

CULTIVO DE MICRO E MACROALGAS MARINHAS EM CONDIÇÕES CONTROLADAS, E EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS SULFATADOS

Cultivation of micro and macroalgae under controlled conditions, and extraction of sulfated polysaccharides

Glacio Souza Araujo¹, Valeska Martins Torres², Fabiana Mesquita Marreiro³, Ariadne Maria Cordeiro Lavor⁴, Wladimir Ronald Lobo Farias⁵

RESUMO

As algas marinhas são organismos de fundamental importância para a manutenção da vida, pois são responsáveis pela maior parte de oxigênio do planeta. São utilizadas amplamente nas indústrias alimentícias, de cosméticos, fármacos e com o desenvolvimento da biotecnologia é cada vez maior o interesse da comunidade científica em estudá-las. O presente trabalho objetivou avaliar o cultivo, em condições controladas, e a extração de polissacarídeos sulfatados (PS) de algumas espécies de micro e macroalgas marinhas. O cultivo das microalgas foi realizado a partir de espécies mantidas em um cepário, enquanto que as macroalgas foram coletadas no ambiente natural. As curvas de crescimento das microalgas se comportaram de maneira semelhante, já nas macroalgas, a espécie *Ulva lactuca* apresentou a maior taxa de crescimento relativo (19,56%.d⁻¹) seguida das espécies *Ulva fasciata*, *Porphyra acanthophora* e *Gracilaria caudata* (10,7; 9,6 e 4,9%.d⁻¹). Com relação à extração de PS das microalgas, as espécies *S. platensis*, *T. gracilis* e *Dunaliella sp.* apresentaram rendimentos de 8,7; 5,2 e 2,0%, respectivamente. Com relação às macroalgas *H. pseudofloresia*, *S. filiformes*, *S. schroederii*, *C. feldmannii*, *G. caudata*, *L. variegata*, *C. racemosa* e *C. sertularioides* apresentaram rendimentos de 47,14; 43,4; 38,4; 36,2; 31,5; 28,4; 13,0 e 7,10%, respectivamente. Assim, foi possível extrair PS de todas as algas utilizadas, mas também foi observada uma grande variação no rendimento dessas moléculas entre as espécies estudadas.

Palavras-chaves: algas marinhas, extrato, polissacarídeos, rendimento.

ABSTRACT

Marine algae are organisms of great importance for life maintenance, therefore they are responsible for most of the oxygen-consumption in the Earth. They are widely used in food industries, of cosmetics and medicines and, granting the biotechnology development, the scientific community interest in studying them is on the increase. The present work aims to evaluate cultivation under controlled conditions and extraction of sulfated polysaccharides (SP) of some micro and macroalgal species. Microalgae farming was carried out from species maintained in a ceparium, while macroalgae species were collected in the natural environment. In general, microalgae growth curves showed similar trends, while the macroalga *Ulva lactuca* presented the highest relative growth rate (19.56% d⁻¹) followed by *Ulva fasciata*, *Porphyra acanthophora* and *Gracilaria caudata* (10.7; 9.6; and 4.9%.d⁻¹). SP extraction from microalgae showed that *Spirulina platensis*, *Tetraselmis gracilis* and *Dunaliella sp.* presented yields of 8.7; 5.2 and 2.0%, respectively. With regard to macroalgae *H. pseudofloresia*, *S. filiformis*, *S. schroederii*, *C. feldmannii*, *G. caudata*, *L. variegata*, *C. sertularioides* and *C. racemosa*, yields of 47.14; 43.4; 38.4; 36.2; 31.5; 28.4; 13.0 and 7.10%, respectively, were obtained. Thus, it was possible to extract SP from all utilized species, mainly macroalgae, but a great yield variation of these molecules between the studied species was observed.

Key words: marine algae, polysaccharides, extract, yield.

¹ Engenheiro de Pesca, bolsista da CAPES, professor substituto e aluno de doutorado em Engenharia de Pesca, CCA/UFC, Campus do Pici, Bloco 825, CEP: 60356-000, Fortaleza-CE, glacio@ufc.br

² Engenheira de Pesca, aluna de mestrado em Eng. de Pesca, CCA/UFC, valeskamtorres@gmail.com

³ Estudante de graduação em Engenharia de Pesca, babimesquitamarreiro@hotmail.com

⁴ Estudante de graduação em Engenharia de Pesca, aiadne_mclg@yahoo.com.br

⁵ Engenheiro de Pesca, D.Sc., professor do Departamento de Eng. de Pesca, CCA/UFC, wladimir@ufc.br

INTRODUÇÃO

As algas pertencem ao reino vegetal, sendo classificadas de acordo com suas características morfológicas e fisiológicas, exercendo importante papel no meio ambiente. As macroalgas são agrupadas em três divisões Chlorophyta (algas verdes), Phaeophyta (algas pardas ou marrons) e Rhodophyta (algas vermelhas) (Joly, 1965).

Tanto as macro como as microalgas marinhas apresentam os polissacarídeos, que são polímeros lineares presentes nos vegetais, desempenhando papel como reserva energética e estrutural (Lehninger, 1976).

Nas últimas décadas, muitos polissacarídeos foram isolados de plantas, fungos, cogumelos, e organismos marinhos. Dentre estes polímeros, destacam-se os glicosaminoglicanos, heteropolissacarídeos constituídos de unidades alternadas de hexosamina e outro açúcar não aaminado. São substâncias encontradas em altas concentrações no tecido conjuntivo, principalmente como componentes da matriz extracelular (Heinegard & Oldberg, 1989; Aquino *et al.*, 2005).

Os polissacarídeos sulfatados das macroalgas marinhas apresentam importantes atividades biológicas que incluem anticoagulante, através da inibição de trombina (Hayakawa *et al.*, 2000; Matsubara *et al.*, 2001; Pengzhan *et al.*, 2003), antitrombótica (Farias *et al.*, 2001), antihepatotóxica (Rao *et al.*, 2004) e antioxidante (Zhang *et al.*, 2003). Eles também são conhecidos por aumentar a resistência contra o vírus do herpes simples tipo I e II (Mazumder *et al.*, 2002; Talarico *et al.*, 2004) e da dengue (Talarico *et al.*, 2005). O presente trabalho objetivou avaliar o cultivo, em condições controladas, e a extração de polissacarídeos sulfatados (PS) de algumas espécies de micro e macroalgas marinhas.

MATERIALE MÉTODOS

Micro e macroalgas

As microalgas *Thalassiosira fluviatilis*, *Spirulina platensis*, *Tetraselmis gracilis* e *Dunaliella* sp., e as macroalgas *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata*, *Gracilaria caudata*, *Porphyra acanthophora*, *Hypnea musciformis* e *Brotryocladia occidentalis* foram cultivadas no Laboratório de Planctologia do Departamento de Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará.

Preparo do meio de cultivo e delineamento experimental

Para *S. platensis* o meio de cultivo foi preparado com água doce pré-clorada, com 30,0 g.L⁻¹ de sal

comercial e 10,0 g.L⁻¹ de bicarbonato de sódio. Após a completa dissolução desses sais, os fertilizantes agrícolas superfosfato triplo (0,1 g.L⁻¹) e NPK (1,0 g.L⁻¹) foram macerados e adicionados à mistura.

Para o cultivo das demais microalgas, foi utilizada água do mar artificial autoclavada a 121 °C durante 30 minutos e enriquecida com meio Guillard f/2 modificado (GUILLARD, 1975).

As microalgas *T. gracilis*, *T. fluviatilis* e *Dunaliella* sp. foram cultivadas a partir de um volume de 20 mL em um erlenmeyer de 250 mL, no qual, a cada dois dias, foi acrescentado aproximadamente o mesmo volume de meio de cultura esterilizado. Com o aumento da intensidade do cultivo, os mesmos foram transferidos para recipientes de 3 L. A partir deste momento a cultura passou a ser submetida a uma aeração constante e iluminação de aproximadamente 1.000 lux. O acompanhamento dos cultivos foi realizado a partir de espectrofotometria a 680 nm para *T. gracilis*, *Dunaliella* sp. e *S. platensis*, e a 700 nm para a *T. fluviatilis*, bem como por contagem de células (em câmara de Neubauer). Os dados obtidos foram utilizados para traçar a curva de crescimento.

O cultivo da cianofíceia *S. platensis* partiu de um inoculo de 400 mL em um erlenmeyer de 1 L, sendo posteriormente transferido para um garrafão de 7 L, onde foi realizado o acompanhamento da mesma maneira do descrito para as outras microalgas.

Coleta das macroalgas e delineamento experimental

As macroalgas foram coletadas na praia do Pacheco, Caucaia-CE, com exceção da *P. acanthophora* que foi coletada na praia de Sabiaguaba-CE. Após a coleta, o material foi acondicionado em uma caixa de isopor contendo água do mar e imediatamente conduzido ao laboratório. Em seguida, foram selecionadas três pequenas porções do talo (ápices) de cada espécie. No caso da *P. acanthophora* foram selecionados três frondes. Essas plântulas foram lavadas com meio de cultivo esterilizado, e em seguida, foram colocadas em um erlenmeyer com capacidade para 1 L. Os explantes foram cultivados com aeração e iluminação fornecida por luz fluorescente branca "grow lux", sendo o fotoperíodo de 16 h de claro e 8 h de escuro.

Para o preparo do meio de cultivo, foi adicionado à água do mar artificial nitrato de sódio (0,06 g.L⁻¹), nitrato de amônio (0,03 g.L⁻¹) e superfosfato triplo (0,01 g.L⁻¹). Em seguida, a água foi aerada por 24 horas para estabilizar o pH, sendo utilizado 600 mL em cada cultivo. Assim, o pH estabilizou em 8,4 e a salinidade em 38‰. O meio de cultivo e as vidrarias foram esterilizados através do uso de radiação

ultravioleta por vinte minutos e as pedras de areação em um esterilizador a 100°C por 20 minutos.

Acompanhamento do cultivo das macroalgas

O acompanhamento dos cultivos das macroalgas foi realizado através de pesagens semanais em uma balança semi-analítica em triplicata. Após as pesagens, foi realizada a troca do meio de cultivo e lavagem dos explantes. O acompanhamento do crescimento das algas foi realizado através da determinação da Taxa de Crescimento Relativo - TCR (Glenn *et al.*, 1998).

Extração dos PS

As macroalgas *Spatoglossum schroederii*, *Lobophora variegata*, *Caulerpa racemosa*, *Caulerpa sertularioides*, *Gracilaria caudata*, *Solieiria filiformes* e *Champia feldmannii* foram coletadas na praia do Pacheco, Caucaia, CE e a macroalga *Halymenia pseudofloresia* foi obtida na praia de Fleixeiros, Trairi-CE. Após a retirada das epífitas, fauna acompanhante e lavagem com água destilada as algas foram secas em estufa com circulação de ar na temperatura de 40°C por 24 h para a extração dos polissacarídeos sulfatados.

A biomassa das microalgas *T. gracilis* e *Dunaliella* sp. e a cianofíceia *S. platensis* foi obtida através de centrifugação dos cultivos (3.500 x g; 15 min; 4 °C). Em seguida, o material foi lavado com água destilada e, posteriormente liofilizado. Para a *S. platensis*, o volume final do cultivo (14 L), foi filtrado em uma tela de 60 µm e depois seco ao sol por um período de 48 h.

Para a extração dos PS totais, inicialmente, 2 g de cada espécie foram hidratados com 100 mL de tampão acetato de sódio 0,1 M; pH 5,0 + cisteína 5 mM + EDTA 5 mM e submetidos a digestão enzimática com papaína (30 mg/mL), seguida de uma primeira precipitação dos polissacarídeos sulfatados com CPC a 10% e outra com etanol absoluto, como detalhadamente descrito em Farias *et al.* (2004).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Microalgas

A curva de crescimento das microalgas foi expressa em valores de absorvância a 680 nm para as espécies *Tetraselmis gracilis*, *Dunaliella* sp. e *Spirulina platensis*, e em 700 nm para a espécie *Thalassiosira fluviatilis* (Figura 1), e em número de células (N° de cel(s) x 10^{-4}) (Figura 2).

Como podemos observar, a microalga *Dunaliella* sp. apresentou uma nítida fase de indução até o terceiro dia, após o início do cultivo. A partir do

terceiro dia, o cultivo entrou em crescimento exponencial, o qual se prolongou até o quinto dia. Do quinto ao sétimo dia, o mesmo passou para a fase de diminuição do crescimento relativo.

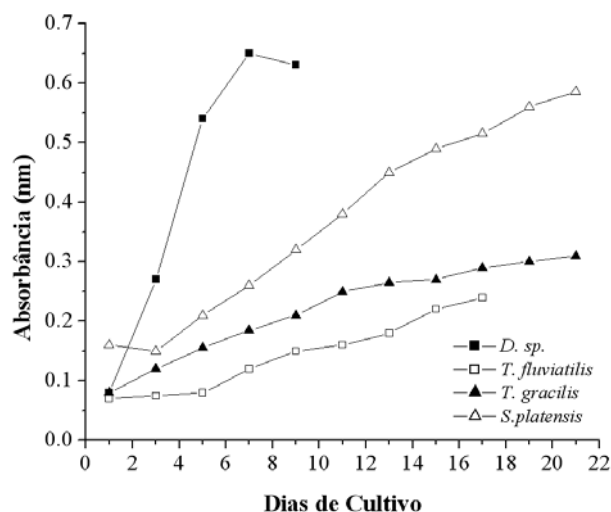


Figura 1 - Curvas de crescimento das microalgas cultivadas, expressas em valores de absorvância.

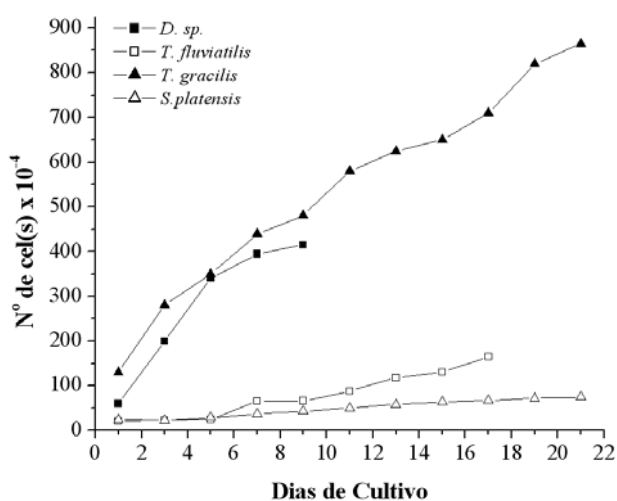


Figura 2 - Curvas de crescimento das microalgas cultivadas, expressas em número de células.

Para a cianofíceia *Spirulina platensis*, houve uma nítida fase de indução no início do cultivo, logo após a repicagem, no terceiro dia. A partir do quinto dia, o mesmo entrou em crescimento exponencial, o qual durou até o décimo quinto dia. A partir deste dia, a cultura entrou em fase de diminuição do crescimento relativo.

Com relação à microalga *Tetraselmis gracilis*, foi possível observar que praticamente não houve

uma fase de indução, com o cultivo entrando logo em crescimento exponencial. No entanto, o cultivo apresentou um primeiro decréscimo na taxa de crescimento relativo do quinto ao décimo terceiro dia e, logo em seguida, um segundo decréscimo a partir do décimo terceiro dia. No vigésimo quarto dia de cultivo, foi realizada a centrifugação das microalgas, pois a partir desse momento o mesmo poderia entrar, rapidamente, na fase estacionária.

Finalmente, a espécie *Thalassiosira fluviatilis* apresentou uma fase de indução um pouco mais longa (do primeiro ao quinto dia). Em seguida, o cultivo apresentou um ligeiro crescimento exponencial, o qual foi interrompido, provavelmente, devido às quedas de energia, o que resultou em uma nova fase de indução, a partir do oitavo dia. No entanto, esta fase durou até o décimo terceiro dia. Em seguida, o mesmo voltou a entrar em fase exponencial de crescimento (até o décimo quinto dia). Após esse momento, o cultivo entrou na fase de diminuição do crescimento relativo. De um modo geral, as curvas de crescimento das microalgas se comportaram de maneira semelhante.

Segundo Pelczar (1996), a primeira fase em um cultivo estacionário é a fase lag ou espera, onde o crescimento da cultura é mínimo, devido a uma adaptação fisiológica às novas condições de cultivo. A segunda fase é chamada de exponencial, ou fase log, na qual ocorre uma duplicação do número de células em intervalos regulares de tempo. Nesta fase, as microalgas estão bem adaptadas ao meio, sendo este período considerado o momento ideal para a transferência das culturas (repicagem) e/ou extração de compostos biológicos, pois as células estão em seu melhor momento fisiológico. Se não houver a transferência da cultura, o cultivo entra na terceira fase que é a de diminuição do crescimento relativo, no qual o aumento do número de células é limitado, principalmente pela escassez de nutrientes. Em seguida, a cultura entra na fase estacionária onde ocorre um equilíbrio entre as taxas de crescimento e mortalidade, não havendo incremento líquido no número de células. Após esta fase, o cultivo declina completamente com a taxa de mortalidade superando a taxa de crescimento da cultura.

Macroalgas

De acordo com os resultados obtidos, as macroalgas *Hypnea musciformis* e *Brotryocladia occidentalis* não apresentaram crescimento, principalmente em temperaturas elevadas (33-36 °C). Quando a espécie *Hypnea musciformis* foi cultivada a 30 °C, houve um discreto desenvolvimento das plântulas. Em ambas as algas, após a introdução do fotoperíodo e

sombreamento dos erlenmeyers, as plântulas mantiveram sua pigmentação original durante 72h para a macroalga *Brotryocladia occidentalis* e durante toda a primeira semana de cultivo para a espécie *Hypnea musciformis*; no entanto não houve crescimento das mesmas.

A Figura 3 mostra as taxas de crescimento relativo das macroalgas *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata*, *Gracilaria caudata* e *Porphyra acanthophora*. De acordo com a figura, podemos observar que a espécie *Ulva lactuca* apresentou a maior taxa de crescimento relativo, 19,56% d⁻¹, seguida da espécie *Ulva fasciata*, 10,7%.d⁻¹, da espécie *Porphyra acanthophora*, 9,6% d⁻¹ e da espécie *Gracilaria caudata*, 4,9% d⁻¹. Esta espécie possui taxa de crescimento relativo bem inferior do que as demais espécies cultivadas em água do mar artificial.

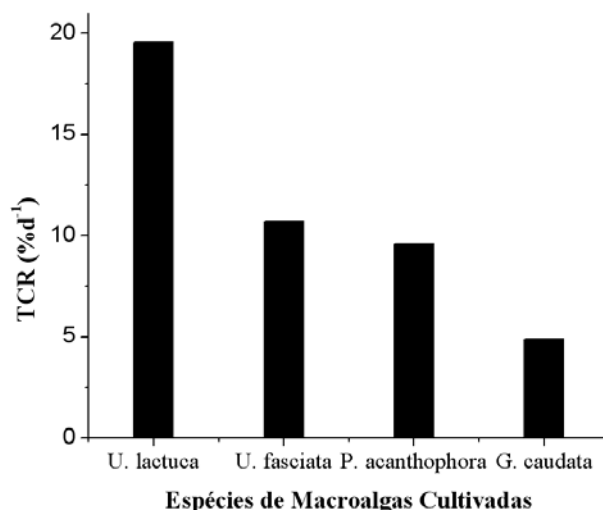


Figura 3- Taxas de crescimento relativo das macroalgas *Ulva lactuca*, *Ulva fasciata*, *Gracilaria caudata* e *Porphyra acanthophora* cultivadas sob condições controladas.

De um modo geral, as macroalgas de talo foliáceo expandido (*Ulva lactuca*, *Ulva fasciata* e *Porphyra acanthophora*) apresentaram taxas de crescimento bem maiores que as espécies de talo cilíndrico (*Gracilaria caudata*). Este fato ocorreu, provavelmente, devido ao maior aproveitamento da luz pelas espécies de talo foliáceo, já que existe, nestas algas, uma maior área de superfície exposta à luz. Por outro lado, não descartamos a hipótese de falta de algum componente vital para o crescimento das algas cilíndricas nessas condições de cultivo (ARAUJO, 2003).

Polissacarídeos sulfatados extraídos

No processo de extração dos polissacarídeos sulfatados das macroalgas marinhas, foram realiza-

das diferentes quantidades de extrações para as mesmas, com a finalidade de maximizar o rendimento. Com exceção da espécie *G. caudata*, que foi realizada apenas uma extração, já que em trabalhos anteriores, esta espécie não apresentou rendimentos significativos a partir da segunda extração. A Figura 4 mostra o rendimento (g) por extrações, dos polissacarídeos sulfatados das macroalgas marinhas utilizadas nesse estudo. De acordo com a figura, a espécie *G. caudata* apresentou um rendimento de 31,5%. As espécies *H. pseudofloresia*, *S. filiformes*, *S. schroederii* e *C. sertularioides*, foram submetidas a três extrações, o que resultou em um rendimento total de 47,14; 43,4; 38,4 e 7,10%, respectivamente, apresentando um rendimento decrescente.

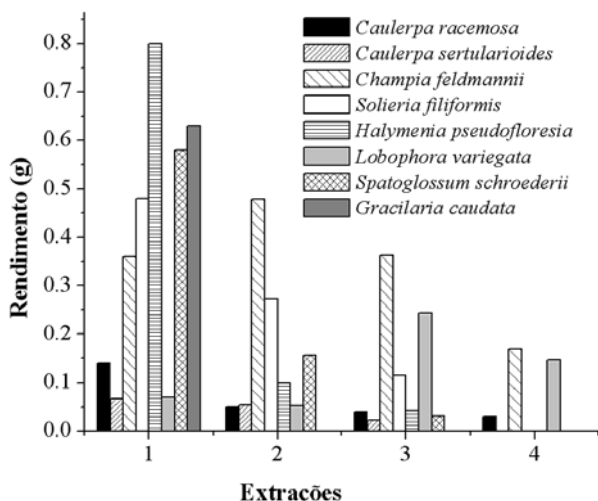


Figura 4 - Rendimento (g) por extração, dos polissacarídeos sulfatados das macroalgas marinhas *C. racemosa*, *C. sertularioides*, *C. feldmannii*, *S. filiformis*, *H. pseudofloresia*, *G. caudata*, *L. variegata* e *S. schroederii*.

Ainda de acordo com a figura, foram realizadas quatro extrações para as macroalgas *C. feldmannii* e *C. racemosa*, onde os resultados apresentaram um rendimento de 36,2 e 13,0%, respectivamente. Para a primeira espécie, o rendimento foi crescente entre a 1ª e a 2ª extração e decrescente da 3ª para a 4ª. Já na segunda espécie, os resultados mostraram que os rendimentos obtidos a cada extração foram decrescentes. Para a espécie *L. variegata*, foram executadas cinco extrações, obtendo assim, um rendimento total de 28,4%. Além disso, a 3ª e a 4ª extrações apresentaram os maiores rendimentos.

Com relação às microalgas, para as espécies *T. gracilis* e *Dunaliella* sp. foram realizadas apenas uma extração, sendo os rendimentos de 5,2 e 2,0%, respectivamente. Entretanto, para a *S. platensis* foram realizadas três extrações, onde os rendimentos

foram crescentes ao longo das extrações, totalizando um rendimento de 8,7% (Figura 5).

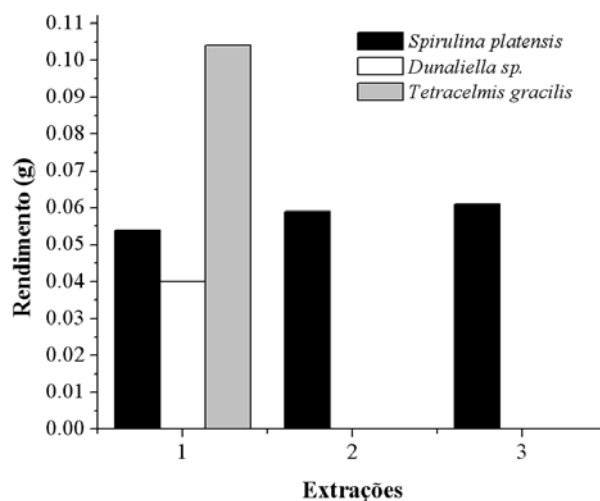


Figura 5 - Rendimento (g) por extração, dos polissacarídeos sulfatados das microalgas marinhas, *T. gracilis* e *Dunaliella* sp., e da cianofíceia *S. platensis*.

Em trabalhos envolvendo a extração de polissacarídeos sulfatados de algas marinhas, os extratos brutos obtidos da alga vermelha *Gracilaria cornea* (Melo *et al.*, 2002) e da alga parda *Sargassum polycystum* (Chotigeat *et al.*, 2004) apresentaram rendimentos de 21,4 e 22,3%, respectivamente. Segundo os trabalhos, existe uma grande variação nos rendimentos de PS extraídos de algas marinhas devido, tanto ao emprego de diferentes metodologias de extração como a utilização de diferentes espécies.

Como se pode observar, o aumento ou diminuição do rendimento no decorrer das extrações depende da espécie de alga utilizada, sendo que a maioria das espécies apresentou um rendimento decrescente, excetuando as macroalgas *C. feldmannii* e *L. variegata*, e a cianofíceia *S. platensis* que desenvolveram um rendimento crescente. Este resultado foi também observado por Pereira *et al.* (2006), após estudo com uma espécie do gênero *Sargassum* pertencente à divisão Phaeophyta.

CONCLUSÕES

Com a realização deste trabalho, podemos concluir que, de um modo geral, as curvas de crescimento das microalgas se comportaram de maneira semelhante.

No cultivo das macroalgas, a espécie *Ulva lactuca* apresentou uma taxa de crescimento relativo mais elevado (19,56% d⁻¹) comparado com as espécies *Ulva fasciata*, *Porphyra acanthophora* e *Gracilaria caudata* (10,7; 9,6 e 4,9%.d⁻¹), respectivamente, por

possuir talo foliáceo expandido, observando maior aproveitamento de luz.

A otimização do rendimento de polissacarídeos sulfatados, a partir do mesmo resíduo inicial, pelo emprego da técnica das extrações sucessivas, demonstrou-se bastante eficiente, principalmente para as espécies que apresentaram rendimentos crescentes.

Espécies pertencentes a diferentes divisões apresentaram resultados variados no decorrer das extrações. Entretanto, as algas pertencentes à divisão Rhodophyta apresentaram os maiores rendimentos, fato este que pode ser atribuído à alta concentração das carragenas e dos ágaros, que são PS de alto peso molecular característicos desta divisão, enquanto que as espécies representantes da divisão Chlorophyta exibiram os menores rendimentos.

Por fim, as microalgas apresentaram rendimentos bem inferiores que os apresentados pelas macroalgas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Aquino, R.S.; Landeira-Fernandez, A.M.; Valente, A.P.; Andrade, L.R. & Mourão, P.A.S. Occurrence of sulfated galactans in marine angiosperms. Evolutionary implications. *Glycobiology*, v.15, p.11-20, 2005.

Araujo, G.S. *Ensaio preliminar sobre o cultivo e extração de polissacarídeos sulfatados da microalga marinha vermelha Gracilaria sjoestedtii*. Monografia de Graduação, Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, 19 p., Fortaleza, 2003.

Chotigeat, W.; Tongsupa, S.; Supamataya, K. & Phongdara, A. Effect of fucoidan on disease resistance of black tiger shrimp. *Aquaculture*, Amsterdam, v.233, n.1-4, p.23-30, 2004.

Farias, W.R.L.; Nazareth, R.A. & Mourão, P.A.S. Dual effects of sulfated D-galactans from the red alga *Botryocladia occidentalis* preventing thrombosis and inducing platelet aggregation. *Thromb. Haemost.*, v.86, n. 6, p. 1540-1546, 2001.

Glenn, E.P.; Moore, D.; Brown, J.J.; Tanner, R.; Fitzsimmons, K.; Akutigawa, M. & Napoleon, S. A sustainable culture system for *Gracilaria parvoispora* (Rhodophyta) using sporelings, reef growout and floating cages in Hawaii. *Aquaculture*, Amsterdam, v.165, p.221-232, 1998.

Guillard, R.R.L. Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates, p. 29-60, in Smith, W.L. & Chanley, M.H. (eds.), *Culture of marine invertebrate animals*. Plenum, New York, 1975.

Hayakawa, Y.; Hayashi, T.; Lee, J.B.; Srisomporn, P.; Maeda, M.; Ozawa, T. & Sakuragawa, N. Inhibition of thrombin by sulfated polysaccharides isolated from green algae. *Bioch. Bioph. Acta*, v.1543, p.86-94, 2000.

Heinegard, O.E. & Oldberg, A. Structure and biology of cartilage and bone matrix noncollagenous macromolecules. *FASEB*, v.3, p.2042-2051, 1989.

Joly, A.B. *Flora marinha do litoral norte do estado de São Paulo e regiões circunvizinhas*. Editora da Universidade de São Paulo, 406 p., 1965.

Lehninger, A.L. *Bioquímica. Vol. 1 - Componentes moleculares da célula*. Editora Edgard Blucher Ltda, 2ª edição, 1976.

Matsubara, K.; Matsuura, Y.; Bacic, A.; Liao, M.L. & Miyazawa, K. Anticoagulant properties of a sulfated galactan preparation from a marine green alga, *Codium cylindricum*. *Intern. J. Biol. Macrom.*, v.28, p. 395-399, 2001.

Mazumder, S.; Ghosal, P.K.; Pujol, C.A.; Carlucci, M.J.; Damonte, E.B. & Ray, B. Isolation, chemical investigation and antiviral activity of *Intern. J. Biol. Macrom*, v.31, p.87-95, 2002.

Melo, M.R.S.; Feitosa, J.P.A.; Freitas, A.L.P. & Paula, R.C.M. Isolation and characterization of soluble sulfated polysaccharide from the red seaweed *Gracilaria cornea*. *Carbohydrate Polymers*, v.49, n.4, p.491-498, 2002.

Pelczar, J.J.M. *Microbiologia: conceitos e aplicações*. Editora Makron Books, 2ª edição, 1996.

Pengzhan, Y.; Ning, L.; Xiguang, L.; Gefei, Z.; Quanbin, Z. & Pengcheng, L. Antihyperlipidemic effects of different molecular weight sulfated polysaccharides from *Ulva pertusa* (Chlorophyta). *Pharmacol. Res.*, v.48, p.543-549, 2003.

Pereira, A.P.; Rodrigues, J.A.G. & Farias, W.R.L. Extração e otimização de rendimento dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha parda *Sargassum* sp., in *Anais VI Encontro de Pesquisa e Pós-Graduação/VI Encontro de Iniciação Científica e Tecnológica*. CEFET-CE, Fortaleza, 2006.

Rao, H.B.R.; Sathivel, A. & Devaki, T. Antihepatotoxic nature of *Ulva reticulata* (Chlorophyceae) on acetaminophen-induced hepatotoxicity in experimental rats. *J. Med. Food*, v.7, n.4, p.495-497, 2004.

Talarico, L.B.; Zibetti, R.G.M.; Farya, P.C.S.; Scolaro, L.A.; Duarte, M.E. R.; Nosedá, M.D.; Pujol, C.A. & Damonte, E.B. Anti-herpes simplex virus activity of sulfated galactans from the red seaweeds *Gymnogongrus griffithsiae* and *Cryptonemia crenulata*. *Intern. J. Biol. Macrom.*, v.34, p.63-71, 2004.

Talarico, L.B.; Pujol, C.A.; Zibetti, R.G.M.; Faría, P.C.S.; Nosedá, M.D.; Duarte, M.E.R. & Damonte, E.B. The antiviral activity of sulfated polysaccharides against dengue virus is dependent on virus serotype and host cell. *Antiv. Res.*, v.66, p.103-110, 2005.

Zhang, Q.; Li, N.; Zhou, G.; Lu, X.; Xu, Z. & Li, Z. *In vivo* antioxidant activity of polysaccharide fraction from *Porphyra haitanesis* (Rhodophyta) in aging mice. *Pharmacol. Res.*, v.48, p.151-155, 2003.