



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ  
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS  
DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA DE PESCA  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA DE PESCA

REBECA LARANGEIRA DE LIMA

PERFIL SAZONAL DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE ALGAS DA  
FAMÍLIA Caulerpaceae

FORTALEZA

2015

REBECA LARANGEIRA DE LIMA

PERFIL SAZONAL DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE ALGAS DA  
FAMÍLIA Caulerpaceae

Dissertação de Mestrado submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Pesca.

Área de Concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientadora: Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Silvana Saker Sampaio

FORTALEZA

2015

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação  
Universidade Federal do Ceará  
Biblioteca de Ciências e Tecnologia

- 
- L71p Lima, Rebeca Larangeira de.  
Perfil sazonal da atividade antioxidante in vitro de algas da família Caulerpaceae / Rebeca Larangeira de Lima. – 2015.  
65 f. : il., color.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Departamento de Engenharia de Pesca, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2015.  
Orientação: Profa. Dra. Silvana Saker Sampaio.
1. Fenóis. 2. Alga. 3. Antioxidantes. I. Título.

PERFIL SAZONAL DA ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *IN VITRO* DE ALGAS DA  
FAMÍLIA Caulerpaceae

Dissertação de Mestrado submetida à Coordenação do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Engenharia de Pesca.

Área de Concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca

Aprovada em \_\_\_\_ / \_\_\_\_ / \_\_\_\_

BANCA EXAMINADORA

---

Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Silvana Saker Sampaio (Orientadora)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Prof. Dr. Francisco Arnaldo Viana  
Universidade Estadual do Rio Grande do Norte (UERN)

---

Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais Francisco de Assis Lima (*in memoriam*) e Maria Lucila Larangeira de Lima pelo infinito amor e apoio em todas as fases de minha vida.

Ao meu pequeno príncipe Lucas Assis Larangeira Rodrigues que é a razão da minha vida.

## AGRADECIMENTOS

A Deus pelo seu imenso amor, que me contemplou com o dom da vida e sabedoria, que nos momentos de desânimo foi minha fortaleza. Por sempre colocar em minha vida pessoas maravilhosas.

Aos meus pais Francisco de Assis Lima (*in memoriam*) e Maria Lucila Larangeira de Lima, pelo incentivo, compreensão, amor, dedicação e custeio dos meus estudos e ao apoio em todos os momentos da minha vida.

A minha orientadora Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Silvana Saker Sampaio pela oportunidade de trabalhar em seu laboratório, por todos os seus ensinamentos, pela amizade e carinho, pela sua disponibilidade e atenção, o meu muito obrigada.

Aos meus amigos Prof<sup>ª</sup> Dr<sup>ª</sup> Kelma Maria dos Santos Pires Cavalcante e Daniel Barroso de Alencar por terem me ensinado a prática do laboratório, desde a graduação até hoje, pelo companheirismo, pelas palavras de fortaleza nos momentos de desânimo, por estarem sempre presentes e dispostos a me ajudarem, por me fazerem perceber coisas boas em meio as tribulações, enfim, pelo grande laço de amizade criado ao longo dos anos. Serei eternamente grata por Deus ter colocado pessoas tão maravilhosas na minha vida como vocês, sem as quais eu não teria conseguido realizar esse sonho.

Aos amigos de laboratório Mirela Gouveia, atualmente em outro laboratório, mas que sempre me fez acreditar que tudo daria certo, Karolina Costa de Sousa e Bárbara Mendes Baracho pela convivência, palavras e amizade.

Aos professores e funcionários do Departamento de Engenharia de Pesca, em especial, Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio e Prof. Dr. Celso Shiniti Nagano, pelos conhecimentos repassados, e ao Sr. Antônio Ferreira Lima pela disponibilidade de matéria-prima, sempre que requisitada.

As minhas amigas Jéssica Lucinda Saldanha da Silva e Nayagra Vidal Pereira que há muito fazem parte da minha vida e nos momentos mais difíceis sempre pude contar com a amizade fiel e verdadeira. Por sempre me fazerem acreditar que eu era capaz, até mesmo quando nem eu acreditava.

A avó do meu filho e mais que amiga Fátima Rodrigues da Silva, a qual sempre me incentivou e ajudou com quem posso contar, pelo carinho e por todas as palavras de força.

A Universidade Federal do Ceará e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico, pelo incentivo acadêmico e apoio financeiro possibilitando a concretização do presente trabalho.

“Há duas maneiras de viver a vida: a primeira é vivê-la como se os milagres não existissem. A segunda é vivê-la como se tudo fosse milagre.” (Albert Einstein)

## RESUMO

As macroalgas são fontes de moléculas bioativas com propriedades antioxidantes, muitas das quais apresentam variações ao longo do ano. Cinco algas verdes do gênero *Caulerpa* (*C. cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera*, *C. racemosa* e *C. sertularioides*) foram coletadas mensalmente na Praia do Pacheco, de janeiro a dezembro de 2006. Após as coletas, elas foram transportadas para o laboratório, lavadas com água corrente para retirada de impurezas e epífitas e liofilizadas. Os extratos algáceos foram preparados em metanol (MeOH) na proporção 1:20 (p:v) sob agitação por 1 h a 20°C em um agitador orbital, em seguida, filtrados, e os resíduos submetidos a mais duas extrações sucessivas. O material das três extrações metanólicas foi reunido e concentrado em um evaporador rotativo. Porções de 10 mg do extrato concentrado foram suspensas em 10 mL de MeOH (50%). Esse extrato (1 mg/mL) foi utilizado para a determinação do conteúdo fenólico total (CFT). A atividade antioxidante *in vitro* foi medida através da capacidade de sequestrar o radical DPPH, do poder de redução de íons férricos (FRAP), do branqueamento do  $\beta$ -caroteno (BCB) e da habilidade de quelção de íons ferrosos (FIC), nas concentrações 5, 50, 500 e 1.000  $\mu\text{g/mL}$ , preparadas a partir do extrato. O quelante de metais EDTA foi utilizado como controle positivo no FIC, e o antioxidante sintético BHA, nas demais determinações. Os valores de CFT foram maiores no segundo semestre do ano e variaram de 4 a 32 mg AGE/g extrato. Os resultados do sequestro do radical DPPH, do BCB e do FIC não exibiram padrão de variação e apresentaram atividades superiores a 25%, 70% e 10%, respectivamente. O FRAP nos extratos de *C. cupressoides*, *C. racemosa* e *C. sertularioides* foi maior no segundo semestre do ano, no de *C. mexicana* o maior valor ocorreu no primeiro semestre e no de *C. prolifera*, as variações ao longo do ano não obedeceram a um padrão como nos demais. Em todas as metodologias as atividades dos extratos algáceos foram inferiores àquelas dos controles positivos. As cinco espécies de *Caulerpa* podem ser consideradas fonte de potenciais antioxidantes, com possíveis usos, como na indústria alimentícia, não requisitando de um período do ano específico para a extração desses compostos antioxidantes, já que embora haja variação ao longo do ano, ela não é muito pronunciada.

**Palavras-chaves:** Moléculas bioativas. Compostos fenólicos. Extratos algáceos. Variação sazonal. Antioxidantes naturais.



## ABSTRACT

Macroalgae are sources of bioactive molecules with antioxidant properties, many of which present seasonal variation. Five green algae of the genus *Caulerpa* (*C. cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera*, *C. racemosa* and *C. sertularioides*) were collected monthly at Pacheco Beach, from January to December 2006. After collection, they were transported to the laboratory, washed under running water to remove impurities and epiphytes, and freeze-dried. The algae extracts were prepared in methanol (MeOH) in the proportion 1:20 (w:v) under stirring for 1 h at 20°C in an orbital shaker followed by filtration, and the residues were submitted to two further successive extractions. The filtrate from the three methanolic extractions was gathered and concentrated in a rotary evaporator. Portions of the concentrated extract (10 mg) were suspended in 10 mL MeOH (50%). This extract (1 mg/mL) was used in the determination of the total phenolic content (TPC). *In vitro* antioxidant activity was measured by DPPH radical scavenging, ferric-reducing antioxidant power (FRAP),  $\beta$ -carotene bleaching (BCB), and ferrous ion chelating (FIC), at the concentrations 5, 50, 500 and 1000  $\mu$ g/mL, prepared from the extract. The metal chelator EDTA was used as a positive control in FIC, while the remaining essays used the synthetic antioxidant BHA. The TPC values were higher in the second semester of the year and varied from 4 to 32 mg GAE/g extract. The DPPH radical scavenging, BCB and FIC results did not exhibit variation patterns and presented activities greater than 25%, 70% and 10%, respectively. FRAP in the extracts of *C. cupressoides*, *C. racemosa* and *C. sertularioides* was higher in the second half of the year, while for *C. mexicana* the largest value was found in the first half of the year, and for *C. prolifera* variations during the year did not obey a pattern similar to the others. In all methodologies the activities of the alga extracts were inferior to the positive controls. The five species of *Caulerpa* can be considered potential sources of antioxidants with possible uses, such as in the food industry, not requiring a specific annual period for the extraction of these antioxidant compounds, as though there is variation across the year, it is not highly pronounced.

**Keywords:** Bioactive molecules. Phenolic compounds. Algae extracts. Seasonal variation. Natural antioxidants.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1 –	Estruturas químicas de tocoferóis e tocotrienóis.....	22
Figura 2 –	Estruturas químicas de carotenoides presentes em macroalgas marinhas	23
Figura 3 –	Estrutura geral de um flavonoide.....	24
Figura 4 –	Estruturas químicas de compostos fenólicos derivados dos ácidos hidroxibenzoico (A) e hidroxicinâmico (B).....	25
Figura 5 –	Estruturas de antioxidantes sintéticos.....	26
Figura 6 –	Cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero <i>Caulerpa</i> , coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.....	28
Figura 7 –	Conteúdo fenólico total (CFT) dos extratos metanólicos de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero <i>Caulerpa</i> coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.....	34
Figura 8 –	Capacidade de sequestrar o radical DPPH dos extratos metanólicos, em quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000 µg/mL), de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero <i>Caulerpa</i> coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.....	39
Figura 9 –	Poder de redução de íons férricos (FRAP) dos extratos metanólicos, em quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000 µg/mL), de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero <i>Caulerpa</i> coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.....	43
Figura 10 –	Branqueamento do β-caroteno (BCB) nos extratos metanólicos, em quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000 µg/mL), de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero <i>Caulerpa</i> coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.....	50
Figura 11 –	Habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC) dos extratos metanólicos, em quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000 µg/mL), de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero <i>Caulerpa</i> coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará....	54

**LISTA DE TABELAS**

Tabela 1 –	Poder de redução de íons férricos (FRAP) dos extratos metanólicos das cinco espécies de algas marinhas verdes pertencentes ao gênero <i>Caulerpa</i> , coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.....	48
------------	--	----

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	12
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	15
2.1	Algas marinhas.....	15
2.2	Radicais livres e espécies reativas.....	16
2.3	Antioxidantes.....	19
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1	Coleta das algas.....	28
3.2	Preparação dos extratos.....	29
3.3	Determinação do conteúdo fenólico total (CFT).....	29
3.4	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> .....	29
3.4.1	<i>Capacidade de sequestrar o radical DPPH</i> .....	30
3.4.2	<i>Poder de redução de íons férricos (FRAP)</i> .....	30
3.4.3	<i>Branqueamento do <math>\beta</math>-caroteno (BCB)</i> .....	30
3.4.4	<i>Habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC)</i> .....	31
3.5	Radiação solar.....	31
3.6	Análises estatísticas.....	32
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	33
4.1	Determinação do conteúdo fenólico total (CFT).....	33
4.2	Atividade antioxidante <i>in vitro</i> .....	38
4.2.1	<i>Capacidade de sequestrar o radical DPPH</i> .....	38
4.2.2	<i>Poder de redução de íons férricos (FRAP)</i> .....	42
4.2.3	<i>Branqueamento do <math>\beta</math>-caroteno (BCB)</i> .....	49
4.2.4	<i>Habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC)</i> .....	53
5	CONCLUSÕES.....	58
	REFERÊNCIAS.....	59

## 1 INTRODUÇÃO

As algas são produtores primários, ocupam a base da cadeia trófica nos ecossistemas aquáticos e contribuem com mais da metade do oxigênio produzido no Planeta Terra, através da fotossíntese. Elas apresentam grande importância ambiental, podendo ser utilizadas como indicadores de qualidade do ambiente aquático, já que existe uma relação indireta entre a poluição do ambiente e a diversidade de gêneros de algas. Além disso, elas também possuem uma enorme importância econômica, tradicionalmente fazendo parte da dieta dos povos orientais de diversos países da Ásia, os quais contribuem com mais de 90% da produção mundial de algas (CABRAL *et al.*, 2011).

No ambiente natural as algas estão expostas a condições adversas que podem levar à formação de radicais livres e/ou outros agentes oxidantes, mas superam esta dificuldade sintetizando compostos capazes de proteger o aparato fotossintético contra os efeitos deletérios de fatores externos, como elevadas concentrações de oxigênio e intensa radiação solar (GUPTA; ABU-GHANNAM, 2011). Muitos desses compostos, por exemplo, carotenoides ( $\beta$ -caroteno e fucoxantina), compostos fenólicos, polissacarídeos sulfatados e algumas vitaminas apresentam atividade antioxidante (CORNISH; GARBARY, 2010).

Com reconhecido valor nutricional, as algas marinhas são ricas em carotenoides provitamina A, vitaminas B<sub>1</sub>, B<sub>12</sub>, C, D e E, muitos minerais, tais como, Ca, P, Na e K, polissacarídeos, proteínas e lipídios. A fração lipídica, embora pequena, pode conter elevados níveis de ácidos graxos poli-insaturados importantes para a saúde humana (LORDAN; ROSS; STANTON, 2011).

Elas são ainda fontes de moléculas bioativas com propriedades distintas, por exemplo, antiviral, anti-incrustante, de marcador taxonômico (TEIXEIRA, 2013), antialérgica, anticoagulante (GUPTA; ABU-GHANNAM, 2011), anti-inflamatória, antitumoral (VÍLCHEZ *et al.*, 2011), antiobesidade, antidiabética (D'ORAZIO *et al.*, 2012) e antioxidante (ALENCAR *et al.*, 2014; LIMA, 2013; PIRES-CAVALCANTE, 2012).

Os antioxidantes têm ampla aplicação na indústria de alimentos, pois retardam a peroxidação lipídica e a degradação de proteínas, diminuindo o processo de deterioração dos alimentos, mantendo sua qualidade nutricional e aumentando sua vida útil. São também importantes para a saúde humana pois, independentemente de terem sido produzidos endogenamente e/ou adquiridos de fontes externas, são capazes de combater o excesso de espécies reativas de oxigênio, nitrogênio ou outras geradas naturalmente no organismo, as

quais têm sido associadas ao aparecimento de doenças graves como câncer, aterosclerose e Alzheimer (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

A presença de substâncias com potencial antioxidante em algas marinhas foi investigada pela primeira vez por Fujimoto e Kaneda (1980) no Japão, na tentativa de encontrar substitutos aos aditivos alimentares sintéticos com efeitos tóxicos. Neste estudo, os pesquisadores japoneses determinaram a atividade antioxidante em 21 espécies de algas, com o objetivo de desvendar a razão pela qual a enorme quantidade de rodófito *Porphyra tenera* produzida no Japão, que era normalmente preservada por desidratação, permanecia sem sinais de odores de ranço mesmo após longos períodos de estocagem. A partir daí, muitos outros trabalhos foram desenvolvidos.

Ganesan, Kumar e Rao (2011) estudaram a atividade antioxidante dos extratos metanólicos (500 µg/mL) das algas verdes *Enteromorpha compressa*, *E. linza* e *E. tubulosa*. Com base nos resultados, eles consideraram as três espécies como fontes naturais com potencialidade de uso como aditivo e suplemento alimentar. As algas pardas *Fucus vesiculosus* e *F. serratus* foram consideradas fontes naturais de produtos com aplicações na indústria alimentícia e farmacêutica, por terem exibido elevada atividade antioxidante, determinada por metodologias conhecidas, disponíveis na literatura especializada (O'SULLIVAN *et al.*, 2011).

Muitos fatores podem contribuir para variações na composição química e nutricional das algas, incluindo espécie, origem geográfica ou área de cultivo, época de coleta, condições fisicoquímicas da água, como temperatura e salinidade, métodos de processamento, extração e armazenamento (LORDAN; ROSS; STANTON, 2011). Trigui *et al.* (2013) avaliaram a composição fenólica sazonal da alga verde *Ulva rigida* coletada na Tunísia (35°14'58"N e 11°07'18"E), tendo observado maiores quantidades de compostos fenólicos no final do inverno (fevereiro) e início da primavera (março). Pires-Cavalcante *et al.* (2011) determinaram os teores de  $\alpha$ -tocoferol em cinco espécies do gênero *Caulerpa* coletadas no Brasil (03°24'36"S e 39°01'50"W). O material foi analisado *in natura* e desidratado. Ao longo do ano houve variação nos teores de  $\alpha$ -tocoferol e, na comparação dos dados, o processo de desidratação foi responsável pela diminuição desse isômero de vitamina E.

É provável que haja também variação na atividade biológica exibida pelas algas, considerando que parte dos compostos responsáveis por tais atividades apresentam variação no padrão de distribuição ao longo do ano. Evidências de que a premissa acima seja verdadeira são escassas, principalmente em se tratando de atividade antioxidante. No entanto, em extratos etanólicos de *Enteromorpha compressa*, coletada no Mar Mediterrâneo

(Alexandria, Egito), Shanab, Shalaby e El-Fayoumy (2011) observaram, ao longo do ano, atividade antioxidante variável, com máximo na primavera. As maiores atividades antibacteriana e antioxidante da alga verde *Ulva rigida* coletada mensalmente no Mar Mediterrâneo (Sidi Mansour Sfax, Tunísia), durante 12 meses, também foram encontradas no mês de abril, correspondendo à primavera (TRIGUI *et al.*, 2013).

Apesar da extensão da costa litorânea e da enorme diversidade da flora ficológica marinha do Brasil, os trabalhos de atividade antioxidante em algas ainda são escassas, não sendo do nosso conhecimento a existência de publicação sobre variação sazonal da atividade antioxidante (GUARATINI *et al.*, 2012; LIMA, 2013; MARTINS *et al.*, 2013; PIRES-CAVALCANTE, 2012; RAYMUNDO; HORTA; FETT, 2004; ROCHA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2011). Pela carência de informações dessa natureza, o objetivo deste trabalho foi avaliar a sazonalidade da atividade antioxidante *in vitro* através da quantificação de compostos fenólicos totais (CFT), da capacidade de sequestrar o radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), do poder de redução de íons férricos (FRAP), do branqueamento do  $\beta$ -caroteno (BCB) e da habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC), em extratos de cinco espécies algas marinhas verdes pertencentes ao gênero *Caulerpa*, coletadas na costa cearense.

## 2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

### 2.1 Algas marinhas

Como produtores primários, as algas ocupam a base da cadeia trófica nos ecossistemas aquáticos e, como organismos fotossintetizantes, são responsáveis por mais da metade do oxigênio produzido na Terra.

Elas apresentam grande diversidade morfológica, sendo encontradas como organismos unicelulares, medindo de 3 a 10  $\mu\text{m}$  de comprimento, ou multicelulares como os kelpes gigantes que atingem até 70 m de comprimento, crescendo 50 cm ou mais por dia. De acordo com seu tamanho, as algas podem ser classificadas em dois grandes grupos: macroalgas ou microalgas. Elas são constituídas por um talo, e as macroalgas crescem fixas a um substrato por meio da sua porção basal. Várias características são usadas para classificá-las, incluindo a clorofila, a composição da parede celular e a presença de pigmentos específicos (LORDAN; ROSS; STANTON, 2011).

Das características supracitadas, a mais comumente empregada para a classificação das macroalgas, ou simplesmente algas, consiste na presença de pigmentos específicos (clorofilas *a*, *b*, e *c*, carotenoides - carotenos e xantofilas e ficobiliproteínas), que claramente as identificam como pertencentes a uma das três divisões: Chlorophyceae (algas verdes), Rhodophyceae (algas vermelhas) ou Phaeophyceae (algas pardas). A presença dos diferentes pigmentos nas algas está relacionada com a sua distribuição no ambiente, porque nem todas as algas dispõem da mesma intensidade luminosa para realização da fotossíntese (PANGESTUTI; KIM, 2011). Todas as algas possuem clorofila *a*; as clorofilas *a* e *b* são os pigmentos majoritários nas verdes; nas vermelhas, além da clorofila *a*, as ficoeritrinas (pigmentos vermelhos) são os mais abundantes; as pardas, por sua vez, possuem as clorofilas *a* e *c*, mas os carotenoides como a fucoxantina são os pigmentos predominantes (TEIXEIRA, 2013).

A tradição de consumir algas pertence aos povos asiáticos, mas este hábito tem se espalhado pelo mundo por causa da busca incessante por alimentos saudáveis e com propriedades nutracêuticas. As algas são reconhecidas pelo seu valor nutricional, sendo fontes de proteínas, carboidratos, fibras, minerais e vitaminas, além de serem pouco calóricas e exibirem baixo teor de gordura, aspectos que favorecem ainda mais seu uso na alimentação humana. Mais de 140 espécies de algas marinhas são utilizadas como alimento, no entanto, as mais conhecidas são *nori*, espécies de algas vermelhas pertencentes ao gênero *Porphyra*,



apreciada pelo sabor típico e elevado teor de proteínas, que pode chegar a 47% do seu peso seco; *wakame* (*Undaria pinnatifida*) e *kombu* (*Laminaria japonica*), algas pardas produzidas principalmente pela aquicultura na China, Coreia e Japão e consumidas diariamente pelos japoneses (CABRAL *et al.*, 2011; FLEURENCE *et al.*, 2012).

Alguns compostos presentes em algas são muito explorados comercialmente, como é o caso das carragenanas, ágar e alginatos, polissacarídeos estruturais, provenientes das algas vermelhas os dois primeiros e das algas pardas, o ácido algínico ou alginato. A carragenana tem aplicação principalmente na indústria de laticínios (iogurtes e sorvetes) e de embutidos (salsichas e presuntos), mas também na fabricação de gelatinas e geleias. O ágar é utilizado para a produção de sucos de frutas e sobremesas na indústria de alimentos, assim como em outras áreas, sendo um dos ingredientes da composição de meios de cultura microbiológicos e de cápsulas e supositórios. Já os alginatos são usados pela indústria farmacêutica na preparação de pomadas (CABRAL *et al.*, 2011; TEIXEIRA, 2013).

As algas produzem moléculas biologicamente ativas, algumas das quais exibem importantes propriedades atuando como antiviral, anti-incrustante, marcador taxonômico (TEIXEIRA 2013), antialérgico, anticoagulante (GUPTA; ABU-GHANNAM, 2011), anti-inflamatório, antitumoral (VÍLCHEZ *et al.*, 2011), antiobesidade, antidiabetes (D’ORAZIO *et al.*, 2012), antibacteriano (ALGHAZEER *et al.*, 2013; TRIGUI *et al.*, 2013) e antioxidante (ALENCAR *et al.*, 2014; LIMA, 2013; PIRES-CAVALCANTE, 2012).

Alghazeer *et al.* (2013) testaram dezenove espécies de algas contra nove diferentes cepas bacterianas. Embora todas elas tenham inibido o crescimento de *Staphylococcus aureus*, as algas pardas foram aquelas de maior potencial antibacteriano. Alencar *et al.* (2014) analisaram duas espécies de algas vermelhas, *Amansia multifida* e *Meristiella echinocarpa*, quanto à atividade antioxidante e à citotoxicidade e concluíram que ambas são boas fontes de compostos antioxidantes naturais com potencial de uso na indústria alimentícia, já que apresentaram baixíssima atividade citotóxica.

## 2.2 Radicais livres e Espécies reativas

Os radicais livres são átomos, moléculas ou íons que apresentam um ou mais elétrons desemparelhados, tornando-os altamente instáveis e quimicamente reativos, com tendência a se emparelhar a outro elétron para alcançar a estabilidade. Os radicais livres mais relevantes do ponto de vista biológico derivam de três elementos: oxigênio, nitrogênio e enxofre. Devido à existência de outras estruturas, igualmente reativas, porém desprovidas de

elétrons desemparelhados, a nomenclatura mais adequada e atualmente utilizada para fazer referência a esses compostos é espécies reativas de oxigênio (EROs), espécies reativas de nitrogênio (ERNs) e espécies reativas de enxofre (ERSs) (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Alguns dos principais exemplos de EROs são íons superóxido, peróxido de hidrogênio, hidroxil e oxigênio singleto e de ERNs, óxido nítrico, íons nitrito, íons nitrato e íons peroxinitrito (PETEU; BOUKHERROUB; SZUNERITS, 2014).

Os íons superóxidos ( $O_2^-$ ) podem ser gerados nas mitocôndrias através da cadeia respiratória pela adição de um elétron à molécula de oxigênio em estado fundamental, como também por enzimas intracelulares como NADPH-oxidase e xantina-oxidase. Eles são rapidamente convertidos em peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ), um intermediário formado pelo desproporcionamento (dismutação) do  $O_2^-$  ao receber íons hidrogênio ou pela redução do oxigênio divalente, por reação espontânea ou por catálise enzimática promovida pela superóxido-dismutase.  $H_2O_2$  é uma espécie reativa e não um radical livre, e diferentemente desse, tem vida longa e pode atravessar membranas plasmáticas sendo tóxica para as células. O equilíbrio no compartimento intracelular é mantido pela decomposição de  $H_2O_2$  em água e oxigênio através da catalase. O radical hidroxil ( $OH^\bullet$ ) é gerado principalmente a partir da reação de  $H_2O_2$  com íons metálicos divalentes, ferro ( $Fe^{2+}$ ) ou cobre ( $Cu^{2+}$ ), sendo considerado o mais oxidante de todas as EROs, por causa de sua alta reatividade e baixa especificidade nas reações, o que possibilita sua reação com quase todos os tipos de moléculas biológicas. O oxigênio singleto é resultante da excitação do oxigênio em seu estado fundamental, sendo mais reativo do que os íons superóxidos. Ele pode ser extinto ao transferir sua energia de excitação para outras moléculas, retornando a seu estado fundamental, ou ao participar de reações de oxidação com outras moléculas, por exemplo os lipídios (BARBOSA *et al.*, 2014; SATOH *et al.*, 2014).

O início do ciclo de produção de ERNs é a dieta, responsável pela maior parte dos íons nitrato que aportam no organismo, que são enzimaticamente reduzidos pela nitrato-reductase para íons nitrito, potentes vasodilatadores que estão envolvidos na regulação da pressão arterial. Uma parte dos íons nitrito sofre protonação sob condições ácidas, geralmente encontradas no estômago, resultando na formação de ácido nitroso, que por sua vez, se decompõe em óxido nítrico e outros derivados. O óxido nítrico, que desempenha importante papel como mensageiro intracelular e agente citotóxico nos sistemas biológicos, é sintetizado durante a conversão enzimática de *L*-arginina em *L*-citrulina pela óxido-nítrico-sintase. É altamente reativo, interagindo com muitas moléculas. Quando ocorre interação com íons

superóxido há formação de íons peroxinitrito, que são uma entidade instável com tempo de vida curto, mas elevado poder oxidante, capaz de causar danos a muitos componentes moleculares na célula, inclusive DNA e proteínas (OMAR; WEBB, 2014; PETEU; BOUKHERROUB; SZUNERITS, 2014).

Segundo Gruhlke e Slusarenko (2012), as ERSs poderiam ser definidas simplificadaamente como moléculas contendo enxofre redox-ativo capazes de oxidar ou reduzir biomoléculas em condições fisiológicas. O radical sulfanil pode ser formado pela oxidação de um elétron do grupo tiol como intermediário para a produção de dissulfeto. Em condições de estresse oxidativo, qualquer uma dessas espécies reativas (oxigênio singletto, íons superóxido, óxido nítrico ou íons peroxinitrito) é capaz de reagir com tiois, produzindo uma variedade de ERSs, como ácido sulfênico, ácido sulfínico, tiosulfatos, entre outros.

EROs, ERNs e ERSs desempenham importantes papéis fisiológicos, dentre os quais merecem destaque o controle da pressão sanguínea, a sinalização celular, as respostas celulares a infecções e a fagocitose de agentes patogênicos. Entretanto, quando em excesso no organismo, elas provocam estresse oxidativo, que tem sido associado com câncer, doenças cardiovasculares graves e aterosclerose (CAROCHO; FERREIRA, 2013). Em seu trabalho de revisão, Lobo *et al.* (2010) disponibilizam muitas informações sobre os impactos negativos das espécies reativas na saúde humana. Por exemplo, o desenvolvimento do câncer pode ocorrer quando a fita do DNA é quebrada e reconectada em uma posição diferente, alterando a ordem das bases nitrogenadas, com consequente mutação, que pode desencadear a oncogênese. Outro dano que pode ser provocado pelas espécies reativas consiste na oxidação dos lipídios presentes na membrana plasmática interferindo nos mecanismos de transporte ativo e passivo, ou até mesmo na ruptura da plasmalema levando à morte celular. O excesso dessas espécies reativas pode também ser responsável pela oxidação dos lipídios do sangue, uma reação citotóxica que pode danificar as células endoteliais que recobrem o interior dos vasos sanguíneos. Além disso, o elevado grau de oxidação desses lipídios pode levar à formação de células esponjosas, cujo acúmulo resulta no surgimento de aterosclerose, infarto, trombose e acidente vascular cerebral. Com relação às proteínas, o processo de oxidação pode alterá-las devido a três causas principais: modificação oxidativa de um aminoácido específico, quebra da ligação peptídica mediada por uma espécie reativa e ligações cruzadas nas proteínas devido a reações com produtos da peroxidação lipídica.

É importante ressaltar também que existem fatores exógenos relacionados ao estresse oxidativo no organismo, como tabagismo, consumo de álcool e exposição à radiação ionizante. A fumaça do cigarro contém diversas substâncias químicas capazes de causar danos

aos lipídios, dentre elas as ERONSs (espécies reativas de oxigênio, nitrogênio e enxofre). Os metabólitos secundários gerados a partir da ingestão de álcool são responsáveis pela diminuição dos níveis de antioxidantes dietários, como  $\alpha$ -tocoferol e ácido ascórbico. As radiações ionizantes podem gerar disfunção da cadeia transportadora de elétrons e redução da atividade de enzimas antioxidantes, como a superóxido-dismutase (BARBOSA *et al.*, 2010; LOBO *et al.*, 2010).

De acordo com Silva *et al.* (2010), na indústria alimentícia, as ERONSs são responsáveis pelas reações químicas em cadeia, que levam à peroxidação lipídica e à degradação de proteínas, acelerando o processo de deterioração dos alimentos, resultando na diminuição da vida de prateleira dos alimentos e reduzindo sua qualidade sensorial e nutricional. Tais reações são influenciadas pela temperatura, luz e presença de oxigênio, além das interferências das propriedades físicoquímicas e presença de possíveis iniciadores e/ou catalisadores no alimento.

### **2.3 Antioxidantes**

Segundo Halliwell e Gutteridge (1995), um antioxidante pode ser definido como qualquer substância capaz de inibir ou retardar significativamente a oxidação de um substrato oxidável, mesmo quando presente em concentrações relativamente baixas em comparação àquela do substrato em questão. Mais tarde a definição foi modificada, tornando-se mais simples, mas ao mesmo tempo, mais abrangente: um antioxidante é qualquer substância capaz de retardar, impedir ou remover o dano oxidativo de uma molécula-alvo (HALLIWELL, 2007).

Os antioxidantes podem agir de várias maneiras: inibindo a formação de radicais livres resultantes da iniciação da oxidação de lípidos e as reações de oxidação pelos radicais livres (oxidantes preventivos); interrompendo a propagação das reações em cadeia no processo de auto-oxidação; extinguindo o oxigênio singleto; e atuando como sinergistas com outros antioxidantes, como agentes redutores que convertem hidroperóxidos em compostos estáveis, como quelantes de metais que convertem metais pró-oxidantes (ferro e cobre) em produtos estáveis e como inibidores de enzimas pró-oxidativas como a lipo-oxigenase (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Normalmente, o mecanismo de defesa antioxidante presente no organismo é dividido em enzimático e não-enzimático (BARBOSA *et al.*, 2010; CAROCHO; FERREIRA, 2013; LOBO *et al.*, 2010).

O mecanismo enzimático de defesa antioxidante é composto pelas enzimas antioxidantes celulares, superóxido-dismutase, catalase e glutathiona-peroxidase, que são capazes de inativar o excesso de espécies reativas pela formação de produtos inertes. A superóxido-dismutase é a primeira linha de defesa do organismo e existe em três formas: (1) localizada no citoplasma é dependente de cobre e zinco; (2) encontrada na mitocôndria necessita de manganês; e (3) localizada fora da célula apresenta cobre e zinco como cofatores. Todas são responsáveis por catalisar a reação de desproporcionamento de duas moléculas do radical superóxido a uma de peróxido de hidrogênio e uma de oxigênio (LOBO *et al.*, 2010). A catalase e a glutathiona-peroxidase impedem o acúmulo de peróxido de hidrogênio e, conseqüentemente, a formação do radical hidroxil. A catalase promove a decomposição do peróxido de hidrogênio em oxigênio e água, com eficiência indiscutível: uma molécula de catalase é capaz de converter milhões de moléculas de peróxido de hidrogênio em oxigênio e água a cada segundo. A glutathiona-peroxidase, tendo o selênio como cofator, atua sobre peróxidos em geral, desproporcionando peróxido de hidrogênio em água e oxigênio. Para isto ela oxida a glutathiona reduzida em glutathiona oxidada e, para a recuperação da glutathiona oxidada, tem-se a enzima glutathiona-redutase, que não é vista como uma enzima antioxidante, porém é de grande importância para manter o ciclo redox da glutathiona (CAROCHO; FERREIRA, 2013; LOBO *et al.*, 2010).

O mecanismo não-enzimático de defesa antioxidante, por sua vez, é constituído de substâncias antioxidantes de origem endógena ou exógena.

O mecanismo não-enzimático endógeno é formado principalmente por glutathiona, melatonina, coenzima Q10 e ácido úrico. A glutathiona, ligada diretamente à ação da enzima glutathiona-peroxidase, é um peptídeo encontrado na maior parte dos organismos aeróbicos, não sendo requerida na dieta por ser sintetizada nas células a partir dos aminoácidos: ácido glutâmico, cisteína e glicina. A melatonina, hormônio encontrado naturalmente em muitos animais e conhecido quimicamente por *N*-acetil-5-metoxitriptamina, é um poderoso antioxidante capaz de atravessar as membranas plasmáticas com facilidade. Diferentemente de outros antioxidantes, a melatonina não possui ciclo redox, ou seja, ao se oxidar ela forma produtos estáveis e não pode se regenerar, por isso é conhecida como antioxidante suicida (LOBO *et al.*, 2010). A coenzima Q10 está presente em todas as células e desempenha importante papel na cadeia respiratória e em outros metabolismos celulares. Ela atua impedindo a formação de radicais lipídicos, embora exista relatos de que ela também é capaz de neutralizar radicais já formados. O ácido úrico é um dos produtos finais do metabolismo das purinas e mesmo não atuando sobre todos os radicais, como o íon superóxido, sob certas

condições ele pode apresentar efeitos protetores, sendo sua maior limitação o fato de atuar somente em condições hidrofílicas. Ele também pode exercer efeito pró-oxidante causando danos oxidativos às células, e, por isso existe um paradoxo quanto a sua ação oxidante-antioxidante (SAUTIN; JOHNSON, 2008).

Apesar de sua notável eficiência, o mecanismo não-enzimático endógeno é insuficiente, de modo que os seres humanos dependem de vários antioxidantes exógenos que aportam no organismo via dieta e servem para manter as espécies reativas em baixas concentrações. Dentre os antioxidantes de origem dietária se destacam as vitaminas, os minerais e os compostos fenólicos. Ácido ascórbico (vitamina C),  $\alpha$ -tocoferol (vitamina E),  $\beta$ -caroteno (provitamina A), licopeno, luteína e zeaxantina são alguns exemplos de compostos com potencial antioxidante (BARBOSA *et al.*, 2010).

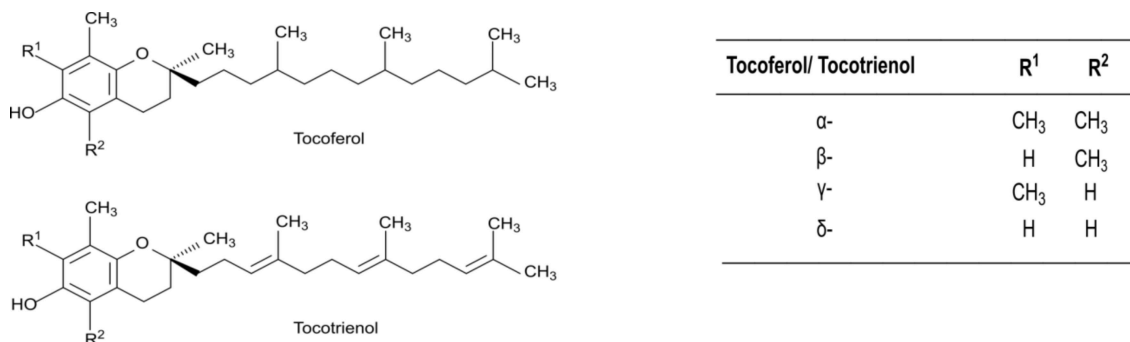
A vitamina C ou ácido ascórbico é essencial para o homem, não havendo rota de síntese no organismo humano pela inexistência da enzima gulonolactona-oxidase que participa da biossíntese dessa vitamina. Como todo nutriente essencial, sua ingestão é necessária, sendo boas fontes os alimentos de origem vegetal, incluindo as algas (LORDAN; ROSS; STANTON, 2011). Nos sistemas biológicos a maior parte da vitamina C se encontra na forma de ascorbato nos compartimentos aquosos dos tecidos por ser hidrossolúvel. Como agente antioxidante, o ascorbato pode atuar doando um elétron para entidades oxidantes potencialmente prejudiciais, tais como: radical hidroxil, radical peroxil e radical sulfanil; esta oxidação de um elétron do ascorbato resulta na produção do radical ascorbato ( $C_6H_7O_6^{\cdot}$ ), que é relativamente pouco reativo e pode ser reduzido para ascorbato por nicotinamida adenosina dinucleotídeo (NADH). O ascorbato também atua na regeneração da vitamina E, sendo, dessa forma, de grande importância para manter o potencial antioxidante do organismo. Entretanto, na presença de íons metálicos, o ascorbato também pode exercer efeitos pró-oxidantes (DU; CULLEN; BUETTNER, 2012; PISOSCHI *et al.*, 2014).

A vitamina E é o termo utilizado para duas famílias de compostos, os tocoferóis e os tocotrienóis. Estruturalmente eles diferem apenas na cadeia lateral, ocorrendo sob quatro isoformas lipossolúveis ( $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$  e  $\delta$ ). Todas as formas de vitamina E têm um anel cromanol e uma cadeia lateral; nos tocoferóis esta cadeia apresenta-se saturada e nos tocotrienóis são encontradas três duplas ligações. As diferentes isoformas de tocoferóis e tocotrienóis resultam de variações na posição (5- ou 7-) e no grupo (H ou  $CH_3$ ) do anel cromanol (Figura 1).

A atividade antioxidante da vitamina E é conferida pelo grupamento fenólico do anel cromanol; a cadeia lateral não tem tanta influência sobre essa atividade. A interrupção da peroxidação lipídica ocorre porque o átomo de hidrogênio do grupamento fenólico do anel

romanol é doado aos radicais peroxil formando radicais tocoferoxil, os quais são relativamente pouco reativos e, portanto, incapazes de dar continuidade à reação de oxidação em cadeia. Além disso, eles são regenerados pelo ácido ascórbico retomando, assim, seu potencial antioxidante. A vitamina E é considerada um dos principais antioxidantes lipossolúveis e atua como protetor das estruturas lipídicas presentes nas membranas plasmáticas (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Figura 1 – Estruturas químicas de tocoferóis e tocotrienóis.



Fonte: JIANG (2014).

As diferentes formas de vitamina E são sintetizadas pelos vegetais, sendo encontradas em algumas frutas e legumes. Amendoim, amêndoas, girassol, pistache e gergelim, comumente utilizados na alimentação, são fontes ricas de  $\alpha$ - e  $\gamma$ -tocoferol. Conseqüentemente, os óleos resultantes destas sementes são também boas fontes. Sementes de tomate, gérmen de arroz e óleo de soja são fontes de  $\delta$ -tocoferol. Os tocotrienóis, menos comuns que os tocoferóis, são encontrados principalmente no óleo de palma, na cevada e no urucum (JIANG, 2014). As algas marinhas são também fontes de vitamina E. Pires-Cavalcante *et al.* (2011) quantificaram  $\alpha$ -tocoferol em cinco espécies de algas verdes pertencentes ao gênero *Caulerpa* e observaram valores muito parecidos com àqueles encontrados em vegetais normalmente presentes e consumidos na dieta humana.

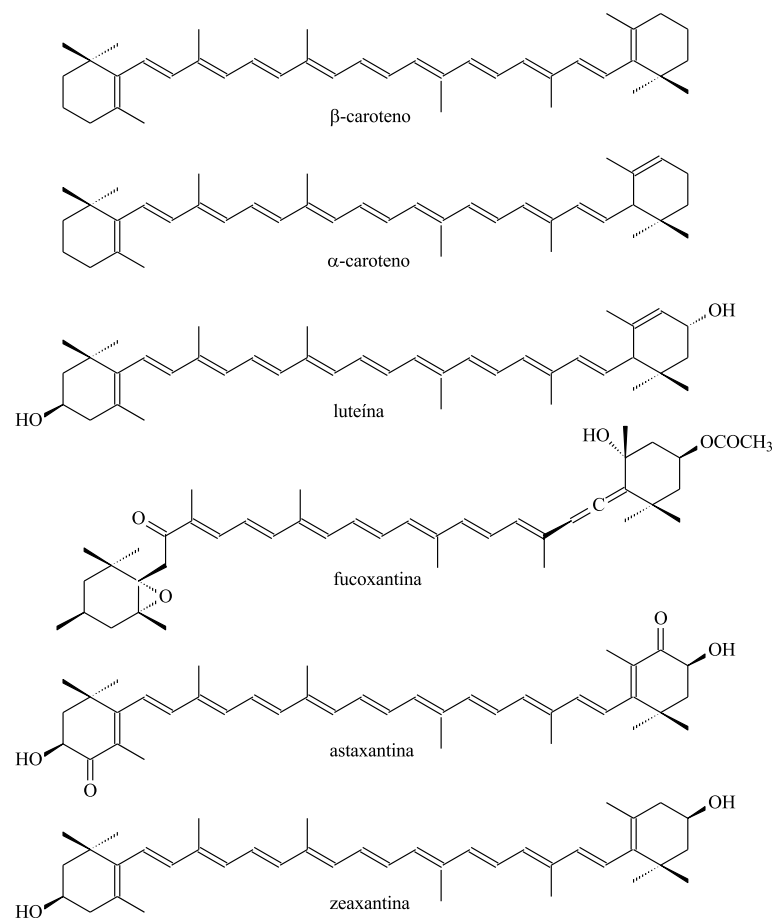
Dotados de reconhecido poder antioxidante, os carotenoides são pigmentos lipossolúveis encontrados na natureza, principalmente nos primeiros níveis tróficos devido a sua estreita relação com o processo de fotossíntese, embora possam ocorrer em organismos de outros níveis tróficos como resultado da predação e posterior absorção, sendo responsáveis pela coloração amarela, laranja e vermelha encontrada em muitos vegetais e animais. Eles são sintetizados pelos vegetais, incluindo as algas, e por micro-organismos fotossintetizantes.

Quimicamente eles são divididos em carotenos e xantofilas; os primeiros possuem somente hidrogênio e carbono em sua estrutura, enquanto os últimos são derivados oxigenados dos carotenos (PEREIRA; VALENTÃO; ANDRADE, 2014). Alguns carotenos são precursores da vitamina A por apresentarem pelo menos um anel  $\beta$ -ionona insubstituível (AZQUETA; COLLINS, 2012). Após a ingestão desses precursores, eles são convertidos em vitamina A no fígado humano (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Os carotenoides são terpenos com quarenta átomos de carbono em sua estrutura. Esta cadeia poliênica que é comum a todos os carotenoides, consiste em um longo sistema de duplas ligações conjugadas, responsável pela atividade antioxidante. A oxidação ocorre quando as duplas ligações reagem com espécies reativas como oxigênio singlete, interrompendo as reações em cadeia que ERONSs estão envolvidas (SILVA *et al.*, 2010).

Algumas moléculas de carotenos e xantofilas estão apresentadas na Figura 2.

Figura 2 – Estruturas químicas de carotenoides presentes em macroalgas marinhas.



Fonte: TAKAICHI (2011).

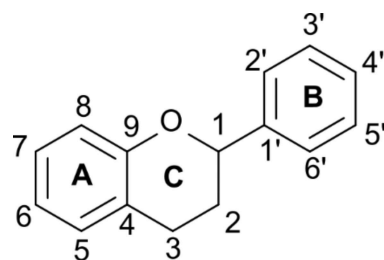


Os minerais são encontrados apenas em pequenas quantidades em animais e vegetais e desempenham importantes papéis no metabolismo geral. Selênio e zinco são os principais com relação à atividade antioxidante. O selênio pode ser encontrado nas formas orgânica (selenocisteína e selenometionina) e inorgânica (íons selenito), não atuando diretamente sobre as espécies reativas, mas como parte indispensável de algumas metaloenzimas e enzimas antioxidantes como a glutathiona-peroxidase, cujas atividades são dependentes da presença de selênio. Do mesmo modo, o zinco também não age diretamente sobre as espécies reativas, mas previne sua formação. Além disso, ele está presente na superóxido-dismutase, uma importante enzima antioxidante, e é um inibidor de NADPH-oxidases, que são enzimas geradoras de espécies reativas (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

Os compostos fenólicos são metabólitos secundários presentes em vegetais, que contribuem para a sua qualidade nutricional e os protegem contra patógenos e predadores. Eles compreendem uma variedade de moléculas com grupos hidroxila ligados a anéis aromáticos, que podem atuar como antioxidantes através da doação de átomos de hidrogênio ou elétrons. São divididos em flavonoides, ácidos fenólicos e taninos (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011; OLIVEIRA; BASTOS, 2011).

A maioria dos flavonoides é formada por quinze átomos de carbono em uma estrutura composta por dois anéis benzênicos (A e B) e outro (anel C) contendo oxigênio (Figura 3).

Figura 3 – Estrutura geral de um flavonoide.



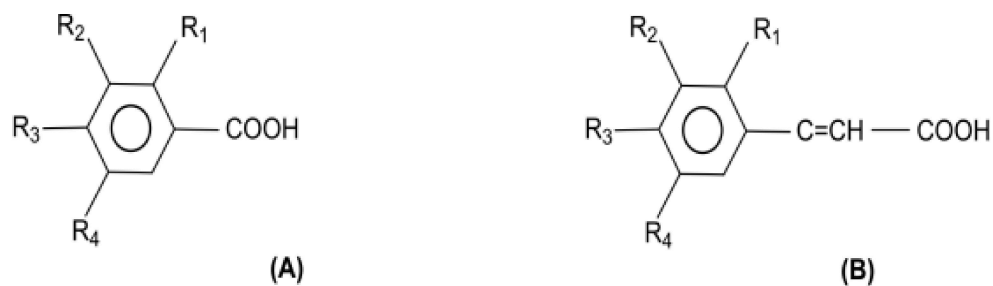
Fonte: BALASUNDRAM; SUNDRAM; SAMMAN (2006).

Variações estruturais no anel C subdividem os flavonoides em seis classes principais: flavonois, flavonas, flavanois (catequinas), flavanonas, antocianidinas e isoflavonas. As substituições nos anéis A e B originam compostos diferentes dentro de cada classe de flavonoide. Eles são agentes redutores, doadores de hidrogênio e capazes de quelar

metais, características que fazem com que eles possuam atividade antioxidante (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011).

Os ácidos fenólicos apresentam um grupo funcional carboxila e estão divididos em duas classes: os derivados do ácido hidroxibenzoico, entre os quais se encontram os ácidos salicílico, gentísico, *p*-hidroxibenzoico, protocatecuico, vanílico e gálico (Figura 4A), e aqueles derivados do ácido hidroxicinâmico, como os ácidos cinâmico, *o*-, *m*- e *p*-cumárico, cafeico, ferúlico e sinápico (Figura 4B) (SOARES, 2002). A atividade antioxidante dos ácidos fenólicos está relacionada com a proximidade do grupamento carboxila ao anel benzênico, de modo que quanto mais próximos, maior sua capacidade antioxidante (OLIVEIRA; BASTOS; 2011; SILVA *et al.*, 2010).

Figura 4 – Estruturas químicas de compostos fenólicos derivados dos ácidos hidroxibenzoico (A) e hidroxicinâmico (B).



$R_1 = \text{OH}, R_2 = R_3 = R_4 = \text{H} \rightarrow$  ácido salicílico

$R_1 = R_4 = \text{OH}, R_2 = R_3 = \text{H} \rightarrow$  ácido gentísico

$R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}, R_3 = \text{OH} \rightarrow$  ácido *p*-hidroxibenzoico

$R_1 = R_4 = \text{H}, R_2 = R_3 = \text{OH} \rightarrow$  ácido protocatecuico

$R_1 = R_4 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH} \rightarrow$  ácido vanílico

$R_1 = \text{H}, R_2 = R_3 = R_4 = \text{OH} \rightarrow$  ácido gálico

$R_1 = R_2 = R_3 = R_4 = \text{H} \rightarrow$  ácido cinâmico

$R_1 = \text{OH}, R_2 = R_3 = R_4 = \text{H} \rightarrow$  ácido *o*-cumárico

$R_1 = R_3 = R_4 = \text{H}, R_2 = \text{OH} \rightarrow$  ácido *m*-cumárico

$R_1 = R_2 = R_4 = \text{H}, R_3 = \text{OH} \rightarrow$  ácido *p*-cumárico

$R_1 = R_4 = \text{H}, R_2 = R_3 = \text{OH} \rightarrow$  ácido cafeico

$R_1 = R_4 = \text{H}, R_2 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH} \rightarrow$  ácido ferúlico

$R_1 = \text{H}, R_2 = R_4 = \text{OCH}_3, R_3 = \text{OH} \rightarrow$  ácido sinápico

Fonte: SOARES (2002).

Os taninos são compostos fenólicos de alto peso molecular, classificados como taninos hidrolisáveis, taninos derivados do ácido gálico e taninos condensados, por exemplo, epicatequina e catequina. Dentro desta divisão dos compostos fenólicos encontram-se os florotaninos, que são encontrados nas algas pardas (CABRAL *et al.*, 2011; CORNISH;

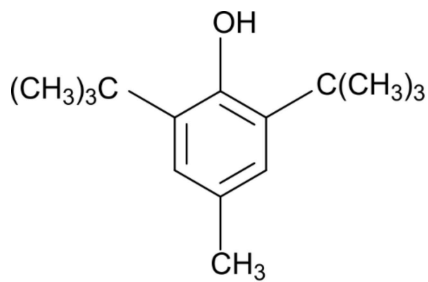
GARBARY, 2010). A atividade antioxidante dos taninos está associada a sua capacidade de quelar íons metálicos (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011).

Outras classes de compostos fenólicos menos representativas são os estilbenos e as lignanas. O principal representante da primeira classe é o resveratrol, um composto fenólico que é produzido por vários vegetais em resposta a infecções por patógenos ou a situações de estresse. Quando expostos a tais condições, ocorre rápida ativação da enzima estilbeno-sintase facilitando a biosíntese do resveratrol, comumente encontrado em uva e amendoim, que age sobre seu precursor, a fenilalanina (SUMMERLIN *et al.*, 2015). As lignanas são produzidas por dimerização oxidativa de duas unidades de fenilpropano. O recente interesse por elas e seus derivados sintéticos tem crescido por causa do potencial de aplicação na quimioterapia (IGNAT; VOLFF; POPA, 2011).

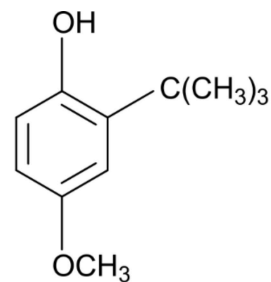
Além da enorme variedade de antioxidantes mencionados, existem aqueles, sintéticos ou naturais, utilizados rotineiramente pelas indústrias de alimentos e medicamentos, especialmente nos produtos que contêm óleos e gorduras, com a finalidade de protegê-los contra a oxidação. Antioxidantes fenólicos sintéticos, como butil-hidroxitolueno (BHT) e butil-hidroxianisol (BHA), são amplamente usados na indústria alimentícia, cosmética e terapêutica. Por possuírem algumas propriedades físicas indesejáveis (alta volatilidade e instabilidade em temperaturas elevadas) e possíveis efeitos maléficos à saúde humana, incluindo efeitos carcinogênicos, seu uso é regulamentado em diversos países (LOBO *et al.*, 2010).

No Brasil o uso de antioxidantes sintéticos como BHT, BHA, galato de propila (GP) e terc-butil hidroquinona (TBHQ) (Figura 5), em alimentos é regulamentado pela Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA, 2011), que, de um modo geral, limita em 0,01 para BHT e GP e em 0,02 para BHA e TBHQ, ambos expressos em grama (g) por 100 g de gordura do alimento. No Canadá ou na Comunidade Europeia, o uso do TBHQ não é permitido (CORNISH; GARBARY, 2010). Entre 2011 e 2012, a Autoridade de Segurança Alimentar Europeia (EFSA) reavaliou todas as informações disponíveis sobre BHT e BHA e estabeleceu doses diárias aceitáveis, expressas em miligrama (mg) por quilograma (kg) peso corporal, de 0,25 e 1,0, respectivamente (CAROCHO; FERREIRA, 2013).

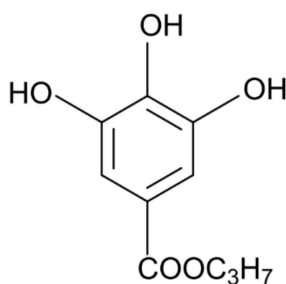
Figura 5 – Estruturas de antioxidantes sintéticos



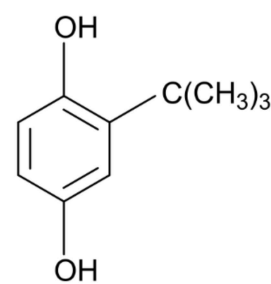
Terc-butil-hidroxitolueno (BHT)



Terc-butil-hidroxi-anisól (BHA)



Propil galato (PG)



Terc-butil-hidroquinona (TBHQ)

Fonte: ALVES *et al.* (2010).

Com a atual facilidade de informações, os consumidores têm se tornado cada vez mais exigentes, dando preferência a produtos alimentícios mais saudáveis. Com isso, eles impulsionam uma mudança de atitude por parte da indústria alimentícia, para que ela utilize matéria-prima e aditivos de qualidade e não prejudiciais à saúde, visando agradar aos clientes. Assim, algumas linhas de pesquisa, dentre elas a de antioxidantes provindos de fontes naturais, alavanca como área de interesse imediato para vários setores, como nutrição e medicina, no sentido de encontrar respostas para a promoção da saúde das pessoas.

A pesquisa de algas como fontes de antioxidantes naturais iniciou no Japão, em 1980, com Fujimoto e Kaneda. Passados mais de trinta anos o interesse por essa fonte de antioxidantes só tem crescido tendo em vista que não apresentam riscos à saúde humana (CHO *et al.*, 2011; FARASAT *et al.*, 2014; GANESAN *et al.*, 2011; O'SULLIVAN *et al.*, 2011; RAMAH *et al.*, 2014; SHANAB; SHALABY; EL-FAYOUMY, 2011). No Brasil, mesmo com mais de 8.500 km de costa litorânea, as pesquisas nessa área são incipientes e escassas, mas com promessa de crescimento (LIMA, 2013; PIRES-CAVALCANTE, 2012; RAYMUNDO; HORTA; FETT, 2004; ROCHA *et al.*, 2007; SOUZA *et al.*, 2011).

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.1 Coleta das algas

Cinco espécies de algas marinhas pertencentes ao filo Chlorophyta, ordem Bryopsidales, família Caulerpaceae: *Caulerpa cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera*, *C. racemosa* e *C. sertularioides* (Figura 6) foram coletadas mensalmente, de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maré baixa. As algas foram transportadas para o laboratório e lavadas com água destilada para a retirada de epífitas e impurezas macroscópicas. Em seguida, o excesso de água foi drenado e, então, as algas foram congeladas, sendo depois desidratadas pelo processo de liofilização. O material liofilizado foi utilizado para a preparação dos extratos algáceos das cinco espécies do gênero *Caulerpa*.

As exsiccatas de cada espécie foram preparadas e estão depositadas no Herbário Professor Prisco Bezerra da Universidade Federal do Ceará, sob os números de 47303 a 47307.

Figura 6 – Cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero *Caulerpa*.



FONTE: ALGAEBASE (2015).

### 3.2 Preparação dos extratos

Os extratos algáceos foram preparados em metanol (MeOH) na proporção 1:20 (p:v) sob agitação por 1 h a 20°C em um agitador orbital. Em seguida, foram filtrados em papel de filtro, e os resíduos, submetidos a mais duas extrações sucessivas.

Os três extratos metanólicos foram reunidos e concentrados em um evaporador rotativo. Porções de 10 mg do extrato concentrado foram suspensas em 10 mL de MeOH (50%). Esse extrato (1.000 µg/mL) foi utilizado para a determinação do conteúdo fenólico total (CFT).

A atividade antioxidante *in vitro* foi medida através da capacidade de sequestrar o radical DPPH, do poder de redução de íons férricos (FRAP), do branqueamento do β-caroteno (BCB) e da habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC), nas concentrações 5, 50, 500 e 1.000 µg/mL, preparadas a partir do extrato.

O antioxidante sintético butil-hidroxianisol (BHA) foi utilizado como controle positivo nas determinações de DPPH, FRAP e BCB, e o quelante de metais EDTA, nas de FIC. Os controles positivos foram utilizados nas mesmas concentrações dos extratos algáceos.

### 3.3 Determinação do conteúdo fenólico total (CFT)

CFT foi estimado pelo método de Folin-Ciocalteu descrito por Kumar, Ganesan e Rao (2008). A 200 µL dos extratos algáceos foram adicionados 1,4 mL de água destilada, 100 µL do reagente de Folin-Ciocalteu e 300 µL de carbonato de sódio (20%). Depois de 30 min de incubação em temperatura ambiente e no escuro, a absorbância foi medida em 760 nm em uma leitora de microplacas (Biochrom Asys UVM 340).

CFT foi calculado com base na curva padrão de ácido gálico (G7384 Sigma-Aldrich), no intervalo de concentração de 0,005 a 0,5 mg/mL, e os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE) por grama de extrato algáceo.

### 3.4 Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

A atividade antioxidante *in vitro* foi determinada através da capacidade de sequestrar o radical DPPH, do poder de redução de íons férricos (FRAP), do branqueamento do β-caroteno (BCB) e da habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC).

### 3.4.1 Capacidade de sequestrar o radical DPPH

A capacidade de sequestrar o radical DPPH foi determinada de acordo com o método de Blois (1958). A porcentagem de sequestro foi calculada com base nas absorbâncias dos tubos denominados amostra, branco da amostra e controle de acordo com a equação 1.

A amostra consistiu na mistura de uma alíquota de 0,5 mL dos extratos algáceos e 2,5 mL da solução metanólica de DPPH a 75  $\mu$ M. No branco da amostra, a solução metanólica de DPPH foi substituída por MeOH e, no controle, foram utilizados somente 3 mL da solução metanólica de DPPH a 75  $\mu$ M. Os tubos (amostra, branco da amostra e controle) foram incubados por 30 min em temperatura ambiente e no escuro, e as absorbâncias lidas em 517 nm em leitora de microplacas (Biochrom Asys UVM 340).

$$\text{Capacidade de sequestro do radical DPPH (\%)} = \left[ 1 - \frac{(\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco da amostra}})}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \right] \times 100\% \quad (1)$$

### 3.4.2 Poder de redução de íons férricos (FRAP)

FRAP foi determinado pela metodologia descrita por Ganesan, Kumar e Bhaskar (2008). A 1 mL dos extratos algáceos foram adicionados 2,5 mL de tampão fosfato (0,2 M; pH 6,6) e 2,5 mL de ferrocianeto de potássio (1%). Esta mistura foi incubada por 20 min a 50°C, resfriada em água gelada e, então, foram acrescentados 2,5 mL de ácido tricloroacético (10%). Após agitação, foram retirados 2,5 mL e misturados com 2,5 mL de água destilada e 0,5 mL de cloreto férrico (0,1%). Após 10 min de incubação à temperatura ambiente, a absorbância foi lida em 700 nm em leitora de microplacas (Biochrom Asys UVM 340). O aumento da absorbância indicou incremento do FRAP, ou seja, quanto maior a absorbância, maior o FRAP.

A quantificação do FRAP foi feita com base na curva padrão do ácido gálico (G7384 Sigma-Aldrich), no intervalo de concentração de 1,95 a 250 mg/mL, e os resultados expressos em mg de ácido gálico equivalente (AGE) por grama de extrato algáceo.

### 3.4.3 Branqueamento do $\beta$ -caroteno (BCB)

O branqueamento do  $\beta$ -caroteno foi executado de acordo com o método de Chew *et al.* (2008), com pequenas modificações. Foram adicionados 2,5 mg de  $\beta$ -caroteno e 40 mg

de ácido linoleico, ambos solubilizados em clorofórmio, a 400 mg do emulsificante Tween 40. Em um evaporador rotativo, o clorofórmio foi evaporado e 100 mL de água ultrapura oxigenada foram adicionados. Em seguida, a mistura foi vigorosamente agitada formando uma emulsão. Foram adicionados 3 mL dessa emulsão a 1 mL dos extratos algáceos e foi feita uma leitura de absorbância inicial em 470 nm. Os tubos foram incubados por 1 h a 50°C e, após esse tempo, foi realizada uma segunda leitura de absorbância no mesmo comprimento de onda, sendo as duas leituras realizadas em leitora de microplacas (Biochrom Asys UVM 340). A atividade antioxidante foi calculada pela equação 2.

$$\text{Atividade antioxidante (\%)} = \left( \frac{\text{Abs}_{1\text{h}}}{\text{Abs}_{\text{inicial}}} \right) \times 100\% \quad (2)$$

#### **3.4.4 Habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC)**

O procedimento de determinação do FIC obedeceu ao descrito por Wang, Jónsdóttir e Ólafsdóttir (2009). A amostra consistiu em 1 mL dos extratos algáceos, 1,35 mL de água destilada, 50 µL de cloreto ferroso (2 mM) e 100 µL de ferrozina (5 mM). No branco da amostra, 100 µL de água destilada substituíram a ferrozina, enquanto no controle, 1 mL de água foi usado em vez do extrato algáceo. Amostra, branco da amostra e controle foram incubados por 10 min em temperatura ambiente e a absorbância medida em 562 nm em leitora de microplacas (Biochrom Asys UVM 340). FIC foi calculado pela equação 3.

$$\text{Habilidade de quelação de íons ferrosos (\%)} = \frac{[\text{Abs}_{\text{controle}} - (\text{Abs}_{\text{amostra}} - \text{Abs}_{\text{branco da amostra}})]}{\text{Abs}_{\text{controle}}} \times 100\% \quad (3)$$

### **3.5 Radiação solar**

Os dados de radiação solar (kJ/m<sup>2</sup>), referentes ao período de coleta, compreendido entre janeiro e dezembro de 2006, foram obtidos da Plataforma de Coleta de Dados localizada em Caucaia-CE (Coordenadas UTM: 535033,372821 / 9586846,58848) e fornecidos pela Fundação Cearense de Meteorologia e Recursos Hídricos (FUNCEME).

A radiação solar que incidiu sobre as algas durante a maré baixa dos dias em que as coletas foram realizadas foi somada e o somatório, considerado o valor da radiação solar ao qual a alga ficou exposta no dia da coleta.



### 3.6 Análises estatísticas

Os resultados de CFT dos extratos das cinco espécies de alga foram submetidos à análise de variância unifatorial, seguida do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

Nas metodologias da capacidade de sequestro do radical DPPH, BCB e FIC não foram utilizadas análises estatísticas.

No ensaio do poder de redução (FRAP), de maneira semelhante às demais metodologias, não foi realizada análise estatística. Já na quantificação do FRAP nos extratos das cinco espécies de alga foi comparada pela análise de variância unifatorial, seguida do teste de Tukey ( $p < 0,05$ ).

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A variação sazonal da atividade antioxidante *in vitro* através da quantificação de compostos fenólicos totais (CFT), da capacidade de sequestrar o radical 2,2 difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), do poder de redução de íons férricos (FRAP), do branqueamento do  $\beta$ -caroteno (BCB) e da habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC) nos extratos de cinco espécies de clorófitas do gênero *Caulerpa*, coletadas mensalmente de janeiro a dezembro de 2006 na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, foi avaliada neste trabalho.

### 4.1 Determinação do conteúdo fenólico total (CFT)

O reagente de Folin usado na determinação do CFT pelo método de Folin-Ciocalteu contém fosfomolibdato-fosfotungstato em alto estado de oxidação e, nesta condição, sua coloração é amarela. Em meio alcalino, quando este reagente entra em contato com agentes redutores, como os compostos fenólicos presentes na amostra (extrato algáceo), o fosfomolibdato-fosfotungstato é reduzido a molibdênio, mudando sua coloração para azul (SILVA *et al.*, 2010). Assim, quanto maior a quantidade de compostos fenólicos presentes no extrato algáceo, mais intensa foi a cor azul desenvolvida.

Os resultados de CFT, expressos em mg AGE/g extrato das cinco espécies de alga, foram determinados com base na curva padrão de ácido gálico (Equação 4) e apresentaram variação significativa ao longo dos doze meses de análise ( $p < 0,05$ ).

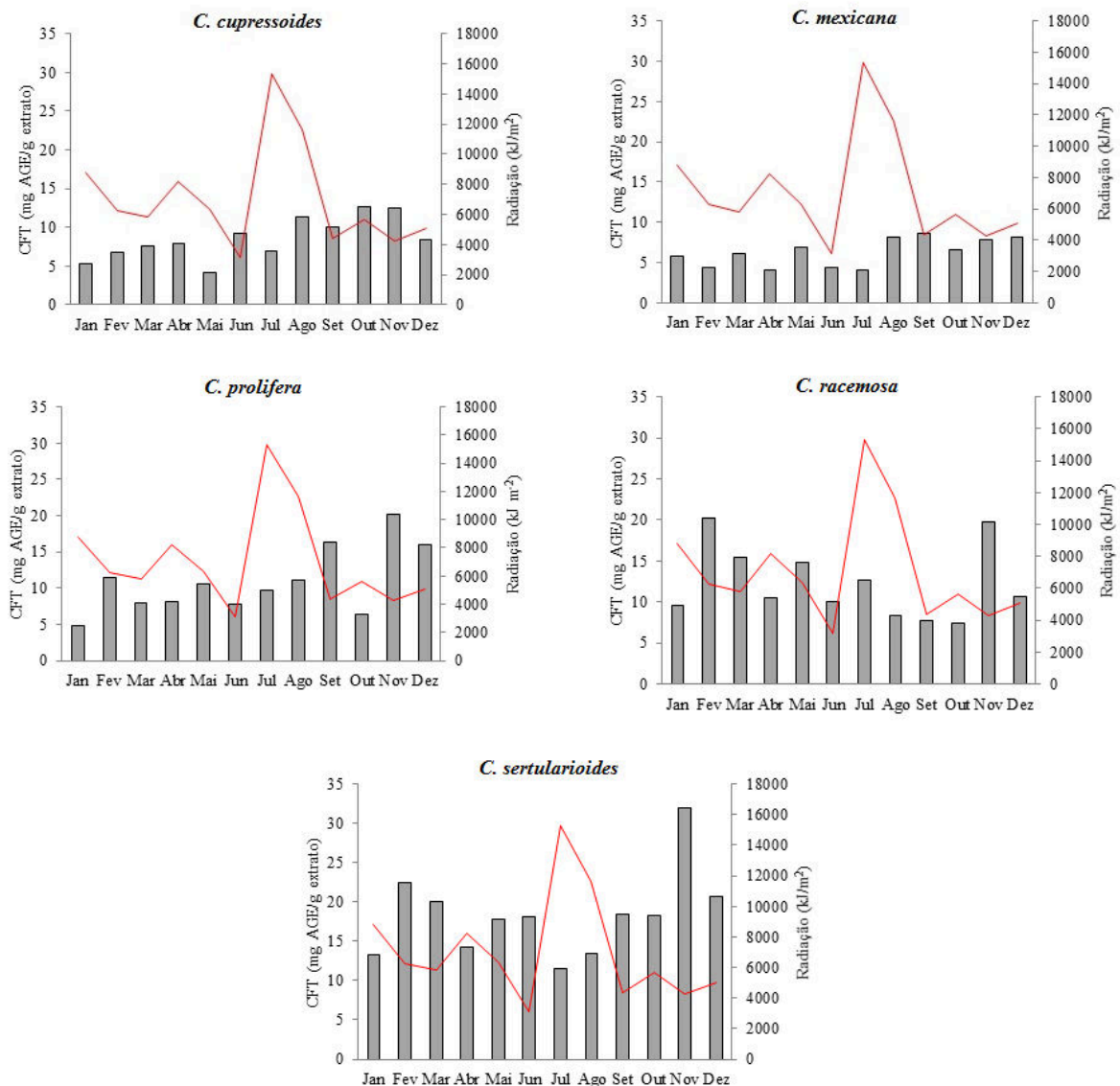
$$y = 0,0755 + 4,8965x \quad n = 8 \quad r = 0,9992 \quad (4)$$

Os intervalos de variação para cada espécie foram os seguintes: 4,11 a 12,69 (*C. cupressoides*), 4,07 a 8,69 (*C. mexicana*), 4,81 a 20,12 (*C. prolifera*), 7,34 a 20,21 (*C. racemosa*) e 11,47 a 32,01 (*C. sertularioides*), que corresponderam a aumentos de 3,1, 2,1, 4,2, 2,8 e 2,8 vezes, respectivamente.

Com exceção da *C. racemosa*, as demais espécies apresentaram um padrão de variação em que os maiores valores se concentraram no segundo semestre do ano e os menores, no primeiro (Figura 7). Apesar de haver variação estatisticamente significativa, do ponto de vista biológico, esta não é intensa o suficiente para permitir que seja dado destaque a um mês ou um período do ano. Parece que em condições de elevada radiação solar e

consequentemente elevada temperatura, muito comum no litoral do Ceará, as algas precisam produzir uma determinada quantidade de compostos fenólicos para sua proteção. Este comportamento foi relatado por Holzinger e Lütz (2006) ao estudarem os efeitos da radiação UV sobre a estrutura e funções metabólicas das algas.

Figura 7 – Conteúdo fenólico total (CFT) dos extratos metanólicos de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero *Caulerpa* coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.



Trigui *et al.* (2013) pesquisaram a sazonalidade na composição fenólica da alga verde *Ulva rigida* coletada na Tunísia e quantificaram maiores valores de compostos fenólicos no final do inverno (fevereiro) e início da primavera (março).

Entretanto, outros trabalhos relataram ausência de diferenças sazonais no CFT como verificado por Ramah *et al.* (2014), que estudaram sete espécies de algas marinhas das

Maldívias, costa leste da África e, com exceção da espécie *Padina gymnospora*, nenhuma outra apresentou diferença significativa ( $p < 0,001$ ), quanto aos valores de CFT entre inverno e verão. Tal resultado é diferente deste trabalho, em que todas as cinco espécies de *Caulerpa* exibiram diferentes valores de CFT ao longo do ano.

O extrato de *C. cupressoides* exibiu o menor valor de CFT (4,11 mg AGE/g extrato) em maio e o maior valor (12,69 mg AGE/g extrato) ocorreu no mês de outubro.

O extrato de *C. mexicana* apresentou o menor valor de CFT de 4,07 mg AGE/g extrato, em julho, valor esse semelhante ao exibido pela *C. cupressoides* em maio. Já no mês de setembro ela atingiu o maior valor (8,69 mg AGE/g extrato), sendo entretanto, inferior ao menor valor da *C. sertularioides*.

Mesmo não apresentando as maiores quantidades de CFT dentre as espécies analisadas neste trabalho, o extrato de *C. prolifera* foi o que apresentou maior variação ao longo do ano, com o maior valor registrado sendo cerca de quatro vezes superior ao menor. Os valores mínimo, verificado em janeiro, e máximo, em novembro, foram, respectivamente, 4,81 e 20,12 mg AGE/g extrato.

Nos extratos de *C. racemosa* nos meses de agosto, setembro e outubro, onde não houve diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,0001$ ), foram observados os menores valores de CFT sendo igual a 7,34 mg AGE/g extrato. Já o maior valor, de forma contraditória as demais espécies, *C. cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera* e *C. sertularioides*, foi verificado no primeiro semestre do ano, em fevereiro, e foi de 20,21 mg AGE/g extrato. Esse resultado poderia ser decorrente da morfologia, entretanto não é isso que ocorre, pois das cinco espécies estudadas (Figura 6), a única que se diferencia morfologicamente é a *C. prolifera* que apresenta uma lâmina oval ou alongada, ereta, achatada e não dividida. Já as outras têm estruturas distintas: *C. cupressoides* – ramos verticais, paralelos e colunares; *C. mexicana* – ramos achatados semelhantes a penas; *C. racemosa* – ramos formados por vesículas esféricas preenchidas com substância mucilaginosa; e *C. sertularioides* – ramos cilíndricos também semelhantes a penas (LITTLER *et al.*, 1989).

O extrato de *C. sertularioides* foi o mais rico em CFT. O maior valor, ocorrido em novembro (32,01 mg AGE/g extrato), foi 2,5, 3,7, 1,6 e 1,6 vezes superior aos maiores valores de CFT da *C. cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera* e *C. racemosa*, respectivamente. Mesmo o menor valor (11,47 mg AGE/g extrato), observado em julho, foi superior ao maior CFT da *C. mexicana*.

Os compostos fenólicos agem como antioxidantes devido a sua habilidade em doar hidrogênio ou elétrons e, também, devido à estabilidade dos seus radicais intermediários

que impedem a oxidação especialmente de lipídios (SILVA *et al.*, 2010). Os resultados de CFT variando entre 4,07 a 32,01 mg AGE/g extrato deste trabalho são superiores aos alguns encontrados na literatura, como por exemplo Farasat *et al.* (2014) avaliaram cinco algas verdes do gênero *Ulva* da costa norte do Golfo Pérsico que exibiram valores de CFT de 1,30 a 5,10 mg AGE/g extrato, em que nenhuma das cinco espécies de *Caulerpa*, ao longo de doze meses de coleta, apresentaram CFT inferiores a 4,00 mg AGE/g extrato. Das cinco algas estudadas por eles, a *Ulva clathrata* foi a que exibiu maior CFT, os autores acreditam que a exposição solar prolongada tenha resultado na maior produção de compostos bioativos, como os fenólicos e flavonóides, pois das espécies analisadas *U. clathrata* é a única encontrada em locais onde a exposição é maior. O presente trabalho também apresentou, em geral, valores de CFT superiores aos relatados por Li *et al.* (2012) que determinaram condições ótimas de extração para a quantificação do CFT (etanol a 60%; 50°C; 40 minutos; 1:40) e encontraram em *C. racemosa*, coletada em uma Província da República Popular da China valor de aproximadamente 6 mg AGE/g extrato. Foon *et al.* (2013) pesquisaram a eficiência da extração de compostos bioativos de algas comestíveis e verificaram que entre o agitador e o Sohlex, o último é mais eficaz para a extração de CFT.

Entretanto, os valores de CFT dos extratos algáceos de *Caulerpa*, obtidos neste trabalho, são inferiores a alguns resultados da literatura como, os encontrados por Martins *et al.* (2013) ao analisarem 26 espécies de algas marinhas da costa sudeste do Brasil, estando entre elas a *C. mexicana* que exibiu cerca de 24 vezes mais compostos fenólicos que a mesma espécie estudada neste trabalho. Tal resultado pode talvez ser consequência do processo de extração, em que os autores supracitados utilizaram outro solvente (diclorometano:metanol, na proporção 1:1), além do processo de extração ter sido mais prolongado (3 dias). Entretanto, de forma contraditória, existem trabalhos que mostram uma relação direta, até determinado ponto, entre a polaridade de solventes e a eficiência de extração de compostos fenólicos (AUEZOVA *et al.*, 2013; LÓPEZ *et al.*, 2011; RAJAURIA *et al.*, 2013). Talvez a diferença entre os resultados dos dois trabalhos seja explicada mais pelo tempo de extração do que propriamente devido aos solventes usados. Os resultados de CFT das algas do gênero *Caulerpa*, do presente trabalho, também são menores que os observados nas algas verdes, no extrato metanólico da *Enteromorpha spirulina* (COX; ABU-GHANAM; GUPTA, 2010) e no extrato etanólico da *E. prolifera* (CHO *et al.*, 2011). Já quando comparados com os dados publicados por Soltani *et al.* (2011) para a alga verde *Cladophora glomerata* (3.077 mg AGE/g extrato), os resultados do presente trabalho representaram apenas uma pequena fração. O processo de extração dos autores incluiu etanol a 70% como solvente e ultrassom. Mesmo o

maior valor de CFT (32,01 mg AGE/g extrato) deste trabalho, encontrado na *C. sertularioides*, foi inferior ao obtido por Ramah *et al.* (2014) na ocrófito *P. gymnospora* (119,00 mg AGE/g extrato). Tal resultado já era esperado, visto que, algas pardas são ricas em fucoxantina (D’ORAZIO *et al.*, 2012) e florataninos (WANG *et al.*, 2012), classes de compostos fenólicos que apresentam atividades biológicas, como antidiabética, antiobesidade e anticâncer.

A extração dos compostos fenólicos em algas pode ser influenciada por fatores como tipo de solvente e sua concentração, temperatura e tempo de extração, e a proporção entre alga e solvente. Sabe-se que os solventes e os métodos ou equipamentos de extração são relacionados com o rendimento e a quantidade de compostos fenólicos obtidos (TIERNEY *et al.*, 2013). Outros influenciadores são local e época de coleta e condições ambientais como radiação, salinidade e temperatura (JIMÉNEZ-ESCRIG; GÓMEZ-ORDÓÑEZ; RUPÉREZ, 2012). Além desses fatores, a extração do CFT também pode variar com as espécies, como foi visto neste trabalho, em que cinco espécies, pertencentes ao mesmo gênero (*Caulerpa*), coletadas no mesmo local e época, portanto submetidas às mesmas condições ambientais, se mostraram de maneira diferente com relação à quantidade dos compostos fenólicos. Esse comportamento também foi observado por Kumar *et al.* (2011), ao avaliaram o potencial antioxidante de três algas verdes do gênero *Caulerpa* coletadas em Gujarat, Índia.

Segundo a FUNCEME, a maior radiação solar registrada ocorreu no mês de julho de 2006, não coincidindo com valores máximos de CFT em nenhuma das espécies de alga analisadas. Embora existam relatos da influência da luz sobre a produção de CFT nas algas como forma de proteção (HOLZINGER; LÜTZ, 2006), não foi possível visualizar este comportamento no material analisado. Os ventos dos meses de julho e agosto no litoral do Ceará concorrem para amenizar a temperatura, de modo que além da radiação solar outras variáveis devem exercer influência sobre a síntese de compostos com atividade antioxidante.

Em algumas algas subantárticas a indução da síntese de florataninos, uma classe de compostos fenólicos, ocorre em pequeno intervalo de tempo (2 - 3 horas), entretanto para algas encontradas em profundidades inferiores a 10 m é necessário maior tempo para a produção desses compostos. Em outras algas onde eles estão ausentes, a indução de compostos fenólicos também é demorada (HUOVINEN; GÓMEZ, 2013). Assim, talvez a alta radiação observada em julho no presente trabalho não tenha levado a uma resposta imediata na produção dos compostos fenólicos, uma vez que essa variável ambiental foi medida no dia da coleta. Logo, se a determinação do CFT tivesse sido feita em outro momento, é possível que os valores observados tivessem sido diferentes.

A grande variabilidade observada nos compostos fenólicos nas algas pode ter origem em fatores ambientais externos, como a herbivoria, luz, profundidade, salinidade e nutrientes, bem como a partir de fatores intrínsecos, como a idade e/ou estágio reprodutivo. Todos esses fatores podem agir sobre a regulação das expressões da síntese desses compostos bioativos, dentre eles os fenólicos, induzindo a variações qualitativa e quantitativa, sem falar das variações interindividuais (FARVIN; JACOBSEN, 2013).

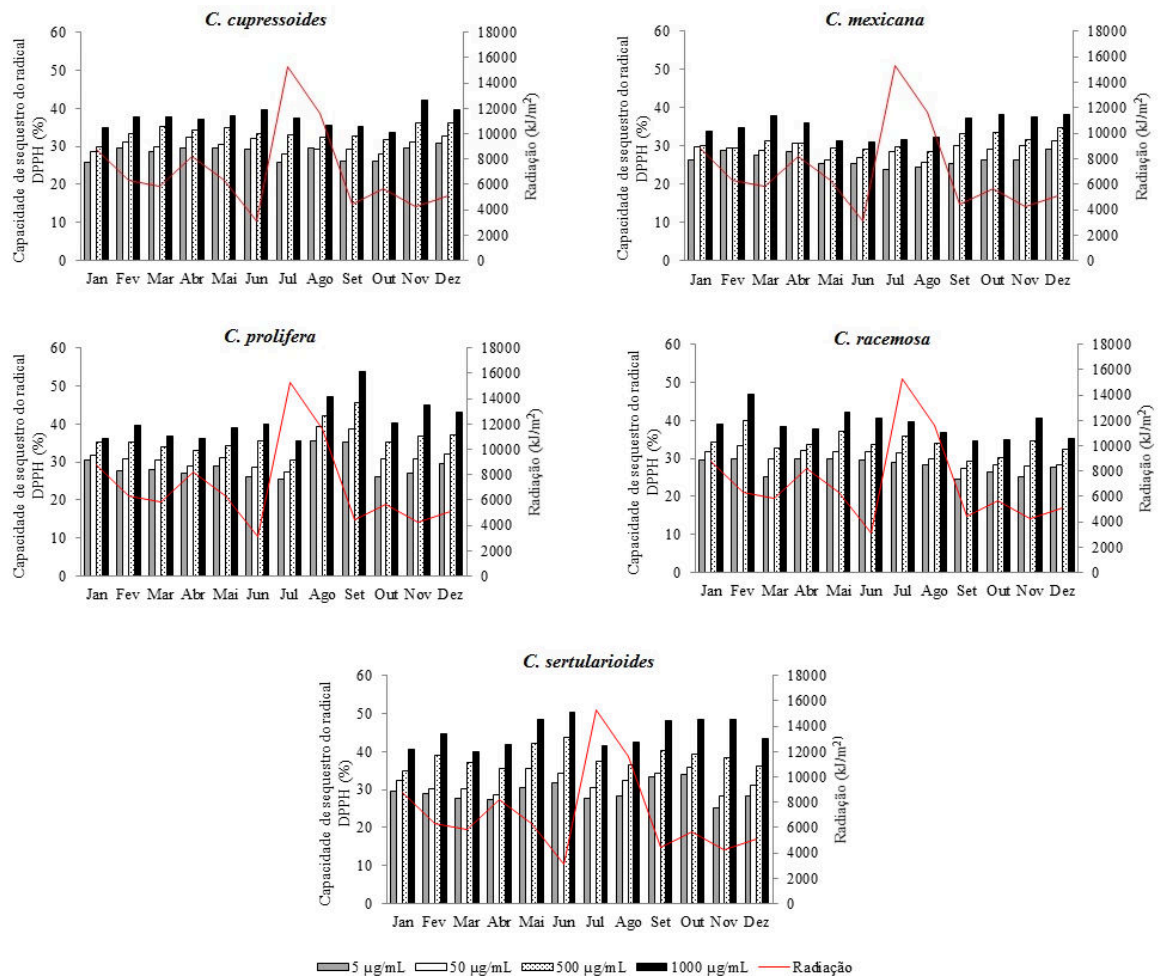
## **4.2 Determinação da atividade antioxidante *in vitro***

### **4.2.1 Capacidade de sequestrar o radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH)**

O método do sequestro do radical DPPH, dentre os ensaios antioxidantes colorimétricos, tem sido muito utilizado na busca de novos compostos antioxidantes de fontes naturais devido sua simplicidade, rapidez e facilidade de comparação com outras fontes. A molécula de DPPH é caracterizada como radical livre estável que apresenta uma coloração roxa, com absorção máxima no comprimento de onda de 520 nm. O método consiste em avaliar a capacidade antioxidante de uma molécula, através da sua atividade em sequestrar o radical DPPH. Quando a solução de DPPH entra em contato com essa substância (extrato algáceo) que age como doadora de átomos de hidrogênio, o DPPH é reduzido a DPPH<sub>2</sub> (difenil-picril-hidrazina), ocorrendo mudança na coloração de roxa para amarela, com o concomitante decréscimo da absorbância (ALVES *et al.*, 2010; MISHRA; OJHA; CHAUDHURY, 2012).

A atividade antioxidante das cinco espécies de *Caulerpa* apresentou variação sutil ao longo do ano sem demonstrar relação com a radiação solar (Figura 8). Foi verificado um pequeno incremento na atividade com aumento na concentração dos extratos algáceos. Dentre todas as espécies, a *C. mexicana* foi responsável pela menor atividade (23,9%), que ocorreu no mês de julho na concentração de 5 µg/mL. Já a maior atividade (53,9%) foi exibida em setembro pela *C. prolifera* na concentração de 1.000 µg/mL. A atividade no controle positivo (BHA) nas quatro concentrações (5; 50; 500; 1.000 µg/mL) foi, respectivamente, 42,3%, 93,5%, 96,7% e 97,7%, superior às atividades dos extratos algáceos.

Figura 8 – Capacidade de sequestrar o radical DPPH dos extratos metanólicos, em quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000  $\mu\text{g/mL}$ ), de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero *Caulerpa* coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.



A literatura é escassa quando se trata de trabalhos que relatem a sazonalidade na atividade antioxidante de extratos algáceos. Assim, da mesma forma que o presente trabalho, onde não se conseguiu estabelecer relação alguma entre a radiação e a atividade antioxidante, existe apenas o relato de Shanab, Shalab e El-Fayoumy (2011) que também não verificaram essa relação, nem qualquer variação ao longo das estações do ano, trabalhando com extratos de etanol ou de éter de petróleo da alga verde *Enteromorpha compressa*. Entretanto, resultados diferentes do presente trabalho foram obtidos pelos autores supracitados, para os demais extratos, preparados com clorofórmio, acetato de etila ou água, onde os autores verificaram que na primavera essa atividade foi cerca de duas vezes superior àquela observada nas outras estações do ano. Outro relato que se opõe ao deste trabalho, em que foi estabelecida relação entre a radiação e, portanto, a temperatura da água, e a atividade



antioxidante, foi o realizado por Trigui *et al.* (2013) ao avaliarem a sazonalidade na atividade antioxidante da *Ulva rigida*, verificaram que a capacidade de sequestro do radical DPPH foi maior em meses que a temperatura da água era menor que 15°C. Em contrapartida, nos meses quentes com temperatura acima de 20°C, como o verão e o outono, houve um declínio na atividade, indicando uma relação inversa entre a temperatura da água e a capacidade de sequestro desse radical.

O extrato de *C. cupressoides* apresentou as maiores atividades de 30,7%, 32,8%, 36,3% e 42,0% nas concentrações 5, 50, 500 e 1.000 µg/mL, respectivamente, que foram observadas no mês de dezembro, com exceção da última concentração que foi em novembro. Com relação as mais baixas atividades, seguindo na mesma ordem acima, foram 25,6% (julho), 27,9% (julho), 29,9% (janeiro) e 33,6% (outubro). O resultado observado em novembro (42%) foi semelhante ao exibido pela menor concentração do controle positivo (BHA).

O extrato de *C. mexicana* apresentou nas concentrações 5, 50, 500 e 1.000 µg/mL, as maiores atividades de 28,9%, 31,4%, 34,7% e 38,2%, respectivamente, que foram observadas no mês de dezembro. Com relação as mais baixas atividades, seguindo a sequência acima, foram 23,9% (julho), 25,6% (agosto), 28,4% (agosto) e 31,1% (junho). A *C. mexicana* apresentou a menor atividade no mesmo mês da *C. cupressoides*. O melhor resultado, de 38,2% observado em dezembro, foi 2,5 vezes menor que o exibido pelo BHA na mesma concentração.

A atividade de sequestro do radical DPPH na *C. prolifera*, concentração de 5 µg/mL variou de 25,3% (julho) a 35,5% (agosto). Na concentração 50 µg/mL, a variação foi de 27,4% (julho) a 39,2% (agosto). Na de 500 µg/mL os resultados foram de 30,6% (julho) a 45,5% (setembro), e esses mesmos meses (julho e setembro) foram verificados com a concentração de 1.000 µg/mL, em que a mais baixa atividade foi de 35,6% e a maior foi de 53,9%. A *C. prolifera* apresentou a menor atividade de sequestro do DPPH no mesmo mês e concentração da *C. cupressoides* e *C. mexicana*, sendo as duas primeiras ligeiramente superiores à *C. mexicana*. Já no mês de setembro, com a concentração 1.000 µg/mL, a *C. prolifera* apresentou seu melhor resultado nesse ensaio antioxidante, sendo capaz de sequestrar 53,9% do DPPH. Foi o maior resultado dentre as cinco espécies e também superior ao BHA em sua menor concentração.

Os valores mínimos e máximos da atividade de sequestro do radical DPPH (%) para a *C. racemosa* foram 24,6% (setembro) e 30,0% (abril e maio) para a concentração de 5 µg/mL; 27,3% (setembro) e 33,2% (fevereiro) para a de 50 µg/mL; 29,2% (setembro) e

40,1% (fevereiro) para a de 500 µg/mL; e 34,6% (setembro) e 47,0% (fevereiro) para a maior concentração, a de 1.000 µg/mL. Essa maior eficiência detectada no mês de fevereiro (1.000 µg/mL) foi superior àquelas observadas para *C. cupressoides*, *C. mexicana* e também para a menor concentração do BHA.

Para a *C. sertularioides* os valores da atividade de sequestro do radical DPPH (%) foram mínimos e máximos, respectivamente, 25,3% (novembro) e 33,8% (outubro) para a concentração de 5 µg/mL, 28,2% (novembro) e 35,8% (outubro) para a de 50 µg/mL, 34,9% (janeiro) e 43,7% (junho) para a de 500 µg/mL e 39,9% (março) e 50,4% (junho) para a de 1.000 µg/mL. Nesta maior concentração, o extrato de *C. sertularioides* mostrou ser melhor em sequestrar o radical DPPH que os de *C. cupressoides*, *C. mexicana*, *C. racemosa* e também da menor concentração do BHA.

Esse comportamento de incremento na atividade sequestradora do DPPH com aumento na concentração dos extratos algáceos, exibido pelas cinco espécies de *Caulerpa*, também foi verificado na literatura para os extratos metanólicos das algas verdes, *Caulerpa cupressoides* e *Ulva fasciata*, das vermelhas *Amansia multifida* e *Cryptonemia crenulata* e das pardas *Dictyota dichotoma* e *Sargassum vulgare* (LIMA, 2013), para o extrato etanólico da alga verde *Enteromorpha prolifera* (CHO *et al.*, 2011) e para a fração aquosa da *C. racemosa* (LI *et al.*, 2012). Entretanto, existem também trabalhos que mostram comportamento diferente, como os observados no extrato etanólico e a fração de acetato de etila da *C. racemosa* (LI *et al.*, 2012) e nos extratos metanólicos de 26 espécies de algas, incluindo verdes, vermelhas e pardas, onde não foi notada melhoria na atividade com o aumento da concentração, pelo contrário, em alguns casos, concentrações menores mostraram maior capacidade de sequestrar o radical DPPH (MARTINS *et al.*, 2013).

Para discussão dos resultados da atividade de sequestro do radical DPPH do presente trabalho com os encontrados na literatura, buscou-se utilizar, sempre que possível, fazer as comparações com concentrações semelhantes ou próximas das deste trabalho. Essa atividade nas algas do gênero *Caulerpa* variou de 23,9% a 53,9%.

A literatura apresenta relatos que estão de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho, como a verificada por Farasat *et al.* (2013) para os extratos metanólicos 60% de algas do gênero *Chaetomorpha*, que mostraram atividades variando entre 5,0% e 43,0%, para os extratos metanólicos de *C. mexicana* (34,0%), *Codium taylorii* (45,0%) e *Ulva lactuca* (58,0%) (MARTINS *et al.*, 2013) e para os extratos metanólicos 80% (2.000 µg/mL) das algas verdes *Ulva linza* (52,0%), *U. intestinalis* (48,0%) e *U. flexuosa* (42,0%) (FARASAT *et al.*, 2014).

Os resultados deste trabalho são mais de dez vezes superiores aos obtidos por Li *et al.* (2012) para o extrato etanólico e frações aquosa e de acetato de etila da *C. racemosa* e também superiores aos extratos metanólicos de três espécies de clorófitas: *Enteromorpha compressa*, *E. linza* e *E. tubulosa* analisadas por Ganesan, Kumar e Rao (2011).

Entretanto, os valores de sequestro do radical DPPH do presente trabalho são inferiores ao do extrato etanólico da alga verde *Enteromorpha prolifera* (CHO *et al.*, 2011), ao dos extratos metanólicos das algas *C. cupressoides* e *Ulva fasciata* (LIMA, 2013) e da *Caulerpa veravelensis* (65,8%), *C. scalpelliformis* (66,9%) e *C. racemosa* (87,0%), coletadas em Gujarat, Índia (KUMAR *et al.*, 2011). Estes últimos também verificaram que o metanol foi o solvente de extração que propiciou maior sequestro de DPPH quando comparado à acetona, acetato de etila, propanol e água. Comparando-se os extratos da mesma espécie (*C. racemosa*) na mesma concentração, a atividade encontrada no presente trabalho foi quase duas vezes menor que a da Índia, o qual utilizou um processo extração mais demorado e a incubação mais prolongada. De acordo com Auezova *et al.* (2013) e Mishra, Ojha e Chaudhury (2012), as metodologias de extração e de determinação do DPPH exercem influência sobre os compostos extraídos e, conseqüentemente, sobre os resultados obtidos.

As atividades dos extratos algáceos nas quatro concentrações estudadas (5, 50, 500 e 1.000 µg/mL) foram inferiores às do controle positivo (BHA). Estes resultados estão de acordo com a literatura (DEMIREL *et al.*, 2011; LI *et al.*, 2012; SHANAB; SHALAB; EL-FAYOUMY, 2011).

Alguns trabalhos mostram correlação entre CFT e DPPH indicando, assim, que essa atividade antioxidante é resultante da presença compostos fenólicos (FARASAT *et al.*, 2013). Entretanto, outros autores acreditam que alguns compostos presentes nos extratos algáceos, por exemplo, carotenoides, tocoferóis, ácido ascórbico, polissacarídeos e proteínas, também sejam responsáveis por essa atividade (LORDAN; ROSS; STANTON, 2011).

A diferença nessa atividade sequestradora de radicais livres das amostras em diferentes extratos mostra que o solvente afeta a extração e conseqüentemente a potência de eliminação de radicais. A alteração na polaridade dos solventes modifica a eficácia de extração, extraindo grupos específicos de compostos antioxidantes (FARVIN; JACOBSEN, 2013; LÓPEZ *et al.*, 2011). Assim, extratos provindos de diferentes solventes mostram respostas diferentes quanto à atividade antioxidante (SOUZA *et al.*, 2011).

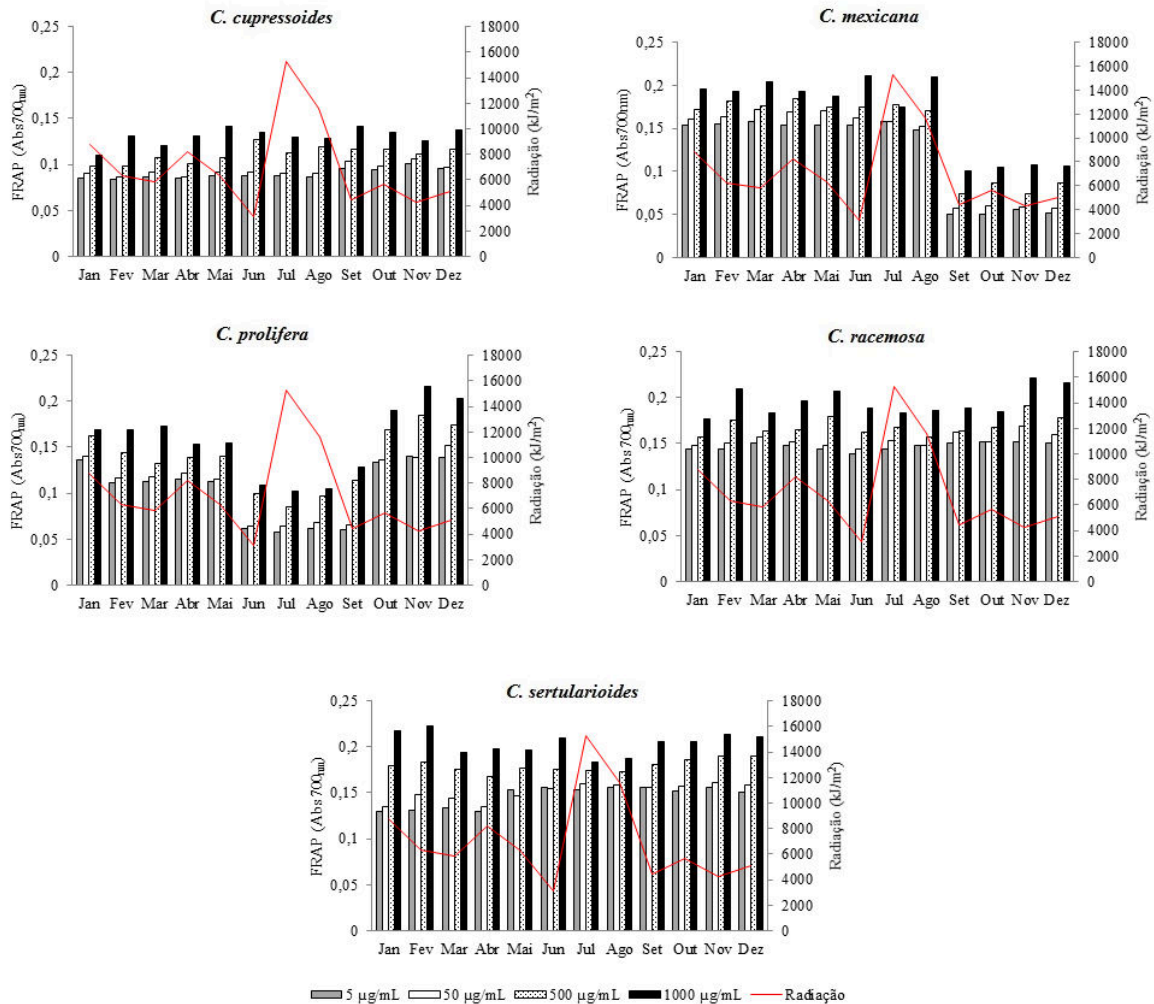
#### 4.2.2 Poder de redução de íons férricos (FRAP)

As quatro concentrações de cada extrato algáceo mostraram valores crescentes de FRAP da menor (5 µg/mL) para a maior concentração (1.000 µg/mL) como pode ser visualizado na Figura 9. Os intervalos de variação de FRAP, verificados através da absorbância a 700 nm, para cada espécie foram os seguintes: 0,084 a 0,100 (*C. cupressoides*), 0,050 a 0,158 (*C. mexicana*), 0,058 a 0,216 (*C. prolifera*), 0,139 a 0,221 (*C. racemosa*) e 0,129 a 0,222 (*C. sertularioides*). Os valores de absorbância do BHA (controle positivo), nas quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000 µg/mL) foram 0,075, 0,219, 1,470 e 1,920, respectivamente. Com exceção da *C. mexicana* e da *C. prolifera* que exibiram baixo FRAP nos meses de setembro-dezembro e junho-setembro, respectivamente, as outras três espécies de *Caulerpa* apresentaram uma variação sutil na atividade antioxidante ao longo dos doze meses de análise; e nenhuma espécie mostrou relação com a radiação solar. Ramah *et al.* (2014) fizeram um estudo sazonal da atividade antioxidante de sete algas, das quais cinco não exibiram diferenças entre o inverno e verão quanto ao FRAP.

Este ensaio antioxidante (FRAP) se baseia na presença de antioxidantes na amostra (extrato algáceo) que reduzem o ferro férrico ( $\text{Fe}^{3+}$ ) a ferro ferroso ( $\text{Fe}^{2+}$ ), através da doação de um elétron. A quantidade de  $\text{Fe}^{2+}$  pode ser monitorada através da medição da formação da cor conhecida como azul da Prússia, no comprimento de onda de 700 nm. O incremento da absorbância indica uma maior atividade de redução (SOLTANI *et al.*, 2011).

Os valores de FRAP na *C. cupressoides*, para a concentração de 5 µg/mL variaram de 0,084 (fevereiro) a 0,100 (novembro), para a de 50 µg/mL a variação foi de 0,087 (fevereiro) a 0,106 (novembro), na de 500 µg/mL os resultados foram de 0,098 (fevereiro) a 0,127 (junho), e para a concentração de 1.000 µg/mL 0,109 (janeiro) a 0,142 (maio). Todos os resultados de FRAP obtidos nos doze meses de pesquisa, na concentração de 1.000 µg/mL, foram superiores ao encontrado para o BHA na concentração de 5 µg/mL. Em geral, os menores valores de FRAP foram observados no primeiro semestre do ano e, os maiores, no segundo. A variação dessa atividade antioxidante ao longo do ano foi discreta, com os maiores valores de FRAP iguais a 20% ou 30% superiores aos menores valores, para todas as concentrações.

Figura 9 – Poder de redução de íons férricos (FRAP) dos extratos metanólicos, em quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000  $\mu\text{g/mL}$ ), de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero *Caulerpa* coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.



Os valores de FRAP para a *C. mexicana* variaram de 0,050 (outubro) a 0,158 (março) para a concentração de 5  $\mu\text{g/mL}$ , de 0,057 (setembro) a 0,171 (março) para a de 50  $\mu\text{g/mL}$ , de 0,074 (novembro) a 0,184 (abril) para a de 500  $\mu\text{g/mL}$  e de 0,100 (setembro) a 0,210 (junho) para a maior concentração, a de 1.000  $\mu\text{g/mL}$ , que corresponderam a aumentos de 3,2, 3,0, 2,5 e 2,1 vezes, respectivamente. Essa maior eficiência detectada no mês de junho (1.000  $\mu\text{g/mL}$ ) foi superior àquela observada para todas as concentrações dos doze meses da *C. cupressoides* e semelhante à exibida pelo BHA na concentração de 50  $\mu\text{g/mL}$ . Em geral, os menores valores de FRAP foram observados no segundo semestre do ano, enquanto os maiores, no primeiro. Apenas nos extratos de *C. mexicana* nos quatro últimos meses do ano, foi possível observar uma diminuição da atividade acompanhada pela diminuição da radiação solar. Nenhum outro extrato apresentou este resultado.

O poder de redução de íons férricos (FRAP) na *C. prolifera* exibiu os menores valores sempre no mês de julho. Na concentração de 5 µg/mL, a variação foi de 0,058 a 0,140 (novembro). Na de 50 µg/mL, a variação foi de 0,064 a 0,152 (dezembro). Nas de 500 e 1.000 µg/mL, os maiores valores foram observados no mês de novembro, e a variação foi, respectivamente, de 0,085 a 0,184 e de 0,102 a 0,216. Os extratos de *C. prolifera*, diferentemente de *C. cupressoides* e de *C. mexicana*, apresentaram variação ao longo dos doze meses de análise, mas sem obedecer um padrão. Essa variação foi superior àquela demonstrada pela *C. cupressoides*. Os menores valores foram observados nos meses de junho a setembro para as quatro concentrações testadas. Na maioria dos meses, os extratos algáceos apresentaram FRAP maior quando comparados ao do BHA, ambos na concentração de 5 µg/mL.

O extrato de *C. racemosa* exibiu nas quatro concentrações os maiores valores de FRAP sempre no mês de novembro. Nas concentrações de 5 e 50 µg/mL; esses valores variaram de 0,139 a 0,152 e de 0,143 a 0,169, respectivamente, onde os menores valores foram no mês de junho. Para a concentração de 500 e 1.000 µg/mL a variação foi de 0,157 (agosto) a 0,191 e 0,177 (janeiro) a 0,221. Todos os resultados de FRAP obtidos dos doze meses de pesquisa, na concentração de 1.000 µg/mL, foram superiores ao encontrado para o BHA na concentração de 5 µg/mL e semelhante ao da de 50 µg/mL. Em oposição a *C. mexicana*, a *C. racemosa*, em geral, teve os menores valores de FRAP no primeiro semestre do ano e os maiores, no segundo. A variação dessa atividade antioxidante ao longo do ano foi bem modesta, em que os maiores valores de FRAP foram 10% ou 20% superiores aos menores valores.

O poder de redução (FRAP) para a *C. sertularioides* foram mínimos e máximos de 0,129 (abril) e 0,156 (novembro) para a concentração de 5 µg/mL; de 0,134 (janeiro) e 0,161 (novembro) para a de 50 µg/mL; de 0,168 (abril) e 0,190 (dezembro) para a de 500 µg/mL; e de 0,184 (julho) e 0,222 (fevereiro) para a de 1.000 µg/mL. O extrato de *C. sertularioides* na maior concentração exibiu o maior valor de FRAP (0,222) de todas as espécies de *Caulerpa* analisadas e também maior a atividade que o BHA nas concentrações de 5 e 50 µg/mL. A variação dessa atividade antioxidante ao longo do ano foi discreta, em que os maiores valores de FRAP foram 10% ou 20% superiores aos menores encontrados. De modo geral, os menores valores de FRAP foram observados no primeiro semestre do ano e os maiores, no segundo, comportamento semelhante ao da *C. cupressoides* e *C. racemosa*.

Nos extratos metanólicos das cinco espécies de algas do presente trabalho, verificou-se que com o aumento na concentração houve um leve incremento no poder de

redução. Resultado semelhante foi verificado por Soltani *et al.* (2011) para o extrato etanólico (70%) da alga verde *Cladophora glomerata*, nos diferentes extratos da alga vermelha *Kappaphycus alvarezii*, preparados com metanol, etanol, acetato de etila e água (KUMAR; GANESAN; RAO, 2008) e também nos extratos metanólicos (50%) de *Euchema kappaphycus*, *Gracilaria edulis* e *Acanthophora spicifera* (GANESAN; KUMAR; BHASKAR, 2008) e nos de sete algas pardas, *Dictyopteris australis*, *D. delicatula*, *Padina tetrastromatica*, *Sargassum marginatum*, *Spatoglossum asperum*, *S. variabile* e *Stoechospermum marginatum* (VINAYAK; SABU; CHATTERJI, 2010).

Para discussão dos resultados do poder de redução nos extratos algáceos buscou-se utilizar, sempre que possível, fazer as comparações entre o presente trabalho e os encontrados na literatura com concentrações semelhantes ou próximas entre si.

A atividade de redução nas algas do gênero *Caulerpa* variou de 0,050 a 0,221, sendo semelhante àquela dos extratos metanólicos das algas verdes *Chlorodesmis fastigiata* e *Codium elongatum* (VINAYAK; SUDHA; CHATTERJI, 2011).

Contudo, os resultados aqui apresentados são superiores aos dos extratos metanólicos de algas verdes, *Enteromorpha compressa*, *E. linza* e *E. tubulosa* (GANESAN; KUMAR; RAO, 2011) e *Ulva fasciata* (LIMA, 2013) e aos do extrato etanólico da *Cladophora glomerata*, uma alga verde abundante na costa do Irã (SOLTANI *et al.*, 2011) e da *C. racemosa* (LI *et al.*, 2012).

Mesmo exibindo uma boa atividade, os extratos de *Caulerpa* deste trabalho exibiram menores valores de FRAP quando comparados a alguns relatos da literatura, como aos dos extratos metanólicos das espécies *Caulerpa veravelensis*, *C. scalpelliformis* e *C. racemosa* (KUMAR *et al.*, 2011) e aos extratos metanólico ou de éter dietílico da alga verde *Halimeda tuna*, em que, desses dois, o primeiro apresentou maior FRAP, demonstrando a interferência do solvente nesse ensaio antioxidante (DEVI *et al.*, 2011).

As atividades de redução dos extratos algáceos foram inferiores à do controle positivo (BHA). Esse resultado é semelhante aos relatos da literatura. Trabalhos com resultados parecidos foram realizados por Shanab, Shalab e El-Fayoumy (2011) com extratos de etanol ou de éter de petróleo da alga verde *Enteromorpha compressa*; Demirel *et al.* (2011) com extratos metanólico, clorofórmico e hexânico da *Laurencia obtusa*; e Li *et al.* (2012) com extrato etanólico e frações de acetato de etila e aquosa da *Caulerpa racemosa*.

A atividade de redução pode ser influenciada por algumas causas dentre elas o processo de extração. Foon *et al.* (2013) encontraram que nos extratos preparados sob agitação, a atividade do FRAP era menor do que naqueles utilizando o Soxhlet. Assim,

acredita-se que a metodologia pode afetar a extração dos compostos antioxidantes e ser responsável por variações na atividade antioxidante quantificada nesses extratos. Extratos etanólicos de algas verdes, vermelhas e pardas mostram menor poder de redução comparado a extratos aquosos, indicando que componentes hidrofílicos presentes nesses extratos afetam a atividade de redução (FARVIN; JACOBSEN, 2013; JIMÉNEZ-ESCRIG; GÓMEZ-ORDÓÑEZ; RUPÉREZ, 2012).

De acordo com Rajauria *et al.* (2013) e Wang *et al.* (2012) existem fortes correlações positivas entre os compostos fenólicos e o poder de redução dos extratos algáceos.

A quantificação do FRAP, feita nos extratos das cinco espécies com base na curva padrão de ácido gálico (Equação 5), foi comparada estatisticamente apresentando variação significativa ao longo dos doze meses de análise ( $p < 0,05$ ). Os resultados da quantificação foram expressos em mg AGE/g extrato.

$$y = 0,0711 + 6,4626x \quad n = 8 \quad r = 0,9961 \quad (5)$$

É interessante observar que os extratos apresentaram variações de 5,92 a 10,91 (*C. cupressoides*), de 4,50 a 20,56 (*C. mexicana*), de 4,75 a 22,42 (*C. prolifera*), de 16,35 a 23,16 (*C. racemosa*) e de 17,44 a 23,41 (*C. sertularioides*), que corresponderam a aumentos de 1,8, 4,6, 4,7, 1,4 e 1,3 vezes, respectivamente (Tabela 1). Dentre as cinco espécies, o menor valor (4,50) foi verificado na *C. mexicana* no mês de setembro e o maior (23,40) na *C. sertularioides*, em fevereiro. *C. cupressoides* apresentou menores valores dentre as cinco espécies estudadas e também exibiu uma variação discreta ao longo dos doze meses, semelhantemente a *C. racemosa* e *C. sertularioides*.

O extrato metanólico da *C. cupressoides* exibiu os menores valores de FRAP nos meses de janeiro e março, que não apresentaram diferença significativa, sendo respectivamente 5,92 e 7,60 mg AGE/g extrato. Os meses de fevereiro, maio, junho, setembro, outubro e dezembro também não apresentaram diferença significativa e neles foram observados os maiores valores de FRAP. Essa espécie de *Caulerpa* apresentou variação ao longo dos doze meses analisados, porém nenhum padrão foi verificado. Já a *C. mexicana*, como pode ser visualizado na Tabela 1, em geral, mostrou menores valores de FRAP (mg AGE/g extrato) no segundo semestre do ano, em que os mínimos foram nos meses de setembro a dezembro, os quais não diferiram estatisticamente. Já os maiores valores foram observados no primeiro semestre do ano e os valores nesses meses não apresentaram diferenças significativas. Também pode ser visualizado que o intervalo de variação nesta



espécie foi o segundo maior dentre as cinco espécies de *Caulerpa* deste trabalho, onde o maior valor (20,56 mg AGE/g extrato) é 4,6 vezes maior que o menor (4,50 mg AGE/g extrato).

O poder de redução de íons férricos na *C. prolifera*, semelhante a *C. cupressoides*, também não obedeceu a um padrão de variação ao longo de um ano de pesquisas. Os menores valores foram verificados nos meses de junho a agosto, de 4,75 a 5,80 mg AGE/g extrato. Enquanto os meses de novembro e dezembro foram os responsáveis pelos maiores valores, de, respectivamente, 22,42 e 20,50 mg AGE/g extrato. Mesmo não exibindo um padrão de variação, pode-se perceber que os maiores valores seguiram certa sequência, com início no mês de outubro e prosseguindo até o mês de março. Também é notório que o maior intervalo de variação foi visto nesta espécie, em que o maior valor (22,42 mg AGE/g extrato) é 4,7 vezes superior ao menor que é 4,75 mg AGE/g extrato.

Tabela 1 - Poder de redução de íons férricos (FRAP) dos extratos metanólicos das cinco espécies de algas marinhas verdes pertencentes ao gênero *Caulerpa*, coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.

Meses	FRAP (mg AGE/g extrato)				
	<i>C. cupressoides</i>	<i>C. mexicana</i>	<i>C. prolifera</i>	<i>C. racemosa</i>	<i>C. sertularioides</i>
Janeiro	5,92 <sup>c</sup>	19,36 <sup>ab</sup>	15,20 <sup>c</sup>	16,35 <sup>d</sup>	22,70 <sup>ab</sup>
Fevereiro	9,24 <sup>ab</sup>	18,86 <sup>ab</sup>	15,20 <sup>c</sup>	21,34 <sup>ab</sup>	23,40 <sup>a</sup>
Março	7,60 <sup>bc</sup>	20,56 <sup>ab</sup>	15,76 <sup>c</sup>	17,41 <sup>cd</sup>	18,92 <sup>de</sup>
Abril	9,20 <sup>b</sup>	18,73 <sup>ab</sup>	12,61 <sup>d</sup>	19,32 <sup>bc</sup>	19,54 <sup>cd</sup>
Mai	10,91 <sup>a</sup>	17,90 <sup>bc</sup>	12,98 <sup>d</sup>	21,12 <sup>ab</sup>	19,39 <sup>cd</sup>
Junho	9,86 <sup>ab</sup>	20,56 <sup>a</sup>	5,80 <sup>f</sup>	18,27 <sup>cd</sup>	21,52 <sup>b</sup>
Julho	9,08 <sup>b</sup>	15,98 <sup>c</sup>	4,75 <sup>f</sup>	17,38 <sup>cd</sup>	17,44 <sup>e</sup>
Agosto	8,77 <sup>b</sup>	21,37 <sup>a</sup>	5,21 <sup>f</sup>	17,78 <sup>cd</sup>	17,96 <sup>de</sup>
Setembro	10,84 <sup>ab</sup>	4,50 <sup>d</sup>	8,93 <sup>e</sup>	18,18 <sup>cd</sup>	20,78 <sup>bc</sup>
Outubro	9,92 <sup>ab</sup>	5,30 <sup>d</sup>	18,40 <sup>b</sup>	17,56 <sup>cd</sup>	20,78 <sup>bc</sup>
Novembro	8,40 <sup>b</sup>	5,71 <sup>d</sup>	22,42 <sup>a</sup>	23,16 <sup>a</sup>	22,05 <sup>ab</sup>
Dezembro	10,20 <sup>ab</sup>	5,46 <sup>d</sup>	20,50 <sup>a</sup>	22,45 <sup>a</sup>	21,62 <sup>b</sup>

Letras minúsculas iguais na coluna - inexistência de diferença estatisticamente significativa ( $p > 0,05$ ).

Letras minúsculas diferentes na coluna - existência de diferença estatisticamente significativa ( $p < 0,05$ ).

Fonte: AUTOR.

Os valores de FRAP na *C. racemosa* exibiram um padrão de variação semelhante aquele exibido pela *C. mexicana*, em que no geral, no primeiro semestre do ano foram quantificados os maiores valores e no segundo, os menores. O maior valor foi verificado em novembro, sendo 23,16 mg AGE/g extrato, e os menores, em janeiro (16,35 mg AGE/g

extrato) e em julho (17,38 mg AGE/g extrato) que não apresentaram diferenças significativas. Vale ressaltar que essa variação percebida para a *C. racemosa* foi moderada, como pode ser visto na Tabela 1, em que o maior valor foi 40% superior ao menor. De forma similar aos extratos de *C. prolifera* e *C. cupressoides*, os de *C. sertularioides* não obedeceram a um padrão de variação ao longo de um ano. O menor valor de FRAP (17,44 mg AGE/g extrato) foi detectado em julho, e o maior (23,40 mg AGE/g extrato) em fevereiro. Apesar da inexistência de um padrão de variação, é importante destacar que as maiores atividades são observadas a partir do mês de novembro persistindo até fevereiro. A variação é discreta, sendo a maior atividade 30% superior à menor.

Era de se esperar que a variação no FRAP nos extratos metanólicos das algas deste estudo fosse semelhante à variação verificada nos compostos fenólicos, ou seja, resultados mais elevados no segundo semestre. Geralmente, extratos algáceos que apresentam alta quantidade de CFT também mostram altos valores de FRAP, sugerindo que esses constituintes são os principais responsáveis por essa atividade antioxidante. Esta propriedade de redução indica que os compostos antioxidantes atuam doando elétrons e, assim, reduzem moléculas, como no caso desse ensaio onde ocorre a redução do ferro férrico. Este mecanismo é semelhante ao dos compostos fenólicos, reforçando a ideia de que eles são os principais responsáveis por tal atividade (FARVIN; JACOBSEN, 2013; RAJAURIA *et al.*, 2013).

#### **4.2.3 Branqueamento do $\beta$ -caroteno (BCB)**

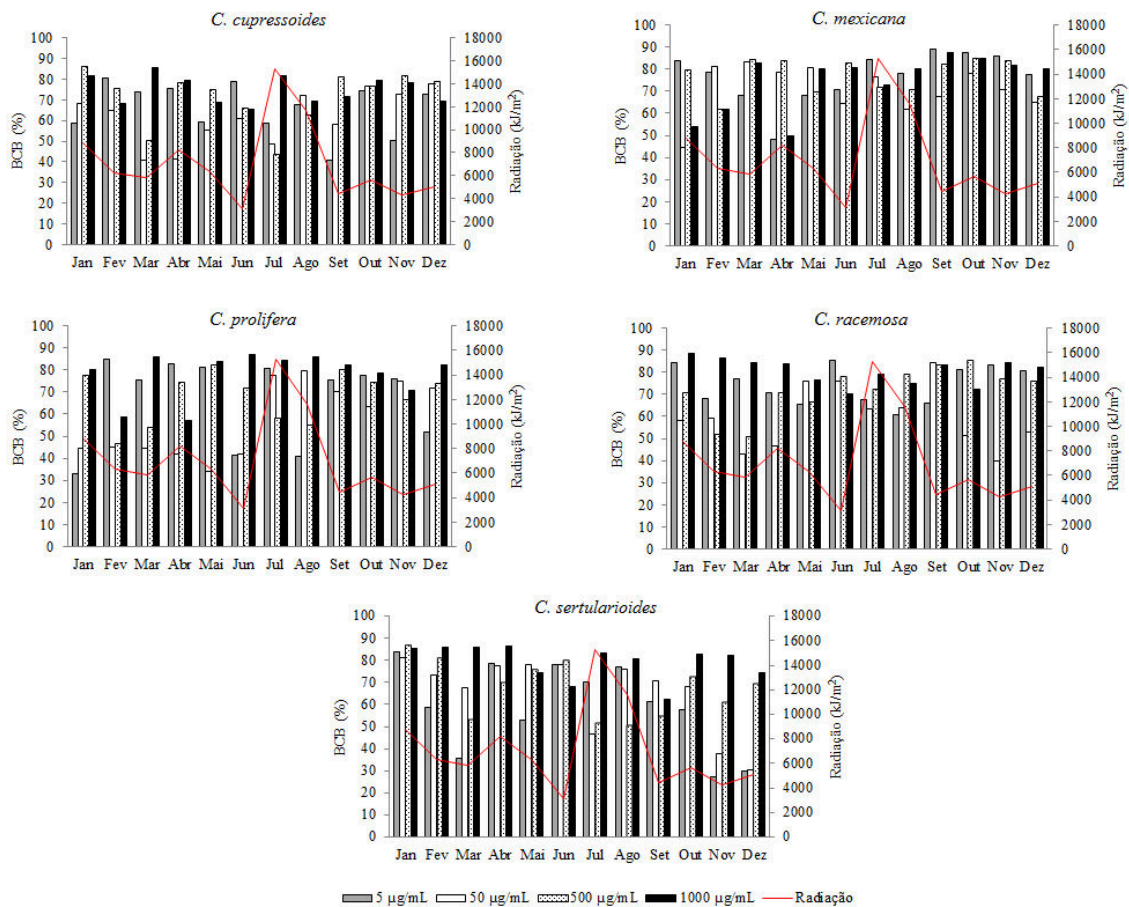
Houve variação da atividade BCB nas quatro concentrações de cada um dos extratos algáceos, mas sem seguir qualquer padrão. Em todos eles as atividades foram inferiores às determinadas para o controle positivo em todas as concentrações testadas. Entretanto, na maioria dos extratos, as atividades foram superiores a 70,0% (Figura 10), considerado um resultado excelente para algas. As maiores concentrações dos extratos não resultaram em melhores atividades como visto no sequestro do DPPH e FRAP. A menor atividade foi verificada em novembro na *C. sertularioides* (5  $\mu$ g/mL) e a maior em janeiro, na *C. racemosa* (1.000  $\mu$ g/mL), 27,4% e 88,5%, respectivamente. A atividade antioxidante do controle positivo (BHA) foi 81,4%, 87,2%, 89,8% e 92,7% para as concentrações 5, 50, 500 e 1.000  $\mu$ g/mL, respectivamente.

No BCB, a peroxidação do ácido linoleico gera radicais livres, devido a abstração de átomos de hidrogênio, os quais, por sua vez, oxidam a molécula de  $\beta$ -caroteno, que é altamente insaturada. A consequente degradação da cor laranja pode ser monitorada

espectrofotometricamente. Entretanto, a presença de antioxidantes, como os que ocorrem em extratos algáceos, neutraliza os radicais livres e, assim, evitam a descoloração do  $\beta$ -caroteno (ALVES *et al.*, 2010; CHEW *et al.*, 2008).

A atividade antioxidante na *C. cupressoides* na concentração de 5  $\mu\text{g/mL}$  variou de 40,5% (setembro) a 80,5% (fevereiro). Na de 50  $\mu\text{g/mL}$  a variação foi de 41,0% (março) a 77,5% (dezembro). Na de 500  $\mu\text{g/mL}$  os resultados foram de 43,6% (julho) a 86,3% (janeiro), e na concentração de 1.000  $\mu\text{g/mL}$ , a mais baixa atividade foi de 65,4% (junho) e a maior foi 85,7% (março). A menor atividade no extrato de *C. cupressoides* não foi registrada na menor concentração, por exemplo, nos extratos de 5  $\mu\text{g/mL}$  a atividade foi quase sempre superior àquela encontrada nos extratos de 50  $\mu\text{g/mL}$ . As três maiores atividades das concentrações de 500 e 1.000  $\mu\text{g/mL}$  assemelharam-se a do BHA em sua menor concentração.

Figura 10 – Branqueamento do  $\beta$ -caroteno (BCB) nos extratos metanólicos, em quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000  $\mu\text{g/mL}$ ), de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero *Caulerpa* coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.



A variação na atividade antioxidante na *C. mexicana* foi de 48,3% (abril) a 89,2% (setembro) na concentração de 5 µg/mL, e para a de 50 µg/mL foi de 44,3% (janeiro) a 83,2% (março). As atividades entre 62,2% (fevereiro) e 85,0% (outubro) foram exibidas pela concentração de 500 µg/mL, e entre 50,0% (abril) e 87,6% (setembro) para a concentração de 1.000 µg/mL. De maneira semelhante aos extratos de *C. cupressoides*, a concentração de 5 µg/mL apresentou melhores resultados que a de 50 µg/mL, na maioria dos meses. O extrato de *C. mexicana* referente ao mês de setembro na concentração de 5 µg/mL exibiu a maior atividade dentre as cinco espécies em todas as concentrações testadas, atividade inclusive superior a do BHA nas concentrações de 5 e 50 µg/mL.

A atividade antioxidante do extrato metanólico de *C. prolifera* na concentração de 5 µg/mL variou de 33,0% (janeiro) a 85,1% (fevereiro). Para a de 50 µg/mL a variação foi de 33,9% (maio) a 79,6% (agosto). Na de 500 µg/mL os resultados foram de 46,8% (fevereiro) a 82,4% (maio), e para a concentração de 1.000 µg/mL, a mais baixa atividade foi de 56,9% (abril) e a maior foi 86,9% (junho). De forma similar aos extratos de *C. cupressoides* e *C. mexicana*, a concentração de 5 µg/mL apresentou resultados superiores a de 50 µg/mL. Na maioria dos meses, *C. prolifera* apresentou atividade inferior a do BHA.

O extrato metanólico da *C. racemosa* exibiu variação na atividade antioxidante através do BCB para as concentrações 5, 50, 500 e 1.000 µg/mL, respectivamente, de 60,9% a 85,2% (agosto e junho), 39,9% a 84,1% (novembro e setembro), 51,2% a 85,5% (março e outubro) e 70,2% a 88,5% (junho e janeiro). Em todos meses, os extratos de *C. racemosa* na concentração de 5 µg/mL exibiram maiores atividades que os da concentração de 50 µg/mL. Tal comportamento foi semelhante ao exibido pelas espécies *C. cupressoides*, *C. mexicana* e *C. prolifera* deste trabalho. No mês de janeiro, *C. racemosa* na concentração de 1.000 µg/mL exibiu a segunda maior atividade dentre as cinco espécies, atividade essa superior a do BHA nas concentrações de 5 e 50 µg/mL.

A variação na atividade antioxidante de *C. sertularioides* na concentração de 5 µg/mL foi de 27,4% (novembro) a 83,7% (janeiro) e na de 50 µg/mL foi de 30,2% a 81,3%, observadas nos meses de dezembro e janeiro. As atividades mínima de 50,3% em agosto e máxima de 86,8% em janeiro foram exibidas na concentração de 500 µg/mL, e a variação entre 62,6% (setembro) e 86,4% (abril) na concentração de 1.000 µg/mL. Diferentemente das demais espécies, em *C. sertularioides* apenas em um mês na concentração de 5 µg/mL a atividade foi superior a de 50 µg/mL. No mês de novembro foi verificada a menor atividade dessa espécie (27,4%), aliás esse resultado foi inferior a todas as atividades das cinco espécies e do BHA.

Diferentemente dos demais ensaios antioxidantes do presente trabalho, no BCB, o aumento da concentração dos extratos algáceos não foi acompanhada por incremento na atividade. Este resultado também foi visualizado no extrato etanólico da alga verde *Enteromorpha compressa* (SHANAB; SHALABY; EL-FAYOUMY, 2011) e nos extratos etanólicos das rodófitas *Amansia multifida* e *Meristiella echinocarpa* (ALENCAR *et al.*, 2014) e metanólico de *Eucheuma cottonii* (FOON *et al.*, 2013).

Entretanto, de forma contrária ao resultado obtido no presente trabalho, existem relatos na literatura em que extratos algáceos com concentrações menores exibem atividades mais baixas que àquelas exibidas pelos extratos com concentrações maiores, como os descritos para as rodófitas *Laurencia obtusa* (DEMIREL *et al.*, 2011), *Gracilaria birdiae* e *G. cornea* (SOUZA *et al.*, 2011) e também para a alga parda *Saccharina bongardiana* (AUEZOVA *et al.*, 2013). Os autores desses trabalhos observaram que ao duplicar a concentração do extrato, a atividade antioxidante foi melhorada ou até mesmo dobrada.

Para a comparação dos resultados do presente trabalho com de outros autores, tentou-se utilizar extratos com concentrações semelhantes. Os extratos algáceos das cinco espécies de *Caulerpa* exibiram atividade antioxidante que variou de 27,4% a 88,5%, sendo a maioria superior a 70,0%. Estes resultados foram semelhantes aos da literatura: Murugan e Iyer (2014) para os extratos metanólicos de três algas vermelhas, *Kappaphycus alvarezii* (70,0%), *Acantophora spicifera* (50,0%) e *Gracilaria corticata* (20,0%).

Os resultados de BCB nos extratos metanólicos de cinco algas pardas estudadas por O'Sullivan *et al.* (2011), *Ascophyllum nodosum* (76,0%), *Laminaria hyperborea* (50,0%), *Pelvetia canaliculata* (54,0%), *Fucus vesiculosus* (71,0%) e *F. serratus* (72,0%), também foram similares aos deste trabalho, mas com uma grande diferença: a concentração dos extratos destas ocrófitas (10 mg/mL) foi de 10 a 2.000 vezes maior do que as usadas no presente trabalho.

Entretanto, existem estudos que mostram extratos algáceos com atividade inferior à encontrada no presente trabalho, como observada nos extratos etanólicos da alga verde *Enteromorpha compressa* (SHANAB; SHALABY; EL-FAYOUMY, 2011) e das rodófitas *Amansia multifida* e *Meristiella echinocarpa* (ALENCAR *et al.*, 2014); nos extratos metanólico, clorofórmico, hexânico e de óleo essencial da *Laurencia obtusa*, uma alga vermelha rica em metabólitos secundários (DEMIREL *et al.*, 2011); no extrato metanólico (2.000 µg/mL) da rodófitas *Eucheuma cottonii* (FOON *et al.*, 2013); nos extratos metanólico, etanólico e acetônico da alga parda *Saccharina bongardiana* (AUEZOVA *et al.*, 2013); e nos extratos da ocrófitas *Turbinaria ornata* preparados com diferentes solventes: metanol,

clorofórmio, acetato de etila e água (MURUGAN; IYER, 2014). Estes últimos também observaram efeitos pró-oxidantes do extrato aquoso.

Martins *et al.* (2013) não registraram atividade antioxidante no extrato metanólico de *Caulerpa mexicana* preparado na concentração de 2.000 µg/mL. Este resultado está em desacordo com os encontrados neste trabalho, especialmente porque a concentração usada foi de duas a quatrocentas vezes maior do que a do presente trabalho.

As atividades antioxidantes verificadas nos extratos algáceos foram inferiores à do controle positivo (BHA). Trabalhos com resultados parecidos foram realizados por Alencar *et al.* (2014), com extratos etanólicos das rodófitas *Amansia multifida* e *Meristiella echinocarpa*; Demirel *et al.* (2011), com extratos metanólico, clorofórmico e hexânico da *Laurencia obtusa*; Souza *et al.* (2011), com extratos metanólico e etanólico da *Gracilaria birdae* e *G. cornea*; e Auezova *et al.* (2013), com extratos metanólico, etanólico e acetônico da alga parda *Saccharina bongardiana*.

Diferentemente do FRAP e da capacidade de sequestro do DPPH, em geral, o BCB não está correlacionado com a quantidade de CFT. Segundo Chew *et al.* (2008), verificar essa correlação é difícil devido à presença de antioxidantes avaliados nos dois métodos. O valor de CFT fornece uma indicação dos níveis de compostos antioxidantes tanto lipofílicos como hidrofílicos, enquanto no BCB, apenas os lipofílicos.

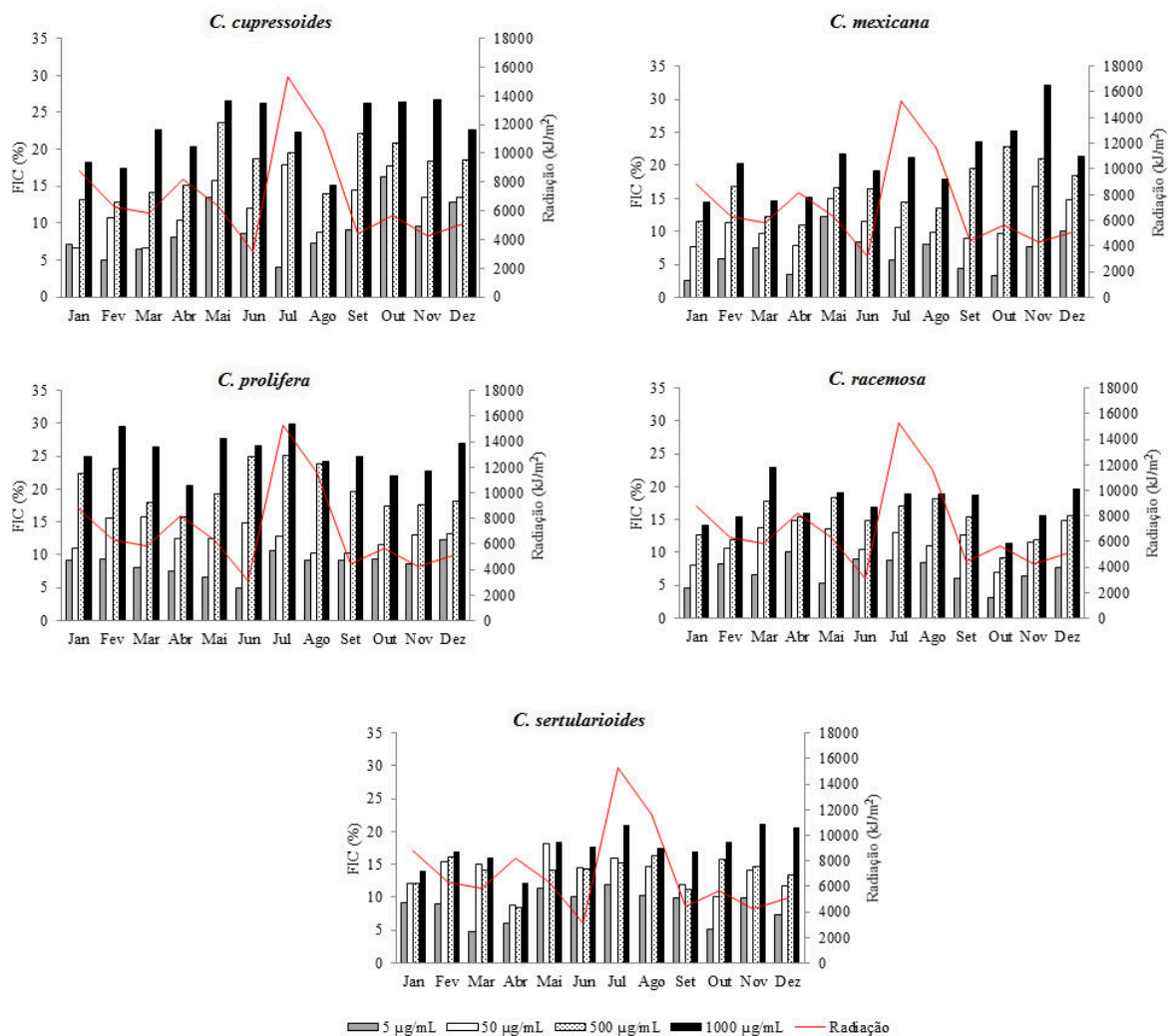
#### **4.2.4 Habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC)**

A atividade antioxidante verificada através da habilidade de quelação de íons ferrosos não exibiu um padrão de variação ao longo dos doze meses analisados, semelhantemente ao encontrado para o BCB.

Em geral, foi observado um leve incremento na atividade com aumentos na concentração dos extratos algáceos, similar ao verificado nas metodologias de sequestro do radical DPPH e da atividade de redução (FRAP). A maioria das atividades foi superior a 10,0% (Figura 11). Em todas as concentrações testadas as atividades foram inferiores às determinadas para o controle positivo nas quatro concentrações testadas. Dentre as cinco espécies, *C. mexicana* exibiu tanto a menor (2,5%) como a maior atividade (32,0%) detectadas, respectivamente, em janeiro e novembro. A atividade antioxidante do controle positivo, o quelante de metais EDTA, foi 19,1%, 96,8%, 98,7% e 100,0% para as concentrações 5, 50, 500 e 1.000 µg/mL, respectivamente.

A metodologia do FIC se baseia na capacidade da ferrozina em formar complexos com íons metálicos, resultando em uma coloração rósea. Porém, nos extratos algáceos que possuem compostos com atividade quelante, a formação desse complexo é interrompida, resultando em diminuição da coloração. A redução na intensidade da cor ajuda a estimar a atividade de quelação desses extratos (GANESAN; KUMAR; RAO, 2011).

Figura 11 – Habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC) dos extratos metanólicos, em quatro concentrações (5, 50, 500 e 1.000  $\mu\text{g/mL}$ ), de cinco espécies de algas marinhas verdes do gênero *Caulerpa* coletadas de janeiro a dezembro de 2006, na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará.



A atividade antioxidante do extrato de *C. cupressoides* na concentração de 5  $\mu\text{g/mL}$  variou de 4,1% a (julho) a 16,3% (outubro). Para a de 50  $\mu\text{g/mL}$  a variação foi de 6,6% (janeiro e março) a 17,8% (julho). Na de 500  $\mu\text{g/mL}$  os resultados foram de 12,8% (fevereiro) a 23,6% (maio), e para a concentração de 1.000  $\mu\text{g/mL}$ , a mais baixa atividade foi

de 15,2% (agosto) e a maior foi 26,7% (novembro). A maioria dos resultados da *C. cupressoides* foi inferior ao EDTA.

A variação na atividade antioxidante na *C. mexicana* foi de 2,5% (janeiro) a 12,2% (maio) na concentração de 5 µg/mL e para a de 50 µg/mL foi de 7,6% a 16,8%, observadas nos meses de janeiro e novembro. As atividades (10,9% em abril e 22,9% em outubro) foram encontradas na concentração de 500 µg/mL, e os resultados variando entre 14,4% (janeiro) e 32,0% (novembro) para a concentração de 1.000 µg/mL. Nessa espécie foi observado o menor valor e também o maior, entretanto, ela não foi a que exibiu os maiores resultados. Na maioria dos meses na concentração de 1.000 µg/mL os extratos apresentaram atividade superior a do EDTA (5 µg/mL).

A atividade antioxidante na *C. prolifera*, concentração de 5 µg/mL variou de 4,9% (junho) a 12,2% (dezembro). Para a de 50 µg/mL a variação foi de 10,2% (agosto) a 15,7% (março). Nas de 500 e 1.000 µg/mL, os menores resultados foram em abril (15,7% e 20,9%) e os maiores em julho (25,2% e 29,9%), respectivamente. Em geral, as maiores atividades foram registradas nos extratos de *C. prolifera* (superiores a 15,0%). Na concentração de 1.000 µg/mL a atividade foi maior que a do EDTA (5 µg/mL).

No extrato metanólico da *C. racemosa* as menores atividades foram observadas no mês de outubro para as quatro concentrações, e os resultados variaram de 3,0% a 10,1% (abril), 7,0% a 14,9% (dezembro), 9,2% a 18,3% (maio) e 11,4% a 23,0% (março) para as respectivas concentrações: 5, 50, 500 e 1.000 µg/mL. A atividade nos extratos de *C. racemosa* foi, na maioria das vezes, menor que a do EDTA.

A variação no ensaio de habilidade de quelação na *C. sertularioides* variou de 4,7% a 12,0%, março e julho, respectivamente, na concentração de 5 µg/mL. Para as demais concentrações o menor valor foi verificado no mês de abril, e os resultados para a de 50 µg/mL ficaram entre 8,7% e 18,1%, para a concentração de 500 µg/mL, entre 8,4% e 16,3%, e para a concentração de 1.000 µg/mL, entre 12,1% e 21,1%, em que as maiores atividades foram observadas nos meses de maio, agosto e novembro, respectivamente. Dentre as cinco espécies, somente o extrato de *C. sertularioides* na concentração de 50 µg/mL apresentou atividade superior àquela observada para a concentração de 500 µg/mL, na maioria dos meses. A maior parte dos resultados do FIC dessa espécie foi inferior ao EDTA.

Semelhantemente aos dos demais ensaios antioxidantes do presente trabalho, com o aumento da concentração dos extratos algáceos foi observado incremento na atividade. Esse comportamento também foi relatado para os extratos metanólicos das algas verde *Caulerpa racemosa*, vermelha *Kappaphycus alvarezii* e parda *Padina antillarum* (CHEW *et al.*, 2008),



da *K. alvarezii* (KUMAR; GANESAN; RAO, 2008) e de sete espécies de algas pardas (VINAYAK; SABU; CHATTERJI, 2010).

Para a comparação dos valores encontrados no presente trabalho com os relatos da literatura, tentou-se utilizar concentrações semelhantes entre ambos. Os resultados de FIC nos extratos metanólicos das cinco espécies de *Caulerpa* variaram de 2,5% a 32,0%, sendo semelhantes aos dos extratos metanólicos das algas pardas, *Dictyopteris australis*, *D. delicatula*, *Padina tetrastromatica*, *Sargassum marginatum*, *Spatoglossum aspernum*, *S. variabile* e *Stoechospermum marginatum*, que apresentaram atividade menor que 30%, (VINAYAK; SABU; CHATTERJI, 2011), e aos dos extratos metanólicos das algas verdes *Caulerpa peltata*, *C. racemosa*, *C. taxifolia*, *Chlorodesmis fastigiata* e *Codium elongatum*, em que o potencial antioxidante variou de 0% a 30,0% (VINAYAK; SUDHA; CHATTERJI, 2011).

Tierney *et al.* (2013) determinaram FIC no extrato aquoso da alga verde *Ulva intestinalis* menor do que os resultados do presente trabalho.

Entretanto, na literatura existem relatos de extratos algáceos com valores de FIC superiores aos obtidos neste trabalho, como àqueles metanólicos das algas verdes *Enteromorpha compressa* (50,0%), *E. linza* (35,0%) e *E. tubulosa* (38,0%) (GANESAN; KUMAR; RAO, 2011); das algas vermelhas *Amansia multifida* (15,0%) e *Meristiella echinocarpa* (17,0%) (ALENCAR *et al.* 2014); e *Kappaphycus alvarezzi*, *Acantophora spicifera* e *Gracilaria corticata*, em geral, superior a 35,0% (MURUGAN; IYER, 2014).

As atividades antioxidantes verificadas nos extratos algáceos foram inferiores à do controle positivo (EDTA). Resultados semelhantes aos relatos da literatura foram apresentados nos extratos metanólicos de algas verdes nos trabalhos de Ganesan, Kumar e Rao (2011) com *Enteromorpha compressa*, *E. linza* e *E. tubulosa*; de Vinayak, Sudha e Chatterji (2011) com *Caulerpa peltata*, *C. racemosa*, *C. taxifolia*, *Chlorodesmis fastigiata* e *Codium elongatum*; e de Demirel *et al.* (2011) nos extratos metanólico, clorofórmico e hexânico da rodófito *Laurencia obtusa*. Resultado mais incomum foi encontrado por Alencar *et al.* (2014) com o extrato etanólico da rodófito *Meristiella echinocarpa* que exibiu atividade quelante superior a dos controles positivos (BHA e BHT).

A atividade de quelação de íons ferrosos tem sido atribuída a fibras dietárias, como carragenana, agar e alginato, presentes nos extratos algáceos (VINAYAK; SUDHA; CHATTERJI, 2011). De forma mais generalizada, Farvin e Jacobsen (2013) atribuem a capacidade de quelação de íons ferrosos à presença de compostos polares. De acordo com Wang *et al.* (2012), essa atividade não tem correlação com CFT.

Em extratos algáceos, a quantificação da atividade antioxidante através de diferentes metodologias é variável e dependente do solvente. Por exemplo, os extratos metanólicos de algas do gênero *Enteromorpha* apresentaram FIC mais elevado quando comparado com os preparados em acetato de etila, propanol, acetona e água (GANESAN; KUMAR; RAO, 2011). Extratos de *Acantophora spicifera* preparados com clorofórmio ou com acetato de etila exibiram efeitos pró-oxidantes (MURUGAN; IYER, 2014).

A atividade de quelar metais é um dos principais mecanismos antioxidantes por reduzir a concentração de metais de transição, os quais catalisam a peroxidação lipídica. Dentre os metais de transição, o ferro é conhecido como o pró-oxidante de maior relevância devido a sua alta reatividade. O ferro em estado ferroso acelera a oxidação lipídica por reagir com peróxidos de hidrogênio e lipídico, gerando radicais livres. O ferro férrico também pode produzir radicais a partir de peróxidos, entretanto em uma taxa muito menor, e correspondente a  $1/10$  da exibida pelo ferro ferroso. Assim, ele é considerado o mais poderoso pró-oxidante dentre as várias espécies de íons metálicos (SUGANTHY *et al.*, 2013).

## 5 CONCLUSÕES

As algas *Caulerpa cupressoides*, *C. mexicana*, *C. prolifera*, *C. racemosa* e *C. sertularioides* apresentaram variação no conteúdo de compostos fenólicos (CFT). Com exceção da *C. racemosa*, as demais espécies exibiram maiores valores no segundo semestre do ano e os menores no primeiro.

Quanto à capacidade de sequestrar o radical DPPH, as cinco espécies de *Caulerpa* apresentaram atividade moderada, com variação sutil ao longo do ano. Com relação ao poder de redução de íons férricos (FRAP), *C. cupressoides*, *C. racemosa* e *C. sertularioides* exibiram, em geral, maiores atividades no segundo semestre do ano, já a *C. mexicana* foi o inverso, com melhores resultados no primeiro semestre, e a *C. prolifera* não apresentou nenhum padrão de variação ao longo do ano. As atividades antioxidantes determinadas através do branqueamento do  $\beta$ -caroteno (BCB) e da habilidade de quelação de íons ferrosos (FIC) não apresentaram qualquer padrão ao longo dos doze meses de análise. O primeiro ensaio também não exibiu padrão quanto às concentrações, mas em todos os meses e concentrações os resultados foram excelentes.

Em todas as metodologias as atividades dos extratos algáceos foram inferiores às determinadas para os controles positivos (BHA ou EDTA), nas quatro concentrações testadas. Em alguns casos, a atividade dos extratos algáceos foi próxima daquela exibida pelo controle positivo. Assim, como não apresentam riscos à saúde humana, suas atividades são relevantes e as algas do gênero *Caulerpa* podem ser consideradas fontes de potenciais antioxidantes. A aplicação delas como substitutos de compostos sintéticos pode ocorrer, havendo, para isso, necessidade de estudos mais aprofundados.

Apesar de haver variação na atividade antioxidante dos extratos algáceos, do ponto de vista biológico, esta não foi intensa o suficiente para permitir que um mês ou um período do ano merecesse destaque. Este resultado foi melhor do que o esperado, visto que, como as espécies estudadas são fontes potenciais de antioxidantes, com possíveis usos nas mais variadas indústrias (alimentícia, cosmético, farmacêutica, nutracêutica), a exploração dessa atividade ou o cultivo dessas espécies pode ocorrer ao longo do ano, sem a espera de um determinado período para a síntese desses compostos de tão grande interesse.

Este é o primeiro relato científico de pesquisa sazonal da atividade antioxidante *in vitro* com extratos algáceos de espécies da família Caulerpaceae.

## REFERÊNCIAS

- ALENCAR, D. B.; SILVA, S. R.; PIRES-CAVALCANTE, K. M. S.; LIMA, R. L.; PEREIRA JÚNIOR, F. N.; SOUSA, M. B.; VIANA, F. A.; NAGANO, C. S.; NASCIMENTO, K. S.; CAVADA, B. S.; SAMPAIO, A. H.; SAKER-SAMPAIO, S. Antioxidant potential and cytotoxic activity of two red seaweed species, *Amansia multifida* and *Meristiella echinocarpa*, from the coast of Northeastern Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 86, n. 1, p. 251-263, Mar 2014.
- ALGAEBASE. Disponível em:  
<[http://www.algaebase.org/search/images/detail/?img\\_id=C861ae090be58e816&sk=0](http://www.algaebase.org/search/images/detail/?img_id=C861ae090be58e816&sk=0)>  
Acesso em: 07 jul. 2015.
- ALGHAZEER, R.; WHIDA, F.; ABDUELHRMAN, E.; GAMMOUDI, F.; AZWAI, S. Screening of antibacterial activity in marine green, red and brown macroalgae from the Western coast of Libya. **Natural Science**, v. 5, n. 1, p. 7-14, 2013.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M. Métodos para determinação de atividade antioxidante *in vitro* em substratos orgânicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, p. 2202-2210, 2010.
- ANVISA. Compêndio da legislação brasileira de aditivos alimentares. 2011. Disponível em:  
<[http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a6809d8047457a1c86c0d63fbc4c6735/Compendio\\_marco\\_2011.pdf?MOD=AJPERES](http://portal.anvisa.gov.br/wps/wcm/connect/a6809d8047457a1c86c0d63fbc4c6735/Compendio_marco_2011.pdf?MOD=AJPERES)> Acesso em: 07 abr. 2015.
- AUEZOVA, L.; NAJJAR, F.; SELIVANOVA, O.; MOUSSA, E. H.; ASSAF, M. D. Antioxidant activity of brown alga *Saccharina bongardiana* from Kamchatka (Pacific coast of Russia). A methodological approach. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 25, n. 4, p. 1189-1196, Aug 2013.
- AZQUETA, A.; COLLINS, A. R. Carotenoids and DNA damage. **Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, Amsterdam, v. 733, n. 1-2, p. 4-13, May 2012.
- BALASUNDRAM, N.; SUNDRAM, K.; SAMMAN, S. Phenolic compounds in plants and agri-industrial by products: antioxidant activity, occurrence, and potential uses. **Food Chemistry**, Oxford, v. 99, n. 1, p. 191-203, 2006.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; DE PAULA, S. O.; MINIM, V. P. R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, jul/ago 2010.
- BARBOSA, M. R.; SILVA, M. M. A.; WILLADINO, L.; ULISSES, C.; CAMARA, T. R. Geração e desintoxicação enzimática de espécies reativas de oxigênio em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 44, n. 3, p. 453-460, mar 2014.
- BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, London, v. 181, p. 1199-1200, Apr 1958.

CABRAL, I. S. R.; SHIRAHIGUE, L. D.; ARRUDA, L. F.; CARPES, S. T.; OETTERER, M. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. **Boletim Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 29, n. 2, p. 181-192, jul/dez 2011.

CAROCHO, M.; FERREIRA, I. C. F. R. A review on antioxidants, prooxidants and related controversy: Natural and synthetic compounds, screening and analysis methodologies and future perspectives. **Food and Chemical Toxicology**, Oxford, v. 51, p. 15-25, Jan 2013.

CHEW, Y. L.; LIM, Y. Y.; OMAR, M.; KHOO, K. S. Antioxidant activity of three edible seaweeds from two areas in South East Asia. **LWT-Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 6, p. 1067-1072, 2008.

CHO, M.; LEE, H. S.; KANG, I. J.; WON, M. H.; YOU, S. G. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. **Food Chemistry**, Oxford, v. 127, n. 3, p. 999-1006, Aug 2011.

CORNISH, M. L.; GARBARY, D. J. Antioxidants from macroalgae: Potential applications in human health and nutrition. **Algae**, v. 4, n. 25, p. 155-171, Nov 2010.

COX, S.; ABU-GHANNAM, N.; GUPTA, S. An assessment of the antioxidant and antimicrobial activity of six species of edible Irish seaweeds. **International Food Research Journal**, Selangor, v. 17, n. 1, p. 205-220, 2010.

DEMIREL, Z.; YILMAZ-KOZ, F. F.; KARABAY-YAVASOGLU, N. U.; OZDEMIR, G.; SUKATAR, A. Antimicrobial and antioxidant activities of solvent extracts and essential oil composition of *Laurencia obtusa* and *Laurencia obtusa* var. *pyramidata*. **Romanian Biotechnological Letters**, Bucharest, v. 16, n. 1, p. 5927-5936, 2011.

DEVI, G. K.; MANIVANNAN, K.; THIRUMARAN, G.; RAJATHI, A. A.; ANANTHARAMAN, P. *In vitro* antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**, v. 4, n. 3, p. 205-211, Mar 2011.

D'ORAZIO, N.; GEMELLO, E.; GAMMONE, M. A.; GIROLAMO, M.; FICONERI, C.; RICCIONI, G. Fucoxantin: A treasure from the sea. **Marine Drugs**, Basel, v. 10, n. 3, p. 604-616, Mar 2012.

DU, J.; CULLEN, J. J.; BUETTNER, G. R. Ascorbic acid: Chemistry, biology and the treatment of cancer. **Biochimica et Biophysica Acta-Reviews on Cancer**, Amsterdam, v. 1826, n. 2, p. 443-457, Dec 2012.

FARASAT, M.; KHAVARI-NEJAD, R. A.; NABAVI, S. M. B.; NAMJOOYAN, F. Antioxidant properties of some filamentous green algae (*Chaetomorpha* genus). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Curitiba, v. 56, n. 6, p. 921-927, Nov/Dec 2013.

FARASAT, M.; KHAVARI-NEJAD, R. A.; NABAVI, S. M. B.; NAMJOOYAN, F. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid contents of some edible green seaweeds from Northern coasts of the Persian Gulf. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, Tehran, v. 13, n. 1, p. 163-170, 2014.

FARVIN, K. H. S.; JACOBSEN, C. Phenolic compounds and antioxidant activities of selected species of seaweeds from Danish coast. **Food Chemistry**, Oxford, v. 138, n. 2-3, p. 1670-1681, May 2013.

FLEURENCE, J.; MORANÇAIS, M.; DUMAY, J.; DECOTTIGNIES, P.; TURPIN, V.; MUNIER, M.; GARCIA-BUENO, N.; JAOUEN, P. What are the prospects for using seaweed in human nutrition and for marine animals raised through aquaculture? **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 27, n. 1, p. 57-61, Sept 2012.

FOON, T. S.; AI, L. A.; KUPPUSAMY, P.; YUSOFF, M. M.; GOVINDAN, N. Studies on in-vitro antioxidant activity of marine edible seaweeds from the East coastal region of Peninsular Malaysia using different extraction methods. **Journal of Coastal Life Medicine**, v. 1, n. 3, p. 193-198, Aug 2013.

FUJIMOTO, K.; KANEDA, T. Antioxygenic activity of marine algae. 1. Screening test for antioxygenic compounds from marine algae and fractionation from *Eisenia bicyclis* and *Undaria pinnatifida*. **Bulletin of the Japanese Society of Scientific Fisheries**, Tokyo, v. 46, n. 9, p. 1125-1130, 1980.

GANESAN, K.; KUMAR, K. S.; RAO, P. V. S. Comparative assessment of antioxidant activity in three edible species of green seaweed, *Enteromorpha* from Okha, Northwest coast of India. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**, Oxford, v. 12, n. 1, p. 73-78, Jan 2011.

GANESAN, P.; KUMAR, C. S.; BHASKAR, N. Antioxidant properties of methanol extract and its solvent fractions obtained from selected Indian red seaweeds. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 99, n. 8, p. 2717-2723, May 2008.

GRUHLKE, M. C. H.; SLUSARENKO, A. J. The biology of reactive sulfur species (RSS). **Plant Physiology and Biochemistry**, Paris, v. 59, p. 98-107, Oct 2012.

GUARATINI, T.; LOPES, N. P.; MARINHO-SORIANO, E.; COLEPICOLO, P.; PINTO, E. Antioxidant activity and chemical composition of the non polar fraction of *Gracilaria domingensis* (Kützing) Sonder ex Dickie and *Gracilaria birdiae* (Plastino & Oliveira). **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, João Pessoa, v. 22, n. 4, p. 724-729, July/Aug 2012.

GUPTA, S.; ABU-GHANNAM, N. Bioactive potential and possible health effects of edible brown seaweeds. **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 22, n. 6, p. 315-326, June 2011.

HALLIWELL, B. Biochemistry of oxidative stress. **Biochemical Society Transactions**, London, v. 35, p. 1147-1150, Nov 2007.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C. The definition and measurement of antioxidants in biological systems. **Free Radical Biology & Medicine**, Oxford, v. 18, n. 1, p. 125-126, Jan 1995.

HOLZINGER, A.; LUTZ, C. Algae and UV irradiation: Effects on ultrastructure and related metabolic functions. **Micron**, Oxford, v. 37, n. 3, p. 190-207, 2006.

- HUOVINEN, P.; GÓMEZ, I. Photosynthetic characteristics and UV stress tolerance of Antarctic seaweeds along the depth gradient. **Polar Biology**, New York, v. 36, n. 9, p. 1319-1332, Sept 2013.
- IGNAT, I.; VOLF, I.; POPA, V. I. A critical review of methods for characterisation of polyphenolic compounds in fruits and vegetables. **Food Chemistry**, Oxford, v. 126, n. 4, p. 1821-1835, June 2011.
- JIANG, Q. Natural forms of vitamin E: metabolism, antioxidant and anti-inflammatory activities and their role in disease prevention and therapy. **Free Radical Biology & Medicine**, New York, v. 72, p. 76-90, July 2014.
- JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; GÓMEZ-ORDÓÑEZ, E.; RUPÉREZ, P. Brown and red seaweeds as potential sources of antioxidant nutraceuticals. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 24, n. 5, p. 1123-1132, Oct 2012.
- KUMAR, K. S.; GANESAN, K.; RAO, P. V. S. Antioxidant potential of solvent extracts of *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty – An edible seaweed. **Food Chemistry**, Oxford, v. 107, n. 1, p. 289-295, Mar 2008.
- KUMAR, M.; GUPTA, V.; KUMARI, P.; REDDY, C. R. K.; JHA, B. Assessment of nutrient composition and antioxidant potential of Caulerpaceae seaweeds. **Journal of Food Composition and Analysis**, San Diego, v. 24, n. 2, p. 270-278, Mar 2011.
- LI, Z.; WANG, B.; ZHANG, Q.; QU, Y.; XU, H.; LI, G. Preparation and antioxidant property of extract and semipurified fractions of *Caulerpa racemosa*. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 24, n. 6, p. 1527-1536, Dec 2012.
- LIMA, R. L. **Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* dos extratos das macroalgas marinhas da costa cearense**. 2013. 44 f. Monografia (Graduação em Engenharia de Pesca) – Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2013.
- LITTER, D. S.; LITTLER, M. M.; BUCHER, K. E.; NORRIS, J. N. Green algae (Chlorophyta). p. 19-95. *In: Marine Plants of the Caribbean: A field guide from Florida to Brazil*. Washington, DC: Smithsonian Intitute Press, 1989. 263 p.
- LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health. **Pharmacognosy Review**, Mumbai, v. 4, n. 8, p. 118-126, July 2010.
- LÓPEZ, A.; RICO, M.; RIVERO, A.; TANGIL, M. S. The effects of solvents on the phenolic contents and antioxidant activity of *Stypocaulon scoparium* algae extracts. **Food Chemistry**, Oxford, v. 125, n. 3, p. 1104-1109, Apr 2011.
- LORDAN, S.; ROSS, R. P.; STANTON, C. Marine bioactives as functional food ingredients: potential to reduce the incidence of chronic diseases. **Marine Drugs**, Basel, v. 9, n. 6, p. 1056-1100, June 2011.

MARTINS, C. D. L.; RAMLOV, F.; CARNEIRO, N. P. N.; GESTINARI, L. M.; SANTOS, B. F.; BENTO, L. M.; LHULLIER, C.; GOUVEA, L.; BASTOS, E.; HORTA, P. A.; SOARES, A. R. Antioxidant properties and total phenolic contents of some tropical seaweeds of the Brazilian coast. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 25, n. 4, p. 1179-1187, Aug 2013.

MISHRA, K.; OJHA, H.; CHAUDHURY, N. K. Estimation of antiradical properties of antioxidants using DPPH assay: A critical review and results. **Food Chemistry**, Oxford, v. 130, n. 4, p. 1036-1043, Feb 2012.

MURUGAN, K.; IYER, V. V. Antioxidant and antiproliferative activities of extracts of selected red and brown seaweeds from the Mandapam coast of Tamil Nadu. **Journal of Food Biochemistry**, Hoboken, v. 38, n. 1, p. 92-101, Feb 2014.

OLIVEIRA, D. M.; BASTOS, D. H. M. Biodisponibilidade de ácidos fenólicos. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 6, p. 1051-1056, 2011.

OMAR, S. A.; WEBB, A. J. Nitrite reduction and cardiovascular protection. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, London, v. 73, p. 57-69, Aug 2014.

O'SULLIVAN, A. M.; O'CALLAGHAN, Y. C.; O'GRADY, M. N.; QUEGUINEUR, B.; HANNIFFY, D.; TROY, D. J.; KERRY, J. P.; O'BRIEN, N. M. *In vitro* and cellular antioxidant activities of seaweed extracts prepared from five brown seaweeds harvested in spring from the West coast of Ireland. **Food Chemistry**, Oxford, v. 126, n. 3, p. 1064-1070, June 2011.

PANGESTUTI, R.; KIM, S. K. Biological activities and health benefit effects of natural pigments derived from marine algae. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 3, n. 4, p. 255-266, Oct 2011.

PEREIRA, D. M.; VALENTÃO, P.; ANDRADE, P. B. Marine natural pigments: Chemistry, distribution and analysis. **Dyes and Pigments**, Oxford, v. 111, p. 124-134, Dec 2014.

PETEU, S. F.; BOUKHERROUB, R.; SZUNERITS, S. Nitro-oxidative species *in vivo* biosensing: Challenges and advances with focus on peroxyxynitrite quantification. **Biosensors & Bioelectronics**, Oxford, v. 58, p. 359-373, Aug 2014.

PIRES-CAVALCANTE, K. M. S. **Avaliação do potencial antioxidante de macroalgas marinhas do litoral cearense**. 2012. 122 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca) - Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

PIRES-CAVALCANTE, K. M. S.; ALENCAR, D. B.; SOUSA, M. B.; SAMPAIO, A. H.; SAKER-SAMPAIO, S. Seasonal changes of  $\alpha$ -tocopherol in green marine algae (*Caulerpa* genus). **Journal of Food Science**, Malden, v. 76, n. 5, p. C775-C781, Apr 2011.

PISOSCHI, A. M.; POP, A.; SERBAN, A. I.; FAFANEATA, C. Electrochemical methods for ascorbic acid determination. **Electrochimica Acta**, Oxford, v. 121, p. 443-460, Mar 2014.



- RAJAURIA, G.; JAISWAL, A. K.; ABU-GHANNAM, N.; GUPTA, S. Antimicrobial, antioxidant and free radical-scavenging capacity of brown seaweed *Himanthalia elongata* from Western coast of Ireland. **Journal of Food Biochemistry**, Hoboken, v. 37, n. 3, p. 322-335, June 2013.
- RAMAH, S.; ETWARYSING, L.; AUCKLOO, N.; GOPEECHUND, A.; BHAGOOI, R.; BAHORUN, T. Prophylactic antioxidants and phenolics of seagrass and seaweeds species: A seasonal variation study in a Southern Indian Ocean Island, Mauritius. **Internet Journal of Medical Update**, v. 9, n. 1, p. 27-37, Jan 2014.
- RAYMUNDO, M. S.; HORTA, P.; FETT, R. Atividade antioxidante *in vitro* de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, São Paulo, v. 40, n. 4, p. 495-503, out/dez 2004.
- ROCHA, F. D.; PEREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C.; TEIXEIRA, V. L. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, João Pessoa, v. 17, n. 4, p. 631-639, out/dez 2007.
- SATOH, K.; GODO, S.; SAITO, H.; ENKHJARGAL, B.; SHIMOKAWA, H. Dual roles of vascular-derived reactive oxygen species with a special reference to hydrogen peroxide and cyclophilin A. **Journal of Molecular and Cellular Cardiology**, London, v. 73, p. 50-56, Aug 2014.
- SAUTIN, Y. Y.; JOHNSON, R. J. Uric acid: The oxidant-antioxidant paradox. **Nucleosides Nucleotides & Nucleic Acids**, Philadelphia, v. 27, n. 6-7, p. 608-619, 2008.
- SHANAB, S. M. M.; SHALABY, E. A.; EL-FAYOUMY, E. A. *Enteromorpha compressa* exhibits potent antioxidant activity. **Journal of Biomedicine and Biotechnology**, New York, v. 2011, article ID 726405, 11 p., 2011. doi.org/10.1155/2011/726405.
- SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenóides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul/set 2010.
- SOARES, S. E. Ácidos fenólicos como antioxidantes. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 71-81, jan/abr 2002.
- SOLTANI, S. S.; SAADATMAND, S.; KHAVARINEJAD, R.; NEJADSATTARI, T. Antioxidant and antibacterial activities of *Cladophora glomerata* (L.) Kutz. in Caspian sea coast, Iran. **African Journal of Biotechnology**, Victoria Island, v. 10, n. 39, p. 7684-7689, July 2011.
- SOUZA, B. W. S.; CERQUEIRA, M. A.; MARTINS, J. T.; QUINTAIS, M. A. C.; FERREIRA, A. C. S.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Antioxidant potential of two red seaweeds from the Brazilian coast. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 59, n. 10, p. 5589-5594, May 2011.
- SUGANTHY, N.; NISHA, S. A.; PANDIAN, S. K.; DEVI, K. P. Evaluation of *Gelidiella acerosa*, the red algae inhabiting South Indian coastal area for antioxidant and metal chelating

potential. **Biomedicine & Preventive Nutrition**, v. 3, p. 399-406, 2013. doi: 10.1016/j.bionut.2013.03.007

SUMMERLIN, N.; SOO, E.; THAKUR, S.; QU, Z.; JAMBHRUNKAR, S.; POPAT, A. Resveratrol nanoformulations: Challenges and opportunities. **International Journal of Pharmaceutics**, Amsterdam, v. 479, n. 2, p. 282-290, Feb 2015.

TAKAICHI, S. Carotenoids in algae: distributions, biosynthesis and functions. **Marine Drugs**, Basel, v. 9, n. 6, p. 1101-1118, June 2011.

TEIXEIRA, V. L. Produtos naturais de algas marinhas bentônicas. **Revista Virtual de Química**, v. 5, n. 3, p. 343-362, 2013.

TIERNEY, M. S.; SMYTH, T. J.; HAYES, M.; SOLER-VILA, A.; CROFT, A. K.; BRUNTON, N. Influence of pressurised liquid extraction and solid-liquid extraction methods on the phenolic content and antioxidant activities of Irish macroalgae. **International Journal of Food Science & Technology**, v. 48, n. 4, p. 860-869, 2013.

TRIGUI, M.; GASMI, L.; ZOUARI, I.; TOUNSI, S. Seasonal variation in phenolic composition, antibacterial and antioxidant activities of *Ulva rigida* (Chlorophyta) and assessment of antiacetylcholinesterase potential. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 25, n. 1, p. 319-328, Feb 2013.

VINAYAK, R. C.; SABU, A. S.; CHATTERJI, A. Bio-prospecting of a few brown seaweeds for their cytotoxic and antioxidant activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, New York, p. 1-9, 2010. doi: 10.1093/ecam/nek024

VINAYAK, R. C.; SUDHA, S. A.; CHATTERJI, A. Bio-screening of a few green seaweeds from India for their cytotoxic and antioxidant potential. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Malden, v. 91, n. 13, p. 2471-2476, Oct 2011.

VÍLCHEZ, C.; FORJÁN, E.; CUARESMA, M.; BÉDMAR, F.; GARBAYO, I.; VEGA, J. M. Marine carotenoids: biological functions and commercial applications. **Marine Drugs**, Basel, v. 9, n. 3, p. 319-333, Mar 2011.

WANG, T.; JÓNSDÓTTIR, R.; ÓLAFSDÓTTIR, G. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. **Food Chemistry**, Oxford, v. 116, n. 1, p. 240-248, Sept 2009.

WANG, T.; JÓNSDÓTTIR, R.; LIU, H.; GU, L.; KRISTINSSON, H. G.; RAGHAVAN, S.; ÓLAFSDÓTTIR, G. Antioxidant capacities of phlorotannins extracted from the brown algae *Fucus vesiculosus*. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, n. 23, p. 5874-5883, June 2012.