e Exportação Ltda, Analítica, Brasil.

Resumos submetidos em anais de eventos

XIMENES, F. F. A. P. ; **FERREIRA, M. P. N.** ; SILVA, M. R. V. ; PALMA, M. B. . Doença de Chagas e alterações anatômicas cardiovasculares: uma revisão bibliográfica. In: XVIII Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão da Universidade Federal Rural de Pernambuco, 2018, Recife. Anais Jornada de Ensino, Pesquisa e Extensão, 2018. v. 18.

FERREIRA, M.P.N.; EGITO, M.S.; ANDRADE, A.F.; MELO, R.G.; BEZERRA, R.P.; PORTO, A.L.F.; COSTA, R.M.P.B. Extração de óleos a partir da biomassa de microalgas por dois métodos diferentes: uma breve revisão. II Curso de Inverno em Biociências. 2019.

FERREIRA, M.P.N.; EGITO, M.S.; ANDRADE, A.F.; MELO, R.G.; BEZERRA,

R.P.; PORTO, A.L.F.; COSTA, R.M.P.B. Proteínas Bioativas extraídas de *Chlorella* spp.: uma breve revisão. II Curso de Inverno em Biociências. 2019.

AMORIM, A. P. ; MOURA, Y. A. S. ; SILVA, M. L. ; **FERREIRA, M. P. N.** ; EGITO, M. S. ; ANDRADE, A. F. ; PORTO, A. L. F. ; BEZERRA, R. P. ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF EXTRACTS FROM *Arthrospira platensis* SUPPLEMENTED WITH CHEESE OBTAINED BY TWO DIFFERENT METHODS. In: 1st Brazil-France Symposium on Medicinal Chemistry: Drugs for Infectious Diseases and Cancer, 2019.

AMORIM, A. P. ; MOURA, Y. A. S. ; SILVA, M. L. ; **FERREIRA, M. P. N.** ; ANDRADE, A. F. ; SILVA JUNIOR, J. N. ; PORTO, A. L. F. ; BEZERRA, R. P. . Dosagem proteica de extratos da *Chlorella vulgaris* suplementada com soro de queijo. In: V Simpósio do Complexo Hospitalar da Universidade de Pernambuco, 2020, Recife. V Simpósio do Complexo Hospitalar da Universidade de Pernambuco, 2020.

FERREIRA, M. P. N.; AMORIM, A. P. ; MOURA, Y. A. S. ; SILVA, M. L. ; SILVA JUNIOR, J. N. ; ANDRADE, A. F. ; PORTO, A. L. F. ; BEZERRA, R. P. . EVALUATION OF TWO PROTEIN EXTRACTION METHODS FROM *Tetrademus obliquus* SUPPLEMENTED WITH CHEESE WHEY.. In: II International Workshop on Cellular and Molecular Biology, 2021. II International Workshop on Cellular and Molecular Biology, 2021.

SILVA, D. R. ; ANDRADE, A. F. ; **FERREIRA, M. P. N.** ; BEZERRA, R. P. ; PORTO, A. L. F. . Mixotrophic culture using *Chlorella* spp. for phosphate and nitrate reduction: a brief review. In: II International Workshop on Cellular and Molecular Biology, 2021. II International Workshop on Cellular and Molecular Biology, 2021.

Patentes depositadas

Extrato orgânico obtido a partir de microrganismos fotossintetizantes com potencial cicatrizante e antimicrobiano. ANA LÚCIA FIGUEIREDO PORTO, RAQUEL PEDROSA BEZERRA, JORGE VINÍCIUS FERNANDES LIMA CAVALCANTI, ALEXSANDRA FRAZÃO DE ANDRADE, REBECA GONÇALVES DE MELO, **MILLENA PATRÍCIO DO NASCIMENTO FERREIRA**. Tipo de depósito: (PI, UM, DI etc): PI. Data do depósito: 10/11/2020. Escritório: (INPI, EPO etc): INPI.