



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE FEIRA DE SANTANA

Autorizada pelo Decreto Federal nº 77.496 de 27/04/76  
Recredenciamento pelo Decreto nº 17.228 de 25/11/2016



PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO  
COORDENAÇÃO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA

## XXIV SEMINÁRIO DE INICIAÇÃO CIENTÍFICA DA UEFS SEMANA NACIONAL DE CIENTÍFICA E TECNOLÓGICA - 2020

### AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIBACTERIANO E CITOTÓXICO DOS EXTRATOS BRUTOS DE MACROALGAS BENTÔNICAS MARINHAS DA ILHA DE ITAPARICA, BAHIA

**Ester dos Santos<sup>1</sup>; Carlos Wallace do Nascimento Moura<sup>2</sup>;**

1. Bolsista FAPESB, Graduando Bacharelado em Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana, e-mail: [estereds14@gmail.com](mailto:estereds14@gmail.com)

2. Orientador, Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual de Feira de Santana

**PALAVRAS-CHAVE:** Algas marinhas, bioensaio de letalidade, extrato bruto

#### INTRODUÇÃO

Diante dos problemas impostos pela disseminação do SARS-CoV-2 (COVID-19) em Feira de Santana e do fechamento da Universidade/ laboratórios de pesquisa, a etapa da avaliação do potencial antibacteriano não pode ser executada. Dessa forma, os resultados apresentados são relativos aos dados da citotoxicidade.

As algas e animais marinhos apresentam substâncias que atuam na comunicação entre espécimes, na defesa contra herbívoros ou predadores, entre competidores, na reprodução ou simplesmente como produto de seu metabolismo (Ministério da Saúde, 2010). Metabólitos secundários presente nas algas (Saravanakumar et al. 2008) podem funcionar como mecanismos de defesa, incluindo o efeito de citotoxicidade.

Meyer et al. (1982), propuseram um bioensaio, cujo método avalia citotoxicidade (valores de CL<sub>50</sub> µg/mL<sup>-1</sup>) de compostos ativos e extratos vegetais em náupilos de *Artemia salina* Leach (Artemiidae, Anostraca). Este método tem sido empregado por (Ara et al. 1999, Meyer et al. 1982, Costa 2010, Santos 2015). No Brasil ainda são escassos os estudos sobre a atividade citotóxica das macroalgas, destacando aqueles realizados por Lhuiller et al. (2006), Torres et al. (2005), Guedes (2011), Santos (2015), Sousa (2017) e Barros (2018). Para a Bahia, apenas três estudos foram realizados: Santos (2015), Santos (2016) e Ramos (2018)

O presente estudo visou analisar o potencial citotóxico dos extratos brutos de macroalgas bentônicas marinhas ocorrentes na Ilha de Itaparica, Bahia, com o bioensaio de letalidade frente à *Artemia salina*.

#### MATERIAL E MÉTODOS

O material das macroalgas estudado proveio de coletas realizadas em duas praias, Enseada do Pedrão e Barra Grande, município de Veracruz, Ilha de Itaparica (30°40'W, 12°59'S), Bahia.

Sete macroalgas (*Dictyopteris jolyana*, *Ulva lactuca*, *Caulerpa racemosa*, *Caulerpa denticulata* var. *intermedia*, *Hypnea pseudomusciformis*, *Gracilaria domingensis*, *Crassiphycus corneus*) foram coletadas em função da biomassa (acima de 650 g), em dois períodos outubro/2019 e março/2020. No laboratório o material foi triado e identificado através de bibliografia especializada. A biomassa obtida foi triada, lavada em água do mar, seca em estufa a 60 °C e triturada para obtenção de pó. O material resultante (10 g) foi transferido para um béquer contendo solvente (metanol, etanol ou água destilada, proporção de 1:10 [g/mL]) e colocado em mesa agitadora com rotação constante (200 rpm), durante

três dias. Fim do processo, este foi filtrado em quatro camadas de pano tipo musseline, e o líquido obtido seco em estufa (50°C), até obtenção dos extratos brutos. O rendimento do extrato foi calculado pela fórmula: Rendimento extrato= Massa de extrato seca (g)/ massa do pó da alga (g) x100.

Os testes de letalidade frente a *Artemia salina* foram realizados seguindo a metodologia adaptada de Meyer et al. (1982) e Lhullier et al. (2006), usando diferentes concentrações (50, 100, 200, 500, 750 e 1000 µg.mL<sup>-1</sup>) de extrato bruto diluído em água do mar, em um período de 24 h. Os testes foram realizados com réplica e tréplica.

O cálculo da concentração letal média (CL50) dos extratos foi realizada empregando o método de PROBIT. Adotou-se a classificação de Vinayak et al. (2011) para CL50, assim classificados: não citotóxicos (NCT) mortalidade ≤ 50%; levemente citotóxico (LCT) mortalidade ≥ 50% e ≤75%; e altamente (CT) mortalidade ≥ 75%.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Sete macroalgas bentônicas foram avaliadas a partir da biomassa disponível em campo para a realização dos testes de atividade citotóxica, sendo uma alga parda (*Dictyopteris jolyana*), três verdes (*U. lactuca*, *C. racemosa*, *C. denticulata* var. *intermedia*) e três vermelhas (*H. pseudomusciformis*, *G. domingensis*, *C. corneus*).

O maior e menor valor de biomassa algal encontrada em campo foram *U. lactuca* e *D. jolyana*, respectivamente (Tabela 1). Este último táxon, uma alga parda, sempre foi encontrado arribada (atirada na praia) na área. Segundo Oliveira & Furtado (1978) o táxon é encontrado em ambientes profundos, logo justificando a sua ocorrência nas arribadas

Dentre as espécies estudadas *C. denticulata* (extrato EtOH) e *G. domingensis* (extrato MeOH) apresentaram o maior e menor valor do rendimento do extrato, respectivamente. O cálculo do rendimento do extrato é importante pois quanto maior o rendimento, menor será a quantidade de biomassa necessária para a obtenção de substâncias puras em quantidade (Lhullier et al. 2006).

**Tabela 1:** Valores de massa fresca, seca e rendimentos dos extratos brutos em diferentes solventes (metanólico [MeOH], etanólico [EtOH], e aquoso) das macroalgas coletados nas praias da Enseada do Pedrão e Barra Grande, na Ilha de Itaparica, Bahia.

Táxon	Massa fresca (g)	Massa seca (g)	Rendimento do extrato (%)		
			MeOH	EtOH	Aquoso
OCHROPHYTA					
<i>Dictyopteris jolyana</i>	651	44	8,2	28,3	12,2
CHLOROPHYTA					
<i>Ulva lactuca</i>	2040	120	5	1,9	22,7
<i>Caulerpa denticulata</i> var. <i>intermedia</i>	1793	116	2,3	26,5	9
<i>Caulerpa racemosa</i>	787,5	29,32	5,1	13,1	7,7
RHODOPHYTA					
<i>Hypnea pseudomusciformis</i>	890	64	1	1,4	10,2
<i>Gracilaria domingensis</i>	794	58	0,1	26,4	18
<i>Crassiphycus corneus</i>	745	123	9,5	1	5,7

O bioensaio de letalidade de *A. salina* realizado no presente estudo testou diferentes concentrações de extratos brutos de algas, obtidos com diferentes solventes, em relação ao tempo de exposição (24 h). Os resultados mostraram que esses não foram tóxicos (Tabela 2), uma vez que mais de 50% dos náuplios mantiveram-se vivos, sendo enquadrados como não citotóxicos segundo classificação de Vinayak et al. (2011).

Estudos de citotoxicidade com extrato bruto de *Ulva lactuca* frente a *A. salina* realizados por Ara et al. (1999), Guedes (2011) e Santos (2016) não evidenciaram atividade tóxica, embora Orhan et al. (2003) tenham reportado que o extrato etanólico dessa espécie demonstrou atividade citotóxica na Turquia. Torres et al. (2005) relataram alta toxicidade para extrato cetônico de *Caulerpa racemosa* para a menor dose testada (100 µg/mL<sup>-1</sup>), enquanto Manilal et al. (2009) relataram toxicidade intermediária a partir de extrato

extraído com metanol:diclorometano. Mtolera & Semesi (1996) não encontraram atividade citotóxica nos extratos de *C. racemosa* testados.

Guedes (2011) trabalhando com estratos brutos de *H. pseudomusciformes* em Alagoas obteve resposta similar as do presente estudo, ao passo que Lhullier et al. (2006), no litoral de Santa Catarina, obtiveram respostas antagônicas para os estratos etanólicos, parte apresentando toxicidade e a outra não. Selvin & Lipton (2004) analisaram o extrato bruto de *H. musciformis* com o solvente metanol:diclorometano e relataram baixa toxicidade.

Os resultados de *Gracilaria domingensis* obtidos no presente estudo foram distintos dos reportados por Lhullier et al. (2006) e Santos (2015), que encontraram resposta citotóxica para extratos etanólicos, e aos de Torres et al. (2005), que relataram alta toxicidade para *G. domingensis* para extrato obtidos com diclorometano.

**Tabela 2:** Avaliação da atividade citotóxica frente ao crustáceo *Artemia salina* dos extratos metanólico (MeOH), etanólico (EtOH) e aquoso das macroalgas marinhas (\*\*) coletadas em dois períodos (OUT/2019 e MAR/2020), nas praias da Enseada do Pedrão e da Barra Grande, na Ilha de Itaparica, Bahia. Categoria de toxicidade para a concentração letal média (CL50) - NCT (não citotóxico, mortalidade < 50%).

SOLVENTE	Dose ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )	LC <sub>50</sub> ( $\mu\text{g.mL}^{-1}$ )		Categoria de Toxicidade	
		OUT	MAR	OUT	MAR
MEOH	50	>1000	>1000	NCT	NCT
	100	>1000	>1000	NCT	NCT
	200	>1000	>1000	NCT	NCT
	500	>1000	>1000	NCT	NCT
	750	>1000	>1000	NCT	NCT
	1000	>1000	>1000	NCT	NCT
ETOH	50	>1000	>1000	NCT	NCT
	100	>1000	>1000	NCT	NCT
	200	>1000	>1000	NCT	NCT
	500	>1000	>1000	NCT	NCT
	750	>1000	>1000	NCT	NCT
	1000	>1000	>1000	NCT	NCT
Aquoso	50	>1000	>1000	NCT	NCT
	100	>1000	>1000	NCT	NCT
	200	>1000	>1000	NCT	NCT
	500	>1000	>1000	NCT	NCT
	750	>1000	>1000	NCT	NCT
	1000	>1000	>1000	NCT	NCT

(\*\*) Como os extratos das macroalgas (*Dictyopteris jolyana*, *Ulva lactuca*, *Caulerpa racemosa*, *C. denticulata* var. *intermedia*, *Hypena pseudomusciformis*, *Gracilaria domingensis*, e *C. corneus*) em todas as concentrações testadas não foram tóxicos, os tóxicos não foram representados na tabela.

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

O bioensaio de letalidade frente à *Artemia salina* realizados com os extratos brutos de sete macroalgas obtidos com diferentes solventes (água, Etanol e Metanol), em diferentes meses do ano (outubro/2019 e março/2020), mostrou que a concentração dos extratos testados (50, 100, 200, 500, 750 e 1000  $\mu\text{g.mL}^{-1}$ ) não foi tóxica, uma vez que mais de 50% dos indivíduos mantiveram-se vivos, sendo enquadrados como não citotóxicos segundo classificação de Vinayak et al. (2011).

## REFERÊNCIAS

Ara J, Sultana V, Ehteshamul-Haque S, Qasim R, Ahmad VU .1999. Cytotoxic activity of marine macro-algae on *Artemia salina* (brine shrimp). *Phytotherapy Research* 13(4): 304-307

Barros, MGA. 2018. Investigação química da alga parda dictyota mertensii de ilhas oceânicas brasileiras. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal de Santana Catarina.

- Costa, SCC. 2010. Avaliação biológica e constituintes químicos dos frutos de *Xanthium cavanillesii*. Dissertação (Mestrado). Universidade Estadual de Feira de Santana.
- Guedes, EAC. 2011. Bioprospecção de extratos de macroalgas marinhas bentônicas do litoral de Alagoas. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Alagoas.
- Lhullier C, Horta PA & Falkenberg M. 2006. Avaliação de extratos de macroalgas bentônicas do litoral catarinense utilizando o teste de letalidade para *Artemia salina*. Revista Brasileira de Farmacologia 16:158-163.
- Meyer BN, Ferrigni NR, Putnam JE, Jacobsen LB, Nichols DE & McLaughlin JL (1982). Brine shrimp: a convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica* 45: 31-34
- Ministério da Saúde. 2010. Caracterização do Estado da Arte em Biotecnologia Marinha no Brasil / Ministério da Saúde, Organização Pan-Americana da Saúde, Ministério da Ciência e Tecnologia. – Brasília: Ministério da Saúde, 134 p.
- Manilal A, Sujith S, Kiran GS, Selvin J & Shakir C. 2009. Cytotoxic potentials of red alga, *Laurencia brandenii* collected from the Indian coast. *Global Journal of Pharmacology* 3(2):90-4.
- Mtolera MSP & Semesi AK. 1996. Antimicrobial Activity of Extracts from Six Green Algae from Tanzania. In: Borg, M., Semesi, A., Pederson, M. & Bergman, B., Eds., *Current Trends in Marine Botanical Research East African Region*, Sidal SAREC, Uppsala, pp. 211-217.
- Oliveira Filho, EC & Furtado, RP. 1978. *Dictyopteris jolyana* sp. nova (Phaeophyta) from Brazil. *Nova Hedwigia* 29: 759-763.
- Orhan I, Wisespongpan P, Atıcı T & Sener B, 2003. Toxicity propensities of some marine and fresh-water algae as their chemical defense. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University* 32 (1): 19-29
- Ramos, L.C. 2018. Avaliação do efeito do isolamento algal na atividade antioxidante, bactericida e toxicidade frente à *Artemia salina* das microalgas *Isochrysis galbana* e *Phaedactylum tricorutum*. Dissertação (Mestrado). Universidade Federal da Bahia
- Santos JP. 2016. Perfil antioxidante e bioatividade de três espécies de macroalgas da Praia do Morro de Pernambuco, no litoral Sul da Bahia, Brasil. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo.
- Santos PS. 2015. Potencial Antibiótico, Antioxidante e Teste de Letalidade frente a *Artemia salina* de extratos de *Gracilaria* (Rhodophyta, Gracilariales). Dissertação (mestrado). Universidade Federal da Bahia.
- Saravanakumar DEM, Folb PI, Campbell BW & Smith P. 2008. Antimycobacterial activity of the red alga *Polysiphonia virgata*. *Pharmaceutical Biology* 46(4): 254-260.
- Selvin J & Lipton AP. Biopotentials of *Ulva fasciata* and *Hypnea musciformis* collected from the peninsular coast of India. 2004. *Journal of Marine Science and Technology* 12 (1):1-6.
- Sousa, KC. 2017. Atividades antioxidante, antimicrobiana, antibiofilme e citotóxica de extratos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux). Dissertação (Mestrado). Universidade Federal do Ceará
- Torres RT, Sousa APA, Silva Filho EAT, Pessoa C, Moraes MEA, Moraes MO & Lotufo LVC. 2005. Biological activity of aqueous and organic extracts of seaweeds from Ceará state, Brazil. *Arquivos de Ciências do Mar* 38: 55 – 63
- Vinayak RC, Sabu AS & Chatterji A. 2011. Bio-prospecting of a few brown seaweeds for their cytotoxic and antioxidant activities. Evidence-based complementary and alternative medicine, Article ID 673083, 1-9 p. <https://doi.org/10.1093/ecam/neq024>
- Selvin J & Lipton AP. Biopotentials of *Ulva fasciata* and *Hypnea musciformis* collected from the peninsular coast of India. 2004. *Journal of Marine Science and Technology* 12 (1):1-6.