



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
CENTRO DE CIÊNCIAS
DEPARTAMENTO DE BIOQUÍMICA E BIOLOGIA MOLECULAR
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOQUÍMICA

LINDAURO DA COSTA PEREIRA JÚNIOR

**CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL QUÍMICO, PROPRIEDADES
REOLÓGICAS E EFEITO ANTIOXIDANTE DO POLISSACARÍDEO
SULFATADO DA ALGA MARINHA *Acanthophora spicifera***

FORTALEZA

2018

LINDAURO DA COSTA PEREIRA JÚNIOR

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL QUÍMICO, PROPRIEDADES
REOLÓGICAS E EFEITO ANTIOXIDANTE DO POLISSACARÍDEO
SULFATADO DA ALGA MARINHA *Acanthophora spicifera*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, do Centro de Ciências da Universidade Federal Ceará, como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre em Bioquímica. Área de concentração:

Orientadora: Prof.^a Dra. Ana Lúcia Ponte Freitas.

FORTALEZA

2018

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Biblioteca Universitária

Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

P492c Pereira Júnior, Lindauro da Costa.

Caracterização estrutural químico, propriedades reológicas e efeito antioxidante do polissacarídeo sulfatado da alga marinha *Acanthophora spicifera* / Lindauro da Costa Pereira Júnior. – 2018.

75 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, Fortaleza, 2018.

Orientação: Prof. Dr. Ana Lúcia Ponte Freitas.

1. *Acanthophora spicifera*. 2. Polissacarídeo. 3. RMN. 4. Reológicas. 5. Antioxidante. I. Título.

CDD 572

LINDAURO DA COSTA PEREIRA JÚNIOR

CARACTERIZAÇÃO ESTRUTURAL QUÍMICO, PROPRIEDADES
REOLÓGICAS E EFEITO ANTIOXIDANTE DO POLISSACARÍDEO
SULFATADO DA ALGA MARINHA *Acanthophora spicifera*

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Bioquímica, do Centro de Ciências da Universidade Federal Ceará, como requisito parcial para obtenção de Título de Mestre em Bioquímica. Área de concentração.

Aprovada em: 20/07/2018.

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Ana Lúcia Ponte Freitas (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Norma Maria Barros Benevides
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Profa. Dra. Vânia Marilande Ceccatto
Universidade Estadual do Ceará (UECE)

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, por seu amor e pela certeza da sua presença em todos momentos da minha vida.

À minha orientadora, Professora **Ana Lúcia Ponte Freitas**, pela oportunidade, colaboração científica e contribuição para o meu amadurecimento pessoal e profissional. Por toda a amizade e gentileza dedicada a mim durante a realização deste trabalho.

À Professora Dra. **Eliane Soriano Marinho** do Departamento de Oceanografia e Liminologia (DOL) da UFRN pela colaboração e identificação da espécie de alga marinha utilizada neste estudo.

À Professora Dra. **Norma Maria Barros Benevides** e a Professora Dra. **Vânia Marilan de Ceccatto** por aceitarem compor a banca da defesa da dissertação e pelas sugestões e contribuições auferidas.

Aos amigos do Laboratório de Algas Marinhas, **Thais Costa, Luís Costa, Clark Barros, Glauber Lima, João Bosco, Francisco Diêgo, Poliana Cavalcante, Valesca Nobre, Agnes Vitória e Vanessa Ferreira**, pela convivência, pela colaboração e pelos momentos de descontração.

À **Lorena Mara**, analista do Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais/ Embrapa, que me auxiliou durante este trabalho, sempre muito paciente e me ensinando muito.

Ao **Venícios Sombra e Natália da Rocha** do Laboratório Polímeros/ UFC, agradeço de todo o meu coração pelo aprendizado, amizade e parceria.

Ao meu amigo, **Gutierrez Bernardo de Freitas**, que me deu apoio, incentivo nas horas difíceis, sempre fez entender que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente.

Às amigas de outros laboratórios, em especial, **Edna Maria e Valéria Chaves**.

Aos meus pais, **Lindauro da Costa Pereira e Raimunda Adelina Pereira**, por se esforçarem a vida inteira para me proporcionarem amor e uma educação de qualidade.

Aos meus irmãos **Solange Adelina, Sandra Mara e Sérgio Marcos** que torcem por mim.

Aos meus sobrinhos e sobrinhas, **Lucas Pereira, João Guilherme, Kelly Cristina, Rayssa Gabrielle, Taís Gabriele, Laís Gabriele e Ana Clara**, pelo amor e admiração.

À minha tia **Carmem Sousa** (*in memoriam*), por uma vida de dedicação à família, pelo exemplo de amor mesmo após a partida, por ter me passado valores, por me fazer refletir sobre a vida desde muito cedo e a pensar no próximo, pelo incentivo aos meus estudos, pelo exemplo de retidão, justiça, generosidade, gratidão, contribuindo para a formação do meu caráter.

À minha tia **Alice Barros** por saber me ouvir, aconselhar e por participar da minha vida, abençoando minha luta. Meu obrigado e que a amo bastante.

À minha família, em especial as minhas tias **Lindalva do Carmo Pereira e Lucidalva Bacelar Pereira** que foram meu sustento em momentos tão difíceis.

Aos meus amigos que fazem e fizeram parte da Escola Municipal Monsenhor Linhares, **Francisco Teixeira, Wallace de Freitas, Gina Viana, Cícera Angélica e Paulo Jackson**. Aos Professores **Vera Castelo, Wladiane, Raflésia Régia, Cláudia Helena, Lidiane Nunes, Ernando Virgílio, Leo Natanael, Ricardo Groth, Rosália Alves, Chrislianni Veloso, Cristiane Herculano, Henrique Silva, Douglas, Cláudio Régio, Alice Albuquerque, Laércio Santos, Lindete, Débora Melo, Jane Ximenes, Sebastião, Márcia Veras, Angélica Freitas, Márcia Aguiar e Assis**. Ao **Antônio, Dona Graça e Jhon Alef** por acreditarem que sou capaz, pelo apoio que acalentou muitas vezes meu coração angustiado em momentos tão difíceis.

Aos **meus alunos** do Ensino Fundamental II da Escola Municipal Monsenhor Linhares.

Agradeço imensamente **a todos os educadores** que passaram pela minha vida, contribuíram para minha formação e me proporcionaram de alguma forma eu estar escrevendo esse trabalho.

Muito Obrigado!

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca vencer obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis”.

(José de Alencar).

RESUMO

As algas marinhas vermelhas são fontes naturais de vários compostos bioativos, destacando-se os carboidratos. Dentre esses polímeros, os polissacarídeos sulfatados são moléculas complexas que têm despertado grande interesse na área alimentícia, farmacêutica e biotecnológica. Diante disso, o estudo objetivou isolar o polissacarídeo sulfatado da alga marinha vermelha *Acanthophora spicifera* (PS) e verificar suas propriedades reológicas e seu efeito antioxidante. O PS apresentou uma massa molar média de 364 kDa e conteúdo de carboidratos de 75,3%. Além disso, a microanálise mostrou níveis de carbono (23,76%), hidrogênio (4,95%), enxofre (6,48%). A caracterização química do PS foi realizada através de análises por Espectroscopia de Infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR) e Ressonância Magnética Nuclear (RMN), identificando o PS como uma galactana sulfatada do tipo agarana. Experimentos para avaliar as propriedades reológicas de soluções aquosas do polissacarídeo sulfatado em estudo foram realizados a 25 ± 1 °C, utilizando medidas estacionárias e dinâmicas e apontaram como agente espessante. O polissacarídeo sulfatado apresentou considerável atividade antioxidante em todos os testes realizados com resultados de 30,29%, 53,48%, 48,27% no sequestro do radical DPPH, sobre a quelação de íons de ferro e na capacidade antioxidante total, respectivamente. Os resultados sugerem o polissacarídeo sulfatado de *Acanthophora spicifera* com capacidade espessante aplicado na produção alimentícia e potencial antioxidante natural.

Palavras-chave: *Acanthophora spicifera*. Polissacarídeo. RMN. Reológicas. Antioxidante.

ABSTRACT

Red seaweeds are a natural source of various bioactive compounds, especially carbohydrates. Among these polymers, sulphated polysaccharides are complex molecules that have aroused great interest in the food, pharmaceutical and biotechnology area. Therefore, the study aimed to isolate the sulphated polysaccharide from the red sea kelp *Acanthophora spicifera* (PS) and to verify its rheological properties and its antioxidant effect. The PS had a mean molar mass of 364 kDa and a carbohydrate content of 75.3%. In addition, the microanalysis showed levels of carbon (23.76%), hydrogen (4.95%), sulfur (6.48%). The chemical characterization of PS was performed by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR) and Nuclear Magnetic Resonance (NMR), identifying PS as a sulfated galactan of the agarana type. Experiments to evaluate the rheological properties of aqueous solutions of the sulphated polysaccharide under study were performed at 25 ± 1 ° C using stationary and dynamic measurements as a thickening agent. The sulfated polysaccharide presented considerable antioxidant activity in all the tests performed with results of 30.29%, 53.48%, 48.27% against the radical DPPH, on the chelation of iron ions and total antioxidant capacity, respectively. The results suggest the sulphated polysaccharide of *Acanthophora spicifera* with thickening capacity applied in food production and natural antioxidant potential.

Keywords: *Acanthophora spicifera*. Polysaccharide. NMR. Rheological. Antioxidant.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1	– O aspecto macroscópico da alga <i>Acanthophora spicifera</i> e sua classificação taxonômica.....	18
Figura 2	– Representação esquemática estrutural das galactanas de algas vermelhas.....	20
Figura 3	– Estrutura química básica de carregenanas com unidades D-alternantes.....	21
Figura 4	– Estrutura química básica de agaranas.....	21
Figura 5	– Estrutura química da agarose, também chamada de agarobiose (1) e da agarpectina (2). O primeiro polímero é formado por repetições de unidades (1→3)- β-D-galactose (unidade A) e (1→4)-3,6-anidro-α-L-galactose (unidade B) enquanto o segundo apresenta (1→3)-β-D-galactose como unidade A e (1→4)-α-L-galactose formando a unidade B com substituições por grupamentos metil ou sulfato nos átomos indicados.....	22
Figura 6	– Classificação do comportamento reológico dos fluidos.....	24
Figura 7	– Curva de escoamento de fluidos não-newtonianos de propriedades dependentes do tempo de cisalhamento.....	25
Figura 8	– Curva de escoamento de fluidos newtonianos e não-newtonianos de propriedades independentes do tempo de cisalhamento.....	26
Figura 9	– Demonstração do estresse oxidativo.....	28
Figura 10	– Alvos dos radicais livres.....	29
Figura 11	– Integração dos sistemas de defesa enzimática.....	30
Figura 12	– Atividade antioxidante.....	31
Figura 13	– Local de coleta da <i>Acanthophora spicifera</i> , Praia de Búzios-RN....	35
Figura 14	– Esquema de extração enzimática de polissacarídeo sulfatado de <i>Acanthophora spicifera</i>	38
Figura 15	– Esquema de quantificação do conteúdo de carboidratos.....	39

Figura 16 – Esquema de quantificação do conteúdo de proteínas contaminantes	40
Figura 17 – Sistema cone-prato.....	42
Figura 18 – Perfil cromatográfico do polissacarídeo sulfatado da alga <i>Acanthophora spicifera</i> em cromatografia de permeação em gel...	49
Figura 19 – Espectros FT-IV em pastilhas de KBr do polissacarídeo de <i>Acanthophora spicifera</i> na região e número de onda de 1400–700	50
Figura 20 – Espectro de RMN de ¹ H do polissacarídeo sulfatado da alga <i>Acanthophora spicifera</i>	53
Figura 21 – Espectro de RMN de ¹³ C do polissacarídeo sulfatado da alga <i>Acanthophora spicifera</i>	54
Figura 22 – ¹ H - ¹³ C HSQC do polissacarídeo extraído da alga marinha <i>Acanthophora spicifera</i>	55
Figura 23 – Curva relação entre a viscosidade e taxa de cisalhamento das amostras OS 1%, PS 2% e PS 3% de <i>Acanthophora spicifera</i>	57
Figura 24 – Influência da temperatura em relação à viscosidade para as amostras PS 1%, PS 2% e PS 3% de <i>Acanthophora spicifera</i>	58
Figura 25 – Habilidade de quelação do íon ferroso do PS extraído da alga <i>A. spicifera</i>	60
Figura 26 – Capacidade antioxidante total do PS extraído da alga <i>A. spicifera</i>	61
Figura 27 – Estabilização do radical livre 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH)	62
Figura 28 – Efeito do sequestro do radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) do PS extraído da alga <i>Acanthophora spicifera</i>	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Atividade antioxidante de diversas espécies de algas e compostos bioativos responsáveis	33
Tabela 2 – Rendimento de polissacarídeos sulfatados em espécies de algas vermelhas.....	46
Tabela 3 – Análises químicas do polissacarídeo sulfatado de <i>Acanthophora spicifera</i>	48
Tabela 4 – Atribuições no espectro do infravermelho para polissacarídeo sulfatado de algas marinhas.....	51
Tabela 5 – Assinalamentos de RMN de ^1H e ^{13}C para o PS de <i>A. spicifera</i>	56

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AA	Ácido ascórbico
BHA	Butilado de hidroxianisol
BHT	Butilado de hidroxitolueno
EDTA	Ácido etilenodiaminotetra-acético
CAT	Catalase
CCP	Cloreto de cetilpiridínio
DPPH	1,1-difenil-2-picrilhidrazil
ERNS	Espécies reativas de nitrogênio
EROS	Espécies reativas de oxigênio
Ferrozina	Ácido 3-(2-piridil) 5,6-difenil-1,2,4-triazina-p-p'-disulfônico
FTIR	Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier
GPC	Cromatografia de Permeação em Gel
GPx	Glutaciona peroxidase
GSH	Glutaciona
GR	Glutaciona redutase
PS	Polissacarídeo Sulfatado da <i>Acanthophora spicifera</i>
ppm	Partes por minutos
RMN	Ressonância Magnética Nuclear
RVL	Região Viscoelástica Linear
SOD	Superóxido dismutase

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	16
1.1	Algas Marinhas	16
1.2	Gênero <i>Acanthophora</i>	17
1.3	Polissacarídeos sulfatados de algas marinhas	18
1.3.1	<i>Galactanas sulfatadas de algas vermelhas</i>	19
1.3.2	<i>Agaranas</i>	22
1.4	Aplicações biotecnológicas de polissacarídeos sulfatados.....	23
1.5	Propriedades reológicas de agaranas	23
1.6	Estresse Oxidativo e defesa antioxidante	28
1.7	Atividade antioxidante	31
1.8	Efeito antioxidante de moléculas bioativas.....	32
2	OBJETIVOS	34
2.1	Geral	34
2.2	Específicos.....	34
3	MATERIAIS	35
3.1	Alga marinha	35
3.2	Soluções e reagentes.....	36
4	MÉTODOS.....	37
4.1	Extração do polissacarídeo sulfatado	37
4.2	Rendimento	38
4.3	Análise química do polissacarídeo sulfatado de <i>Acanthophora spicifera</i>	39
4.3.1	<i>Quantificação de carboidratos totais</i>	39
4.3.2	<i>Quantificação do conteúdo de proteínas contaminantes</i>	40

4.3.3	<i>Quantificação do conteúdo de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre.....</i>	40
4.3.4	<i>Determinação da massa molar por cromatografia de permeação em gel.....</i>	41
4.3.5	<i>Caracterização química por espectroscopia de absorção na região do infravermelho.....</i>	41
4.3.6	<i>Determinação da estrutura química por ressonância magnética nuclear.....</i>	42
4.3.7	<i>Propriedades reológicas do polissacarídeo sulfatado de A. spicifera.....</i>	42
4.3.7.1	<i>Análise Reológica - Estado Estacionário.....</i>	42
4.3.7.2	<i>Análise Reológica - Estado Dinâmico.....</i>	43
4.3.7.3	<i>O Efeito da temperatura em relação à viscosidade.....</i>	43
4.4	<i>Atividade Antioxidante in vitro.....</i>	43
4.4.1	<i>Ensaio de quelação do íon ferroso.....</i>	43
4.4.2	<i>Ensaio de capacidade antioxidante total pela formação complexo fosfomolibdênio.....</i>	44
4.4.3	<i>Ensaio de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo-hidrato (DPPH).....</i>	44
4.5	<i>Análise estatística.....</i>	45
5	<i>RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</i>	46
5.1	<i>Rendimento.....</i>	46
5.2	<i>Análise química do polissacarídeo sulfatado.....</i>	47
5.2.1	<i>Quantificação do conteúdo de carboidratos.....</i>	47
5.2.2	<i>Quantificação do conteúdo de proteínas contaminantes.....</i>	47
5.2.3	<i>Quantificação do conteúdo de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre.....</i>	47

5.2.4	<i>Determinação da massa molar por cromatografia de permeação em gel</i>	48
5.2.5	<i>Caracterização química por espectroscopia de absorção na região do infravermelho</i>	49
5.2.6	<i>Determinação da estrutura química por ressonância magnética nuclear (RMN) de ¹H e ¹³C</i>	52
5.3	Propriedades reológicas do polissacarídeo sulfatado	56
5.3.1	<i>Análise em regime estacionário</i>	56
5.3.2	<i>Análise em regime dinâmico</i>	57
5.3.3	<i>Efeito da temperatura em relação à viscosidade</i>	58
5.4	Atividade antioxidante <i>in vitro</i>	59
5.4.1	<i>Ensaio de quelação do íon ferroso</i>	59
5.4.2	<i>Ensaio de capacidade antioxidante total pela formação do complexo fosfomolibdênio</i>	60
5.4.3	<i>Ensaio de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilohidrato (DPPH)</i>	62
6	CONCLUSÃO	64
	REFERÊNCIAS	65

1 INTRODUÇÃO

1.1 Algas Marinhas

As algas são organismos eucarióticos que não possuem características que os permitam ser classificadas como elementos dos reinos *Plantae*, *Fungi* ou *Animalia*. Sendo, dessa forma, incluídas no reino *Protista*. Embora esta seja a classificação mais bem aceita na atualidade, muitas divergências ainda ocorrem entre os evolucionistas, uma vez que as relações filogenéticas entre os indivíduos incluídos em tal grupo estão distantes de uma clara elucidação (RAVEN; EVERT; EICHHORN 2014).

As algas são classificadas, principalmente de acordo com as variedades dos tipos estruturais observadas. Dentre estas estão incluídas células ameboides; células solitárias que podem ou não possuir flagelos; colônias compostas por agrupamentos de células que podem ser flageladas (com um ou mais flagelos) ou não; filamentos ramificados ou não ramificados; lâminas com uma ou duas células de espessura; tecidos que se assemelham a alguns dos presentes em plantas ou animais e massas multinucleadas de protoplasma com ou sem parede celular.

As variações observadas no grupo Protista não estão restritas às células e sua organização em tecidos. Há ainda consideráveis variações de tamanho habitat e mecanismos de obtenção de energia. De acordo com a morfologia e tamanho, as algas são classificadas em: microalgas e macroalgas (JOHN et al., 2011).

Destacando as características empregadas para a classificação de macroalgas, a mais utilizada baseia-se na presença de pigmentos específicos (clorofilas, carotenoides e ficobiliproteínas), identificando-as como fazendo parte dos filos: Chlorophyta (algas verdes), Rhodophyta (algas vermelhas) ou Phaeophyta (algas pardas). A presença dos diferentes pigmentos nas macroalgas está relacionada com a sua distribuição no ambiente, de acordo com a disponibilidade de energia luminosa para a realização do processo fotossintético (PANGESTUTI; KIM, 2011). Todas as macroalgas possuem clorofila a, sendo as clorofilas a e b os pigmentos majoritários nas verdes; nas macroalgas vermelhas, além das clorofilas a e d, os pigmentos mais abundantes são as ficoeritrinas (pigmentos vermelhos) e as pardas, além das clorofilas a e c, os carotenoides como a fucoxantina são os pigmentos predominantes (GRAHAM; WILCOX, 2000; TEIXEIRA, 2013).

A diversidade das macroalgas marinhas está associada diretamente com as condições ambientais, principalmente com a qualidade da água e o tipo de substrato. Elas estão adaptadas ao ambiente marinho e costeiro, desempenhando inúmeras funções ecológicas em seu habitat, na ciclagem de nutrientes, como produtores primários na produção de oxigênio molecular, formação e manutenção dos recifes de corais (GHILARDI-LOPES; HADEL; BERCHEZ, 2012).

A descoberta de metabólitos primários e secundários com estruturas químicas elucidadas e com atividades biológicas a partir de macroalgas cresceu substancialmente, contribuindo para expandir o conhecimento na área de produtos naturais bioativos (BLUNT et al., 2006).

Segundo a literatura, são atribuídas propriedades reológicas e antioxidantes (MOURÃO, 2015; VADLAPUDI, 2012), além de atividades biológicas aos compostos isolados das algas tais como: anti-inflamatória (LEE et al., 2013), antitumoral (PEREIRA et al., 2011), anticoagulante (WIJESEKARAA; PANGESTUTIA; KIM, 2011).

1.2 Gênero *Acanthophora*

Acanthophora spicifera (M. Vahl) Børgesen é uma macroalga vermelha pertencente à classe Rhodophyceae, ordem Ceramiales e família Rhodomelaceae (ALGAEBASE, 2018). Esta alga é nativa do Caribe e da Flórida (HORN, 2012) e é amplamente distribuída no litoral brasileiro, ocorrendo desde o litoral do Estado do Maranhão até o do Rio Grande do Sul. Cresce em zona de marés, fixadas em substratos duros como rochas, bordas basálticas, ou ainda flutuando (FIALHO, 2013).

A espécie de *A. spicifera* apresenta talo marrom claro, formando tufo isolados, livres, com 3 a 18cm de comprimento, fixo ao substrato por um pequeno apressório discoide. Eixos cilíndricos, ramificados irregularmente, com ramos laterais geralmente alternos, os quais produzem râmulos espinescentes. Ramificação geralmente escassa na região basal. Apresentam estruturas polissifônicas com 5 células pericentrais. Tetrasporângios tetraédricos produzidos em râmulos laterais (N'YEURT e PAIRY, 2010).

Vários compostos de interesse foram identificados em *A. spicifera*, entre eles: antimicrobiana (SEENIVASAN et al., 2012), antitumoral (LAVAKUMAR et al.,

2012), anticoagulante e antioxidante (ZENG et al., 2001). Esta espécie também é utilizada como biofiltro (FIALHO, 2013) e alimentícia (LANG, 2006; ZAKARIA et al., 2011). O aspecto macroscópico da alga e sua classificação taxonômica podem ser observados na Figura 1.

Figura 1 - O aspecto macroscópico da alga *Acanthophora spicifera* e sua classificação taxonômica



Fonte: Algaebase, 2018

1.3 Polissacarídeos sulfatados de algas marinhas

Os polissacarídeos são macromoléculas formadas pela polimerização de monossacarídeos, açúcares simples, unidos por ligações glicosídicas. Se for constituído somente por uma única espécie monomérica recebe a denominação de homopolissacarídeo e, formado por duas ou mais é definido como um heteropolissacarídeo. Podem ser encontrados associados covalentemente a proteínas e a lipídeos formando glicoconjugados, tais como os proteoglicanos, glicoproteínas e glicolipídeos e, exercem algumas funções específicas celulares, como sinalizadores, pontos de adesão celular, reconhecimento e transferência de informação intercélulas, além de serem componentes de estruturas citológicas (NELSON; COX, 2011; MARCIEL; STADNIK; FREITAS, 2014).

Os polímeros de carboidratos sulfatado, também chamados de polissacarídeos sulfatados são moléculas carregadas negativamente por apresentar grupos hidroxilas substituídas por radicais sulfatos. Esses compostos são

encontrados em bactérias, fungos, vegetais, algas e animais (VASCONCELOS, ARAÚJO; SANTANA, 2015).

A presença de polissacarídeos sulfatados nas algas marinhas ocorreu, nos primórdios da vida nos oceanos, quando os organismos marinhos precisaram se adaptar às grandes concentrações de sais presentes no meio. Deste modo, desenvolveram mecanismos para utilização dos nutrientes disponíveis, onde altas concentrações de íons neste ambiente (cloreto, brometo, sulfato, e iodeto) resultaram na presença de compostos altamente sulfatados e halogenados nas algas marinhas. Assim, é observado um acúmulo de ânions sulfato nos organismos que vivem em ambientes com altas concentrações de íons (CARVALHO; ROQUE, 2000).

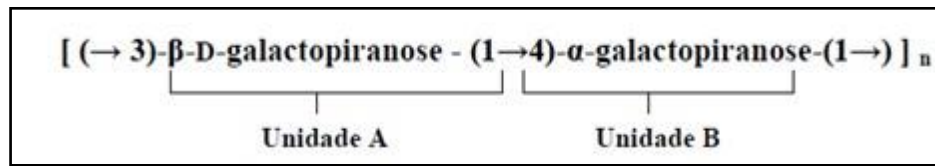
Os polissacarídeos sulfatados encontrados nas algas marinhas têm muitas estruturas diferentes, essas estruturas variam de espécie para espécie, e às vezes em diferentes partes da mesma alga (DIETRICH et al., 1995). As paredes celulares das algas marinhas são ricas em polissacarídeos sulfatados incluindo carragenanas e agaranas em algas vermelhas, alginato e fucanas em algas pardas e ulvanos em algas verdes (CUNHA; GREHA, 2016).

1.3.1 Galactanas sulfatadas de algas vermelhas

As galactanas sulfatadas são frequentemente encontradas na matriz extracelular das algas marinhas vermelhas.

Estas são polímeros de açúcares complexos e heterogêneos constituídos por unidades repetitivas alternadas de β (1 \rightarrow 3) D-galactopiranosose (unidade A) e α (1 \rightarrow 4) D- ou L- galactopiranosose (unidade B), onde ambas as unidades, A e B, podem ser sulfatadas. Algumas unidades de α - D- galactopiranosose podem ocorrer também na forma cíclica 3,6- anidrogallactopiranosose (PAINTER, 1983). Então, todos os dissacarídeos são formados por duas subunidades, A e B, e o polissacarídeo é constituído pela alternância (AB)_n (Figura 2).

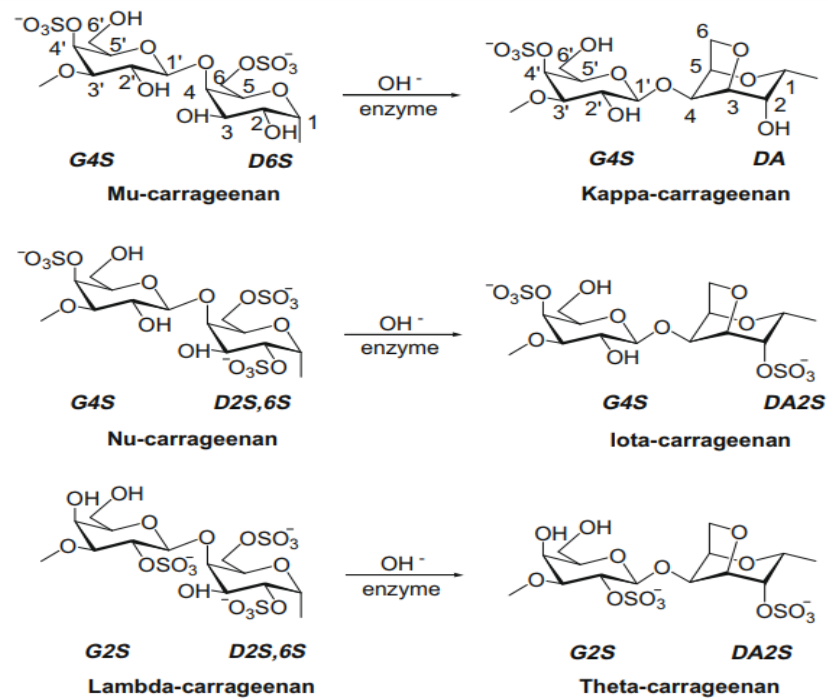
Figura 2 - Representação esquemática estrutural das galactanas de algas vermelhas



Fonte: PAINTER, 1983.

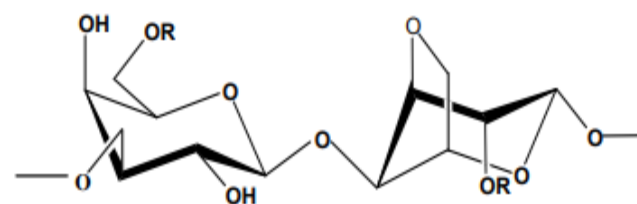
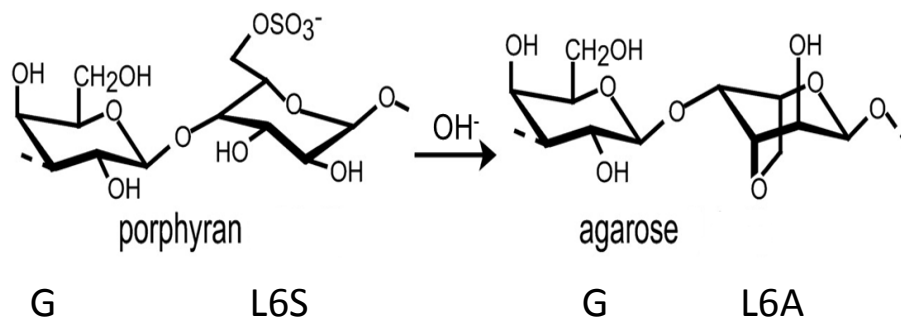
As galactanas são classificadas de acordo com a estereoquímica de suas moléculas, especialmente relacionada com a unidade B (DE ALMEIDA, et al., 2011; MOHAMED; HASHIM; RAHMAN, 2012). Galactanas são classificadas como: Carragenana é um termo que compõe poucas famílias conhecidas de Lambda(λ), Kappa(κ), Beta(β) e omega(ω). Essas famílias, verificadas na Figura 3, são subdivididas em diferentes tipos e constituídas de unidades (1→3)- β -D-galactopiranosose (Unid A) e (1→4)- α -D-galactopiranosose (Unid B) (BONDU et al., 2010). Rotineiramente são identificadas por letras gregas, sendo divididas em 6 formas básicas, de acordo com a posição dos grupos fosfatos nas unidades A e B e a forma cíclica da unidade B: Iota(ι), Kappa(κ), Lambda(λ), Mu(μ), Nu(ν), Theta(θ)-carragenanas, sendo esta classificação química de suma importância comercialmente (CAMPO et al., 2009) e a agarose (às vezes chamada de agarana) é polímero linear com a sequência alternada AB chamada agarobiose, onde a unidade B é a 3,6- α -L-anidrogalactopiranosose (Figura 4) (MORRICE et al., 1983; HIRASE AND WATANABE, 1972.).

Figura 3 - Estrutura química básica de carregenanas com unidades D- alternantes



Fonte: CAMPOS et al., 2009.

Figura 4 - Estrutura química básica de agaranas



Structure of furanose R: CH_3 ; SO_3^- .

Fonte: MORRICE et al., 1983; HIRASE and WATANABE, 1972.

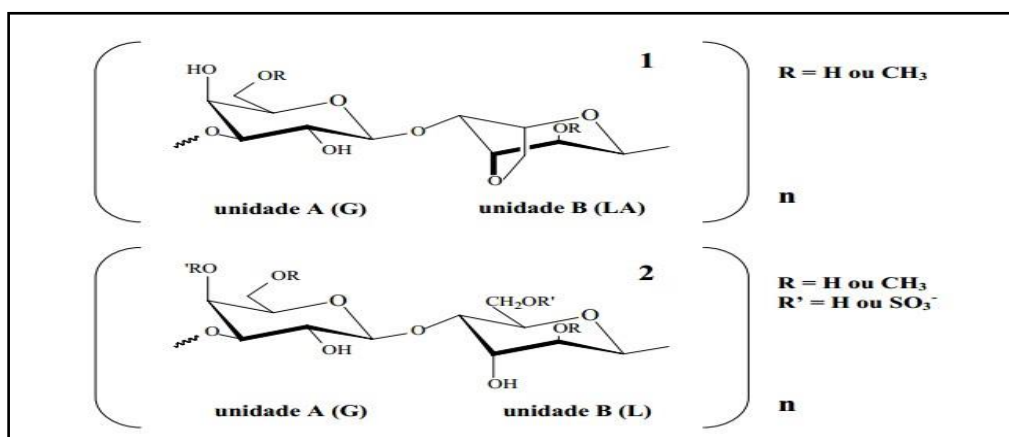
1.3.2 Agaranas

As agaranas correspondem a uma família de polissacarídeos cuja estrutura química consiste de duas frações principais: agarose e agarpectina, que estão presentes na parede celular de algumas algas vermelhas e podem variar dentro da mesma espécie.

A agarose é caracterizada como um polissacarídeo neutro, que possui estrutura linear de unidades repetitivas do dissacarídeo agarobiose (1→3)-β-D-galactose e (1→4)-3,6-anidro-α-L-galactose. Entretanto, a agarpectina é caracterizada por ser um polissacarídeo ácido contendo sulfato, metil, ácido pirúvico e ácido D-glucurônico adicionado à agarobiose (MARINHO-SORIANO; BOURRET, 2003).

A estrutura básica repetitiva difere das carragenanas pela forma estereoquímica L da unidade B (Figura 5) (PAINTER, 1983).

Figura 5 - Estrutura química da agarose, também chamada de agarobiose (1) e da agarpectina (2). O primeiro polímero é formado por repetições de unidades (1→3)- β-D-galactose (unidade A) e (1→4)-3,6-anidro-α-L-galactose (unidade B) enquanto o segundo apresenta (1→3)-β-D-galactose como unidade A e (1→4)-α-L-galactose formando a unidade B com substituições por grupamentos metil ou sulfato nos átomos indicados



Fonte: PAINTER, 1983.

A produção do gel pelo ágar se faz devido à estrutura molecular em cadeia com formação helicoidal, que produz uma rede capaz de reter considerável quantidade de moléculas de água no interstício. As ligações de hidrogênio formadas

entre os átomos de oxigênio presentes no polissacarídeo com moléculas de água são responsáveis pela estabilização da estrutura do gel (LAHAYE; ROCHA, 1991).

1.4 Aplicações biotecnológicas de polissacarídeos sulfatados

Os polissacarídeos sulfatados de algas marinhas possuem uma versatilidade de aplicações biotecnológicas geradoras de interesses econômicos e científicos devido às suas bioatividades, tais como anticoagulante, antiinflamatória, antitumoral, anti-hiperlipidêmica, antitrombótica, imuno estimulante e antioxidante (ROPELATTO, 2011; MELO et al., 2012; COSTA, 2012) e propriedades reológicas (MOURÃO, 2015).

No campo biomédico essas moléculas se tornaram uma poderosa ferramenta, devido suas propriedades de biocompatibilidade e biodegradabilidade. São utilizados na engenharia de tecidos, curativos e cicatrizador (BUENO et al., 2015), excipientes de fármacos (CUNHA; GRENHA, 2016), carreador e imobilizador de micro e nanopartículas (RODRIGUES; COSTA; GRENHA 2012).

Possuem propriedades gelificantes, espessante, estabilizantes e emulsificantes, o que os tornam bastante apreciados pela indústria de alimento, cosmético e têxtil por assegurar características físicas de emulsões, suspensões, viscosidade e adesividade no produto que o recebe como aditivo (SOUZA 2011).

Do ponto de vista fisiológico, essas macromoléculas promovem flexibilidade e resistências a macroalga contra forças físicas exercidas por ondas e correntes do oceano, evita seu ressecamento quando exposta a elevada radiação solar, evita o estresse quando exposta a variações de salinidades, pH e temperaturas extremas. Protege contra a contaminação de metais pesados e confere propriedades antioxidantes (ANDRADE et al., 2010).

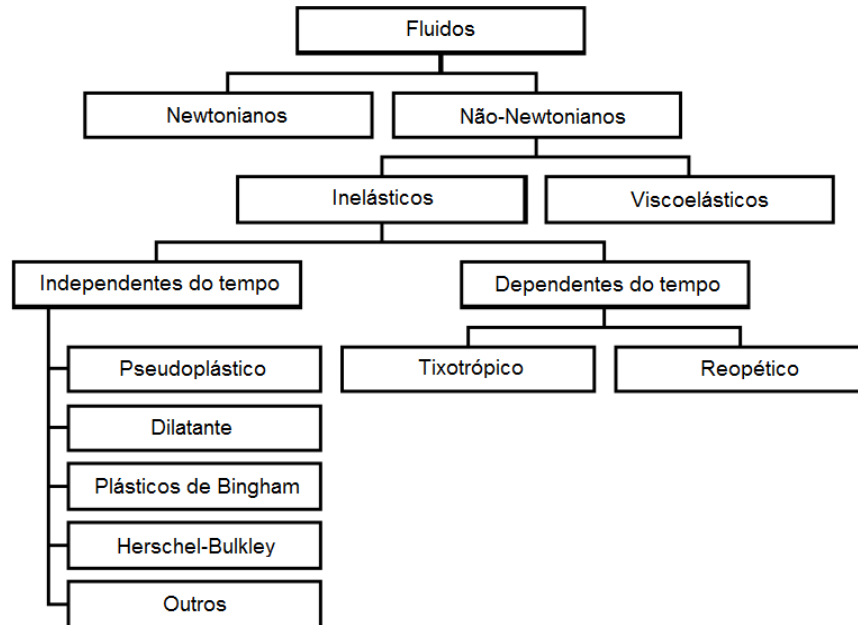
1.5 Propriedades reológicas de agaranas

Steffe (1996) sugere que a reologia é a ciência dos materiais em alimentos. Com propriedades determinadas frente a uma tensão ou deformação externa (TOLEDO, 1991).

A classificação reológica dos fluidos, que leva em consideração o comportamento da relação taxa de deformação/tensão de cisalhamento, subdivide

os materiais em newtonianos e não-newtonianos (STEFFE, 1996) e pode ser observado na Figura 06.

Figura 6 - Classificação do comportamento reológico dos fluidos



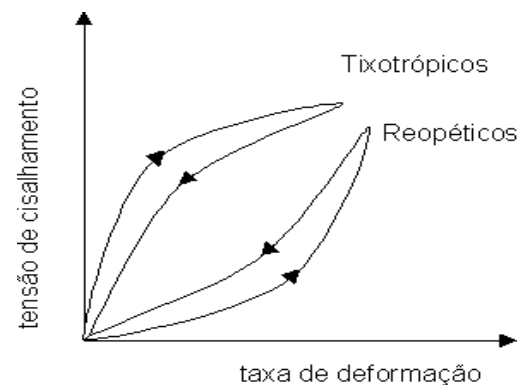
Fonte: STEFFE, 1996.

Os fluidos são newtonianos quando possuem viscosidade constante, e não-newtonianos quando não possuem constância na relação entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação. Os fluidos não-newtonianos podem ser classificados em viscoelásticos ou inelásticos (SCHRAMM, 2006).

Os fluidos viscoelásticos apresentam características de materiais sólidos e elásticos como as gelatinas, as massas de farinha de trigo e alguns tipos de queijos. Os inelásticos podem ser dependentes ou independentes do tempo caso suas propriedades reológicas variem ou não conforme o tempo de aplicação das tensões.

Os fluidos inelásticos dependentes do tempo podem ser tixotrópicos ou reopéticos. Os fluidos tixotrópicos apresentam uma diminuição reversível do tempo necessário para que forças tangenciais mantenham uma taxa de deformação constante, a uma temperatura também constante. Os reopéticos se apresentam de maneira inversa aos tixotrópicos. Curvas de escoamento de fluidos tixotrópicos e reopéticos podem ser observadas na Figura 07.

Figura 7 - Curva de escoamento de fluidos não-newtonianos de propriedades dependentes do tempo de cisalhamento



Fonte: <http://www.setor1.com.br>

A tixotropia dos materiais pode ser medida pelos testes da curva de histerese (BARNES, 1997). A área de histerese é uma área delimitada pelas curvas ascendentes e descendentes na curva de fluxo. Esta área será proporcional à energia requerida para a quebra da estrutura tixotrópica, sendo esta área igual a zero caso os fluidos não alterem sua viscosidade em função do tempo (BARNES, 1997, SCHRAMM, 2006).

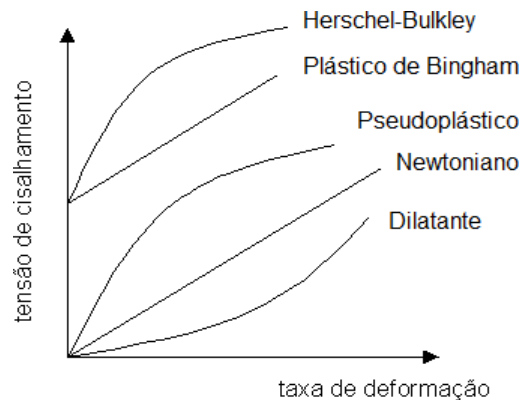
Os fluidos inelásticos independentes do tempo não dependem do tempo de aplicação da tensão de cisalhamento e são classificados em Pseudoplásticos, Dilatantes, Plásticos de Bingham e Herschel-Bulkley.

Os Plásticos de Bingham e os Herschel-Bulkley necessitam de uma tensão inicial para começar a escoar e não possuem uma relação de linearidade entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação (SCHRAMM, 2006).

Os fluidos Pseudoplásticos são substâncias que, quando em repouso, têm um estado molecular desordenado. Quando estes materiais são submetidos a uma tensão de cisalhamento, suas moléculas tendem a se orientar na direção da força aplicada. Desta forma, a tensão aplicada e o ordenamento das moléculas estão em uma relação direta. Quanto maior a tensão aplicada, maior será a ordenação. Assim, quanto maior a tensão sofrida pelo material pseudoplástico, menor a viscosidade do mesmo. São exemplos de substâncias pseudoplásticas as polpas de frutas, os caldos de fermentação e o melaço decana. Os fluidos Dilatantes têm um comportamento inverso ao dos Pseudoplásticos. Dessa forma, os fluidos Dilatantes aumentam a viscosidade com o incremento das tensões. São exemplos de fluidos Dilatantes soluções de amido e soluções de farinha de milho e açúcar.

Curvas de escoamento que representam os fluidos newtonianos e fluidos não-newtonianos independentes do tempo (Herschel-Bulkley, Plásticos de Bingham, Dilatante e Pseudoplástico) podem ser observadas na Figura 08.

Figura 8 - Curva de escoamento de fluidos newtonianos e não-newtonianos de propriedades independentes do tempo de cisalhamento



Fonte: <http://www.setor1.com.br>

As curvas de escoamento são bastante úteis para desenvolver produtos, controlar sua qualidade de produção e na aceitação por parte dos consumidores. Para a realização dos testes oscilatórios (dinâmicos) com a finalidade de determinar as propriedades viscoelásticas dos materiais, são efetuadas duas etapas distintas e independentes, a varredura de tensão e a varredura de frequência (ω). A varredura de tensão determina o intervalo viscoelástico linear e ocorre quando à amostra é aplicada uma tensão com frequência de oscilação e temperaturas constantes, registrando-se os valores de módulo de armazenamento G' e módulo de dissipação viscosa ou perda G'' . Tais ensaios permitem a classificação dos materiais em solução diluída, solução concentrada, gel fraco e gel forte, conforme seja a relação entre G' e G'' (SATO, CUNHA, 2007)

Segundo Lapasin & Prici (1999), os polímeros de carboidratos possuem grande aplicabilidade na indústria de alimentos. Algumas vezes, estão presentes por razões tecnológicas, como auxiliares no processo, para estabilizar emulsões e suspensões ou para fornecer a estrutura física necessária para o empacotamento e distribuição. No entanto, seu uso mais frequente está associado à sua capacidade de espessar e gelificar soluções, sendo aplicados para melhorar e padronizar a qualidade dos alimentos processados. De acordo com Stephen & Churms (2006), os

polissacarídeos estão sendo empregados em quantidades crescentes na tecnologia de alimentos como espessantes, estabilizantes, emulsificantes e agentes gelificantes, dentre outras funções.

Os géis obtidos a partir de polissacarídeos sulfatados do tipo ágar podem ser classificados como fortes ou fracos. O gel fraco tem forma pouco estruturada, quando comparado ao gel forte, que tem maior capacidade de força. O ágar que resulta em um gel fraco é bastante utilizado como agentes espessante, emulsionante, e gelificante em alimentos. Já o ágar que origina um gel forte é utilizado como meio de cultura sólido para plantas, propagação de bactérias e géis para separação e análise de moléculas em biologia molecular (LORBEER, THAM, ZHANG, 2013).

O gel de ágar de maior força é obtido a partir das algas dos gêneros *Pterocladia* e *Gelidium*. Os géis de ágar obtidos a partir das algas do gênero *Gracilaria* são considerados fracos quando comparados aos obtidos de outras algas, como as do gênero *Gelidium*. Ficocolóide (ágar) extraído de alga marinha do gênero *Acanthophora* pode apresentar-se como espessante (CARDOZO et al., 2007).

O efeito da temperatura tem um maior efeito no índice de consistência (K) em fluidos alimentícios não-newtonianos, do que no índice de comportamento (n). O efeito da temperatura na viscosidade aparente de fluidos alimentícios, a uma taxa de cisalhamento constante, pode ser descrita pela equação de Arrhenius (RAO, 1986), na qual a viscosidade aparente diminui em uma função exponencial com o aumento da temperatura. A equação de Arrhenius é apresentada na Equação 1 (STEFFE, 1996).

$$\eta_{ap} = \eta_0 \exp \frac{E_{at}}{RT} \text{Eq. (1)}$$

onde:

η_{ap} - viscosidade aparente (mPa.s)

η_0 - fator pré-exponencial

T- temperatura absoluta (K)

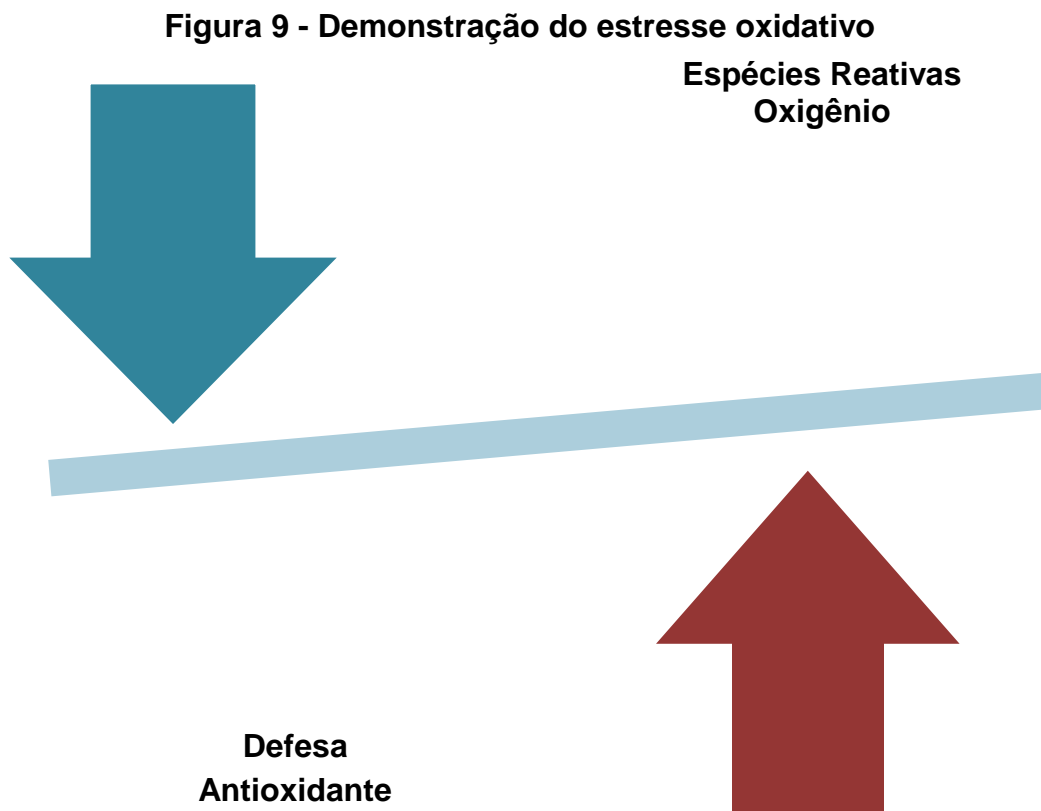
R- constante universal dos gases (kJ/mol.K)

E_{at} - energia de ativação para viscosidade (kJ/mol)

1.6 Estresse Oxidativo e defesa antioxidante

As espécies reativas do oxigênio (EROS) são moléculas reativas e radicais livres derivados do oxigênio molecular. Com a evolução dos seres aeróbicos, as células tiveram que lidar com a produção de EROS, moléculas formadas pelo metabolismo normal da célula. Existe um balanço homeostático entre a produção e degradação de EROS, porém, em várias condições fisiológicas ou de estresse pode haver um grande aumento em sua produção. O estresse oxidativo é caracterizado por um desequilíbrio entre compostos oxidantes e antioxidantes, em favor da geração excessiva de radicais livres ou em detrimento de sua remoção conforme exibido na Figura 9 (BARBOSA et al., 2010).

No caso de um estresse oxidativo acentuado pode provocar danos em macromoléculas biológicas, incluindo proteínas, lipídios e DNA (CHEN; GUO; KONG, 2012; CUI et al., 2011).

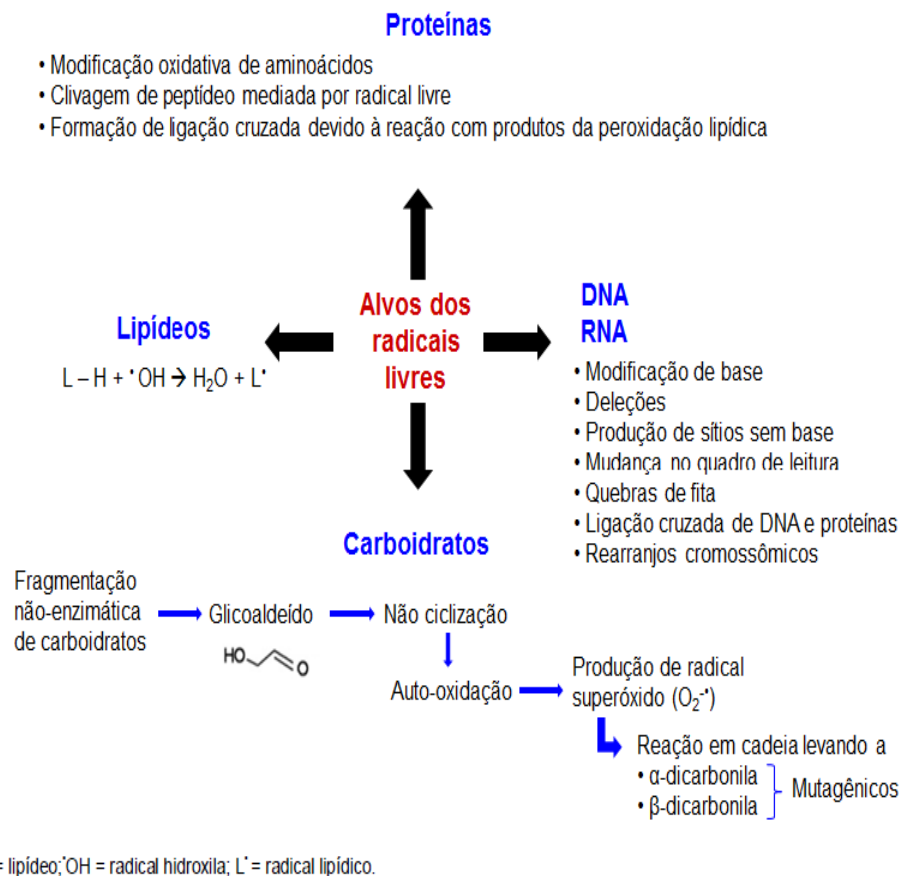


Fonte: <http://www.pgsskroton.com.br/seer/index.php/JHealthSci/article/viewFile/449/419>

Os radicais livres são considerados qualquer átomo, grupo de átomo ou molécula que possui um ou mais elétrons não pareados nos orbitais externos, sendo

instáveis e altamente reativos com proteínas, lipídios e DNA (PISOSCHI; POP, 2015). Os principais alvos dessas espécies reativas são mostrados na Figura 10. No entanto, os radicais livres tendem a ligar seus elétrons desemparelhados a outros elementos e estruturas celulares, dessa forma, podendo ceder um elétron (radical redutor) ou captar um elétron (radical oxidante) (KOURY; DONANGELO, 2003). Dentre eles podem-se citar os radicais superóxido (O_2^\bullet), hidroxila (OH^\bullet), alcóxila (RO^\bullet), peróxila (ROO^\bullet), hidroperóxila (OOH^\bullet), o ácido hipocloroso ($HOCL$), o óxido nítrico (NO^\bullet) e o oxigênio singlete (O_2^-) (YE et al., 2015).

Figura 10 - Alvos dos radicais livres

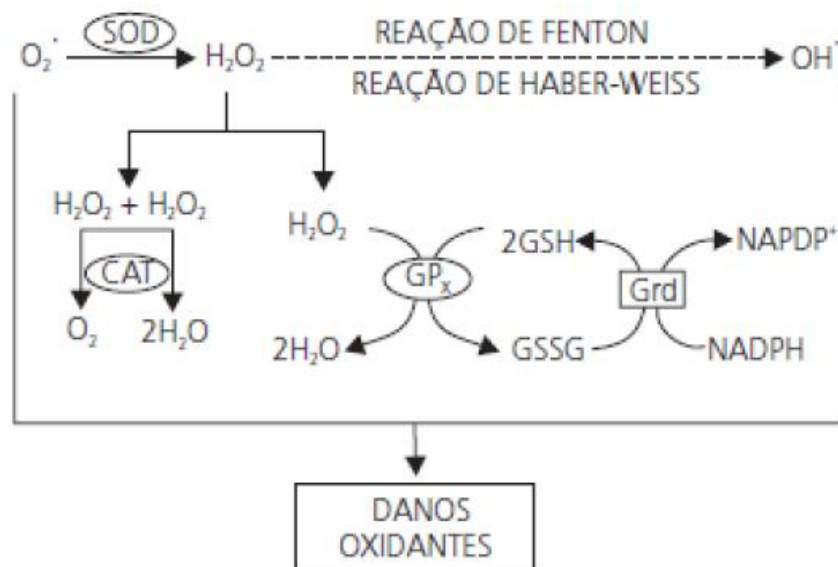


Fonte: CAROCHO e FERREIRA, 2013.

Na maioria dos casos, as EROS são produtos de redução parcial do oxigênio molecular, formados na cadeia transportadora de elétrons, em reações enzimáticas e reações de auto-oxidação. Podem ser formados como intermediários em reações de oxidação catalisadas por centros metálicos de enzimas.

Fisiologicamente, o organismo apresenta algumas defesas antioxidantes enzimáticas, que incluem a enzima superóxido dismutase (SOD), glutatona peroxidase (GPx) e catalase (CAT), e outras não enzimáticas, como a glutatona (GSH). A enzima SOD é a primeira a combater os radicais livres, ela age dismutando o ânion superóxido a H_2O_2 . As enzimas CAT e GPx se integram para impedir o acúmulo de H_2O_2 , que possibilita, por meio das reações de *Fenton* e *Haber-Weiss*, a geração do radical hidroxila ($OH\cdot$), contra o qual não existe defesa enzimática. A GPx reduz o H_2O_2 à água, no entanto o faz à custa da conversão da glutatona reduzida (GSH) em oxidada (GSSG). Assim, é fundamental a ação da glutatona redutase (GR), responsável pela recuperação da GSH, possibilitando a manutenção da integralidade do ciclo redox da glutatona e, conseqüentemente, do equilíbrio adequado entre os sistemas de defesa enzimático (ROVER, et al, 2001) (Figura 11).

Figura 11 - Integração dos sistemas de defesa enzimática



Fonte: BARBOSA et al. (2010, p. 634).

Na cadeia respiratória mitocondrial, há um vazamento de elétrons, que ao ter oxigênio disponível como aceptor de elétrons, convertendo-se no radical ânion superóxido.

O retículo endoplasmático é uma organela envolvida no enovelamento de proteínas, mas também participa da produção de lipídios, em processos de detoxificação e no armazenamento de substâncias. O retículo endoplasmático

também pode gerar moléculas reativas como subproduto de seu metabolismo, conseqüentemente, levando ao estresse oxidativo (YE et al., 2015).

As EROS podem atuar como sinalizadores intracelulares, possibilitando o controle de vias metabólicas através da regulação redox. Além disto, não se pode esquecer da atuação das EROS na defesa contra infecções, onde após a ativação de fagócitos há elevada produção de EROS, especialmente dependente da ativação do complexo enzimático da nicotinamida adenina dinucleotídeo fosfato-oxidase. Complexo o qual leva à formação de moléculas citotóxicas para microrganismos, incluindo H_2O_2 , ácido hipocloroso, radical hidroxila e oxigênio singleto (ZIMNIAK, 2011).

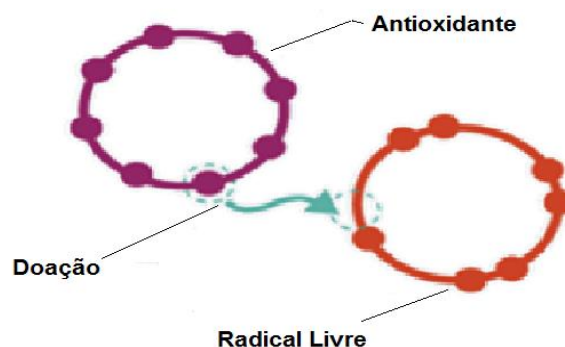
Embora as EROS sejam fundamentais para os processos biológicos normais, elas são potencialmente perigosas, podendo causar lesões celulares por peroxidação de lipídios, proteínas e danos aos ácidos nucléicos (RAY; HUANG; TSUJI, 2012), relacionado a diversas doenças inflamatórias, cardiovasculares e diferentes formas de câncer (NIKI, 2010).

1.7 Atividade antioxidante

Atividade antioxidante (Figura 12) baseia-se na capacidade que um composto tem para inibir a degradação oxidativa.

Compostos antioxidantes podem captar radicais livres, inativar moléculas de oxigênio eletronicamente excitadas, inativar peróxidos e outras espécies reativas de oxigênio, quelar íons metálicos pró-oxidantes, inativar produtos oxidativos secundários e inibir enzimas pró-oxidantes (ZHONG & SHAHID, 2012).

Figura 12 - Atividade antioxidante



Fonte: <https://fitnessmagazine.com.br/que-sao-os-antioxidantes-e-como-eles-trabalham/>

Os radicais livres são espécies reativas de oxigênio e nitrogênio geradas pelo organismo por diversos sistemas endógenos, exposição a diferentes condições físico-químicas ou estados patológicos. É necessário um equilíbrio entre radicais livres e antioxidantes para que a função fisiológica seja adequada. Se os radicais livres dominam a capacidade do organismo para regulá-los, segue-se uma condição conhecida como estresse oxidativo (LOBO et al., 2010).

A oxidação é um fenômeno natural que também ocorre em alimentos e bebidas, sendo responsável por uma série de alterações que levam a perda do valor nutricional, alterações das características sensoriais, e, eventualmente, formação de compostos tóxicos.

Os produtos da oxidação afetam a maioria dos componentes no alimento, levando ao branqueamento dos pigmentos, a destruição de vitaminas, a formação de flavour desagradável e a alteração da sua textura (REIS, 2014). Por essa razão, os antioxidantes são usados para aumentar a estabilidade oxidativa de alimentos, e estes quando consumidos podem retardar ou prevenir o aparecimento de doenças crônicas. Contudo, os antioxidantes sintéticos amplamente utilizados na indústria alimentar e farmacêutica, como o BHA (Butil-hidroxianisol) e o BHT (Butil-hidroxitolueno) têm sofrido restrições na sua utilização devido a possíveis efeitos tóxicos e carcinogênicos (GÜLÇIN, 2012).

Assim, como moléculas promissoras para combater danos oxidativos provocados por radicais, o destaque é dado para os polissacarídeos (COSTA et al., 2014). A atividade antioxidante dos polissacarídeos tem sido relacionada às características físico-químicas inerentes a estrutura desses polímeros (NGO et al., 2013).

1.8 Efeito antioxidante de moléculas bioativas

No intuito de evitar os danos causados pelo estresse oxidativo através das EROs, moléculas sintetizadas pelo próprio organismo são responsáveis pela defesa antioxidante, evitando que moléculas reativas, inclusive as EROs, danifiquem as células do organismo.

As células possuem um sistema antioxidante que atua em dois principais mecanismos—evitando a ação e formação de espécies reativas através de moléculas doadoras de elétrons, quelantes e sequestradoras de espécies reativas (NATHAN

&CUNNINGHAM-BUSSEL, 2013), como exemplos de moléculas que agem dessa forma podem-se citar: glutathione reduzida (GSH), superóxido-dismutase (SOD), catalase, glutathione-peroxidase (GSH-Px) e vitaminas C e E.

O segundo mecanismo de ação do sistema antioxidante celular consiste no reparo das lesões ocorridas evitando um maior estresse oxidativo em decorrência da lesão celular e é exercido na maioria das vezes por enzimas (VALKO et al., 2007). Contudo, muitas situações levam a uma quebra da homeostase, e o equilíbrio entre EROs e o sistema antioxidante é perdido em detrimento de uma maior quantidade de oxidantes, o que leva a danos celulares e o surgimento de doenças. No intuito de se resguardar disso, organismos obtêm moléculas antioxidantes do meio exterior a partir da alimentação (GUPTA et al., 2012).

Muitos compostos são apontados como excelentes antioxidantes, como vitaminas, flavonoides, carotenoides (HAN et al., 2012) e os polissacarídeos sulfatados de algas marinhas (COSTA et al., 2014). (Tabela 1).

Tabela 1 - Atividade antioxidante de diversas espécies de algas e compostos bioativos responsáveis

MacroalgaMarinha	Extrato/ Composto Bioativo	Referência
<i>Ulva fascinata</i>	Extratos etanólicos	Vijayavel y Martinez, 2010.
<i>Taonia atomaria</i>	Meroterpenoides	Nahas et al., 2007.
	Polifenóis	Chandini et al., 2008.
<i>Turbinaria conoides</i>	Polissacarídeos sulfatados: ácido algínico, fucoidan, laminarano	Chattopadhyay et al., 2010.
	Extratos de metanol e de éter etílico	Devi et al., 2011.
<i>Turbinaria ornata</i>	Carotenoides: fucoxantina	Kelman et al, 2012.
<i>Undaria pinnatifida</i>	Carotenoides: fucoxantina, fucoxanthinol	Sachindra et al., 2007.
	Polifenóis	Cofrades et al., 2010.
<i>Acanthophora spicifera</i>	Extratos metanólicos	Ganessan et al., 2008.

Fonte: Elaborada pelo autor.

2 OBJETIVOS

2.1 Geral

Caracterizar a estrutura química, avaliar as propriedades reológicas e o efeito antioxidante do polissacarídeo sulfatado obtidos a partir da alga marinha vermelha *Acanthophora spicifera*.

2.2 Específicos

- a) Extrair polissacarídeo sulfatado da alga *Acanthophora spicifera* por digestão enzimática com papaína;
- b) Calcular o rendimento de obtenção dos polissacarídeos sulfatados totais;
- c) Quantificar o teor de carboidratos, proteínas e sulfato no PS;
- d) Estimar a massa média molar do polissacarídeo sulfatado através de Cromatografia de Permeação em Gel (GPC);
- e) Determinar a estrutura química do polissacarídeo por Espectroscopia na região do Infravermelho com Transformada de Fourier e por Ressonância Magnética Nuclear de próton (^1H) e carbono (^{13}C);
- f) Verificar comportamentos reológicos do polissacarídeo extraído (em solução aquosa) em teste estacionário e dinâmico;
- g) Avaliar o potencial antioxidante *in vitro* pelos métodos de quelação do íon ferroso e ensaio de capacidade total e formação do complexo fosfomolibdênio e sequestro do radical 2,2-difenil-1-picrilidrazila (DPPH).

3 MATERIAIS

3.1 Alga marinha

A alga *Acanthophora spicifera* foi coletada em agosto/2016, às 6:00 horas da manhã, durante maré baixa na praia de Búzios (Figura 13), pertencente ao Município de Nísia Floresta, a 23 Km de Natal/ Rio Grande do Norte, localizada à 06°00'43,3" S e 35°06'27,2" W. Esta praia é caracterizada por apresentar na região do mesolitoral, formações de poças-de-marés sobre as faixas de recifes de corais e arenito-ferruginoso, substratos adequados para a fixação de macroalgas (Marinho-Soriano, 1999).

Após a coleta, as algas foram transportadas em recipiente térmico em baixa temperatura para o Departamento de Oceanografia e Liminologia (DOL) da UFRN. A identificação taxonômica e o material algal coletado foram analisados pela Professora Dra. Eliane Soriano Marinho.

Figura 13 - Local de coleta da *Acanthophora spicifera*, Praia de Búzios-RN



Fonte: MARINHO-SORIANO, 1999.

3.2 Soluções e reagentes

Os reagentes e soluções utilizadas foram: ácido etilenodiaminotetraacético, 2,2-difenil-1-picrilidrazila, acetato de sódio, acetona, ácido ascórbico, ácido sulfúrico, água deuterada, álcool comercial, butilado de hidroxitolueno, cisteína, cloreto de cetilpiridínio, cloreto de sódio, etanol, fenol, ferrozina, galactose, hidróxido de sódio, molibdato de amônio, papaína e sulfato ferroso.

4 MÉTODOS

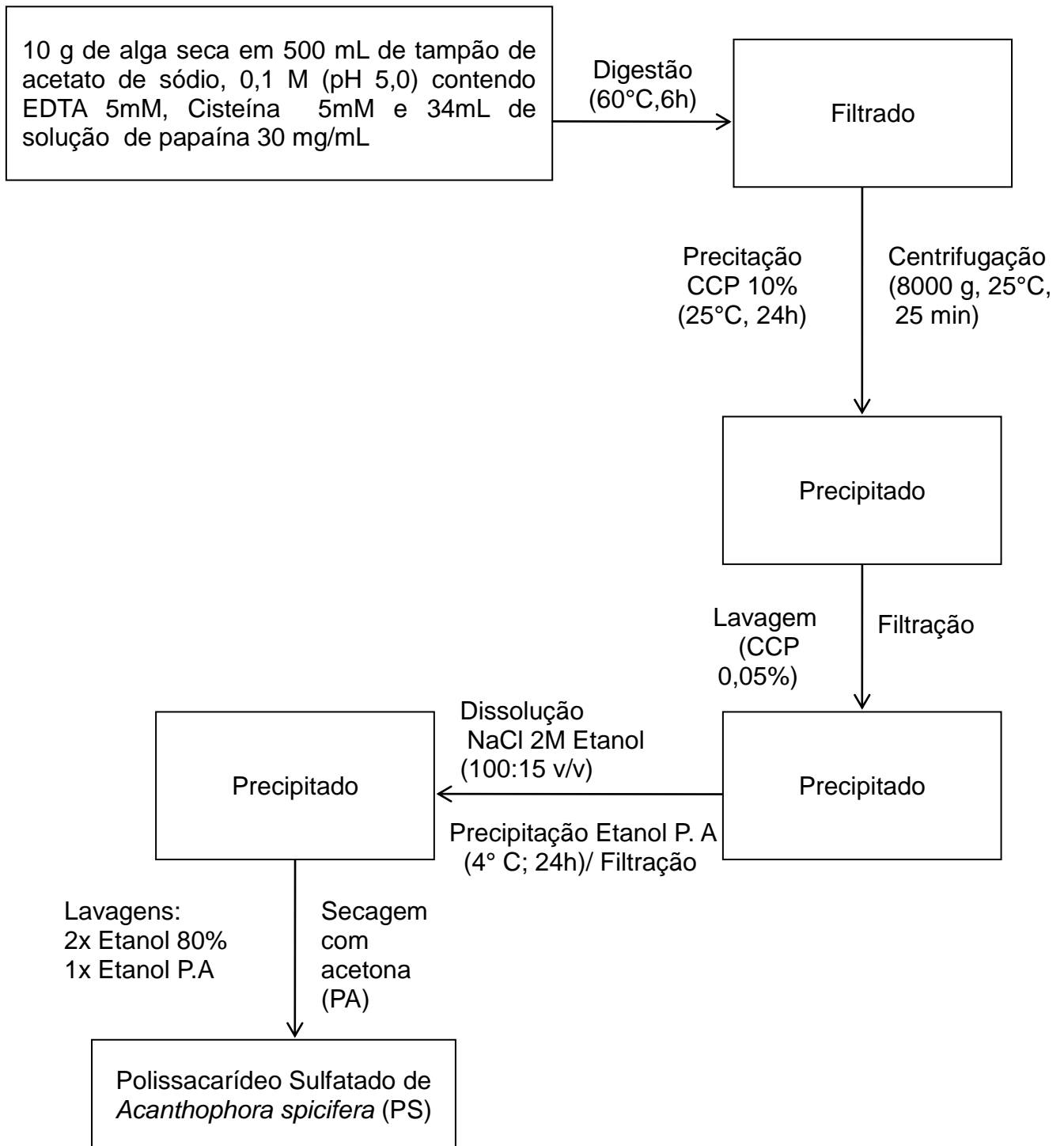
4.1 Extração do polissacarídeo sulfatado

A extração do polissacarídeo sulfatado (Figura 14) foi realizada de acordo com Farias et al. (2000), com algumas modificações. Primeiramente, a alga foi desidratada em temperatura ambiente e macerada com triturador. Após maceração, 10g da alga foi colocada em contato com 500mL do tampão de extração acetato de sódio 0,1M e pH 5,0 contendo EDTA 5 mM e cisteína 5mM para ser digerida com 34mL solução de papaína bruta (30mg/mL) durante 6 horas a 60°C em banho-maria. Em seguida, o material foi filtrado em malha fina e centrifugado (8000 x g; 25°C; 20 min).

O polissacarídeo presente no sobrenadante do material centrifugado foi precipitado por adição de 16mL de uma solução a 10% de cloreto de cetilpiridínio (CCP) e mantido por 24h a 25°C. Após este período, o material foi novamente centrifugado (8000 x g; 25°C; 20 min) e o sobrenadante descartado. O polissacarídeo precipitado foi lavado com 200mL de solução a 0,05% de CCP, centrifugado (8000 x g; 25° C; 20 min) e depois dissolvido em 174mL de solução NaCl 2 M, etanol comercial (100:15; v/v).

O polissacarídeo foi novamente precipitado com adição de 200mL de etanol comercial por 24 h a 4°C. Após a precipitação, o material foi novamente centrifugado (8000 x g; 25°C; 20 min) e submetido a duas lavagens com 200mL etanol comercial diluído a 80% e uma vez com 200mL etanol comercial, seguido de centrifugação (8000 x g; 25°C; 20 min). Por fim, foi realizada a lavagem e secagem do precipitado com acetona para que se obtenha o PS.

Figura 14 - Esquema de extração enzimática de polissacarídeo sulfatado de *Acanthophora spicifera*



Fonte: Farias et al, (2000).

4.2 Rendimento

Para cálculo do rendimento do PS obtido em relação ao peso de alga seca utilizado para a extração foi realizado através da fórmula:

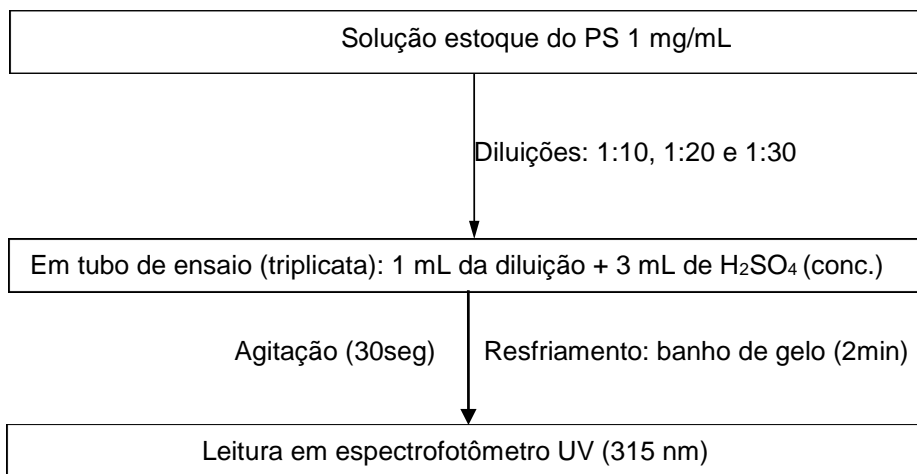
$$\text{Teor de ágar\%} = \frac{\text{Massa (g) do extrato seco obtido}}{\text{Massa (g) de macroalga seca utilizada para o processo de extração}} \times 100 \text{ Eq.(2)}$$

4.3 Análise química do polissacarídeo sulfatado de *Acanthophora spicifera*

4.3.1 Quantificação de carboidratos totais

A determinação do teor de carboidratos foi realizada pelo método de Albalasmeh; Berhee Ghezzehei (2013). A partir de uma solução estoque de 1mg/mL dos PS foram realizadas três diluições em proporções diferentes (1:10, 1:20 e 1:30). Em seguida, 1 mL de cada diluição foi separado em tubos de ensaio para posterior adição de 3 mL de ácido sulfúrico, seguido de agitação por 30 segundos. Posteriormente, a solução foi colocada em banho de gelo por 2 minutos até atingir temperatura ambiente. Em seguida, foi realizada a leitura de absorbância a 315 nm em espectrofotômetro ultravioleta (UV). Todas as concentrações foram realizadas em triplicata (Figura 15). Foi realizada a curva padrão de galactose substituindo os polissacarídeos por uma solução de galactose (10 a 100 µg/mL), permitindo assim a quantificação do PS por correlação com a curva de calibração.

Figura 15 - Esquema de quantificação do conteúdo de carboidratos



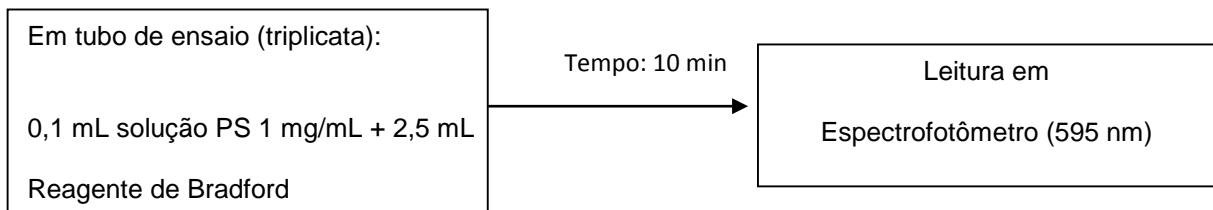
Fonte: Elaborada pelo autor.

4.3.2 Quantificação do conteúdo de proteínas contaminantes

O conteúdo de proteínas contaminantes foi determinado através do método proposto por Bradford (1976). Foi realizada a confecção de uma curva padrão com Albumina Sérica Bovina (BSA) e todas as análises foram realizadas em espectrofotômetro em um comprimento de onda de 595 nm. Todas as concentrações foram analisadas em triplicata.

Para quantificar o conteúdo de proteínas da amostra, foram utilizadas soluções de 1 mg/mL dos PS. A partir dessas soluções, 0,1 mL foi adicionado a 2,5 mL de solução de Bradford e após 10 minutos foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 595 nm. A análise foi realizada em triplicata (Figura 16). A estimativa das concentrações de proteínas foi realizada através da correlação entre as leituras obtidas das soluções contendo as amostras e as da curva padrão de BSA.

Figura 16 - Esquema de quantificação do conteúdo de proteínas contaminantes



Fonte: Elaborada pelo autor.

4.3.3 Quantificação do conteúdo de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre

A porcentagem de carbono, nitrogênio, hidrogênio e enxofre no PS foi estimada usando um analisador CHNS PerkinElmer 2400 Series II (PerkinElmer, Waltham, MA, EUA). A análise foi realizada de acordo com Maciel et al. (2008). O grau de sulfatação foi determinado baseado nos percentuais de carbono (C%) e enxofre (S%) a partir da equação abaixo:

$$\text{Teor de sulfato \%} = \frac{(\text{S\%} / \text{massa atômica S})}{(\text{C\%} / \text{massa atômica do Cx12})} = 4.5 \times \left[\frac{(\text{S\%})}{(\text{C\%})} \right] \text{ Eq.(3)}$$

Para a determinação do grau de sulfatação por unidade dissacarídica repetitiva é necessário o conhecimento da estrutura do PS, que é formado por dissacarídeos contendo um β -D-galactopiranosose (Unid A) com outro α -L-galactopiranosose ou 3,6-anidro- α -L-galactopiranosose (Unid B). Visto que o teor de sulfatação é definido como o número de OSO_3^- , ou átomos de enxofre, por unidade AB, com 12 átomos de carbono, então o número 12 multiplicado pela massa atômica do carbono corresponde ao número de carbonos por unidade dissacarídica.

Para determinação, em microanálise, do conteúdo de proteínas utilizou-se a porcentagem de N utilizando o fator de correção de 6,25, conforme proposto por Marks, Buchsbaum e Swain (1985).

4.3.4 Determinação da massa molar por cromatografia de permeação em gel

A determinação da massa molecular média dos PS foi realizada por cromatografia de permeação em gel (GPC) com concentração de 1mg/mL em 0,1 M de NaNO_3 como solvente. A cromatografia ocorreu em equipamento Shimadzu em temperatura ambiente usando uma coluna Ultrahydrogel linear (7,8 x 300 mm), com fluxo de 0,5 mL/min. Um refratômetro diferencial e um fotômetro de raios ultravioleta (a 280 nm) foram utilizados como detectores e o volume de eluição corrigido para o marcador interno de etileno glicol a 11,25 mL. Foram utilizadas amostras de pululanas (Shodex Denko-marca de colunas de HPLC e é mais conhecida por colunas inovadoras de cromatografia de exclusão de tamanho e análise de açúcar), homopolissacarídeos lineares isolados do fungo *Aureobasidium pullulans* (LEATHERS, 2003) de diferentes massas molares, em intervalo de grandeza de 103a 106 g/mol. A equação obtida da curva de calibração foi $\log MM = +13,94 - 1,007.V_{EL}$, onde V_{EL} é o volume de eluição em mL. O coeficiente linear obtido para esta equação foi de $- 0,992$.

4.3.5 Caracterização química por espectroscopia de absorção na região do infravermelho

Os espectros na região do infravermelho foram obtidos com espectrômetro de Infravermelho com transformada de Fourier da Shimadzu, modelo

FTIR-8300, apresentando uma região espectral de 4000 a 400 cm^{-1} . Pastilhas de Brometo de Potássio (KBr) foram utilizadas para a análise da amostra.

4.3.6 Determinação da estrutura química por ressonância magnética nuclear

Os espectros de Ressonância Magnética Nuclear de Prótio (RMN ^1H) e de Carbono-13 (RMN ^{13}C), uni e bidimensionais, foram obtidos em espectrômetro Agilent DD2 de 600 MHz (para núcleo de ^1H), equipado com uma sonda One Probe de 5 mm de diâmetro interno (H-F/15N-31P), de detecção inversa, e gradiente de campo no eixo “z”, pertencente ao Laboratório Multiusuário de Química de Produtos Naturais (LMQPN) da Embrapa Agroindústria Tropical. O PS da alga marinha *Acanthophora spicifera* foi dissolvido em água deuterada D_2O a 2,5% m/v.

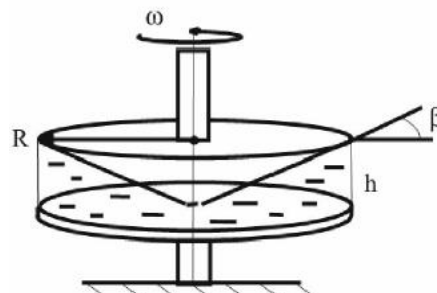
4.3.7 Propriedades reológicas do polissacarídeo sulfatado de *A. spicifera*

4.3.7.1 Análise Reológica - Estado Estacionário

As análises reológicas em regime estacionário foram realizadas em um reômetro rotacional (Ares, TA Instruments, New Castle, USA), usando a geometria cone-prato (50 mm de diâmetro, ângulo do cone medindo 0,0399 rad e lacuna de 0,0553 mm), verificado na Figura 17. Todas as medidas foram realizadas a $25 \pm 1^\circ\text{C}$.

Foi realizada a curva viscosidade por taxa de cisalhamento. Range de 0 a 1000 s^{-1} .

Figura 17 - Sistema cone-prato.



Fonte: BRUMMER (2006).

4.3.7.2 *Análise Reológica - Estado Dinâmico*

Testes dinâmicos foram realizados para a avaliação do comportamento do módulo de armazenamento (G') em função da frequência. As varreduras de frequência foram realizadas na região linear viscoelástica (RVL) verificando através das amostras do polissacarídeo sulfatado da alga marinha *Acanthophora spicifera* a formação ou não de géis.

4.3.7.3 *O Efeito da temperatura em relação à viscosidade*

O efeito da temperatura na viscosidade, sobre as amostras PS 1%, PS 2% e PS 3% da *A. spicifera* foi descrito pela equação de Arrhenius. A equação de Arrhenius envolve a temperatura absoluta (T), a constante universal dos gases (R), o fator pré-exponencial (η_0) e a energia de ativação para viscosidade (E_{at}), (STEFFE, 1996).

4.4 **Atividade Antioxidante *in vitro***

4.4.1 **Ensaio de quelação do íon ferroso**

A capacidade de quelação de íons férricos do PS foi determinada de acordo com o método de Chew et al. (2008), com algumas modificações. Resumidamente, foram adicionados 1 mL de sulfato ferroso (0,1 mM) e 1 mL de ferrozina (0,25 mM) ao PS (0,125, 0,25, 0,5, 1, 2 e 4 mg/mL). Após 10 min a temperatura ambiente, a absorbância da mistura foi medida a 562nm contra o branco (água destilada e reagentes). O ácido etilenodiaminotetracético (EDTA) foi utilizado como controle positivo. Todas as reações foram realizadas em triplicata e os resultados foram expressos como porcentagem de atividade quelante como mostrado abaixo:

$$\text{Atividade quelante (\%)} = [A0 - (A1 - A2) / A0] \times 100 \text{Eq. (4)}$$

Onde $A0 = \text{FeSO}_4 + \text{Ferrozina}$; $A1 = \text{PS ou EDTA} + \text{FeSO}_4 + \text{Ferrozina}$; e $A2 = \text{PS ou EDTA sem FeSO}_4 + \text{Ferrozina}$

4.4.2 Ensaio de capacidade antioxidante total pela formação complexo fosfomolibdênio

O ensaio de capacidade antioxidante total foi realizado através da formação do complexo fosfomolibdênio descrito por Prietro, Pineda e Aguilar (1999). Adicionou-se 300 µL da amostra (PS 0,125,0,25,0,5,1,2 e 4mg/mL) a uma solução de 3 mL contendo os seguintes reagentes: solução de molibdato de amônio (4 mM), ácido sulfúrico (0,6 M) e fosfato de sódio (28 mM). Após 90 min a 95 °C a mistura foi arrefecida e a sua absorbância foi determinada (695 nm). O ácido ascórbico (AA) foi utilizado como controle positivo e seu potencial antioxidante foi considerado como 100% de atividade antioxidante. Todas as reações foram realizadas em triplicatas. Os resultados foram expressos em capacidade antioxidante total (%) e calculados através da seguinte fórmula:

$$\text{Capacidade antioxidante total (\%)} = [(A1 - A2) / (A0 - A2)] \times 100 \text{ Eq.(5)}$$

Onde A0 = A.A; A1 = PS; e A2 = Branco

4.4.3 Ensaio de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo-hidrato (DPPH)

O sequestro do radical livre 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo-hidrato (DPPH) foi avaliado de acordo com o método descrito por Blois (1958), com algumas modificações. Este método de análise se fundamenta na medida da capacidade antioxidante de uma substância em conseguir sequestrar o radical DPPH, reduzindo este a uma hidrazina. A hidrazina é atingida quando ocorre a mudança na coloração, a qual passa de violeta para amarelo pálido. Isto ocorre quando uma determinada substância que está agindo como doadora de átomos de hidrogênio é acrescentada a uma solução de DPPH (ALVES et al, 2010).

O efeito no sequestro do radical livre DPPH (%) foi calculado através da seguinte fórmula:

$$\text{Atividade de eliminação do radical DPPH (\%)} = [A0 - (A1 - A2) / A0] \times 100 \text{ Eq. (6)}$$

Onde A0 = DPPH; A1 = PS ou BHT + DPPH; e A2 = PS ou BHT sem DPPH

4.5 Análise estatística

Os dados obtidos do ensaio antioxidante *in vitro* foram expressos como média \pm S.E.M analisados estatisticamente através da análise de variância (ANOVA) utilizando o programa GraphPad Prism versão 5.0. Valores de $p < 0,05$ foram definidos como estatisticamente significativos.

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Rendimento

A partir de 10g de massa seca da alga *Acanthophora spicifera* foram obtidos 2,40g de polissacarídeos sulfatados totais, correspondendo a um rendimento de 24%. Esse rendimento situa-se na faixa entre valores obtidos em outras algas, conforme mostra a Tabela 2.

Tabela 2 - Rendimento de polissacarídeos sulfatados em espécies de algas vermelhas

Espécie	Local	Rendimento (%)	Referência
<i>Acanthophora spicifera</i>	Brasil	24,0	Presente estudo
<i>Acanthophora muscooides</i>	Brasil	11,6	QUINDERÉ et al., 2013

Fonte: Elaborada pelo autor.

O rendimento de polissacarídeo sulfatado de algas pode ser influenciado por diversos fatores como o tipo de espécie, a metodologia empregada na extração, estágio de vida da alga, variações sazonais e também o habitat natural das espécies. O rendimento obtido nesse estudo está em conformidade com os valores encontrados para outras espécies de algas marinhas vermelhas da costa brasileira, que apresentaram rendimento variando de 2,4 a 46% (MARINHO-SORIANO; BOURRET, 2003).

A metodologia empregada na extração do polissacarídeo, pode explicar a diferença no rendimento encontrado neste estudo (24,0%), comparado ao valor de 11,6% encontrado por Quinderé et al. (2013) para os polissacarídeos sulfatados da alga *Acanthophora muscooides* obtidos por extração aquosa a 100 °C. Em geral, na extração aquosa esperam-se maiores rendimentos de polissacarídeos, pois envolve um número bem menor de etapas durante o processo. O resultado encontrado no presente estudo demonstrou que *Acanthophora spicifera* apresenta alto rendimento na extração enzimática de polissacarídeo.

5.2 Análise química do polissacarídeo sulfatado

5.2.1 Quantificação do conteúdo de carboidratos

A composição química de carboidratos (galactose) do PS foi precipitada com acetona de *Acanthophora spicifera* correlacionadas com a curva de calibração, apontam para um percentual de 75.3% de carboidratos (de galactose). Em outro estudo, foi encontrado teor de açúcar 52,65% para *Gracilaria debilis* (SUDHARSAN et al., 2015). A quantidade de carboidrato pode variar devido às condições experimentais utilizadas na extração dessas moléculas (RODRIGUES et al., 2011).

5.2.2 Quantificação do conteúdo de proteínas contaminantes

A quantificação espectrofotométrica de proteínas na solução do PS foi correlacionada com a curva de calibração de BSA. O PS apresentou resultado negativo no teste de Bradford, demonstrando a possível ausência de proteínas na amostra. Baixas quantidades de proteínas são observadas após extração enzimática com papaína como foi demonstrado nos trabalhos de nosso grupo de pesquisa (BARROS et al., 2013; SOUSA et al., 2016). O alto teor de carboidratos e a possível ausência de proteínas demonstram a eficiência do método de extração enzimática, evidenciando a pureza do material obtido. Além disso, evidencia que nesse caso não foram necessários passos extras de purificação para a obtenção de uma molécula com considerável grau de pureza.

5.2.3 Quantificação do conteúdo de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre

As amostras do PS apresentaram 6,48% de enxofre, 4,95% hidrogênio e 23,76% de carbono, permitindo assim calcular o grau de sulfatação (DS) do material, correspondente a 0,28 (Tabela 3). O grau de sulfatação obtido foi conforme o esperado, pois, em geral, agaranas apresentam alta sulfatação em sua estrutura.

O grau de sulfatação encontrado para o PS de *Acanthophora spicifera* foi maior que o valor encontrado por Barros et al. (2013) para os polissacarídeos sulfatados com DS de 0,13 da alga *Gracilaria caudata* obtidos por extração aquosa. Em outro estudo, Maciel et al. (2008) encontrou para os polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *Gracilaria birdiae* um grau de sulfatação com DS de 0,22.

Tabela 3 - Análises químicas do polissacarídeo sulfatado de *Acanthophora spicifera*

Amostra	Rendimento (%)	Carboidratos (%) ^a	Proteínas (%) ^b	Sulfato (DS) ^c	Análises CHNS (%) ^c			
					C	H	N	S
PS	24	23,76	nd	0,28	23,76	4,95	nd	6,48

^aDeterminado de acordo com Albalasmeh, Berhe e Ghezzehei (2013).

^bDeterminado de acordo com Bradford (1976).

^cDeterminado por microanálise de acordo com Maciel et al.(2008).

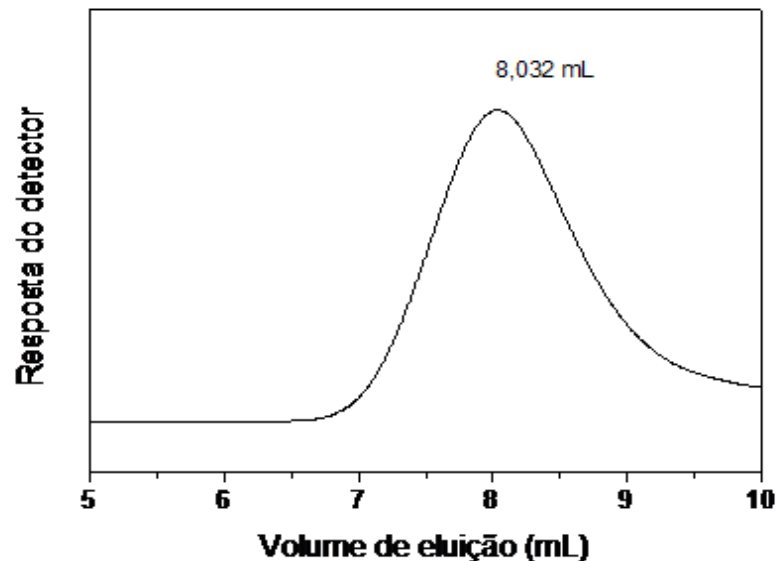
Fonte: Elaborada pelo autor.

A microanálise confirmou a ausência de nitrogênio na amostra, confirmando a ausência de contaminantes proteicos como já havia sido evidenciado pelo método colorimétrico, demonstrando o alto grau de pureza dos polissacarídeos sulfatados obtidos de *A. spicifera*.

5.2.4 Determinação da massa molar por cromatografia de permeação em gel

Os polissacarídeos, por serem polímeros naturais, são polidispersos, o que significa que não exibem massas molares precisamente definidas, mas sim uma média das massas molares que representa uma distribuição das espécies moleculares quase idênticas sem estrutura, mas variando de comprimento de cadeia (STANLEY, 2006). O perfil cromatográfico do PS é apresentado na Figura 18. O cromatograma mostra um único pico com volume de eluição de 8,032 mL no seu ápice, comportando-se como um sistema homogêneo. A massa molar do pico foi estimada em 364 kDa. Essa massa molar está dentro de uma faixa esperada, já que macromoléculas biológicas já são conhecidas por possuírem alta massa molar (10^4 a 10^{10} g/mol) (CHANG, 2009). O valor encontrado foi superior ao dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha vermelha *G. caudata* obtidos por extração aquosa que tiveram sua massa molar estimada em 250 kDa (BARROS et al., 2013).

Figura 18 - Perfil cromatográfico do polissacarídeo sulfatado da alga *Acanthophora spicifera* em cromatografia de permeação em gel

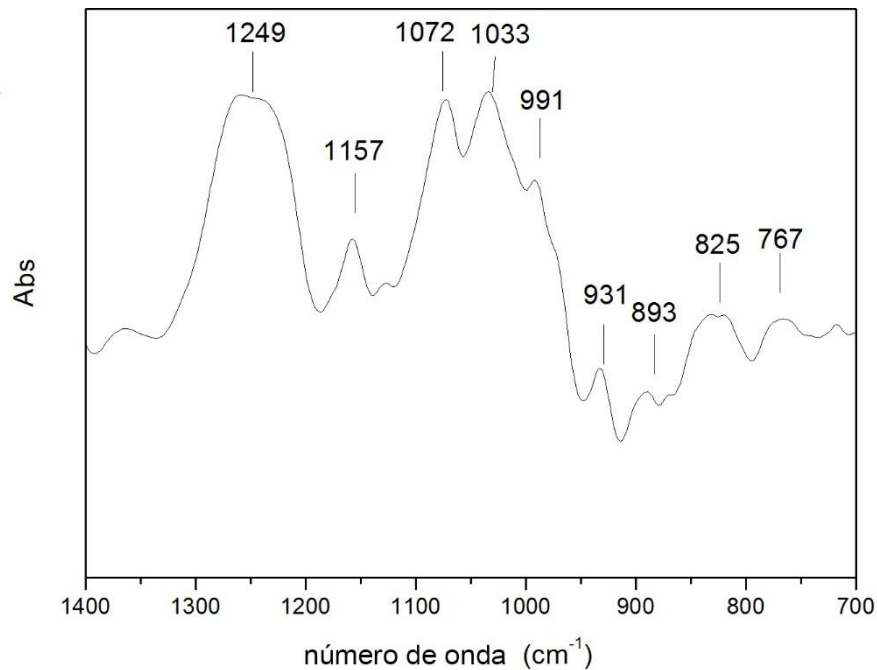


5.2.5 Caracterização química por espectroscopia de absorção na região do infravermelho

A espectroscopia vibracional na região do infravermelho é uma técnica bastante útil para a elucidação de estruturas de compostos químicos e é uma das técnicas mais úteis para a identificação de componentes estruturais em polissacarídeos (PEREIRA et al., 2011). O espectro infravermelho de um composto químico é bastante característico para a molécula em questão e pode ser utilizado como assinatura química da mesma. Por isso, a espectroscopia na região do infravermelho possui extensa aplicação na identificação de compostos químicos (SOLOMONS, 2001). Também é bastante utilizada por ser uma técnica que necessita de pequenas quantidades de amostra (miligramas) e por ser um método não agressivo, com alta confiabilidade. Em polissacarídeos sulfatados de algas vermelhas, as bandas do espectro de FT-IR podem ser utilizadas para distinguir algas produtoras de carragenanas e agaranas (GOMEZ-ORDOÑEZ; RUPEREZ, 2011). A Figura 19 mostra os espectros na região do infravermelho de PS expandidos na região de bandas entre 1400 e 700 cm^{-1} para melhor identificar os grupos sulfatados presentes. A Tabela 4 indica as atribuições dadas aos picos obtidos. O espectro de infravermelho do PS apresentou perfis de bandas semelhantes as que são relacionadas aos polissacarídeos de algas. A partir do

espectro é possível deduzir que o polissacarídeo é um ágar, devido à presença da banda encontrada a 893 cm^{-1} , correspondente ao grupo dos ágares (MOLLET; RHAOUI; LEMOINE, 1998).

Figura 19 - Espectros FT-IV em pastilhas de KBr do polissacarídeo de *Acanthophora spicifera* na região e número de onda de 1400–700



Fonte: Elaborada pelo autor.

A análise do espectro foi possível pela comparação com dados da literatura vistos, em resumo, na tabela abaixo (Tabela 4). O espectro de absorção na região do infravermelho do PS sugeriu bandas comuns às que são relacionadas aos polissacarídeos de algas: 1249, 1157, 1072, 931 e 893 cm^{-1} . A banda com número de onda de 1072 cm^{-1} é atribuída ao esqueleto carbônico de polissacarídeos do tipo galactana, enquanto a banda com número de onda de 931 cm^{-1} , encontrada no espectro do PS, é característica de açúcar do tipo 3,6-anidrogactose (CHOPIN; WHALEN, 1993; PRADO; FERNANDES; NATALE, 2003; ROCHAS; LAHAYE; YAPHE, 1986).

Tabela 4 - Atribuições no espectro do infravermelho para polissacarídeo sulfatado de algas marinhas

Número de onda (cm ⁻¹)	Atribuições	Referências
1249,1157	Éster Sulfato	Prado; Fernandes; Natale, 2003; Rochas; Lahaye; Yaphe, 1986.
1157	O = S = O (estiramento assimétrico)	Chopin; Whalen 1993; Prado; Fernandes; Natale, 2003; Rochas; Lahaye; Yaphe, 1986.
1072, 1033	Esqueleto de galactanas (C -O + C - OH)	Mollet; Rahaoui; Lemoine, 1998; Prado; Fernandes; Natale, 2003; Rochas; Lahaye; Yaphe, 1986.
991, 931	C - O - C de 3,6-anidrogactose	Chopin; Whalen 1993; Prado; Fernandes; Natale, 2003; Rochas; Lahaye; Yaphe, 1986.
893	Banda específica do ágar	Prado; Fernandes; Natale, 2003.
825	Galactose-4-sulfato	Prado; Fernandes; Natale, 2003; Villanueva et al., 2010.
767	Galactose-6-sulfato	Chopin; Whalen 1993; Prado; Fernandes; Natale, 2003; Rochas; Lahaye; Yaphe, 1986.

Fonte: Elaborada pelo autor.

A análise do espectro de infravermelho revela que o PS pertence ao grupo dos ágares, devido à banda observada com número de onda 893 cm⁻¹ (CHRISTIAEN; BODARD, 1983), além de evidenciar a presença de grupamentos sulfato na molécula, percebidos pelas bandas com números de onda de 1157 cm⁻¹ e 1249 cm⁻¹ (CHOPIN; WHALEN, 1993; LLOYD et al., 1961). A baixa intensidade dessas bandas sugere que o OS possui um pequeno grau de sulfatação. Esse resultado foi confirmado pelo grau de sulfatação (0,28) determinado por microanálise elementar.

A região entre 700 e 850 cm⁻¹ é usada para inferir a posição dos grupos sulfato em polissacarídeos do tipo ágar. A banda em 825 cm⁻¹ pode ser atribuída a 4-O-sulfato de resíduo de D-galactose, enquanto que a banda em 767 cm⁻¹ pode ser atribuída a 6-O-sulfato da unidade de L-galactose (LLOYD et al., 1961).

A análise do PS por espectroscopia de Infravermelho sugeriu que grupos sulfato ocorrem em C-6 dos resíduos de L-galactose, devido à presença de um sinal de baixa intensidade na região em 800 cm⁻¹. Os resíduos de 6-sulfato- α -L-galactose

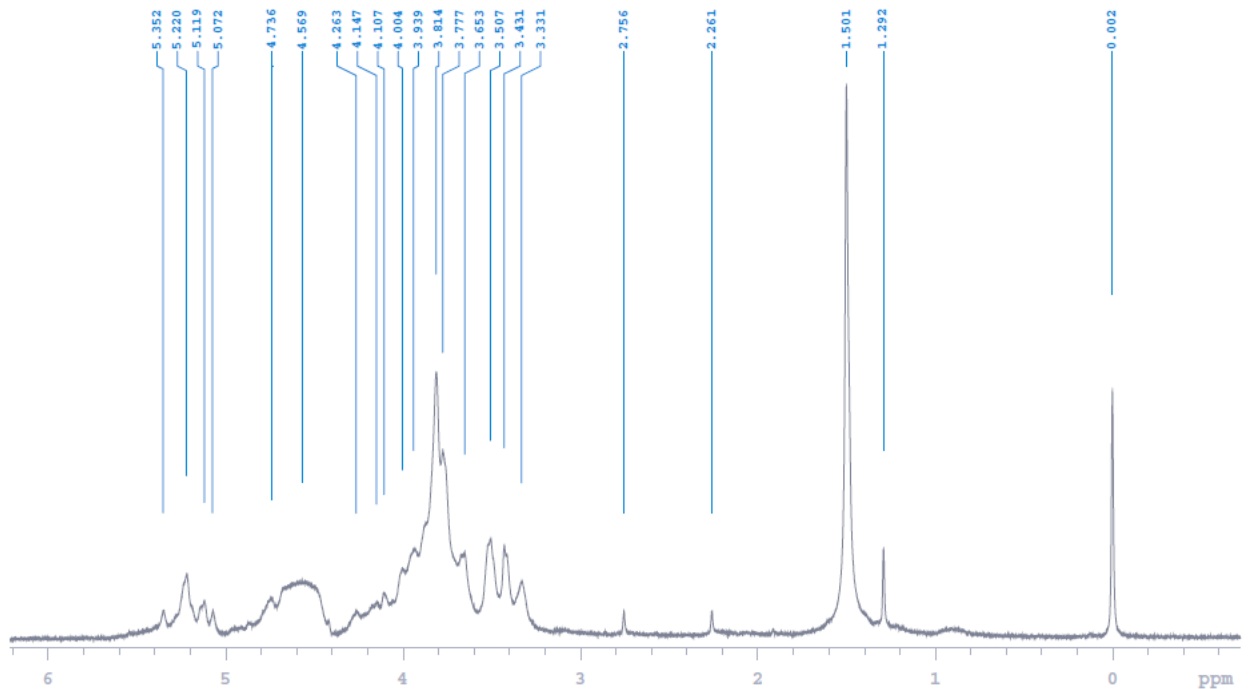
são conhecidos por serem precursores dos resíduos de 3,6-anidro- α -L-galactose (TALARICO et al., 2004).

Os polissacarídeos sulfatados de *Acanthophora spicifera* não apresentaram nenhum sinal resolvido em 750 e 880 cm^{-1} indicando a ausência de sulfatação em C-2 de 3,6-anidro-L-galactose e no C-4 da unidade D-galactose (LLOYD et al., 1961).

5.2.6 Determinação da estrutura química por ressonância magnética nuclear (RMN) de ^1H e ^{13}C

O espectro de RMN de ^1H do PS (Figura 20) revela picos em 5,119 e 4,107 ppm, indicativos de prótons anoméricos de 3,6- α -L-anidrogalactose (LA) e β -D-galactose (G) ligado a LA, respectivamente. Já o sinal em 5,352 ppm é atribuído a próton anomérico do resíduo L-galactose (IZUMI, 1973). O espectro de RMN ^1H também mostrou sinais resolvidos em 3,431 e 3,507 ppm, característicos de metilação, atribuídos a prótons de grupamentos metil ligados a C-6 de β -D-galactose (G6M) e C-2 de 3,6-anidrogalactose (LA2M), respectivamente. O sinal intenso em 1,501 ppm é representativo de próton metílico do acetal de ácido pirúvico ligado nas posições C4 e C6 de β -D-galactose.

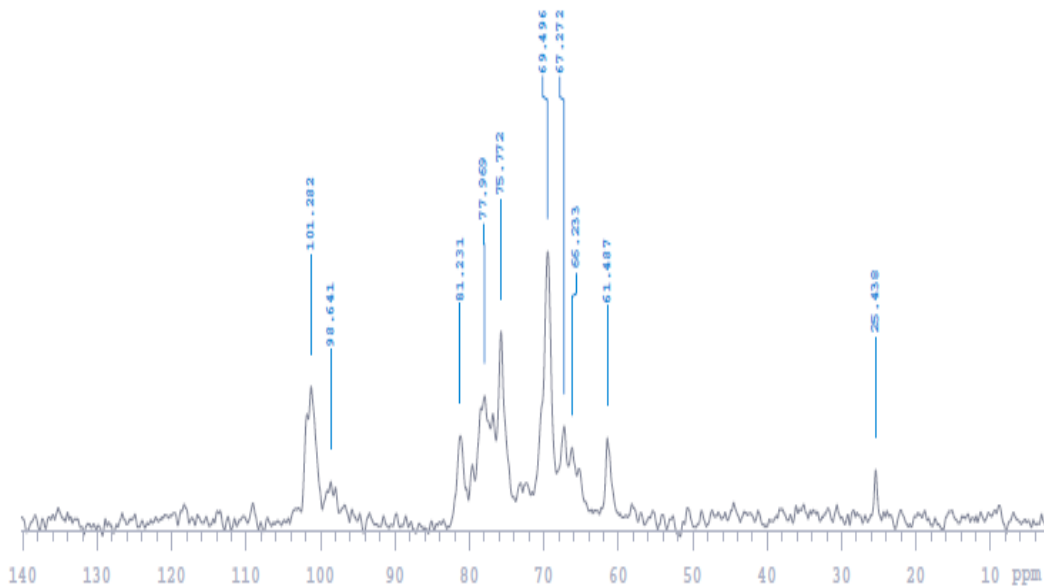
Figura 20 - Espectro de RMN de ^1H do polissacarídeo sulfatado da alga *Acanthophora spicifera*



Fonte: Elaborada pelo autor.

O espectro de RMN de ^{13}C (Figura 21) dos polissacarídeos sulfatados totais de *A. spicifera* sugeriu um padrão típico de ágar com 8 sinais, relacionados aos carbonos oriundos da agarose (USOV; YAROTSKY; SHASHKOV, 1980). Os sinais em 98,641; 77,969; 81,231 e 66,233 ppm correspondem aos carbonos C (1-6) da unidade β -D-galactose (G), enquanto os sinais em 101,282; 77,969; 69,496 e 67,272 ppm correspondem aos carbonos C (1-6) da unidade 3.6- α -L-anidrogalactose (LA). Sinais adicionais no espectro sugerem a presença de grupos substituintes na estrutura repetitiva da agarose. O sinal em 25,438 indica a presença de ácido pirúvico neste polissacarídeo.

Figura 21 - Espectro de RMN de ^{13}C do polissacarídeo sulfatado da alga *Acanthophora spicifera*



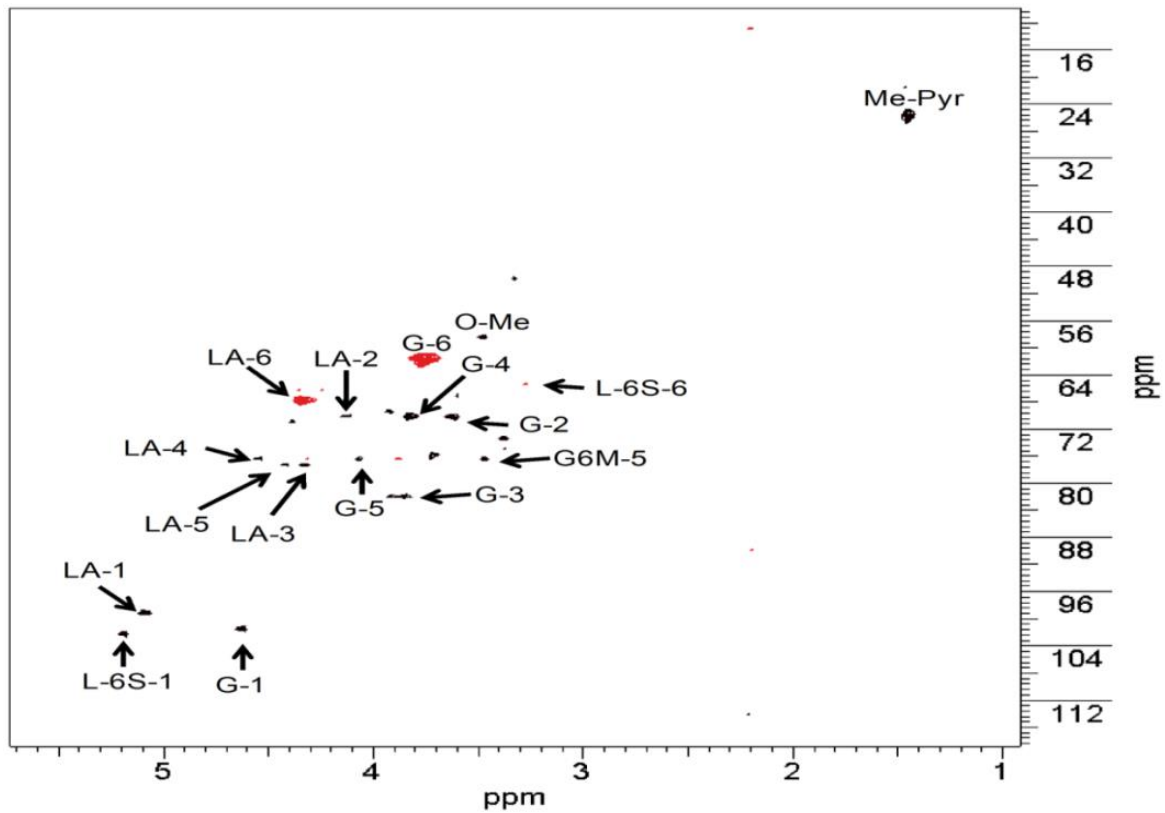
Fonte: Elaborada pelo autor.

A ressonância em 75,772 ppm no espectro de ^{13}C RMN foi atribuído ao carbono C-6 dos resíduos de β -D-galactose-6-O-metil (USOV; IVANOVA; SHASHKOV, 1983), porém o PS não apresentou sinal no espectro de ^{13}C RMN para resíduos de 2-O-metil- α -L-anidrogactose.

O PS não apresentou sinal em 61,487 ppm, descrito para resíduos de 4-O-metil- α -L-galactose (IZUMI, 1973), demonstrando a ausência de grupamentos metil nessa posição. Em adição, a falta de sinais em 97,51; 102,87 e 77,77 ppm, atribuídos a β -D-galactose-4-sulfato, indica que o PS não apresenta sulfatação em C-4 dos resíduos de β -D-galactose. Esse resultado corrobora com os dados obtidos no experimento de FT – IR.

Através do espectro bidimensional de correlação heteronuclear HSQC de ^1H - ^{13}C (figura 22) foi possível confirmar algumas atribuições de deslocamentos químicos, permitindo associar de forma convincente importantes absorções de hidrogênios com seus respectivos carbonos, conforme mostra a tabela 5.

Figura 22-¹H - ¹³C HSQC do polissacarídeo extraído da alga marinha *Acanthophora spicifera*



Fonte: Elaborada pelo autor.

De acordo com os dados obtidos através dos espectros de RMN e dados da literatura, podemos concluir que o PS é polissacarídeo sulfatado do tipo ágar, formado principalmente por repetições dos resíduos de (1→3) β-D-galactopiranosose e α (1 → 4) - 3,6-anidro-α-L-galactose, com substituições desses monossacarídeos por β-D-galactopiranosose-6-metil (G-6M), e α-L- galactose-6-sulfato (L-6S), além de apresentarem substituições por acetal de ácido pirúvico em sua unidade de β-D-galactopiranosose.

Tabela 5 - Assinalamentos de RMN de ^1H e ^{13}C para o PS de *A. spicifera*

Resíduo ^a	^1H Deslocamento químico (ppm)						
	H-1	H-2	H-3	H-4	H-5	H-6	O-Me
β -D-galactose (G)	4,7	3,7	3,8	4,0	b	3,9	-
3,6 α -L-anidrogalactose (LA)	5,1	4,1	4,3	4,5	4,6	4,7	-
Galactose-6 sulfato (L-6S)	5,2	b	b	b	b	3,3	-
β -D-galactose-6-O-metil (G6M)	b	b	b	b	3,7	b	3,4
	^{13}C Deslocamento químico (ppm)						
	C-1	C-2	C-3	C-4	C-5	C-6	O-Me
β -D-galactose (G)	102,4	70,2	82,2	68,7	75,4	61,4	-
3,6 α -L-anidrogalactose (LA)	98,3	68,9	79,0	77,3	75,6	69,4	-
Galactose-6 sulfato (L-6S)	104,0	b	b	b	b	64,0	-
β -D-galactose-6-O-metil (G6M)	b	b	b	b	75,0	b	59,1

^aNomenclatura proposta por Knutsen et al. (1994).

^bEsse sinal pode ter sido sobreposto por sinais de unidades não substituídas.

Fonte: Elaborada pelo autor.

5.3 Propriedades reológicas do polissacarídeo sulfatado

Os ensaios reológicos em estado dinâmico e estacionário foram realizados em um reômetro rotacional (Ares, TA Instruments, New Castle, USA), usando a geometria cone-prato (50 mm de diâmetro, ângulo do cone medindo 0,0399 rad e lacuna de 0,0553 mm).

5.3.1 Análise em regime estacionário

O resultado das análises em regime estacionário que correspondem à relação entre a viscosidade e taxa de cisalhamento está mostrada na Figura 23.

As amostras PS 1%, PS 2% e PS 3% de *A. spicifera* apresentaram comportamentos de fluido Não-Newtoniano ao modelo de Plástico de Bingham, devido apresentar uma tensão inicial para começar a escoar e não possuem uma relação de linearidade entre a tensão de cisalhamento e a taxa de deformação (SCHRAMM, 2006).

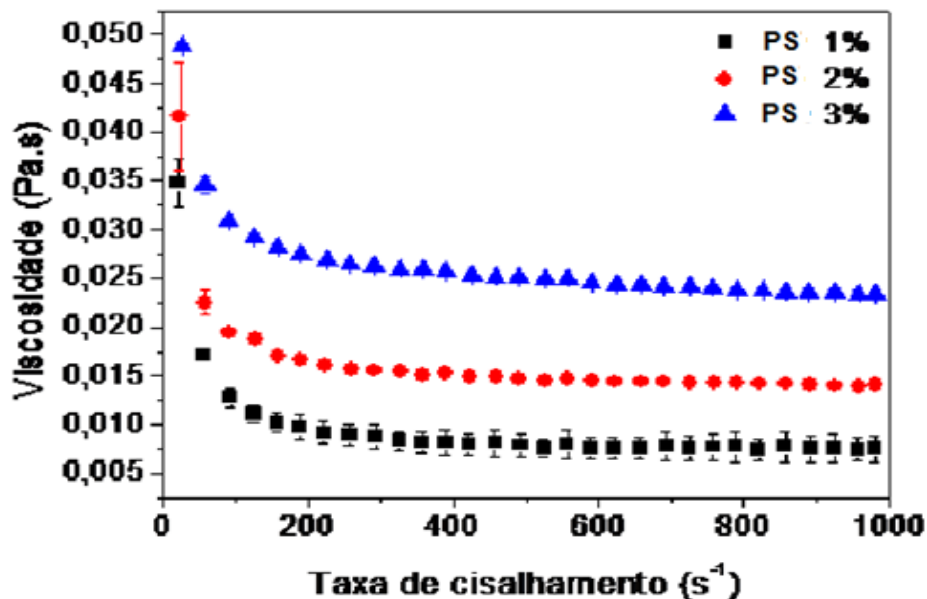
As amostras também apresentaram características tixotrópicas, em função das diferenças de tensão e viscosidade entre as curvas de taxa ascendente e

descendente. Este fenômeno, conhecido por histerese e pode ser quantificado como a área entre as curvas de fluxo. Quanto maior a área compreendida entre as curvas, maior o efeito tixotrópico (HOLDSWORTH, 1993).

As demais amostras PS 1% e PS 2% apresentaram valor de histerese em uma ordem de grandeza menor. Observou-se que a amostra PS 3% tem maior valor de viscosidade e foi a que apresentou característica tixotrópica mais evidente, representada pela maior área de histerese calculada.

Tal fato pode ser explicado pelos maiores valores de viscosidade obtidos para a amostra PS 3%, o que permite um aumento relativo desta grandeza mais significativa durante o cisalhamento.

Figura 23 -Curva relação entre a viscosidade e taxa de cisalhamento das amostras PS 1%, PS 2% e PS 3% de *Acanthophora spicifera*



Fonte: Elaborada pelo autor.

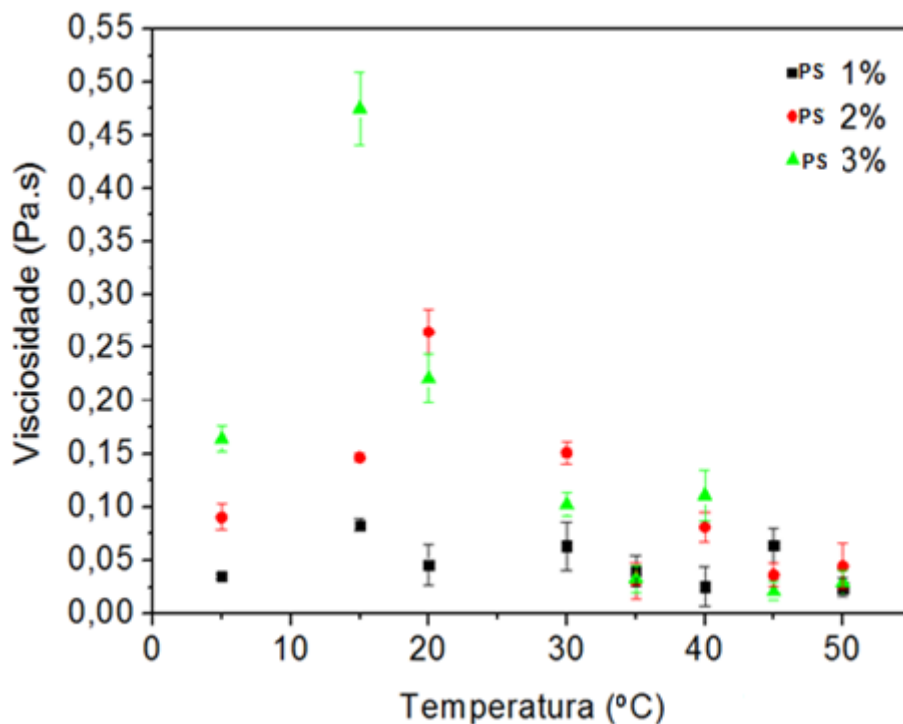
5.3.2 Análise em regime dinâmico

Os espectros mecânicos obtidos por reologia dinâmica são uma das medidas mais comuns para o estudo do comportamento viscoelástico de alimentos porque os resultados obtidos são muito sensíveis à composição química e à estrutura física. Observou-se que o resultado das análises de PS da *Acanthophora spicifera* não apresentou o módulo de armazenamento G' , ou seja, não formou gel, sendo um agente espessante.

5.3.3 Efeito da temperatura em relação à viscosidade

Durante o processamento, as amostras de PS 1%, PS 2% e PS 3% de *Acanthophora spicifera* em solução aquosa (líquido), foram submetidas às temperaturas (0° a 50° C) verificadas na Figura 24. O aumento da temperatura levou à redução da viscosidade aparente (η_{ap}) e do índice de consistência (k), obedecendo à equação de Arrhenius. O melhor resultado foi para a amostra de PS 3% (a 50°C-0,025). Do ponto de vista industrial, a diminuição da viscosidade facilita o escoamento e a troca de calor durante o processamento. Sabe-se que, quanto menor a viscosidade de um fluido, menor é a perda de carga durante o escoamento, o que resulta em menor gasto de energia.

Figura 24 - Influência da temperatura em relação à viscosidade para as amostras PS 1%, PS 2% e PS 3% de *Acanthophora spicifera*



Fonte: Elaborada pelo autor.

5.4 Atividade antioxidante *in vitro*

5.4.1 Ensaio de quelação do íon ferroso

A figura 13 mostra a habilidade de quelação do íon ferroso do PS extraídos da alga *A. spicifera*. Foi realizado a quelação do íon ferroso com o composto antioxidante 5 mM EDTA (ácido etilenodiamino tetra-acético). O PS na maior concentração testada (4 mg/mL) obteve máxima quelação de ferro (53,41%), entretanto, esse valor foi muito menor quando comparado com o controle.

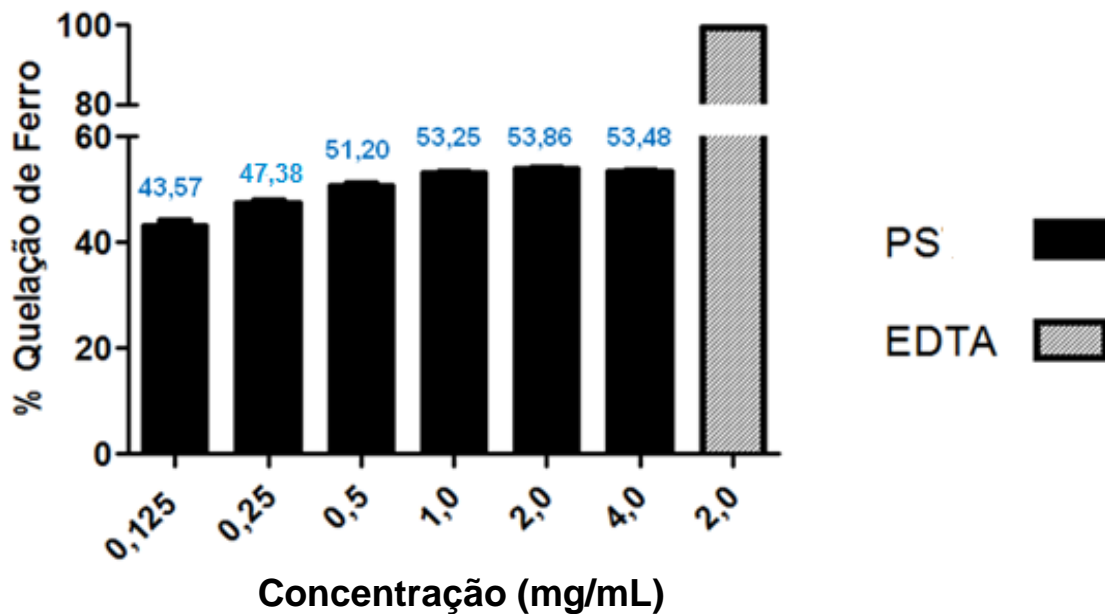
Nos estudos realizados por Castro (2014) e Qi et al. (2005b), os autores sugerem que a atividade na quelação de íon ferroso em polissacarídeos oriundos de algas marinhas, está associado ao teor de sulfatação presente na estrutura química desses compostos de origem natural.

A atividade quelante se resume à capacidade de um composto capturar íons metálicos presentes no meio, impossibilitando assim que o mesmo reaja com outras substâncias. Nos sistemas biológicos, alguns íons metálicos agem causando danos oxidativos, como nas lesões gástricas induzidas por etanol, através da catalisação de reações desfavoráveis ao organismo ou inativando enzimas (CHEW et al. 2008).

Estudos sobre mecanismos de lesão oxidativa confirmam a ação catalítica dos metais pesados em processos patológicos (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 1989). O ferro é o íon mais importante como pré-oxidante da peroxidação lipídica, que ocorre segundo a reação de Fenton ($\text{Fe}^{2+} + \text{H}_2\text{O}_2 \rightarrow \text{Fe}^{3+} + \text{OH}^- + \bullet\text{OH}$), devido à sua alta reatividade (CHUN-HUI et al., 2007). A peroxidação lipídica está associada a vários processos patológicos em sistemas biológicos (ZHANG et al., 2011).

O PS mostrou alta capacidade de quelação do íon ferroso de forma concentração-dependente (0,125-4 mg/mL/43,57-53,48%). Na menor concentração testada o PS exibiu um potencial de quelação de 43,57%. Na maior concentração testada o PS mostrou um considerável potencial antioxidante de 53,48% (Figura 25).

Figura 25 - Habilidade de quelação do íon ferroso do PS extraído da alga *A. spicifera*



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados são expressos em porcentagem (%) como média + S.E.M. (n=3), analisados por ANOVA e teste de Borferroni (*p<0,05). Os diferentes valores acima das barras indicam diferenças significativas entre as concentrações. Os resultados do PS (0,125-4 mg/mL) foram comparados com o EDTA (2 mg/mL).

Os resultados corroboraram com o fato de que o polissacarídeo tem potencial antioxidante sobre íons de ferro e cobre, atuando através do mecanismo de inibição da geração de radicais livres (WANG et al., 2016). Além disso, os compostos contendo na sua estrutura mais de um dos seguintes grupos funcionais: -OH, -SH, -COOH, -PO₃H₂, -C = O, -NR₂, -S- e -O-, são moléculas com potencial promissor sobre quelação de íon ferroso (GÜLÇIN, 2006). A caracterização química e estrutural do PS confirmou a presença de alguns dos grupos funcionais, acima mencionados, no esqueleto químico dos polissacarídeos sulfatados obtidos de *A. spicifera*, justificando seu considerável poder em quelar íon ferroso.

5.4.2 Ensaio de capacidade antioxidante total pela formação do complexo fosfomolibdênio

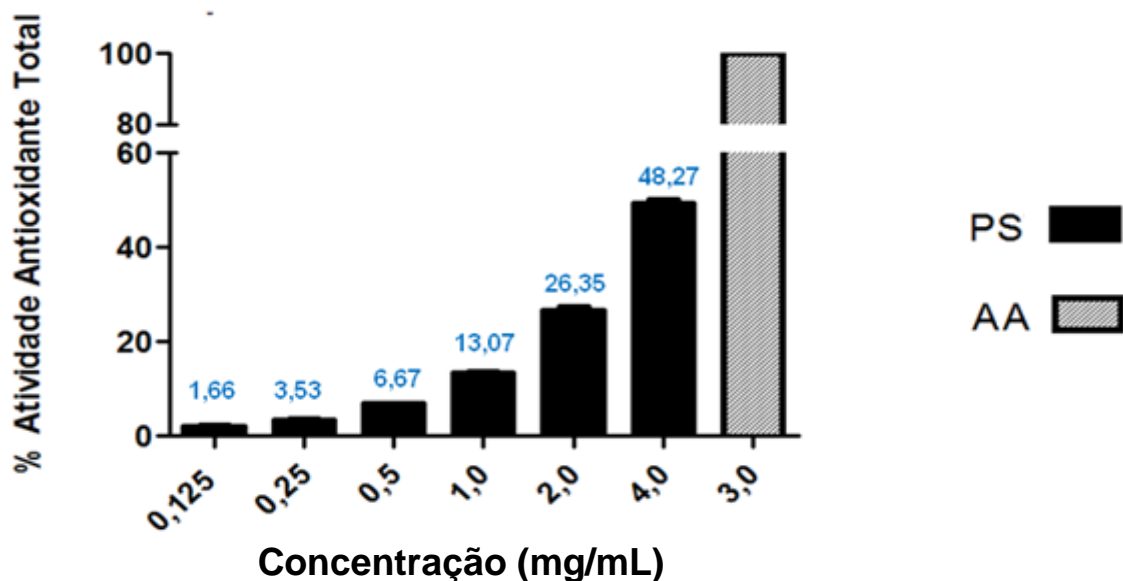
A formação do complexo fosfomolibdênio é realizada pela redução do

Molibdênio ($\text{Mo}^{6+} \rightarrow \text{Mo}^{5+}$) pelo agente redutor (material de estudo) e complexação do molibdênio com fósforo em meio ácido (formando o fosfomolibdênio de cor azul).

A identificação de espécies antioxidantes específicos pode ser menos útil em alguns casos do que o conhecimento da capacidade antioxidante total. Outra situação em que o conhecimento da capacidade antioxidante total pode ser útil inclui a análise de mudanças na atividade antioxidante do plasma relacionados ao estresse oxidativo, ou a própria compreensão da relação da atividade estrutural das espécies antioxidantes puras (PIETRO; PINEDA; AGUILAR, 1999). O PS da *A. spicifera* apresentou atividade na formação do complexo fosfomolibdênio (Figura 26).

Castro et al. (2013) em estudo com polissacarídeos sulfatados da alga marrom *Lobophora variegata* observou que 10 mg/mL de amostra teve atividade antioxidante total de 66,3%, concentração bem mais elevada do que a obtida neste estudo, em que na concentração de 4 mg/mL foi observado 48,27% de atividade antioxidante.

Figura 26- Capacidade antioxidante total do PS extraído da alga *A. spicifera*



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados são expressos em porcentagem (%) como média \pm S.E.M. (n=3), analisados por ANOVA e teste de Borferroni (*p<0,05). Os diferentes valores acima das barras indicam diferenças significativas entre as concentrações. Os resultados do PS (0,125-4 mg/mL) foram comparados com o AA (3 mg/mL).

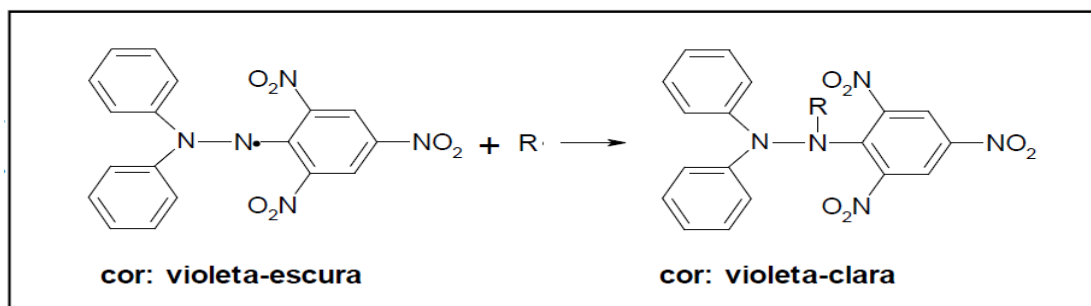
5.4.3 Ensaio de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazilo-hidrato (DPPH)

A procura de compostos antioxidantes de produtos naturais tem aumentado recentemente. A atividade antioxidante de algumas espécies de algas está demonstrando a sua importância como nova fonte de aditivos naturais, principalmente quando se considera a relação benéfica em alimentos ricos em compostos antioxidantes e a incidência de doenças humanas (LU; FOO, 2000).

O método de sequestro do radical livre 1,1-difenil-2-picrylhydrazyl (DPPH) proposto por Blois (1958) é baseado na captura do radical por compostos antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorção a 515 nm. Esse método foi modificado por Sánches-Moreno; Larrauri; Saura-Calixto (1998) para medir os parâmetros cinéticos dos compostos antioxidantes. Esse método tem sido largamente utilizado para determinar a habilidade de sequestro de radical livre de amostras (QI et al., 2005a; WANG et al., 2009).

A dissolução do radical livre DPPH em meio orgânico pode ser verificado através da Figura 27.

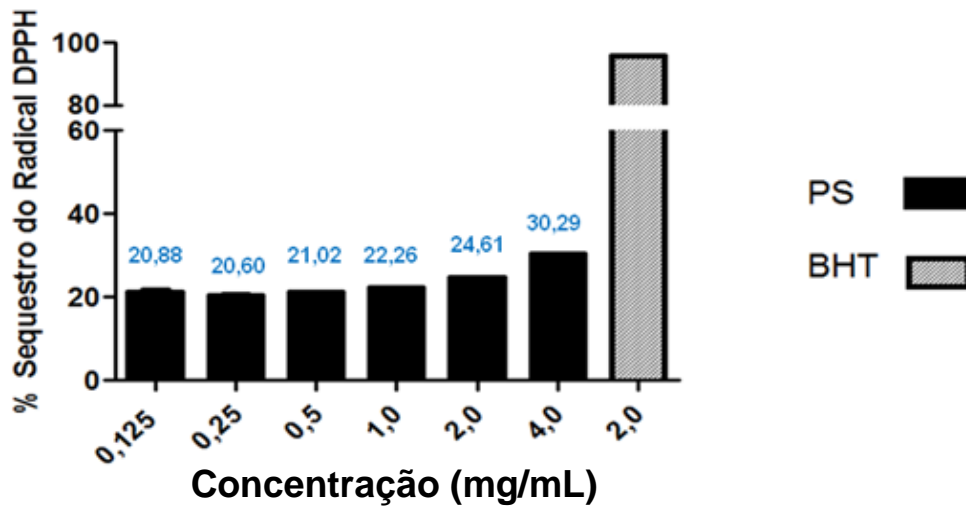
Figura 27 - Estabilização do radical livre 1,1-difenil-2-picrylhydrazyl(DPPH)



Fonte: Rufino et al., 2007.

Nesse trabalho, o sequestro do radical livre DPPH de cada concentração do PS extraído da alga *A. spicifera* foi de 30,29% em 4 mg/mL (figura 28). Conforme aumenta a concentração da amostra (PS) ocorre um aumento na capacidade de sequestro do radical DPPH.

Figura 28- Efeito do sequestro do radical 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) do PS extraído da alga *Acanthophora spicifera*



Fonte: Elaborada pelo autor.

Os resultados são expressos em porcentagem (%) como média + S.E.M. (n=3), analisados por ANOVA e teste de Borferroni (*p<0,05). Os diferentes valores acima das barras indicam diferenças significativas entre as concentrações. Os resultados do PS (0,125-4 mg/mL) foram comparados com o BHT (2 mg/mL).

Todas as concentrações testadas apresentaram atividade antioxidante estatisticamente inferior ao composto BHT, utilizado para capturar radicais e prevenir a auto-oxidação.

Segundo Brand-Williams; Cuvelier e Berset (1995), a interação de um potente antioxidante com o DPPH depende, sobretudo, de sua conformação estrutural e do número de grupos hidroxílicos disponíveis, então se acredita que o efeito inibitório encontrado contra este radical esteja relacionado à estrutura química dos polissacarídeos sulfatados que apresentam hidroxilas livres, favorecendo assim a abstração dos átomos de hidrogênio. Já que compostos que possuem atividade antioxidante interagem com o DPPH permutando os elétrons ou átomos de hidrogênio para o radical livre, reduzindo-o (MENSOR et al., 2001).

O sequestro do radical livre DPPH obtido para os PS foi menor 30,29% do que o encontrado por Guimarães (2017) onde os polissacarídeos sulfatados totais da alga vermelha *H. musciformis*, na concentração testada (4 mg/mL) foi encontrado apenas 57,87% de habilidade de sequestro do radical DPPH.

6 CONCLUSÃO

O polissacarídeo sulfatado extraído da alga marinha vermelha *Acanthophora spicifera* demonstrando a eficiência do método de extração enzimática, mostrou alto rendimento (24%) e teor de carboidratos de 75,3%. Além disso, o PS revelou significativo teor de sulfato. Os espectros de FTIR e RMN mostraram o PS como sendo uma galactana sulfatada do tipo agarana com massa molar média de 364 kDa.

De acordo com as análises, o polissacarídeo sulfatado (PS) da alga marinha *Acanthophora spicifera* mostrou-se resultados significativos quanto ao comportamento reológico, sendo submetido a diferentes processos sobre a viscosidade e a influência de temperatura. O PS da *A. spicifera* apresentou comportamento reológico do fluido não-Newtoniano ao modelo de Plástico de Bingahm, no entanto, não apresentou capacidade de gelificação, sendo um agente espessante utilizado em alimentos. Além de mostrar como potencial antioxidante natural essencial na qualidade da segurança e saúde. Diante disso, esses resultados colocam o polissacarídeo de *A. spicifera* como molécula potencial visando futuras aplicações na produção alimentícia, farmacêutica e biotecnológica.

REFERÊNCIAS

- ALBALASMEH, A., BERHE, A., GHEZZEHEI, T. A new method for rapid determination of carbohydrate and total carbon concentrations using UV spectrophotometry, **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 97, n. 2, p. 253-261, 2013.
- ALGABASE. **Acanthophora spicifera** (M. Vahl) Børgesen. Disponível em: http://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=3309. Acesso em: 30 abr. 2018.
- ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; BAHIA, M. V.; AGUIAR, R. M.; Métodos para determinação de atividade antioxidante in vitro em substratos orgânicos, **Quím. Nova**, São Paulo, v. 33, n. 10, 2010.
- ANDRADE, L. R.; LEALA, R. N.; NOSEDAC, M.; DUARTEC, M. E. R.; PEREIRAD, M. S.; MOURÃO, P. A. S.; MARCOS, F.; FILHO, G. M. A. Brown algae over produce cell wall polysaccharides as a protection mechanism against the heavy metal toxicity. **Marine Pollution Bulletin**, [s.l.], v. 60, n. 9, p. 1482-1488, 2010.
- BARBOSA, K. B. F.; COSTA, N. M. B.; ALFENAS, R. C. G.; PAULA, S. O.; MINIM, V. P.R.; BRESSAN, J. Estresse oxidativo: conceito, implicações e fatores modulatórios. **Revista de Nutrição**, Campinas, v. 23, n. 4, p. 629-643, 2010.
- BARNES, H. A. Thixotropy-a review. **J. Non-Newtonian Fluid Mech**, [s.l.], v. 70, n. 1-2, p. 1-33, 1997.
- BARROS, F. C. N.; SILVA, D. C.; SOMBRA, V. G.; MACIEL, J. S.; FEITOSA, J. P. A.; FREITAS, A. L. P.; DE PAULA, R. C. M. Structural characterization of polysaccharide obtained from red seaweed *Gracilaria caudata* (J Agardh), **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 92, n. 1, p. 598–603, 2013.
- BLOIS, M. S. Antioxidant determinations by the use of a stable free radical. **Nature**, v. 181, n. 4617, p. 1199-1200, 1958.
- BLUNT, J.W.; COPP, B.R.; MUNRO, M.H.G.; NORTHCOTE, P.T.; PRINSEP, M.R. Marine Natural Products. **Natural Products Reports**, [s.l.], v.23, n. 1, p. 26-78, 2006.
- BONDU, S. et al. In vitro cytotoxic and immunomodulative activities of low molecular weight ι -carageenans partially methylated and pyruvated. **Planta Medica**, [s.l.], v. 74, n. 9, p. 248, 2010.
- BRADFORD, M. M. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**, [s.l.], v. 72, n. 1-2, p. 248-254, 1976.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M. E.; BERSET, C. L. W. T. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **LWT-Food Science and Technology**, [s.l.], v. 28, n. 1, p. 25-30, 1995.

BRUMMER, R. **Rheology essentials of cosmetic and food emulsions**. Berlin: Springer, 2006.

BUENO, C. Z.; VEIGA, I. G.; SACCHETIN, P. S. C.; BELLINI, M. Z.; MORAES, A. M. Aplicação de polissacarídeos para a produção de curativos e outros biomateriais. SOUSA, H. C.; BRAGA, M. E. M.; SOSNIK, A. (ed.). **Biomateriais aplicados ao desenvolvimento de sistemas terapêuticos avançados**. Coimbra: Imprensa da Universidade de Coimbra, p. 67-110, 2015.

CAMPO, V. L.; KAWANO, D. F.; SILVA, D. B DA; CARVALHO, I. Carrageenans: Biological properties, chemical modifications and structural analysis: a review. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 77, n. 2, p. 167-180, 2009.

CARDOZO, K.H.M.; GUARANTINI, T.; BARROS, M.P.; FALCÃO, V.R.; TONON, A.P.; LOPES, N.P.; CAMPOS, S.; TORRES, M.A.; SOUZA, A.O.; COLEPICCOLO, P.; PINTO, E. Metabolites from algae with economical impact. **CompBiochem PhysiolPart C: Toxicol Pharmacol.**, [s.l.], v. 146, n. 1-2, p. 60-78, 2007.

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

CARVALHO, L. R. de; ROQUE, N. F. Fenóis halogenados e/ou sulfatados de macroalgas marinhas. **Química nova**, [s.l.], v. 23, n. 6, 2000.

CASTRO, L. S. E. P. W.; DE SOUSA PINHEIRO, T.; CASTRO, A. J. G.; DA SILVA NASCIMENTO SANTOS, M.; SORIANO, E. M.; & LEITE, E. L. Potential anti-angiogenic, antiproliferative, antioxidant, and anticoagulant activity of anionic polysaccharides, fucans, extracted from brown algae *Lobophora variegata*. **Journal of Applied Phycology**, [s.l.], v. 27, n. 3, p. 1315-1325, 2014.

CHANDINI, S. K.; GANESAN P.; BHASKAR N. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. **Food Chem.**, [s.l.], v. 107, n. 2, p. 707-713, 2008.

CHANG, R. **Físico-Química: para as ciências químicas e biológicas**. 3. ed. Porto Alegre: Editora AMGH, 2009. 589 p.

CHATTOPADHYAY, N.; GHOSH, T.; SINHA, S.; CHATTOPADHYAY, K.; KARMAKAR, P.; RAY, B. Polysaccharides from *Turbinaria conoides*: Structural features and antioxidant capacity, **Food Chemistry**, [s.l.], v. 118, n. 3, p. 823-829, 2010.

CHEN, X.; GUO, C.; KONG, J. Oxidative stress in neurodegenerative diseases. **Neural Regeneration Research**, [s.l.], v. 7, n. 5, p. 376-385, 2012.

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

CHOPIN, T.; WHALEN, E. A new and rapid method for carrageenan identification by FT IR diffuse reflectance spectroscopy directly on dried, ground algal material. **Carbohydrate Research**, [s.l.], v. 246, n. 1, p. 51-59, 1993.

CHRISTIAEN, D.; BODARD, M. Spectroscopie infrarouge de films d'agar de *Gracilaria verrucosa* (Huds.) Papenfuss. **Botanica marina**, [s.l.], v. 26, n. 9, p.425-428, 1983.

CHUN-HUI, L.; CHANG-HAI, W.; ZHI-LIANG, X.; YI, W. Isolation, chemical characterization and antioxidant activities of two polysaccharides from the gel and the skin of *Aloe barbadensis* Miller irrigated with sea water. **Process Biochemistry**, [s.l.], v. 42, n. 6, p. 961-970, 2007.

COFRADES, S.; LÓPEZ-LÓPEZ, I.; BRAVO, L.; RUIZ-CAPILLAS, C.; BASTIDA, S.; LARREA, M.T.; JIMÉNEZ-COLMENERO, F. Nutritional and antioxidant properties of different brown and red Spanish edible seaweeds, **Food Science And Technology International**, [s.l.], v. 16, n. 5, p. 361-370, 2010.

COSTA, L. S. **Bioprospeção de polissacarídeos sulfatados de macroalgas marinhas do litoral do Rio Grande do Norte**: caracterização de uma heterofucana extraída da alga marron *Sargassum filipendula* que induz apoptose em célula HeLa. 2012. 140 f. Tese (Doutorado em Química)-Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

COSTA, M. S. S. P.; FIDELIS, G. P.; ROCHA, H. A.O.; COSTA, L. S. Antioxidant sulfated polysaccharides from seaweed. *In: Seaweeds: Agricultural uses, biological and antioxidants agents*. Ed Vitor Hugo Pomin. New York: Nova Science Publishers, 2014. p. 189-208.

CUI, H.; KONG, Y.; ZHANG, H. Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging, Oxidative Stress, Mitochondrial Dysfunction, and Aging. **Journal of Signal Transduction, Journal of Signal Transduction**, [s.l.], v. 2012, 2012, p. 1-13, 2 out. 2011. Disponível em:
<https://www.hindawi.com/journals/jst/2012/646354/>. Acesso em: 30 abr. 2018.

CUNHA, L.; GRENHA, A. Sulfated seaweed polysaccharides as multifunctional materials in drug delivery applications. **Marine Drugs**, [s.l.], v. 14, n. 3, p. 1-42, 2016.

DE ALMEIDA, C. L. F.; DE S. FALÇÃO, H., DE M. LIMA, G. R.; DE A. MONTENEGRO, C., LIRA, N. S., DE ATHAYDE-FILHO, P. F.; BATISTA, L. M. Bioactivities from marine algae of the genus *Gracilaria*. **International journal of molecular sciences**, [s.l.], v. 12, n. 7, p. 4550-4573, 2011.

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

DIETRICH, C. P.; FARIAS, G. G. M.; ABREU, L. R. D.; LEITE, E. L.; SILVA, L. F.; NADER H. B. A new approach for characterization of polysaccharides from algae:

Presence of four main acidic polysaccharides in three species of the class Phaeophyceae. **Plant Sci.**, [s./], v. 108, n. 2, p. 143-153, 1995.

FARIAS, W. R. L. et al. Structure and anticoagulant activity of sulfated galactans. Isolation of a unique sulfated galactan from the red alga *Botryocladia occidentalis* and comparison of its anticoagulant action with that of sulfated galactans from invertebrates. **Journal of Biological Chemistry**, [s./], v. 275, n. 38, p. 29299-29307, 2000.

FERNÁNDEZ, R. C. **Caracterización termofísica de mezclas de algas con bentonita y disoluciones salinas para usos en centros de talasoterapia**. 2017. 319 f. Tesis (Doctorado) - Universidad de Vigo, Vigo, 2017. Disponível em: www.investigacion.biblioteca.uvigo.es/xmlui/bitstream/handle/11093/728/Caracterizaci%C3%B3n_termof%C3%ADsica_de_mezclas.pdf?sequence=1&isAllowed=y Acesso em: 20 abr. 2018.

FIALHO, F. A. N. **Aquicultura integrada multitrófica: biofiltros de macroalgas no cultivo do robalo flecha**. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Química)-Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2013.

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

GHILARDI-LOPES, N. P.; HADEL, V. F.; BERCHEZ, F. (org.). **Guia para educação ambiental em costões rochosos**. Porto Alegre: Artmed, 2012. 200p.

GÓMEZ-ORDÓÑEZ, E.; JIMÉNEZ-ESCRIG, A.; RUPÉREZ, P. Molecular weight distribution of polysaccharides from edible seaweeds by high-performance size-exclusion chromatography (HPSEC). **Talanta**, [s./], v. 93, p. 153-159, 2012.

GRAHAM, L.E; WILCOX, L. W. **Algae**. Upper Saddle River, NJ: Prentice Hall, 2000.

GUIMARÃES, C. P. **Polissacarídeos sulfatados de rodófitas *Hypnea musciformis* como aditivos em apesuntados de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e análise de estocagem sob refrigeração**. 2017. 115 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca)-Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

GÜLCIN, İ. Antioxidant and antiradical activities of L-carnitine. **Life sciences**, [s./], v. 78, n. 8, p. 803-811, 2006.

GÜLÇİN, İ. Antioxidant activity of food constituents: an overview. **Archives of Toxicology**, [s./], v. 86, n. 3, p. 345-391, 2012.

GUPTA, S.C.; HEVIA, D.; PATCHVA, S.; PARK, B.; KOH, W.; AGGARWAL, B. Upsides and downsides of reactive oxygen species for cancer: the roles of reactive oxygen species in tumorigenesis, prevention, and therapy. **Antioxidants & redox signaling**, [s./], v. 16, n. 11, p. 1295-1322, 2012.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. Role of free radicals and catalytic metal ions in human disease: an overview. **Methods in enzymology**, [s.l.], v. 186, p. 1-85, 1989.

HAN, R.M.; ZHANG, J.P.; SKIBSTED, L.H. Reaction dynamics of flavonoids and carotenoids as antioxidants. **Molecules**, [s.l.], v. 17, n. 2, p. 2140-2160, 2012.

HIRASE, S., WATANABE, K. Fractionation and structural investigation of furonan. *In: INTERNATIONAL SEAWEED SYMPOSIUM EDITED BY K. NISIZAWA*, 7, 1972, Sapporo. **Proceedings** [...].Sapporo: University of Tokyo Press, 1972. p. 451-454, 1972.

HOLDSWORTH, S. D. Rheological models used for the prediction of the flow properties of food products: a literature review. **Transactions of the Institution of Chemical Engineers**, London, v. 71, p. 139-179, 1993.

HORN, R. A. The effect of *litopenaeus stylirostris* aquaculture on macroalgae growth in opunohu Bay, moorea, French polynesia. **Student Reseach Papers**, [s.l.], v. 1, p. 1-12, 2012.

IZUMI, K. RMN spectra of some 3, 6-anhydro-D-galactose derivatives. **Carbohydrate Research**, [s.l.], v. 27, n. 1, p. 278-281, 1973.

JOHN, R. P.; ANISHA, G. S.; NAMPOOTHIRI, K. M.; PANDEY, A. Micro and macroalgal biomass: A renewable source for bioethanol. **Bioresource Technology**, Oxford, v. 102, n. 1, p. 186-193, 2011.

KELMAN, D.; POSNER, E.K.; MCDERMID, K.J.; TABANDERA, N.K.; WRIGHT, P.R.; WRIGHT, A.D. "Antioxidant activity of hawaiian marine algae", **Marine Drugs**, [s.l.], v. 10, n. 2, p. 403-416, 2012.

KNUTSEN, S. H.; MYSLABODSKI, D. E.; LARSEN, B.; USOV, A. I. A modified system of nomenclature for red algal galactans. **Botanica marina**, [s.l.], v. 37, n. 2, p. 163-170, 1994.

KOURY, J. C.; DONANGELO, C. M. Zinco, estresse oxidative e atividade física. **Revista de Nutrição**, [s.l.], v. 16, n. 4, p. 433-441, 2003.

LAHAYE, M.; ROCHAS, C. Chemical structure and physico-chemical properties of agar. **Hydrobiologia**, [s.l.], v. 221, n. 1, p. 137-148, 1991.

LANG, K. L. **Investigação química e biológica da alga vermelha *Acanthophora spicifera* (Vahl) Borgesen**. 2006. 88 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

LAPASIN, R.; PRICL, S. **Rheology of industrial polysaccharides**: theory and applications. Gaithersburg: Aspen Publishers. 1999. 620 p.

LAVAKUMAR, V., K. F. H. AHAMED, V. RAVICHANDRAN. Anticancer and antioxidant effect of *Acanthophora spicifera* against EAC induced carcinoma in mice. **J. Pharm. Res.**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. 1503-1507, 2012.

LEATHERS, T. D. Biotechnological production and applications of pullulan. **Applied Microbiology and Biotechnology**, [s.l.], v. 62, n. 5-6, p. 468-473, 2003.

LEE, J.-C.; HOU, M.-F.; HUANG, H.-W.; CHANG, F.-R.; YEH, C.-C.; TANG, J.-Y.; CHANG, H.-W. Marine algal natural products with anti-oxidative, anti-inflammatory, and anti-cancer properties. **Cancer Cell International**, [s.l.], v. 13, n. 1, p. 55-61, 2013.

LLOYD, A. G.; DOGSON, K. S.; PRICE, R. G.; ROSE, F. A. Infrared studies on sulphate esters. I. Polysaccharides sulphates. **Biochimica Biophysica Acta**, [s.l.], v. 46, n. 1, p. 108-115, 1961.

LOBO, V.; PATIL, A.; PHATAK, A.; CHANDRA, N. Free radicals, antioxidants and functional foods: impact on human health. **Pharmacognosy Reviews**, Mumbai, v. 4, n. 8, p. 118-126, 2010.

LORBEER, A. J.; THAM, R.; ZHANG, W. Potential products from the highly diverse and endemic macroalgae of Southern Australia and pathways for their sustainable production. **Journal of Applied Phycology**, [s.l.], v. 25, n. 3, p. 717-732, 2013.

LU, Y.; FOO, L. Y. Antioxidant and radical scavenging activities of polyphenols from apple pomace. **Food chemistry**, [s.l.], v. 68, n. 1, p. 81-85, 2000.

MACIEL, J. S.; CHAVES, L. S.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, D. I. A.; FREITAS, A. L. P.; FEITOSA, J. P. A.; PAULA, R. C. M. Structural characterization of cold extracted fraction of soluble sulfated polysaccharides from red seaweed *Gracilaria birdiae*. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 71, n. 4, p. 559-565, 2008.

MARCIEL, J. STADNIK, M. J.; FREITAS, M. B. Algal polysaccharides as source of plant resistance inducers. **Tropical Plant Pathology**, [s.l.], v. 39, n. 2, p. 111-118, 2014.

MARINHO-SORIANO, E. Species composition of seaweeds in Buzios Beach, Rio Grande do Norte, Brazil. **Seaweed Res. Utiln**, v. 21, n. 1-2, p. 9-13, 1999.

MARINHO-SORIANO, E.; BOURRET, E. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria* species (*Gracilariaceae*, *Rhodophyta*). **Bioresource Technology**, [s.l.], v. 90, n. 3, p. 329-333, 2003.

MARKS, D. L.; BUCHSBAUM, R.; SWAIN, T. Measurement of total protein in plant samples in the presence of tannins. **Analytical biochemistry**, [s.l.], v. 147, n. 1, p. 136-143, 1985.

MELO, K. R. T.; LIMA, J. A.; GOMES, D. L.; SANTOS, N. D.; CAMARA, R. B. G.; OLIVEIRA, H. A. O. Caracterização e atividade anticoagulante de polissacarídeos sulfatados extraídos da alga marrom *Dictyopteris justii*. **Holos**, [s.l.], v. 1, p. 29-40, 2012.

MENSOR, L. L.; MENEZES, F. S.; LEITÃO, G. G.; REIS, A. S.; SANTOS, T. C. D.; COUBE, C. S.; LEITÃO, S. G. Screening of Brazilian plant extracts for antioxidant

activity by the use of DPPH free radical method. **Phytotherapy research**, [s.l.], v. 15, n. 2, p. 127-130, 2001.

MOHAMED, S.; HASHIM, S.N.; RAHMAN, H. A. Seaweeds: a sustainable functional food for complementary and alternative therapy. **Trends in Food Science & Technology**, [s.l.], v. 23, n. 2, p. 83-96, 2012.

MOLLET, J. C.; RAHAOUI, A.; LEMOINE, Y. Yield, chemical composition and gel strength of agarocolloids of *Gracilaria gracilis*, *Gracilariopsis longissima* and the newly reported *Gracilaria cf. vermiculophylla* from Roscoff (Brittany, France). **Journal of Applied Phycology**, [s.l.], v. 10, n. 1, p. 59-66, 1998.

MORRICE, L.M., McLEAN, M.W., LONG, W.F., WILLIAMSON, F.B. Porphyran primary structure. An investigation using beta-agarase I from *Pseudomonas atlantica* and ¹³C-NMR spectroscopy. **Eur. J. Biochem.**, [s.l.], v. 133, n. 3, p. 673-684, 1983.

MOURÃO, P.A.; Perspective on the use of sulfated polysaccharides from marine organisms as a source of new antithrombotic drugs. **Marine Drugs**, [s.l.], v. 13, n. 5, p. 2770-2784, 2015.

NAHAS, R.; ABATIS, D.; ANAGNOSTOPOULOU, M.A.; KEFALAS, P.; VAGIAS, C.; ROUSSIS, V. Radical-scavenging activity of Aegean Seamarine algae, **Food Chemistry**, [s.l.], v. 102, n. 3, p. 577-581, 2007.

NATHAN, C.; CUNNINGHAM-BUSSEL, A. Beyond oxidative stress: an immunologist's guide to reactive oxygen species. **Nature Reviews Immunology**, [s.l.], v. 13, n. 5, p. 349-361, 2013.

NELSON, D. L; COX, M.M. **Lehninger's principles of biochemistry**. New York: Freeman and Company, 2011.

NGO, D-H.; KIM, S-K. Sulfated polysaccharides as bioactive agents from marine algae. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 62, p. 70-75, 2013.

NIKI, E. Assessment of Antioxidant Capacity in vitro and in vivo. **Free Radical Biology & Medicine**, [s.l.], v. 49, n. 4, p. 503-515, 2010.

N'YEURT, A. D. R.; PAYRI, C. E. Marine algal flora of French Polynesia III. Rhodophyta, with additions to the Phaeophyceae and Chlorophyta. **Cryptogamie, Algologie**, v. 31, n. 1, p. 3-205, 2010.

PAINTER, T.J. Algal polysaccharides. PAINTER, T. J. *In: The polysaccharides*. New York: Academic Press, 1983.

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

PEREIRA, D. M.; CHEEL, J.; ARECHE, C.; SAN-MARTIN, A.; ROVIROSA, J.; SILVA, L. R.; VALENTAO, P.; ANDRADE, P. B. Anti-proliferative activity of meroditerpenoids isolated from the brown alga *Styopodium flabelliforme* against several cancer cell lines. **Marine Drugs**, Basel, v. 9, n. 5, p. 852-862, 2011.

PISOSCHI, A. M.; POP, A. The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: a Review. **European journal of medicinal chemistry**, [s.l.], v. 97, p. 55-74, 2015.

PRADO, F. M.; FERNANDES, F. M.; NATALE, W. Efeito residual da escória de siderurgia como corretivo de acidez do solo na soqueira de cana-de-açúcar. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, [s.l.], v. 27, p. 287-296, 2003.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E. **Analytical biochemistry**, [s.l.], v. 269, n. 2, p. 337-341, 1999.

QI, H.; ZAO, T.; ZHANG, Q.; LI, Z.; ZHAO, Z.; XING, R. Antioxidant activity of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* Kjellm (Chlorophyta). **Journal of Applied Phycology**, [s.l.], v. 17, n. 6, p. 527-534, 2005.

QI, H.; ZHANG, Q.; ZHAO, T.; CHEN, R.; ZHANG, H.; NIU, X.; LI, Z. Antioxidant activity of different sulfate content derivatives of polysaccharide extracted from *Ulva pertusa* (Chlorophyta) in vitro. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 37, n. 4, p. 195-199, 2005.

QUINDERÉ, A.L. G.; FONTES, B. R.; VANDERLEI, E. DE S. O.; DE QUEIROZ, I. N. L.; RODRIGUES, J. A. G.; DE ARAÚJO, I. W.F.; BENEVIDES, N. M. B. Peripheral antinociception and anti-edematogenic effect of a sulfated polysaccharide from *Acanthophora muscoides*. **Pharmacological Reports**, [s.l.], v. 65, n. 3, p. 600-613, 2013.

RAO, M. A. Rheological properties of food. In: RAO, M.A.; RIZVI, S. S. H. (ed.). **Engineering properties of foods**. New York: Marcel Dekker, 1986. p. 1-47

RAVEN, P. H.; EICHHORN, S. E.; EVERT, R. F. **Biologia Vegetal**. 8. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

RAY, P. D.; HUANG, B. W.; TSUJI, Y. Reactive oxygen species (ROS) homeostasis and redox regulation in cellular signaling. **Cellular Signalling**, [s.l.], v. 24, p. 981-990, 2012.

REIS, G. C. L. **Aminas bioativas e atividade antioxidante em cogumelos**. 2014. 102 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) - Faculdade de Farmácia, Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

ROCHAS, C.; LAHAYE, M.; YAPHE, W. Sulfate content of carrageenan and agar determined by infrared-spectroscopy. **Botânica Marinha**, [s.l.], v. 29, n. 4, p. 335-340, 1986.

RODRIGUES, J. A. G.; DE ARAÚJO, I. W. F.; DE PAULA, G. A.; DE BRITO LIMA, T.; BESSA, É. F.; BENEVIDES, N. M. B. Carragenana da epífita *Hypnea musciformis* obtida do cultivo experimental de *Solieria filiformis* em Flecheiras, Estado do Ceará. **Acta Scientiarum Technology**, [s.l.], v. 33, n. 2, p. 137-144, 2011.

RODRIGUES, S.; COSTA, A. M. R.; GRENHA, A. Chitosan/carrageenan nanoparticles: Effect of cross-linking with tripolyphosphate and charge ratios. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 89, n. 1, p. 282-289, 2012.

ROPELATTO, J. **Estrutura química e atividade antitumoral de heteroramnanas sulfatadas e seus produtos de degradação parcial obtidos da macroalga verde *Gayralia oxysperma***. Curitiba 2011. 115f. Dissertação (Mestrado em Ciências Bioquímica)- Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

ROVER, J. R. L.; HOEHR, N. F.; VELLASCO, A.P. Sistema antioxidante envolvendo o ciclo metabólico da glutatona associado a métodos eletroanalíticos na avaliação do estresse oxidativo. **Química Nova**, [s.l.], v. 24, p. 112-119, 2001.

SACHINDRA, N.M.; SATO, E.; MAEDA, H.; HOSOKAWA, M.; NIWANO, Y.; KOHNO, M.; MIYASHITA, K. Radical scavenging and singlet oxygen quenching activity of marine carotenoid fucoxanthin and its metabolites, **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 55, n. 21, p. 8516-8522, 2007.

SÁNCHEZ-MORENO, C.; LARRAURI, J. A.; SAURA-CALIXTO, F. A procedure to measure the antiradical efficiency of polyphenols. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, [s.l.], v. 76, n. 2, p. 270-276, 1998.

SATO, A.C.K.; CUNHA, R.L. Influence of temperature on the rheological behavior of jaboticaba pulp. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, Campinas, v. 27, n. 4, p. 890-896, 2007.

SCHRAMM, G., **Reologia e reometria: fundamentos teóricos e práticos**. São Paulo, Artliber, 2006.

SEENIVASAN, R.; REKHA, M.; INDU, H.; GEETHA, S. Antibacterial activity and phytochemical analysis of selected seaweeds from Mandapam Coast, India. **J. App. Pharm. Sci.**, [s.l.], v. 2, n. 10, p. 159-169, 2012.

SOLOMONS, T. W. G.; FRYHLE, C. B. **Química Orgânica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Whei Oh Lin, 2001.

SOUSA, W. M.; SILVA, R. O.; BEZERRA, F. F.; BINGANA, R. D.; BARROS, F. C. N.; COSTA, L. E.; SOMBRA, V. G.; SOARES, P. M.; FEITOSA, J. P.; DE PAULA, R. C.;

SOUZA, M. H.; BARBOSA, A. L.; FREITAS, A. L. Sulfated polysaccharide fraction from marine algae *Solieria filiformis*: Structural characterization, gastroprotective and antioxidant effects. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 152, p. 140-148, 2016.

SOUZA, G.C.C.F. **Algas marinhas, Dossiê Técnico**. Instituto de Tecnologia do Paraná: TECPAR. 2011. 27 p.

STANLEY, N. F. Agars. *In*: STEPHEN, A. M.; PHILLIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. (ed.). **Food polysaccharides and their applications**. 2. ed. United states of America: CRC/Taylor & Francis, 2006.

STEFFE, J.F. **Rheological methods in food process engineering**. Michigan: Freeman Press, 1996. 428 p.

STEPHEN, A.M.; CHURMS, S. C. Introduction. STEPHEN, A. M.; PHILIPS, G. O.; WILLIAMS, P. A. (ed.). **Food Polysaccharides and Their Applications**. New York: Marcel Dekker, 2006.712 p.

SUDHARSAN, S.; SUBHAPRADHA, N.; SEEDEVI, P.; SHANMUGAM, V.; MADESWARAN, P.; SHANMUGAM, A.; SRINIVASAN, A. Antioxidant and anticoagulant activity of sulfated polysaccharide from *Gracilaria debilis* (Forsskal). **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 81, p. 1031-1038, 2015.

TALARICO, L. B.; ZIBETTI, R. G. M.; FARÍA, P. C. S.; SCOLARO, L. A.; DUARTE, M. E. R.; NOSEDA, M. D. Anti-herpes simplex virus activity of sulfated galactans from the red seaweeds *Gymnogongrus griffithsiae* and *Cryptonemia crenulata*. **International Journal of Biological Macromolecules**, [s.l.], v. 34, n. 1-2, p. 63-71, 2004.

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

TOLEDO, R. T. **Fundamentals of food process engineering**. New York: Chapman & Hall, 1991. 602 p.

USOV, A. I.; IVANOVA, E. G.; SHASHKOV, A. S. Polysaccharides of Algae. Isolation and ¹³C-NMR spectral study of some new gel-forming polysaccharides from Japan Sea red seaweeds. **Botanica Marina**, [s.l.], v. 26, n. 6, p. 285-294, 1983.

USOV, A. I.; YAROTSKY, S. V.; SHASHKOV, A. S. ¹³C-NMR spectroscopy of red algal galactans. **Biopolymers**, [s.l.], v. 19, n. 5, p. 977-990, 1980.

VALKO M.; LEIBFRITZ D.; MONCOLA J.; CRONIN M.; MAZURA MAND TELSER I. Free radicals and antioxidants innormal physiological functions and human disease. **Int J Biochem Cell Biol.**, [s.l.], v. 39, n. 1, p. 44-84, 2007.

VASCONCELOS, A. G.; K. V. DE ARAÚJO; L. D. A. B. SANTANA. Polissacarídeos extraídos de algas marinhas e suas aplicações biotecnológicas: uma revisão. **Rev. Bras. Inov. Technol. Saúde**, [s.l.], v. 5, n. 3, p. 2236-1103, 2015.

VADLAPUDI, V. Antioxidant activities of marine algae: a review. *In*: CAPASSO, Anna. (ed.). **Medicinal plants as antioxidant agents**: understanding their mechanism of action and therapeutic efficacy. Kerala, Índia: Research Signpost, 2012. p. 189-203.

VILLANUEVA, R. D.; MONTAÑO, N. E.; ROMERO, J. B.; ALIGANGA, A. K. A. & ENRIQUEZ, E. P. Seasonal variation in the yield, gelling properties and chemical composition of agars from *Gracilaria eucheumoides* e *Gelidiella acerosa* (Rhodophyta) from Philippines. **Botanica Marina**, v. 42, n. 2, p. 175-182, 1999.

VIJAYAVEL, K.; MARTINEZ, J.A. (2010): In vitro antioxidant and antimicrobial activities of two Hawaiian marine limu: *Ulva fasciata* (Chlorophyta) and *Gracilaria salicornia* (Rhodophyta), **Journal of medicinal food**, [s.l.], v. 13, p. 1494-1499, 2010.

WANG, J. et al. Synthesized phosphorylated and aminated derivatives of fucoidan and their potential antioxidant activity in vitro. **International journal of biological macromolecules**, [s.l.], v. 44, n. 2, p. 170-174, 2009.

WIJESEKARAA, I.; PANGESTUTIA, R.; KIM, S-. K. Biological activities and potential health benefits of sulfated polysaccharides derived from marine algae. **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 84, n. 1, p. 14-21, 2011.

YE, Z. W.; ZHANG, J.; TOWNSEND, D. M.; TEW, K. D. Oxidative stress, redox regulation and diseases of cellular differentiation. **Biochemicals et biophysical acta**, [s.l.], v. 1850, n. 8, p. 1607-1621, 2015.

ZAKARIA, N. A., I. DARAH, F. S. SHAIDA, N. A. SUPARDY. Phytochemical composition and antibacterial potential of hexane extract from malaysian red algae, *Acanthophora spicifera* (Vahl) Borgesen. **World Appl. Sci., J.**, [s.l.], v. 15, n. 4, p. 496-501, 2011.

ZENG, L. M., W. CHAO-JIE, S. JING-YU, L. DU, O. NOEL, L. YANG, L. NAN, Z. QI-TAI. Flavonoids from the red alga *Acanthophora spicifera*. **Chinese. J. Chem.**, [s.l.], v. 19, n. 11, p. 1097-1100, 2001.

ZHANG, Z. et al. Potential antioxidant activities in vitro of polysaccharides extracted from ginger (*Zingiber officinale*). **Carbohydrate Polymers**, [s.l.], v. 86, n. 2, p. 448-452, 2011.

ZHONG, Y.; SHAHIDI, F. Antioxidant behavior in bulk oil: limitations of polar paradox theory. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, [s.l.], v. 60, n. 1, p. 4-6, 2012.

ZIMNIAK, P. Relationship of electrophilic stress to aging. **Free Radical Biology & Medicine**, [s.l.], v. 51, n. 6, p. 1087-1105, 2011.