



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ**  
**CENTRO DE CIÊNCIAS**  
**DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR**  
**CURSO DE BACHARELADO EM BIOTECNOLOGIA**

**MARIA ESTER RODRIGUES LIMA**

**OLIGOSSACARÍDEOS SULFATADOS DE *Solieria filiformis*: OBTENÇÃO,  
CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro*  
COMO ESTRATÉGIA PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NA NEUROPROTEÇÃO**

**FORTALEZA**

**2025**

MARIA ESTER RODRIGUES LIMA

OLIGOSSACARÍDEOS SULFATADOS DE *Solieria filiformis*: OBTENÇÃO,  
CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro* COMO  
ESTRATÉGIA PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NA NEUROPROTEÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia. Área de concentração: Ciências Biológicas.

Orientador: Prof. Dr. Hermógenes David de Oliveira.

Co-orientadora: Talita de Souza de Alcântara.

FORTALEZA

2025



MARIA ESTER RODRIGUES LIMA

OLIGOSSACARÍDEOS SULFATADOS DE *Solieria filiformis*: OBTENÇÃO,  
CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL E ATIVIDADE ANTIOXIDANTE *in vitro* COMO  
ESTRATÉGIA PARA POTENCIAL APLICAÇÃO NA NEUROPROTEÇÃO

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso de Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial à obtenção do título de Bacharel em Biotecnologia. Área de concentração: Ciências Biológicas.

Aprovada em: 19/12/2025.

BANCA EXAMINADORA

---

Prof. Dr. Hermógenes David de Oliveira (Orientador)  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

Profa. Dra. Márjory Lima Holanda Araújo  
Universidade Federal do Ceará (UFC)

---

M.e. Francisco Ewerton de Sousa Lima  
Universidade Federal do Ceará  
Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia de Recursos Naturais

A Deus.

Aos meus pais, Gilmaro e Aparecida.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação Cearense de Apoio ao Desenvolvimento Científico e Tecnológico - FUNCAP - pelo apoio financeiro por meio da concessão de bolsa de iniciação científica.

Ao Prof. Dr. Hermógenes David de Oliveira, pela excelente orientação durante a minha graduação.

À minha co-orientadora, Talita de Souza de Alcântara Lima, pelo apoio e auxílio durante iniciação científica.

Às professoras coordenadoras do Laboratório de Farmacologia Bioquímica, professoras Nylane Maria Nunes de Alencar e Marisa Jádna Silva Frederico, pelo encorajamento e aconselhamento.

Ao Laboratório de Biotecnologia de Algas e Bioprocessos (BioAP) e ao Laboratório de Farmacologia Bioquímica (LFB) por me proporcionarem o ambiente e o trabalho em equipe, fundamentais para a minha formação acadêmica e profissional.

Aos participantes da banca examinadora Márjory Lima Holanda Araújo e Francisco Ewerton de Sousa Lima pelo tempo, pelas valiosas colaborações e sugestões.

Aos meus professores do Bacharelado em Biotecnologia da Universidade Federal do Ceará, pelos inúmeros ensinamentos e auxílio durante toda a minha graduação, essenciais para a fundamentação de minha formação acadêmica.

Ao Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular, por me oferecer as condições necessárias para o meu aprendizado.

Aos colegas da turma de graduação, pelas reflexões, críticas e sugestões recebidas.

Ao meu irmão, Gabriel, pelos conselhos e incentivo.

Aos meus pais, Gilmaro e Aparecida, pelo constante apoio e instrução essenciais para a minha trajetória pessoal e profissional.

“Porque, para onde quer que se volte a alma humana, onde quer que se estabeleça fora de ti, sempre encontrará dor, mesmo que sejam as belezas que estão fora de ti e fora de si mesma; e todavia, estas nada seriam se não existissem em ti.” (Agostinho, 2007, p. 31).

## RESUMO

O estresse oxidativo está associado a processos que contribuem para o desenvolvimento de doenças neurodegenerativas, configurando-se, portanto, como um alvo relevante na busca por agentes capazes de atenuar seus efeitos. Nesse contexto, macroalgas vermelhas destacam-se por serem ricas em iota-carragenana, um polissacarídeo sulfatado (PS) com reconhecido potencial farmacêutico e biotecnológico. O presente trabalho utilizou a macroalga vermelha *Solieria filiformis* como fonte de iota-carragenanas, galactanas de elevada massa molar, cujos produtos de hidrólise ácida originam oligossacarídeos (OS) de baixa viscosidade, considerados promissores para a investigação de atividades antioxidantes com possível efeito neuroprotetor. Assim, este estudo teve como objetivo caracterizar a estrutura química dos oligossacarídeos derivados dos polissacarídeos sulfatados de *S. filiformis* e avaliar sua atividade antioxidante *in vitro*. A macroalga foi cultivada na praia de Flecheiras, Trairi-CE e após limpeza e secagem, foi triturada e submetida a uma extração proteolítica com papaína (20 mL - 30 mg/mL) a 60 °C por 6h. Os PS obtidos foram hidrolisados com HCl 0,2 M (10 mg:mL) a 60 °C por 4h, seguidos por diálise contra água destilada em membranas de 12 kDa e liofilização. Os teores de carboidratos totais, sulfatos livres, proteínas e açúcares redutores, massa molar, grupos funcionais e potencial antioxidante nas concentrações de 0,5, 1, 2 e 4 mg/mL de OS foram determinados. Os rendimentos da extração dos PS e hidrólise foram de  $21,01 \pm 4,23\%$ , em relação à massa seca, e  $29,23 \pm 4,92\%$ , em relação à massa de PS utilizada, respectivamente. Os teores de carboidratos totais dos PS e seus OS foram de:  $60,89 \pm 4,19\%$  e  $34,96 \pm 1,02\%$ , de sulfatos livres:  $16,2 \pm 0,4\%$  e  $16,10\% \pm 0,21\%$ , de açúcares redutores:  $0,59\%$  e  $23,26 \pm 0,5\%$ , e de proteínas:  $0,6 \pm 0,1\%$  e  $1,6 \pm 0,4\%$ , respectivamente. As massas molares foram de 300 kDa e 4,58 kDa para os PS e OS, respectivamente e os grupos funcionais hidroxila (-OH), carbonila (C=O), sulfato (S=O), anel piranosídico e ligações glicosídicas, ligação carbono-oxigênio (C-O), 3,6-anidrogalactose e galactopiranosose-4-sulfato (G4S) foram preservados. Os OS apresentaram maior atividade antioxidante na concentração de 4 mg/mL, com percentual de inibição de  $26,59 \pm 1,78\%$ . O ensaio de sequestro do radical hidroxila não evidenciou atividade antioxidante em nenhuma das concentrações avaliadas. Os resultados são promissores e novas metodologias devem ser utilizadas a fim de aprofundar a caracterização de sua atividade e de suas possíveis aplicações futuras no contexto da neuroproteção.

**Palavras-chave:** Macroalga vermelha; polissacarídeos sulfatados; oligossacarídeos; hidrólise ácida.

## ABSTRACT

Oxidative stress can lead to free radical release and the oxidation of cell membrane components, causing neurodegenerative diseases. Therefore, agents that reduce this effect are a growing target for research. Some species of red seaweed are rich in iota-carrageenan, a sulfated polysaccharide (SP) with pharmaceutical and biotechnological potential. This study utilized the red seaweed *Solieria filiformis*, a source of iota-carrageenans, a high-molecular-weight galactan, whose acid hydrolysis products originate low-viscosity oligosaccharides (OS), showing promise for the investigation of antioxidant effects with potential neuroprotective activity. This study aimed to characterize the chemical structure of OS from the SP of *S. filiformis* and investigate its *in vitro* antioxidant activity. The red seaweed was cultivated at Flecheiras beach, Trairi-CE, and after cleaning and drying, was milled and subjected to proteolytic extraction with papain (20 mL - 30 mg/mL) and incubated at 60°C for 6h. The obtained SP were hydrolyzed with 0.2 M HCl (10 mg/mL) at 60°C for 4h, followed by dialysis against distilled water in 12 kDa membranes and lyophilization. The contents of total carbohydrates, free sulfates, proteins, and reducing sugars, as well as the molecular weight, functional groups, and antioxidant potential at OS concentrations of 0.5, 1, 2, and 4 mg/mL were determined. The yields of PS extraction and hydrolysis were  $21.01 \pm 4.23\%$  based on dry mass and  $29.23 \pm 4.92\%$  based on the mass of PS used. The total carbohydrate contents of SP and their OS were:  $60.89 \pm 4.19\%$  and  $34.96 \pm 1.02\%$ , free sulfates:  $16.2 \pm 0.4\%$  and  $16.10 \pm 0.21\%$ , reducing sugars:  $0.59\%$  and  $23.26 \pm 0.5\%$ , and proteins:  $0.6 \pm 0.1\%$  and  $1.6 \pm 0.4\%$ , respectively. The molecular weights of PS and OS were 300 kDa and 4.58 kDa, respectively, and the functional groups hydroxyl (-OH), carbonyl (C=O), sulfate (S=O), pyranosidic ring, glycosidic bonds, carbon-oxygen (C-O) linkage, 3,6-anhydrogalactose, and galactopyranose-4-sulfate (G4S) were preserved. OS showed higher activity at a concentration of 4 mg/mL, reaching  $26.59 \pm 1.78\%$ . The hydroxyl radical scavenging assay showed no activity at any tested concentration. These findings demonstrate the effectiveness of acid hydrolysis in obtaining sulfated oligosaccharides and preserving the functional groups essential for their biological properties. Moreover, an antioxidant effect was observed in OS; however, the subsequent application of complementary methodologies and higher concentrations is required for a more comprehensive characterization of their activity and potential future applications in neuroprotection studies.

**Keywords:** Red seaweed, sulfated polysaccharides, oligosaccharides, acid hydrolysis.

## LISTA DE FIGURAS

Figura 1	- Espécies representativas dos três filos de macroalgas. (A) Chlorophyta - alga verde <i>Ulva ohnoi</i> ; (B) Phaeophyta - alga marrom <i>Padina tetrastromatica</i> ; (C) Rhodophyta - alga vermelha <i>Gracilaria corticata</i> .....	14
Figura 2	- Componentes básicos da estrutura química das galactanas sulfatadas de macroalgas vermelhas, nomeadas de acordo com a sulfatação e variação da unidade de galactose. 1: Carragenanas. 2: Agaranas.....	15
Figura 3	- Estrutura química de galactanas sulfatadas, carragenanas kappa ( $\kappa$ ) e iota ( $\iota$ ).....	16
Figura 4	- Géis de kappa ( $\kappa$ ) e iota ( $\iota$ ) carragenana. (A): $\kappa$ -carragenana 0,3% - cubo quebradiço e cortável; (B): $\iota$ -carragenana 0,4% - cubo elástico e dobrável...	16
Figura 5	- Espécie de macroalga vermelha <i>Solieria filiformis</i> .....	18
Figura 6	- Estrutura química dos oligossacarídeos de Iota-carragenana de <i>S. filiformis</i> . Cadeias diméricas compostas por unidades de galactopiranosose unidas por ligações $\beta(1\rightarrow4)$ , contendo grupos sulfato nos carbonos C-4 da unidade A e C-2 da unidade B. A unidade B apresenta um anel de 3,6-anidrogactose, responsável pela capacidade de formação de gel na estrutura polissacarídica.....	19
Figura 7	- Esquema representativo das etapas da extração dos polissacarídeos sulfatados da <i>Solieria filiformis</i> .....	23
Figura 8	- Cromatograma de permeação em gel (GPC) dos carboidratos da macroalga vermelha <i>Solieria filiformis</i> . (A) Polissacarídeos sulfatados (PS); (B) Oligossacarídeos obtidos a partir da hidrólise ácida dos PS (OS).....	32
Figura 9	- Espectros de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) dos polissacarídeos sulfatados de <i>Solieria filiformis</i> .....	34
Figura 10	- Espectros de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) dos oligossacarídeos (OS) de polissacarídeos sulfatados de <i>Solieria filiformis</i> .....	34
Figura 11	- Atividade antioxidante dos oligossacarídeos dos polissacarídeos sulfatados de <i>Solieria filiformis</i> (OS) do ensaio de Sal de diamônio 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolona-6-sulfonato) (ABTS).....	35

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
ABTS	Sal de diamônio 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato)
FTIR	Em português: Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier
GPC	Em português: Cromatografia de permeação em gel
IC <sub>50</sub>	Concentração inibitória média (a 50%)
OS	Oligossacarídeos dos polissacarídeos sulfatados
PS	Polissacarídeos Sulfatados

## SUMÁRIO

1	<b>INTRODUÇÃO</b> .....	13
1.1	<b>Macroalgas</b> .....	13
1.2	<b>Polissacarídeos sulfatados de macroalgas vermelhas</b> .....	14
1.3	<b>Atividades bioquímicas <i>in vitro</i> dos PS</b> .....	16
1.4	<b>Macroalga vermelha <i>Solieria filiformis</i></b> .....	17
2	<b>OBJETIVOS</b> .....	21
2.1	<b>Objetivo geral</b> .....	21
2.2	<b>Objetivos específicos</b> .....	21
3	<b>MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	22
3.1	<b>Material Biológico</b> .....	22
3.2	<b>Extração dos polissacarídeos sulfatados de <i>S. filiformis</i></b> .....	22
3.3	<b>Hidrólise ácida dos PS</b> .....	24
3.4	<b>Caracterização química dos PS e OS de <i>S. filiformis</i></b> .....	24
3.4.1	<b><i>Determinação de carboidratos totais solúveis</i></b> .....	24
3.4.2	<b><i>Quantificação de ésteres sulfato</i></b> .....	25
3.4.3	<b><i>Determinação de açúcares redutores</i></b> .....	25
3.4.4	<b><i>Determinação de proteínas</i></b> .....	25
3.5	<b>Determinação da massa molar média por Cromatografia de permeação em gel (GPC)</b> .....	26
3.6	<b>Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)</b> .....	26
3.7	<b>Atividade antioxidante <i>in vitro</i></b> .....	26
3.7.1	<b><i>Capacidade redutora do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolona-6-ácido sulfônico) (ABTS)</i></b> .....	26
3.7.2	<b><i>Sequestro do radical hidroxila baseado na reação de Fenton</i></b> .....	27
4	<b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....	28
4.1	<b>Rendimento das extrações e hidrólise dos PS de <i>S. filiformis</i></b> .....	28
4.2	<b>Caracterização química dos PS e OS de <i>S. filiformis</i></b> .....	29
4.2.1	<b><i>Determinação de carboidratos totais solúveis</i></b> .....	29
4.2.2	<b><i>Quantificação de ésteres sulfato</i></b> .....	30
4.2.3	<b><i>Determinação de açúcares redutores</i></b> .....	31
4.2.4	<b><i>Determinação de proteínas</i></b> .....	31
4.3	<b>Caracterização estrutural dos PS e OS de <i>S. filiformis</i></b> .....	31

4.3.1	<i>Massa molar</i> .....	31
4.3.2	<i>Composição molecular</i> .....	33
4.4	<i>Atividade antioxidante dos PS e OS de S. filiformis</i> .....	35
4.4.1	<i>Sequestro do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS)</i> .....	35
4.4.2	<i>Eliminação do radical hidroxila</i> .....	36
5	<b>CONCLUSÃO</b> .....	38
	<b>REFERÊNCIAS</b> .....	39

# 1 INTRODUÇÃO

## 1.1 Macroalgas

As macroalgas são organismos pertencentes ao reino Protista e são fundamentais para o ecossistema marinho, sendo amplamente conhecidas por suas aplicações no sequestro de carbono, ecologia e utilização como recursos à vida humana e animal, tanto para a indústria cosmética, quanto nutracêutica, farmacêutica, têxtil, produção de curativos e de bioplásticos (WARREN *et al.*, 2026). A capacidade de sequestro de carbono das macroalgas conferem a elas um papel essencial na mitigação das mudanças climáticas, estimando-se que sejam responsáveis pelo armazenamento de cerca de 10% de carbono em sedimentos de declives continentais, vales submarinos e no assoalho oceânico (HUNG *et al.*, 2024). No contexto da Década do Oceano, oficialmente chamada de Década da Ciência Oceânica (2021-2030), o cultivo e colheita de macroalgas é promissor e têm se tornado o alvo de pesquisas de sua conservação e restauração para a redução dos impactos ambientais (WU; KELLER; OSCHLIES, 2023).

As diferentes empregabilidades conferidas a esses organismos advêm da diversidade de suas composições que conferem diferentes propriedades às espécies. Segundo Buckley *et al.* (2023), existem atualmente, cerca de 10.000 espécies de macroalgas registradas no mundo, classificadas em três grandes filos (**Figura 1**): Rhodophyta (algas vermelhas), Chlorophyta (algas verdes) e Ochrophyta (algas marrons) de acordo com os pigmentos fotossintéticos que produzem. Suas reservas de carboidratos, componentes da parede celular e seus compostos bioativos como os polissacarídeos sulfatados (PS) variam de acordo com a espécie e até com os fatores bióticos e abióticos do ambiente onde crescem (GASPAR; FONSECA; PEREIRA, 2020; KAMAL *et al.*, 2023; MOREIRA *et al.*, 2022; PENUELA *et al.*, 2018).

**Figura 1** - Espécies representativas dos três filós de macroalgas. (A) Chlorophyta - alga verde *Ulva ohnoi*; (B) Ochrophyta - alga marrom *Padina tetrastromatica*; (C) Rhodophyta - alga vermelha *Gracilaria corticata*.



Fonte: MANTRI; KAVALE; KAZI, 2019.

As rodófitas são consideradas o maior grupo de algas marinhas com mais de 6000 espécies registradas, representando 47% da produção de macroalgas cultivadas na última década (LÓPEZ-SANTAMARINA *et al.*, 2025; PEREIRA, 2021). Esse grupo é conhecido por apresentar uma parede celular rica em carboidratos, além de possuírem compostos como as ficoeritrinas (R-FE), ficobiliproteínas essenciais para a fotossíntese e responsáveis pela coloração avermelhada dessas algas, tornando-as capazes de absorver luz na faixa do visível de aproximadamente, 490 nm até 570 nm, permitindo que as espécies desse grupo consigam viver em ambientes marinhos de menor temperatura e de maior profundidade (BASTOS-FILHO *et al.*, 2025; PÉREZ-ROA *et al.*, 2025).

A capacidade de se adaptar à diferentes condições e serem fontes de compostos aplicáveis às indústrias de biocombustíveis, cosméticos, alimentos e meio ambiente tornam as rodófitas alvo de interesse para o desenvolvimento de métodos de cultivo, processos e produtos biotecnológicos (SUZART; VENDRAMINI, 2021).

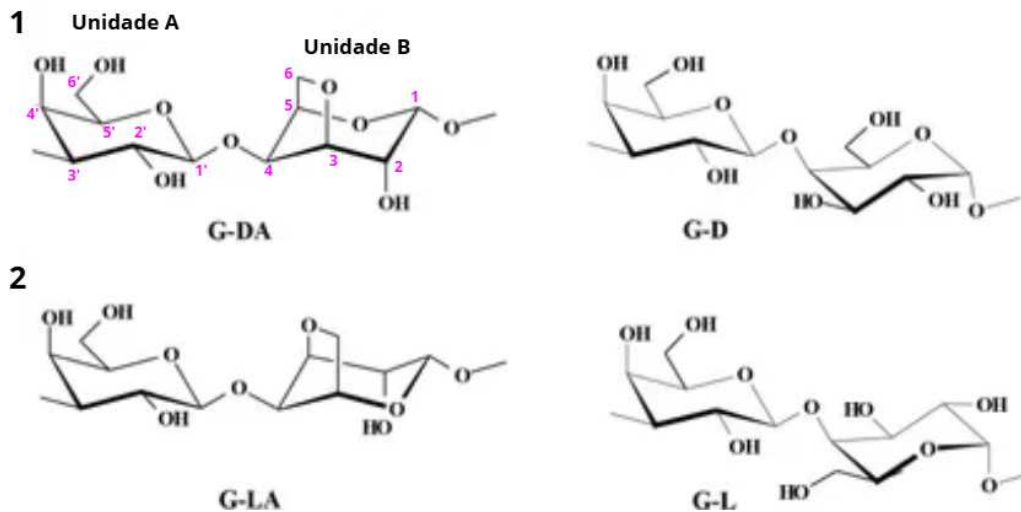
## 1.2 Polissacarídeos sulfatados de macroalgas vermelhas

Os carboidratos das macroalgas vermelhas são chamados de galactanas sulfatadas, devido a predominância do monossacarídeo galactose. Existem dois tipos principais de galactanas sulfatadas dentro do grupo das Rhodophyta: carragenanas e agaranas. Essas macromoléculas são polianiônicas e possuem grupos ésteres sulfato em sua molécula, cuja geometria é tetraédrica, com duas ligações duplas e dois oxigênios carregados negativamente (AROKIARAJAN *et al.*, 2022). O padrão de sulfatação desses carboidratos, também chamados de polissacarídeos sulfatados (PS), conferem diversidade estrutural e diferentes potenciais biológicos (ALUTA *et al.*, 2023; SOUSA *et al.*, 2022).

Ambos os PS possuem uma estrutura linear formada por díades alternadas compostas

pelas unidades A e B (**Figura 2**). A unidade A é caracterizada pela presença de  $\beta$ -D-galactopiranosose ligada na posição 3', enquanto a unidade B varia conforme o tipo de galactana sulfatada (PREMARATHNA *et al.*, 2024).

**Figura 2** - Componentes básicos da estrutura química das galactanas sulfatadas de macroalgas vermelhas, nomeadas de acordo com a sulfatação e variação da unidade de galactose. 1: Carragenanas. 2: Agaranas.

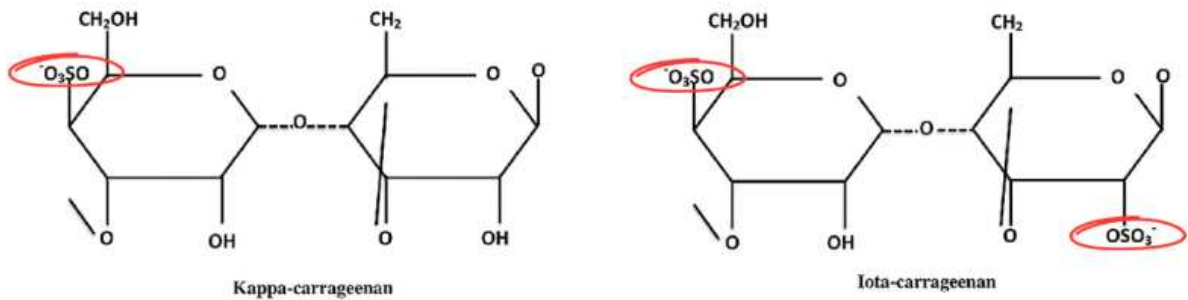


G-DA: Esqueleto da galactose 2-sulfatada + 3,6-AnGal; G-D: Esqueleto da galactose 2-sulfatada; G-L: Esqueleto da galactose 6-sulfatada; G-LA: Esqueleto da galactose 6-sulfatada + 3,6-AnGal. Fonte: CIANCIA; MATULEWICZ; TUVIKENE, 2020.

Nas carragenanas, a unidade B é composta por  $\alpha$ -D-galactopiranosose, enquanto nas agaranas, ela consiste em  $\alpha$ -L-galactopiranosose. Essa diferença na estereoquímica D para as carragenanas e L para as agaranas resulta em estruturas químicas e propriedades físicas distintas entre esses dois polissacarídeos. O comportamento gelificante dos diferentes tipos de carragenanas também é influenciado pela diferença nas suas estruturas químicas e seu grau de sulfatação (**Figura 3**), em que a  $\kappa$ -carragenana forma um gel rígido e quebradiço quando associado a íons potássio e a  $\iota$ -carragenana têm capacidade de formar um gel mais elástico e menos rígido quando ligado a íons cálcio (**Figura 4**) (HUYNH *et al.*, 2024; ZAITSEVA *et al.*, 2022).

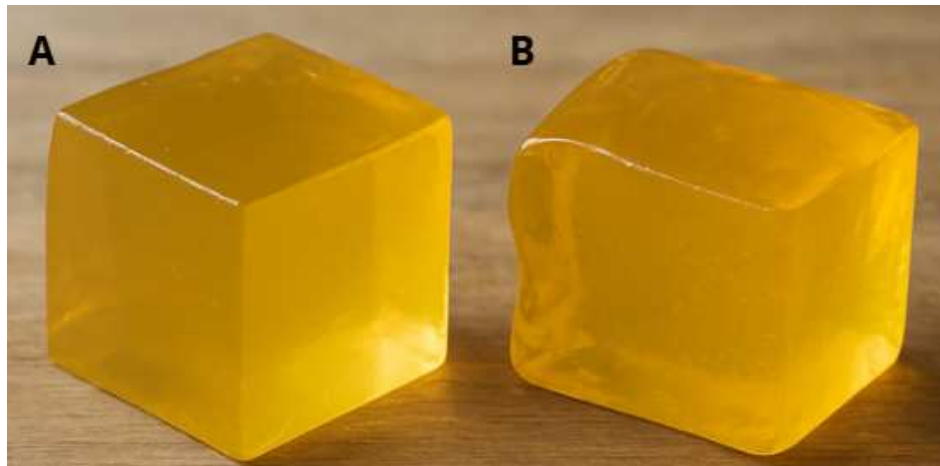
A  $\iota$ -carragenana, carboidrato majoritário da *S. filiformis*, é formada por díades ligadas por ligações glicosídicas ( $\alpha$  1-3), com um grupo sulfato no carbono 4 do primeiro anel galactopiranosídico (unidade A) e outro no carbono éster 2 do 3,6-anidrogactose (unidade B), permitindo que esses compostos apresentem atividade antioxidante (BHUYAN *et al.*, 2023; SOUZA *et al.*, 2025).

**Figura 3** - Estrutura química de galactanas sulfatadas, carragenanas kappa ( $\kappa$ ) e iota ( $\iota$ ).



Fonte: RUPERT *et al.*, 2022.

**Figura 4** - Géis de kappa ( $\kappa$ ) e iota ( $\iota$ ) carragenana. (A):  $\kappa$ -carragenana 0,3% - cubo quebradiço e cortável; (B):  $\iota$ -carragenana 0,4% - cubo elástico e dobrável.



Fonte: MCCORMICK (2025).

Os PS de macroalgas vermelhas têm se destacado em diversos setores industriais, como nos setores cosmético e farmacêutico, por serem uma fonte natural e apresentarem efeitos biológicos, tais como as atividades antioxidante, anti-inflamatória, antitumoral, entre outras (BHUYAN *et al.*, 2023; KOT *et al.*, 2023; MARQUES *et al.*, 2026).

### 1.3 Atividades bioquímicas *in vitro* dos PS

Pesquisas vêm explorando as propriedades bioquímicas dos PS, como em um trabalho realizado por Teles *et al.* (2024) que investiga a indução de fenótipo antitumoral em macrófagos *in vitro* e inibição do crescimento de tumor *in vivo* a partir da agarana sulfatada da rodófito *Gracilaria cornea*, além do estudo realizado por Yu *et al.* (2021) do efeito anti-inflamatório do PS da macroalga vermelha *Gelidium crinale* na inibição da expressão da

óxido nítrico sintase induzível (iNOS) e da ciclooxigenase-2 (COX-2), enzimas participantes de respostas inflamatórias.

Estudos com os oligossacarídeos de carragenanas, derivados dos PS, também demonstraram a capacidade desses compostos em preservar o tempo de prateleira de morangos ao suprimir a expressão do gene de enzimas de degradação da parede celular e de biossíntese de etileno (GUO *et al.*, 2022). Além disso, uma pesquisa realizada por Ning, Guo e Zhu (2025) demonstrou maior taxa de sobrevivência, imunidade inespecífica e resistência a doenças em carpas crucianas com uma dieta suplementada por oligossacarídeos de carragenanas de massa molar de 2 a 6 kDa. Um estudo realizado por Li *et al.* (2024), apresentou uma viscosidade menor que 0,1 Pa·s, com comportamento próximo ao de um fluido newtoniano para  $\kappa$ -carragenanas de tamanhos de 1,6 a 4 kDa obtidas por degradação fotocatalítica.

#### 1.4 Macroalga vermelha *Solieria filiformis*

*Solieria filiformis* (Figura 5), pertencente à família Solieriaceae, é uma espécie abundante em regiões tropicais e comum no litoral do Ceará, capaz de ser encontrada tanto em ambientes marinhos quanto estuarinos de baixa salinidade. Uma rodófito com alto teor de PS, sobretudo de  $\iota$ -carragenana, metabólitos secundários e ficobiliproteínas, como a R-FE, ela cresce bem sob condições ambientais tropicais e se adapta facilmente aos períodos sazonais da costa cearense, marcada por uma estação chuvosa de janeiro a julho e uma estação seca de agosto a dezembro. Reconhecida por suas diversas propriedades biológicas o que a torna uma espécie alvo para pesquisas na indústria farmacêutica, biotecnológica e alimentícia (HOLANDA *et al.*, 2025; ANA *et al.*, 2021).

Diversos trabalhos explorando as propriedades biológicas de *S. filiformis* já foram registrados. Uma pesquisa realizada por Souza *et al.* (2025) investiga o potencial neuroprotetor, antioxidante e citotoxicidade das  $\iota$ -carragenanas da espécie em modelos *in vitro* para o tratamento da Doença de Parkinson em neuroblastomas humanos. Outro estudo realizado por Chaves *et al.* (2023) demonstrou redução da atividade microbiana e aumento da cicatrização de feridas utilizando proteína da espécie na diminuição da concentração de *Escherichia coli* e redução da resposta inflamatória e ativação e proliferação de fibroblastos ao acelerar a deposição de colágeno observada *in vivo*. Além disso, um trabalho com a  $\iota$ -carragenana de *S. filiformis* apresentou efeito na prevenção de feridas gastrointestinais causadas pelo uso de naproxeno, um fármaco anti-inflamatório não esteroide, com efeito

máximo a 30 mg/kg, preservando também a defesa antioxidante gastrointestinal (PINHEIRO *et al.*, 2024).

**Figura 5** - Espécie de macroalga vermelha *Solieria filiformis*.



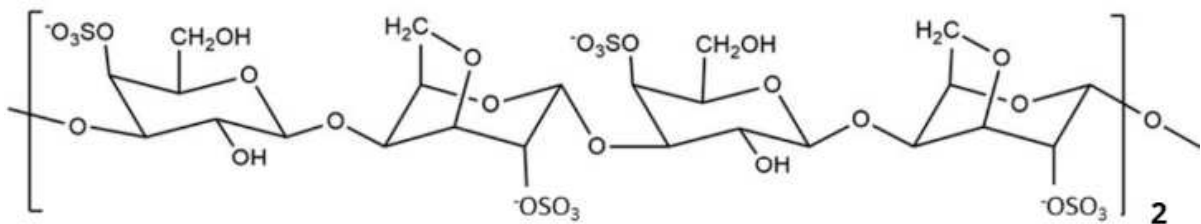
Fonte: LOPES, 2018.

Estudos apontam desafios como a alta massa molar que esses PS apresentam (na faixa de 100 a 1000 kDa), menor solubilidade em água e limitada biodisponibilidade celular, o que, em modelos *in vitro*, pode limitar seus possíveis efeitos biológicos, devido a dificuldade na passagem por membranas celulares, interações fortes cadeia-cadeia observada em cadeias longas e grupos ativos escondidos na cadeia da molécula, tornando-se inacessíveis (ANISIMOVA *et al.*, 2018; LOMARTIRE; GONÇALVES, 2023; ZAHARIEV *et al.*, 2023). Dessa forma, os oligossacarídeos (OS) derivados de polissacarídeos maiores têm se destacado por apresentarem menores massas molares e alta biodisponibilidade conferindo atividades biológicas promissoras. Esses fatores tornam essas moléculas provindas de macroalgas vermelhas um foco crescente em novos estudos para produção de medicamentos e tratamentos, como agentes com potencial neuroprotetor, antioxidante, antibacteriano e imunomodulador, além de proporcionarem um aumento do valor nutritivo e efeito sobre a saúde nas indústrias alimentícia e de cosméticos (CAO, 2023; LI *et al.*, 2025).

Os oligossacarídeos são carboidratos simples constituídos de três a dez unidades de monossacarídeos (**Figura 6**) (YAO; MA; SUI, 2023). Os OS podem ser obtidos por diferentes

métodos de hidrólise; contudo, neste trabalho optou-se pela hidrólise química ácida, por ser amplamente utilizada, versátil e de fácil reprodutibilidade (HUMAYUN *et al.*, 2023).

**Figura 6** - Estrutura química dos oligossacarídeos de Iota-carragenana de *S. filiformis*. Cadeias diméricas compostas por unidades de galactopirranose unidas por ligações  $\beta(1\rightarrow4)$ , contendo grupos sulfato nos carbonos C-4 da unidade A e C-2 da unidade B. A unidade B apresenta um anel de 3,6-anidrogalactose, responsável pela capacidade de formação de gel na estrutura polissacarídica.



Fonte: CHEONG *et al.*, 2018.

A alteração do metabolismo causado por bactérias, vírus ou compostos químicos podem gerar estresse oxidativo levando a uma superprodução de espécies reativas de oxigênio (ROS) que promovem a oxidação de lipídios das membranas causando danos celulares e teciduais (SOUSA *et al.*, 2016). A alta reatividade dos ROS pode causar diversas doenças neurodegenerativas, como a doença de Alzheimer (DA), doença de Parkinson (DP) e esclerose lateral amiotrófica (ELA), e a dificuldade de passagem pela barreira biológica para o alcance do sistema nervoso central limitam os agentes terapêuticos capazes de atravessá-la, tornando o estudo da capacidade antioxidante dos OS uma linha de pesquisa científica importante para o desenvolvimento de um potencial agente neuroprotetor (ANA *et al.*, 2021; TELEANU *et al.*, 2022).

Em estudo de Kravchenko *et al.* (2023), os oligossacarídeos da espécie rodófito *Ahnfeltiopsis flabelliformis* demonstraram maior atividade citotóxica e antiproliferativa em células humanas tumorais comparadas aos polímeros originais, além disso, em uma pesquisa de Yao *et al.* (2022), os oligossacarídeos de  $\kappa$ -carragenana inibiram a liberação de citocinas inflamatórias e a resposta de estresse oxidativo em células de microglia, impedindo a superativação da microglia associada ao surgimento de doenças neurodegenerativas. Porém, ainda há uma quantidade limitada de estudos dedicados aos oligossacarídeos de polissacarídeos sulfatados de macroalgas vermelhas, sobretudo de *S. filiformis*, evidenciando a necessidade de ampliar as investigações sobre essas moléculas e suas atividades biológicas.

Logo, os oligossacarídeos se tornam mais promissores para aplicações em áreas como, farmacologia e biotecnologia, por serem menos viscosos, mais solúveis e poderem apresentar uma maior biodisponibilidade do que os polissacarídeos íntegros (LESGOURGUES *et al.*, 2024). No entanto, mais estudos são necessários para otimizar as condições de hidrólise e maximizar o rendimento, sem comprometer as propriedades bioativas dos OS (CHEN *et al.*, 2021; HUMAYUN *et al.*, 2023).

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo geral

Hidrolisar os polissacarídeos sulfatados da macroalga *S. filiformis*, caracterizar a estrutura química dos oligossacarídeos resultantes e avaliar a sua atividade antioxidante *in vitro*.

### 2.2 Objetivos específicos

- Extrair e hidrolisar os polissacarídeos sulfatados da espécie de macroalga vermelha *S. filiformis*;
- Determinar a massa molar média dos oligossacarídeos de *S. filiformis*;
- Determinar os teores de carboidratos totais solúveis, ésteres sulfato, açúcares redutores e proteínas totais dos oligossacarídeos da macroalga *S. filiformis*;
- Identificar os grupos funcionais e a estrutura química dos oligossacarídeos de *S. filiformis*;
- Avaliar a atividade antioxidante *in vitro* dos oligossacarídeos da macroalga *S. filiformis*.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 Material Biológico

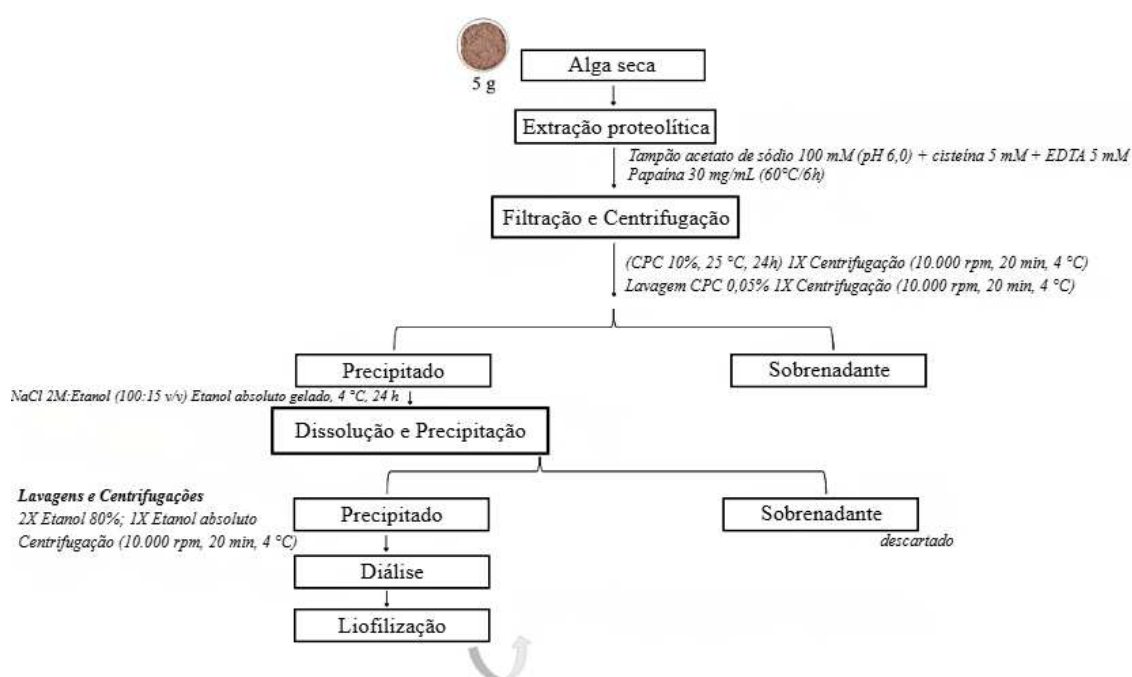
A macroalga marinha vermelha cultivada *S. filiformis* foi colhida durante o mês de março no cultivo localizado na praia de Flecheiras pela Associação de Produtores de Algas de Flecheiras e Guajiru (APAFG), município de Trairi-CE (03°13' 06" S e 39°16' 47" O). Após a colheita, as macroalgas foram transportadas em sacos plásticos ao Laboratório de Biotecnologia de Algas e Bioprocessos (BioAP) do Departamento de Bioquímica e Biologia Molecular (Bloco 907) da Universidade Federal do Ceará-UFC, *Campus* do Pici Prof. Prisco Bezerra. A espécie *S. filiformis* já foi identificada e as exsiccatas depositadas no Herbário Prisco Bezerra (EAC) da Universidade Federal do Ceará (UFC), sob o número 35682. A macroalga está registrada no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SisGen) sob n° A41C95F através do projeto “Macroalgas marinhas como biomassa e fonte de biomoléculas para o desenvolvimento de produtos e processos biotecnológicos”. No BioAP, a biomassa foi lavada com água corrente para retirada de areia e contaminantes e seca em bancada (25 °C), depois triturada em moinho para café (marca Cadence) até obtenção do pó de granulometria homogênea de tamanho pequeno.

#### 3.2 Extração dos polissacarídeos sulfatados de *S. filiformis*

A extração dos polissacarídeos sulfatados (PS) da macroalga foi realizada seguindo protocolo descrito por Farias e colaboradores (2000), com adaptações, como esquematizado na **Figura 7**. Inicialmente, 5 g da alga seca e triturada foram hidratados em 250 mL de tampão acetato de sódio 100 mM (pH 6,0), contendo EDTA (ácido etilendiamino tetra-acético) 5 mM e cisteína 5 mM (proporção de 1:50, m/v), acrescido de 20 mL de papaína (30 mg/mL). A mistura contendo as algas foi incubada em banho-maria a 60 °C durante 6 h e, após esse período, o material foi filtrado a quente em tela de náilon. Para a precipitação dos polissacarídeos sulfatados, foi adicionado ao sobrenadante a quente 25 mL de cloreto de cetilpiridínio (CPC) a 10% e incubado por 24 h. Após a precipitação, o extrato foi centrifugado (10.000 rpm, 20 min, 4 °C), o precipitado foi lavado com 200 mL de CPC 0,05% e novamente centrifugado (10.000 rpm, 20 min, 4 °C). Posteriormente, o precipitado foi dissolvido em 160 mL de NaCl 2 M: etanol (100:15 v/v) e novamente precipitado através da

adição de 300 mL de etanol absoluto (96 °C) gelado (24h; 4 °C). Após esse período, o material foi centrifugado (10.000 rpm, 20 min, 4 °C), e o precipitado lavado duas vezes com 300 mL de etanol 80% e uma terceira vez com 300 mL de etanol absoluto da marca Santa Cruz. Após as lavagens, os polissacarídeos foram dialisados contra água destilada em membrana de 12 kDa e liofilizados, para então obtenção dos PS.

**Figura 7** - Esquema representativo das etapas da extração dos polissacarídeos sulfatados da *Solieria filiformis*.



Fonte: Autora.

O rendimento dos PS obtidos em relação ao peso de alga utilizado para a extração foi calculado de acordo com a Equação 1.

#### Equação 1:

$$\text{Massa (em g) do material liofilizado obtido no final} \times 100$$

---


$$\text{Massa (em g) da macroalga desidratada utilizada para extração}$$

A extração foi realizada em triplicata.

### 3.3 Hidrólise ácida dos PS

A hidrólise foi realizada conforme o protocolo descrito por Stephanie et al. (2010) com modificações. Para a realização da hidrólise ácida leve, o PS (500 mg) foi dissolvido em 50 mL de HCl 0,2 M a 60 °C em banho maria. Após 4 horas de reação, a hidrólise foi interrompida por neutralização com NaOH 1 M, seguida de diálise contra água destilada em membrana de 12 kDa e liofilizadas. A massa obtida foi pesada e denominada oligossacarídeos sulfatados (OS) e o rendimento da hidrólise calculado segundo a **Equação 2**:

**Equação 2:**

$$\frac{\text{Massa (em g) do material liofilizado obtido no final} \times 100}{\text{Massa (em g) de PS obtida após a extração}}$$

### 3.4 Caracterização química dos PS e OS de *S. filiformis*

#### 3.4.1 Determinação de carboidratos totais solúveis

Para a análise do percentual de carboidratos totais solúveis dos PS e oligossacarídeos de *S. filiformis* foi utilizado o método do ácido sulfúrico/UV (ALBALASMEH; BERHE; GHEZZEHEI, 2013). Soluções de 1 mg/mL das amostras foram diluídas em água destilada e então 1 mL da solução diluída foi adicionada a 3 mL de ácido sulfúrico e agitado por 30 segundos. Em seguida, a solução foi colocada em banho de gelo por 2 min até estabelecer a temperatura ambiente (25 °C). Por fim, foi realizada leitura da absorbância a 315 nm em espectrofotômetro ultravioleta (UV). Todas as análises foram realizadas em triplicata. A determinação de carboidratos solúveis totais dos oligossacarídeos foi realizada em triplicata a partir de uma curva de calibração de concentrações crescentes de D-galactose (10 a 100 µg de galactose/mL) e os valores foram expressos como média e desvio padrão.

### **3.4.2 Quantificação de ésteres sulfato**

O teor de sulfato dos PS e oligossacarídeos foi determinado pelo método gelatina-bário, com modificações (DODGSON; PRICE, 1962). As amostras foram hidrolisadas em uma solução de HCl 1M (4 mg/mL), a 100 °C por 5 h. Após a reação de hidrólise, foram adicionados 3,8 mL de ácido tricloroacético a 4% e 1 mL da solução de gelatina-bário a 200 µL do polissacarídeo, seguindo o procedimento experimental. As soluções foram agitadas e depois mantidas em repouso por 20 min. Em seguida, foram quantificadas em espectrofotômetro a 360 nm. Para os oligossacarídeos, foi adicionado 2 mL de HCl 1M a 10 mg da amostra (5 mg/mL), agitado em vórtex e incubada em estufa de secagem a 105 ± 5 °C por 3 h, resfriado e centrifugado em *mini spin* por 5 min. Após isso, foram adicionados 100 µL do sobrenadante a 700 µL de HCl 1M e 200 µL do reagente de gelatina-bário, mantido em repouso por 20 min, agitado e quantificado em espectrofotômetro a 405 nm. O sulfato de sódio (Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) foi empregado como padrão e os resultados foram expressos na forma de média e desvio padrão das triplicatas realizadas.

### **3.4.3 Determinação de açúcares redutores**

Para avaliar a eficiência de hidrólise empregada aos PS, a determinação de açúcares redutores dos PS e oligossacarídeos foi realizada segundo o método de Miller (1959) com modificações. Foram utilizados 500 µL da amostra (1 mg/mL), aos quais foram adicionados 500 µL de ácido 3,5-dinitrosalicílico (DNS). A mistura foi incubada em banho-maria a 100 °C por 15 minutos. Em seguida, foi diluída com 5 mL de água destilada, e as absorbâncias foram medidas no espectrofotômetro a 540 nm. A glicose foi utilizada como padrão e os resultados das triplicatas realizadas foram expressos na forma de média e desvio padrão.

### **3.4.4 Determinação de proteínas solúveis totais**

A determinação de proteínas dos PS e oligossacarídeos foi realizada segundo o método de Bradford (1976). A concentração de proteínas foi estimada em relação à curva padrão obtida com albumina sérica bovina (BSA) e a absorbância medida a 595 nm. Os resultados foram expressos como média e desvio padrão das triplicatas realizadas.

### 3.5 Cromatografia de permeação em gel (GPC)

A distribuição da massa molar média dos PS e oligossacarídeos foi analisada em cromatógrafo LC-20AD (Shimadzu) acoplado a um detector de índice de refração RID10A (Shimadzu). Para a análise da amostra foi utilizada coluna PolySep Linear (300 mm x 7,8 mm) com pré-coluna PolySep Linear (35 mm x 7,8 mm), solução de  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mol/L) como eluente a um fluxo de 1,0 mL/min e volume de injeção de 50  $\mu\text{L}$  de amostra na concentração de 1,0 mg/mL, diluída em água destilada. Para calibração foram utilizados padrões de pululana P-82 (Shodex) com massas molares variando de  $0,59 \times 10^4$  a  $78,8 \times 10^4$  g/mol. Os resultados foram expressos em uma cromatograma relacionando o volume de eluição com a resposta do detector que corresponde diretamente à distribuição de massa molar.

### 3.6 Espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Os dados de FT-IR foram obtidos em espectrômetro (IRTracer-100 Shimadzu, Japan). A amostra dos oligossacarídeos (2 mg) foi dispersa em 200 mg de brometo de potássio (KBr) e prensado a 80 kN para formar pastilhas de KBr com uma resolução de  $4 \text{ cm}^{-1}$  e 64 scans por minuto na faixa de  $400\text{-}4000 \text{ cm}^{-1}$ .

### 3.7 Atividade antioxidante *in vitro*

#### 3.7.1 Capacidade redutora do radical 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS)

A capacidade redutora do OS sobre o radical livre 2,2'-azinobis(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS) foi avaliado de acordo com o método descrito por Xu *et al.* (2018), com modificações. Inicialmente, o radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  foi preparado a partir da reação entre 5 mL de ABTS 7 mM com 88  $\mu\text{L}$  de persulfato de potássio 140 mM. A solução foi mantida sob o abrigo da luz por 16 horas, à temperatura ambiente. Em seguida, o radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  foi diluído em água destilada até que fosse obtida absorvância de  $0,70 \pm 0,05$  a 734 nm ( $A_{734}$ ). Após essa etapa, 800  $\mu\text{L}$  do radical  $\text{ABTS}^{\bullet+}$  foram adicionados a 200  $\mu\text{L}$  de oligossacarídeos em diferentes concentrações: (0,5; 1; 2; 4 mg/mL). A mistura reacional foi homogeneizada em vórtex e mantida protegida da luz por 6 minutos.

Transcorrido o tempo de repouso, foram realizadas leituras em espectrofotômetro a absorvância de 734 nm (A734). Todas as reações foram realizadas em triplicata. O ácido ascórbico (AA) foi utilizado como controle positivo, sendo preparado nas mesmas concentrações que a amostra para posterior análise e comparação dos resultados, os quais foram expressos em porcentagem de redução de ABTS, de acordo com a **Equação 3**.

### **Equação 3:**

Atividade de redução do radical ABTS (%) =

$$\text{Redução do radical ABTS (\%)} = [A_0 - (A - A_x)/A_0] \times 100$$

Onde  $A_0$  = A734 do ABTS<sup>•+</sup>;  $A$  = A734 da amostra + ABTS<sup>•+</sup> e  $A_x$  = A734 da amostra sem água.

### **3.7.2 Sequestro do radical hidroxila baseado na reação de Fenton**

A atividade de sequestro do radical hidroxila foi determinada de acordo com Cao, Li e Wang (2008), com modificações. Resumidamente, foi adicionado solução de OS (0,5; 1; 2; 4 mg/mL) à mistura contendo 300 µL de cada um dos seguintes reagentes: H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (1 mM), sulfato ferroso (2 mM) e salicilato (6 mM) e foi incubada a 37 °C durante 15 min. A absorvância foi medida a 520 nm (A520) e AA (ácido ascórbico) foi utilizado como controle positivo. Todas as reações foram realizadas em triplicata e a porcentagem de sequestro do radical hidroxila foi calculada da seguinte forma:

### **Equação 4:**

Atividade de sequestro do radical hidroxila (%) =

$$\text{Sequestro do radical hidroxila (\%)} = [A_0 - (A_1 - A_2)/A_0] \times 100$$

Onde  $A_0$  = A520 do radical hidroxila sem amostra;  $A$  = A520 da reação da amostra + radical e  $A_2$  = A520 da amostra sem o radical.

## 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Extração e hidrólise dos PS de *S. filiformis*

A extração proteolítica dos PS de *S. filiformis* (alga seca) apresentou rendimento médio de  $21,01 \pm 4,23\%$ . Esse valor é semelhante ao encontrado para outras espécies de macroalgas vermelhas, como a *Hypnea musciformis*, para a qual foi obtido um rendimento de 28%, quando utilizado o mesmo método de extração (SOUZA *et al.*, 2018), assim como, a espécie da família Solieriaceae, *Anatheca montagnei*, com rendimento de 24% (Rodrigues *et al.*, 2010).

Rendimentos superiores foram observados no estudo de Rodrigues *et al.* (2009), que trabalharam com a alga vermelha *Halymenia pseudofloresia*, alcançando valores de 47,14% ao final de três extrações, nas quais os resíduos passaram por nova digestão com papaína para otimização do rendimento, usando o método de Farias *et al.* (2000). Esses dados sugerem que os rendimentos podem variar de acordo com a espécie de alga e as condições específicas de extração, indicando importância da otimização dos métodos para maximizar a eficiência da obtenção de polissacarídeos sulfatados, como a possibilidade do emprego da redigestão dos resíduos para as extrações com *S. filiformis* a fim de aprimorar o rendimento final obtido dessa etapa.

A variação no rendimento dos polissacarídeos sulfatados pode ser influenciada por diversos fatores, como o período de colheita, já que a *S. filiformis* do presente trabalho foi colhida durante a estação chuvosa, período onde a espécie costuma apresentar menor concentração de ι-carragenana e conteúdo de carboidratos e sulfatos, se comparada à coleta durante estação seca (HOLANDA *et al.*, 2025), o estágio de vida da alga, variações sazonais, limpeza e secagem da alga, pois a presença de contaminantes e a secagem inadequada podem aumentar artificialmente a massa seca da alga e o seu rendimento (TWIGG *et al.*, 2024). Além disso, a escolha do método é uma etapa crucial para o isolamento e a caracterização bioquímica de PS (WASSIE *et al.*, 2021). Outros métodos sólido-líquido como a extração com água demonstraram rendimentos inferiores de PS de *S. filiformis* quando comparadas a extração proteolítica com papaína. A exemplo disso, Rodrigues *et al.*, (2009) observaram rendimento de 32,64% com papaína e 22,50% utilizando extração com água (80°C), além do estudo de Chi *et al.* (2018) que apresentou maior rendimento na extração ácida dos polissacarídeos sulfatados de *Enteromorpha prolifera* com rendimento de 24,7%. Já a

extração enzimática com celulase, extração térmica em água e extração alcalina apresentaram rendimentos de 21,4%, 21,3% e 10,7%.

Ao serem submetidos à hidrólise ácida, o rendimento de OS (oligossacarídeos sulfatados) foi de  $29,23 \pm 6,76\%$ , a partir da massa utilizada para a hidrólise, e  $4,92 \pm 1,79\%$ , a partir da massa total de polissacarídeos sulfatados obtidos da extração. Esses valores indicam que a hidrólise foi eficaz na quebra parcial dos PS. Resultados semelhantes foram encontrados no trabalho de Stephanie et al. (2010) com rendimento de 25% dos oligossacarídeos obtidos de *S. chordalis*. A hidrólise desses polissacarídeos resultou em um rendimento de 29,23%.

Quando se considera o rendimento total da hidrólise em relação à massa de PS obtida da extração proteolítica, o valor obtido foi de 4,92%. Esses dados podem ser atribuídos a diversos fatores, incluindo o tempo reacional de hidrólise, temperatura e concentração ácida (JOHN *et al.*, 2025). Vale ressaltar, os rendimentos obtidos foram influenciados pela etapa de diálise, onde moléculas de raio hidrodinâmico menor que o poro da membrana (12 kDa) permearam e foram descartadas. De modo geral, os resultados obtidos evidenciam a eficácia global do processo, as etapas individuais apresentam rendimentos semelhantes aos encontrados em outros trabalhos, porém, perdas inerentes em etapas como a diálise e centrifugação durante a extração e hidrólise contribuem para a redução do rendimento final.

Pesquisas mostram que OS com massas molares menores que 5 kDa são promissoras para a utilização em análises *in vitro*. Yang et al. (2011) avaliando os OS da macroalga vermelha *Furcellaria lumbricalis* com massas molares de 1 a 2 kDa observaram a inibição da enzima beta-secretase, molécula que atua no surgimento da doença de Alzheimer. Em outra pesquisa conduzida por Kravchenko et al. (2023) foi demonstrado um maior efeito citotóxico e antiproliferativo dos oligossacarídeos da macroalga vermelha *Mastocarpus pacificus*, de tamanho 2,4 kDa, contra as células cancerígenas do cólon humano HT-29 e HCT-116.

## **4.2 Caracterização química dos PS e OS de *S. filiformis***

### **4.2.1 Determinação de carboidratos solúveis totais**

Os teores de carboidratos solúveis totais obtidos foram de  $60,89 \pm 4,19\%$  para os PS e  $34,96 \pm 1,02\%$  para os OS. O teor encontrado para os PS está de acordo com outros trabalhos com ι-carragenanas de macroalgas vermelhas que demonstraram valores semelhantes em torno de 55-75% de carboidratos na amostra, como o estudo realizado por Rocha de Souza et

al. (2007) que apresentou um teor de carboidratos de  $65,98 \pm 0,52\%$ . O valor inferior encontrado para os OS sugere que a hidrólise dos polissacarídeos favoreceu a quebra das cadeias poliméricas que gera monossacarídeos e oligossacarídeos menores que podem ter sofrido uma degradação parcial e, por isso, exibem leituras espectrofotométricas mais baixas, assim como, após a hidrólise ácida as proporções entre o conteúdo de sulfatos, açúcares e carboidratos mudam, o que pode influenciar na medida de carboidratos detectáveis (KIM *et al.*, 2013; GUO *et al.*, 2022). Entretanto, mais estudos estruturais são necessários para entender melhor as mudanças químicas e a possível preservação das propriedades bioativas dos PS em comparação com os oligossacarídeos.

#### **4.2.2 Quantificação de éster sulfato**

Os teores de sulfato dos PS foram  $16,2 \pm 0,4\%$  e dos OS foram de  $16,10 \pm 0,2\%$ . Esses resultados demonstraram que houve uma manutenção no teor de sulfato nos OS após hidrólise dos PS nas condições testadas. O achado sugere que as ligações éster sulfato presentes nas unidades de galactopiranoose de polissacarídeo foram preservadas mesmo após a hidrólise ácida nas condições de HCl 0,2 M a 60 °C por 4 horas. Estudos prévios indicam que a estabilidade dos grupos sulfatos durante a hidrólise pode estar associada às condições do processo, como a concentração de ácido, temperatura e tempo de reação, como o observado por Abd-Rahim *et al.* (2014). Segundo Khotimchenko *et al.*, (2020) a manutenção dos teores de sulfato é um indicativo positivo, pois os grupos sulfatados estão diretamente relacionados às propriedades bioativas dos polissacarídeos marinhos, como anti-inflamatória, anticoagulante e antioxidante.

A preservação dos grupos sulfato nos oligossacarídeos reforça o potencial biotecnológico desses compostos, uma vez que a modificação estrutural dos PS pode melhorar sua solubilidade e biodisponibilidade sem comprometer suas propriedades funcionais. No entanto, análises estruturais mais detalhadas, como espectroscopia de infravermelho (FTIR), ressonância magnética nuclear (RMN) e cromatografia de permeação em gel (GPC) podem auxiliar na compreensão da distribuição dos grupos sulfato e sua possível reorganização ao longo do processo de hidrólise (HUMAYUN *et al.*, 2023).

#### **4.2.3 Determinação de açúcares redutores**

Os teores de açúcares redutores foram de 0,59% para os PS e  $23,26 \pm 0,5\%$  para os OS, indicando que a hidrólise química levou à quebra das ligações glicosídicas e à liberação de maior quantidade de oligossacarídeos com extremidades redutoras. Esses achados estão em conformidade com estudos anteriores, que demonstram que a hidrólise parcial de polissacarídeos complexos resulta na formação de açúcares redutores devido à exposição de grupos terminais livres (ABD-RAHIM *et al.*, 2014).

Após a hidrólise, a degradação parcial das cadeias polissacarídicas gera unidades menores, como dissacarídeos e oligossacarídeos, que apresentam extremidades redutoras livres, aumentando os valores detectados nos ensaios espectrofotométricos. Esse efeito é esperado em muitos contextos biotecnológicos, uma vez que polímeros de menor massa molecular tendem a apresentar maior solubilidade, biodisponibilidade e potencial bioativo (YANG *et al.*, 2025).

#### **4.2.4 Determinação de proteínas**

O teor de proteínas nas amostras de PS revelaram uma concentração de  $0,6 \pm 0,1\%$ , enquanto nas de OS foi de  $1,6 \pm 0,4\%$ . Apesar do leve aumento na concentração de proteínas nos OS, o que pode ter resultado da quebra de ligações e liberação de pequenas quantidades de proteínas associadas à cadeia de carboidratos, o método de extração proteolítica com papaína foi altamente eficaz e específico para a obtenção de polissacarídeos e consequentemente na obtenção dos OS. Esses resultados estão de acordo com outros trabalhos que apresentaram valores semelhantes de proteínas, como o estudo com ι-carragenanas da macroalga vermelha *Euchema spinosa* de Rocha de Souza *et al.* (2007) com um teor de  $1,5 \pm 0,55\%$ , e ausência da detecção de proteínas em trabalhos como os de Chagas (2018) com PS de *Gelidiella acerosa* e Ribeiro (2016) com PS de *Bryothamnion triquetrum*. Além disso, os resultados sugerem alto grau de pureza da amostra, evidenciando a eficiência do processo na remoção de proteínas.

### **4.3 Caracterização estrutural dos PS e OS de *S. filiformis***

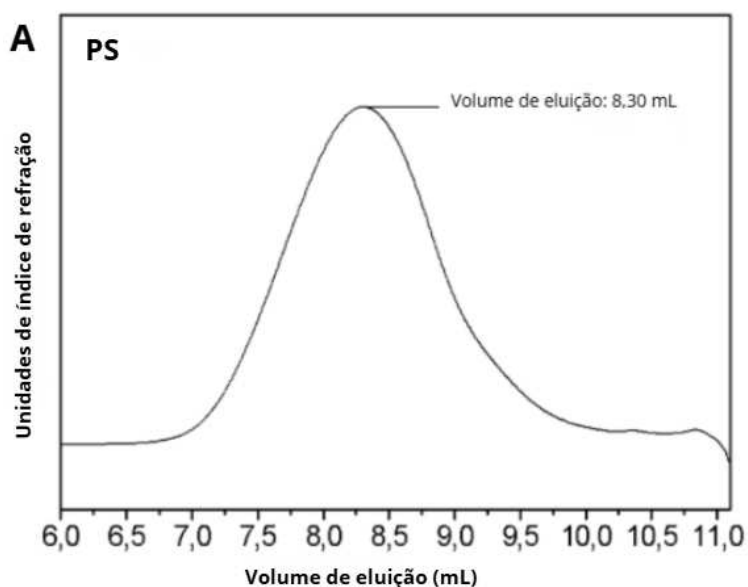
#### **4.3.1 Massa molar**

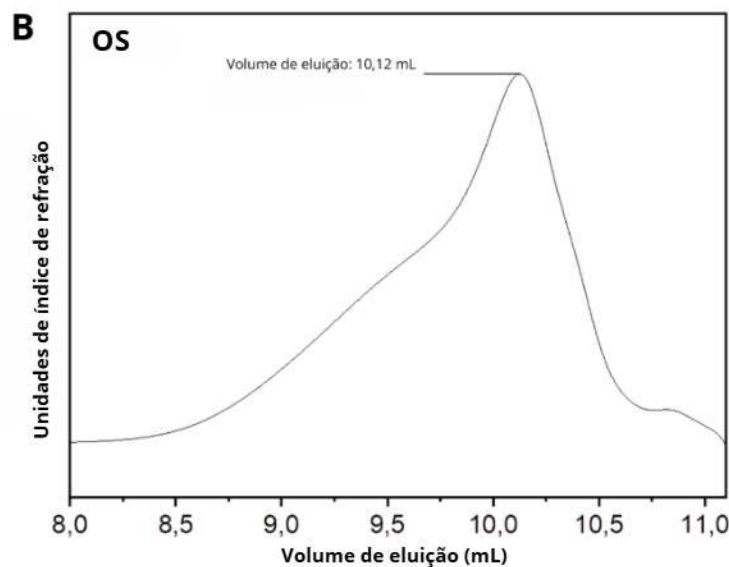
A cromatografia de permeação em gel é uma das técnicas mais utilizadas para determinação da massa molar, por possuir alta precisão, linearidade e sensibilidade, além de ser amplamente utilizada para uma variedade de compostos (FAIR *et al.*, 2021). As galactanas sulfatadas no geral possuem altas massas molares, algumas carragenanas chegam a apresentar massas molares entre 100 kDa a 1000 kDa (CHUMSOOK; PRAIBOON; FU, 2023).

O cromatograma obtido para os PS extraídos de *S. filiformis* está mostrado na **Figura 8 (A)** com uma massa molar estimada de 300 kDa (CHUMSOOK; PRAIBOON; FU, 2023; TASENDE; MANRÍQUEZ-HERNÁNDEZ, 2016). O cromatograma obtido do OS de *S. filiformis* mostrou um único pico com volume de eluição de 10,12 mL (**Figura 8b**) e a massa molar média estimada de acordo com a curva de calibração de pululanas foi de 4,58 kDa.

Este trabalho demonstrou que o processo de hidrólise nas devidas condições testadas favoreceu a diminuição da massa molar. Alguns trabalhos vêm demonstrando que esses tamanhos de moléculas podem favorecer o efeito em atividades biológicas como por exemplo neuroprotetora e antioxidante em testes *in vitro* (YANG *et al.*, 2011).

**Figura 8** - Cromatograma de permeação em gel (GPC) dos carboidratos da macroalga vermelha *Solieria filiformis*. (A) Polissacarídeos sulfatados (PS); (B) Oligossacarídeos obtidos a partir da hidrólise ácida dos PS (OS). As análises foram realizadas em coluna PolySep Linear (300 mm x 7,8 mm) com pré-coluna PolySep Linear (35 mm x 7,8 mm), solução de  $\text{NaNO}_3$  (0,1 mol/L) como eluente a um fluxo de 1,0 mL/min e volume de injeção de 50  $\mu\text{L}$  da amostra na concentração de 1,0 mg/mL. Para calibração foram utilizados padrões de pululana P-82 (Shodex) com massas molares variando de  $0,59 \times 10^4$  a  $78,8 \times 10^4 \text{ g mol}^{-1}$ .





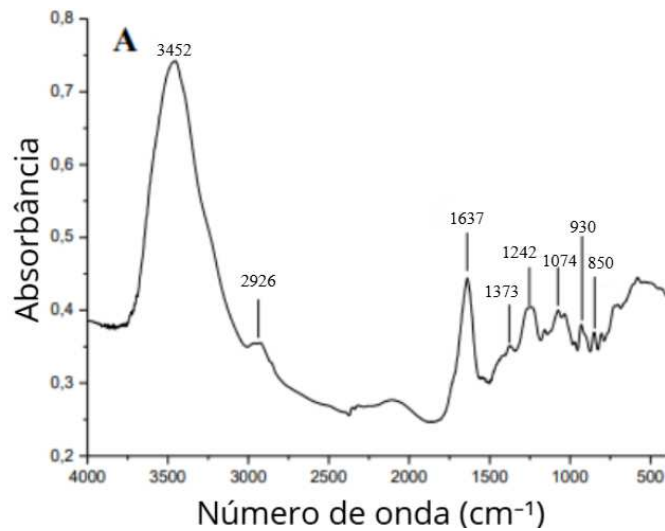
Fonte: Autora.

#### 4.3.2 Composição molecular

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) é uma técnica amplamente empregada na caracterização de compostos, devido à sua alta reprodutibilidade e confiabilidade. Esse método baseia-se na detecção das frequências de vibração específicas das ligações moleculares, requerendo quantidades mínimas de amostra para a obtenção de resultados consistentes (WORKMAN, 2024). Os espectros de IVTF dos PS e OS estão mostrados nas **Figuras 9 e 10**. Os grupos hidroxila foram observados na banda larga a  $3448\text{ cm}^{-1}$ , ligação carbonila na banda de  $1649\text{ cm}^{-1}$ , presença de grupo sulfato na banda  $1265\text{ cm}^{-1}$ , anel piranosídico + ligações glicosídicas em  $1155\text{ cm}^{-1}$ , ligação carbono-oxigênio na banda característica de  $1035\text{ cm}^{-1}$ , além de galactopirranose-4-sulfato (G4S) e 3,6-anidrogactose nas bandas de  $849\text{ cm}^{-1}$  e  $927\text{ cm}^{-1}$  na amostra de OS de *S. filiformis*, como mostrado na **Figura 10**.

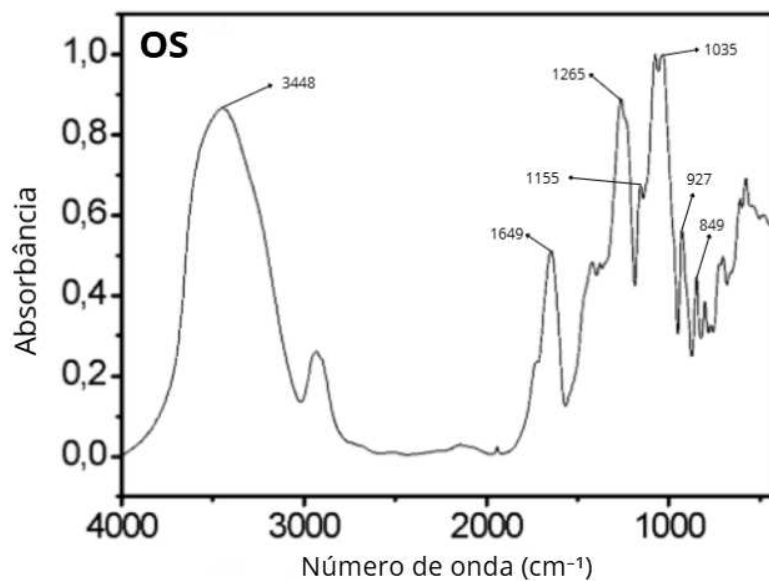
Os resultados indicam a presença dos grupos funcionais, sobretudo, do teor de sulfato na amostra de OS, ao identificar picos presentes, mesmo após a hidrólise ácida, nas mesmas bandas já conhecidas da espécie, como observado ao comparar com a **Figura 9**, além da presença dos grupos do anel piranosídico, indicando uma preservação e estabilidade favoráveis à utilização em aplicações biológicas (BEDOUX *et al.*, 2017; D'ALMEIDA *et al.*, 2025; GÓMEZ-ORDÓÑEZ; RUPÉREZ, 2011; HOLANDA, 2007; SOUSA *et al.*, 2016).

**Figura 9** - Espectros de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) dos polissacarídeos sulfatados de *Solieria filiformis*.



Fonte: ANDRADE, 2016.

**Figura 10** - Espectros de Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FT-IR) dos oligossacarídeos (OS) de polissacarídeos sulfatados de *Solieria filiformis*.



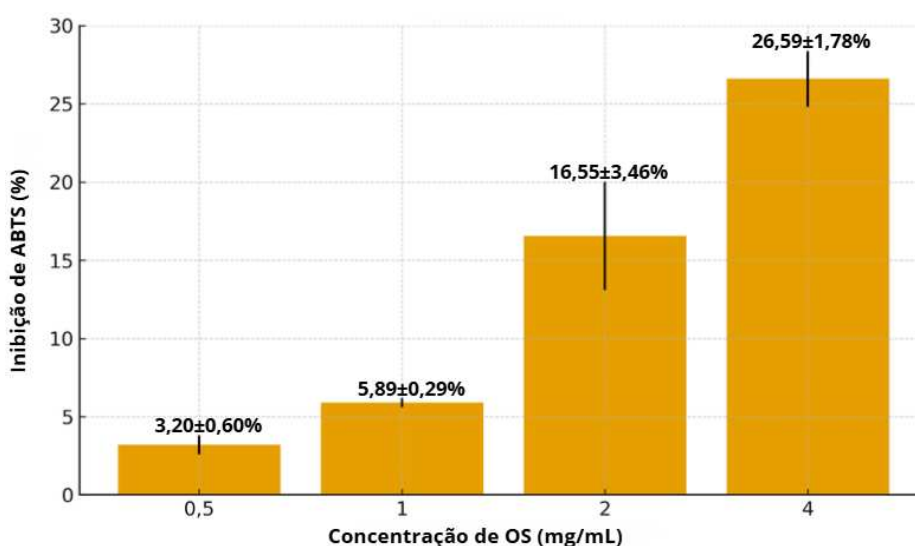
Fonte: Autora.

#### 4.4 Atividade antioxidante dos OS de *S. filiformis*

##### 4.4.1 Sequestro do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS)

O método ABTS baseia-se na capacidade de compostos antioxidantes em neutralizar o radical catiônico  $ABTS^{\bullet+}$  (2,2'-azino-bis(3-etilbenzotiazolina-6-sulfônico)), previamente gerado pela reação do sal ABTS com persulfato de potássio (WOŁOSIAK *et al.*, 2021). A amostra de OS apresentou alta atividade inibitória da ação oxidante do radical ABTS doando um elétron ou um próton na concentração de 4 mg/mL, com  $26,59 \pm 1,78\%$  de inibição como mostrado na **Figura 11**, enquanto a menor foi registrada na concentração de 0,5 mg/mL, com  $3,20 \pm 0,60\%$  de inibição, evidenciando que o efeito é dependente da concentração utilizada, uma vez que o método mede a capacidade dos OS de doar um elétron para o radical.

**Figura 11** - Atividade antioxidante dos oligossacarídeos dos polissacarídeos sulfatados de *Solieria filiformis* (OS) do ensaio de Sal de diamônio 2,2'-azino-bis (3-etilbenzotiazolina-6-sulfonato) (ABTS).



Fonte: Autora.

Esses resultados permitem traçar onde o OS chegará a um efeito de 50%,  $IC_{50}$  (Concentração efetiva 50%), na concentração de 7,23 mg/mL. O controle positivo AA apresentou  $IC_{50}=18,65 \mu\text{g/mL}$ , o que corresponde a um VCEAC (Capacidade Antioxidante Equivalente à Vitamina C em mg/g) de 2,58 mg vit. C=1 g de OS. Outros trabalhos como o de Li *et al.* (2024) apresentaram atividade antioxidante de  $\kappa$ -carragenana de 5,30% e 16,98% nas concentrações de 5 e 20 mg/mL, respectivamente, e nos seus oligossacarídeos foi atestado um aumento significativo da atividade antioxidante nas mesmas concentrações, com sequestro de 49,38% e 84,32%, respectivamente, demonstrando o efeito concentração-dependente do

sequestro de ABTS e sua correlação com a redução da massa molar. Os dados de OS demonstraram atividade antioxidante semelhante a dos PS à mesma concentração, sendo um resultado promissor para aplicações na avaliação de efeito neuroprotetor já que os OS de macroalgas também podem apresentar melhor solubilidade, baixa viscosidade e maior biodisponibilidade, além de poderem exibir menor citotoxicidade quando utilizado em células (ANA *et al.*, 2021; PEI *et al.*, 2021).

#### **4.4.2 Sequestro do radical hidroxila**

O radical hidroxila causa danos à maioria das biomoléculas, incluindo células neuronais humanas, membranas e DNA. Assim, a capacidade de sequestro desse radical é essencial para a defesa antioxidante nas células (YU *et al.*, 2021). A amostra de OS foi avaliada nas concentrações de 0,5; 1; 2; 4 mg/mL quanto à sua capacidade antioxidante. O controle positivo do ácido ascórbico apresentou IC<sub>50</sub> de 0,516 mg/mL. Os OS não apresentaram atividade de eliminação dos radicais hidroxilas em nenhuma das concentrações testadas. Outros trabalhos como o de Pei *et al.* (2021) apresentaram valores significativamente menores no teste de eliminação do radical hidroxila (50,43% na concentração de 12 mg/mL) em relação ao sequestro de ABTS (89,10% na concentração de 8 mg/mL) com PS da macroalga vermelha *Gelidium crinale*. A discrepância entre a atividade antioxidante observada nesses dois métodos pode estar relacionada à execução do método, já que o radical interage rapidamente com o meio, assim, a disposição dos compostos na mistura influencia significativamente na observação dos resultados, bem como à diferença no mecanismo de eliminação de radicais. Enquanto ABTS<sup>•+</sup> é um radical relativamente estável, o radical hidroxila (•OH) é altamente reativo e mais agressivo, exigindo um mecanismo de ativação diferente que permita interação rápida. A estrutura do polissacarídeo (grau de sulfatação, composição de monossacarídeos, massa molar, etc.) pode favorecer a atividade sobre ABTS, mas não conferir a afinidade ou rapidez necessária para neutralizar •OH (BARAHONA *et al.*, 2011). Moléculas com grupos hidroxila capazes de doar um átomo de hidrogênio, quelante de metais e carregadas negativamente podem atuar como boas sequestradoras do radical hidroxila (CHAGAS, 2018), assim, os OS podem potencialmente apresentar melhores resultados no ensaio, devido à menor massa molar e cadeias mais curtas desses compostos (FLEITA; EL-SAYED; RIFAAT, 2015). Logo, a ausência de atividade antioxidante detectada no teste de eliminação do radical hidroxila indica a necessidade de investigações adicionais

com concentrações mais elevadas e diferentes metodologias, a fim de melhor detectar seus efeitos para aplicações como um potencial agente neuroprotetor.

## 5 CONCLUSÃO

A partir das análises da estrutura química dos oligossacarídeos dos polissacarídeos sulfatados da macroalga vermelha *Solieria filiformis*, é possível observar a eficiência da hidrólise ácida ao preservar os grupos funcionais característicos dos PS originais, como os grupos sulfato e hidroxila, associados à atividade antioxidante desses compostos, a composição química e reduzir a massa molar exibida, sendo resultados promissores para aplicações em estudos posteriores do uso como um potencial agente neuroprotetor. Embora não tenha sido detectada atividade antioxidante no teste de eliminação do radical hidroxila, a atividade observada nos ensaios de sequestro do radical ABTS evidencia um efeito antioxidante promissor dos oligossacarídeos, podendo ser explorado com maiores concentrações e outras metodologias complementares que forneçam informações essenciais para a otimização de sua aplicação em áreas como a farmacêutica e biomédica.

## REFERÊNCIAS

- ABD-RAHIM, Faiqah *et al.* Production of high yield sugars from *Kappaphycus alvarezii* using combined methods of chemical and enzymatic hydrolysis. **Food Hydrocolloids**, Special Issue: International Conference on Halal Gums 2012. v. 42, p. 309–315, 15 dez. 2014.
- ABREU, Ticiana *et al.* Lectin isolated from the red marine alga *Solieria filiformis* (Kützing) P.W. Gabrielson: Secondary structure and antidepressant-like effect in mice submitted to the lipopolysaccharide-induced inflammatory model of depression. **Algal Research**, v. 65, p. 102715, 1 jun. 2022.
- ALBALASMEH, Ammar A.; BERHE, Asmeret Asefaw; GHEZZEHEI, Teamrat A. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry. **Carbohydrate Polymers**, v. 97, n. 2, p. 253–261, 12 set. 2013.
- ALBUQUERQUE, José Cirlanio Sousa *et al.* Acid hydrolysis conditions for the production of fine chemicals from *Gracilaria birdiae* alga biomass. **Algal Research**, v. 53, p. 102139, 1 mar. 2021.
- ALUTA, Uzeme P. *et al.* Chemical characterisation of sulfated polysaccharides from the red seaweed *Centroceras clavulatum* and their *in vitro* immunostimulatory and antioxidant properties. **Food Hydrocolloids for Health**, v. 3, p. 100135, 1 dez. 2023.
- AMIGO-BENAVENT, Miryam *et al.* Methodologies for bioactivity assay: biochemical study. In: [S.l.: S.n.]. p. 103–153.
- ANA, Peñuela *et al.* Anti-Herpes simplex virus (HSV-1) activity and antioxidant capacity of carrageenan-rich enzymatic extracts from *Solieria filiformis* (Gigartinales, Rhodophyta). **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 168, p. 322–330, 31 jan. 2021.
- ANDRADE, Renato Martins. Carragenanas da alga marinha vermelha *Solieria Filiformis*: caracterização estrutural e avaliação da atividade cicatrizante. 2016. 78 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.
- ANISIMOVA, Natalia Yu *et al.* Influence of Modified Fucoidan and Related Sulfated Oligosaccharides on Hematopoiesis in Cyclophosphamide-Induced Mice. **Marine Drugs**, v. 16, n. 9, p. 333, set. 2018.
- AROKIARAJAN, Mary Shamyia *et al.* Advance research in biomedical applications on marine sulfated polysaccharide. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 194, p. 870–881, 1 jan. 2022.
- BARAHONA, Tamara *et al.* Antioxidant capacity of sulfated polysaccharides from seaweeds. A kinetic approach. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 3, p. 529–535, 1 maio 2011.
- BASTOS-FILHO, Acrisio José Uchôa *et al.* Extraction, purification, physicochemical properties, and spectroscopic stability of the R-Phycoerythrin from the seaweed *Solieria filiformis* cultivated in Ceara Coast/Brazil. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 310, p. 143035, 1 maio 2025.

- BEDOUX, Gilles *et al.* Antiviral and Cytotoxic Activities of Polysaccharides Extracted from Four Tropical Seaweed Species. **Natural Product Communications**, v. Vol. 12, 1 jun. 2017.
- BHUYAN, Prajna Paramita *et al.* Seaweed-Derived Sulfated Polysaccharides; The New Age Chemopreventives: A Comprehensive Review. **Cancers**, v. 15, n. 3, p. 715, 24 jan. 2023.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, v. 72, p. 248–254, 7 maio 1976.
- BUCKLEY, Stephen *et al.* Human consumption of seaweed and freshwater aquatic plants in ancient Europe. **Nature Communications**, v. 14, p. 6192, 17 out. 2023.
- CAO, Xiao-Xia; LI, Cui-Qin; WANG, Zhe-zhi. Study on extraction and antioxidation of the flavonoids from *Anaphalis sinica* Hance form *Pterocaula* Ling. **Progress In Modern Biomedicine**, v. 8, n. 4, p. 691–693, 1 jan. 2008.
- CAO, Yuchen. The effects of seaweed oligosaccharides on humanity. **Theoretical and Natural Science**, v. 6, p. 467–473, 3 ago. 2023.
- CARNEIRO, José Gerardo *et al.* Analysis of some chemical nutrients in four Brazilian tropical seaweeds. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 36, n. 2, p. 137–145, 8 maio 2014.
- CARVALHO, João Bosco de. Caracterização química, atividade antioxidante e gastroprotetora de polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Gracilaria cearensis*. 2018. 50 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
- CARVALHO, Luciana Retz de; ROQUE, Nidia F. Fenóis halogenados e/ou sulfatados de macroalgas marinhas. **Química Nova**, v. 23, p. 757–764, 2000.
- CASTRO, George Meredite Cunha De *et al.* Optimized acid hydrolysis of the polysaccharides from the seaweed *Solieria filiformis* (Kützing) P.W. Gabrielson for bioethanol production. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 39, n. 4, p. 423, 24 nov. 2017.
- CHAGAS, Francisco Diêgo da Silva. Caracterização estrutural e propriedades bioativas dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Gelidiella acerosa*. 2018. 88 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.
- CHAVES, Renata Pinheiro *et al.* Structural study and antimicrobial and wound healing effects of lectin from *Solieria filiformis* (Kützing) P.W. Gabrielson. **Biochimie**, v. 214, n. Pt B, p. 61–76, nov. 2023.
- CHEN, Xiaodan *et al.* Agar oligosaccharides: A review of preparation, structures, bioactivities and application. **Carbohydrate Polymers**, v. 265, p. 118076, 1 ago. 2021.

- CHEONG, Kit-Leong *et al.* Oligosaccharides Derived from Red Seaweed: Production, Properties, and Potential Health and Cosmetic Applications. **Molecules**, v. 23, n. 10, p. 2451, out. 2018.
- CHI, Yongzhou *et al.* Effect of extraction techniques on properties of polysaccharides from *Enteromorpha prolifera* and their applicability in iron chelation. **Carbohydrate Polymers**, v. 181, p. 616–623, 1 fev. 2018.
- CHUMSOOK, Khosook; PRAIBOON, Jantana; FU, Xiaoting. Sulfated Galactans from Agarophytes: Review of Extraction Methods, Structural Features, and Biological Activities. **Biomolecules**, v. 13, n. 12, p. 1745, dez. 2023.
- CIANCIA, Marina; MATULEWICZ, María Cristina; TUVIKENE, Rando. Structural diversity in galactans from red seaweeds and its influence on rheological properties. **Frontiers in Plant Science**, v. 11, p. 559986, 10 set. 2020.
- COTAS, João *et al.* A comprehensive review of the nutraceutical and therapeutic applications of red seaweeds (Rhodophyta). **Life**, [S.l.], v. 10, n. 3, p. 19, 26 fev. 2020.
- COURA, Chistiane O. *et al.* Antinociceptive and anti-inflammatory activities of sulphated polysaccharides from the red seaweed *Gracilaria cornea*. **Basic & Clinical Pharmacology & Toxicology**, v. 110, n. 4, p. 335–341, abr. 2012.
- D'ALMEIDA, Alan Portal *et al.* Alcalase immobilization in iota-carrageenan-matrix hydrogel beads derived from the macroalga *Solieria filiformis*. **Enzyme and Microbial Technology**, v. 188, p. 110636, 1 ago. 2025.
- DODGSON, K. S.; PRICE, R. G. A note on the determination of the ester sulphate content of sulphated polysaccharides. **Biochemical Journal**, v. 84, n. 1, p. 106–110, jul. 1962.
- FAIR, Ryan A. *et al.* Molecular Weight Characterization of Conjugated Polymers through Gel Permeation Chromatography and Static Light Scattering. **ACS Applied Polymer Materials**, v. 3, n. 9, p. 4572–4578, 10 set. 2021.
- FARIAS, W. R. *et al.* Structure and anticoagulant activity of sulfated galactans. Isolation of a unique sulfated galactan from the red algae *Botryocladia occidentalis* and comparison of its anticoagulant action with that of sulfated galactans from invertebrates. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 275, n. 38, p. 29299–29307, 22 set. 2000.
- FLEITA, Daisy; EL-SAYED, Mayyada; RIFAAT, Dalia. Evaluation of the antioxidant activity of enzymatically-hydrolyzed sulfated polysaccharides extracted from red algae; *Pterocladia capillacea*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, n. 2, p. 1236–1244, 1 out. 2015.
- GASPAR, Rui; FONSECA, Rita; PEREIRA, Leonel. Illustrated Guide to the Macroalgae of Buarcos Bay, Figueira da Foz, Portugal. Coimbra: MARE UC, DCV, FCT, 2020. 132 p.
- GÓMEZ-ORDÓÑEZ, Eva; RUPÉREZ, Pilar. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1514–1520, 1 ago. 2011.

GUO, Zilong *et al.* Carrageenan oligosaccharides: A comprehensive review of preparation, isolation, purification, structure, biological activities and applications. **Algal Research**, v. 61, p. 102593, 1 jan. 2022.

HOLANDA, Márjory Lima. Iota-carragenana da alga marinha vermelha *Solieria filiformis* versus iota-carragenana comercial: propriedades estruturais e reológicas. Universidade Federal do Ceará. 2007. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

HOLANDA, Ticiana de Brito Lima *et al.* Growth and iota-carrageenan from the red seaweed *Solieria filiformis* (Rhodophyta, Solieriaceae) cultivated in the Ceara State coast, Brazil. **Aquaculture International**, v. 33, n. 3, p. 186, 17 fev. 2025.

HUMAYUN, Sanjida *et al.* Biochemical Characteristics and Potential Biomedical Applications of Hydrolyzed Carrageenans. **Marine Drugs**, v. 21, n. 5, p. 269, 26 abr. 2023.

HUNG, Chin-Chang *et al.* Exploring the impact of ocean warming and nutrient overload on macroalgal blooms and carbon sequestration in deep-sea sediments of the subtropical western North Pacific. **Marine Pollution Bulletin**, v. 208, p. 116918, 1 nov. 2024.

HUYNH, Tran Van *et al.* Chemical Composition, Structural Properties, and Bioactivity of Carrageenan from Field-Cultivated *Betaphycus gelatinus*. **Processes**, v. 12, p. 2610, 20 nov. 2024.

JOHN, Rinish Mortin *et al.* Review on seaweed derived sulfated and non-sulfated marine polysaccharides as multifunctional food ingredients: Structure–function relationships, bioactivities and applications in functional foods. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 330, p. 148071, 1 nov. 2025.

KALASARIYA, Haresh S. *et al.* Seaweed-Based Molecules and Their Potential Biological Activities: An Eco-Sustainable Cosmetics. **Molecules**, v. 26, n. 17, p. 5313, jan. 2021.

KAMAL, Marwa *et al.* Seasonal Changes in the Biochemical Composition of Dominant Macroalgal Species along the Egyptian Red Sea Shore. **Biology**, v. 12, n. 3, p. 411, mar. 2023.

KHOTIMCHENKO, Maxim *et al.* Antitumor potential of carrageenans from marine red algae. **Carbohydrate Polymers**, v. 246, p. 116568, 15 out. 2020.

KIM, Jae Hyung *et al.* Separation of galactose, 5-hydroxymethylfurfural and levulinic acid in acid hydrolysate of agarose by nanofiltration and electro dialysis. **Bioresource Technology**, v. 140, p. 64–72, 1 jul. 2013.

KOT, Anna *et al.* Effect of Iota-Carrageenan and Its Hydrolysates on the Stability of Milk Ice Cream Mixes. **Polish Journal of Food and Nutrition Sciences**, v. 73, p. 162–204, 2 jun. 2023.

KRAVCHENKO, Anna O. *et al.* Carrageenans and Their Oligosaccharides from Red Seaweeds *Ahnfeltiopsis flabelliformis* and *Mastocarpus pacificus* (Phylloporaceae) and Their

Antiproliferative Activity. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 8, p. 7657, jan. 2023.

KRISHNAN, Lakshmi *et al.* Seaweed-based polysaccharides – review of extraction, characterization, and bioplastic application. **Green Chemistry**, v. 26, n. 10, p. 5790–5823, 20 maio 2024.

LEE, Jia Yee *et al.* Natural Bioactive Compounds from Macroalgae and Microalgae for the Treatment of Alzheimer’s Disease: A Review. **The Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 97, n. 2, p. 205–224, jun. 2024.

LESGOURGUES, Mathilde *et al.* Ultrasound Depolymerization and Characterization of Poly- and Oligosaccharides from the Red Alga *Solieria chordalis* (C. Agardh) J. Agardh 1842. **Marine Drugs**, v. 22, p. 367, 13 ago. 2024.

LEVY-ONTMAN, Oshrat; ABU-GALIYUN, Eiman; HULEIHEL, Mahmoud. Studying the Relationship between the Antiviral Activity and the Structure of  $\iota$ -Carrageenan Using Ultrasonication. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 18, p. 14200, 17 set. 2023.

LI, Xiong *et al.* Characterization of three carrageenases from marine bacterium *Shewanella* sp. LE8: A novel approach for producing  $\iota$ -carrageenan oligosaccharides. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 297, p. 138973, 1 mar. 2025.

LI, Ziyu *et al.* Preparation of  $\kappa$ -carrageenan oligosaccharides by photocatalytic degradation: Structural characterization and antioxidant activity. **Food Chemistry: X**, v. 22, p. 101294, 30 jun. 2024.

LIMA, Ticiana de Brito. Cultivo da alga marinha vermelha *Solieria filiformis* (Kützing) P. W. Gabrielson: textura de géis aquosos e lácteos. 2012. 71 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) — Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2012.

LOMARTIRE, Silvia; GONÇALVES, Ana M. M. Algal Phycocolloids: Bioactivities and Pharmaceutical Applications. **Marine Drugs**, v. 21, n. 7, p. 384, 28 jun. 2023.

LOPES, Francisco Lucas de Souza. Otimização do processo de purificação da r-ficoeritrina da macroalga marinha vermelha *Solieria filiformis* e determinação da sua capacidade antioxidante. 2018. 74 f. Monografia (Graduação em Biotecnologia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2018.

LÓPEZ-SANTAMARINA, Aroa *et al.* Modulatory effects of red seaweeds (*Palmaria palmata*, *Porphyra umbilicalis* and *Chondrus crispus*) on the human gut microbiota via an *in vitro* model. **Food Chemistry**, v. 476, p. 143437, 1 jun. 2025.

MAGWAZA, S’thandiwe Nozibusiso; ISLAM, Md Shahidul. Roles of Marine Macroalgae or Seaweeds and Their Bioactive Compounds in Combating Overweight, Obesity and Diabetes: A Comprehensive Review. **Marine Drugs**, v. 21, n. 4, p. 258, 21 abr. 2023.

- MANTRI, Vaibhav; KAVALE, Monica; KAZI, Mudassar. Seaweed Biodiversity of India: Reviewing Current Knowledge to Identify Gaps, Challenges, and Opportunities. **Diversity**, v. 12, 25 dez. 2019.
- MARQUES, Maxsuell Lucas Mendes *et al.* A Sulfated Polysaccharide from Red Seaweed *Gracilaria caudata* Exhibits Antioxidant and Antiadipogenic Activities *In Vitro*. **Marine Drugs**, v. 24, n. 1, p. 15, jan. 2026.
- MARTINS, Alice *et al.* Sulfated Polysaccharides from Macroalgae-A Simple Roadmap for Chemical Characterization. **Polymers**, v. 15, n. 2, p. 399, 12 jan. 2023.
- MCCORMICK, Edmund “Ed”. *Kappa vs Iota Carrageenan – Which Type Should I Use, and How Much?* Cape Crystal Brands, 18 June 2025. Disponível em: <https://www.capecrystalbrands.com/pages/faq-kappa-vs-iota-carrageenan-which-type-do-i-need-and-how-much-should-i-use>. Acesso em: 16 dez. 2025.
- MENDES, Madalena *et al.* Advanced Extraction Techniques and Physicochemical Properties of Carrageenan from a Novel *Kappaphycus alvarezii* Cultivar. **Marine Drugs**, v. 22, n. 11, p. 491, 31 out. 2024.
- MILLER, Gail Lorenz. Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar. **Analytical Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 426–428, 1 mar. 1959.
- MOREIRA, Anthony *et al.* The underexplored potential of green macroalgae in aquaculture. **Reviews in Aquaculture**, v. 14, 1 jun. 2021.
- NING, Limin; GUO, Zilong; ZHU, Benwei. Enzymatic Preparation of Carrageenan Oligosaccharides and Evaluation of the Effects on Growth Performance, Serum Biochemical Parameters and Non-Specific Immunity of Crucian carp. **Marine Drugs**, v. 23, n. 2, p. 90, 19 fev. 2025.
- PACHECO-QUITO, Edisson-Mauricio; RUIZ-CARO, Roberto; VEIGA, María-Dolores. Carrageenan: Drug Delivery Systems and Other Biomedical Applications. **Marine Drugs**, v. 18, n. 11, p. 583, 23 nov. 2020.
- PAULA, Gabriela A. *et al.* Development and characterization of edible films from mixtures of  $\kappa$ -carrageenan,  $\iota$ -carrageenan, and alginate. **Food Hydrocolloids**, v. 47, p. 140–145, 1 maio 2015.
- PEI, Yu *et al.* Structural Characterization of Sulfated Polysaccharide Isolated From Red Algae (*Gelidium crinale*) and Antioxidant and Anti-Inflammatory Effects in Macrophage Cells. **Frontiers in Bioengineering and Biotechnology**, v. 9, p. 794818, 2021.
- PEÑUELA, Ana *et al.* Environmentally Friendly Valorization of *Solieria filiformis* (Gigartinales, Rhodophyta) from IMTA Using a Biorefinery Concept. **Marine Drugs**, v. 16, n. 12, p. 487, 6 dez. 2018.

PEREIRA, Juliana Gomes. Efeitos do polissacarídeo sulfatado da alga marinha vermelha *Digenea simplex* (J. Agardh) na nocicepção e inflamação. 2014. 87 f. Tese (Doutorado em Bioquímica) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2014.

PEREIRA, Leonel. Macroalgae. **Encyclopedia**, v. 1, n. 1, p. 177–188, 2021.

PÉREZ-ROA, Michael Edgardo *et al.* Seaweed-type-based protein extraction: A comparative review of green, red, and brown algae. **Algal Research**, v. 91, p. 104221, 1 out. 2025.

PIMENTEL, Filipa B. *et al.* Macroalgal-derived protein hydrolysates and bioactive peptides: Enzymatic release and potential health enhancing properties. **Trends in Food Science & Technology**, v. 93, p. 106–124, 1 nov. 2019.

PINHEIRO, João *et al.* Iota-Carrageenan from Marine Alga *Solieria filiformis* Prevents Naproxen-Induced Gastrointestinal Injury via Its Antioxidant and Anti-Inflammatory Activities. **Biomedicines**, v. 12, p. 2574, 10 nov. 2024.

PREMARATHNA, Amal D. *et al.* Polysaccharides from red seaweeds: Effect of extraction methods on physicochemical characteristics and antioxidant activities. **Food Hydrocolloids**, v. 147, p. 109307, 1 fev. 2024.

RE, R. *et al.* Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free Radical Biology & Medicine**, v. 26, n. 9–10, p. 1231–1237, maio 1999.

RIBEIRO, Carla Vivianne Pereira Estevães. Estrutura e atividade antidiarreica de polissacarídeos da alga marinha vermelha *Bryothamnion triquetrum* S. G. Gmelin. 2016. 78 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica)- Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2016.

ROCHA DE SOUZA, Micheline Cristiane *et al.* Antioxidant activities of sulfated polysaccharides from brown and red seaweeds. **Journal of Applied Phycology**, v. 19, n. 2, p. 153–160, 1 abr. 2007.

RODRIGUES, José Ariévil Gurgel. Extração e atividade anticoagulante dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Halymenia pseudofloresia*. **Revista Ciência Agronômica**, v. 40, n. 2, p. 225–231, 2009.

RODRIGUES, José Ariévil Gurgel *et al.* Isolamento, fracionamento e atividade anticoagulante de iota-carragenanas da *Solieria filiformis*. **Ciência Rural**, v. 40, p. 2310–2316, 2010.

RUPERT, Rennielyn *et al.* Carrageenan From *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Solieriaceae): Metabolism, Structure, Production, and Application. **Frontiers in Plant Science**, v. 13, p. 859635, 2022.

SOUSA, Antônio *et al.* Polysaccharides from macro algae: Anti-inflammatory actions against systemic inflammatory process and in the gastrointestinal tract. **Journal of Applied Phycology**, v. 35, 1 dez. 2022.

SOUSA, Willer M. *et al.* Sulfated polysaccharide fraction from marine algae *Solieria filiformis*: Structural characterization, gastroprotective and antioxidant effects. **Carbohydrate Polymers**, v. 152, p. 140–148, 5 nov. 2016.

SOUZA, Ricardo Basto *et al.* *In vitro* activities of kappa-carrageenan isolated from red marine alga *Hypnea musciformis*: Antimicrobial, anticancer and neuroprotective potential. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 112, p. 1248–1256, 1 jun. 2018.

SOUZA, Ricardo Basto *et al.* Exploring the neuroprotective potential of an iota-carrageenan in *in vitro* Parkinson's disease model: evaluation of pharmacological safety, antioxidant properties, and mitochondrial function. **Aging Pathobiology and Therapeutics**, v. 7, n. 1, p. 72–80, 10 fev. 2025.

STEPHANIE, Bondu *et al.* Carrageenan from *Solieria chordalis* (Gigartinales): Structural analysis and immunological activities of the low molecular weight fractions. **Carbohydrate Polymers**, v. 81, n. 2, p. 448–460, 11 jun. 2010.

SUZART, Livia Galdino da Cruz; VENDRAMINI, Ana Lúcia do Amaral. Aplicações Biotecnológicas da Macroalga *Kappaphycus alvarezii*: um estudo prospectivo. **Cadernos de Prospecção**, v. 14, n. 4, p. 1145–1158, 1 out. 2021.

TASENDE, Manuel García; MANRIQUEZ-HERNANDEZ, Juan. Carrageenan properties and applications: a review. In: PEREIRA, Leonel (ed.). *Carrageenans: sources and extraction methods, molecular structure, bioactive properties and health effects*. 1. ed. Nova Science Publishers, 2016. p. 17–50.

TELEANU, Daniel Mihai *et al.* An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 23, n. 11, p. 5938, jan. 2022.

TELES, Felipe Barros *et al.* Non-cytotoxic sulfated agaran from red seaweed *Gracilaria cornea* induces antitumor phenotype on macrophages *in vitro* and inhibits tumor growth *in vivo*. **Bioactive Carbohydrates and Dietary Fibre**, v. 32, p. 100456, 1 dez. 2024.

TU, Jianxin *et al.* Application of logistic regression, support vector machine and random forest on the effects of titanium dioxide nanoparticles using macroalgae in treatment of certain risk factors associated with kidney injuries. **Environmental Research**, v. 220, p. 115167, 1 mar. 2023.

TWIGG, Gail *et al.* A review of the current potential of European brown seaweed for the production of biofuels. **Energy, Sustainability and Society**, v. 14, n. 1, p. 21, 27 abr. 2024.

VASCONCELOS, N. M.; PINTO, G. a. S.; ARAGAO, F. A. S. de. Determinação de açúcares redutores pelo ácido 3,5-dinitrosalicílico: histórico do desenvolvimento do método e estabelecimento de um protocolo para o laboratório de bioprocessos. 2013.

WARREN, P. *et al.* A review of current and potential applications of macroalgae to equine veterinary science. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 156, p. 105709, 1 jan. 2026.

WASSIE, Teketay *et al.* Extraction Techniques, Biological Activities and Health Benefits of Marine Algae *Enteromorpha prolifera* Polysaccharide. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, p. 747928, 2021.

WOŁOSIAK, Rafał *et al.* Verification of the Conditions for Determination of Antioxidant Activity by ABTS and DPPH Assays-A Practical Approach. **Molecules (Basel, Switzerland)**, v. 27, n. 1, p. 50, 22 dez. 2021.

WORKMAN, Jerome. A Review of the Latest Research Applications Using FT-IR Spectroscopy. **Spectroscopy**, p. 22–28, 3 set. 2024.

WU, Jiajun; KELLER, David; OSCHLIES, Andreas. Carbon dioxide removal via macroalgae open-ocean mariculture and sinking: an Earth system modeling study. **Earth System Dynamics**, v. 14, p. 185–221, 2023.

XU, Ling *et al.* The regulate function of polysaccharides and oligosaccharides that with sulfate group on immune-related disease. **Journal of Functional Foods**, v. 88, p. 104870, 1 jan. 2022.

XU, Yaoyao *et al.* Optimization of the polysaccharide hydrolysate from *Auricularia auricula* with antioxidant activity by response surface methodology. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 113, p. 543–549, 1 jul. 2018.

YANG, Bo *et al.* Structural characterisation and bioactivities of hybrid carrageenan-like sulphated galactan from red alga *Furcellaria lumbricalis*. **Food Chemistry**, v. 124, n. 1, p. 50–57, 1 jan. 2011.

YANG, Cheng *et al.* Anti-Inflammatory and Neuroprotective Effects of *Undaria pinnatifida* Fucoidan. **Marine Drugs**, v. 23, n. 9, p. 350, set. 2025.

YAO, Tianming; MA, Mengting; SUI, Zhongquan. Structure and Function of Polysaccharides and Oligosaccharides in Foods. **Foods**, v. 12, n. 20, p. 3872, jan. 2023.

YAO, Zi-Ang *et al.*  $\kappa$ -Carrageenan Oligosaccharides Inhibit the Inflammation of Lipopolysaccharide-Activated Microglia Via TLR4/NF- $\kappa$ B and p38/JNK MAPKs Pathways. **Neurochemical Research**, v. 47, n. 2, p. 295–304, fev. 2022.

YU, Jing *et al.* Fucoidan Extracted From Sporophyll of *Undaria pinnatifida* Grown in Weihai, China – Chemical Composition and Comparison of Antioxidant Activity of Different Molecular Weight Fractions. **Frontiers in Nutrition**, v. 8, 28 maio 2021.

ZAHARIEV, Nikolay *et al.* Novel Fucoidan Pharmaceutical Formulations and Their Potential Application in Oncology—A Review. **Polymers**, v. 15, n. 15, p. 3242, jan. 2023.

ZAITSEVA, Oxana Olegovna *et al.* Seaweed sulfated polysaccharides and their medicinal properties. **Algal Research**, v. 68, p. 102885, 1 nov. 2022.

ZHENG, Mingjing *et al.* A polysaccharide from edible red seaweed *Bangia fusco-purpurea* prevents obesity in high-fat diet-induced C57BL/6 mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 283, p. 137545, 1 dez. 2024.