



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

BEATRIZ EMILLY ALVES REBOUÇAS

ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS E FRAÇÕES DA MACROALGA
MARINHA VERMELHA *Hypnea pseudomusciformis* (NAUER, CASSANO &
OLIVEIRA)

FORTALEZA

2026

BEATRIZ EMILLY ALVES REBOUÇAS

ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS E FRAÇÕES DA MACROALGA
MARINHA VERMELHA *Hypnea pseudomusciformis* (NAUER, CASSANO & OLIVEIRA)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio

Coorientadora: Dr^a Karolina Costa de Sousa

FORTALEZA

2026

BEATRIZ EMILLY ALVES REBOUÇAS

ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE EXTRATOS E FRAÇÕES DA MACROALGA
MARINHA VERMELHA *Hypnea pseudomusciformis* (NAUER, CASSANO & OLIVEIRA)

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, do Centro de Ciências Agrárias, da Universidade Federal do Ceará, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Engenharia de Pesca.

Orientador: Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio

Coorientadora: Dr^a Karolina Costa de Sousa

Aprovada em: 29 / 05 / 2026

BANCA EXAMINADORA

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

Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a Dr^a Márcia Barbosa de Sousa
Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, por ter me concedido força, sabedoria e perseverança para chegar até este momento. A conclusão desta etapa representa não apenas uma conquista acadêmica, mas também o resultado de anos de dedicação, aprendizado e superação diante dos desafios encontrados ao longo dessa trajetória.

Aos meus pais, Veridiana Rebouças e Rivaldo Rebouças, por todo amor, apoio e confiança depositados em mim. Obrigada por sempre acreditarem nos meus sonhos e por todo incentivo durante essa trajetória. À minha irmã, Barbara Rebouças, e ao meu sobrinho, João Rebouças, pelo carinho, amizade e incentivo constantes. Estendo minha gratidão a toda a minha família, que sempre esteve ao meu lado torcendo pelas minhas conquistas.

Ao meu companheiro, Adriano Justino, por todo apoio, compreensão, incentivo e companheirismo ao longo desta jornada. Obrigada por compartilhar comigo os desafios e as conquistas dessa caminhada acadêmica, sempre oferecendo palavras de encorajamento nos momentos mais difíceis. Sou profundamente grata por todo carinho, cuidado e por acreditar em mim, até mesmo quando eu duvidei de mim mesma. Essa conquista também é sua.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio, minha profunda gratidão pela orientação, paciência, ensinamentos e confiança durante o desenvolvimento deste trabalho. Muito obrigada por toda dedicação, disponibilidade e contribuição para meu crescimento acadêmico e profissional.

À minha coorientadora, Dr^a Karolina Costa de Sousa, pelo apoio, dedicação e disponibilidade durante o desenvolvimento desta pesquisa. Sou grata por toda ajuda na realização dos experimentos, pelos ensinamentos compartilhados e pelas valiosas contribuições científicas, sempre oferecendo suporte e incentivo nos momentos necessários.

Aos membros da banca examinadora, Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza e Prof^a Dr^a Márcia Barbosa de Sousa, por aceitarem participar deste momento tão importante e pelas valiosas contribuições para o aprimoramento deste trabalho.

À Prof^a Dr^a Silvana Saker Sampaio, minha eterna gratidão por todo o carinho, acolhimento, incentivo e ensinamentos compartilhados desde a graduação. A senhora foi uma das pessoas que mais marcou a minha trajetória acadêmica e pessoal, fazendo diferença em momentos fundamentais da minha vida. Muito do que aprendi levarei comigo para sempre, não apenas como conhecimento científico, mas também como exemplo de dedicação, humanidade e amor pela profissão. Obrigada por acreditar em mim, apoiar-me nos momentos difíceis e celebrar comigo cada conquista. A senhora sempre terá um lugar muito especial no meu

coração.

Aos meus colegas de bancada, Sidney Steferson Galdino Lopes, Davi Araújo Cerqueira, Francisco Edmar Moreira de Lima Neto, Francisco Ikaro Xavier de Sousa e João Eudes Farias Cavalcante Filho pelo companheirismo, ajuda mútua, troca de conhecimentos e pelos momentos de convivência que tornaram esta jornada mais leve e significativa.

Aos meus amigos de trabalho, Dr^a Maria Audália Marques de Carvalho e Prof. Dr. Francisco Jarbas Santos de Sousa, minha sincera gratidão por todo o apoio, incentivo e compreensão ao longo dessa caminhada. Obrigada por sempre torcerem por mim, compreenderem os desafios da rotina acadêmica e profissional, e por apoiarem-me para que eu pudesse conciliar minhas atividades e realizar este mestrado. O carinho, a amizade e o incentivo de vocês foram muito importantes durante essa trajetória.

Ao Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE), ao Laboratório de Biotecnologia Marinha (BIOMAR) e ao Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes (LBRP), expresso minha sincera gratidão pela disponibilização da infraestrutura laboratorial, acolhimento, suporte científico e auxílio técnico durante a execução das análises e experimentos. O apoio oferecido por todos os laboratórios foi fundamental para o desenvolvimento e conclusão desta pesquisa.

Ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, pela oportunidade de formação acadêmica e pelo suporte oferecido ao longo do curso.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001.

Por fim, agradeço a todos que, direta ou indiretamente, contribuíram para a realização desta pesquisa e fizeram parte da minha trajetória acadêmica. Meu sincero muito obrigada!

RESUMO

Este estudo teve como objetivo investigar o potencial biotecnológico de extratos e frações da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, com relação às atividades biológicas e toxicidade e sua aplicação em filmes comestíveis. A biomassa algal foi submetida à extração sequencial utilizando solventes de polaridades crescentes (*n*-hexano, acetato de etila e metanol), além da obtenção de polissacarídeos sulfatados. Posteriormente, os extratos foram fracionados por partição líquido-líquido e analisados por cromatografia em camada delgada, visando à caracterização preliminar dos metabólitos secundários presentes. Foram quantificados os teores de compostos fenólicos totais (CFT) e flavonoides (TF), bem como avaliadas as atividades antioxidantes pelos métodos de sequestro dos radicais livres DPPH e ABTS⁺, poder de quelação de íons ferrosos (FIC), poder de redução de íons férricos (FRAP) e inibição do branqueamento do β -caroteno. As frações obtidas também foram submetidas a ensaios toxicológicos - fitotóxicos e citotóxicos, frente a sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*), náuplios de *Artemia* sp. e zebrafish (*Danio rerio*). Adicionalmente, investigou-se a incorporação das frações em filmes comestíveis à base de carragenana, sendo avaliadas propriedades físico-químicas, como permeabilidade ao vapor de água, espessura, solubilidade e parâmetros colorimétricos. Os resultados demonstraram que os extratos e as frações apresentaram diferentes perfis químicos e atividades biológicas, evidenciando a influência da polaridade do solvente na extração dos compostos bioativos. Os extratos apresentaram capacidade antioxidante variável nos diferentes ensaios realizados, indicando potencial para aplicação como fonte natural de antioxidantes. Nos testes toxicológicos, observou-se resposta dependente da concentração, com maior toxicidade em concentrações elevadas, especialmente para a fração hexânica. Os filmes comestíveis incorporados com as frações apresentaram alterações nas propriedades físicas e colorimétricas, demonstrando viabilidade para aplicação em sistemas de embalagem biodegradável com potencial funcional. Dessa forma, os resultados obtidos demonstraram que *H. pseudomusciformis* constitui uma fonte promissora de compostos bioativos com potencial aplicação nas áreas farmacêutica, alimentícia e biotecnológica.

Palavras-chave: rodófitas; compostos bioativos; atividade antioxidante; toxicidade; filmes comestíveis.

ABSTRACT

This study aimed to investigate the biotechnological potential of the red marine macroalga *Hypnea pseudomusciformis*, collected from Pacheco Beach, Caucaia, Ceará, Brazil. Extracts and fractions were analyzed to evaluate their biological activities, toxicity, and application in edible films. The algal biomass was subjected to sequential extraction using solvents of increasing polarity (hexane, ethyl acetate, and methanol), in addition to the extraction of sulfated polysaccharides. Subsequently, the extracts were fractionated by liquid-liquid partitioning and analyzed by thin-layer chromatography, leading to the preliminary characterization of the present secondary metabolites. The contents of total phenolic compounds and flavonoids were quantified, and the antioxidant activities were evaluated by the DPPH and ABTS⁺ free radical scavenging methods, ferrous ion chelating power (FIC), ferric ion reducing power (FRAP), and β -carotene bleaching inhibition. The obtained fractions were also subjected to toxicological assays against seeds of improved Aodai cucumber (*Cucumis sativus*), *Artemia* sp. nauplii, and zebrafish (*Danio rerio*), evaluating possible phytotoxic and/or cytotoxic effects. Additionally, the incorporation of the fractions into carrageenan-based edible films was investigated, evaluating physicochemical properties such as water vapor permeability, thickness, solubility, and colorimetric parameters. The results demonstrated that the extracts and fractions contained different chemical profiles and biological activities, highlighting the influence of solvent polarity on the extraction of bioactive compounds. The variable antioxidant capacity of algal extracts, across different assays, showed their potential for application as a natural source of antioxidants. In toxicological tests, the response depended on the concentration, with greater toxicity at higher concentrations, especially for the hexane fraction. The edible films incorporated with the fractions showed alterations in physical and colorimetric properties, demonstrating potential for application in biodegradable packaging systems with functional potential. Thus, the results obtained show that *H. pseudomusciformis* constitutes a promising source of bioactive compounds with potential application in the pharmaceutical, food, and biotechnological fields.

Keywords: rhodopyte; bioactive compounds; antioxidant activity; toxicity; edible films.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, município de Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	28
---	----

LISTA DE GRÁFICOS

Gráfico 1 – Curva padrão de ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 10 a 150 µg/mL, usada para a quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT).....	48
Gráfico 2 – Curva padrão de quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 10 a 100 µg/mL, usada para a quantificação do teor de flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF).....	50
Gráfico 3 – Capacidade de sequestro do radical livre DPPH do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	52
Gráfico 4 – Capacidade de sequestro do radical livre ABTS ⁺ do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	55
Gráfico 5 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	58
Gráfico 6 – Poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo (BHA) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	61
Gráfico 7 – Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	64

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Classificação qualitativa de fitotoxicidade.....	40
---	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Rendimentos de extração da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	46
Tabela 2 – Teores de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e dos polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	48
Tabela 3 – Teores de flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	50
Tabela 4 – Capacidade de sequestro do radical livre DPPH do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	52
Tabela 5 – Capacidade de sequestro do radical livre ABTS ⁺ do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	54
Tabela 6 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	58

Tabela 7 – Poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo (BHA) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	61
Tabela 8 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	64
Tabela 9 – Resultados das médias de crescimento radicular (<i>MCR</i>), porcentagem relativa de germinação (<i>RSG</i>), porcentagem relativa de crescimento radicular (<i>RRG</i>) e índice de germinação (<i>IG</i>) da atividade fitotóxica da fração hexânica (Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H ₂ O), nas concentrações 100 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024, e dos controles negativo e positivo, contra sementes de pepino aodai melhorado (<i>Cucumis sativus</i>), após sete dias de incubação.....	68
Tabela 10 – Letalidade de náuplios de <i>Artemia</i> sp. frente à fração hexânica (Fr. Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H ₂ O), nas concentrações 100 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024, após exposição ao dimetilsulfóxido (DMSO) a 10%, por 24 e 48 h.....	71
Tabela 11 – Peso e comprimento, expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n = 10$), de zebrafish (<i>Danio rerio</i>), do grupo controle e da fração hexânica (Fr. Hx), de <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , nas concentrações 100 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$, durante 96 horas.....	74
Tabela 12 – Resultados da espessura e permeabilidade ao vapor de água (<i>PVA</i>), dos filmes de carragenana incorporados com a fração hexânica (Fr. Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H ₂ O), nas concentrações 100 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i> , coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.....	75

- Tabela 13 – Resultados das leituras das coordenadas de cor L* (luminosidade), a* (vermelho/verde: +a indica cor vermelha e –a indica cor verde) e b* (amarelo/azul: +b indica cor amarela e –b indica cor azul), dos filmes de carragenana incorporados com a fração hexânica (Fr. Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O), nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024..... 78
- Tabela 14 – Valores de média ± desvio padrão das coordenadas de cor L* (luminosidade), a* (vermelho/verde: +a indica cor vermelha e –a indica cor verde) e b* (amarelo/azul: +b indica cor amarela e –b indica cor azul) dos filmes de carragenana incorporados com a fração hexânica (Fr. Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O), nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024..... 79

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	18
2.1	Macroalgas marinhas.....	18
2.2	Macroalga marinha vermelha <i>Hypnea pseudomusciformis</i>.....	19
2.3	Metabólitos de macroalgas marinhas.....	20
2.3.1	<i>Polissacarídeos sulfatados</i>.....	21
2.3.2	<i>Compostos fenólicos</i>.....	22
2.4	Atividades biológicas.....	23
2.4.1	<i>Atividade antioxidante</i>.....	23
2.4.2	<i>Atividade toxicologica</i>.....	24
2.5	Filmes comestíveis.....	26
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
3.1	Coleta do material (<i>Hypnea pseudomusciformis</i>).....	28
3.2	Preparação dos extratos.....	29
3.3	Obtenção do extrato de polissacarídeos sulfatados.....	30
3.4	Isolamento e purificação dos metabólitos secundários.....	30
3.4.1	<i>Partição líquido-líquido</i>.....	30
3.4.2	<i>Cromatografia em camada delgada (CCD)</i>.....	32
3.5	Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT).....	33
3.6	Quantificação dos teores de flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF).....	34
3.7	Atividades antioxidantes <i>in vitro</i>.....	34
3.7.1	<i>Capacidade de sequestro do radical livre DPPH (2,2- difenil-1-picril hidrazila)</i>.....	34
3.7.2	<i>Capacidade de sequestro do radical livre ABTS⁺ (2,2'-azino-bis(3 ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid)diammoninum salt)</i>.....	35
3.7.3	<i>Poder de quelação de íons ferrosos (FIC)</i>.....	36
3.7.4	<i>Poder de redução de íons férricos (FRAP)</i>.....	37
3.7.5	<i>Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB)</i>.....	38
3.8	Avaliação toxicológica das frações.....	39
3.8.1	<i>Atividade fitotóxica frente a sementes de pepino aodai melhorado (Cucumis</i>	

<i>sativus</i>).....	39
3.8.2 Atividade citotóxica contra náuplios de <i>Artemia sp.</i>	40
3.8.3 Atividade toxicológica no modelo experimental zebrafish (<i>Danio rerio</i>).....	41
3.9 Elaboração de filmes comestíveis.....	42
3.9.1 Preparação das soluções dos filmes e revestimentos comestíveis.....	43
3.9.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	43
3.9.3 Solubilidade em água (S).....	44
3.9.4 Cor.....	44
3.10 Análises estatísticas.....	45
4 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	46
4.1 Rendimentos dos extratos.....	46
4.2 Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT).....	47
4.3 Quantificação dos teores de flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF).....	50
4.4 Atividade antioxidante <i>in vitro</i>	51
4.4.1 Capacidade de sequestro do radical livre DPPH (2,2- difenil-1-picril hidrazila).....	51
4.4.2 Capacidade de sequestro do radical livre ABTS ⁺ (2,2'-azino-bis(3 ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid)diammoninum salt).....	54
4.4.3 Poder de quelação de íons ferrosos (FIC).....	57
4.4.4 Poder de redução de íons férricos (FRAP).....	60
4.4.5 Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB).....	63
4.5 Cromatografia de camada delgada (CCD).....	66
4.6 Avaliação toxicológica das frações.....	67
4.6.1 Atividade fitotóxica frente a sementes de pepino aodai melhorado (<i>Cucumis sativus</i>).....	67
4.6.2 Atividade citotóxica contra náuplios de <i>Artemia sp.</i>	70
4.6.3 Atividade toxicológica no modelo experimental zebrafish (<i>Danio rerio</i>).....	73
4.7 Avaliação de filmes comestíveis.....	74
4.7.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....	75
4.7.2 Solubilidade em água (S).....	76
4.7.3 Cor.....	77
5 CONCLUSÃO.....	81

REFERÊNCIAS.....	83
-------------------------	-----------

1 INTRODUÇÃO

As macroalgas desempenham um papel essencial nos ecossistemas marinhos, apresentando variações em sua composição química e valor nutricional que dependem da espécie, habitat, condições ambientais e estágio do seu ciclo de vida (Øverland; Mydland; Skrede, 2019). No ambiente natural, elas enfrentam flutuações contínuas em parâmetros como temperatura, salinidade, intensidade da luz, além das concentrações de oxigênio e dióxido de carbono. A sobrevivência das macroalgas nesses ambientes aquáticos está diretamente relacionada com a sua capacidade de responder eficientemente ao estresse oxidativo, o que justifica seu potencial como fontes significativas de compostos antioxidantes naturais (Khan; Sudhkar; Mamat, 2024).

As algas têm sido historicamente utilizadas na alimentação humana e como recurso terapêutico na medicina tradicional. A descoberta de compostos bioativos com propriedades benéficas à saúde, como atividades antioxidante, anti-inflamatória, anticancerígena e antimicrobiana, tem intensificado o interesse científico por esses organismos. Seu potencial industrial é evidenciado, especialmente pela extração de polissacarídeos, os quais vêm sendo empregados como alternativas naturais aos compostos sintéticos. Apesar do uso tradicional das macroalgas marinhas, muitos de seus extratos ainda carecem de caracterização bioquímica adequada. Embora diversos estudos tenham investigado compostos bioativos de macroalgas marinhas, permanece a necessidade de pesquisas adicionais para identificar novas moléculas e ampliar seu uso seguro em aplicações biotecnológicas voltadas ao bem-estar humano (Lomartire; Gonçalves, 2021).

As macroalgas marinhas representam alguns dos organismos vegetais mais antigos da Terra, com registros evolutivos que remontam centenas de milhões de anos. Elas são tradicionalmente classificadas em três grandes grupos com base nos seus principais pigmentos fotossintéticos: clorófitas (algas verdes), heterocontófitas (algas pardas ou marrons) e rodófitas (algas vermelhas) (Franceschini, 2025).

Frente a diversos tipos de estresse ambiental, as algas desenvolveram mecanismos adaptativos que levaram à formação de uma notável diversidade química, originada por diferentes compostos metabólicos, destacando-se, aminoácidos, proteínas, ácidos graxos, lipídios, polissacarídeos, fibras alimentares, vitaminas e metabólitos secundários como fenóis, terpenos, alcaloides e pigmentos. Muitos desses compostos têm alto valor comercial, sendo utilizados na formulação de produtos com propriedades antioxidantes, anti-inflamatórias, antitumorais, antibacterianas, antifúngicas, antivirais, além de efeitos benéficos no controle da

obesidade, diabetes e hipertensão. Nesse contexto, há um interesse crescente na prospecção, isolamento e caracterização de substâncias bioativas provenientes das algas marinhas, com vistas ao desenvolvimento de novos produtos terapêuticos e funcionais (Ghaliaoui; Hazzit; Mokrane, 2024).

O Brasil se destaca mundialmente por sua biodiversidade marinha, incluindo as macroalgas, muitas das quais ainda são pouco exploradas cientificamente. O interesse crescente por compostos naturais com potencial terapêutico tem impulsionado a busca por novas fontes de substâncias bioativas (Ellwanger; Nobre; Chies, 2023).

Espécies como *Hypnea pseudomusciformis* ganham relevância, já que pesquisas preliminares apontam para a presença de metabólitos com possíveis aplicações farmacológicas. Apesar disso, ainda há uma carência de dados específicos sobre a composição química e os efeitos biológicos dessa macroalga, o que evidencia a importância de estudos mais aprofundados. A obtenção de compostos a partir de *H. pseudomusciformis*, por meio de métodos de extração adequados e análises biológicas subsequentes, pode resultar na identificação de novos princípios ativos com potencial para uso em biotecnologia ou em formulações de produtos naturais.

Este trabalho teve como objetivo realizar uma análise preliminar das principais classes de compostos bioativos presentes na macroalga marinha vermelha *H. pseudomusciformis*, coletada na Praia de Pacheco, no Estado do Ceará e avaliar seu potencial biotecnológico por meio da determinação do conteúdo de compostos fenólicos, flavonoides e polissacarídeos sulfatados, bem como das atividades antioxidante, fitotóxica, citotóxica e toxicológica. Ademais, investigou-se a viabilidade da incorporação das frações em matrizes de carragenana, visando ao desenvolvimento de filmes comestíveis com potenciais aplicações funcionais.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Macroalgas marinhas

O ambiente marinho abriga uma grande variedade de seres vivos, incluindo algas, moluscos, esponjas e corais. Nos oceanos, micro e macroalgas desempenham papel fundamental na produção de oxigênio. Estima-se que até 80% do oxigênio presente na atmosfera, imprescindível para a respiração dos seres vivos, sejam gerados por esses organismos aquáticos (Almeida; Stein, 2023).

As algas azuis (Filo Cyanobacteriophyta) realizam fotossíntese e, por serem bactérias, geralmente têm estrutura unicelular, embora possam formar colônias visíveis a olho nu ou formas macroscópicas. Enquanto as cianobactérias são organismos procariontes, as outras algas pertencem ao grupo dos eucariontes. Presentes em quase todos os ambientes úmidos, as algas podem ser microscópicas ou macroscópicas e ocorrem tanto em água doce quanto nos mares e oceanos. As macroalgas marinhas, também conhecidas como algas bentônicas, são organismos pluricelulares que se desenvolvem em ambientes costeiros, aderidas a substratos como rochas e recifes (Leandro; Pereira; Gonçalves, 2020).

As macroalgas são tradicionalmente classificadas em três grandes grupos taxonômicos com base na coloração predominante de seus talos devido a presença dos pigmentos fotossintéticos: Chlorophyta (algas verdes), Rhodophyta (algas vermelhas) e Heterokontophyt (algas pardas), com destaque para a classe Phaeophyceae (algas pardas ou marrons bentônicas). A diferenciação entre os grupos está diretamente relacionada à composição dos pigmentos fotossintéticos presentes em cada grupo, a morfologia, a organização celular, bem como às suas reservas energéticas (Pereira, 2021).

As algas verdes possuem clorofilas *a* e *b*, além de xantofilas e carotenos, e acumulam amido verdadeiro como principal substância de reserva. A presença desses pigmentos, juntamente com a produção do amido verdadeiro e as características moleculares, sugere uma relação evolutiva próxima às plantas terrestres, sustentando a hipótese de ancestralidade comum entre ambos os grupos. No caso das macroalgas vermelhas, predominam as clorofilas *a* e *d*, além de carotenoides e das ficobiliproteínas (azuis e vermelhas), com destaque para a ficoeritrina, pigmento que confere a coloração avermelhada característica do grupo, e a presença do amido das florídeas como principal substância de reserva. Esses organismos são particularmente abundantes em ambientes marinhos de clima tropical. As macroalgas pardas ou marrons, por sua vez, apresentam clorofilas *a* e *c*, além dos carotenoides,

em especial a presença da fucoxantina (xantofila), pigmento responsável pela coloração parda/marrom, tendo como substância de reserva o alginato e o fucoidano. Esse grupo acumula laminarina e lipídios, fundamentais para sua sobrevivência em ambientes costeiros e frios (Barsanti; Gualtieri, 2023; Vidotti; Rollemberg, 2004).

Nos últimos anos, tem sido observado um crescimento expressivo no interesse comercial pelas macroalgas, impulsionado por sua multifuncionalidade e ampla gama de aplicações industriais. No setor alimentício, esses organismos são utilizados tanto como alimento direto quanto como matéria-prima para a extração de hidrocoloides, como ágar, carragenana e alginato, cujas propriedades físico-químicas os tornam ideais como agentes espessantes, gelificantes e estabilizantes em diversos produtos alimentares processados (Figueira; Martins, 2020; Häder, 2021).

Segundo dados da Organização das Nações Unidas para Agricultura e Alimentação (FAO, 2024), em 2022, a produção mundial de algas atingiu 38 milhões de toneladas, sendo 97% provenientes do cultivo (36,5 milhões de toneladas), com um incremento de 4% em relação a 2020, refletindo o crescimento contínuo da atividade, especialmente nos países asiáticos como China, Malásia, Filipinas, Tanzânia, Rússia, Indonésia, Coreia do Norte, Japão e outros produtores menores. Além do valor econômico, as algas também têm importante função ecológica, estando na base da cadeia trófica dos oceanos, na ciclagem de vários elementos, na consolidação dos recifes coralinos, contribuindo para a captura de carbono e manutenção da biodiversidade marinha (Gao; Lin, 2018).

2.2 Macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*

A macroalga marinha *Hypnea pseudomusciformis* (anteriormente *H. musciformis*), pertencente ao Filo Rhodophyta, é uma espécie epífita amplamente distribuída ao longo da costa tropical do Atlântico sul-americano. Nas últimas duas décadas, essa espécie tem sido alvo de muitos estudos científicos. Mais recentemente, foi desenvolvida e registrada no sistema de patentes brasileiro, uma tecnologia voltada para seu cultivo em larga escala, com duração média de 45 dias, utilizando um substrato de polipropileno e manejo simples e prático que não requer cuidados constantes. A análise de mercado apontou boa aceitação da macroalga cultivada para utilização como alimento no Brasil, enquanto a avaliação bioeconômica indicou que seu cultivo apresenta elevado potencial de rentabilidade (Pereira; Kimpara; Valenti, 2020; Pereira; Kimpara; Valenti, 2021).

Nauer, Cassano e Oliveira (2015) realizaram estudos morfológicos e genéticos em

espécies do gênero *Hypnea*, com o objetivo de comparar exemplares da costa brasileira com amostras de outros países, incluindo a região da Itália. As 128 sequências de DNA de 115 espécimes analisados revelaram alta divergência entre os espécimes sul-americanos e italianos, indicando que os encontrados no Brasil pertencem a uma espécie distinta. Com base nos resultados obtidos das análises moleculares e morfológicas realizadas, os exemplares brasileiros anteriormente identificados como *H. musciformis*, *H. nigrescens* e *H. valentiae* foram reinterpretados como variações morfológicas de uma nova espécie, descrita como *H. pseudomusciformis*.

H. pseudomusciformis é a espécie mais frequente e abundante do gênero *Hypnea* ao longo da costa brasileira, com distribuição do Maranhão até Santa Catarina, e estendendo-se até o Uruguai. Em sua forma típica, é simples de ser identificada pela ramificação irregular em múltiplos planos, presença de ramos espinhosos e gavinhas abundantes nas extremidades. No entanto, apresenta variações morfológicas conforme as condições ambientais, especialmente em costões rochosos expostos (Jesus, 2020).

O gênero *Hypnea*, da ordem Gigartinales, é conhecido por produzir diversos fitoquímicos importantes, como fenóis, flavonoides, terpenoides, alcaloides e esteróis. Os compostos, junto a polissacarídeos presentes nas espécies do gênero, têm demonstrado atividades terapêuticas relevantes, como ação anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, antiproliferativa e imunomoduladora. Apesar do uso tradicional das algas vermelhas, especialmente *Hypnea*, o conhecimento sobre seus potenciais farmacológicos ainda é limitado. Por isso, é essencial aprofundar as pesquisas sobre seus metabólitos e seus mecanismos de ação, explorando a relação entre estrutura química e atividade biológica (Saber *et al.*, 2024).

2.3 Metabólitos de macroalgas marinhas

Metabólitos de macroalgas marinhas são compostos químicos produzidos pelas algas, podendo ser tanto primários quanto secundários, e desempenham funções vitais para o organismo, podendo ter aplicações em diversas áreas. Esses compostos podem ser classificados em primários, como lipídios, proteínas e carboidratos, e secundários, como polissacarídeos, polifenóis e pigmentos, com potenciais aplicações em áreas como nutrição, cosmética e farmacêutica. Os metabólitos secundários são frequentemente especializados e podem conferir vantagens adaptativas, como proteção contra herbívoros, competição com outras algas ou defesa contra patógenos (Cadar *et al.*, 2025).

As algas são largamente reconhecidas por sua capacidade de sintetizar uma extensa

variedade de compostos bioativos, para se adaptarem e sobreviverem em um ambiente marinho competitivo e desafiador, muitos dos quais possuem propriedades antioxidantes que desempenham papel essencial na proteção contra o estresse oxidativo, radiação UV, defesa contra a herbivoria e predação (Getachew; Jacobsen; Holdt, 2020; Jiménez-Escrig; Gómez-Ordóñez; Rupérez, 2012).

2.3.1 Polissacarídeos sulfatados

Nas últimas décadas, tem-se observado um crescente interesse pelos metabólitos de origem marinha, com ênfase especial nos polissacarídeos sulfatados presentes nas algas. Estes compostos são abundantemente encontrados em suas paredes celulares e estruturas intracelulares, sendo ricos em substâncias biologicamente ativas, como ágar, carragenana, fucoidana, alginato e ulvana (Akter *et al.*, 2024).

Os polissacarídeos sulfatados provenientes dessas algas têm despertado atenção significativa, sobretudo nas indústrias alimentícia, farmacêutica, cosmética e clínica, devido às suas propriedades funcionais, incluindo gelificação, espessamento, estabilização, atividade antioxidante, imunomodulação e ação anticoagulante. Sua composição varia de acordo com o tipo de alga: nas algas pardas, destacam-se alginato, fucoidana e laminarina; nas algas vermelhas, carragenana e ágar; e, nas algas verdes, as ulvanas, todos apresentando aplicações amplas na indústria (Patel, 2018; Şahin, 2021).

As macroalgas marinhas vermelhas são ricas em galactanas sulfatadas, como o ágar, a agarose e a carragenana. A carragenana é um polissacarídeo aniônico de alto peso molecular, bastante sulfatado, composto por unidades repetitivas do dissacarídeo formado por 1,3- β -D-galactose e 1,4- α -D-galactose. As variações dessas moléculas refletem a posição dos grupos sulfato nas moléculas da galactose o que altera sua estrutura e resulta na formação de diferentes tipos de carragenanas e no grau de viscosidade. Dentre as principais formas comercialmente exploradas destacam-se as carragenanas lambda (λ -), kappa (κ -) e iota (ι -), sendo a κ -carragenana a mais amplamente empregada, sobretudo na indústria alimentícia, em virtude de sua elevada capacidade de formação de géis, aumento de viscosidade e estabilidade. Adicionalmente, esse polímero apresenta ampla aplicabilidade em formulações cosméticas, onde atua como agente espessante, estabilizante e formador de filme (Saber *et al.*, 2024).

Palani *et al.* (2022) observaram elevado potencial antioxidante e bioativo de uma carragenana extraída da macroalga marinha vermelha *Hypnea valentiae*. Ela apresentou atividade antioxidante geral de 70,1% na concentração 250 μ g/mL e eficiência na eliminação

de radicais livres DPPH (65,74% na concentração 160 µg/mL) e de radicais hidroxila (65,72% na concentração 125 µg/mL). Além disso, o extrato metanólico da macroalga revelou forte atividade larvica contra *Aedes aegypti*, apresentando uma concentração letal média (LC₅₀) de 99,675 µg/mL. Tais resultados sugerem que os polissacarídeos extraídos de *H. valentiae* possuem compostos promissores para aplicações farmacológicas e controle de vetores.

De acordo com Premarathna *et al.* (2024), os extratos de PS de macroalgas vermelhas, como a carragenana nativa, representam uma fonte promissora de antioxidantes, devido às diversas propriedades que podem influenciar as atividades celulares. Mesmo quantidades reduzidas de CFT podem potencializar a atividade biológica dos PS. O extrato PS da macroalga marinha vermelha *Chondrus crispus* apresentou CFT de 0,3 mg EAG/g e demonstrou uma significativa capacidade de sequestro de radicais livres, evidenciada pelos testes de DPPH e FRAP.

2.3.2 Compostos fenólicos

Compostos fenólicos são metabólitos secundários sintetizados por uma variedade de organismos, incluindo plantas, micro-organismos e algas. Várias hipóteses tentam explicar a produção e acúmulo dos compostos nos tecidos das algas marinhas, sendo que uma das mais amplamente reconhecidas consiste na ideia de que eles desempenham papel importante no mecanismo de defesa contra estresses bióticos e abióticos (Getachew; Jacobsen; Holdt, 2020).

Os compostos fenólicos são substâncias químicas que pertencem a uma classe de compostos orgânicos caracterizados por uma estrutura básica com um anel aromático (C₆H₅) ligado a um ou mais grupos hidroxila (-OH). Os compostos podem variar desde moléculas simples até estruturas mais complexas, e sua principal característica é a presença desse anel aromático, estrutura cíclica formada por seis átomos de carbono. Amplamente encontrados em plantas, algas e fungos, eles possuem funções biológicas importantes, como atividades antioxidante, anti-inflamatória e antibacteriana. Nas algas, eles desempenham papéis fundamentais na defesa contra radiação UV, herbivoria e estresse oxidativo, ajudando a alga a se proteger de condições ambientais adversas (Al Mamari, 2021). Esses compostos são frequentemente utilizados nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentícia devido aos seus efeitos benéficos para a saúde. Exemplos típicos de compostos fenólicos incluem flavonoides, taninos e lignanos (Sun; Shahrajabian, 2023).

2.4 Atividades biológicas

2.4.1 Atividade antioxidante

Os antioxidantes são substâncias essenciais para a saúde humana, pois desempenham um papel fundamental na proteção das células contra os danos causados pelos radicais livres. Os radicais livres são moléculas instáveis que, ao interagirem com as células do corpo, podem causar estresse oxidativo, um processo relacionado ao envelhecimento precoce e ao desenvolvimento de várias doenças, como câncer, Alzheimer, aterosclerose, artrite reumatoide, doenças neurodegenerativas, entre outras (Kiran; Otlü; Karabulut, 2023).

Os radicais livres possuem um ou mais elétrons desemparelhados em sua camada mais externa, o que os torna altamente instáveis, de curta duração e com grande potencial de reatividade. Quando a produção desses radicais é excessiva, pode ocorrer o estresse oxidativo, um processo que resulta em oxidação e dano de macromoléculas vitais no organismo. Isso interfere diretamente nas vias de transdução de sinal e no equilíbrio dos antioxidantes. Em concentrações controladas, as espécies reativas de oxigênio (EROs) desempenham um papel importante como “segundos mensageiros”, regulando diversos processos fisiológicos celulares. Entretanto, quando suas concentrações ultrapassam os limites da capacidade celular, elas provocam estresse oxidativo, frequentemente associado ao desenvolvimento de diversas doenças humanas (Sadiq, 2023).

As algas marinhas surgem como uma fonte particularmente rica e promissora de antioxidantes naturais. Diversas espécies de macroalgas vermelhas, verdes e pardas são conhecidas por conterem uma grande variedade de compostos bioativos com potentes propriedades antioxidantes. Os polifenóis, carotenoides, flavonoides, vitaminas e polissacarídeos são exemplos de antioxidantes (Michalak *et al.*, 2022).

O efeito sinérgico, importante conceito em diversas áreas, tem sido demonstrado com extratos algais, pela interação entre diferentes elementos para alcançar resultados superiores ao esperado pela simples adição de seus efeitos individuais. De acordo com as observações de Frazzini *et al.* (2022), em um estudo *in vitro*, a combinação dos extratos das macroalgas parda *Ascophyllum nodosum* e vermelha *Lithothamnium calcareum* resultou em uma atividade antioxidante superior àquela dos extratos analisados separadamente. Esse resultado também ocorreu para a combinação da microalga verde *Chlorella vulgaris* com a rodófito *L. calcareum*, cuja atividade antioxidante combinada foi maior do que a soma das atividades antioxidantes individuais de cada extrato. Dessa forma, o efeito sinérgico, a depender

das combinações algais, pode potencializar as atividades antioxidantes.

2.4.2 Atividade toxicológica

A atividade toxicológica corresponde à capacidade de uma substância causar efeitos adversos em organismos vivos, podendo comprometer processos fisiológicos, metabólicos e celulares. Em estudos com produtos naturais, essa avaliação é importante para determinar a segurança biológica e identificar compostos com potencial bioativo. Entre os modelos biológicos mais utilizados destacam-se o uso de sementes vegetais, náuplios de *Artemia* sp e zebrafish (*Danio rerio*).

Testes toxicológicos utilizando sementes vegetais são amplamente empregados para avaliar efeitos alelopáticos e citotóxicos de extratos naturais. Esses ensaios permitem observar alterações na germinação, crescimento radicular e desenvolvimento inicial das plântulas, sendo úteis para identificar compostos biologicamente ativos. A redução da germinação e o atraso do crescimento podem indicar interferência em processos fisiológicos fundamentais, como absorção de água, divisão celular e atividade metabólica (Pereira *et al.*, 2021).

Os testes com sementes apresentam grande relevância em estudos de toxicidade, pois muitas espécies vegetais e organismos marinhos produzem metabólitos secundários capazes de atuar como agentes inibidores do desenvolvimento vegetal. Esses compostos podem afetar diretamente o crescimento de plântulas e a atividade mitótica, contribuindo para a compreensão do potencial tóxico e bioativo dos extratos naturais (Santos; Gonçalves, 2020).

A *Artemia salina* tem sido vastamente empregada em pesquisas toxicológicas como modelo biológico para análises iniciais de substâncias naturais. Sua utilização é favorecida pela sensibilidade a agentes tóxicos, simplicidade de cultivo e rapidez na obtenção dos resultados, fatores que tornam os ensaios mais acessíveis e eficientes. Além disso, esse organismo permite avaliar diferentes parâmetros, como mortalidade larval, citotoxicidade e efeitos no desenvolvimento, fornecendo informações relevantes sobre o potencial tóxico dos compostos analisados. Dessa maneira, os testes com a *A. salina* representam uma alternativa prática e de baixo custo para estudos preliminares de segurança biológica, contribuindo para pesquisas relacionadas ao uso terapêutico de produtos naturais (Silva; Silva, 2023).

Em organismos aquáticos, a toxicidade pode estar relacionada à presença de compostos capazes de interferir em processos fisiológicos essenciais, como respiração, locomoção e equilíbrio osmótico. Estudos utilizando *A. salina* demonstraram que diferentes

substâncias químicas, incluindo metais, derivados de petróleo e extratos naturais, podem provocar alterações comportamentais e mortalidade dos organismos, evidenciando a eficiência desse microcrustáceo como indicador biológico em avaliações ecotoxicológicas. (Verriopoulos; Moraitou-Apostolopoulou; Milliou, 1987).

O zebrafish (*D. rerio*) tem sido amplamente utilizado como modelo experimental em estudos toxicológicos devido às suas características biológicas e fisiológicas que favorecem análises rápidas e eficientes. Entre as principais vantagens da espécie destacam-se seu pequeno porte, elevada taxa reprodutiva, facilidade de manutenção em laboratório, rápido desenvolvimento e alta similaridade genética com vertebrados superiores. Além disso, o zebrafish apresenta elevada sensibilidade a diferentes substâncias químicas, permitindo a avaliação de efeitos tóxicos em níveis comportamentais, fisiológicos, celulares e moleculares (Hill *et al.*, 2005; Zhao *et al.*, 2024).

A utilização de zebrafish em ensaios toxicológicos tem crescido significativamente nas últimas décadas, especialmente em estudos relacionados à ecotoxicologia, toxicidade ambiental e avaliação de compostos bioativos naturais. Segundo Zhao *et al.* (2024), o modelo zebrafish vem sendo empregado em testes de toxicidade aguda, crônica e reprodutiva, permitindo investigar alterações hepáticas, cardiovasculares, neurológicas, endócrinas e comportamentais causadas por diferentes agentes químicos. Os autores destacam ainda que o modelo apresenta elevada eficiência para estudos de mecanismos toxicológicos associados ao estresse oxidativo, inflamação e apoptose.

Além disso, o zebrafish é considerado um importante modelo para avaliação ecotoxicológica em ambientes aquáticos, sendo frequentemente utilizado para monitoramento de contaminantes ambientais, sedimentos e compostos naturais, incluindo extratos de macroalgas marinhas. Estudos já demonstraram que a espécie responde de forma sensível às alterações físico-químicas e à presença de substâncias potencialmente tóxicas, possibilitando a identificação de alterações morfológicas, fisiológicas e comportamentais em diferentes níveis de exposição. Dessa forma, o zebrafish representa uma ferramenta relevante para avaliação da segurança biológica e toxicidade de compostos com potencial biotecnológico e farmacológico (Brito *et al.*, 2022; Saiki *et al.*, 2021; Vargas; Sarmiento; Vásquez, 2015). Além disso, seu uso complementa os ensaios toxicológicos por apresentar elevada sensibilidade fisiológica, possibilitando análises em níveis morfológicos, comportamentais e sistêmicos em organismos vertebrados (CASSAR, *et al.*, 2020).

Assim, a utilização combinada de bioensaios com sementes, náuplios de *Artemia* e zebrafish constitui uma estratégia eficiente para a avaliação preliminar da toxicidade de

produtos naturais, permitindo identificar substâncias com potencial bioativo e orientar estudos posteriores relacionados à segurança, atividade farmacológica e aplicações biotecnológicas.

2.5 Filmes comestíveis

Os materiais plásticos apresentam características favoráveis como multifuncionalidade, resistência e produção econômica, o que impulsiona a sua crescente utilização pela sociedade. No entanto, o descarte inadequado tem contribuído para o acúmulo progressivo de microplásticos no meio ambiente, com estimativas indicando que suas concentrações nos oceanos podem dobrar até 2030. Os resíduos são oriundos de diversas fontes terrestres, sendo transportados por vias naturais até os ambientes aquáticos. Nos oceanos, fragmentam-se, acumulam contaminantes e podem ser ingeridos por organismos, afetando sua saúde e possivelmente a saúde humana (Hale *et al.*, 2020). Uma abordagem promissora para a mitigação do uso de plásticos consiste na utilização de filmes biodegradáveis.

O setor alimentício é responsável por grande parte do consumo de plásticos, pelo uso de embalagens que são majoritariamente constituídas de polímeros sintéticos não biodegradáveis. Diante dos impactos ambientais associados a esse material, diversas estratégias têm sido propostas para minimizar o problema. Entre elas, destaca-se o crescente interesse da comunidade científica com vistas ao desenvolvimento de revestimentos biodegradáveis (Jahangiri; Mohanty; Misra, 2024).

Nos últimos anos, as estratégias adotadas para a conservação de alimentos, especialmente quanto à extensão da vida útil de produtos perecíveis, podem se deparar com desafios significativos. Nesse contexto, o desenvolvimento de filmes e revestimentos comestíveis à base de biopolímeros tem emergido como uma abordagem inovadora e promissora. Essas embalagens comestíveis, seguras para o consumo humano, são produzidas a partir de materiais de origem natural, incluindo lipídios, proteínas e polissacarídeos, que podem ser extraídos de fontes marinhas (vegetais e animais) ou de resíduos provenientes da indústria alimentícia (Kumar *et al.*, 2022).

Os filmes comestíveis representam uma alternativa sustentável para a conservação de alimentos, atuando como uma barreira protetora que minimiza a perda de umidade, a oxidação e o crescimento microbiano. Esses revestimentos são produzidos a partir de biopolímeros naturais, incorporando aditivos funcionais, como antioxidantes e óleos essenciais, com o objetivo de prolongar a vida útil dos alimentos e preservar seus atributos sensoriais e qualidade nutricional. Sua aplicação abrange uma ampla variedade de produtos, incluindo

frutas, carnes e laticínios. Recentemente, eles têm sido aprimorados por meio de tecnologias avançadas, como nanoemulsões e bionanocompósitos, que potencializam suas propriedades de barreira e funcionalidade. Apesar de obstáculos relacionados a custos e regulamentações, os filmes comestíveis representam um avanço significativo na redução do uso de embalagens plásticas convencionais, contribuindo para práticas mais sustentáveis na cadeia de conservação de alimentos (Karnwal *et al.*, 2025).

De acordo com Rajamani e Khora (2024), o filme comestível desenvolvido a partir de κ -carragenana extraída da macroalga vermelha *Hypnea valentiae* apresentou desempenho mecânico satisfatório, aliado a notáveis propriedades funcionais. As formulações demonstraram elevada atividade antioxidante e antimicrobiana, destacando-se especialmente aquela contendo 7% de carragenana, que atingiu 86% de eliminação de radicais no ensaio ABTS. Ademais, o material apresentou excelente biodegradabilidade, com degradação completa após 84 dias de enterramento em solo.

Iftikhar, Tabassum e Aliya (2024) realizaram uma avaliação das carragenanas extraídas de *Hypnea porphyraeformis* e *H. pannosa* na produção de bioplásticos, investigando as diferenças nas taxas de degradação e nas propriedades mecânicas desses materiais. Os resultados indicaram que a carragenana de *H. porphyraeformis* apresentou maior resistência mecânica e elasticidade, enquanto a carragenana de *H. pannosa* mostrou maior perda de massa em condições de degradação no solo. Esses resultados sugerem o potencial dessas macroalgas para o desenvolvimento de bioplásticos sustentáveis, com possibilidades de otimização futura dos processos de produção e caracterização.

A aplicação de bioembalagens tem se mostrado eficaz na proteção de alimentos minimamente processados, contribuindo para a extensão de sua vida útil e redução de perdas. As características sensoriais, físico-químicas e nutricionais dos alimentos revestidos podem ser aprimoradas por meio da seleção adequada de biomateriais e compostos bioativos incorporados às formulações. Apesar do potencial de diversos biopolímeros promissores, mas ainda pouco explorados, que oferecem perspectivas de avanços na conservação de alimentos, observa-se que o tema demanda uma investigação científica mais aprofundada para ampliar seu desenvolvimento e aplicação (Díaz-Montes; Castro-Muñoz, 2021).

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta do material (*Hypnea pseudomusciformis*)

A espécie de macroalga marinha vermelha *H. pseudomusciformis* (Nauer; Cassano; Oliveira, 2015) (Figura 1), conhecida por sua ampla distribuição em regiões tropicais e subtropicais, foi coletada no mês de maio de 2024 em substrato rochoso na Praia do Pacheco, situada no Município de Caucaia, Estado do Ceará. A realização da coleta seguiu os trâmites legais exigidos pelos órgãos ambientais competentes, estando devidamente autorizada pelo Sistema de Autorização e Informação em Biodiversidade (Sisbio), por meio da licença de número 33913-14 e pelo Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado (SISGEN), número da licença (AC71058).

Figura 1 - Macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, município de Caucaia, Ceará, em maio de 2024.



Fonte: Autora (2026)

Após a coleta, a biomassa da macroalga foi transportada para o Laboratório de Produtos Naturais Marinhos (PROMAR), vinculado ao Departamento de Engenharia de Pesca (DEP), da Universidade Federal do Ceará (UFC). No laboratório, o material foi limpo cuidadosamente com água para remover impurezas macroscópicas, como areia, fragmentos de outros organismos e detritos. Em seguida, o material foi disposto sobre folhas de papel absorvente, a fim de eliminar o excesso de água de sua superfície. Para a completa remoção da

água e preservação da integridade dos compostos bioativos, a biomassa algal foi liofilizada em um equipamento da marca Liobras, modelo Liotop K120, operando sob condições controladas de pressão (800 μ mHg) e temperatura (-80°C).

O material liofilizado foi triturado com o auxílio de um liquidificador doméstico (Hamilton Beach) para a obtenção de um pó fino. O produto resultante foi acondicionado em frasco escuro, hermeticamente fechado e armazenado a temperatura de -24°C , com o objetivo de garantir a estabilidade e conservação dos compostos presentes até sua utilização nas análises experimentais.

3.2 Preparação dos extratos

Os extratos foram preparados em três solventes orgânicos com polaridades distintas e crescentes: *n*-hexano, acetato de etila e metanol.

No processo de extração, a biomassa liofilizada da macroalga marinha vermelha *H. pseudomusciformis* foi misturada com *n*-hexano na proporção de 1:10 (m/v) e incubada em frasco de vidro âmbar, protegido da luz, por um período de 48 h. Decorrido esse período, o extrato foi filtrado, e o resíduo sólido passou por mais três reextrações sucessivas com o mesmo volume de solvente, totalizando 192 h de extração, resultando no extrato hexânico (Hx).

Dando seguimento ao procedimento de extração, a mesma biomassa residual foi extraída três vezes com acetato de etila e, posteriormente, com metanol, totalizando 144 h cada solvente, obtendo-se o extrato acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH), respectivamente.

Os volumes usados nas extrações com cada um dos solvente (hexano, acetato de etila e metanol) foram separadamente, reunidos e levados ao evaporador rotativo (Fisatom, modelo 802), sob pressão reduzida, para completa evaporação dos solventes à temperatura de aproximadamente 40°C .

Após a evaporação, os extratos Hx, AcOEt e MeOH foram, individualmente, transferidos com auxílio de metanol para frascos, previamente pesados. Após a transferência, os frascos contendo os extratos Hx, AcOEt e MeOH foram colocados sobre uma placa aquecedora, mantendo-se a temperatura abaixo de 40°C , até a completa evaporação do metanol. Após a evaporação do metanol, os frascos contendo os extratos secos foram novamente pesados, para o cálculo dos rendimentos por diferença de peso. Os extratos Hx, AcOEt e MeOH foram armazenados a -24°C até sua utilização nas análises subsequentes.

3.3 Obtenção de polissacarídeos sulfatados

Os resíduos gerados durante as etapas de extração com *n*-hexano, acetato de etila e metanol foram submetidos à secagem em estufa a 30 °C por 30 minutos, com o objetivo de promover a evaporação completa dos solventes orgânicos presentes. Após a secagem, o material residual foi pesado e utilizado para a extração de polissacarídeos sulfatados (PS).

Para a extração de PS, a biomassa algal seca foi suspensa em água destilada e mantida em banho-maria a 100 °C por 60 minutos sob agitação mecânica contínua, complementada por agitação manual ocasional, a fim de evitar o superaquecimento e a carbonização da biomassa no fundo do recipiente de vidro (béquer). Ao término da extração, a solução coloidal obtida foi submetida à centrifugação a 6.000 rpm por 15 minutos, com o intuito de separar o material sólido (precipitado) do sobrenadante. O material sólido foi neutralizado com solução de hidróxido de sódio a 0,1 M, até atingir pH 7,0.

Para a precipitação dos PS, a fase gelificada foi tratada com etanol absoluto (proporção 1:2, v/v), contendo 1 g de cloreto de sódio, a fim de promover a precipitação por deslocamento da força iônica. A mistura foi mantida em refrigerador a 4 °C por 18 horas.

Após esse período, a solução foi filtrada a vácuo, e o resíduo retido no papel de filtro foi lavado sucessivamente com etanol absoluto (3 × 100 mL). Em seguida, foi realizada uma última lavagem com 50 mL de acetona, visando à remoção de impurezas solúveis.

O material gelatinoso obtido foi transferido para um gral almofariz de porcelana e macerado em uma placa aquecedora até a obtenção de um pó fino, por aproximadamente 3 horas. O PS seco foi pesado, e o rendimento da extração foi calculado com base na biomassa algal inicial.

3.4 Isolamento e Purificação de metabólitos secundários

3.4.1 Partição líquido-líquido

A partição líquido-líquido dos extratos foi realizada conforme metodologia descrita na literatura fitoquímica (Harborne, 1998; Matos, 2009), utilizando funil de separação e solventes de diferentes polaridades para fracionamento dos metabólitos. Os procedimentos operacionais seguiram os princípios clássicos de extração e separação em sistemas bifásicos (Vogel, 1981), fundamentados na distribuição diferencial dos compostos entre fases imiscíveis (Collins; Braga; Bonato, 2006).

A partição líquido-líquido foi empregada como etapa preliminar de desengorduramento e fracionamento do extrato bruto hexânico, com a finalidade de reduzir a complexidade química da matriz e promover a separação de metabólitos em função de suas diferenças de polaridade.

Esse procedimento foi especialmente indicado para extratos de natureza oleosa ou com elevada carga lipídica, uma vez que possibilitou a remoção seletiva de compostos altamente apolares, tais como ceras, óleos e outras substâncias graxas. Além disso, contribuiu para diminuir o consumo de solventes nas fases subsequentes de purificação, além de prevenir a adsorção irreversível de constituintes lipofílicos na fase estacionária de sílica gel, durante os processos cromatográficos.

O método fundamentou-se no princípio da distribuição diferencial dos compostos entre duas fases líquidas imiscíveis, constituídas por solventes de polaridades distintas. A partição ocorreu de acordo com a afinidade química de cada substância por uma das fases, estabelecendo-se um equilíbrio de distribuição que permitiu o fracionamento seletivo dos constituintes do extrato.

A partição líquido-líquido do extrato Hx foi realizada visando à obtenção de frações com diferentes polaridades. Inicialmente, em um béquer, adicionaram-se 5 g do extrato Hx e 80 mL de *n*-hexano, submetidos a homogeneização por sonicação até completa dissolução. Em seguida, a solução foi transferida para um funil de separação.

Posteriormente, adicionaram-se 40 mL de solução metanol:água (MeOH:H₂O, 9:1 v/v). O sistema foi homogeneizado por agitação manual em movimentos de inversão, realizando-se periodicamente a abertura da torneira do funil para liberação da pressão interna. Após repouso para separação das fases, a fase inferior (metanol:água) foi coletada em Erlenmeyer e, o procedimento, repetido mais duas vezes, totalizando três extrações sucessivas.

Ao final das extrações, os volumes da fase inferior foram reunidos, e ela foi denominada fração metanol:água (Fr. MeOH:H₂O). A fase superior foi coletada e denominada fração hexânica (Fr. Hx).

Em outro funil de separação, a fração metanol:água obtida foi submetida ao ajuste de polaridade para a proporção MeOH:H₂O (7:3 v/v). Em seguida, adicionaram-se 40 mL de acetato de etila ao funil de separação. A mistura foi homogeneizada por agitação manual, e esse procedimento foi repetido mais duas vezes. No final, os volumes foram reunidos, e a fase superior foi coletada e denominada fração acetato de etila (Fr. AcOEt). A fase inferior foi definida como fração residual metanol:água (Fr. Res. MeOH:H₂O).

Dessa forma, foram obtidas quatro frações distintas: fração hexânica (Fr. Hx),

fração metanol:água (Fr. MeOH:H₂O), fração acetato de etila (Fr. AcOEt) e fração residual metanol:água (Fr. Res. MeOH:H₂O).

A composição das frações foi analisada por meio de técnicas de cromatografia em camada delgada (CCD), com o objetivo de avaliar a pureza e o número de compostos isolados. Essa abordagem permitiu uma separação eficiente dos compostos presentes nos extratos, possibilitando a identificação e a caracterização de metabólitos secundários com potencial bioativo.

3.4.2 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A cromatografia em camada delgada (CCD) foi empregada com a finalidade de analisar previamente os constituintes químicos da macroalga marinha *H. pseudomusciformis*, presentes nos três extratos brutos (Hx, AcOEt e MeOH) e nas quatro frações (Fr. Hx, Fr. MeOH:H₂O, Fr. AcOEt e Fr. Res. MeOH:H₂O), oriundas da partição líquido-líquido.

As análises por cromatografia em camada delgada (CCD) foram conduzidas em cromatoplas de poliéster recobertas com gel de sílica (0,20 mm de espessura) contendo indicador fluorescente UV254 nm (Polygram® SIL G/UV254, Macherey-Nagel, Alemanha).

O desenvolvimento cromatográfico foi realizado em cubas apropriadas, empregando-se como fase móvel sistema binário composto por *n*-hexano e acetato de etila (Hx:AcOEt), na proporção de 50:50 (v/v). A escolha dessa composição visou proporcionar adequada resolução e separação dos compostos presentes nas amostras analisadas.

Após a eluição, as cromatoplas foram inicialmente submetidas a métodos de revelação não destrutivos, incluindo visualização sob radiação ultravioleta em dois comprimentos de onda (254 nm e 365 nm), em câmara escura (CIENLAB), bem como exposição a vapores de iodo. Essas técnicas permitiram a detecção de substâncias fluorescentes e de compostos incolores com afinidade pelo iodo.

Posteriormente, foram empregados métodos de revelação destrutivos, nos quais as placas foram pulverizadas com diferentes reagentes reveladores e submetidas a aquecimento em estufa a 105 °C, promovendo a oxidação dos compostos presentes. Esse procedimento possibilitou a visualização de substâncias inicialmente incolores e a identificação preliminar de compostos orgânicos portadores de diversos grupos funcionais.

O fator de retenção (*R_f*) de cada composto eluído foi calculado pela Equação 1, e comparado com compostos-padrão para identificação preliminar das substâncias presentes, possibilitando a análise das frações com base nas suas características cromatográficas.

$$Rf(\%) = \frac{\text{Distância percorrida pela substância}}{\text{Distância percorrida pelo solvente}} \times 100\% \quad (1)$$

Após o desenvolvimento cromatográfico, as cromatoplacas foram submetidas à revelação utilizando diferentes reagentes químicos, preparados conforme Degani, Cass e Vieira (1998), Engel *et al.* (2012), Matos (2009) e Souza (2014), metodologias padronizadas, com a finalidade de promover a detecção preliminar de classes distintas de metabólitos secundários.

Foram empregadas as seguintes soluções reveladoras: anisaldeído (etanol/ácido sulfúrico/*p*-anisaldeído), para identificação de compostos carbonílicos e saponinas; ninhidrina (0,3 g em 100 mL de *n*-butanol + 3 mL de ácido acético), para detecção de aminas e aminoácidos; ácido fosfomolibdico a 10% em etanol, indicado para compostos insaturados e substâncias redutoras; e solução etanólica de vanilina (15 g em 250 mL de etanol), empregada na identificação de compostos orgânicos em geral, especialmente taninos condensados.

Também foram utilizados permanganato de potássio (KMnO₄/carbonato de sódio/água destilada), para compostos insaturados; ácido sulfúrico a 10% em água destilada, para fenóis e compostos enolizáveis; ácido crômico, empregado como reagente oxidante para detecção de compostos orgânicos suscetíveis à oxidação, especialmente alcóois e outras funções oxidáveis; reagente de Dragendorff, preparado pela combinação de soluções contendo nitrato de bismuto III, iodeto de potássio, ácido acético e água destilada, para compostos nitrogenados, com ênfase em alcaloides; vapores de iodo, obtidos a partir de cristais mantidos em recipiente fechado, para substâncias aromáticas e insaturadas; hidróxido de potássio a 10% em água destilada, para antraquinonas e cumarinas; e cloreto férrico a 3% em água destilada, para fenóis, lactonas, taninos hidrolisáveis e compostos enolizáveis.

A aplicação desses reagentes permitiu a caracterização qualitativa preliminar das substâncias presentes nas amostras analisadas.

3.5 Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT)

A quantificação dos compostos fenólicos totais (CFT) foi realizada seguindo o método desenvolvido por Singleton e Rossi Jr (1965), conforme adaptado por Ainsworth e Gillespie (2007) e Agbor, Vinson e Donnelly (2014). Para isso, alíquotas de 100 µL dos extratos Hx, AcOEt e MeOH, foram preparados nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL e PS nas concentrações 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL, foram

adicionadas separadamente a uma mistura contendo 200 µL do reagente de Folin-Ciocalteu a 10% e 800 µL de carbonato de sódio a 7,5%. Após incubação à temperatura ambiente por 2 h, 200 µL da mistura reacional foram transferidos para microplacas de poliestireno com 96 poços, e as absorbâncias foram medidas a 765 nm utilizando leitor de microplacas multimodo (Molecular Devices, modelo SpectraMax i3). No controle (branco da reação), foram utilizados 100 µL de metanol a 95% em substituição aos extratos, mantendo-se os demais reagentes.

Os teores dos compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão e expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por grama (g) de extrato, com base em uma curva padrão construída a partir do ácido gálico (G7384, Sigma). Todas as análises foram realizadas em quadruplicata.

3.6 Quantificação dos teores de flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF)

A determinação do teor de flavonoides (TF), abrangendo flavonois e flavonas do subgrupo luteolina, foi realizada com base nos métodos descritos por Ahn et al. (2007), Miguel et al. (2014) e Pekal e Pyrzyńska (2014). Foram utilizados 100 µL de cada extrato Hx, AcOEt e MeOH, preparados nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL e PS nas concentrações 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL, aos quais foram adicionados 100 µL de uma solução de cloreto de alumínio a 2% em etanol. Após incubação à temperatura ambiente por 1 h, 200 µL da mistura reacional foram transferidos para microplacas de poliestireno com 96 poços, e as leituras de absorbância realizadas a 425 nm utilizando leitor de microplacas multimodo (Molecular Devices, modelo SpectraMax i3). O branco da reação foi preparado substituindo-se o extrato por 100 µL de metanol a 95%.

Os teores de flavonoides (TF) dos extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão e expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (mg EQ) por grama (g) de extrato, utilizando uma curva padrão de quercetina (33.795-1, Aldrich), como referência. Todas as análises foram realizadas em quadruplicata.

3.7 Atividades antioxidantes *in vitro*

3.7.1 Capacidade de sequestro do radical livre DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazila)

A capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi

determinada pelo método original proposto por Blois (1958), adaptado por Duan *et al.* (2006) e Kato *et al.* (2016), com pequenas modificações.

Em microplacas de poliestireno, nos poços identificados como amostra foram adicionados 10 µL dos extratos Hx, AcOEt e MeOH, nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL e PS nas concentrações 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL mais 190 µL da solução metanólica de DPPH (D9132, Sigma) a 78 µM. Nos poços designados como branco da amostra, foram utilizados 10 µL extratos e 190 µL de metanol. Nos poços indicados como controle negativo ou controle da amostra, foram adicionados 190 µL da solução metanólica de DPPH a 78 µM e 10 µL de metanol.

O L-ácido ascórbico (A5960, Sigma), um antioxidante natural, foi empregado como controle positivo nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL, sendo submetido ao mesmo procedimento aplicado aos extratos e PS.

As microplacas foram incubadas à temperatura ambiente, protegidas da luz, por 30 minutos. Em seguida, as absorbâncias foram medidas a 517 nm utilizando leitor de microplacas multimodo (Molecular Devices, modelo SpectraMax i3). A capacidade de sequestro do radical DPPH dos extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS, e do controle positivo, foi calculada pela Equação 2, expressa em porcentagem e apresentada como média ± desvio padrão.

$$DPPH(\%) = \frac{[Abs_{controle\ negativo} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})]}{Abs_{controle\ negativo}} \times 100\% \quad (2)$$

3.7.2 Capacidade de sequestro do radical livre ABTS⁺ (2,2'- azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid)diammoninum salt)

A capacidade de sequestro do radical livre ABTS⁺ foi determinada pelo método descrito por Rufino *et al.* (2007), com algumas adaptações.

O radical ABTS⁺ foi gerado pela reação da solução aquosa de ABTS a 7 mM e persulfato de potássio a 140 mM. A mistura foi mantida em ambiente escuro à temperatura ambiente por 16 h, permitindo a formação completa do radical estável ABTS⁺.

Após esse período, a solução do radical ABTS⁺ foi diluída com etanol até apresentar absorbância de aproximadamente 0,70 ± 0,05, medida em leitor de microplacas multimodo (Molecular Devices, modelo SpectraMax i3), no comprimento de onda de 734 nm.

Em tubos Eppendorf pretos com capacidade de 2,5 mL, foram adicionados 1,5 mL da solução do radical ABTS⁺ diluída e 15 µL dos extratos Hx, AcOEt e MeOH, nas

concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL e PS nas concentrações 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL, os quais foram designados como amostra. Em tubos Eppendorf identificados como controle negativo, foram adicionados 1,5 mL da solução do radical ABTS⁺ diluída e 15 µL de etanol. Todos os tubos foram homogeneizados em vortex por 10 segundos e incubados à temperatura ambiente por 30 minutos, protegidos de luz.

Ao final do tempo de incubação, alíquotas de 200 µL da mistura reacional dos tubos amostra e controle negativo foram transferidas para microplacas de poliestireno. Nos poços designados brancos da amostra, apenas 200 µL de etanol foram neles depositados. Todas as análises foram realizadas em quadruplicata. As absorbâncias foram medidas a 734 nm em leitor de microplacas multimodo (Molecular Devices, modelo SpectraMax i3).

O *L*-ácido ascórbico (A5960, Sigma) foi utilizado como controle positivo nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL, sendo submetido ao mesmo procedimento aplicado aos extratos e PS.

A capacidade de sequestro do radical ABTS⁺ dos extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS, e do controle positivo, foi calculada pela Equação 3, expressa em porcentagem e apresentada como média ± desvio padrão.

$$ABTS^+(\%) = \frac{[Abs_{controle\ negativo} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})]}{Abs_{controle\ negativo}} \times 100\% \quad (3)$$

3.7.3 Poder de quelação de íons ferrosos (FIC)

O poder de quelação dos íons ferrosos (FIC) foi determinado pelo método proposto por Decker e Welch (1990), conforme descrito por Wang, Jónsdóttir e Ólafsdóttir (2009), com algumas alterações.

Em microplacas de poliestireno, nos poços identificados como amostra, foram adicionados 200 µL dos extratos Hx, AcOEt e MeOH nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL e PS nas concentrações 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL, mais 20 µL de cloreto ferroso (FeCl₂) a 2 mM e 40 µL de ferrozina a 5 mM.

Nos poços designados como brancos da amostra, foi utilizado metanol em vez de ferrozina. Nos poços indicados como controle negativo ou controle da amostra, também utilizou metanol em vez de extrato.

O sal dissódico do ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA - E5134, Sigma) (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈ · 2H₂O) foi utilizado como controle positivo nas concentrações 50, 100, 250,

500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL, sendo submetido ao mesmo protocolo experimental aplicado aos extratos.

As microplacas foram incubadas à temperatura ambiente por 10 minutos. Após esse período, as absorbâncias foram medidas a 562 nm utilizando leitor de microplacas multimodo (Molecular Devices, modelo SpectraMax i3).

Os resultados do poder de quelação dos íons ferrosos (FIC) dos extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS e do controle positivo foram obtidos pela Equação 4, expressos em porcentagem e apresentados como média ± desvio padrão.

$$FIC(\%) = \frac{[Abs_{controle\ negativo} - (Abs_{amostra} - Abs_{branco})]}{Abs_{controle\ negativo}} \times 100\% \quad (4)$$

3.7.4 Poder de redução de íons férricos (FRAP)

A atividade redutora de íons férricos (FRAP) foi avaliada conforme o protocolo descrito por Khatua, Roy e Acharya (2013), com algumas modificações. Em tubos Eppendorf contendo 100 µL dos extratos Hx, AcOEt e MeOH, nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL e PS nas concentrações 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL foram adicionados 250 µL de tampão fosfato 0,2 M (pH 6,6) e 250 µL de ferricianeto de potássio a 1%. As amostras foram incubadas a 50 °C por 20 minutos.

Após a incubação e posterior resfriamento da mistura reacional, foram adicionados 250 µL de ácido tricloroacético (TCA) a 10% com o objetivo de interromper a reação. Em seguida, os tubos foram centrifugados, e 250 µL da fase superior foram coletados. A essa alíquota, foram adicionados 250 µL de água destilada e 50 µL de cloreto férrico (FeCl₃) a 0,1%.

As amostras foram incubadas à temperatura ambiente por 10 minutos. Em seguida, as leituras de absorbância foram realizadas a 700 nm, utilizando leitor de microplacas multimodo (Molecular Devices, modelo SpectraMax i3). O butil hidroxianisol (BHA - Sigma, B1253) foi empregado como controle positivo nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL, seguindo os mesmos procedimentos adotados para os extratos.

Os valores obtidos no ensaio FRAP foram expressos em quatro casas decimais, em conformidade com as leituras fornecidas pelo leitor de microplacas utilizado. Nesse método, a intensidade da absorbância está diretamente relacionada à capacidade redutora dos extratos (Hx, AcOEt, MeOH e PS), bem como do controle positivo. Valores de absorbância mais elevados indicam um maior potencial de redução de íons férricos, refletindo a eficiência antioxidante dos

materiais avaliados.

3.7.5. Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB)

A capacidade dos extratos Hx, AcOEt e MeOH, nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 $\mu\text{g/mL}$ e PS nas concentrações 50, 100, 250, 500 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$, de inibir o branqueamento do β -caroteno (BCB) foi avaliada em microplacas de poliestireno com 96 poços, utilizando o sistema β -caroteno/ácido linoleico, conforme descrito por Duan *et al.* (2006).

Primeiramente, 4 mL de uma solução de β -caroteno (C9750, Sigma), preparada em clorofórmio na concentração de 1 mg/mL, foi transferida para um balão contendo 40 mg de ácido linoleico (L1376, Sigma) e 400 mg de Tween 40 (P1504, Sigma). Paralelamente, em outro balão, foram adicionados 4 mL de clorofórmio, 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween 40, sem a adição de β -caroteno.

O clorofórmio foi removido por evaporação em rotavapor (Fisatom, modelo 802) sob pressão. Em seguida, ao resíduo semissólido, foi adicionado lentamente 100 mL de água destilada saturada com oxigênio, com valor acima de 7,5, enquanto a mistura foi agitada vigorosamente por 1 minuto até formar uma emulsão estável. A emulsão contendo β -caroteno foi denominada EC β , enquanto a emulsão sem β -caroteno receberá a designação ES β , sendo esta última utilizada como branco na análise.

Em microplacas de poliestireno, os poços identificados como amostra continham 50 μL dos extratos (Hx, AcOEt, MeOH e PS) e 200 μL da emulsão EC β . Os poços designados como brancos da amostra continham 50 μL dos extratos (Hx, AcOEt, MeOH e PS) e 200 μL da emulsão ES β . Os poços indicados como controle negativo ou controle da amostra continham 50 μL de MeOH e 200 μL da emulsão EC β .

As absorbâncias foram medidas a 470 nm em leitor de microplacas multimodo (Molecular Devices, modelo SpectraMax i3) no momento inicial (0 min). As microplacas permaneceram sobre a bancada em temperatura ambiente (22–24 °C), por 360 minutos, sendo realizada nova leitura de absorbância – tempo final (6 h).

O L-ácido ascórbico (A5960, Sigma) foi utilizado como controle positivo nas mesmas concentrações dos extratos de 50 a 2.500 $\mu\text{g/mL}$, seguindo os mesmos procedimentos adotados para os extratos.

A capacidade de inibição do branqueamento do β -caroteno (BCB) dos extratos Hx, AcOEt, MeOH, PS e do controle positivo foi calculada pela Equação 5, conforme descrito por

Dhongade e Chandewar (2013). Os resultados foram expressos em porcentagem e apresentados como média $\pm$ desvio padrão.

$$BCB(\%) = \left(\frac{Abs_{amostra} - Abs_{branco \ tempo \ final}}{Abs_{amostra} - Abs_{branco \ tempo \ inicial}} \right) \times 100\% \quad (5)$$

3.8 Avaliação toxicológica das frações

3.8.1 Atividade fitotóxica contra sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*)

O teste de fitotoxicidade foi conduzido conforme o método descrito por Kohatsu *et al.* (2018), com o objetivo de avaliar a inibição do crescimento das raízes durante os primeiros oito dias de germinação das sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*). As sementes, de procedência nacional e adquiridas comercialmente, tinham indicadas no rótulo da embalagem, a taxa de germinação de 98% e a pureza de 100%.

As sementes foram distribuídas uniformemente na base de placas de Petri de poliestireno estéreis, com 8,5 cm de diâmetro, sobre uma camada de papel de filtro com porosidade de 205 μ m. O experimento foi realizado em triplicata.

Dez sementes foram colocadas em cada placa, identificadas como controle negativo (umedecidas com 5 mL de água destilada), controle positivo (umedecidas com 5 mL de solução aquosa de cloreto de sódio a 0,5%) e amostra (umedecidas com 5 mL das frações Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O).

As placas foram mantidas fechadas, tendo sido incubadas à temperatura ambiente (24 °C), com 12 horas de luz e 12 horas de escuridão, durante 8 dias ou 192 horas. Diariamente, conforme a identificação das placas, foi acrescentado 1 mL de água destilada, 1 mL de solução aquosa de cloreto de sódio a 0,5% ou 1 mL dos extratos / frações, para garantir que as sementes permanecessem úmidas.

Após a incubação, as sementes com radícula visível foram consideradas germinadas. O número de sementes germinadas (*NSG*) foi contado, e as médias aritméticas estimadas para as amostras (extratos ou frações) e controles positivo e negativo. Posteriormente, a porcentagem relativa de sementes germinadas (*RSG*, %) foi determinada pela Equação 7.

$$RSG(\%) = \frac{\overline{NSG}_{extrato}}{\overline{NSG}_{controle \ negativo}} \times 100\% \quad (7)$$

O comprimento das raízes ou plântulas crescidas nas placas com as frações (Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O) e nas placas dos controles positivo e negativo foi medido com o auxílio de um paquímetro de aço inoxidável, sendo os valores expressos em centímetros (cm). A porcentagem relativa de crescimento radicular (*RRG*, %) em cada placa foi calculada (Equação 8), pela razão entre a média aritmética do comprimento das raízes das frações (Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O) ($\overline{RG}_{\text{frações}}$) e a média aritmética do comprimento das raízes do controle negativo ($\overline{RG}_{\text{controle negativo}}$). Depois, o índice de germinação (*IG*, %) foi calculado pela Equação 9.

$$RRG (\%) = \frac{\overline{RG}_{\text{frações}}}{\overline{RG}_{\text{controle negativo}}} \times 100\% \quad (8)$$

$$IG (\%) = \frac{RSG (\%) \times RRG (\%)}{100} \quad (9)$$

O grau de fitotoxicidade das frações (Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O) foi definido qualitativamente, com base no índice de germinação (*IG*), de acordo com a classificação de Belo (2011) apresentada no Quadro 1.

Quadro 1 – Classificação qualitativa de fitotoxicidade.

IG (%)	Classificação do material
> 100	Potencializador da germinação e do crescimento da raiz das plantas.
80 - 100	Não fitotóxico; composto maturado.
60 - 80	Moderadamente fitotóxico.
30 - 60	Fitotóxico.
< 30	Muito fitotóxico.

Fonte: Belo (2011)

3.8.2 Atividade citotóxica contra náuplios de *Artemia* sp.

O teste de citotoxicidade foi realizado pelo método de eclosão de cistos do microcrustáceo marinho de gênero *Artemia*, Ordem Anostraca, conforme a metodologia proposta por Meyer *et al.* (1982), com algumas adaptações. Os cistos desidratados foram adquiridos no mercado varejista de aquarismo em Fortaleza, Ceará, com taxa de eclosão mínima de 90%.

Primeiramente, 500 mg de cistos foram pesados e transferidos para um recipiente de vidro contendo 500 mL de água destilada, submetida à aeração contínua por uma bomba de aquário e iluminada por uma lâmpada de LED de 20 W, durante um período de 2 horas. Após esse tempo, os cistos hidratados foram lavados com solução de hipoclorito de sódio (NaClO) a 50% até reduzir a intensidade da coloração marrom, indicando a remoção de resíduos de matéria orgânica e impurezas. Em seguida, os cistos foram enxaguados abundantemente com água corrente para eliminar quaisquer resíduos de NaClO.

Em seguida, os cistos foram transferidos para outro recipiente contendo 500 mL de água do mar, na proporção de 1 g de cisto por litro, e mantidos sob iluminação fornecida por lâmpada LED de 20 W, temperatura de 25 °C, com salinidade de 30 e pH 7,0. A iluminação foi fornecida a uma distância aproximada de 30 cm. A aeração foi iniciada 15 minutos antes da transferência dos cistos e permaneceu durante todo o período de incubação de 48 horas.

As Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O foram preparadas individualmente por meio da dissolução de 1 mg de cada fração em 10 mL de água do mar, obtendo-se soluções na concentração de 100 µg/mL. Para o preparo das soluções na concentração de 1.000 µg/mL, foram dissolvidos 10 mg de cada fração em 10 mL de água do mar. Para auxiliar na solubilização das amostras, adicionaram-se 10 gotas de dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% (v/v).

O bioensaio foi conduzido em placas de acrílico de 24 poços em quadruplicata. Em cada poço, foram colocados dez náuplios de *Artemia* sp., na fase II de desenvolvimento, e 2,5 mL das Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O, nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL. O controle negativo foi preparado com 2,5 mL de água do mar, e o controle positivo, com 2,5 mL de água do mar e 500 µL de DMSO.

As placas foram incubadas por 48 horas à temperatura de 25 °C. A contagem do número de náuplios mortos foi realizada duas vezes, com auxílio de uma lupa: A primeira contagem foi realizada com 24 horas, e a segunda, no fim do período de incubação com 48 horas. A mortalidade foi considerada confirmada pela ausência de movimento dos náuplios. Para validade do ensaio, a mortalidade no controle negativo não poderia ultrapassar 10%.

3.8.3 Atividade toxicológica no modelo experimental zebrafish (*Danio rerio*)

O experimento foi conduzido no Laboratório de Biotecnologia da Reprodução de Peixes (LBRP), vinculado ao Núcleo Integrado de Biotecnologia (NIB/UECE), da Faculdade de Veterinária (FAVET), da Universidade Estadual do Ceará (UECE), localizado em Fortaleza. O projeto foi submetido ao Comitê de Ética em Utilização de Animais (CEUA/UECE), sob o

número de processo 02393257/2023.

Foram utilizados trinta exemplares de zebrafish (*Danio rerio*), distribuídos aleatoriamente em três aquários, com dez indivíduos cada, identificados como grupo controle, Fr. Hx 100 µg/mL e Fr. Hx 1.000 µg/mL. Os animais foram expostos durante 96 horas às diferentes concentrações da Fr Hx, solubilizada em etanol 95%.

Os aquários apresentaram volume útil de 4 L e os peixes foram mantidos sob fotoperíodo controlado de 14 h claro/10 h escuro, com alimentação realizada três vezes ao dia utilizando ração comercial (Peixes Basic Alcon®) e náuplios de *Artemia* sp.

Durante o período experimental, os parâmetros físico-químicos da água, como temperatura, pH, amônia, nitrito, dureza e oxigênio dissolvido, foram monitorados a cada 24 horas, conforme a metodologia de Westerfield (2000). A temperatura, o pH e o oxigênio dissolvido foram mensurados com sonda multiparâmetro portátil AKSO, modelo SX836, enquanto amônia, nitrito e dureza foram determinados por testes colorimétricos LabconTest.

Ao final do período experimental de exposição a Fr. Hx, os exemplares de zebrafish foram submetidos à eutanásia por imersão em solução de óleo de cravo (eugenol), preparada na proporção de 1:10:1.000 (eugenol:álcool:água). Antes e após a exposição experimental, os indivíduos foram pesados e medidos.

3.9 Avaliação de filmes comestíveis

As soluções destinadas à formação dos filmes foram preparadas a partir de uma matriz de carragenana e glicerol, posteriormente enriquecidas com as Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O nas concentrações 100 µg/mL e 1.000 µg/mL. A avaliação da qualidade dos filmes comestíveis incluiu a medição da espessura das películas, bem como a análise dos efeitos da adição das frações (Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O) nas propriedades de permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água e características de cor. Essas análises visaram compreender as alterações nas propriedades físico-químicas e sensoriais dos filmes em função da adição das Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL, contribuindo para a avaliação de sua potencial aplicabilidade na área de embalagens alimentícias. Todas essas análises foram realizadas no Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE), do Departamento de Engenharia de Pesca (DEP) da Universidade Federal do Ceará (UFC).

3.9.1 Preparação das soluções dos filmes e revestimentos comestíveis

Os filmes comestíveis foram obtidos por meio da técnica de evaporação do solvente, fundamentada nos procedimentos descritos por Arcan e Yemenicioglu (2011), Souza, Ditchfield e Tadini (2010), Vásconez *et al.* (2009) e Velásquez-Hernández *et al.* (2021), com algumas modificações.

Inicialmente, foi preparada uma solução contendo 1,5% (m/v) de carragenana, extraída da macroalga marinha vermelha *H. pseudomusciformis*, pela dissolução de 4,05 g do polissacarídeo sulfatado (PS) em 360 mL de água destilada, sob agitação mecânica contínua por 2 horas. A partir dessa solução, foram separadas três alíquotas de 120 mL, às quais foram adicionados 225 µL de glicerol, atuando como agente plastificante para conferir maior flexibilidade às películas e facilitar a reorganização das cadeias poliméricas. Posteriormente, 0,1 mL da concentração de 100 µg/mL e 1 mL da concentração de 1.000 µg/mL das frações (Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O) foram incorporadas a cada alíquota, seguidas de agitação em agitador magnético por 2 horas, garantindo dispersão homogênea dos componentes.

3.9.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi avaliada pelo método gravimétrico ASTM-E-96-92, com modificações conforme descrito por Guillard *et al.* (2003), McHugh, Avenabustillos e Krochta (1993). Nesse procedimento, foi medida a taxa de transmissão do vapor de água por unidade de área, utilizando um filme de espessura conhecida, sob um gradiente de pressão entre duas superfícies específicas, controlando-se a umidade relativa e a temperatura.

Os filmes produzidos foram fixados na parte superior de células de permeação, nas quais foram colocados 50 mL de água destilada, mantendo-se uma umidade relativa de 100% e uma pressão de vapor de 2.337,808 Pa a 20 °C. Essas células foram posicionadas em um dessecador contendo sílica gel, a uma temperatura de 25 °C e umidade relativa de 10%, garantindo condições de pressão de vapor de água em regime estacionário.

Durante o experimento, as células de permeação foram pesadas a cada 2 horas, ao longo de um período total de 8 horas, para monitorar a redução de peso devido à transmissão de vapor. Após esse intervalo, a espessura de cada filme foi medida em nove pontos distintos, usando-se um micrômetro digital, garantindo uma avaliação precisa da espessura média que foi expressa em milímetros (mm).

Os dados de redução de peso ao longo do tempo (em horas) foram representados graficamente, permitindo-se calcular os coeficientes angulares (b) das equações lineares que relacionaram a perda de peso ao tempo para as diferentes concentrações (100 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$) das frações (Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O). Esses coeficientes foram utilizados para determinar as taxas de transmissão de vapor de água, dividindo-se os valores pelas respectivas áreas dos filmes, que foram convertidas de mm^2 para m^2 (sendo 5.674,502 mm^2 igual a 0,005675 m^2).

Por fim, a permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi calculada pela Equação 10 e expressa em $\text{g}/\text{dia} \cdot \text{m} \cdot \text{atm}$, considerando a taxa de transmissão de vapor de água através do filme ($TTVA$, $\text{g}/\text{m}^2 \cdot \text{h}$), a espessura média do filme (L , m) e a diferença de pressão parcial de vapor de água entre os lados do filme (ΔP , atm). Assim, foi possível fazer uma avaliação quantitativa da transferência de água do interior da célula de permeação para a sílica gel no dessecador.

$$PVA(\text{g}/\text{dia} \cdot \text{m} \cdot \text{atm}) = \frac{TTVA \times L}{\Delta P} \quad (10)$$

3.9.3 Solubilidade em água (S)

Para determinar a solubilidade em água (S), a matéria seca inicial (MS_i) dos filmes foi obtida pela secagem de discos de 2 cm de diâmetro, cortados com bisturi, e colocados em estufa a 100 °C por 24 horas. Após esse período, os discos foram pesados e submersos em 50 mL de água destilada, por 24 horas a 25 °C. Em seguida, eles foram retirados, e levados novamente à estufa para secagem a 100 °C por mais 24 horas para determinar a matéria seca final (MS_f). A solubilidade em água foi calculada como a porcentagem da matéria seca do filme após 24 horas de imersão em água destilada, conforme a Equação 11, seguindo o método descrito por Gontard, Guilbert e Cuq (2006), com algumas alterações. Todas as medições foram realizadas em triplicata para garantir a precisão dos resultados.

$$S = \frac{MS_i - MS_f}{MS_i} \times 100\% \quad (11)$$

3.9.4 Cor

As coordenadas de cor dos filmes foram determinadas de acordo com o procedimento descrito por Cian *et al.* (2014), utilizando-se um colorímetro digital Konica

Minolta Chroma Meter CR-400. Com base na escala CIELab (L^* , a^* e b^*), o sensor de refletância foi empregado para medir a luminosidade (L^*) e as intensidades de vermelhidão ($+a^*$), esverdeamento ($-a^*$), amarelecimento ($+b^*$) e azulamento ($-b^*$). O equipamento foi calibrado previamente, com a placa padrão de coordenadas: $L_{\text{padrão}} = 96,7$; $a_{\text{padrão}} = -0,03$ e $b_{\text{padrão}} = +1,73$. Para cada amostra de filme, foram realizadas três medições, assegurando a precisão e a reprodutibilidade dos dados obtidos. Os resultados referentes às coordenadas de cor (L^* , a^* e b^*) das Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O foram apresentados como média $\pm$ desvio padrão.

3.10 Análises estatísticas

Os teores de compostos fenólicos totais (CFT) e de flavonoides (TF) nos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos (PS), foram submetidos à análise de variância unifatorial. De modo semelhante, as atividades antioxidantes dos extratos e controles positivos, obtidas em diferentes concentrações, foram comparadas pela análise de variância unifatorial. Quando necessário, o teste de Tukey foi utilizado para a comparação das médias. Todos os pressupostos dos testes paramétricos foram atendidos, adotando-se um nível de significância de 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimentos dos extratos

A partir de 331 g da biomassa liofilizada da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, as extrações com *n*-hexano, acetato de etila e metanol resultaram em 6,991 g (extrato Hx), 1,241 g (extrato AcOEt) e 4,465 g (extrato MeOH), correspondendo a rendimentos de 2,11%, 0,37% e 1,35%, respectivamente (Tabela 1), os quais foram considerados baixos.

Os polissacarídeos sulfatados (PS) foram obtidos a partir de 10 g dos resíduos gerados das extração com *n*-hexano, acetato de etila e metanol, após secagem a 30 °C por 30 minutos. A extração dos PS resultou em 1,891 g, correspondendo a um rendimento de 18,91% (Tabela 1).

Tabela 1 – Rendimentos de extração da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Extratos	Massa (g)	Rendimento (%)
Hexânico (Hx)	6,991	2,11
Acetato de etila (AcOEt)	1,241	0,37
Metanólico (MeOH)	4,465	1,35
Polissacarídeos sulfatados (PS)	1,891	18,91

Fonte: Autora (2026)

Os rendimentos obtidos para os extratos da macroalga *H. pseudomusciformis* variaram entre 0,37% e 2,11% (Tabela 1). Estudos indicaram que o rendimento de extração em algas pode variar amplamente em função da espécie, do solvente e das condições experimentais, sendo comum a obtenção de valores reduzidos quando há maior seletividade na extração de metabólitos secundários. Além disso, revisões sobre compostos bioativos em macroalgas destacam que a composição química e o rendimento dos extratos são fortemente influenciados por fatores como sazonalidade, condições ambientais e método de extração (Álvarez-Gómez; Korb; Figueroa, 2016).

Ao comparar os resultados obtidos neste trabalho com os descritos por Abreu (2022), observou-se que o rendimento do extrato em acetato de etila da feofíceia *Ericaria selaginoides* foi consideravelmente superior ao obtido para *H. pseudomusciformis* (0,37%)

(Tabela 1), o que pode ser explicado principalmente pelas diferenças na composição química entre as espécies. Macroalgas pardas tendem a apresentar maior teor de compostos lipofílicos e fenólicos, como terpenoides e florotaninos, que possuem maior afinidade por solventes de polaridade intermediária, como o acetato de etila. Em contraste, macroalgas vermelhas são ricas em polissacarídeos sulfatados, uma macromolécula polar que não é eficientemente extraída por esse solvente, resultando em menores rendimentos. Além disso, fatores metodológicos, como condições de extração e proporção solvente/matriz, também podem contribuir para essa variação, evidenciando que o menor rendimento observado está mais relacionado à natureza da biomassa e à seletividade do solvente do que à eficiência do processo (Ajala *et al.*, 2023; Generalić Mekinić *et al.*, 2019).

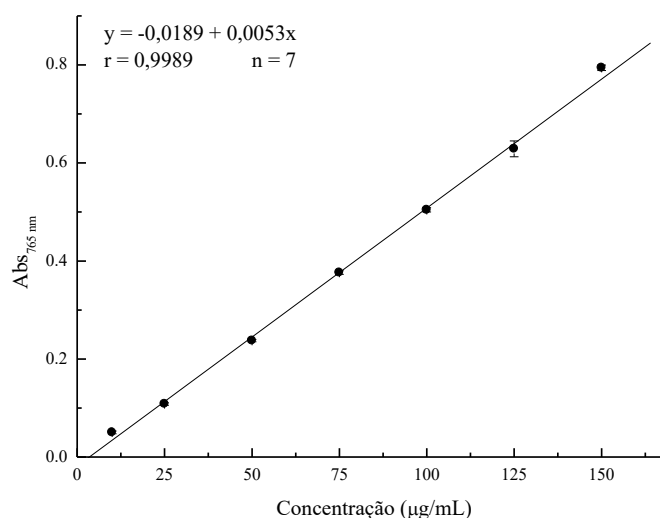
O rendimento dos polissacarídeos sulfatados (PS) obtidos de *H. pseudomusciformis* foi igual a 18,91% (Tabela 1), superior ao relatado por Premarathna (2024) para *Chondrus crispus*, cujos valores variaram entre 4,8% e 15%. De forma semelhante, Manggau *et al.* (2022) reportaram rendimento de 6,365% para a macroalga parda *Sargassum polycystum*, indicando uma eficiência mais baixa no processo de obtenção. As diferenças observadas podem ser atribuídas, principalmente, a fatores intrínsecos às espécies, uma vez que macroalgas distintas apresentam variações significativas na composição química e no teor de PS em suas paredes celulares. Adicionalmente, parâmetros experimentais, como o método de extração, tempo, temperatura e solvente utilizados, exercem influência direta sobre o rendimento final, contribuindo para as variações relatadas na literatura.

4.2 Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT)

Para a quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT) nos extratos de *H. pseudomusciformis* (Hx, AcOEt, MeOH e PS) foi construída uma curva de calibração utilizando-se como padrão ácido gálico em concentrações variando de 10 a 200 µg/mL, com linearidade mantida até 150 µg/mL, conforme demonstrado no Gráfico 1.

Os teores de CFT determinados para os extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS encontram-se na Tabela 2, evidenciando diferenças estatisticamente significativas entre si ($p < 0,05$).

Gráfico 1 – Curva padrão de ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 10 a 150 µg/mL, usada para a quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT).



Fonte: Autora (2026)

Tabela 2 – Teores de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e dos polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Extratos	CFT (mg EAG/g extrato)
Hexânico (Hx)	17,451 ^a ± 0,276
Acetato de etila (AcOEt)	15,589 ^b ± 1,048
Metanólico (MeOH)	11,056 ^c ± 0,498
Polissacarídeos sulfatados (PS)	4,777 ^d ± 0,120

Fonte: Autora (2026)

Os resultados de CFT apresentaram diferenças estatisticamente significativas entre todos os extratos avaliados, com maior teor observado no extrato Hx (17,451 ± 0,276 mg EAG/g), seguido pelos extratos AcOEt, MeOH e PS, que exibiu o menor valor (Tabela 2). Considerando que os compostos fenólicos são majoritariamente polares, o predomínio no extrato Hx sugeriu a presença de fenólicos de menor polaridade ou sua associação com componentes lipofílicos da macroalga, favorecendo sua extração em solventes menos polares. Adicionalmente, a menor concentração no extrato MeOH pode estar relacionada à coextração de compostos não fenólicos, reduzindo o teor relativo de fenólicos, enquanto os baixos valores de PS são compatíveis com sua composição predominantemente carboidratada. Em conjunto,

esses resultados demonstraram a influência da polaridade do solvente, das interações matriz-composto e das condições de extração na determinação do conteúdo fenólico.

Os teores de CFT obtidos no presente estudo (Tabela 2) foram superiores aos relatados por Jesus *et al.* (2025) para *Laminaria hyperborea* (6,28 mg EAG/g) e *Ascophyllum nodosum* (4,31 mg EAG/g), especialmente nos extratos Hx e AcOEt, que apresentaram valores mais elevados. Essa diferença pode indicar que a *H. pseudomusciformis* possui maior potencial para acumulação de compostos fenólicos ou que o protocolo de extração empregado foi mais eficiente na recuperação desses metabólitos.

Os resultados descritos por Nursid *et al.* (2020) indicaram que o teor de compostos fenólicos tende a aumentar com a polaridade do solvente, sendo o metanol frequentemente mais eficiente na extração desses metabólitos. Os extratos metanólicos das espécies *Gelidium latifolium* (24,38 mg EAG/g), *Laurencia* sp. (24,97 mg EAG/g) e *Gracilaria salicornia* (23,37 mg EAG/g) apresentaram valores superiores aos observados nos extratos da macroalga *H. pseudomusciformis*, especialmente no extrato MeOH (Tabela 2).

Yildiz *et al.* (2011) encontraram baixos teores de CFT na macroalga vermelha *Gracilaria bursa-pastoris* ($0,35 \pm 0,05$ mg EAG/g), enquanto Hidayati *et al.* (2023) reportaram um teor de 4,67 mg EAG/g para o extrato metanólico de *Gracilaria* sp. Essas diferenças interespecíficas mostraram a variabilidade no conteúdo fenólico, possivelmente influenciada por fatores ambientais, características metabólicas e condições de extração.

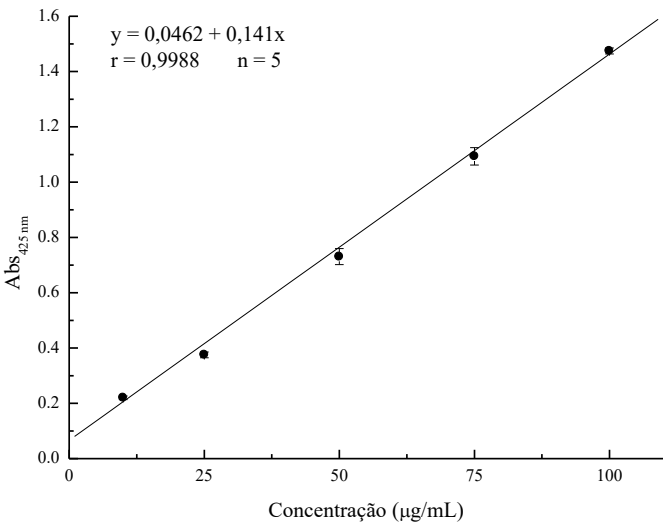
Em condições ideais, não se espera a presença de CFT em extratos de PS, considerando que estes são constituídos majoritariamente por unidades de açúcares, enquanto os compostos fenólicos pertencem a uma classe distinta de metabólitos secundários. Entretanto, em extratos provenientes de macroalgas, a detecção desses compostos tem sido recorrentemente reportada, sendo atribuída, sobretudo, à coextração durante o processo de isolamento, à ocorrência de interações não covalentes com a matriz polissacarídica e/ou à presença de impurezas decorrentes de etapas de purificação não totalmente eficientes. Adicionalmente, evidências sugerem que polissacarídeos de origem algal podem reter pequenas quantidades de compostos fenólicos associados, os quais podem influenciar propriedades biológicas, como a atividade antioxidante. Nesse sentido, a quantificação de fenólicos totais em frações polissacarídicas não deve ser interpretada, necessariamente, como uma limitação metodológica, mas sim como um indicativo do grau de pureza da amostra e das possíveis interações entre diferentes classes de compostos presentes no sistema (Fernandes; Coimbra, 2023).

4.3 Quantificação dos teores de flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF)

A determinação dos teores de flavonoides (TF) nos extratos de *H. pseudomusciformis* (Hx, AcOEt, MeOH e PS) foi realizada utilizando-se uma curva padrão de quercetina, preparada em concentrações entre 10 e 200 µg/mL. A linearidade da curva foi mantida até 100 µg/mL, conforme demonstrado no Gráfico 2.

Os resultados de TF dos extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS encontram-se na Tabela 3, evidenciando diferenças estatisticamente significativas ($p < 0,05$).

Gráfico 2 – Curva padrão de quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 10 a 100 µg/mL, usada para a quantificação do teor de flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF).



Fonte: Autora (2026)

Tabela 3 – Teores de flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Extratos	TF (mg EQg extrato)
Hexânico (Hx)	Não detectado
Acetato de etila (AcOEt)	74,902 ^a ± 3,555
Metanólico (MeOH)	26,504 ^b ± 1,122
Polissacarídeos sulfatados (PS)	Não detectado

Fonte: Autora (2026)

Os valores de TF foram detectados apenas nos extratos AcOEt ($74,902 \pm 3,555$ mg EQ/g) e MeOH ($26,504 \pm 1,122$ mg EQ/g), sendo o primeiro significativamente maior. Nos extratos Hx e PS, os flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) não foram detectados nas concentrações testadas (Tabela 3). Esses resultados indicaram que os flavonoides presentes possuem polaridade intermediária, sendo extraídos mais eficientemente por solventes de média polaridade, ressaltando a influência do solvente na extração desses compostos.

Ferdous *et al.* (2025) reportaram teor de flavonoides totais de 38,58 mg QE/g para o extrato AcOEt da microalga *Tetraselmis* sp., valor inferior ao observado no presente estudo com o mesmo solvente (74,902 mg EQ/g) e superior ao extrato MeOH (26,504 mg EQ/g), destacando a eficiência de AcOEt na extração desses compostos (Tabela 3).

Por sua vez, Sernita, Sahidin e Soekamto (2023) encontraram teores de flavonoides totais em extratos MeOH das rodófitas *Gracilaria* sp. ($1,96 \pm 0,12$ mg EQ/g), *Gracilaria* spp. ($0,72 \pm 0,09$ mg EQ/g) e *Kappaphycus alvarezii* ($0,22 \pm 0,23$ mg EQ/g), os quais foram substancialmente inferiores aos obtidos no presente estudo com o mesmo solvente (26,504 mg EQ/g) (Tabela 3). Hidayati *et al.* (2023) também observaram baixo teor de flavonoides totais (2,26 mg EQ/g), no extrato MeOH de *Gracilaria* sp., muito menor quando comparado ao de *H. pseudomusciformis* (Tabela 3). Em conjunto, esses resultados ressaltaram a influência dos fatores biológicos e das condições de extração na determinação do conteúdo de flavonoides, provando a existência de diferenças marcantes no acúmulo desses metabólitos entre espécies de gêneros diferentes ou mesmo do mesmo gênero.

4.4 Atividades antioxidantes *in vitro*

4.4.1 Capacidade de sequestro do radical livre DPPH (2,2- difenil-1-picril-hidrazila)

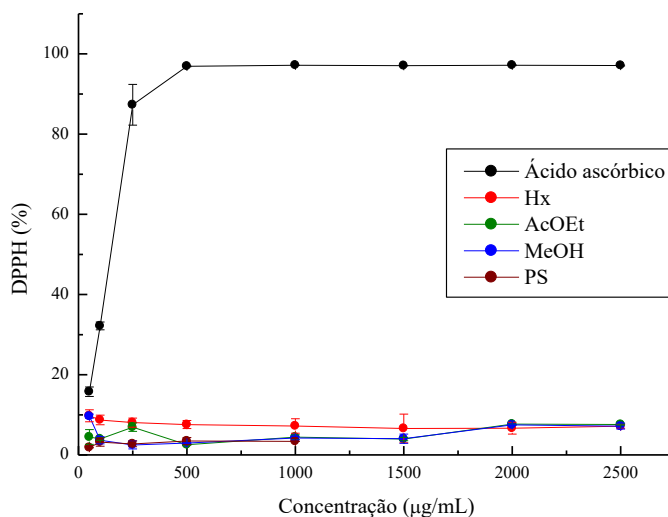
A atividade antioxidante, avaliada com base na capacidade de sequestro do radical livre DPPH, é amplamente empregada na análise de diversos materiais biológicos. Os resultados obtidos para essa atividade, expressos pela eficiência na redução do radical DPPH, estão apresentados na Tabela 4 e Gráfico 3. As análises foram conduzidas com o controle positivo, ácido ascórbico e com os extratos Hx, AcOEt e MeOH nas concentrações de 50 a 2.500 µg/mL e com o extrato PS nas concentrações de 50 a 1.000 µg/mL.

Tabela 4 – Capacidade de sequestro do radical livre DPPH do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Padrão	Extratos			
	Ácido Ascórbico (%)	Hx (%)	AcOEt (%)	MeOH (%)	PS (%)
50	15,767 ^a $\pm$ 1,174	9,766 ^a $\pm$ 1,488	4,479 $\pm$ 1,838	9,655 $\pm$ 0,513	1,845 $\pm$ 0,077
100	32,173 ^b $\pm$ 0,979	8,718 ^a $\pm$ 1,201	3,997 $\pm$ 0,337	3,667 $\pm$ 0,888	3,177 $\pm$ 1,018
250	87,316 ^c $\pm$ 5,073	8,063 ^a $\pm$ 1,125	6,924 $\pm$ 1,041	2,497 $\pm$ 1,011	2,754 $\pm$ 0,715
500	96,905 ^d $\pm$ 0,108	7,571 ^a $\pm$ 1,004	2,565 $\pm$ 0,153	2,960 $\pm$ 0,107	3,464 $\pm$ 0,865
1.000	97,160 ^d $\pm$ 0,042	7,266 ^a $\pm$ 1,817	4,436 $\pm$ 0,582	4,197 $\pm$ 0,436	3,374 $\pm$ 0,031
1.500	97,080 ^d $\pm$ 0,078	6,611 ^a $\pm$ 3,570	3,954 $\pm$ 0,406	4,040 $\pm$ 1,149	-
2.000	97,187 ^d $\pm$ 0,116	6,658 ^a $\pm$ 1,470	7,682 $\pm$ 0,046	7,498 $\pm$ 0,145	-
2.500	97,097 ^d $\pm$ 0,120	7,186 ^a $\pm$ 0,540	7,584 $\pm$ 0,138	7,192 $\pm$ 0,750	-

Fonte: Autora (2026)

Gráfico 3 – Capacidade de sequestro do radical livre DPPH do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.



Fonte: Autora (2026)

Para o ácido ascórbico, usado com padrão, os resultados mostraram aumento progressivo da atividade de sequestro do radical DPPH com o aumento da concentração, até a atividade atingir essencialmente 100% a partir de 500 $\mu\text{g/mL}$, confirmando sua elevada

capacidade antioxidante e a adequação do ensaio. Em contraste, os extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS apresentaram atividades significativamente inferiores em todas as concentrações testadas, com variações pouco expressivas ao longo do aumento da concentração. De modo geral, os extratos analisados no presente trabalho apresentaram baixa capacidade de sequestro do radical DPPH, sem uma resposta dose-dependente definida, contrastando com o comportamento observado para o composto padrão (Tabela 4, Gráfico 3).

Dimova *et al.* (2021) reportaram máxima atividade de sequestro do DPPH igual a $13,64\% \pm 0,77\%$, para extratos metanólicos da clorófito *Ulva rigida*, valor superior aos observados no presente estudo para o extrato MeOH de *H. pseudomusciformis* (Tabela 4, Gráfico 3). Da mesma forma, Widyastuti, Wulandari e Masduqi (2023) também detectaram atividade antioxidante classificada como muito fraca ($IC_{50} = 242,28$ ppm), no extrato etanólico da macroalga vermelha *Kappaphycus alvarezii* (variedade verde).

Em contapartida, Widyaswari *et al.* (2024) analisaram duas espécies do gênero *Sargassum* (*S. polycystum* e *S. ilicifolium*) e encontraram atividade antioxidante de moderada a elevada, tendo quantificado IC_{50} de 51,34 ppm e 51,25 ppm, respectivamente. Urrea-Victoria *et al.* (2022) também detectaram elevada atividade de sequestro do DPPH na feófito *Sargassum stenophyllum* (93,3 a 100%) e na rodófito *Pyropia spiralis* (79,1 a 100%), cultivadas por 7 dias em diferentes temperaturas.

Essas diferenças podem ser atribuídas à ausência de compostos fenólicos e flavonoides nos extratos analisados ou ao uso de extratos pouco concentrados, além de possíveis variações estruturais dos metabólitos presentes. Adicionalmente, fatores como o método de extração, polaridade dos solventes e grau de pureza das frações podem influenciar diretamente a capacidade antioxidante, justificando as discrepâncias observadas. Esses resultados ajudaram a reforçar o fato de que a atividade antioxidante em macroalgas está fortemente associada à composição química dos extratos, influenciada por fatores interespecíficos e condições ambientais naturais e/ou de cultivo, e à presença de metabólitos secundários com reconhecido potencial redox (Machado *et al.*, 2010).

A atividade máxima de aproximadamente 3% do extrato PS de *H. pseudomusciformis* (Tabela 4, Gráfico 3) foi muito inferior àquela reportada por Mousavian *et al.* (2022) para a microalga marinha *Picochlorum* sp. (85%). Essa diferença marcante sugeriu que os PS analisados neste trabalho possuem menor capacidade de neutralização de radicais livres, possivelmente em função de variações estruturais, como grau de sulfatação, massa molecular e conformação química. Além disso, fatores como a espécie de origem, o método de extração e o grau de pureza das amostras podem influenciar diretamente a atividade

antioxidante, contribuindo para as discrepâncias observadas entre os resultados.

4.4.2 Capacidade de sequestro do radical livre ABTS⁺ (2,2'- azino-bis(3-ethylbenzo-thiazoline-6-sulfonic acid)diammoninum salt)

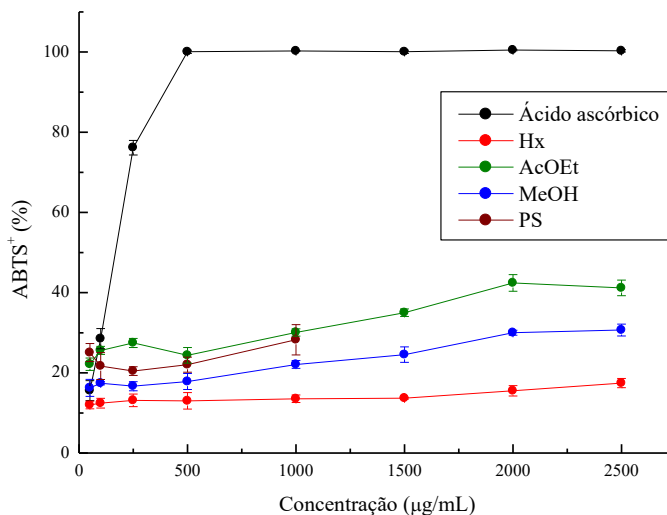
A atividade antioxidante dos extratos Hx, AcOEt, MeOH e PS foi também avaliada com base na capacidade de neutralização do radical catiônico ABTS⁺. Os dados obtidos encontram-se na Tabela 5 e no Gráfico 4. O ácido ascórbico foi utilizado como controle positivo, os extratos Hx, AcOEt, MeOH foram testados em concentrações de 50 a 2.500 µg/mL e o extrato PS, nas concentrações de 50 a 1.000 µg/mL.

Tabela 5 – Capacidade de sequestro do radical livre ABTS⁺ do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Concentração (µg/mL)	Padrão	Extratos			
	Ácido Ascórbico (%)	Hx (%)	AcOEt (%)	MeOH (%)	PS (%)
50	15,580 ^a ±2,490	11,996 ^a ±0,966	22,159 ^a ±1,539	16,263 ^a ±2,124	25,046 ^{ab} ±2,247
100	28,517 ^b ±2,517	12,440 ^{ab} ±1,209	25,598 ^{ab} ±1,014	17,406 ^a ±0,410	21,698 ^b ±3,341
250	76,141 ^c ±1,814	13,148 ^{ab} ±1,566	27,458 ^{bc} ±1,142	16,672 ^a ±1,134	20,444 ^b ±1,089
500	100,068 ^d ±0,408	13,029 ^{ab} ±2,059	24,378 ^{ab} ±1,953	17,841 ^a ±1,990	22,040 ^b ±1,875
1.000	100,265 ^d ±0,056	13,541 ^{ab} ±0,936	30,070 ^c ±0,919	22,091 ^b ±0,964	28,252 ^a ±3,783
1.500	100,077 ^d ±0,400	13,677 ^{ab} ±0,218	35,010 ^d ±0,949	24,549 ^b ±1,937	-
2.000	100,486 ^d ±0,173	15,523 ^{bc} ±1,297	42,434 ^c ±2,080	30,010 ^c ±0,624	-
2.500	100,299 ^d ±0,281	17,446 ^c ±1,159	41,189 ^c ±1,948	30,684 ^c ±1,486	-

Fonte: Autora (2026)

Gráfico 4 – Capacidade de sequestro do radical livre ABTS⁺ do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.



Fonte: Autora (2026)

Verificou-se um aumento de atividade dependente da concentração para o padrão ácido ascórbico, que atingiu valores próximos a 100% a partir de 500 µg/mL. Os extratos, apresentaram comportamento semelhante. Entre eles, o AcOEt exibiu o melhor desempenho global, com crescimento progressivo da atividade antioxidante, alcançando valores superiores a 40% nas maiores concentrações, sendo estatisticamente superior aos demais extratos em concentrações elevadas (Tabela 5, Gráfico 4). Esse resultado preconiza maior eficiência na extração de compostos bioativos de polaridade intermediária, possivelmente relacionados à atividade antioxidante.

O extrato MeOH apresentou atividade moderada, com aumento gradual conforme a concentração, atingindo cerca de 30% nas maiores concentrações, indicando a presença de compostos antioxidantes, porém em menor quantidade ou eficácia quando comparado ao extrato AcOEt. Já no extrato Hx, os menores valores foram detectados em todas as concentrações, com baixa variação, sugerindo reduzida presença de compostos antioxidantes no extrato mais apolar (Tabela 5, Gráfico 4).

O extrato PS apresentou comportamento intermediário, com valores relativamente elevados nas menores concentrações (especialmente a 50 µg/mL), porém sem tendência clara de aumento proporcional com a concentração (Tabela 5, Gráfico 4), o que pode demonstrar a presença de compostos com atividade antioxidante mais eficientes em baixas doses ou possíveis

interferências na resposta do ensaio.

Os resultados do presente estudo, quando comparados aos descritos por Inácio (2023), revelaram diferenças marcantes quanto ao comportamento antioxidante de espécies de macroalgas e solventes de extração. Enquanto o extrato aquoso da rodófito *Jania rubens* apresentou elevado desempenho, atingindo 99,65% de inibição do radical ABTS⁺, correspondendo a um forte potencial antioxidante, possivelmente associado à presença de compostos fenólicos hidrossolúveis, na espécie *H. pseudomusciformis* observou-se um perfil distinto. O extrato AcOEt apresentou maior atividade no ensaio ABTS⁺, com valores superiores a 40%, enquanto o MeOH alcançou aproximadamente 30% nas maiores concentrações testadas (Tabela 5, Gráfico 4). Essa variação pode sinalizar que, embora ambas as espécies apresentem potencial bioativo, a eficiência antioxidante está diretamente relacionada à natureza química dos metabólitos extraídos e à polaridade do solvente utilizado, ressaltando o fato de que compostos de média polaridade podem desempenhar papel mais relevante em *H. pseudomusciformis* (Tabela 5, Gráfico 4), ao passo que compostos mais polares parecem ser predominantes em *J. rubens*.

A atividade de inibição do radical ABTS⁺ reportada por Youssef *et al.* (2023), para o extrato acetônico da rodófito *Corallina officinalis*, nas concentrações de 25 e 50 µg/mL, foi de 29,42% ± 0,57% e 46,39% ± 0,63%, respectivamente, superior àquela observada para os extratos AcOEt e MeOH, nas maiores concentrações (Tabela 5, Gráfico 4). Esses dados reforçaram o fato de que, embora ambas pertençam ao grupo das macroalgas vermelhas, *C. officinalis* apresentou maior eficiência antioxidante, pois níveis elevados de inibição foram registrados em baixas concentrações, enquanto para *H. pseudomusciformis* foi necessário concentrações mais elevadas para alcançar respostas semelhantes (Tabela 5, Gráfico 4). Essas diferenças podem ser atribuídas tanto à maior afinidade da acetona para extrair compostos bioativos com alta atividade antioxidante, quanto às particularidades do perfil químico da espécie, sugerindo maior concentração ou maior reatividade de metabólitos antioxidantes em *Corallina officinalis* quando comparada à *H. pseudomusciformis*.

De acordo com Lee, Hwang e Kim (2025), a atividade antioxidante da macroalga parda *Sargassum filicinum*, avaliada pelo ensaio ABTS⁺, foi de 13,20% ± 0,54%, tendo sido considerada baixa e semelhante aos resultados observados para *H. pseudomusciformis*, especialmente para extratos de menor eficiência antioxidante, como o Hx ou mesmo o MeOH em concentrações iniciais (Tabela 5, Gráfico 4). Essa similaridade sugeriu que, em ambas as situações, há uma menor concentração ou menor reatividade de compostos capazes de neutralizar o radical ABTS⁺, o que pode estar diretamente relacionado à natureza dos

metabólitos extraídos e à polaridade do solvente empregado. Além disso, valores reduzidos de inibição podem indicar que os compostos antioxidantes presentes possuem baixa afinidade pelo radical ABTS^+ ou estão presentes em quantidades insuficientes para promover uma resposta assertiva. Dessa forma, os resultados reforçaram o fato de que a atividade antioxidante é fortemente dependente tanto da composição química da espécie quanto das condições de extração, e que nem todas as macroalgas vermelhas ou pardas apresentam elevado potencial antioxidante sob as mesmas condições experimentais.

Mousavian *et al.* (2022) demonstraram que os PS das microalgas *Chlorella sorokiniana* e *Chlorella* sp. apresentaram elevada atividade antioxidante, com mais de 90% de sequestro do radical ABTS^+ . Em comparação, os valores obtidos para PS extraídos da macroalga vermelha *H. pseudomusciformis*, variando de $1,845\% \pm 0,077\%$ a $3,464\% \pm 0,865\%$, indicaram uma atividade consideravelmente inferior (Tabela 5, Gráfico 4). Essa discrepância evidenciou que a capacidade antioxidante dos PS pode variar amplamente entre diferentes espécies, sendo influenciada por características estruturais, como grau de sulfatação, massa molecular e conformação, além de fatores metodológicos, incluindo condições de extração e pureza das amostras analisadas.

4.4.3 Poder de quelação de íons ferrosos (FIC)

Os dados referentes à capacidade de quelação de íons ferrosos (FIC) encontram-se dispostos na Tabela 6 e Gráfico 5, abrangendo o controle positivo, EDTA e os extratos Hx, AcOEt e MeOH, testados nas concentrações entre 50 e 2.500 $\mu\text{g/mL}$ e o extrato PS nas concentrações de 50 a 1.000 $\mu\text{g/mL}$.

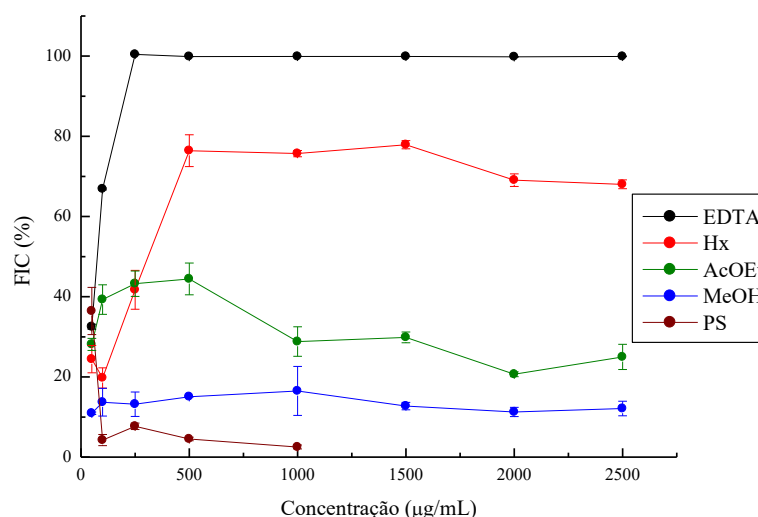
Os resultados de capacidade de quelação de íons ferrosos (FIC) demonstraram comportamento claramente dependente da concentração para o padrão EDTA, que atingiu valores próximos de 100% a partir da concentração de 250 $\mu\text{g/mL}$, mostrando elevada eficiência na complexação de íons ferrosos (Fe^{2+}). Esse perfil confirmou a elevada afinidade do EDTA por íons metálicos e validou a sensibilidade do método empregado, uma vez que o controle positivo teve elevada capacidade de quelação de Fe^{2+} em concentração baixa.

Tabela 6 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Padrão	Extratos			
	EDTA (%)	Hx (%)	AcOEt (%)	MeOH (%)	PS (%)
50	32,524 ^a $\pm$ 0,611	24,445 ^a $\pm$ 3,405	28,109 ^a $\pm$ 1,487	10,939 ^a $\pm$ 0,307	36,445 ^a $\pm$ 5,880
100	66,877 ^b $\pm$ 0,222	19,754 ^a $\pm$ 2,521	39,298 ^b $\pm$ 3,685	13,692 ^a $\pm$ 3,463	4,254 ^b $\pm$ 1,397
250	100,427 ^c $\pm$ 0,128	41,734 ^b $\pm$ 4,841	43,249 ^b $\pm$ 3,185	13,199 ^a $\pm$ 3,055	7,682 ^b $\pm$ 0,804
500	99,893 ^c $\pm$ 0,028	76,419 ^c $\pm$ 3,967	44,442 ^b $\pm$ 3,949	15,061 ^a $\pm$ 0,049	4,526 ^b $\pm$ 0,453
1.000	99,934 ^c $\pm$ 0,055	75,691 ^{cd} $\pm$ 0,790	28,813 ^a $\pm$ 3,687	16,508 ^a $\pm$ 6,105	2,529 ^b $\pm$ 0,491
1.500	99,904 ^c $\pm$ 0,037	77,906 ^c $\pm$ 1,013	29,861 ^a $\pm$ 1,352	12,721 ^a $\pm$ 0,919	-
2.000	99,815 ^c $\pm$ 0,088	69,073 ^{de} $\pm$ 1,558	20,672 ^c $\pm$ 0,612	11,272 ^a $\pm$ 1,148	-
2.500	99,931 ^c $\pm$ 0,081	68,024 ^e $\pm$ 1,102	24,995 ^{ac} $\pm$ 3,157	12,126 ^a $\pm$ 1,826	-

Fonte: Autora (2026)

Gráfico 5 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.



Fonte: Autora (2026)

Entre os extratos, o Hx apresentou o melhor desempenho, com aumento progressivo da atividade até atingir valores superiores a 75% nas concentrações intermediárias (500-1.500 $\mu\text{g/mL}$) (Tabela 6, Gráfico 5). Esse comportamento sugeriu a presença de compostos com

capacidade de interação com íons metálicos, mesmo sendo um extrato de baixa polaridade. Embora a quelação de ferro seja frequentemente associada a compostos polares, como fenólicos, estudos indicam que outros metabólitos, incluindo terpenoides e compostos lipofílicos, também podem contribuir para esse mecanismo. A leve redução da atividade em concentrações mais elevadas pode estar relacionada à saturação do sistema ou à formação de agregados que dificultam a interação com o Fe^{2+} (Gutiérrez-Del-Río *et al.*, 2021; Wojtunik-Kulesza; Dubiel; Klimek, 2025).

O extrato AcOEt apresentou atividade intermediária, com valor máximo de $44,442\% \pm 3,949\%$, seguidos de declínio em concentrações mais elevadas (Tabela 6, Gráfico 5). Esse perfil pode estar associado à presença de compostos com grupos funcionais capazes de coordenar íons metálicos, como hidroxilas e carbonilas, típicos de compostos fenólicos de polaridade intermediária. A capacidade quelante de compostos fenólicos está diretamente relacionada à sua estrutura química, especialmente à posição e número de grupos hidroxila, o que pode justificar a atividade moderada observada (Sun; Shahrajabian, 2023).

Por outro lado, o extrato MeOH apresentou baixa capacidade quelante e ausência de resposta dependente da concentração (Tabela 6, Gráfico 5), indicando que os compostos extraídos nesse solvente possuem baixa afinidade por Fe^{2+} . Esse resultado reforçou que nem todos os compostos polares contribuem efetivamente para a quelação de metais, mesmo sendo frequentemente associados à atividade antioxidante em outros ensaios.

O extrato PS apresentou comportamento distinto, com maior atividade ($36,445\% \pm 5,880\%$) na menor concentração ($50 \mu\text{g/mL}$) e redução acentuada nas concentrações subsequentes (Tabela 6, Gráfico 5). Esse padrão pode estar relacionado a limitações físico-químicas, como aumento da viscosidade, formação de agregados ou impedimento estérico, que dificultam a interação entre os grupos funcionais dos polissacarídeos (como sulfatos) e os íons Fe^{2+} em concentrações mais elevadas. Embora polissacarídeos sulfatados de macroalgas sejam descritos como agentes quelantes, sua eficiência depende da acessibilidade dos grupos aniônicos e da conformação molecular (Guehaz *et al.*, 2025).

De modo geral, os resultados indicaram que a capacidade de quelação de íons ferrosos não está exclusivamente relacionada à polaridade dos extratos, sendo fortemente influenciada pelas características estruturais dos compostos presentes, como grupos hidroxila e carbonila capazes de interagir com íons metálicos (Kejík *et al.*, 2021). O extrato Hx, apesar de menos polar, demonstrou maior eficiência, sugerindo a contribuição de metabólitos alternativos na complexação de Fe^{2+} . Esses resultados reforçaram a importância de avaliar diferentes extratos e mecanismos antioxidantes, uma vez que a atividade quelante pode divergir

significativamente de outros métodos antioxidantes, como DPPH e ABTS.

Ruiz-Medina, Sansón e González-Rodríguez (2022) analisaram extratos metanólicos de 24 macroalgas, e os dados de FIC demonstraram que essa atividade foi fortemente influenciada pelo processamento da biomassa e pela composição química das espécies, apresentando comportamento variável entre macroalgas. Eles verificaram que em cerca de 50% das espécies, como *Canistrocarpus cervicornis* e *Grateloupia imbricata*, a atividade foi significativamente maior em amostras *in natura*, indicando possível degradação ou alteração estrutural de compostos quelantes após a secagem, enquanto em outras, como *Wrangelia argus*, a atividade foi favorecida pela desidratação, sugerindo maior exposição ou liberação de metabólitos ativos. A perda total da atividade em *Jania virgata* reforçou a sensibilidade de determinados compostos às condições de secagem, ao passo que espécies como *Lophocladia trichoclados* mantiveram ou aumentaram sua eficiência, ressaltando estabilidade química mais acentuada. Algumas espécies apresentaram valores elevados, como *G. imbricata* (73,81%) e *L. trichoclados* (até 74,48%), destacando o potencial natural dessas macroalgas como agentes quelantes. De modo geral, como observado nos seus resultados experimentais (Tabela 6), a atividade FIC não dependeu apenas da polaridade dos extratos, mas principalmente da estrutura e disponibilidade de grupos funcionais capazes de interagir com Fe^{2+} , sendo também influenciada por fatores como concentração, processamento e possíveis interações intermoleculares.

De acordo com Chaiklahan *et al.* (2025), os polissacarídeos extraídos da macroalga verde *Caulerpa lentillifera* apresentaram FIC de 0,88 mg/mL, indicando baixa eficiência quelante em comparação aos resultados obtidos no presente estudo, cuja atividade máxima de $36,445\% \pm 5,880\%$ (Tabela 6, Gráfico 5). Essa diferença pode estar relacionada a variações na composição química dos polissacarídeos, no grau de sulfatação, na estrutura molecular e nas condições experimentais empregadas, fatores que influenciaram diretamente a interação com Fe^{2+} e, consequentemente, a capacidade quelante.

4.4.4 Poder de redução de íons férricos (FRAP)

Os resultados do poder de redução de íons férricos (FRAP) para o controle positivo, BHA, e para os extratos Hx, AcOEt e MeOH, nas concentrações entre 50 e 2.500 $\mu\text{g/mL}$, e o extrato PS, nas concentrações de 50 a 1.000 $\mu\text{g/mL}$ estão apresentados na Tabela 7 e Gráfico 6. Os dados correspondem à média $\pm$ desvio padrão das absorbâncias medidas a 700 nm.

A interpretação dos resultados baseou-se na relação direta entre os valores de

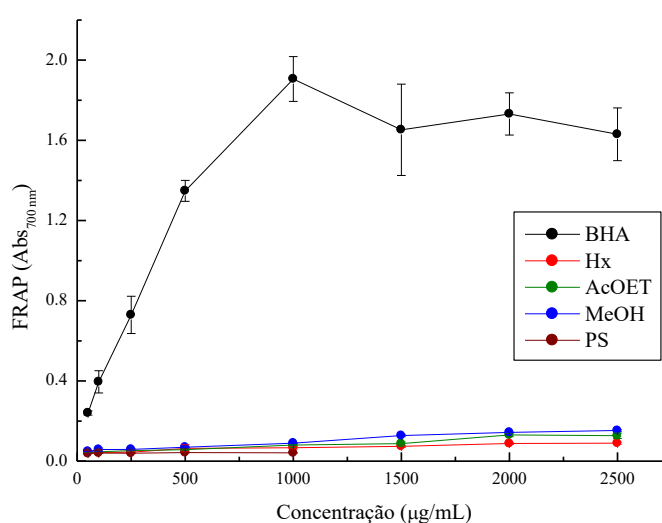
absorbância e a capacidade redutora: quanto maior a absorbância, maior o FRAP. Para o BHA, observou-se um aumento progressivo da atividade redutora até a concentração de 1.000 µg/mL.

Tabela 7 – Poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo (BHA) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Concentração (µg/mL)	Padrão	Extratos			
	BHA	Hx	AcOEt	MeOH	PS
50	0,2403 ^a ±0,0105	0,0459 ^a ±0,0023	0,0429 ^a ±0,0026	0,0482 ^a ±0,0008	0,0385 ^a ±0,0007
100	0,3956 ^b ±0,0054	0,0434 ^a ±0,0043	0,0463 ^a ±0,0015	0,0580 ^b ±0,0080	0,0403 ^a ±0,0017
250	0,7296 ^c ±0,0929	0,0444 ^a ±0,0042	0,0529 ^a ±0,0020	0,0590 ^b ±0,0035	0,0397 ^a ±0,0023
500	1,3482 ^d ±0,0523	0,0640 ^b ±0,0174	0,0575 ^a ±0,0025	0,6980 ^c ±0,0021	0,0425 ^a ±0,0017
1.000	1,9057 ^e ±0,1118	0,0671 ^b ±0,0059	0,0805 ^b ±0,0035	0,9000 ^d ±0,0021	0,0413 ^a ±0,0020
1.500	1,6525 ^{ef} ±0,2276	0,0739 ^{bc} ±0,0048	0,0872 ^b ±0,0083	0,1277 ^c ±0,0060	-
2.000	1,7317 ^{ef} ±0,1050	0,0879 ^c ±0,0047	0,1307 ^c ±0,0087	0,1435 ^f ±0,0013	-
2.500	1,6302 ^f ±0,1317	0,0879 ^c ±0,0054	0,1267 ^c ±0,0136	0,1530 ^f ±0,0038	-

Fonte: Autora (2026)

Gráfico 6 – Poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo (BHA) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt), metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.



Fonte: Autora (2026)

O composto padrão BHA apresentou aumento progressivo do poder redutor com a concentração, atingindo valor máximo de $1,9057 \pm 0,1118$ em $1.000 \mu\text{g/mL}$, seguido de leve estabilização/queda (Tabela 7, Gráfico 6). Esse comportamento é típico de compostos com alta capacidade de doação de elétrons, refletindo eficiência na redução de Fe^{3+} para Fe^{2+} . As diferenças estatísticas entre as concentrações confirmam um efeito dose-dependente bem definido, validando o ensaio (Tabela 7, Gráfico 6).

Embora o extrato MeOH tenha apresentado FRAP baixo nas menores concentrações, houve um aumento a partir de $500 \mu\text{g/mL}$ ($0,6980 \pm 0,0021$), atingindo $0,9000 \pm 0,0021$ em $1.000 \mu\text{g/mL}$. Esse resultado indicou capacidade redutora em concentrações intermediárias, sugerindo a presença de compostos, possivelmente fenólicos, com potencial de doação de elétrons. A queda brusca em $1.500 \mu\text{g/mL}$ ($0,1277 \pm 0,0060$) e discreto aumento, a seguir (Tabela 7, Gráfico 6), pode indicar instabilidade dos compostos, interferência no ensaio ou até saturação do sistema, o que é relativamente comum em matrizes complexas (Spiegel *et al.*, 2020).

O extrato AcOEt apresentou comportamento moderado, com aumento gradual da atividade em função da concentração, atingindo valores máximos nas maiores concentrações (Tabela 7, Gráfico 6). Esse perfil sugeriu presença de compostos com capacidade redutora intermediária, provavelmente fenólicos de média polaridade, mas em menor quantidade ou eficiência em relação ao extrato MeOH.

O extrato Hx apresentou os menores valores, com leve aumento nas maiores concentrações, indicando baixa capacidade de redução (Tabela 7, Gráfico 6). Esse resultado foi coerente com a natureza apolar desse extrato, que tendeu a concentrar compostos com menor capacidade de doação de elétrons (Fioroni *et al.*, 2023).

Os PS apresentaram baixa atividade de redução em todas as concentrações testadas (Tabela 7, Gráfico 6). De fato, os polissacarídeos não são reconhecidos como fortes agentes redutores no ensaio FRAP, explicando a baixa atividade global (Nwachukwu *et al.*, 2021).

Na literatura, observa-se uma diferença marcante no FRAP de extratos MeOH e Hx e entre espécies. El-Sheekh *et al.* (2021) afirmaram que os extratos MeOH apresentam FRAP (mg equivalentes de ácido ascórbico/g extrato) significativamente superiores em todas as macroalgas, com destaque para *Jania rubens* ($22,7 \pm 1,0$) e *Taonia atomaria* ($22,6 \pm 0,8$), seguidas por *Padina pavonia* ($13,6 \pm 0,2$) e *Corallina elongata* ($4,1 \pm 0,1$). Em contraste, os extratos Hx exibiram atividade FRAP muito baixa, variando de 0,25 a 4,1, com os maiores valores em *T. atomaria* ($4,1 \pm 0,2$) e os menores em *J. rubens* ($0,35 \pm 0,0$) e *C. elongata* ($0,25 \pm 0,0$). Esse padrão mostrou que o poder redutor está fortemente associado à extração com

solventes polares, como o metanol, sugerindo a predominância de compostos com alta capacidade de doação de elétrons, como fenólicos, enquanto os extratos apolares (hexano) concentraram metabólitos com baixa contribuição para esse mecanismo. Além disso, a variação entre espécies indicou que a composição química também desempenhou papel fundamental.

Os valores de FRAP reportados por Premarathna *et al.* (2024) para PS da macroalga *Ahnfeltiopsis devoniensis* ($40,3 \pm 2,4$ a $372,6 \pm 3,4$ $\mu\text{g/mL}$) e *Chondrus crispus* ($378,1 \pm 2,1$ a $585,9 \pm 2,1$ $\mu\text{g/mL}$) mostraram ampla variação na capacidade de redução de íons férricos entre diferentes macroalgas, indicando que a atividade antioxidante foi fortemente dependente da composição estrutural dos polissacarídeos. De modo geral, os maiores valores observados em *C. crispus* sugerem maior eficiência na doação de elétrons, possivelmente associada a diferenças no grau de sulfatação, peso molecular e conformação das cadeias polissacarídicas, fatores conhecidos por influenciar a atividade redutora. Em contraste, os valores mais baixos registrados para *A. devoniensis* indicaram menor potencial antioxidante nesse mecanismo específico. Esses resultados reforçaram que, embora polissacarídeos possam apresentar atividade no ensaio FRAP, sua eficiência é variável e, geralmente, inferior à de compostos fenólicos, sendo altamente dependente da estrutura química e das condições de extração, o que deve ser considerado ao comparar diferentes estudos.

4.4.5 Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB)

Os resultados da atividade antioxidante avaliada pelo ensaio de inibição do branqueamento do β -caroteno (BCB) estão expressos em percentual de inibição, como média $\pm$ desvio padrão, e apresentados na Tabela 8 e Gráfico 7. As amostras analisadas incluíram o controle positivo - ácido ascórbico, os extratos Hx, AcOEt e MeOH, testados nas concentrações de 50 a 2.500 $\mu\text{g/mL}$, e o extrato PS, nas concentrações de 50 a 1.000 $\mu\text{g/mL}$.

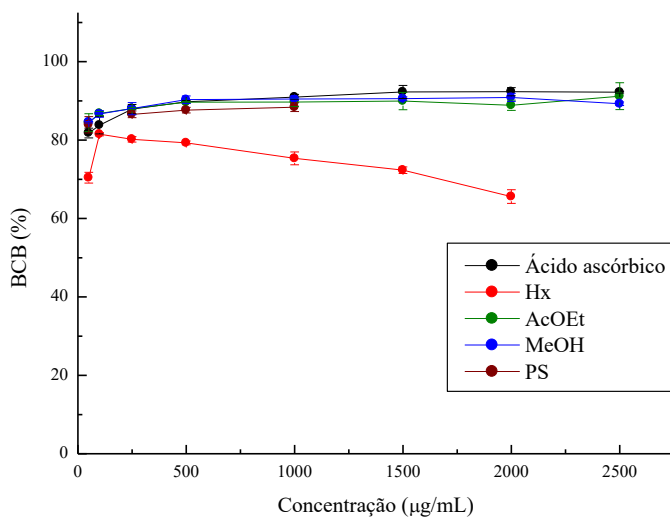
Verificou-se que os extratos AcOEt, MeOH e PS de *H. pseudomusciformis* apresentaram semelhante eficácia na inibição do branqueamento do β -caroteno em comparação ao ácido ascórbico, em todas as concentrações avaliadas (Tabela 8, Gráfico 7).

Tabela 8 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Padrão	Extratos			
	Ácido ascórbico (%)	Hx (%)	AcOEt (%)	MeOH (%)	PS (%)
50	81,808 ^a $\pm$ 1,237	70,397 ^a $\pm$ 1,371	84,435 ^a $\pm$ 2,276	84,555 ^a $\pm$ 0,188	83,904 ^a $\pm$ 2,066
100	83,795 ^a $\pm$ 1,876	81,503 ^b $\pm$ 0,437	86,805 ^{ab} $\pm$ 0,497	86,666 ^b $\pm$ 0,848	-
250	87,887 ^b $\pm$ 1,188	80,191 ^b $\pm$ 0,700	88,037 ^{abc} $\pm$ 0,268	88,013 ^{bc} $\pm$ 1,561	86,561 ^{ab} $\pm$ 0,833
500	89,755 ^{bc} $\pm$ 0,323	79,288 ^b $\pm$ 0,485	89,655 ^{bc} $\pm$ 0,141	90,297 ^d $\pm$ 0,948	87,634 ^b $\pm$ 0,728
1.000	90,962 ^c $\pm$ 0,674	75,335 ^b $\pm$ 1,636	89,689 ^{bc} $\pm$ 1,124	90,467 ^d $\pm$ 0,360	88,392 ^b $\pm$ 1,117
1.500	92,259 ^c $\pm$ 1,660	72,324 ^a $\pm$ 0,827	89,943 ^{bc} $\pm$ 2,194	90,588 ^d $\pm$ 0,445	-
2.000	92,335 ^c $\pm$ 1,039	65,589 ^c $\pm$ 1,747	88,876 ^{bc} $\pm$ 1,318	90,882 ^d $\pm$ 1,026	-
2.500	92,204 ^c $\pm$ 0,234	-	91,194 ^c $\pm$ 3,442	89,272 ^{cd} $\pm$ 0,469	-

Fonte: Autora (2026)

Gráfico 7 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico) e dos extratos hexânico (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH) e polissacarídeos sulfatados (PS), da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.



Fonte: Autora (2026)

Os resultados do ensaio de branqueamento do β -caroteno (BCB) revelaram que todos os extratos (Hx, AcOEt, MeOH e PS) da macroalga vermelha *H. pseudomusciformis* apresentaram atividade antioxidante relevante, com variações dependentes da concentração e do tipo de extrato (Tabela 8, Gráfico 7). De modo geral, o controle positivo (ácido ascórbico) exibiu aumento progressivo da atividade com a elevação da concentração, partindo de 81,81% (50 $\mu\text{g/mL}$) até atingir valores superiores a 92% nas maiores concentrações, o que confirmou sua elevada capacidade antioxidante e valida o ensaio.

Os extratos AcOEt e MeOH se destacaram por apresentarem atividades antioxidantes elevadas e comparáveis ao padrão em diversas concentrações. Já na menor concentração (50 $\mu\text{g/mL}$), ambos os extratos apresentaram valores superiores ao ácido ascórbico, indicando alta eficiência na prevenção da oxidação lipídica mesmo em baixas doses. Esse comportamento se manteve relativamente estável ao longo das concentrações testadas, com valores próximos ou superiores a 89% nas maiores concentrações, sugerindo a presença de compostos com forte capacidade de neutralização de radicais livres (Tabela 8, Gráfico 7).

O extrato Hx, por outro lado, apresentou atividade antioxidante inferior aos demais e uma tendência de redução com o aumento da concentração, iniciando com 70,40% (50 $\mu\text{g/mL}$) e baixando para 65,59% (2.000 $\mu\text{g/mL}$). Esse comportamento pode estar relacionado à predominância de compostos apolares, que, em alguns casos, possuem menor eficiência em sistemas de emulsão como o ensaio BCB, ou ainda à possível presença de compostos com efeito pró-oxidante em concentrações mais elevadas (Sotler *et al.*, 2019).

O extrato PS apresentou atividade antioxidante, variando de 83,90% (50 $\mu\text{g/mL}$) a 88,39% (1.000 $\mu\text{g/mL}$). Observou-se um discreto aumento da atividade com a elevação da concentração, seguido de estabilização nas maiores concentrações, sugerindo um possível efeito de saturação. O desempenho dos PS permaneceu próximo ao do ácido ascórbico, evidenciando seu potencial como antioxidante natural (Tabela 8, Gráfico 7).

De forma geral, os resultados indicaram que os extratos mais polares (AcOEt e MeOH) e o PS apresentaram maior potencial antioxidante no sistema BCB, quando comparados ao extrato Hx (Tabela 8, Gráfico 7). Esses resultados reforçaram a importância da polaridade dos solventes na extração de compostos bioativos e sugerem que *H. pseudomusciformis* pode ser uma fonte promissora de substâncias com potencial aplicação antioxidante, especialmente em sistemas lipídicos.

De acordo com O'Sullivan *et al.* (2011), no ensaio de descoloração do β -caroteno (BCB), todos os extratos de macroalgas, na concentração 10 mg/mL , reduziram o branqueamento do β -caroteno em pelo menos 50%. Dentre eles, destacaram-se os extratos das

feofíceas *Ascophyllum nodosum* e *Fucus vesiculosus*, com 76,3% e 71,2% de proteção, respectivamente. O trolox, usado como padrão, nas concentrações de 0,05 a 0,53 mg/mL apresentou atividade de 77% a 100%. As atividades mais baixas registradas nos extratos algais ocorreram, possivelmente, devido à menor pureza e à complexidade de suas matrizes. Mesmo assim, os resultados indicaram que as macroalgas são fontes promissoras de antioxidantes em sistemas lipofílicos, capazes de retardar a degradação do β -caroteno, embora sua eficácia dependa da concentração e da composição química dos extratos.

4.5 Cromatografia em camada delgada (CCD)

A análise por cromatografia em camada delgada (CCD), empregando como fase móvel o sistema *n*-hexano:acetato de etila (50:50, v/v), possibilitou a detecção de 151 compostos distintos, com base nos valores dos fatores de retenção (*R_f*) determinados. Esse quantitativo revelou ampla diversidade química entre os extratos (Hx, AcOEt e MeOH) e as frações (Fr. Hx, Fr. AcOEt, Fr. MeOH:H₂O e Fr. Res. MeOH:H₂O) avaliados, evidenciando a elevada complexidade metabólica da matriz investigada.

Tal complexidade é consistente com o perfil químico geralmente descrito para macroalgas marinhas, organismos que sintetizam uma variedade de metabólitos secundários como estratégia adaptativa frente a pressões ambientais, incluindo exposição à radiação ultravioleta, predação por herbívoros e flutuações de salinidade. Dessa forma, o expressivo número de compostos observados reforçou o potencial químico da espécie estudada e sua relevância para investigações fitoquímicas aprofundadas (Carpena *et al.*, 2024).

Entre os extratos brutos, o AcOEt apresentou o perfil cromatográfico mais diversificado, evidenciado pelo maior número de compostos detectados pelos diferentes reveladores, sendo o único no qual todos os reveladores empregados detectaram pelo menos um composto. Esse comportamento pode ser atribuído à polaridade intermediária do solvente, que favorece a extração de metabólitos com ampla faixa de polaridade, incluindo compostos fenólicos, terpenoides oxigenados e outras substâncias de caráter moderadamente polar. Tal característica conferiu ao extrato AcOEt maior diversidade química detectável por diferentes sistemas reveladores.

Em contraste, a fração acetato de etila (Fr. AcOEt) apresentou o menor número de compostos detectados, com apenas dois *R_f* identificados, sob as condições cromatográficas empregadas. Esse resultado pode indicar baixa concentração de metabólitos nessa fração ou limitação da fase móvel utilizada na adequada resolução de seus constituintes. Também é

possível que os compostos presentes possuam baixa reatividade frente aos reveladores empregados.

Os reveladores vanilina e anisaldeído destacaram-se como os mais eficientes, uma vez que permitiram a detecção de compostos em todas as amostras analisadas, incluindo extratos e frações. Esses reagentes são amplamente reconhecidos por sua sensibilidade frente a diferentes classes de compostos orgânicos, especialmente metabólitos fenólicos, terpenoides e compostos carbonílicos. A elevada resposta observada sugeriu predominância de metabólitos secundários reativos a esses sistemas cromogênicos.

A fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O) apresentou o maior número de compostos detectados pelos reveladores, indicando concentração significativa de substâncias de maior polaridade. Esse resultado foi coerente com a natureza desses sistemas extrativos, que tendem a concentrar compostos fenólicos, flavonoides e outras substâncias hidrossolúveis. A maior diversidade de *R_f* nessa fração sugeriu que parte expressiva dos metabólitos presentes na matriz apresentou caráter polar ou semi-polar.

De modo geral, os resultados demonstraram que o sistema eluente empregado (Hx:AcOEt 50:50, v/v) foi eficiente na separação de compostos com ampla faixa de polaridade, embora diferenças marcantes tenham sido observadas entre extratos e frações. O destaque do extrato AcOEt e da fração mais polar (Fr. Res. MeOH:H₂O) sugeriu que metabólitos de polaridades maiores predominaram na matriz analisada, indicando potencial químico relevante para investigações posteriores de isolamento e caracterização estrutural.

4.6 Avaliação toxicológica das frações

4.6.1 Atividade fitotóxica contra sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*)

Os resultados dos ensaios de fitotoxicidade da fração hexânica (Fr. Hx) e fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O), avaliadas em sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*), estão apresentados na Tabela 9.

Tabela 9 – Resultados das médias de crescimento radicular (*MCR*), porcentagem relativa de germinação (*RSG*), porcentagem relativa de crescimento radicular (*RRG*) e índice de germinação (*IG*) da atividade fitotóxica da fração hexânica (Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O), nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024, e dos controles negativo e positivo, contra sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*), após sete dias de incubação.

Identificação	<i>MRC</i> (mm)	<i>RSG</i> (%)	<i>RRG</i> (%)	<i>IG</i> (%)
Fr. Hx 100 µg/mL	128,531	96,667	102,833	99,406
Fr. Hx 1.000 µg/mL	119,6345	96,667	95,715	92,525
Fr. Res. MeOH:H ₂ O 100 µg/mL	133,693	100	106,963	106,963
Fr. Res. MeOH:H ₂ O 1.000 µg/mL	63,693	93,333	50,958	47,561
Controle negativo (CN)	104,723	93,333	-	-
CN com clorofórmio	124,990	100	-	-
Controle positivo (CP)	0	0	0	0
CP com clorofórmio	0	0	0	0

Fonte: Autora (2026)

Nos controles negativos, água destilada e água destilada acrescida de 1 mL de clorofórmio, foi realizada análise estatística, que evidenciou diferença significativa ($p < 0,05$) nos valores de germinação e crescimento das plântulas. Diante dessa diferença, e considerando que as frações avaliadas continham clorofórmio, adotou-se como referência o controle negativo com clorofórmio, por apresentar similaridade com as condições experimentais. Assim, a média do controle negativo com clorofórmio foi utilizada nos cálculos das medidas de crescimento radicular (*MCR*), porcentagem relativa de germinação (*RSG*), porcentagem relativa de crescimento radicular (*RRG*) e índice de germinação (*IG*) (Tabela 9).

Nos controles positivos, solução salina a 0,5% e solução salina a 0,5% acrescida de 1 mL de clorofórmio, conforme esperado, não houve germinação das sementes de *C. sativus* (Tabela 9). Segundo Oliveira e Oliveira (2023), a presença de NaCl interfere negativamente no desenvolvimento vegetal em diferentes fases. A intensidade da resposta varia entre as sementes, mas, em muitos casos, mesmo baixas concentrações de sal já são suficientes para comprometer a emergência das plântulas, devido à redução do potencial hídrico do meio, que limita a absorção de água, além do desequilíbrio nutricional e dos efeitos de toxicidade iônica.

O controle negativo apresentou valores elevados de *RSG* (93,33%), confirmando a viabilidade do sistema experimental e a ausência de interferência significativa do solvente. Já o controle positivo resultou em inibição total ($IG = 0\%$), validando a sensibilidade do ensaio

e demonstrando sua capacidade de detectar efeitos tóxicos (Tabela 9). Em conjunto, os dados indicaram que, enquanto a Fr. Hx mostrou-se biologicamente segura nas condições avaliadas, a Fr. Res. MeOH:H₂O apresentou potencial citotóxico na concentração mais elevada, o que deve ser considerado em aplicações futuras.

Os resultados demonstraram que a Fr. Hx. não apresentou fitotoxicidade nas concentrações avaliadas. Em 100 µg/mL, *IG* foi 99,41%, com *RSG* igual a 96,67% e *RRG* de 102,83%, indicando que, além de não inibir, essa concentração pode ter favorecido levemente o crescimento radicular. Na concentração 1.000 µg/mL, houve discreta redução no *IG* (92,53%) e no *RRG* (95,71%), mas os valores ainda permaneceram elevados, sugerindo que a Fr. Hx. não é fitotóxica nem mesmo na maior concentração (Tabela 9).

A Fr. Res. MeOH:H₂O apresentou comportamento claramente dependente da concentração. Na menor concentração (100 µg/mL), observou-se *IG* de 106,96%, com *RSG* de 100% e *RRG* de 106,96%, indicando efeito estimulatório sobre a germinação e o crescimento radicular (Tabela 9). Esse tipo de resposta pode estar associado à presença de compostos bioativos que, em baixas concentrações, atuam promovendo o desenvolvimento vegetal. Entretanto, na concentração 1.000 µg/mL, houve uma redução acentuada nos parâmetros avaliados, *IG* de 47,56% e *RRG* de 50,96%, evidenciando efeito fitotóxico, o que caracteriza uma resposta típica de dose-dependência.

Os controles negativos apresentaram altos valores de germinação e crescimento, com destaque para o controle com clorofórmio (*MRC* de 124,99 mm e *RSG* de 100%) (Tabela 9), indicando que o clorofórmio, nas condições testadas, não exerceu efeito inibitório relevante e pode até ter favorecido o crescimento radicular em relação ao controle somente com água. Esse resultado justificou sua utilização como referência para os cálculos dos parâmetros relativos. Por outro lado, os controles positivos, com e sem clorofórmio, apresentaram inibição total (*IG* = 0%), confirmando a sensibilidade do bioensaio e sua adequação para detectar efeitos fitotóxicos.

De modo geral, os dados evidenciaram que a atividade das frações foi influenciada pela concentração, sendo a Fr. Hx. considerada segura nas condições avaliadas, enquanto a Fr. Res. MeOH:H₂O apresentou potencial fitotóxico na maior concentração, apesar de promover estímulo ao crescimento em baixas concentrações. Esses resultados reforçaram a importância de avaliar diferentes concentrações para compreender melhor o efeito biológico de extratos naturais.

Segundo Chukwuma *et al.* (2024), no ensaio fitotóxico com sementes de alface utilizando extratos da rodófito *Mastocarpus stellatus* e da feófito *Palmaria dioica* (1,5 mg/mL),

observaram que os extratos polares (aquoso e metanólico) promoveram aumento no crescimento das plântulas em pelo menos 34%, sugerindo efeito bioestimulante. Em contraste, o extrato hexânico não apresentou atividade, possivelmente atribuída à ausência de compostos bioativos nesse extrato. Por outro lado, os extratos de acetato de etila foram os que exibiram maior fitotoxicidade, especialmente para *M. stellatus*, que reduziu o crescimento em 44,5%, seguido por *P. dioica* (20,2%). Esses resultados sugeriram que os compostos de polaridade intermediária possam estar mais associados à fitotoxicidade, embora o efeito global tenha sido relativamente moderado, possivelmente em função da concentração empregada.

De acordo com Puglisi *et al.* (2020), ao avaliarem o efeito de extratos das microalgas *Chlorella vulgaris* e *Scenedesmus quadricauda* na germinação de sementes da planta angiosperma da família Amaranthaceae, *Beta vulgaris*, verificaram efeito positivo significativo ($p < 0,01$), dependente da concentração. O extrato de *C. vulgaris* destacou-se pela maior eficiência, promovendo aumentos expressivos na germinação, com valores até 3,8 vezes superiores ao controle nos estágios iniciais e mantendo desempenho elevado ao longo do período avaliado. Em contraste, o extrato de *S. quadricauda* apresentou efeito mais discreto e tardio, com incrementos a partir do quarto dia e aumentos de até 1,3 vez em relação ao controle. De modo geral, os resultados evidenciaram o potencial bioestimulante de extratos algais.

O estresse salino prejudica a germinação e o crescimento de plantas, mas o uso de bioestimulantes à base de algas pode mitigar esses efeitos. Um estudo com a planta da família Apocynaceae, *Calotropis procera*, usando extratos de *Sargassum angustifolium* e *Spirulina platensis*, mostrou melhora significativa na germinação, vigor e crescimento sob estresse de salinidade, com condutividade elétrica de 0, 7,5, 15 e 30 deciSiemens por metro (dS/m) de água do mar diluída.

Os extratos de algas foram mais eficazes, aumentando a germinação e a tolerância ao sal em diferentes níveis. Em geral, baixas concentrações desses extratos elevaram o desempenho das plantas e a tolerância ao estresse salino, indicando seu potencial como bioestimulantes agrícolas (Jafarlou *et al.*, 2021).

4.6.2 Atividade citotóxica contra náuplios de *Artemia* sp.

O ensaio de letalidade frente a náuplios de *Artemia* sp. no estágio II de desenvolvimento demonstrou a atividade biológica das frações hexânica e residual metanol:água (Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O), obtidas da macroalga marinha vermelha *H. pseudomusciformis*, nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL. A mortalidade observada, bem

como o percentual de organismos mortos no controle, encontram-se detalhados na Tabela 10, permitindo comparar o efeito tóxico das duas frações ao longo do tempo de exposição (24 e 48 horas). Esses resultados foram relevantes para discutir o potencial citotóxico e a presença de compostos bioativos na espécie avaliada.

Tabela 10 – Letalidade de náuplios de *Artemia* sp. frente à fração hexânica (Fr. Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O), nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024, após exposição ao dimetilsulfóxido (DMSO) a 10%, por 24 e 48 h.

Identificação	24 h			48 h		
	Nº indivíduos		% indivíduos mortos	Nº indivíduos		% indivíduos mortos
	Total	Mortos		Total	Mortos	
Fr. Hx. 100 mg/mL	40	0	0	40	2	5
Fr. Hx. 1.000 mg/mL	40	40	100	40	40	100
Fr. Res. MeOH:H ₂ O 100 µg/mL	40	0	0	40	2	5
Fr. Res. MeOH:H ₂ O 1.000 µg/mL	40	0	0	40	40	100
Controle negativo (CN)	40	0	0	40	0	0
Controle positivo (CP)	40	40	100	40	40	100

Fonte: Autora (2026)

No presente estudo com frações da macroalga *H. pseudomusciformis*, o dimetilsulfóxido (DMSO) a 10% foi utilizado como controle positivo, apresentando mortalidade de 100% dos náuplios de *Artemia* sp. após 24 horas de exposição, o que indicou um efeito deletério sob as condições testadas (Tabela 10). Esse resultado foi consistente com relatos da literatura que indicaram que o DMSO pode apresentar atividade biológica em sistemas aquáticos, especialmente em concentrações elevadas, levando a respostas de toxicidade em organismos modelo (Khalid *et al.*, 2025).

O controle negativo composto por água do mar artificial não apresentou mortalidade dos náuplios de *Artemia* sp. após 48 horas de exposição, indicando adequada viabilidade dos organismos e estabilidade das condições experimentais ao longo do ensaio (Tabela 10). Esse resultado confirmou que as condições de cultivo não foram responsáveis por efeitos deletérios, assegurando a validade do experimento e permitindo a interpretação confiável da atividade observada nas frações testadas em comparação aos controles.

A Fr. Hx apresentou efeito tóxico dependente da concentração sobre os náuplios de

Artemia sp. Na concentração 100 µg/mL, não foi observada mortalidade após 24 horas, porém, após 48 horas, registrou-se a morte de dois náuplios, indicando baixa toxicidade e efeito tardio. Em contrapartida, na concentração 1.000 µg/mL, os organismos apresentaram redução imediata da atividade locomotora, seguida de mortalidade total poucos minutos após a exposição, caracterizando efeito agudo e intenso.

A Fr. Res. MeOH:H₂O apresentou comportamento semelhante, porém menos pronunciado. Na concentração 100 µg/mL, não houve mortalidade nas primeiras 24 horas, sendo observada a morte de dois náuplios apenas após 48 horas, sugerindo baixa toxicidade tardia. Já na concentração 1.000 µg/mL, ocorreu letalidade de 100% dos organismos após 48 horas de exposição.

De modo geral, ambas as frações apresentaram baixa toxicidade na menor concentração e elevada toxicidade na maior concentração testada, evidenciando efeito dependente da dose e do tempo de exposição. No entanto, a Fr. Hx apresentou ação mais rápida e intensa em comparação a Fr. Res. MeOH:H₂O, sugerindo diferenças relacionadas à polaridade e à composição química dos compostos bioativos presentes.

Tubril *et al.* (2024) realizaram um ensaio de letalidade utilizando *Artemia* sp. como modelo para triagem preliminar da atividade citotóxica de extratos etanólicos da clorófita *Ulva intestinalis*. O extrato bruto na concentração 100 µg/mL provocou 50% de mortalidade, indicando efeito citotóxico moderado. O valor de CL₅₀ foi de 92,38 µg/mL, enquanto o controle positivo, dicromato de potássio (K₂Cr₂O₇), apresentou CL₅₀ de 125,28 µg/mL, sugerindo que o extrato da macroalga exibiu atividade citotóxica relativamente mais intensa em comparação ao controle utilizado.

A Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O de *H. pseudomusciformis* demonstraram efeito tóxico com mortalidade total observada em 1.000 mg/mL e baixa mortalidade a 100 mg/mL (Tabela 10). Comparativamente, o extrato da macroalga vermelha *Eucheuma spinosum*, apresentou elevada toxicidade no ensaio com *Artemia salina*, com CL₅₀ de 58,82 ppm (≈0,058 mg/mL), indicando alta potência biológica em baixas concentrações (Hamrun *et al.*, 2020). Dessa forma, os resultados evidenciaram que o extrato de *E. spinosum* foi consideravelmente mais citotóxico, uma vez que promoveu efeito letal em concentrações muito inferiores, enquanto as Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O apresentaram um perfil de menor toxicidade relativa (Tabela 10).

De modo geral, os resultados obtidos com Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O de *H. pseudomusciformis* apresentaram atividade biológica dependente da concentração e do tempo de exposição, com perfis distintos quanto à cinética de ação, destacando-se o efeito

agudo da Fr. Hx e a resposta tardia da Fr. Res. MeOH:H₂O. Quando comparados com os dados da literatura, observou-se menor potência citotóxica nas frações (Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O) deste estudo, o que pode estar relacionado à natureza dos compostos extraídos. Assim, embora os resultados tenham confirmado o potencial bioativo das frações analisadas, sua menor toxicidade relativa pode representar uma vantagem em aplicações que demandem maior segurança. No entanto, tais achados devem ser considerados preliminares, sendo necessários estudos adicionais para isolamento dos compostos ativos, elucidação dos mecanismos de ação e avaliação toxicológica mais aprofundada.

4.6.3 Atividade toxicológica no modelo experimental zebrafish (Danio rerio)

Durante o período experimental de 96 horas, os zebrafish expostos à Fr. Hx nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL apresentaram 100% de sobrevivência durante todo o experimento, não sendo observadas alterações comportamentais severas ou sinais evidentes de toxicidade aguda, quando comparados aos indivíduos do grupo controle.

Os parâmetros físico-químicos da água permaneceram, de modo geral, dentro das condições adequadas para manutenção da espécie nas 96 h de duração do experimento. Entretanto, observou-se aumento discreto nos níveis de amônia nas últimas 48 h, provavelmente relacionado ao acúmulo de excretas dos animais, associado à ausência de trocas parciais de água durante o período experimental. Essa pequena alteração não foi suficiente para comprometer o bem-estar e/ou a sobrevivência dos indivíduos.

Os animais do grupo controle apresentaram peso médio de 0,383 g ± 0,126 g e comprimento médio de 3,82 cm ± 0,68 cm, enquanto os grupos tratados com Fr. Hx. 100 µg/mL e 1.000 µg/mL apresentaram médias de 0,351 g ± 0,084 g e 0,325 g ± 0,072 g para peso, e 3,69 cm ± 0,37 cm e 3,51 cm ± 0,29 cm para comprimento, respectivamente (Tabela 11).

A utilização do zebrafish como modelo experimental é amplamente empregada em ensaios toxicológicos devido à sua elevada sensibilidade fisiológica, facilidade de manutenção e boa correlação com respostas observadas em outros vertebrados. Nesse contexto, a avaliação biométrica dos animais, por meio das medidas de peso e comprimento individuais, antes e após o período experimental, foi realizada com o objetivo de garantir a homogeneidade dos grupos experimentais e maior rigor científico aos ensaios.

Tabela 11 – Peso e comprimento, expressos como média $\pm$ desvio padrão ($n = 10$), de zebrafish (*Danio rerio*), do grupo controle e da fração hexânica (Fr. Hx), de *Hypnea pseudomusciformis*, nas concentrações 100 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$, durante 96 horas.

Identificação	Grupo controle	Fr. Hx 100 $\mu\text{g/mL}$	Fr. Hx 1.000 $\mu\text{g/mL}$
Peso (g)	$0,383 \pm 0,126$	$0,351 \pm 0,084$	$0,325 \pm 0,072$
Comprimento (cm)	$3,82 \pm 0,68$	$3,69 \pm 0,37$	$3,51 \pm 0,29$

Fonte: Autora (2026)

Resultados semelhantes foram observados por Yang *et al.* (2018), que avaliaram o efeito de extratos ricos em arsênio das macroalgas marinhas pardas *Ecklonia cava*, *Undaria pinnatifida* e *Hizikia fusiformis* sobre zebrafish e verificaram ausência de diferenças significativas na taxa de sobrevivência de embriões e adultos nas concentrações testadas. Na concentração 100 ppm, o ritmo cardíaco, a morte celular ou a produção de espécies reativas de oxigênio não mostraram diferença estatística nos embriões.

González-Penagos *et al.* (2024) observaram alterações morfológicas e efeitos tóxicos em embriões de zebrafish expostos ao extrato etanólico de *Sargassum* spp., principalmente em concentrações mais elevadas (200 mg/L e 400 mg/L), evidenciando que a toxicidade de compostos derivados de macroalgas pode variar de acordo com o tipo de extrato e a dose empregada.

4.7 Avaliação dos filmes biodegradáveis

Filmes comestíveis atuam como barreiras protetoras entre o alimento e o ambiente, contribuindo para sua conservação. Nesse contexto, a incorporação de compostos bioativos tem sido amplamente investigada, especialmente aqueles derivados de macroalgas marinhas, que são fontes de polissacarídeos com elevada capacidade de formação de filmes, biodegradabilidade e baixa toxicidade. Além disso, esses biopolímeros podem apresentar atividades antioxidantes e antimicrobianas, favorecendo o aumento da vida útil dos alimentos e a manutenção da qualidade (Sinha, 2025).

Os filmes foram preparados a partir de uma matriz de carragenana, polissacarídeo extraído da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, sendo posteriormente incorporados com a Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O nas concentrações de 100 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$. Após a obtenção dos filmes, eles foram avaliados quanto às propriedades de permeabilidade ao

vapor de água, solubilidade em água e parâmetros de cor.

4.7.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Na Tabela 12 estão apresentados os valores de espessura dos filmes de carragenana incorporados com Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O, nas concentrações de 100 e 1.000 µg/mL, juntamente com os respectivos valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA), permitindo avaliar a influência da incorporação das frações nas propriedades físicas e de barreira dos filmes.

Tabela 12 – Resultados da espessura e permeabilidade ao vapor de água (PVA), dos filmes de carragenana incorporados com a fração hexânica (Fr. Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O), nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Identificação	Características avaliadas	
	Espessura (mm)	PVA (g/dia · m · atm)
Fr. Hx 100 µg/mL	0,039 ± 0,010	0,234 ± 0,058
Fr. Hx 1.000 µg/mL	0,035 ± 0,007	0,196 ± 0,041
Fr. Res. MeOH:H ₂ O 100 µg/mL	0,057 ± 0,013	0,300 ± 0,071
Fr. Res. MeOH:H ₂ O 1.000 µg/mL	0,042 ± 0,010	0,224 ± 0,053
Controle	0,057 ± 0,133	0,340 ± 0,080

Fonte: Autora (2026)

Os valores médios de permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes contendo as frações foram numericamente inferiores ao do filme controle. O menor valor foi observado para o filme incorporado com a Fr. Hx na concentração de 1.000 µg/mL (0,196 ± 0,041 g/dia·m·atm), seguido da Fr. Hx 100 µg/mL (0,234 ± 0,058 g/dia·m·atm). Os filmes contendo a Fr. Res. MeOH:H₂O apresentaram valores intermediários, enquanto o controle apresentou o maior valor médio de PVA (0,340 ± 0,080 g/dia·m·atm).

De modo geral, a redução da PVA foi acompanhada pela diminuição da espessura dos filmes, sugerindo uma organização estrutural mais eficiente e menor passagem de vapor de água. Resultados semelhantes foram descritos por Tyuftin *et al.* (2022), demonstrando que a eficiência de barreira não depende apenas da espessura, mas também da estrutura do material.

Gongi *et al.* (2022), ao caracterizarem filmes biodegradáveis à base de substâncias

poliméricas extracelulares (EPS) da microalga *Graesiella* sp., relataram permeabilidade ao vapor de água de $0,038 \pm 0,006$, indicando uma propriedade de barreira superior à maioria dos filmes à base de biopolímeros. Esse valor foi inferior aos observados no presente estudo (Tabela 12), sugerindo que a composição baseada em EPS pode promover uma estrutura mais densa e menos permeável, possivelmente devido à maior coesão intermolecular e organização da matriz polimérica.

Por fim, os resultados indicaram que a permeabilidade não depende exclusivamente da espessura, mas também da estrutura interna e das interações moleculares promovidas pelas frações incorporadas. Esse comportamento reforçou que modificações na composição do filme podem ser mais determinantes para as propriedades de barreira do que variações dimensionais isoladas.

4.7.2 Solubilidade em água (S)

Os filmes controle apresentaram valores finais de solubilidade (S) entre 0,0004 g e 0,0024 g, após 24 horas de imersão em água, indicando que parte do material permaneceu insolúvel e manteve sua integridade estrutural. A porcentagem de solubilidade desses filmes variou entre 84% e 98%.

Em contraste, os filmes contendo Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O apresentaram solubilidade total em água, independentemente da concentração utilizada (100 ou 1.000 µg/mL), demonstrando completa dissolução dos filmes no meio aquoso. O aumento da concentração não alterou esse comportamento, sugerindo que o efeito das frações sobre a solubilidade já havia atingido seu limite nas condições avaliadas.

De modo geral, os resultados indicaram que a incorporação das frações aumentou a afinidade dos filmes por água, favorecendo sua dissolução. Esse efeito pode estar relacionado à modificação da estrutura do material, facilitando a penetração e a ação da água.

Augusto *et al.* (2024) verificaram que a incorporação de extrato de *Sargassum* resultou em filmes com maior resistência à água, comprovada por uma redução de 11% na solubilidade. Esse comportamento contrastou com os resultados do presente estudo, em que a adição da Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O promoveu solubilidade total dos filmes, indicando que o efeito dos extratos sobre essa propriedade pode variar de acordo com sua composição química e interação com a matriz polimérica.

Sousa (2023), ao estudar filmes elaborados com carragenana e incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânica da macroalga parda *Lobophora variegata*, observou

que, após 24 h de imersão em água destilada a 25 °C, os filmes se dissolveram completamente. Esse comportamento foi atribuído à natureza hidrossolúvel da carragenana, cuja característica foi mantida mesmo com a adição dos extratos. Esse achado está em concordância com o presente estudo, no qual os filmes contendo Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O também apresentaram solubilidade de 100%, evidenciando que a matriz polimérica exerceu papel predominante nesse parâmetro, mantendo elevada afinidade com a água independentemente da incorporação das frações.

Dessa forma, os resultados indicaram que a solubilidade dos filmes está fortemente relacionada à natureza da matriz polimérica, sendo a carragenana determinante para a elevada afinidade com a água, mesmo na presença das frações incorporadas. Observou-se que a adição de Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O não foi suficiente para reduzir essa característica, resultando em filmes completamente solúveis. Assim, embora essa propriedade possa ser vantajosa para aplicações específicas que demandem rápida dissolução, também limita o uso desses materiais em sistemas que exigem maior resistência à umidade, devendo sua aplicação ser cuidadosamente direcionada conforme a finalidade desejada.

4.7.3 Cor

Os valores de luminosidade (L^*), bem como dos parâmetros cromáticos a^* e b^* , obtidos para os filmes incorporados com Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O, nas concentrações de 100 e 1.000 µg/mL, estão apresentados na Tabela 13. Os valores de média $\pm$ desvio padrão de L^* , a^* e b^* estão mostrados na Tabela 14.

Tabela 13 – Resultados das leituras das coordenadas de cor L* (luminosidade), a* (vermelho/verde: +a indica cor vermelha e –a indica cor verde) e b* (amarelo/azul: +b indica cor amarela e –b indica cor azul), dos filmes de carragenana incorporados com a fração hexânica (Fr. Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O), nas concentrações 100 e 1.000 µg/mL, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Identificação	Parâmetros colorimétricos					
	L*		a*		b*	
	100 µg/mL	1.000 µg/mL	100 µg/mL	1.000 µg/mL	100 µg/mL	1.000 µg/mL
Fr. Hx	91,66	83,34	0,68	4,17	10,89	22,88
	83,60	82,38	3,61	4,32	21,62	25,37
	85,05	84,91	2,89	3,12	20,39	20,08
	82,21	77,67	3,20	5,93	17,66	33,56
	84,72	80,00	2,82	4,90	18,29	29,84
	84,15	80,38	3,53	4,80	22,94	28,78
	90,57	79,74	0,85	5,19	13,14	28,40
	91,36	83,27	0,74	4,13	17,01	23,95
	82,53	88,97	4,14	3,75	23,80	22,25
Fr. Res. MeOH:H ₂ O	84,74	83,91	3,20	3,98	22,28	22,02
	86,74	85,56	2,04	3,05	18,21	20,75
	86,30	86,09	2,26	2,77	20,65	20,24
	81,06	86,49	4,51	2,54	25,07	20,29
	79,21	84,41	4,59	3,86	24,25	22,88
	74,21	80,42	5,45	5,05	28,02	28,94
	71,99	78,62	8,00	5,73	34,35	31,87
	89,14	79,29	1,23	5,48	16,51	31,80
	88,60	84,30	1,31	3,93	17,52	23,25

Fonte: Autora (2026)

Tabela 14 – Valores de média $\pm$ desvio padrão das coordenadas de cor L* (luminosidade), a* (vermelho/verde: +a indica cor vermelha e -a indica cor verde) e b* (amarelo/azul: +b indica cor amarela e -b indica cor azul) dos filmes de carragenana incorporados com a fração hexânica (Fr. Hx) e a fração residual metanol água (Fr. Res. MeOH:H₂O), nas concentrações 100 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$, obtidas a partir da macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, Caucaia, Ceará, em maio de 2024.

Parâmetros colorimétricos	Identificação			
	Fr. Hx		Fr. Res. MeOH:H ₂ O	
	100 $\mu\text{g/mL}$	1.000 $\mu\text{g/mL}$	100 $\mu\text{g/mL}$	1.000 $\mu\text{g/mL}$
L*	86,21 $\pm$ 3,86	82,30 $\pm$ 3,36	82,44 $\pm$ 6,23	83,23 $\pm$ 3,00
a*	2,5 $\pm$ 1,36	4,48 $\pm$ 0,83	3,62 $\pm$ 2,23	4,04 $\pm$ 1,16
b*	18,42 $\pm$ 4,34	26,12 $\pm$ 4,31	22,98 $\pm$ 5,71	24,67 $\pm$ 4,84

Fonte: Autora (2026)

Os parâmetros colorimétricos evidenciaram variações nos valores de L*, a* e b* em função do tipo de fração e da concentração utilizada. Em relação ao parâmetro L* (luminosidade), os filmes contendo a Fr. Hx apresentaram tendência de redução dos valores médios com o aumento da concentração de 100 para 1.000 $\mu\text{g/mL}$ (de 86,21 $\pm$ 3,86 para 82,30 $\pm$ 3,36), indicando filmes visualmente menos claros (Tabela 14). Esse comportamento pode estar relacionado à maior incorporação de compostos cromóforos na matriz polimérica em concentrações mais elevadas. Para os filmes contendo a Fr. Res. MeOH:H₂O, os valores de L* variaram de 82,44 $\pm$ 6,23 para 83,23 $\pm$ 3,00, sem apresentar um padrão evidente de aumento ou redução da luminosidade, sugerindo menor influência da concentração sobre esse parâmetro (Tabela 14).

Em relação ao parâmetro a*, que representa a variação entre verde (-) e vermelho (+), todos os filmes apresentaram valores positivos, indicando predominância de tonalidades avermelhadas. Nos filmes contendo a Fr. Hx, observou-se aumento dos valores médios de a* com a elevação da concentração (de 2,50 $\pm$ 1,36 para 4,48 $\pm$ 0,83), sugerindo tendência de intensificação dessa tonalidade. Para os filmes contendo a Fr. Res. MeOH:H₂O, os valores também permaneceram positivos (de 3,62 $\pm$ 2,23 para 4,04 $\pm$ 1,16), porém as variações foram menos pronunciadas, indicando uma tendência de menor alteração desse parâmetro em comparação à Fr. Hx (Tabela 14).

Quanto ao parâmetro b* (variação entre azul (-) e amarelo (+)), todos os filmes apresentaram valores positivos, evidenciando predominância de coloração amarelada. Nos filmes contendo a Fr. Hx, observou-se aumento dos valores médios de b* com o incremento da maior concentração (de 18,42 $\pm$ 4,34 para 26,12 $\pm$ 4,31), sugerindo intensificação da tonalidade

amarela, possivelmente relacionada à presença de compostos lipofílicos pigmentados. Nos filmes contendo a Fr. Res. MeOH₂O, também foi observada tendência de aumento dos valores médios de b^* (de $22,98 \pm 5,71$ para $24,67 \pm 4,84$), embora essa variação tenha sido menos pronunciada (Tabela 14).

De forma geral, os resultados indicaram uma tendência de maior variação dos parâmetros colorimétricos nos filmes contendo a Fr. Hx, especialmente na maior concentração, com redução dos valores médios de luminosidade (L^*) e aumento dos parâmetros a^* e b^* . Em contraste, os filmes contendo a Fr. Res. MeOH₂O apresentaram variações mais discretas e sem um padrão tão evidente, sugerindo menor interferência visual na matriz de carragenana (Tabela 14). Esses aspectos são relevantes, uma vez que alterações de cor podem influenciar a aceitabilidade do consumidor e a aplicação dos filmes em sistemas alimentícios.

Os valores de luminosidade (L^*) observados neste estudo mostraram-se próximos aos relatados por Vieira *et al.* (2025) para filmes elaborados a partir de polissacarídeos sulfatados de *Gracilaria birdiae* ($81,14 \pm 1,22$ a $85,58 \pm 0,87$), evidenciando um comportamento semelhante entre diferentes sistemas filmogênicos derivados de macroalgas vermelhas. Essa proximidade preconiza que esses biopolímeros possuem, de modo geral, elevada capacidade de formar filmes com boa transparência e aparência clara, características desejáveis para aplicações em embalagens comestíveis. Além disso, as pequenas variações nos valores de L^* podem estar associadas às diferenças de concentração das frações incorporadas e às interações com o glicerol, que influenciam a estrutura da matriz e, consequentemente, a dispersão da luz no material.

Dessa forma, os resultados obtidos reforçaram o potencial dos filmes à base de algas marinhas como materiais promissores para aplicação em embalagens biodegradáveis, uma vez que, além de apresentarem características físico-químicas adequadas, podem atuar como barreiras contra oxigênio e umidade, reduzindo processos de deterioração. A capacidade de formar uma atmosfera modificada contribui para a inibição do crescimento microbiano e para a diminuição de reações oxidativas, prolongando a vida útil dos alimentos. Adicionalmente, a presença de compostos bioativos confere propriedades antimicrobianas, auxiliando na manutenção da qualidade e segurança de produtos, especialmente cárneos e pescado, evidenciando sua relevância tecnológica e aplicabilidade na área de embalagens sustentáveis (Waseem *et al.*, 2023).

5 CONCLUSÃO

Este trabalho teve como objetivo realizar uma análise preliminar das principais classes de compostos bioativos presentes na macroalga marinha vermelha *H. pseudomusciformis*, coletada na Praia do Pacheco, no Estado do Ceará.

A macroalga marinha vermelha *Hypnea pseudomusciformis* foi submetida à extração com *n*-hexano (Hx), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH), além da obtenção de polissacarídeos sulfatados (PS), apresentando rendimentos de 2,11%, 0,37%, 1,35% e 18,91%, respectivamente.

O extrato Hx apresentou o maior teor de compostos fenólicos totais (CFT), enquanto o extrato AcOEt apresentou maior teores de flavonoides (TF), seguido do MeOH.

Quanto à atividade antioxidante, os extratos apresentaram resultados distintos de acordo com o método empregado. Em relação ao DPPH, todos os extratos apresentaram baixa capacidade antioxidante. O extrato AcOEt apresentou o melhor desempenho no ensaio ABTS⁺, enquanto o extrato Hx apresentou maior atividade no ensaio FIC. Para os métodos FRAP e BCB, o extrato MeOH demonstrou maior poder redutor e maior capacidade de inibição da oxidação nas concentrações avaliadas.

A análise cromatográfica por CCD permitiu a identificação preliminar de 151 compostos, evidenciando a elevada diversidade química da espécie. As análises fitoquímicas indicaram a presença de compostos fenólicos, flavonoides e polissacarídeos sulfatados nos extratos avaliados.

Nos ensaios fitotóxicológicos utilizando sementes de pepino *Cucumis sativus*, as frações Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O apresentaram baixa toxicidade na concentração de 100 µg/mL, enquanto efeitos mais pronunciados foram observados em 1.000 µg/mL.

No ensaio de letalidade com náuplios de *Artemia* sp., ambas as frações apresentaram toxicidade dependente da concentração e do tempo de exposição, com mortalidade total em 1.000 µg/mL, destacando-se a maior toxicidade da Fr. Hx.

No modelo experimental com zebrafish *Danio rerio*, a Fr. Hx não apresentou toxicidade nas concentrações avaliadas, sendo observada taxa de sobrevivência de 100% durante todo o período experimental.

A incorporação das frações Fr. Hx e Fr. Res. MeOH:H₂O em filmes de carragenana influenciou diretamente as propriedades físico-químicas dos materiais. Os filmes contendo Fr. Hx apresentaram menores valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA), indicando melhor propriedade de barreira. Além disso, os filmes contendo as frações apresentaram

solubilidade (*S*) total em água após 24 horas e alterações nos parâmetros colorimétricos, demonstrando influência das frações na estrutura e aparência dos materiais.

Dessa forma, os resultados demonstraram que *H. pseudomusciformis* constitui uma fonte promissora de compostos bioativos com potencial antioxidante e aplicação no desenvolvimento de filmes biodegradáveis, reforçando a necessidade de novos estudos para isolamento, caracterização e aplicação biotecnológica dos compostos responsáveis pelas atividades observadas.

REFERÊNCIAS

ABREU, Jéssica Cristina Faria. **Caracterização de um extrato da macroalga *Ericaria selaginoides* e estudo da incorporação em iogurte**. 2022. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos) – Instituto Superior de Agronomia, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal, 2022.

AGBOR, G. A.; VINSON, J. A.; DONNELLY, P. E. Folin-Ciocalteu reagent for polyphenolic assay. **International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics**, Chennai, v. 3, n. 8, p. 147-156, 2014.

AHN, M. R.; KUMAZAWA, S.; USUI, Y.; NAKAMURA, J.; MATSUKA, M.; ZHU, F.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 101, n. 4, p. 1383-1392, 2007.

AINSWORTH, E. A.; GILLESPIE, K. M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. **Nature Protocols**, London, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007.

AJALA, M.; DROGUET, M.; KRAIEM, M.; BEN SAAD, H.; BOUJHOUD, Z.; HILALI, A.; KALLEL, H.; PUJO, J. M.; BEN AMARA, I. The potential effect of polysaccharides extracted from red alga *Gelidium spinosum* against intestinal epithelial cell apoptosis. **Pharmaceuticals**, Basel, v. 16, n. 3, art. 444, 2023. DOI:10.3390/ph16030444.

AKTER, A.; SOBUJ, M. K. A.; ISLAM, M. S.; CHAKROBORTY, K.; TASNIM, N.; AYON, M. H.; HOSSAIN, M. F.; RAFIQUZZAMAN, S. M. Seaweed polysaccharides: Sources, structure and biomedical applications with special emphasis on antiviral potentials. **Future Foods**, Amsterdam, v. 10, art. 100440, 2024. DOI: 10.1016/j.fufo.2024.100440.

AL MAMARI, Hamad H. **Phenolic compounds**: Classification, chemistry, and updated techniques of analysis and synthesis. Londres: IntechOpen, 2021. ISBN 978-1-83969-347-2.

ALMEIDA, Antonio Eduardo Monteiro de; STEIN, Ricardo. Meio Ambiente e o Coração. **Arquivos Brasileiros de Cardiologia**, São Paulo, v. 120, n. 7, e20230119, 2023. DOI: <https://doi.org/10.36660/abc.20230119>.

ÁLVAREZ-GOMEZ, F.; KORBEE, N.; FIGUEROA, F. L. Analysis of antioxidant capacity and bioactive compounds in marine macroalgal and lichenic extracts using different solvents and evaluation methods. **Ciencias Marinas**, Ensenada, v. 42, n. 4, p. 271-288, 2016. DOI: 10.7773/cm.v42i4.2677.

ARCAN, I.; YEMENICIOGLU, A. Incorporating phenolic compounds opens a new perspective for using zein films as flexible bioactive packaging materials. **Food Research International**, Amsterdam, v. 44, n. 2, p. 550-556, 2011.

ARMENGOL, E. S.; HARMANCI, M.; LAFFLEUR, F. Current strategies to determine antifungal and antimicrobial activity of natural compounds. **Microbiological Research**, Jena, v. 252, art. 126867, 2021.

AUGUSTO, A.; MARQUES, S.; FÉLIX, R.; DIAS, J.; ALVES, N.; SHIESL, K.; MURRAY, P.; NOVAIS, S. C.; LEMOS, M. F. L.; SILVA, S. F. J. A novel seaweed-based biodegradable and active food film to reduce freezer burn in frozen salmon. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 156, art. 110332, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2024.110332>.

BARSANTI, Laura; GUALTIERI, Paolo. **Algae: Anatomy, Biochemistry and Biotechnology**. 3. ed. Boca Raton, Florida: CRC Press, 2023. 438 p.

BELO, Sara Rodrigues Santos. **Avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* no âmbito de processos de compostagem**. 2011. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente na Especialidade de Tecnologia e Gestão do Ambiente) – Departamento de Engenharia Mecânica, Faculdade de Ciências e Tecnologia, Universidade de Coimbra, Coimbra, 2011.

BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of stable free radical. **Nature**, London, v. 181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.

BRITO, R. S.; CANEDO, A.; FARIAS, D.; ROCHA, T. L. Transgenic zebrafish (*Danio rerio*) as an emerging model system in ecotoxicology and toxicology: Historical review, recent advances, and trends. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 848, art. 157665, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.157665>.

CADAR, E.; POPESCU, A.; DRAGAN, A. M. L.; PESTERAU, A. M.; PASCALE, C.; ANUTA, V.; PRASACU, I.; VELESCU, B. S.; TOMESCU, C. L.; BOGDAN-ANDREESCU, C. F.; SIRBU, R.; IONESCU, A. M. Bioactive compounds of marine algae and their potential health and nutraceutical applications: a review. **Marine Drugs**, Basel, v. 23, n. 4, art. 152, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/md23040152>.

CARPENA, M.; PEREIRA, C. S. G. P.; SILVA, A.; BARCIELA, P.; JORGE, A. O. S.; PEREZ-VASQUEZ, A.; PEREIRA, A. G.; BARREIRA, J. C. M.; OLIVEIRA, M. B. P. P.; PIETRO, M. A. Metabolite profiling of macroalgae: Biosynthesis and beneficial biological properties of active compounds. **Marine Drugs**, Basel, v. 22, n. 10, art. 478, 2024. DOI: [10.3390/md22100478](https://doi.org/10.3390/md22100478).

CASSAR, S.; ADATTO, I.; FREEMAN, J. L.; GAMSE, J. T.; ITURRIA, I.; LAWRENCE, C.; MURIANA, A.; PETERSON, R. T.; VAN CRUCHTEN, S.; ZON, L. I. Use of Zebrafish in Drug Discovery Toxicology. **Chemical Research in Toxicology**, Washington, DC, v. 33, n. 1, p. 95-118, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.chemrestox.9b00335>.

CHAIKLAHAN, R.; CHIRASUWAN, N.; SRINORASING, T.; SUAISOM, C. An efficient method for producing polysaccharides with high antioxidant activity from *Caulerpa lentillifera* and evaluating their stability. **Algal Research**, Amsterdam, v. 90, art. 104153, 2025. DOI: [10.1016/j.algal.2025.104153](https://doi.org/10.1016/j.algal.2025.104153).

CHENG, C.; CHEN, S.; SU, J.; ZHU, M.; ZHOU, M.; CHEN, T.; HAN, Y. Recent advances in carrageenan-based films for food packaging applications. **Frontiers in Nutrition**, Lausanne, v. 9, art. 1004588, 2022. DOI: [10.3389/fnut.2022.1004588](https://doi.org/10.3389/fnut.2022.1004588).

CHUKWUMA, O.; TAN, S. P.; HUGHES, H.; McLOUGHLIN, P. Evaluating the phytotoxicities of two Irish red seaweeds against common weed species. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 36, n. 2, p. 727-743, 2024. DOI: 10.1007/s10811-023-02992-3.

CIAN, R. E.; SALGADO, P. R.; DRAGO, S. R.; GONZÁLEZ, R. J.; MAURI, A. N. Development of naturally activated edible films with antioxidant properties prepared from red seaweed *Porphyra columbina* biopolymers. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 146, p. 6-14, 2014.

COLLINS, Carol Hollingworth; BRAGA, Gilberto Leite; BONATO, Pierina Sueli (org.). **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora da Unicamp, 2006. ISBN 978-85-268-0704-4.

DECKER, E. A.; WELCH B. Role of ferritin as a lipid oxidation catalyst in muscle food. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, DC, v. 38, n. 3, p. 674-677, 1990.

DEGANI, A. L. G.; CASS, Q. B.; VIEIRA, P. C. Cromatografia: um breve ensaio. **Química Nova na Escola**, São Paulo, n. 7, p. 21-25, maio 1998.

DHONGADE, H. J.; CHANDEWAR, A. V. An *in-vitro* investigation of the antioxidant activity of *Phyllanthus amarus*. **International Journal of Biomedical and Advance Research**, Ahmedabad, v. 4, n. 6, p. 435-439, 2013.

DÍAZ-MONTES, E.; CASTRO-MUÑOZ, R. Edible films and coatings as food-quality preservers: An overview. **Foods**, Basel, v. 10, n. 2, art. 249, 2021.

DIMOVA, D.; DOBREVA, D.; PANAYOTOVA, V.; MAKEDONSKI, L. DPPH antiradical activity and total phenolic content of methanol and ethanol extracts from macroalga (*Ulva rigida*) and microalgae (*Chlorella*). **Scripta Scientifica Pharmaceutica**, Varna, v. 7, n. 2, p. 37-41, 2021. DOI: 10.14748/ssp.v7i2.7369.

DUAN, X. J.; ZHANG, W. W.; LI, X. L.; WANG, B. G. Evaluation of antioxidant property of extract and fractions obtained from a red alga, *Polysiphonia urceolata*. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 95, n. 1, p. 37-43, 2006.

ELLWANGER, J. H.; NOBRE, C. A.; CHIES, J. A. B. Brazilian biodiversity as a source of power and sustainable development: A neglected opportunity. **Sustainability**, Basel, v. 15, n. 1, art. 482, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/su15010482>.

EL-SHEEKH, M. M.; EL-SHENODY, R. A. E. K.; BASES, E. A.; EL SHAFAY, S. M. Comparative assessment of antioxidant activity and biochemical composition of four seaweeds, Rocky Bay of Abu Qir in Alexandria, Egypt. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 41, suppl. 1, p. 29-40, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.06120>.

ENGEL, Randall G.; KRIZ, George S.; LAMPMAN, Gary M.; PAVIA, Donald L. Cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada. In: ENGEL, Randall G.; KRIZ, George S.; LAMPMAN, Gary M.; PAVIA, Donald L. **Química orgânica experimental: técnicas em escala pequena**. Tradução de Solange Aparecida Visconti. 3. ed. São Paulo: Cengage Learning, 2012. p. 229-263.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION OF THE UNITED NATIONS (FAO).

FishStat: Global aquaculture production 1950–2022. Rome: FAO, 2024. Disponível em: <https://openknowledge.fao.org/server/api/core/bitstreams/1273bc36-339b-43d2-8163-af4d805f2ad2/content/sofia/2024/world-fisheries-aquaculture-production.html>. Acesso em: 7 maio 2026.

FENG, L.; SHI, Y.; ZOU, J.; ZHANG, X.; ZHAI, B.; GUO, D.; SUN, J.; WANG, M.; LUAN, F. Recent advances in *Platycodon grandiflorum* polysaccharides: Preparation techniques, structural features, and bioactivities. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 259, pt. 1, art. 129047, 2024. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2023.129047.

FERDOUS, U. T.; NURDIN, A.; ISMAIL, S.; SHAARI, K.; NORHANA, B. Y. Z. A comparative study on antioxidant properties, total phenolics, total flavonoid contents, and cytotoxic properties of marine green microalgae and diatoms. **Journal of Genetic Engineering and Biotechnology**, Amsterdam, v. 23, n. 1, art. 100456, 2025. DOI: 10.1016/j.jgeb.2024.100456.

FERNANDES, P. A. R.; COIMBRA, M. A. The antioxidant activity of polysaccharides: A structure-function relationship overview. **Carbohydrate Polymers**, Amsterdam, v. 314, art. 120965, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2023.120965>.

FERREIRA, M.; TEIXEIRA, C.; ABREU, H.; SILVA, J.; COSTAS, B.; KIRON, V.; VALENTE, L. M. P. Nutritional value, antimicrobial and antioxidant activities of micro- and macroalgae, single or blended, unravel their potential use for aquafeeds. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 33, p. 3507-3518, 2021. DOI: 10.1007/s10811-021-02549-2.

FIGUEIRA, Tiphane Andrade; MARTINS, Nuno Tavares. Macroalgas e suas aplicações biotecnológicas. In: DELLA, Aline Possamai (org.). **VIII Botânica no Inverno 2018**. São Paulo: Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, Departamento de Botânica, 2018. p. 51- 67. ISBN 978-85-85658-77-9.

FIORONI, N.; MOUQUET-RIVIER, C.; MEUDEC, E.; CHEYNIER, V.; BOUDARD, F.; HEMERY, Y.; LAURENT-BABOT, C. Antioxidant capacity of polar and non-polar extracts of four African green leafy vegetables and correlation with polyphenol and carotenoid contents. **Antioxidants**, Basel, v. 12, n. 9, art. 1726, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox12091726>.

FRANCESCHINI, Iara Maria. **Descobrimos as algas marinhas: sua biologia, importância e diversidade**. Porto Alegre: EDIPUCRS, 2025. E-book. Disponível em: <http://editora.pucrs.br>. Acesso em: 16 abr. 2026.

FRAZZINI, S.; SCAGLIA, E.; DELL'ANNO, M.; REGGI, S.; PANSERI, S.; GIROMINI, C.; LANZONI, D.; SGOIFO ROSSI, C. A.; ROSSI, L. Antioxidant and antimicrobial activity of algal and cyanobacterial extracts: An *in vitro* study. **Antioxidants**, Basel, v. 11, n. 5, art. 992, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox11050992>.

GAO, Y.; LIN, G. Algal diversity and their importance in ecological processes in typical mangrove ecosystems. **Biodiversity Science**, Beijing, v. 26, n. 11, p. 1223-1235, 2018. DOI: <https://doi.org/10.17520/biods.2018080>.

GAZAL, L. E. S.; BRITO, K. C. T.; KOBAYASHI, R. K. T.; NAKAZATO, G.; CAVALLI, L. S.; OTUTUMI, L. K.; BRITO, B. G. Antimicrobials and resistant bacteria in global fish farming and the possible risk for public health. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v. 87, e0362019, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/1808-1657000362019>.

GETACHEW, A. T.; JACOBSEN, C.; HOLDT, S. L. Emerging technologies for the extraction of marine phenolics: opportunities and challenges. **Marine Drugs**, Basel, v. 18, n. 8, art. 389, 2020.

GHALIAOUI, N.; HAZZIT, M.; MOKRANE, H. Seaweeds as a potential source of bioactive compounds. **Research in Biotechnology and Environmental Science**, Alger, v. 3, n. 1, p. 1-8, 2024. DOI: <https://doi.org/10.58803/rbes.v3i1.19>.

GENERALIĆ MEKINIĆ, I.; SKROZA, D.; ŠIMAT, V.; HAMED, I.; ČAGALJ, M.; POPOVIĆ PERKOVIĆ, Z. Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: Extraction, identification, and quantification. **Biomolecules**, Basel, v. 9, n. 6, art. 244, 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/biom9060244>.

GONGI, W.; PINCHETTI, J. L. G.; CORDEIRO, N.; SADOK, S.; OUADA, H. B. Characterization of biodegradable films based on extracellular polymeric substances extracted from the thermophilic microalga *Graesiella* sp. **Algal Research**, Amsterdam, v. 61, art. 102565, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2021.102565>.

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Edible wheat gluten films: Influence of the main process variables on film properties using response surface methodology. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 57, n. 1, p. 190-195, 2006. DOI:10.1111/j.1365-2621.1992.tb05453.x

GONZÁLEZ-PENAGOS, C. E.; ZAMORA-BRISEÑO, J. A.; AMÉNDOLA-PIMENTA, M.; CRUZ-QUINTANA, Y.; SANTANA-PIÑEROS, A. M.; TORRES-GARCÍA, J. R.; CAÑIZARES-MARTÍNEZ, M. A.; PÉREZ-VEJA, J. A.; PEÑUELA-MENDOZA, A. C.; RODRÍGUEZ-CANUL, R. *Sargassum* spp. ethanolic extract elicits toxic responses and malformations in zebrafish (*Danio rerio*) embryos. **Environmental Toxicology and Chemistry**, Hoboken, v. 43, n. 5, p. 1075-1089, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1002/etc.5840>.

GUEHAZ, K.; BOUAL, Z.; DALY, G.; CIANI, M.; BELKHALFA, H.; ADESSI, A. Exploring growth phase effect on polysaccharide composition and metal binding properties in *Parachlorella hussii*. **Polysaccharides**, Basel, v. 6, n. 3, art. 58, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/polysaccharides6030058>.

GUILLARD, V.; BROYARD, B.; BONAZZI, C.; GUILBERT, S.; GONTARD, N. Preventing moisture transfer in a composite food using edible films: experimental and mathematical study. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 68, n. 7, p. 2267-2277, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05764.x>.

GUTIÉRREZ-DEL-RÍO, I.; LÓPEZ-IBÁÑEZ, S.; MAGADÁN-CORPAS, P.; FERNÁNDEZ-CALLEJA, L.; PÉREZ-VALERO, A.; TUÑÓN-GRANDA, M.; MIGUÉLEZ, E. M.; VILLAR, C. J.; LOMBÓ, F. Terpenoids and polyphenols as natural antioxidant agents in food preservation. **Antioxidants**, Basel, v. 10, n. 8, art. 1264, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10081264>.

HÄDER, D. P. Phycocolloids from macroalgae. In: SINHA, R. P.; HÄDER, D. P. (org.). **Natural Bioactive Compounds**. London: Academic Press, 2021. p. 187-201. DOI: 10.1016/B978-0-12-820655-3.00009-4.

HALE, R. C.; SEELEY, M. E.; LA GUARDIA, M. J.; MAI, L.; ZENG, E. Y. A global perspective on microplastics. **Journal of Geophysical Research: Oceans**, Washington, DC, v. 125, n. 1, e2018JC014719, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1029/2018JC014719>.

HAMRUN, N.; NABILAH, T.; HASYIM, R.; RUSLIN, M.; DAMMAR, I.; ARIANTO, M. A. A. Toxicity test of bioactive red alga extract *Eucheuma spinosum* on shrimp *Artemia salina* leach. **Systematic Reviews in Pharmacy**, Bhopal, v. 11, n. 5, p. 672-676, 2020. DOI: <https://doi.org/10.31838/srp.2020.5.94>.

HARBORNE, Jeffrey B. **Phytochemical methods: A guide to modern techniques of plant analysis**. 3. ed. London: Chapman & Hall, 1998.

HARIKRISHNAN, M.; SAIPRIYA, P. P.; PRAKASH, P.; JAYABASKARAN, C.; BHAT, S. G. Multi-functional bioactive secondary metabolites derived from endophytic fungi of marine algal origin. **Current Research in Microbial Sciences**, Amsterdam, v. 2, art. 100037, 2021. DOI: 10.1016/j.crmicr.2021.100037.

HIDAYATI, J. R.; KARLINA, I.; NINGSIH, D. P. N; WIJAYA, A.; BAHRY, M. S. Bioactive compounds and antioxidant activity of tropical red algae *Gracilaria* sp. from Bintan Island, Indonesia. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, Bristol: IOP Publishing, v. 1148, art. 012004, 2023. DOI: 10.1088/1755-1315/1148/1/012004.

HILL, A. J.; TERAOKA, H.; HEIDEMAN, W.; PETERSON, R. E. Zebrafish as a model vertebrate for investigating chemical toxicity. **Toxicological Sciences**, Oxford, v. 86, n. 1, p. 6-19, 2005. DOI: 10.1093/toxsci/kfi110.

IFTIKHAR, F.; TABASSUM, A.; ALIYA, R. Comparison of biodegradable films derived from carrageenan extracted from red seaweeds along the Karachi coastline. **Pakistan Journal of Marine Sciences**, Karachi, v. 33, n. 1, p. 1-8, 2024.

INÁCIO, Leonardo Daniel Garcia. **Biomassa de algas vermelhas: caracterização química e bioatividades**. 2023. Dissertação (Mestrado em Biotecnologia dos Recursos Marinhos) – Instituto Politécnico de Leiria, Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Leiria, Portugal, 2023.

JAFARLOU, M. B.; PILEHVAR, B.; MODARRESI, M.; MOHAMMADI, M. Performance of algae extracts priming for enhancing seed germination indices and salt tolerance in *Calotropis procera* (Aiton) W. T. **Iranian Journal of Science and Technology, Transactions A: Science**, Cham, v. 45, n. 2, p. 493-502, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40995-021-01071-x>.

JAHANGIRI, F.; MOHANTY, A. K.; MISRA, M. Sustainable biodegradable coatings for food packaging: Challenges and opportunities. **Green Chemistry Cambridge**, v. 26, p. 4934-4974, 2024. DOI: 10.1039/D3GC02647G.

JAYATILAKE, P. L.; MUNASINGHE, H. Antimicrobial activity of cultivable endophytic and rhizosphere fungi associated with “mile-a-minute” *Mikania cordata* (Asteraceae). **BioMed Research International**, London, v. 2020, art. 5292571, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/5292571>.

JESUS, M.; ROMANÍ, A.; SANTOS, J.; PIRES, P.; DEL-RÍO, P.; MATA, F.; FERNANDES, É.; RAMOS, C.; VAZ-VELHO, M. High-value brown algae extracts using deep eutectic solvents and microwave-assisted extraction. **Foods**, Basel, v. 14, n. 13, art. 2280, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods14132280>.

JESUS, P. B. *Hypnea*. In: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Flora e Funga do Brasil**. Rio de Janeiro: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, [2026]. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB100399>. Acesso em: 30 abr. 2026.

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, p. 1123-1132, 2012. DOI: 10.1007/s10811-011-9742-8.

KARNWAL, A.; KUMAR, G.; SINGH, R.; SELVARAJ, M.; MALIK, T.; AL TAWAHA, A. R. M. Natural biopolymers in edible coatings: Applications in food preservation. **Food Chemistry: X**, Amsterdam, v. 25, art. 102171, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102171>.

KATO, K.; NINOMIYA, M.; TANAKA, K.; KOKETSU, M. Effects of functional groups and sugar composition of quercetin derivatives on their radical scavenging properties. **Journal of Natural Products**, Washington, DC, v. 79, n. 7, p. 1808-1814, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00274>

KEJÍK, Z.; KAPLÁNEK, R.; MASAŘÍK, M.; BABULA, P.; MATKOWSKI, A.; FILIPENSKÝ, P.; VESELÁ, K.; GBUREK, J.; SÝKORA, D.; MARTÁSEK, P.; JAKUBEK, M. Iron complexes of flavonoids-antioxidant capacity and beyond. **International Journal of Molecular Sciences**, Basel, v. 22, n. 2, 646, 20 p., 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms22020646>.

KHAN, N.; SUDHAKAR, K.; MAMAT, R. Macroalgae farming for sustainable future: navigating opportunities and driving innovation. **Heliyon**, London, v. 10, n. 7, e28208, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2024.e28208>.

KHALID, A.; PYTYNIA, M.; CAZARES, S.; BATANGAN, D. K.; REPOLE, C.; HAWKEY, A. B. Behavioral pharmacology and toxicology of dimethyl sulfoxide in artemia nauplii: vehicle or positive control? **Toxicology Mechanisms and Methods**, Abingdon, v. 35, n. 9, p. 1271-1288, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1080/15376516.2025.2527160>.

KHATUA, S.; ROY, T.; ACHARYA, K. Antioxidant and free radical scavenging capacity of phenolic extract from *Russula laurocerasi*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, Bengaluru, v. 6, n. 4, p. 156-160, 2013.

KIRAN, T. R.; OTLU, O.; KARABULUT, A. B. Oxidative stress and antioxidants in health and disease. **Journal of Laboratory Medicine**, Berlin, v. 47, n. 1, p. 1-11, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1515/labmed-2022-0108>.

KOHATSU, M. Y.; JESUS, T. A.; COELHO, L. H. G.; PEIXOTO, D. C.; POCCIA, G. T.; HUNTER, C. Fitotoxicidade de água superficial da Região Metropolitana de São Paulo utilizando bioensaio com *Sinapis alba*. **Acta Brasiliensis**, Patos, v. 2, n. 2, p. 58-62, 2018. DOI: <http://dx.doi.org/10.22571/2526-433885>

KUMAR, L.; RAMAKANTH, D.; AKHILA, K.; GAIKWAD, K. K. Edible films and coatings for food packaging applications: a review. **Environmental Chemistry Letters**, Heidelberg, v. 20, p. 875-900, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10311-021-01339-z>.

LEANDRO, A.; PEREIRA, L.; GONÇALVES, A. M. M. Diverse applications of marine macroalgae. **Marine Drugs**, Basel, v. 18, n. 1, art. 17, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/md18010017>.

LEE, JE-HYUK; HWANG, SU-JEONG; KIM, HA-RIN. Antioxidant profiles of Korean brown algae revealed by multivariate analysis. **Algae**, Seoul, v. 40, n. 3, p. 285-294, 2025. DOI: <https://doi.org/10.4490/algae.2025.40.8.14>.

LI, Y.; SUN, S.; PU, X.; YANG, Y.; ZHU, F.; ZHANG, S.; XU, N. Evaluation of antimicrobial activities of seaweed resources from Zhejiang Coast, China. **Sustainability**, Basel, v. 10, n. 7, art. 2158, 2018. DOI: <https://doi.org/10.3390/su10072158>.

LOMARTIRE, S.; GONÇALVES, A. M. M. An overview of potential seaweed-derived bioactive compounds for pharmaceutical applications. **Marine Drugs**, Basel, v. 20, n. 2, art. 141, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/md20020141>.

MACHADO, F. L. S.; KAISER, C. R.; COSTA, S. S.; GESTINARI, L. M.; SOARES, A. R. Atividade biológica de metabólitos secundários de algas marinhas do gênero *Laurencia*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 20, n. 3, p. 441-452, 2010.

MANGGAU, M.; KASIM, S.; FITRI, N.; AULIA, N. S.; AGUSTIANI, A. N.; RAIHAN, M.; NURDIN, W. B. Antioxidant, anti-inflammatory and anticoagulant activities of sulfate polysaccharide isolate from brown alga *Sargassum polycystum*. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. Bristol: IOP Publishing, v. 967, art. 012029, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/967/1/012029>

MATOS, Francisco José de Abreu. **Introdução à fitoquímica experimental**. 3. ed. Fortaleza: Edições UFC, 2009.

McHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of related thickness effects. **Journal of Food Science**, Chicago, v. 58, n. 4, p. 899-903, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb09387.x>.

MEYER, B. N.; FERRIGNI, N. R.; PUTNAM, J. E.; JACOBSEN, L. B.; NICHOLS, D. E.; MCLAUGHLIN, J. L. Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. **Planta Medica**, Stuttgart, v. 45, n. 5, p. 31-34, 1982. DOI: <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>.

- MICHALAK, I.; TIWARI, R.; DHAWAN, M.; ALAGAWANY, M.; FARAG, M. R.; SHARUN, K.; EMRAN, T. B.; DHAMA, K. Antioxidant effects of seaweeds and their active compounds on animal health and production: a review. **The Veterinary Quarterly**, Abingdon, v. 42, n. 1, p. 48-67, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2061744>.
- MIGUEL, M. G.; NUNES, S.; DANDLEN, S. A.; CAVACO, A. M.; ANTUNES, M. D. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 34, n. 1, p. 16-23, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014000100002>.
- MOUSAVIAN, Z.; SAFAVI, M.; AZIZMOHSENI, F.; HADIZADEH, M.; MIRDAMADI, S. Characterization, antioxidant and anticoagulant properties of exopolysaccharide from marine microalgae. **AMB Express**, Heidelberg, v. 12, art. 27, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13568-022-01365-2>.
- NAUER, F.; CASSANO, V.; OLIVEIRA, M. C. Description of *Hypnea pseudomusciformis* sp. nov., a new species based on molecular and morphological analyses, in the context of the *H. musciformis* complex (Gigartinales, Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 27, p. 2405-2417, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-014-0488-y>.
- NURSID, M.; KHATULISTIANI, T. S.; NOVIENDRI, D.; HAPSARI, F.; HARDIYATI, T. Total phenolic content, antioxidant activity and tyrosinase inhibitor from marine red algae extract collected from Kupang, East Nusa Tenggara. In: **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**. Bristol: IOP Publishing, v. 493, art. 012013, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1088/1755-1315/493/1/012013>.
- NWACHUKWU, I. D.; SARTESHNIZI, R. A.; UDENIGWE, C. C.; ALUKO, R. E. A concise review of current *in vitro* chemical and cell-based antioxidant assay methods. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 16, art. 4865, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules26164865>.
- OLIVEIRA, L. B.; OLIVEIRA, L. B. Effects of water salinization on tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, Bhopal, v. 10, n. 2, p. 15-21, 2023. DOI: <https://doi.org/10.22161/ijaers.102.2>.
- O'SULLIVAN, A. M.; O'CALLAGHAN, Y.; O'GRADY, M. N.; QUEGUINEUR, B. *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**, Amsterdam, v. 126, n. 3, p. 1064-1070, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2010.11.127>.
- ØVERLAND, M.; MYDLAND, L. T.; SKREDE, A. Marine macroalgae as sources of protein and bioactive compounds in feed for monogastric animals. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Chichester, v. 99, n. 1, p. 13-24, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1002/jsfa.9143>.

PALANI, K.; BALASUBRAMANIAN, B.; MALAISAMY, A.; MALUVENTHEN, V.; ARUMUGAM, V. A.; AL-DHABI, N. A.; ARASU, M. V.; PUSHPARAJ, K.; LIU, W. C.; ARUMUGAM, M. Sulfated polysaccharides derived from *Hypnea valentiae* and their potential of antioxidant, antimicrobial, and anticoagulant activities with *in silico* docking. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, Hoboken, v. 2022, art. 3715806, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1155/2022/3715806>.

PATEL, Seema. Seaweed-derived sulfated polysaccharides: scopes and challenges in implication in health care. *In: Bioactive seaweeds for food applications*. London: Academic Press, p. 71-93, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2016-0-04566-7>.

PEKAL, A.; PYRZYNSKA, K. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. **Food Analytical Methods**, New York, v. 7, n. 9, p. 1776–1782, 2014. DOI: <https://doi.org/10.1007/s12161-014-9814-x>.

PEREIRA, J. C. S.; PAIVA, K. M.; MELO, N. J. A.; BARBOSA, T. N.; MORAIS, P. L. D.; VAEZ, J. R.; TORRES, S. B.; SOUSA, M. A. N. Allelopathy, toxicity and phytochemical profile of aqueous extracts from *Aspidosperma pyrifolium* and *Combretum leprosum*. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 4, e55610414568, 2021. DOI: <https://doi.org/10.33448/rsd-v10i4.14568>.

PEREIRA, Leonel. Macroalgas. **Encyclopedia**, Basel, v. 1, n. 1, p. 177-188, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/encyclopedia1010017>.

PEREIRA, S. A.; KIMPARA, J. M.; VALENTI, W. C. A simple substrate to produce the tropical epiphytic algae *Hypnea pseudomusciformis*. **Aquacultural Engineering**, Amsterdam, v. 89, art. 102066, 2020. DOI: <http://doi.org/10.1016/j.aquaeng.2020.102066>.

PEREIRA, S. A.; KIMPARA, J. M.; VALENTI, W. C. Sustainability of the seaweed *Hypnea pseudomusciformis* farming in the tropical Southwestern Atlantic. **Ecological Indicators**, Amsterdam, v. 121, art. 107101, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecolind.2020.107101>.

PREMARATHNA, A. D.; AHMED, T. A. E.; KULSHRESHTHA, G.; HUMAYUN, S.; DARKO, C. N. S.; RJABOV, V.; HAMMAMI, R.; CRITCHLEY, A. T.; TUVIKENE, R.; HINCKE, M. T. Polysaccharides from red seaweeds: Effect of extraction methods on physicochemical characteristics and antioxidant activities. **Food Hydrocolloids**, Amsterdam, v. 147, art. 109307, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.109307>.

PUGLISI, I.; BARONE, V.; FRAGALÀ, F.; STEVANATO, P.; BAGLIERI, A.; VITALE, A. Effect of microalgal extracts from *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus quadricauda* on germination of *Beta vulgaris* seeds. **Plants**, Basel, v. 9, n. 6, art. 675, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants9060675>.

RAJAMANI, R. P.; KHORA, S. S. Studies on *in vitro* antioxidant potentials and characterization of κ-carrageenan based biodegradable film from red algae, *Hypnea valentiae* (Turner) Montagne, 1841. **Journal of Food Science and Technology**, New Delhi, v. 62, n. 1, p. 2056-2076, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1007/s13197-024-06147-1>.

RIZWAN, S.; SALEEM, M.; HASSAN, H. U.; RAZA, M. A.; KANWAL, R.; KABIR, M.; GHAFAR, R. A.; FADLADDIN, Y. A. J.; RAFIQ, N.; MATIN, A.; KHAN, A.; GULAHMADOV, S. Q.; ARAI, T. Biomedical properties, characterization of seaweeds species and antimicrobial activity. **Brazilian Journal of Biology**, São Carlos, v. 84, e280796, p. 1–9, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1590/1519-6984.280796>.

RUFINO, M. S. M.; ALVES, R. E.; BRITO, E. S.; MORAIS, S. M.; SAMPAIO, C. G.; JIMÉNEZ-PÉREZ, J.; SAURA-CALIXTO, F. **Metodologia científica**: determinação da atividade antioxidante total em frutas pela captura do radical livre ABTS⁺. Fortaleza: Embrapa Agroindústria Tropical, 2007. 4 p. (Comunicado Técnico, 128).

RUIZ-MEDINA, M. A.; SANSÓN, M.; GONZÁLEZ-RODRÍGUEZ, Á. M. Changes in antioxidant activity of fresh marine macroalgae from the Canary Islands during air-drying process. **Algal Research**, Amsterdam, v. 66, art. 102798, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102798>.

SABER, H.; RUSHDI, M. I.; SABER, A. A.; ABDELMOHSEN, U. R.; PEREIRA, L. Evaluation of the genus *Hypnea* phytochemical and pharmacological potential. **Algal Research**, Amsterdam, v. 81, n. 1, art. 103586, p. 1–11, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2024.103586>.

SADIQ, I. Z. Free radicals and oxidative stress: signaling mechanisms, redox basis for human diseases, and cell cycle regulation. **Current Molecular Medicine**, Hilversum, v. 23, n. 1, p. 13-35, 2023. DOI: <https://doi.org/10.2174/1566524022666211222161637>.

ŞAHİN, Oya Irmak. Seaweed polysaccharides: Structure, extraction and applications. In: THARAKAN, Anil Kumar Anal; MATHEW, Aji P. (org.). **Polysaccharides**: properties and applications. Hoboken: Wiley, 2021. p. 61-74. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119711414.ch4>.

SAIKI, P.; MELLO-ANDRADE, F.; GOMES, T.; ROCHA, T. L. Sediment toxicity assessment using zebrafish (*Danio rerio*) as a model system: Historical review, research gaps and trends. **Science of the Total Environment**, Amsterdam, v. 793, art. 148633, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148633>.

SANTOS, L. M. L.; GONÇALVES, A. H. *In vitro* phytotoxicity of *Mikania laevigata* Schultz Bip. ex Baker extracts on *Lactuca sativa* L. and *Bidens pilosa* L. **Biotemas**, Florianópolis, v. 33, n. 2, p. 7, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5007/2175-7925.2020.e68109>.

SERNITA; SAHIDIN, I.; SOEKAMTO, N. H. Identification of secondary metabolites, antioxidant potential, total phenolic and flavonoids of three red algae from Hari Island waters, Southeast Sulawesi, Indonesia. In: 2nd International Conference on Sciences and Mathematics (2ND ICSM). **AIP Conference Proceedings**, Melville, v. 2704, art. 020013, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1063/5.0138929>.

SHANMUGHAPRIYA, S.; MANILAL, A.; SUJITH, S.; SELVIN, J.; SEGHAL KIRAN, G.; NATARAJASEENIVASAN, K. Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. **Annals of Microbiology**, Berlin, v. 58, n. 3, p. 535-541, 2008.

SILVA, L. M.; SILVA, F. J. Bioassay with *Artemia salina* L.: A gateway to understanding the toxicity of medicinal plant extracts. In: **Botânica, Ecologia e Sustentabilidade: uma perspectiva multidisciplinar**. Guarujá: Científica Digital, v. 1, p. 50-69, 2023. DOI: <https://doi.org/10.37885/230814206>.

SINGLETON, V. L.; ROSSI JR, J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965.

SINHA, S. Sustainable marine macroalgal polysaccharide films and coatings: toward active and intelligent food packaging system. **Journal of Applied Food Technology**, Jakarta, v. 12, n. 2, p. 123-137, 2025.

SOUSA, Karolina Costa de. **Caracterização química preliminar e atividades biológicas de extratos e frações da macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux) Womersley Ex E. C. Oliveira (Ochrophyta: Phaeophyceae)**. 2023. 169 f. Tese (Doutorado em Engenharia de Pesca) - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2023.

SOUZA, A. C.; DITCHFIELD, C.; TADINI, C. C. *Biodegradable films based on biopolymers for food industries*. In: PASSOS, M. L.; RIBEIRO, C. P. (org.). **Innovations in food engineering: new techniques and products**. Boca Raton: CRC Press, 2010. p. 747-772.

SOUZA, Luiz Felipe Marinho de. **Contribuição ao estudo químico e farmacológico de alcaloides obtidos da flora Amazônica**. 2014. 16 f. Relatório (Bolsa PIBIC) – Curso de Química, Instituto de Ciências Exatas, Universidade Federal do Amazonas, Manaus, 2014.

SOTLER, R.; POLJŠAK, B.; DAHMANE, R.; JUKIĆ, T.; JUKIĆ, D. P.; ROTIM, C.; TREBŠE, P.; STARC, A. Prooxidant activities of antioxidants and their impact on health. **Acta Clinica Croatica**, Zagreb, v. 58, n. 4, p. 726-736, 2019. DOI: <https://doi.org/10.20471/acc.2019.58.04.20>.

SPIEGEL, M.; KAPUSTA, K.; KOŁODZIEJCZYK, W.; SALONI, J.; ŻBIKOWSKA, B.; HILL, G. A.; SROKA, Z. Antioxidant activity of selected phenolic acids–ferric reducing antioxidant power assay and QSAR analysis of the structural features. **Molecules**, Basel, v. 25, n. 13, art. 3088, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules25133088>.

SUN, W.; SHAHRAJABIAN, M. H. Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants: natural health products for human health. **Molecules**, Basel, v. 28, n. 4, art. 1845, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>.

TECHAOEI, S.; JIRAYUTHCHAROENKUL, C.; JARMKOM, K.; DUMRONGPHUTTIDECHA, T.; KHOBJA, W. Chemical evaluation and antibacterial activity of novel bioactive compounds from endophytic fungi in *Nelumbo nucifera*. **Saudi Journal of Biological Sciences**, Riyadh, v. 27, n. 11, p. 2883-2889, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2020.08.037>.

TUBRIL, M. M. A.; HAMIM, F. A.; RAHMAN, M. M.; KHATUN, M. M. Phytochemical screening, cytotoxic activity, antibacterial assay and proximate analysis of *Ulva intestinalis* algae from the Bay of Bengal, Bangladesh. **Bioresearch Communications**, Dhaka, v. 10, n. 1, p. 1424-1431, 2024. DOI: <https://doi.org/10.3329/brc.v10i1.70677>.

TYUFTIN, A. A.; PECORINI, F.; ZANARDI, E.; KERRY, J. P. Parameters affecting the water vapour permeability of gelatin films as evaluated by the infrared detecting method ASTM F1249. **Sustainability**, Basel, v. 14, n. 15, art. 9018, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/su14159018>.

URREA-VICTORIA, V.; FURLAN, C. M.; SANTOS, D.; CHOW, F. Antioxidant potential of two Brazilian seaweeds in response to temperature: *Pyropia spiralis* (red alga) and *Sargassum stenophyllum* (brown alga). **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 549, art. 151706, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2022.151706>.

VARGAS, R. A.; SARMIENTO, K.; VÁSQUEZ, I. C. Zebrafish (*Danio rerio*): A potential model for toxinological studies. **Zebrafish**, New Rochelle, v. 12, n. 5, p. 320-326, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1089/zeb.2015.1102>.

VÁSCONEZ, M. B.; FLORES, S. K.; CAMPOS, C. A.; ALVARADO, J.; GERSCHENSON, L. N. Antimicrobial activity and physical properties of chitosan-tapioca starch based edible films and coatings. **Food Research International**, Amsterdam, v. 42, n. 7, p. 762-769, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2009.02.026>.

VELÁSQUEZ-HERNÁNDEZ, M. J.; LINARES-MOREAU, M.; ASTRIA, E.; CARRARO, F.; ALYAMI, M.; KHASHAB, N. M.; SUMBY, C. J.; DOONAN, C. J.; FALCARO, P. Towards applications of bioentities@MOFs in biomedicine. **Coordination Chemistry Reviews**, Amsterdam, v. 429, art. 213651, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213651>.

VERRIOPOULOS, G.; MORAITOU-APOSTOLOPOULOU, M.; MILLIOU, E. Combined toxicity of four toxicants (Cu, Cr, oil, oil dispersant) to *Artemia salina*. **Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology**, New York, v. 38, n. 3, p. 483-490, 1987. DOI: <https://doi.org/10.1007/BF01606618>.

VIDOTTI, E. C.; ROLLEMBERG, M. C. E. Algas: Da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. **Química Nova**, São Paulo, v. 27, n. 1, p. 139-145, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422004000100024>.

VIEIRA, C. B.; SOUSA, J. R.; VALE, D. A. do; GUIMARÃES, C. P.; SOUSA, K. C. de; MATTOS, A. L. A.; SILVA, A. L. C.; SÁ MOREIRA SOUZA FILHO, M. de; SOUZA, B. W. S. Edible films based on sulfated polysaccharides from the seaweed *Gracilaria birdiae*: physicochemical, optical and mechanical properties. **Carbohydrate Research**, Amsterdam, v. 552, art. 109473, 2025. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.carres.2025.109473>.

VOGEL, Arthur Israel. **Química orgânica: análise orgânica qualitativa**. 3. ed. Rio de Janeiro: Ao Livro Técnico, 1981. v. 3.

WANG, T.; JÓNSDÓTTIR, R.; ÓLAFSDÓTTIR, G. Total phenolic compounds, radical scavenging and metal chelation of extracts from Icelandic seaweeds. **Food Chemistry**, Amsterdam, v. 116, n. 1, p. 240-248, 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.041>.

WASEEM, M.; KHAN, M. U.; MAJEED, Y.; NTSEFONG, G. N.; KIRICHENKO, I.; KLOPOVA, A.; TRUSHOV, P.; LODYGIN, A. Seaweed-based films for sustainable food packaging: properties, incorporation of essential oils, applications, and future directions. **Potravinarstvo Slovak Journal of Food Sciences, Nitra**, v. 17, n. 1, p. 899–917, 2023. DOI: <https://doi.org/10.5219/1908>

WESTERFIELD, Monte. **The zebrafish book**. a guide for the laboratory use of zebrafish (*Danio rerio*). 4. ed. Eugene: University of Oregon Press, 2000. Disponível em: https://zfin.org/zf_info/zfbook/zfbk.html Acesso em: 7 maio 2026.

WIDYASTUTI, A. I. N.; WULANDARI; MASDUQI, A. F. Antioxidant activity test of ethanol extract of red algae (*Kappaphycus alvarezii*) green variety from North coasts of Jepara district with DPPH method. **Journal of Health Management and Pharmacy Exploration**, Semarang, v. 1, n. 1, p. 1-8, 2023. DOI: <https://doi.org/10.52465/johmpe>.

WIDYASWARI, S. G.; METUSALACH, M.; KASMIATI, K.; AMIR, N. Bioactive compounds and DPPH antioxidant activity of underutilized macroalgae (*Sargassum* spp.) from coastal water of Makassar, Indonesia. **Biodiversitas: Journal of Biological Diversity**, Surakarta, v. 25, n. 1, p. 162-168, 2024. DOI: <https://doi.org/10.13057/biodiv/d250118>.

WOJTUNIK-KULESZA, K.; DUBIEL, M.; KLIMEK, K. Metal ion reduction, chelation, and cytotoxicity of selected bicyclic monoterpenes and their binary mixtures. **Metabolites**, Basel, v. 15, n. 3, art. 199, 2025. DOI: <https://doi.org/10.3390/metabo15030199>.

YANG, H. W.; KIM, E. A.; KIM, S. Y.; JEON, Y. J. Acute toxicity assessment in zebrafish *Danio rerio* of arsenic-rich extracts from three species of seaweeds. **Korean Journal of Fisheries and Aquatic Sciences**, Busan, v. 51, n. 1, p. 31-41, 2018. DOI: <https://doi.org/10.5657/KFAS.2018.0031>.

YILDIZ, G.; VATAN, O.; CELIKLER, S.; DERE, S. Determination of the phenolic compounds and antioxidative capacity in red algae *Gracilaria bursa-pastoris*. **International Journal of Food Properties**, Philadelphia, v. 14, n. 3, p. 496-502, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1080/10942910903256949>.

YOUSSEF, E. E.; BESHAY, B. Y.; TONBOL, K.; MAKLED S. O. Biological activities and biosorption potential of red algae (*Corallina officinalis*) to remove toxic malachite green dye. **Scientific Reports**, London, v. 13, n. 1, art. 13836, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-023-40667-8>.

ZHAO, W. C.; CHEN, Y.; HU, N.; LONG, D.; CAO, Y. The uses of zebrafish (*Danio rerio*) as an *in vivo* model for toxicological studies: A review based on bibliometrics. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, Amsterdam, v. 272, art. 116023, 2024. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2024.116023>.