



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

BÁRBARA MENDES BARACHO

**COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO
EXTRATO ETANÓLICO E DAS FRAÇÕES DA MACROALGA MARINHA PARDA**
Sargassum vulgare C. AGARDH 1820

FORTALEZA

2021

BÁRBARA MENDES BARACHO

COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO
EXTRATO ETANÓLICO E DAS FRAÇÕES DA MACROALGA MARINHA PARDA

Sargassum vulgare C. AGARDH 1820

Dissertação apresentada ao ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Orientadora: Prof^a Dr^a Silvana Saker-Sampaio.

FORTALEZA

2021

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)

B178c Baracho, Bárbara Mendes.
Compostos fenólicos, flavonoides e atividades biológicas do extrato etanólico e das frações da macroalga marinha parda *Sargassum vulgare* C. Agardh 1820 / Bárbara Mendes Baracho. – 2021.
90 f. : il. color.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2021.
Orientação: Prof. Dr. Silvana Saker-Sampaio.

1. Metabólitos secundários. 2. Compostos bioativos. 3. Biotecnologia marinha. I. Título.

CDD 639.2

BÁRBARA MENDES BARACHO

COMPOSTOS FENÓLICOS, FLAVONOIDES E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DO
EXTRATO ETANÓLICO E DAS FRAÇÕES DA MACROALGA MARINHA PARDA

Sargassum vulgare C. AGARDH 1820

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do Título de Mestre em Engenharia de Pesca. Área de Concentração: Recursos Pesqueiros e Engenharia de Pesca.

Aprovada em: 08/09/2021

BANCA EXAMINADORA

Prof^a Dr^a Silvana Saker-Sampaio (Orientadora)

Universidade Federal do Ceará (UFC)

Prof^a Dr^a Márcia Barbosa de Sousa

Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira (UNILAB)

Prof^a Dr^a Fátima Cristiane Teles de Carvalho

Universidade Federal do Ceará (UFC)

À minha sobrinha e afilhada Luiza de Oliveira
Baracho.

AGRADECIMENTOS

A Deus, por todas as bênçãos que me foram concedidas até aqui e as que virão.

Aos meus pais, Rosineide Mendes Baracho e José Nelber Baracho de Abreu, e toda a minha família por acreditarem em mim e por estarem presentes em todos os momentos.

Aos amigos Elinardy Andrade Inácio, Rodrigo Armando Diego de Toledo Casagrande, Matheus Mayron Lima da Cruz, Ana Larissa Brandão Rodrigues, Gabriele Teixeira Nepomuceno, Isabela Silvério Araujo e, em especial, à minha irmã de coração, Iracilda Ferreira da Silva Lima, pelo apoio e encorajamento.

À Prof^ª Dr^ª Silvana Saker Sampaio, por toda dedicação e carinho desde a graduação até aqui. Sempre será fonte de inspiração.

À Engenheira de Pesca Karolina Costa de Sousa, amiga e uma super companheira de laboratório, que tanto me ajudou fora e dentro do mundo acadêmico, e aos colegas, Thalyane Mendes Paula, Beatriz Emilly Alves Rebouças, Sidney Steferson Galdino Lopes e Sebastião Ribeiro D'Alva Teixeira, que me acompanharam durante essa jornada.

Às professoras doutoras, Márcia Barbosa de Sousa e Fátima Cristiane Teles de Carvalho, membros da banca examinadora, por terem aceitado o convite e pelas sugestões para o aprimoramento do trabalho.

Aos professores doutores Alexandre Holanda Sampaio, Mayron Alves de Vasconcelos, Edson Holanda Teixeira e Alexandre Lopes Andrade, pelo apoio fundamental que tornou esse trabalho possível.

Ao Laboratório de Produtos Naturais Marinhos (PROMAR), pelo espaço e equipamentos concedidos, mais que um ambiente de pesquisa, possibilitou muitas memórias que ficarão guardadas com todo carinho no coração.

O presente trabalho foi realizado com apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de Financiamento 001 e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) que fomentou a pesquisa.

E a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para a conclusão de mais uma etapa da minha jornada acadêmica.

RESUMO

Dentre os organismos marinhos, as macroalgas são cada vez mais estudadas, pois desempenham papel fundamental tanto para o ecossistema quanto para a economia. A macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, C. Agardh, 1820, foi coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019. Em laboratório, a biomassa coletada foi lavada, liofilizada e usada para o processo de extração com etanol, cujo rendimento foi de 1,52%. Uma parte do extrato etanólico (EtOH) foi reservada, e a outra foi submetida à cromatografia em coluna de sílica gel com solventes de diferentes polaridades para a obtenção de seis frações: hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O). O extrato etanólico e suas frações foram analisados com o objetivo de quantificar os teores de compostos fenólicos totais (CFT) e de flavonoides (TF) e determinar as atividades antioxidante, fitotóxica e antimicrobiana. Os resultados de CFT foram $10,94 \pm 2,08$ mg EAG/g (extrato) e variaram de $2,61 \pm 0,06$ a $38,85 \pm 2,03$ mg EAG/g (frações). Os valores de TF foram $108,63 \pm 3,62$ mg EQ/g (extrato) e variaram de $1,68 \pm 0,32$ a $158,09 \pm 6,38$ mg EQ/g (frações). A capacidade de sequestro do radical DPPH variou de $10,58\% \pm 0,91$ a $16,57\% \pm 0,67$ no extrato e de $2,55\% \pm 0,07$ a $11,24\% \pm 0,99$ nas frações. O poder de quelatção de íons ferrosos (FIC) variou de $18,20\% \pm 0,00$ a $22,36\% \pm 2,41$ no extrato, enquanto nas frações, a variação foi de $4,95\% \pm 0,58$ a $88,64\% \pm 1,90$. O poder de redução de íons férricos (FRAP) variou de $0,080 \pm 0,013$ a $0,143 \pm 0,013$ no extrato e de $0,061 \pm 0,006$ a $0,138 \pm 0,009$ nas frações. A atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) variou de $90,76\% \pm 0,34$ a $96,70\% \pm 0,67$ no extrato e de $67,66\% \pm 1,07$ a $101,87\% \pm 4,25$ nas frações. No ensaio de fitotoxicidade com sementes de pepino-caipira, *Cucumis sativus*, o extrato etanólico foi classificado como não fitotóxico, enquanto as frações foram capazes de potencializar a germinação e o crescimento das raízes, com exceção da fração acetato de etila, que foi moderadamente fitotóxica. Os ensaios antimicrobianos de concentração inibitória mínima (CIM) e de concentração bactericida mínima (CBM) exibiram valores entre 0,078 e 5,0 mg/mL. Os resultados deste trabalho revelaram que o extrato etanólico de *S. vulgare* e suas frações (Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O) possuem diferentes atividades biológicas com potencial para aplicações industriais e agrícolas. Mais investigações são necessárias para elucidar os mecanismos de ação responsáveis por essas atividades, e os procedimentos para usar esses compostos em produtos de interesse.

Palavras-chave: metabólitos secundários; compostos bioativos; biotecnologia marinha.

ABSTRACT

Among marine organisms, macroalgae have been increasingly studied, as they play a fundamental role both for the ecosystem and for the economy. The brown seaweed, *Sargassum vulgare*, C. Agardh, 1820, was collected at Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, in February 2019. In laboratory, the biomass was washed, lyophilized and used for the extraction process with ethanol, whose yield was 1.52%. A part of the ethanol extract (EtOH) was reserved, and the other part was subjected to silica gel column chromatography with solvents of different polarities to obtain six fractions: hexane (Hx), dichloromethane (DCM), ethyl acetate (AcOEt), ethanolic (EtOH), methanolic (MeOH) and aqueous (H₂O). The ethanol extract and its fractions were analyzed in order to quantify total phenolic compounds (TPC) and flavonoids, and to determine their biological potential, through antioxidant, phytotoxic and antimicrobial activities. The TPC results were 10.94 ± 2.08 mg EAG/g (extract) and ranged from 2.61 ± 0.06 to 38.85 ± 2.03 mg EAG/g (fractions). Flavonoid contents were 108.63 ± 3.62 mg EQ/g (extract) and ranged from 1.68 ± 0.32 to 158.09 ± 6.38 mg EQ/g (fractions). The DPPH radical scavenging capacity ranged from $10.58\% \pm 0.91$ to $16.57\% \pm 0.67$ in the extract and from $2.55\% \pm 0.07$ to $11.24\% \pm 0.99$ in the fractions. The ferrous ion-chelating assay (FIC) of extracts ranged from $18.20\% \pm 0.00$ to $22.36\% \pm 2.41$, while this antioxidant activity varied from $4.95\% \pm 0.58$ to $88.64\% \pm 1.90$ in the fractions. The ferric reducing antioxidant power (FRAP) assay showed values ranging from 0.080 ± 0.013 to 0.143 ± 0.013 in the extract and from 0.061 ± 0.006 to 0.138 ± 0.009 in the fractions. The β -carotene bleaching (BCB) inhibitory activity ranged from $90.76\% \pm 0.34$ to $96.70\% \pm 0.67$ in the extract and from $67.66\% \pm 1.07$ to $101.87\% \pm 4.25$ in the fractions. Phytotoxicity test on cucumber seeds (*Cucumis sativus*) indicated the ethanol extract as non-phytotoxic, while the fractions were able to enhance germination and root growth, with the exception of the ethyl acetate fraction considered as moderately phytotoxic. The antimicrobial assays of minimal inhibitory concentration (MIC) and minimal bactericidal concentration (MBC) showed values between 0.078 and 5.0 mg/mL. The results of this work revealed that the ethanol extract of *S. vulgare* and its fractions (Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH and H₂O) possessed different biological activities with potential for both industrial and agricultural applications. Further investigation is required to elucidate the mechanisms of action responsible for these activities, and the procedures to use these compounds in products of interest.

Keywords: secondary metabolites; bioactive compounds; marine biotechnology.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – (a) Desenho esquemático de um indivíduo adulto de *Sargassum* e suas estruturas. (b) Receptáculo masculino. (c) Receptáculo feminino. (d) Vesículas flutuadoras. (e) Aspecto do corte transversal do filoide..... 16
- Figura 2 – Exemplar da macroalga marinha parda *Sargassum vulgare* coletado na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 28
- Figura 3 – Atividade fitotóxica da (1) solução salina, (2) solução salina e clorofórmio, (3) água destilada, (4) água destilada e clorofórmio, (5) fração hexânica (Hx), (6) fração diclorometano (DCM), (7) fração acetato de etila (AcOEt), (8) fração etanólica (EtOH), (9) fração metanólica (MeOH), (10) fração aquosa (H₂O) e (11) extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019, contra sementes de pepino-caipira, *Cucumis sativus*, após sete dias de incubação..... 67

LISTA DE QUADROS

- Quadro 1 – Exemplos de metabólitos secundários com atividade biológica isolados de organismos marinhos..... 17
- Quadro 2 – Parâmetros usados para classificação do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas do extrato etanólico, sobre o crescimento radicular das sementes de pepino-caipira, *Cucumis sativus*, de acordo com o valor do índice de germinação (IG)..... 40

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 – Curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 175 µg/mL, usada para quantificar os compostos fenólicos totais (CFT), no extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 31
- Gráfico 2 – Curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 175 µg/mL, usada para quantificar os compostos fenólicos totais (CFT), nas frações Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O, obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 32
- Gráfico 3 – Curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 100 µg/mL, usada para quantificar o teor de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF), no extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 33
- Gráfico 4 – Curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 100 µg/mL, usada para quantificar o teor de flavonoides (TF), nas frações hexânica (Hx), diclometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 34
- Gráfico 5 – Capacidade de sequestro do radical DPPH. (A) Controle positivo (ácido ascórbico) e extrato etanólico. (B) Controle positivo (ácido ascórbico) e frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 53

- Gráfico 6 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC). (A) Controle positivo (EDTA) e extrato etanólico. (B) Controle positivo (EDTA) e frações diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 58
- Gráfico 7 – Poder de redução de íons férricos (FRAP). (A) Controle positivo (BHA) e extrato etanólico. (B) Controle positivo (BHA) e frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 62
- Gráfico 8 – Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB). (A) Controle positivo (ácido ascórbico) e extrato etanólico. (B) Controle positivo (ácido ascórbico) das frações e hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 64

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 200 µg/mL, usada para quantificar os compostos fenólicos totais (CFT), no extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 30
- Tabela 2 – Curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 200 µg/mL, usada para quantificar os compostos fenólicos totais (CFT) nas frações hexânica (Hx), diclometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 31
- Tabela 3 – Curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 200 µg/mL, usada para quantificar o teor de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF), no extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 33
- Tabela 4 – Curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 200 µg/mL, usada para quantificar o teor de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF), nas frações hexânica (Hx), diclometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 34
- Tabela 5 – Teores de compostos fenólicos totais (CFT) do extrato etanólico e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019..... 45

Tabela 6 –	Teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) do extrato e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H ₂ O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.....	50
Tabela 7 –	Capacidade de sequestro do radical DPPH do controle positivo (ácido ascórbico), do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019 e a e as concentrações efetivas do controle e do extrato que induzem metade do efeito máximo (EC ₅₀)	52
Tabela 8 –	Capacidade de sequestro do radical DPPH do controle positivo (ácido ascórbico), das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H ₂ O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019 e as concentrações efetivas do controle e das frações que induzem metade do efeito máximo (EC ₅₀).....	52
Tabela 9 –	Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA), do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019 e as concentrações efetivas do controle e do extrato que induzem metade do efeito máximo (EC ₅₀).....	57
Tabela 10 –	Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA), das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H ₂ O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019 e as concentrações efetivas do controle e das frações que induzem metade do efeito máximo (EC ₅₀).....	57

Tabela 11 – Poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo (BHA – butil hidroxianisol), do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.....	61
Tabela 12 – Poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo (BHA), das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H ₂ O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.....	61
Tabela 13 – Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico), do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.....	63
Tabela 14 – Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico), das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H ₂ O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.....	64
Tabela 15 – Resultados das médias de crescimento radicular (MCR), porcentagem relativa de germinação (RSG), porcentagem relativa de crescimento radicular (RRG) e índice de germinação (IG) da atividade fitotóxica do extrato e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H ₂ O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019, e dos controles negativo e positivo.....	66
Tabela 16 – Concentração inibitória mínima (CIM) e Concentração bactericida mínima (CBM), expressas em mg/mL, das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H ₂ O) da macroalga marinha parda, <i>Sargassum vulgare</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019, contra micro-organismos patogênicos.....	70

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	Atividade antioxidante.....	19
1.2	Atividade fitotóxica.....	22
1.3	Atividade antimicrobiana.....	24
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1	Coleta do material e Preparação do extrato e das frações.....	28
2.2	Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT).....	29
2.3	Quantificação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF).....	32
2.4	Determinação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>.....	35
2.4.1	<i>Capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH).....</i>	35
2.4.2	<i>Poder de quelação de íons ferrosos (FIC).....</i>	35
2.4.3	<i>Poder de redução de íons férricos (FRAP).....</i>	39
2.4.4	<i>Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB).....</i>	37
2.5	Determinação da concentração efetiva que induz 50% do efeito máximo.....	38
2.6	Determinação da atividade fitotóxica.....	38
2.7	Determinação da atividade antimicrobiana.....	40
2.8	Análises estatísticas.....	42
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	43
3.1	Rendimento do extrato etanólico.....	43
3.2	Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT).....	44
3.3	Quantificação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF).....	49
3.4	Determinação da atividade antioxidante <i>in vitro</i>.....	51
3.4.1	<i>Capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH).....</i>	51
3.4.2	<i>Poder de quelação de íons ferrosos (FIC).....</i>	56
3.4.3	<i>Poder de redução de íons férricos (FRAP).....</i>	60
3.4.4	<i>Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB).....</i>	63
3.5	Determinação da atividade fitotóxica.....	65
3.6	Determinação da atividade antimicrobiana.....	69
4	CONCLUSÃO.....	74
	REFERÊNCIAS.....	76

1 INTRODUÇÃO

O ambiente marinho é considerado um dos ecossistemas mais valiosos da Terra, ocupando mais de 70% de sua superfície. As características próprias dos oceanos, resultantes da sua distribuição na superfície do Planeta, impõem uma grande variação nos fatores abióticos, contribuindo para a existência de *habitats* muito diferentes e complexos, aos quais os organismos se adaptaram ao longo do tempo, explicando sua grande diversidade biológica (FERNANDO; KIM; SON, 2016; HAMED *et al.*, 2015).

A coexistência no mesmo ambiente de vários seres vivos (animais vertebrados e invertebrados, algas e micro-organismos), competindo por nutrientes e por espaço, pode estar relacionada com a presença de compostos, sejam eles sintetizados e/ou acumulados, muitos dos quais são dotados de atividade biológica. Por esta razão, tem se observado, nas últimas décadas, um grande interesse em estudá-los (ALVES *et al.*, 2018; FERNANDO; KIM; SON, 2016; HAMED *et al.*, 2015).

Dentre os organismos marinhos, as algas vêm sendo progressivamente mais investigadas, visto que desempenham papel fundamental tanto para o ecossistema, como para a economia de muitos países. Usadas tradicionalmente na culinária asiática, as algas marinhas são fontes de nutrientes como vitaminas, minerais, proteínas, fibras, ácidos graxos poli-insaturados e outras substâncias funcionais de potencial biotecnológico, as quais podem ter diversas aplicações nas indústrias de alimentos e de medicamentos com benefícios para a saúde humana (ALVES *et al.*, 2018; BAJPAI, 2016; DANG *et al.*, 2018; MARTELLI *et al.*, 2020).

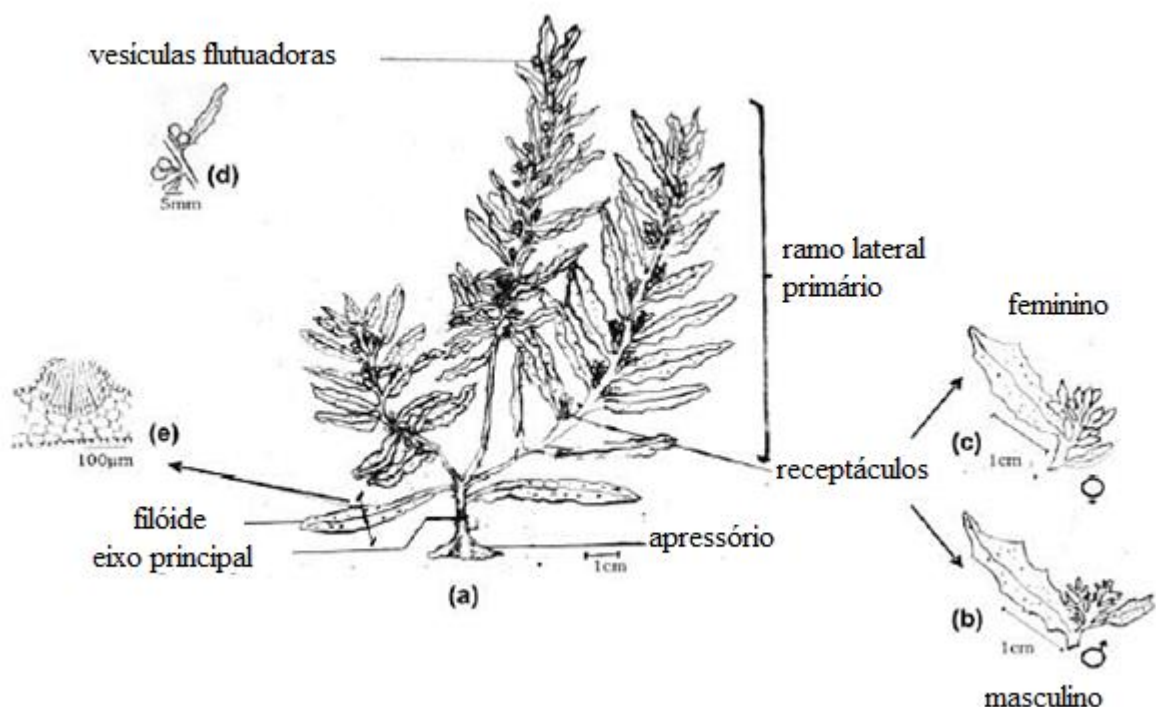
Segundo Carroll *et al.* (2020), o número de trabalhos relacionados a produtos naturais marinhos continua crescendo significativamente. Em 2018, foram descritas 76 novas substâncias extraídas de algas marinhas, a maioria pertencente ao Filo Rhodophyta. Os autores relataram que os objetivos desses trabalhos de revisão não foram muito diferentes daquilo que eles haviam observado no período anterior, com 20% deles tendo destacado um composto ou classes de compostos, em 31% dos trabalhos, o foco recaiu sobre um organismo ou uma localidade, outros 30% enfatizaram a bioatividade dos produtos naturais marinhos, e o restante (19%) ressaltou tópicos diversos incluindo biossíntese, computação, metodologias analíticas e purificação, ecologia e impactos dos produtos naturais marinhos na saúde e bem-estar humanos.

O gênero *Sargassum* abrange 539 espécies descritas no mundo, distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais. Geralmente, as macroalgas marinhas desse gênero se fixam em costões rochosos, onde não há impactos das ondas, mas algumas espécies formam florestas subaquáticas e servem como alimento e abrigo para vários organismos marinhos (GUIRY,

2021; ROVER, 2014). De acordo com o trabalho de Almada, Yoneshigue-Valentin e Nassar (2008), as populações do gênero *Sargassum* ocorrem no litoral brasileiro, tanto em costões rochosos protegidos como em costões expostos à ação das ondas, estando distribuídas desde o litoral do Maranhão até o do Rio Grande do Sul.

As espécies desse gênero apresentam diferenças marcantes quanto ao comprimento, variando de 10 cm a mais de 2 m, mas exibem características comuns como fixação ao substrato por meio de um apressório, presença de um eixo principal e de ramificações que se formam a partir dele, com folhas relativamente estreitas, podendo ter margens dentadas ou não e, geralmente, apresentam vesículas de ar (aerocistos) com formato arredondado, que auxiliam na flutuação. Os indivíduos na fase adulta produzem ramos laterais primários de crescimento indeterminado que se ramificam e diferenciam os receptáculos em cavidades internas (conceptáculos), que contêm os anterídios e/ou oogônios, o que pode acontecer também nas axilas, que são ângulos formados na junção da folha com o ramo ou o caule, dos filóides. Após a diferenciação, elas se tornam senescentes depois da maturação e liberação de gametas, ou seja, há redução do vigor e da fragmentação dos ramos laterais férteis (FIGURA 1) (GUIRY, 2021; ROVER, 2014).

Figura 1 –Desenho esquemático de um indivíduo adulto pertencente ao gênero *Sargassum* e suas estruturas (a). Receptáculo masculino (b). Receptáculo feminino (c). Vesículas flutuadoras (d). Aspecto do corte transversal do filóide (e).



Fonte: Adaptado de ROVER (2014).

Os principais pigmentos encontrados nas macroalgas pardas são as clorofilas *a* e *c* e os carotenoides como a fucoxantina, uma xantofila que confere a cor marrom ou verde oliva dessas algas. As espécies de *Sargassum* apresentam alguns metabólitos secundários como alginatos, cumarinas, quinonas, polissacarídeos sulfatados, esteroides, terpenoides, compostos fenólicos e flavonoides, que possuem atividade biológica (GUIRY, 2021; MILLDGE; NIELSEN; BAILEY, 2016; ROVER, 2014).

Os metabólitos secundários constituem uma pequena fração da biomassa do organismo que os produzem, sendo geralmente utilizados como defesa química naqueles organismos sésseis ou de movimento lento, como algas, esponjas, cnidários, tunicados e briozoários. Estas moléculas também podem aportar nos animais através de suas dietas, sendo modificadas e utilizadas de maneira diferente da função original (ALVES *et al.*, 2018).

Muitos compostos já foram isolados de organismos marinhos com diferentes atividades biológicas, por exemplo, anticâncer, antidiabética, anti-inflamatória, antimalária, antimicrobiana, antioxidante, antituberculose, antitumoral, antiviral, dentre outras, com aplicações potencialmente capazes de trazer benefícios para a saúde humana e animal (ALVES *et al.*, 2018; GIANG *et al.*, 2016; HAMED *et al.*, 2015).

Compostos fenólicos, polissacarídeos, glicolipídios, esteroides, terpenoides e outros metabólitos secundários encontrados em macroalgas marinhas já foram avaliados quanto às atividades anticâncer, antibacteriana e antiviral, sendo comprovadamente eficazes, inclusive contra o vírus da imunodeficiência humana (HIV), que leva à síndrome da imunodeficiência adquirida (AIDS), tornando evidente o potencial terapêutico desses organismos (SANTOS *et al.*, 2019). Compostos derivados de diversos organismos marinhos, já aprovados ou que estão em alguma fase de desenvolvimento farmacológico, são apresentados no endereço eletrônico <<https://www.midwestern.edu/departments/marinepharmacology/clinical-pipeline>>.

Alguns exemplos de metabólitos secundários com atividade biológica isolados de organismos marinhos estão listados no QUADRO 1.

Quadro 1 – Exemplos de metabólitos secundários com atividade biológica isolados de organismos marinhos. Continua.

Organismo marinho	Composto químico	Atividade biológica	Referência
Esponja <i>Agelas mauritiana</i>	Ageloxima B (alcaloide/terpenoide)	Antibacteriana	YANG <i>et al.</i> (2012)
Esponja <i>Aplysina fulva</i>	Lectina	Antibiofilme	CARNEIRO <i>et al.</i> (2019)
Esponja <i>Chondrilla caribensis</i>	Lectina	Antibiofilme	MARQUES <i>et al.</i> (2018)

Quadro 1 – Exemplos de metabólitos secundários com atividade biológica isolados de organismos marinhos.

Continua.

Esponja <i>Haliclona caerulea</i>	Lectina	Anticâncer	NASCIMENTO- NETO <i>et al.</i> (2018)
Esponja <i>Phakellia fusca</i>	Faquelistatina (peptídeo)	Antitumoral	GOHINENI; HAMANN (2018)
Ascídia <i>Synoicum sp.</i>	Eudistomina (alcaloide)	Antibacteriana	WON <i>et al.</i> (2012)
Coral mole <i>Litophyton arboreum</i>	Esfingolípido (terpenoide)	Antiviral	ELLITHEY <i>et al.</i> (2013)
Coral mole <i>Sinularia flexibilis</i>	Flexibilisolida C (terpenoide)	Anti-inflamatória	SHIH <i>et al.</i> (2013)
Pepino-do-mar <i>Actinopyga echinites</i> e <i>Holothuria polii</i>	Equinosídeos A e B (glicosídeo/terpenoide)	Anti-helmíntica	MELEK <i>et al.</i> (2012)
Anêmona <i>Anthopleura elegantissima</i>	Peptídeo APETx2 (peptídeo)	Analgésica / moduladora de canais de sódio (sistema nervoso)	JENSEN <i>et al.</i> (2012)
Lebre-do-mar <i>Aplysia dactylomela</i>	Lectina	Antibacteriana e Antibiofilme	CARNEIRO <i>et al.</i> (2017a)
Bactéria <i>Streptomyces sp.</i>	Loboforina G (terpenoide/glicosídeo)	Antituberculose	CHEN <i>et al.</i> (2013)
Cianobactéria <i>Lyngbya majuscula</i>	Lagunamidas (peptídeo)	Antimalária	GOHINENI; HAMANN (2018)
Cianobactéria <i>Lyngbya majuscula</i>	Herbamida B (peptídeo)	Antileishmania	GOHINENI; HAMANN (2018)
Fungo <i>Aspergillus sp.</i>	Asperterpenoide A (terpenoide)	Antituberculose	HUANG <i>et al.</i> (2013)
Fungo <i>Penicillium sp.</i>	Penicácido B (policetídeo)	Atividade imunossupressora (sistema imunológico)	CHEN <i>et al.</i> (2012)
Macroalga parda <i>Sargassum vulgare</i>	Glicolípido	Antiviral	PLOUGUERNE <i>et al.</i> (2013)
Macroalga parda <i>Ishige foliacea</i>	Octafloreto A (policetídeo)	Antidiabética	LEE <i>et al.</i> (2012)
Macroalga parda <i>Cystoseira usneoides</i>	Cistodiona A (terpenoide)	Anti-inflamatória	DE LOS <i>et al.</i> (2013)
Macroalga parda <i>Cymathere triplicata</i>	Policetídeo	Analgésica / moduladora de canais de sódio (sistema nervoso)	CHOI <i>et al.</i> (2012)
Macroalga parda <i>Cystoseira trinodis</i>	Florotaninos	Antioxidante	SATHYA <i>et al.</i> (2017)

Quadro 1 – Exemplos de metabólitos secundários com atividade biológica isolados de organismos marinhos.

Conclusão.

Macroalga vermelha <i>Palmaria palmata</i>	Hidrolisado de proteína	Antioxidante	BEAULIEU; SIROIS; TAMIGNEAUX (2016)
Macroalga vermelha <i>Gracilaria caudata</i>	Polissacarídeo sulfatado	Antioxidante	ALENCAR <i>et al.</i> (2019)
Macroalga vermelha <i>Meristiella echinocarpa</i>	Lectina	Antibactiana	CHAVES <i>et al.</i> (2018a)
Macroalga vermelha <i>Solieria filiformis</i>	Lectinas	Anticâncer	CHAVES <i>et al.</i> (2018b)

Fonte: AUTORA (2020).

A maricultura, responsável por 97,1% da produção mundial de algas, foi estimada em torno de 32,4 milhões de toneladas, em 2018, valor correspondente ao triplo da produção desde o ano 2000. Os principais países produtores são China, Indonésia, Coreia, Filipinas e Japão. As macroalgas vermelhas são as mais cultivadas, sendo utilizadas diretamente como alimento ou indiretamente para a extração de ágar e carragenana. Dentre elas, as mais cultivadas foram *Eucheuma* spp. (9,24 milhões de toneladas ou 28,5% da produção total), *Gracilaria* spp. (3,45 milhões de toneladas ou 10,6% da produção total), *Porphyra* spp. (2,02 milhões de toneladas ou 6,2% da produção total) e *Kappaphycus alvarezii* (1,60 milhão de tonelada ou 4,9% da produção total). Apesar da grande produção, essas espécies possuem relativamente baixo teor de compostos antioxidantes. Por sua vez, as macroalgas pardas ocupam a segunda posição na produção global, com a maior parte sendo destinada à alimentação. As espécies de ocrófitas mais cultivadas foram *Laminaria japonica* e *Undaria pinnatifida*, com respectivamente 11,45 milhões de toneladas ou 35,4% da produção total e 2,32 milhões de toneladas ou 7,2% da produção total (FAO, 2020). De acordo com Jacobsen *et al.* (2019), a colheita de recursos naturais é de 0,79 milhão de tonelada, com as algas vermelhas sendo as mais cultivadas (20 milhões de toneladas) para uso como alimento, e para obtenção de ágar e carragenana.

1.1 Atividade antioxidante

Os compostos antioxidantes podem produzir importantes benefícios para a melhoria da qualidade de vida, considerando que eles são capazes de proteger um determinado organismo dos danos causados pelos radicais livres, prevenindo ou retardando o início de várias doenças.

As espécies reativas de oxigênio (EROs) consistem em um grupo de compostos que contêm oxigênio e que são muito reativos com moléculas como os ácidos ribonucleico e desoxirribonucleico (RNA e DNA), proteínas, lipídios, lipoproteínas, comprometendo a integridade das células e afetando o fluxo de nutrientes e de fluidos nas células. Algumas delas são: hidroxila (OH^-), peroxila (ROO^-), superóxido (O_2^-), hidroperoxila (HO_2^-), alcoxila (RO^-), sulfonila (ROS) e óxido nítrico (NO), agentes oxidantes não-radicaís como peróxido de hidrogênio (H_2O_2), oxigênio singlete (O_2^1), hidroperóxidos orgânicos (ROOH) e ácido hipocloroso (HOCl). As EROs são produzidas nos sistemas biológicos e são fundamentais nos processos de destruição de fagócitos, ingestão bacteriana, dentre outros mecanismos que envolvem o metabolismo celular (FERNANDO; KIM; SON, 2016; FLEITA; EL-SAYED; RIFAAT, 2015; LIU *et al.*, 2017).

Em condições fisiológicas normais, as células conseguem tolerar a presença de EROs através da defesa antioxidante, que regula sua produção e os elimina, protegendo o organismo contra danos celulares e teciduais. Entretanto, vários fatores podem afetar o equilíbrio entre os antioxidantes e as EROs, como o consumo inadequado de medicamentos, álcool, drogas, cigarro e até mesmo a exposição à poluição. Nos casos em que há associação desses fatores, ocorre elevação da quantidade de radicais livres no organismo, causando estresse oxidativo, que por sua vez, leva ao aparecimento de doenças degenerativas, como câncer, diabetes, processos inflamatórios, alergias, insuficiência cardíaca, acidente vascular cerebral, dentre outras (FERNANDO; KIM; SON, 2016; FLEITA; EL-SAYED; RIFAAT, 2015; LIU *et al.*, 2017; KHALID *et al.*, 2018; PIMENTEL *et al.*, 2020).

Os antioxidantes podem ser classificados em primários ou secundários. Os primários, como tocoferóis e compostos fenólicos, são capazes de inibir as reações em cadeia, envolvidas no processo de oxidação, ao doar átomos de hidrogênio ou gerar radicais mais estáveis. Os secundários, por sua vez, impedem a ação dos promotores da oxidação como íons metálicos, oxigênio singlete, enzimas pró-oxidativas, entre outros. O ácido ascórbico é um exemplo de antioxidante secundário, capaz de inibir a redução de antioxidantes primários ao regenerá-los através da transferência de átomos de hidrogênio (SHAIDI; ZHONG, 2015).

Outra classificação agrupa os antioxidantes em sintéticos ou naturais. Os sintéticos são muito eficientes na proteção contra a oxidação lipídica, mas não funcionam da mesma maneira em todos os alimentos. Dentre as vantagens do uso de antioxidantes sintéticos destacam-se o baixo custo e a elevada estabilidade nos alimentos. A principal desvantagem reside nas restrições ao uso por causa dos possíveis efeitos negativos e riscos à saúde humana, tendo sido este aspecto um dos responsáveis por impulsionar a busca por antioxidantes naturais.

Além disso, os compostos naturais possuem propriedades antioxidantes distintas, o que é vantajoso em sistemas complexos, como os alimentos. A etapa de iniciação na auto-oxidação lipídica ocorre quando um ácido graxo insaturado perde um átomo de hidrogênio na presença de luz, calor, radicais livres pré-existentes ou até mesmo de quantidades-traço de íons metálicos. O radical lipídico formado reage com o oxigênio para formar um radical peroxil. Outro importante mecanismo da etapa de iniciação envolve a catálise da decomposição de hidroperóxidos já presentes no meio devido a metais traço (JACOBSEN *et al.*, 2019; MARINHO *et al.*, 2018).

A capacidade antioxidante exibida por uma determinada substância é devida principalmente à transferência de átomos de hidrogênio ou de elétrons e pode ser classificada de acordo com o mecanismo de ação, por exemplo, sequestro de radicais, quelação de íons metálicos ou eliminação de oxigênio (FERNANDO; KIM; SON, 2016; PIMENTEL *et al.*, 2020). Assim, a determinação da atividade antioxidante por ensaios distintos é uma prática comum entre os pesquisadores, permitindo maior consistência na avaliação e interpretação dos resultados.

Além da reconhecida importância para a saúde humana, os antioxidantes também são bastante utilizados na indústria alimentícia. Eles atuam como agentes que prolongam a vida útil dos produtos, mantendo seus atributos sensoriais, ao prevenir alterações de cor e textura, além do aparecimento de odores e sabores desagradáveis que afetam a aparência e a qualidade do alimento. São considerados um dos meios mais eficazes e convenientes de impedir a oxidação lipídica, mantendo a qualidade dos produtos (JACOBSEN *et al.*, 2019; SHAIDI; ZHONG, 2015).

Os compostos fenólicos ou polifenóis podem variar de fenóis simples até moléculas mais complexas como ácidos fenólicos, cumarinas, taninos, ligninas, lignanas, estilbenos, flavonoides e outras classes que estão presentes em plantas terrestres e na biota marinha. Nos últimos anos, tem havido um interesse crescente por compostos naturais com atividade antioxidante, que parece estar associado principalmente aos efeitos colaterais e à toxicidade de compostos sintéticos como o butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), butil hidroquinona terciária (TBHQ) e galato de propila (PG). Dentre os compostos naturais com atividade antioxidante estão os fenólicos algais utilizados em aplicações industriais como alimentos funcionais, nutracêuticos e cosméticos, que podem substituir os antioxidantes sintéticos (FERNANDO; KIM; SON, 2016; KHALID *et al.*, 2018; LIU *et al.*, 2017).

Espécies de macroalgas pardas como *Fucus* spp., *Sargassum* spp., *Ascophyllum nodosum*, *Laminaria* / *Saccharina* spp. e *Undaria pinnatifida* são ricas em compostos fenólicos,

tocoferóis e carotenoides, como a fucoxantina, os quais lhes conferem potencial antioxidante. Além desses compostos, as ocrófitas também contêm uma variedade de hidrocoloides (como alginatos) e polissacarídeos não-hidrocoloides (como laminarina e fucoidano), que são de interesse industrial pois possuem propriedades físico-químicas gelificantes e emulsificantes, com ampla variedade de aplicação em cosméticos, formulações farmacêuticas e alimentícias (JACOBSEN *et al.*, 2019; MARINHO *et al.*, 2018; RAJAURIA *et al.*, 2021).

Apesar das espécies supracitadas terem recebido destaque na literatura, de uma maneira geral, há muitos registros de ocrófitas que também apresentam atividade antioxidante, e outras atividades biológicas, examinadas por diferentes metodologias e por métodos de extração e de fracionamento distintos. Frações da macroalga marinha parda *Dictyota mertensii* exibiram capacidade antioxidante em diferentes ensaios e apresentaram potencial para tratamento terapêutico contra a osteoporose, doença caracterizada pela perda progressiva de massa óssea, tornando os ossos enfraquecidos e predispostos a fraturas. Outra ocrófitas, *Cystoseira barbata*, mostrou propriedades antioxidantes e antibacterianas que auxiliaram no processo de regeneração cutânea (FIDELIS *et al.*, 2019; RAJAURIA; FOLEY, ABU-GHANNAM, 2016; SELLIMI *et al.*, 2018). Além dos exemplos mencionados, existem diversos estudos que ressaltam o potencial de diferentes espécies de macroalgas em todo o mundo. Extratos da rodófitas *Gracilaria* sp. revelaram resultados positivos quando usados como suplemento alimentar na dieta de peixes devido à atividade antioxidante dos compostos presentes, aumentando a resistência desses animais a patógenos (PEIXOTO *et al.*, 2019). É importante enfatizar que, apesar do grande potencial de aplicação industrial e na saúde humana, a disponibilidade de biomassa, seja de populações naturais ou de cultivo, deve ser sempre levada em consideração (JACOBSEN *et al.*, 2019; MARINHO *et al.*, 2018).

1.2 Atividade fitotóxica

O uso de agrotóxicos em excesso e a contaminação por metais pesados, práticas prejudiciais à saúde pública e ao meio ambiente, impulsionaram a comunidade científica durante as décadas de 1960 e 1970, a avaliar os efeitos nocivos dos produtos químicos. Foi então que os ensaios toxicológicos apareceram como ferramenta para quantificar e qualificar o efeito decorrente da interação de determinados compostos com o organismo testado. Ao longo dos últimos 50 ou 60 anos, muitas condutas foram modificadas, fazendo com que a agricultura moderna buscasse novas substâncias naturais, sem ou com menos efeitos negativos sobre as produções, que possibilitassem a substituição ou pelo menos a redução do uso de produtos

químicos. Algumas dessas substâncias promotoras de crescimento são encontradas em algas e estão, cada vez mais, sendo utilizadas como fertilizantes em vez dos produtos sintéticos convencionais (CARNEIRO, 2017a; CARNEIRO, 2017b; DE PAULA, 2016; HERNÁNDEZ-HERRERA *et al.*, 2014; GUNUPURU *et al.*, 2019).

Os ensaios toxicológicos podem ser realizados *in vitro* ou *in vivo*. De acordo com Bednarczuk *et al.* (2010), os ensaios *in vitro* compreendem aqueles métodos ou técnicas que podem substituir ou diminuir o uso de animais na experimentação. Esses testes identificam bem o princípio dos três erres (3Rs – *replacement, reduction e refinement*). O primeiro trata da substituição de experimentos que utilizam animais por outros que não os utilize; o segundo consiste na redução do número de animais; e o terceiro corresponde à diminuição da severidade dos processos. Tais testes permitem prever a toxicidade de uma substância em seres humanos com a utilização de enzimas, proteínas, culturas celulares, micro-organismos como bactérias e fungos, por exemplo. Os ensaios *in vivo* podem ser divididos em dois tipos de testes, os de toxicidade aguda e os de toxicidade crônica ou contínua. Nos testes de toxicidade aguda, mais utilizados pela praticidade, baixo custo e resultados significativos, os organismos são expostos à determinada substância por um curto período, com efeitos irreversíveis. Nos testes de toxicidade crônica ou contínua, ocorre a exposição repetida dos organismos às substâncias a serem analisadas, em baixas concentrações, de modo que não causam mortalidade, mas podem afetar os organismos ao longo do ciclo de vida (CARNEIRO, 2021; DE PAULA, 2016).

A fitotoxicidade mensura o potencial tóxico de uma determinada substância em relação a alguma espécie vegetal. Há várias maneiras de se realizar o ensaio fitotóxico com extratos de algas, seja pela aplicação nas sementes, imersão das raízes, encharcamento do solo, pulverização nas folhas e até pela combinação de duas ou mais técnicas. O método, o tempo e a taxa de aplicação podem diferir de acordo com a espécie vegetal e com o estágio do ciclo de vida. Geralmente, a análise é feita nos estágios iniciais de desenvolvimento, quando são mais sensíveis a condições estressantes, por isso, os ensaios são normalmente realizados com sementes, tendo praticidade e baixo custo como principais vantagens (KOHATSU *et al.*, 2018; MAHMOUD *et al.*, 2019; PEDUTO; JESUS; KOHATSU, 2019).

A utilização de macroalgas marinhas na agricultura é uma prática antiga que traz benefícios como aumento da produtividade, da taxa de germinação e da resistência a fatores estressantes bióticos e abióticos, além de melhorar os processos fisiológicos como crescimento radicular, absorção de nutrientes e atividade fotossintética. Tais benefícios se devem à composição dos elementos minerais presentes em quantidades maiores, nitrogênio e potássio, e zinco, magnésio e enxofre, em quantidades menores, que promovem uma melhor retenção de

umidade e sais minerais no solo. Ademais, os metabólitos secundários como citocinas, auxinas, etilenos (reguladores de crescimento), prolina, betaína (osmólitos), carragenana e alginato (polissacarídeos), florotaninos, dentre outros, formam um extrato complexo e possuem atuação sinérgica na promoção do crescimento das plantas. No entanto, o efeito do uso de algas na agricultura pode variar de acordo com a espécie vegetal cultivada, a espécie de alga usada como fertilizante, a concentração do extrato algal e as condições ambientais (DOS SANTOS *et al.*, 2019; MIRANDA *et al.*, 2019; RIBEIRO *et al.*, 2017; TORRES, 2017).

Nos últimos anos, fertilizantes comerciais a base de algas marinhas, já podem ser encontrados no mercado e estão disponíveis em diferentes estados (material seco, líquido e concentrado). Esses produtos geralmente são provenientes de macroalgas pardas como *Ascophyllum nodosum*, *Ecklonia* spp., *Fucus serratus*, *Fucus* spp., *Laminaria* spp. e *Sargassum* spp. No entanto, outras espécies também apresentaram resultados positivos, como as rodófitas do gênero *Gracilaria* e *Kappaphycus alvarezii* e a macroalga marinha verde *Ulva lactuca* (CARILLO *et al.*, 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2019; MIRANDA *et al.*, 2019; TORRES, 2017).

A maioria dos produtos bioestimulantes à base de algas que estão disponíveis comercialmente é proveniente de extratos aquosos e, em geral, são produtos bastante heterogêneos, que variam em diversas características como cor (de quase incolor a um intenso preto acastanhado escuro), odor, viscosidade e composição. Normalmente, a extração líquida pode ser feita com água, álcalis, ácidos ou também usando a combinação de diferentes tipos de moagem, homogeneização de alta pressão, ultrassonicação ou campos elétricos pulsados (CARILLO *et al.*, 2020).

1.3 Atividade antimicrobiana

A busca por substâncias biologicamente ativas provenientes de algas, mais especificamente com potencial antimicrobiano, começou apenas na década de 1950 (MILLIDGE; NIELSEN; BAILEY, 2016).

As doenças causadas por micro-organismos podem provocar elevada mortalidade em seres humanos, por exemplo, cepas de *Salmonella* causadoras de diarreias e febre tifoide, cepas de *Bacillus subtilis* associadas a gastroenterites, cepas de *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* e *Pseudomonas aeruginosa*, responsáveis por abortos, complicações respiratórias e mastite, sendo que *P. aeruginosa* pode ser fatal em pacientes queimados (SUJATHA; SIVA; NAWAS, 2019).

Além do mais, alguns micro-organismos também podem provocar grandes prejuízos aos empreendimentos de aquicultura, sendo responsáveis por elevada mortalidade dos organismos aquáticos cultivados, como é o caso de *Aeromonas* spp. e *Pseudomonas fluorescens*, respectivamente, causadoras de furunculose e septicemia hemorrágica em peixes e de *Vibrio parahaemolyticus* responsável pela síndrome da mortalidade precoce em camarões marinhos (CORONEL, 2016).

Apesar do atual desenvolvimento tecnológico e da medicina, o uso inadequado de antimicrobianos, tanto na saúde humana quanto na alimentação e produção animais, acarretou uma pressão seletiva contínua sobre os antimicrobianos conhecidos, levando ao aparecimento de cepas resistentes e até mesmo multirresistentes (BERRI *et al.*, 2016; DUSSAULT *et al.*, 2016; MUSBAH *et al.*, 2019).

Para enfrentar essa situação, a Organização Mundial da Saúde (OMS) lançou, em 2015, o Plano de Ação Global em Resistência a Antimicrobianos, que serviu de base para diversos países traçarem suas estratégias. A resistência microbiana ocorre mais frequentemente com antibióticos, mas também afeta antivirais, antifúngicos e antiparasitários. Tais medicamentos recebem a denominação comum de antimicrobianos. No Brasil, a elaboração de um Plano de Ação Nacional envolveu diversos órgãos, em uma parceria entre a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (Anvisa) e os ministérios da Saúde, Agricultura, Ciência e Tecnologia e Meio Ambiente (ANVISA, 2018), culminando com a Resolução RDC Nº 471, de 23 de fevereiro de 2021, que dispõe sobre os critérios para a prescrição, dispensação, controle, embalagem e rotulagem de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos de uso sob prescrição, isoladas ou em associação, listadas em Instrução Normativa específica (BRASIL, 2021).

Por isso é necessário buscar novas substâncias para combater os micro-organismos resistentes, como estratégias profiláticas alternativas. Neste sentido, as algas são fontes naturais capazes de auxiliar na solução desse problema, considerando os registros na literatura sobre a existência de compostos presentes em várias espécies algais dotados de atividades biológicas contra patógenos que afetam negativamente as produções agrícola e aquícola e a saúde humana (BERRI *et al.*, 2016; DUSSAULT *et al.*, 2016; MUSBAH *et al.*, 2019; NAWAIN *et al.*, 2017; SUJATHA; SIVA; NAWAS, 2019).

Segundo Torres (2017), já foi demonstrado na literatura o potencial das macroalgas marinhas no melhoramento do sistema imunológico de organismos aquáticos como os camarões das espécies *Penaeus vannamei* e *P. monodon* e contra bactérias e outros patógenos associados à carcinicultura. Silva (2017) testou a atividade antibacteriana das espécies de macroalgas

pardas (*Lobophora variegata* e *Padina gymnospora*), vermelha (*Hypnea musciformis*) e verdes (*Ulva fasciata*, *U. lactuca* e *Caulerpa prolifera*) e concluiu que os extratos hidroalcoólicos e hexânicos foram capazes de inibir a multiplicação das bactérias *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e estirpes de *Salmonella* com perfil de resistência a antimicrobianos. Resultados semelhantes foram observados por Cabral (2012), usando extratos etanólicos da macroalga marinha vermelha *Porphyra tenera* e das pardas, *Laminaria japonica*, *Undaria pinnatifida* e *Hijikia fusiformis* contra *Listeria monocytogenes* e *Klebsiella pneumoniae*.

Estudos anteriores também já haviam demonstrado o potencial antimicrobiano de diferentes macroalgas marinhas contra diversas bactérias como *Vibrio parahaemolyticus*, *Vibrio* sp., *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* e *Aeromonas hydrophila*, deletérias ao cultivo de peixes e camarões (AMARILLAS *et al.*, 2016; KASANAHA *et al.*, 2018; SILVA *et al.*, 2018; WIJNANA *et al.*, 2018), *Listeria monocytogenes*, *Bacillus cereus* e *S. aureus*, que comprometem a qualidade de alimentos (DUSSAULT *et al.*, 2016), contra os fungos *Candida albicans* e *C. tropicalis*, que afetam a saúde humana e também contra outras bactérias como *Bacillus subtilis*, *Enterococcus faecalis*, *E. faecium*, *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Streptococcus agalactiae* e *Salmonella* Typhimurium ou *Salmonella enterica* sorotipo Typhi que é o agente etiológico da febre tifoide (ABDEL-LATIF *et al.*, 2018; AKREMI *et al.*, 2017; OMAR; AL-JUDAIBIAND; EL-GENDY, 2018).

Os compostos antimicrobianos presentes nas algas possuem ampla possibilidade de aplicações, exemplificadas aqui por estudos recentes. Kim *et al.* (2020) mostraram que o composto difloreto-hidroxycarmalol (DPHC), isolado da macroalga marinha parda *Ishige okamurae*, pode ser potencialmente utilizado como hidrogel em curativos de feridas, por apresentar significativa atividade antimicrobiana. Sáez *et al.* (2021) trataram filés de truta arco-íris (*Oncorhynchus mykiss*) com extratos aquosos das macroalgas marinhas verde *Ulva ohnoi* e vermelha *Crassiphycus corneus* e das microalgas *Arthrospira platensis* e *Haematococcus pluvialis*, tendo observado atividade antioxidante superior àquela atribuída ao ácido ascórbico, assim como, retardo do crescimento microbiano e da oxidação lipídica ao longo do período de armazenamento sob refrigeração, sem mencionar a ocorrência de alteração dos atributos sensoriais. Atualmente, a encapsulação de probióticos e nutracêuticos para aplicação na indústria de alimentos funcionais representa uma tendência. Savaghebi, Ghaderi-Ghahfarokhi e Barzegar (2021) encapsularam extratos da macroalga marinha parda *Sargassum boveanum* em nanolipossomos, os quais foram utilizados com o objetivo de aumentar a vida de prateleira de uma maionese funcional.

Apesar do grande potencial biotecnológico das macroalgas, incluindo as da costa brasileira, estudos que investigam a aplicação de seus metabólitos ainda são relativamente escassos. Desse modo, mediante o exposto, o presente trabalho teve como objetivo geral investigar o potencial biológico da macroalga marinha parda *Sargassum vulgare*. Os objetivos específicos consistiram em quantificar os teores de compostos fenólicos totais e de flavonoides e avaliar as atividades antioxidante, fitotóxica e antimicrobiana do extrato etanólico da macroalga marinha parda *S. vulgare* e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta do material e Preparação do extrato e das frações

A macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, C. Agardh, 1820 (FIGURA 2), pertencente ao Filo Ochrophyta, Classe Phaeophyceae, Subclasse Fucophycidae, Ordem Fucales e Família Sargassaceae, foi coletada na Praia do Paracuru, município de Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019. A coleta foi autorizada pelo Sisbio (ID 33913-8). Uma exsicata da espécie foi depositada no Herbário Prisco Bezerra, do Departamento de Biologia da UFC sob o número 63878. A identificação taxonômica foi feita pelo Prof. Dr. Alexandre Holanda Sampaio.

Figura 2 – Exemplar da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletado na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



Classificação taxonômica

Domínio: Eukaryota
 Reino: Chromista
 Filo: Ochrophyta
 Classe: Phaeophyceae
 Subclasse: Fucophycidae
 Ordem: Fucales
 Família: Sargassaceae
 Gênero: *Sargassum*
 Espécie: *S. vulgare*

Fonte: AUTORA (2020).

Em laboratório, a biomassa coletada, depois de lavada com água destilada para remoção de outras algas, pequenos crustáceos, conchas, areia e demais materiais macroscópicos indesejáveis, foi deixada sobre papel absorvente para drenar o excesso de água e, em seguida, liofilizada em liofilizador Liobras, modelo Liotop K120, sob pressão de 800 μmHg a $-80\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A biomassa liofilizada foi triturada com auxílio de um moedor doméstico até ser transformada em um pó fino, sendo conservada em frasco hermeticamente fechado a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$, até o momento da preparação do extrato.

A extração se processou em incubadora com agitação (Jeio, modelo SI300R), no escuro a 25 °C por 48 h, onde foi colocado um recipiente de vidro de cor âmbar contendo a biomassa liofilizada e etanol (EtOH), na proporção de 1:10 (p/V), sob agitação constante de 100 rpm. Findo este tempo, o extrato foi filtrado, e o resíduo re-extraído com o mesmo volume de etanol por mais 48 h, ao fim das quais foi novamente filtrado.

Os filtrados foram reunidos, e o solvente evaporado sob pressão em rotaevaporador (Fisatom, modelo 802). A transferência do extrato para um frasco de vidro, previamente pesado, foi feita com auxílio de metanol (MeOH), o qual foi completamente evaporado em placa aquecedora (temperatura inferior a 40 °C). Finalmente, o frasco contendo o extrato etanólico foi pesado para o cálculo do rendimento de extração.

O extrato etanólico foi mantido a -24 °C. Uma parte foi utilizada para a quantificação de compostos fenólicos totais (CFT) e de flavonoides (TF) e para a determinação das atividades antioxidante *in vitro*, fitotóxica e antimicrobiana.

Outra parte foi destinada à obtenção das frações, que consistiu na maceração do extrato etanólico com sílica gel, seguida pelo fracionamento por cromatografia em coluna, usando sílica gel 60 G, com granulometria 0,063-0,2 mm / 70-230 mesh (Macherey-Nagel, Alemanha), previamente aquecida em estufa a 100 °C por 30 min, como adsorvente na fase estacionária.

O extrato etanólico foi eluído com os solventes, em ordem crescente de polaridade, hexano, diclorometano, acetato de etila, etanol, metanol e água, gerando as frações Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O, respectivamente, a partir do extrato etanólico.

Este procedimento foi realizado duas vezes. Na primeira vez, as frações foram obtidas pela eluição em volume fixo de 1 L de cada solvente; na segunda, o volume do solvente variou de 0,5 a 2 L, sendo substituído pelo seguinte, à medida que a coloração do extrato ficava menos intensa.

As frações também foram analisadas quanto ao CFT e TF, e nelas determinadas as atividades antioxidante *in vitro*, fitotóxica e antimicrobiana.

Todas as análises de quantificação de CFT e TF e de atividade antioxidante foram feitas com quatro repetições. As demais foram feitas em triplicata.

2.2 Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT)

Os compostos fenólicos totais (CFT) foram determinados pelo método de Singleton e Rossi Jr (1965), descrito por Ainsworth e Gillespie (2007) e Agbor, Vinson e Donnelly (2014).

Alíquotas de 100 µL do extrato etanólico de *S. vulgare*, preparado em concentrações variando de 2.500 a 10.000 µg/mL, foram misturadas com 200 µL do Folin-Ciocalteu a 10% e 800 µL de carbonato de sódio a 7,5%. O mesmo procedimento foi adotado para as frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico.

Após 2 h de incubação à temperatura ambiente, 200 µL da mistura reacional foram transferidos para microplacas de poliestireno de 96 poços, e as absorvâncias monitoradas a 765 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340).

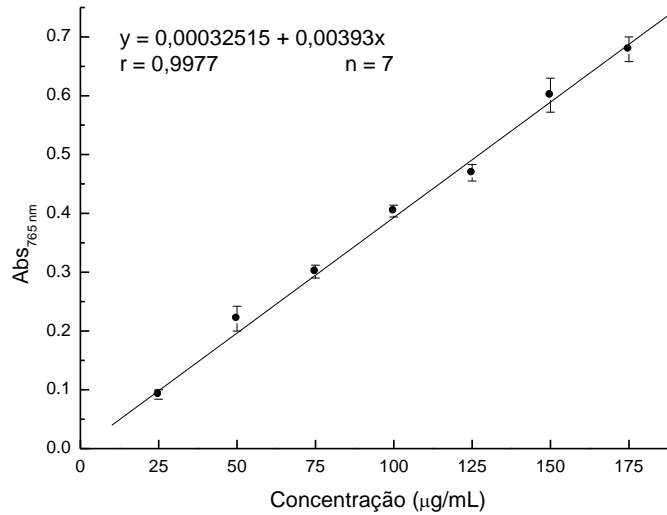
Um branco foi preparado com 100 µL de metanol a 95% e os demais reagentes. A partir das curvas padrão do ácido gálico foram quantificados os teores de CFT no extrato etanólico (TABELA 1, GRÁFICO 1) e nas frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas do extrato etanólico (TABELA 2, GRÁFICO 2).

Tabela 1 – Curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 200 µg/mL, usada para quantificar os compostos fenólicos totais (CFT), no extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Concentração (µg/mL)	Absorvância 765 nm
	Média ± Desvio padrão
25	0,092 ± 0,008
50	0,221 ± 0,021
75	0,301 ± 0,011
100	0,404 ± 0,010
125	0,469 ± 0,014
150	0,601 ± 0,029
175	0,679 ± 0,021
200	0,699 ± 0,056

Fonte: AUTORA (2020).

Gráfico 1 - Curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 175 µg/mL, usada para quantificar os compostos fenólicos totais (CFT), no extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



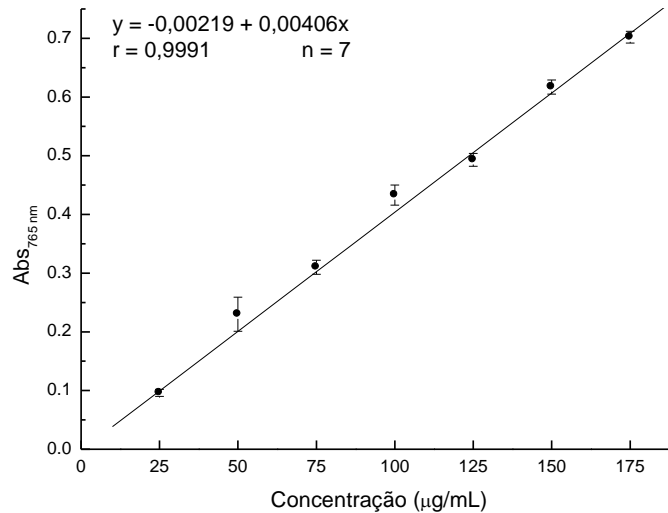
Fonte: AUTORA (2020).

Tabela 2 - Curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 200 µg/mL, usada para quantificar os compostos fenólicos totais (CFT) nas frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Concentração (µg/mL)	Absorbância 765 nm
	Média ± Desvio padrão
25	0,096 ± 0,006
50	0,230 ± 0,029
75	0,310 ± 0,012
100	0,433 ± 0,017
125	0,493 ± 0,011
150	0,617 ± 0,012
175	0,702 ± 0,010
200	0,732 ± 0,018

Fonte: AUTORA (2020).

Gráfico 2 - Curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 175 µg/mL, usada para quantificar os compostos fenólicos totais (CFT), nas frações Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O, obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



Fonte: AUTORA (2020).

2.3 Quantificação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF)

A quantificação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) foi baseada nos métodos de Ahn *et al.* (2007), Miguel *et al.* (2014) e Pekal e Pyrzyńska (2014).

A 500 µL do extrato etanólico de *S. vulgare*, preparado em concentrações variando de 50 a 1.000 µg/mL, foram adicionados 500 µL de cloreto de alumínio a 2% em etanol. O mesmo procedimento foi adotado para as frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico. Depois de 1 h de incubação à temperatura ambiente, 200 µL da mistura reacional foram transferidos para microplacas de poliestireno de 96 poços, e as absorbâncias, monitoradas a 425 nm em leitora Biochrom Asys UVM 340. Um branco foi preparado com 500 µL de metanol a 95%, em vez do extrato ou das frações.

As curvas padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 100 µg/mL, concentração até onde a linearidade foi observada, foram utilizadas para quantificar os teores de flavonoides (TF), no extrato etanólico (TABELA 3, GRÁFICO 3) e nas frações

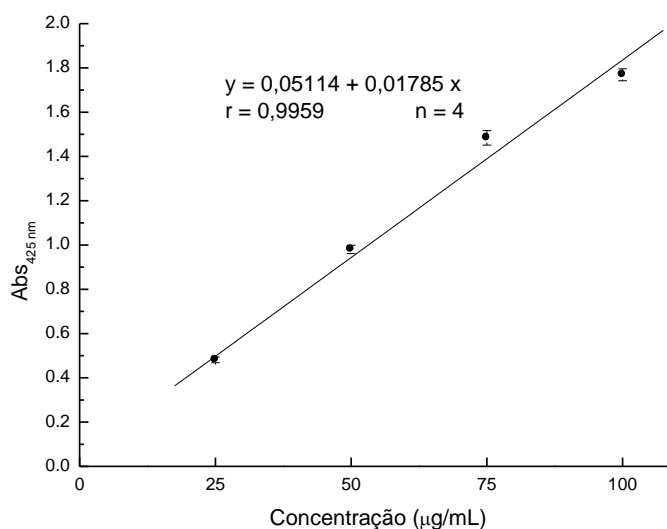
hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico (TABELA 4, GRÁFICO 4).

Tabela 3 – Curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 200 µg/mL, usada para quantificar o teor de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF), no extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Concentração (µg/mL)	Absorbância 425 nm
	Média ± Desvio padrão
25	0,481 ± 0,013
50	0,980 ± 0,019
75	1,484 ± 0,033
100	1,769 ± 0,027
125	1,887 ± 0,013
150	1,931 ± 0,004
175	1,952 ± 0,009
200	1,948 ± 0,012

Fonte: AUTORA (2020).

Gráfico 3 - Curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 100 µg/mL, usada para quantificar o teor de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF), no extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



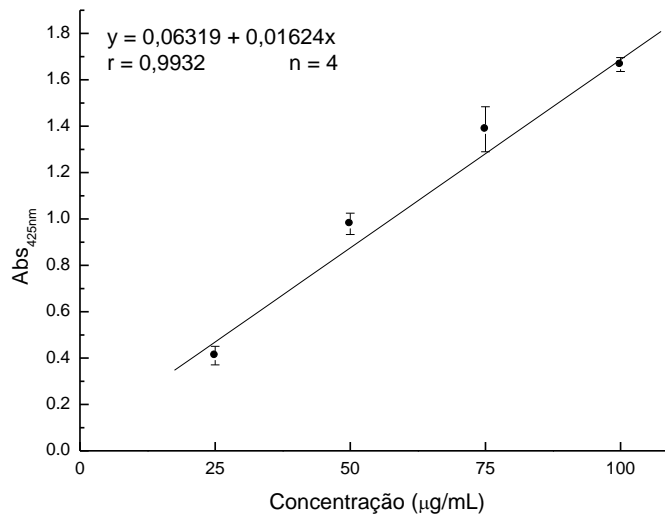
Fonte: AUTORA (2020).

Tabela 4 - Curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 200 $\mu\text{g/mL}$, usada para quantificar o teor de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF), nas frações hexânica (Hx), diclometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H_2O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorbância 425 nm
	Média \pm Desvio padrão
25	0,411 \pm 0,040
50	0,979 \pm 0,046
75	1,387 \pm 0,097
100	1,666 \pm 0,030
125	1,813 \pm 0,029
150	1,924 \pm 0,004
175	1,932 \pm 0,004
200	1,949 \pm 0,012

Fonte: AUTORA (2020).

Gráfico 4 - Curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25 a 100 $\mu\text{g/mL}$, usada para quantificar o teor de flavonoides (TF), nas frações hexânica (Hx), diclometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H_2O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



Fonte: AUTORA (2020).

2.4 Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

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

A capacidade de sequestro do radical DPPH (2,2-difenil-1-picril-hidrazila) foi determinada de acordo com a metodologia de Blois (1958), descrita por Duan *et al.* (2006) e Kato *et al.* (2016), com algumas modificações.

Nos poços denominados amostra, foram adicionados 10 µL do extrato etanólico de *S. vulgare*, nas concentrações de 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL, e 190 µL da solução metanólica de DPPH (D9132, Sigma) a 78 µM. O mesmo procedimento foi adotado para as frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico. Nos poços denominados branco da amostra foram colocados 10 µL dos extratos ou das frações e 190 µL de metanol. Nos poços denominados controle negativo ou controle da amostra foram adicionados 190 µL da solução metanólica de DPPH a 78 µM e 10 µL de metanol.

O L-ácido ascórbico (A5960, Sigma), um flavonoide natural, foi utilizado como controle positivo, nas mesmas concentrações dos extratos e frações (50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL), sendo tratado de forma idêntica a ambos.

As microplacas de poliestireno de 96 poços denominados amostra, branco da amostra, controle negativo e controle positivo foram incubadas à temperatura ambiente por 30 min no escuro. As absorbâncias foram monitoradas a 517 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340).

A capacidade de sequestro do radical DPPH do extrato etanólico, das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) e do controle positivo, expressa em porcentagem, foi calculada pela EQUAÇÃO 1, e apresentada como média ± desvio padrão, em duas casas decimais.

$$DPPH (\%) = \frac{[Abs_{CONTROLE NEGATIVO} - (Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO})]}{Abs_{CONTROLE NEGATIVO}} \times 100\% \quad (1)$$

2.4.2 Poder de quelação de íons ferrosos (FIC)

A determinação do poder de quelação de íons ferrosos (FIC) foi baseada em Decker e Welch (1990) e descrita por Wang, Jónsdóttir e Ólafsdóttir (2009).

Nos tubos denominados amostra, contendo 100 µL do extrato etanólico de *S. vulgare*, nas concentrações de 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL, foram adicionados 135 µL de água destilada, 5 µL de cloreto ferroso (FeCl₂) a 2 mM e 10 µL de ferrozina a 5 mM. O mesmo procedimento foi adotado para as frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico. Nos tubos denominados branco da amostra, a ferrozina foi substituída por água destilada, enquanto nos tubos denominados controle negativo ou controle da amostra, o volume do extrato ou das frações foi substituído por água destilada.

Como controle positivo foi utilizado o sal dissódico etilenodiamino tetra-acético (EDTA) (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈.2H₂O – E5134, Sigma), nas concentrações de 10, 25, 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL, sendo tratado de forma idêntica aos extratos e às frações.

Todos os tubos (amostra, branco da amostra, controle negativo e controle positivo) foram incubados por 10 min à temperatura ambiente, e as absorbâncias monitoradas a 562 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340).

O poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do extrato etanólico, das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) e do controle positivo, expresso em porcentagem, foi calculado pela EQUAÇÃO 2, sendo apresentado como média ± desvio padrão, em duas casas decimais.

$$FIC (\%) = \frac{[Abs_{CONTROLE NEGATIVO} - (Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO})]}{Abs_{CONTROLE NEGATIVO}} \times 100\% \quad (2)$$

2.4.3 Poder de redução de íons férricos (FRAP)

O poder de redução de íons férricos (FRAP) foi determinado de acordo com a metodologia descrita por Khatua, Roy e Acharya (2013).

Aos tubos contendo 0,5 mL do extrato etanólico de *S. vulgare*, nas concentrações de 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL foram adicionados 1,25 mL de tampão fosfato a 0,2 M (pH 6,6) e 1,25 mL de ferricianeto de potássio a 1%, os quais foram mantidos em banho-maria por 20 min a 50 °C. O mesmo procedimento foi adotado para as frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico.

Após incubação e resfriamento dos tubos, a reação foi interrompida pela adição de 1,25 mL de ácido tricloroacético (TCA) a 10%. Os tubos foram centrifugados e 2 mL da camada

superior da mistura reacional foram retirados e misturados com 2 mL de água destilada e 0,4 mL de cloreto férrico (FeCl_3) a 0,1%.

Os tubos foram incubados por 10 min em temperatura ambiente. Depois disso, as absorvâncias foram monitoradas a 700 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340).

Como controle positivo foi utilizado o antioxidante sintético, butil hidroxianisol (BHA - Sigma B1253), nas mesmas concentrações dos extratos e das frações (50, 100, 250, 500 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$), sendo tratado de forma idêntica a ambos.

Os resultados do FRAP foram apresentados em três casas decimais, pois corresponderam às leituras das absorvâncias geradas pela leitora.

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

A atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do extrato etanólico de *S. vulgare*, nas concentrações de 50, 100, 250, 500 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$, foi determinada em microplacas de poliestireno de 96 poços, usando-se o sistema β -caroteno e ácido linoleico (DUAN *et al.*, 2006). O mesmo procedimento foi adotado para as frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H_2O), obtidas a partir do extrato etanólico.

Inicialmente, uma alíquota de 4 mL de uma solução de β -caroteno (C9750, Sigma), preparada em clorofórmio na concentração de 1 mg/mL, foi transferida para um balão contendo 40 mg de ácido linoleico (L1376, Sigma) e 400 mg de Tween 40 (P1504, Sigma). Em outro balão, foram colocados 4 mL de clorofórmio, 40 mg de ácido linoleico e 400 mg de Tween 40.

O clorofórmio foi evaporado de ambos os balões em rotaevaporador (Fisatom, modelo 802) sob pressão e, em seguida, 100 mL de água destilada saturada de oxigênio foram adicionados lentamente ao resíduo semissólido, sob vigorosa agitação por 1 min até a formação de uma emulsão estável. A primeira foi denominada emulsão com β -caroteno ($\text{EC}\beta$), e a segunda, emulsão sem β -caroteno ($\text{ES}\beta$), que foi utilizada no branco da amostra.

Nas microplacas foram preparados poços denominados amostra (50 μL do extrato ou das frações + 200 μL da $\text{EC}\beta$), branco da amostra (50 μL do extrato ou das frações + 200 μL da $\text{ES}\beta$) e controle negativo ou controle da amostra (50 μL de MeOH + 200 μL de $\text{EC}\beta$).

As microplacas foram deixadas sobre a bancada, à temperatura ambiente (20 a 23 °C), e as absorbâncias foram monitoradas a 470 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340) no tempo inicial (0 min) e em intervalos de 30 min, até completar 300 min (tempo final).

O *L*-ácido ascórbico (A5960, Sigma), nas concentrações de 5, 10, 25, 50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL foi utilizado como controle positivo, sendo tratado de forma idêntica aos extratos e frações.

A atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB), ou seja, a atividade de proteção sobre o β-caroteno, do extrato etanólico, das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) e do controle positivo, foi calculada pela EQUAÇÃO 3 (DHONGADE; CHANDEWAR, 2013), e os resultados, expressos em porcentagem, foram apresentados como média ± desvio padrão, em duas casas decimais.

$$BCB (\%) = \left(\frac{Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO \text{ tempo final}}}{Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO \text{ tempo inicial}}} \right) \times 100\% \quad (3)$$

2.5 Determinação da concentração efetiva que induz 50% do efeito máximo (EC₅₀)

A concentração efetiva dos controles, extrato etanólico e frações, capaz de induzir metade (50%) do efeito máximo foi representada por EC₅₀. Os valores foram calculados com base no ajuste de regressão linear da capacidade antioxidante do DPPH, FIC e BCB *versus* as concentrações dos controles e extratos e frações (NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009; PIRES *et al.*, 2017).

2.6 Determinação da atividade fitotóxica

O ensaio de fitotoxicidade foi realizado de acordo com a metodologia descrita por Kohatsu *et al.* (2018), com algumas adaptações, com o objetivo de verificar a existência de efeito tóxico do extrato etanólico de *S. vulgare* e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), sobre a germinação e o crescimento radicular de sementes de pepino-caipira, *Cucumis sativus*, adquiridas comercialmente.

Dez sementes foram selecionadas e distribuídas uniformemente sobre o papel filtro, colocado como revestimento na base de placas de Petri, as quais foram devidamente identificadas como amostra, controle positivo e controle negativo.

Nas placas denominadas amostra, 5 mL do extrato etanólico ou das frações Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O, suspensos em água destilada na concentração de 100 µg/mL, foram usados para umedecer o papel de filtro. Para garantir a umidade das sementes, do terceiro ao penúltimo dia de experimento, 1 mL do extrato ou das frações foi adicionado nas placas.

As placas, denominadas controle positivo, foram tratadas da mesma maneira, mas utilizando-se solução salina (NaCl) a 0,5% e solução salina (NaCl) a 0,5% + 40 gotas de clorofórmio. Como controle negativo, foram utilizados água destilada e água destilada + 40 gotas de clorofórmio. O clorofórmio foi necessário para auxiliar na dissolução do extrato etanólico e da fração AcOEt, sendo utilizado na mesma quantidade nos controles positivo e negativo.

Todas as placas foram incubadas a 25 °C durante 147 h (7 dias), sendo o fotoperíodo com duração de 10 h de luz e 14 h de escuro. O experimento foi feito em triplicata.

Após os sete dias, o número de sementes germinadas foi contado, e as raízes foram medidas com auxílio de um paquímetro. Os dados obtidos foram utilizados para os cálculos da porcentagem relativa de germinação das sementes (%RSG) (EQUAÇÃO 4), porcentagem relativa de crescimento radicular (%RRG) (EQUAÇÃO 5) e índice de germinação (IG) (EQUAÇÃO 6).

$$RSG (\%) = \frac{\text{média das sementes germinadas na amostra}}{\text{média das sementes germinadas no controle negativo}} \times 100\% \quad (4)$$

$$RRG (\%) = \frac{\text{média do comprimento das raízes da amostra}}{\text{média do comprimento das raízes do controle negativo}} \times 100\% \quad (5)$$

$$IG = \frac{\%RSG \times \%RRG}{100} \quad (6)$$

Os valores de IG foram usados para classificar os efeitos do extrato e das frações sobre o crescimento radicular das sementes de pepino-caipira (QUADRO 2), de acordo com Belo (2011).

Quadro 2 – Parâmetros usados para classificação do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas do extrato etanólico, sobre o crescimento radicular das sementes de pepino-caipira, *Cucumis sativus*, de acordo com o valor do índice de germinação (IG).

Classificação	IG
Potencializador da germinação e do crescimento das raízes das plantas	> 100
Não fitotóxico, composto maturado	80 – 100
Moderadamente fitotóxico	60 – 80
Fitotóxico	30 – 60
Muito fitotóxico	< 30

Fonte: BELO (2011).

2.7 Determinação da atividade antimicrobiana

No presente estudo foram utilizadas cepas padrão ATCC (*American Type Culture Collection*) Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923 – SA 25, *S. aureus* ATCC 700698 – SA 70, *Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228 – SE 12 e *S. epidermidis* ATCC 35984 – SE 35) e Gram-negativas (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 – PA 27 e *Escherichia coli* ATCC 11303 – EC 11). Elas foram escolhidas por estarem entre as principais bactérias relacionadas a infecções hospitalares e por possuírem resistência aos antibióticos que normalmente são utilizados nos tratamentos. As cepas SA 70 e SE 35 são resistentes, enquanto as outras são sensíveis. As bactérias Gram-negativas são naturalmente mais resistentes por causa de sua estrutura celular.

Esses micro-organismos fazem parte do acervo microbiológico do Laboratório Integrado de Biomoléculas (LIBS), da Universidade Federal do Ceará (UFC), onde as análises para determinar a concentração inibitória mínima (CIM) e a concentração bactericida mínima (CBM) foram executadas.

Para as condições de crescimento das espécies bacterianas, a metodologia proposta pelo *Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI, 2020) foi adotada, com algumas modificações. Os micro-organismos, mantidos em caldo tríptico de soja (TSB – *tryptic soy broth*) e glicerol a 20% e armazenados em –80 °C, foram estriados em placas de Petri contendo ágar Mueller Hinton (MHA – *Mueller Hinton agar*) e incubados por 24 h, a 37 °C. Após o crescimento nas placas, cinco colônias isoladas foram removidas e inoculadas em 5 mL de caldo Mueller Hinton (MHB – *Mueller Hinton broth*) e incubadas sob as mesmas condições por mais

24 h. Em seguida, a cultura foi transferida para tubos tipo Falcon de 50 mL e centrifugada a $8.603 \times g$, por 5 min a 4 °C, para a substituição do meio. Após a centrifugação, o sobrenadante foi descartado, e a cultura ressuspensa em 10 mL de MHB. Posteriormente, com o auxílio do espectrofotômetro (Amersham Biosciences), a concentração celular da suspensão bacteriana foi ajustada a 2×10^6 unidades formadoras de colônias (UFC)/mL, através da turbidimetria, monitorada em 620 nm), com base nas curvas de calibração do crescimento bacteriano, previamente determinadas no LIBS/UFC, para cada bactéria.

Inicialmente, as frações do extrato etanólico foram solubilizadas em MHB e dimetilsulfóxido (DMSO), sendo preparada uma solução-estoque de 10 mg/mL, que foi submetida ao banho ultrassônico por 8 min. Logo depois, diluições seriadas na base dois foram realizadas em tubos tipo Falcon de 15 mL, e as frações foram ajustadas para uma concentração de 5 mg/mL e DMSO a 4%.

A avaliação da atividade antibacteriana das frações foi realizada segundo o ensaio de microdiluição em MHB, em microplacas de poliestireno de 96 poços, de acordo com os protocolos sugeridos pelo CLSI (2020), com algumas modificações.

Para a determinação da concentração inibitória mínima (CIM), os poços 1 a 3 da linha A da microplaca foram preenchidos inicialmente com 200 µL das frações do extrato etanólico, sendo a concentração inicial igual a 5 mg/mL. Em seguida, realizou-se a diluição seriada na base dois para obtenção de diferentes concentrações, que variaram entre 5 mg/mL e 0,078 mg/mL. Posteriormente, 100 µL da suspensão bacteriana, já previamente ajustada na concentração de 2×10^6 UFC/mL, foi adicionada aos poços da microplaca, obtendo-se um volume final de 200 µL. As microplacas foram incubadas a 37 °C por 24 h e, findo esse tempo, o crescimento bacteriano foi avaliado através da turbidez da suspensão bacteriana, com auxílio de leitora de microplacas (SpectraMax i3), no comprimento de onda de 620 nm. A menor concentração capaz de inibir visualmente o crescimento bacteriano foi considerada como CIM. Sabe-se que quando há crescimento bacteriano, o meio de cultivo se torna turvo, ou seja, é possível observar turvação nos poços, mas mesmo assim, os resultados foram confirmados pela leitura da absorbância, uma vez que a coloração mais intensa de algumas frações dificultava a leitura de maneira assertiva.

Para a determinação da concentração bactericida mínima (CBM), 24 h depois da incubação a 37 °C, 10 µL da mistura, que não apresentou crescimento microbiano, contida nos poços (frações, meio de cultivo bacteriano e micro-organismos), foram removidos e, em seguida, inoculados sobre a superfície do MHA nas placas de Petri. Elas foram novamente incubadas nas mesmas condições (37 °C por 24 h). Após o período de 24 h, a presença de

colônias foi observada, sendo considerada como CBM a menor concentração das frações capaz de matar as bactérias (concentração bactericida).

2.8 Análises estatísticas

Os teores de compostos fenólicos totais (CFT) e de flavonoides (TF) e os resultados das atividades antioxidantes foram apresentados como média \pm desvio padrão.

Os dados da quantificação de CFT e TF foram submetidos à análise de variância unifatorial, complementada, quando necessário, pelo teste de Tukey, para comparar o extrato etanólico e as frações Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O.

Os resultados das atividades antioxidantes DPPH, FIC, FRAP e BCB do extrato etanólico e suas frações foram comparados pela análise de variância unifatorial, seguida pelo teste de Tukey, quando indicado, levando em consideração as concentrações de 50, 100, 250, 500 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$.

A existência de correlação de Pearson estatisticamente significativa entre as concentrações dos controles positivos e as atividades antioxidantes (DPPH, FIC, FRAP e BCB) foi avaliada e, no caso de resultado estatisticamente significativo, a regressão linear foi estabelecida e usada para o cálculo da concentração efetiva que induz 50% do efeito máximo (EC_{50}).

Para os testes estatísticos paramétricos, os pressupostos de normalidade e homocedasticidade foram obedecidos, e todas as análises foram feitas considerando o nível de significância de 5%.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Rendimento do extrato etanólico

O rendimento do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Sargassum vulgare*, preparado a partir de 61,77 g do material liofilizado, foi de 937,5 mg, correspondendo a 1,52%.

Os rendimentos de extração reportados na literatura são muito variáveis. As variações observadas são explicadas com base em fatores intrínsecos à própria espécie, como fase do ciclo de vida, *habitat* e localização geográfica, quanto em fatores extrínsecos, como protocolo de extração, incluindo solventes e duração do processo, e metodologias e condições de análise. Assim, os rendimentos de extração obtidos neste trabalho foram comparados com os reportados por diferentes pesquisadores.

Para a macroalga marinha parda *Turbinaria decurrens*, Nurrochmad *et al.* (2018) reportaram um rendimento de extração de 0,859%, inferior ao obtido no presente trabalho.

Outro trabalho com as macroalgas marinhas parda *Sargassum furcatum* e vermelhas *Bryothamnion triquetrum* e *Osmundaria obtusiloba*, coletadas em Pernambuco, os rendimentos de extração ficaram entre 1,71% e 2,29% (VASCONCELOS *et al.*, 2019), valores relativamente próximos aos encontrados no presente trabalho.

Chibi *et al.* (2019) também comprovaram ampla variação nos rendimentos de extração ao investigarem 86 espécies de macroalgas marinhas coletadas na costa de Marrocos. Eles mencionaram rendimentos de 0,13% a 9,07% nas ocrófitas, de 0,56% a 6,16% nas rodófitas e de 0,76% a 7,79% nas clorófitas, tendo atribuído os resultados às diferenças entre as espécies, mesmo quando a coleta foi realizada na mesma região geográfica e mesmo quando o processo de extração (clorofórmio:metanol 2:1, v/v) foi idêntico.

SILVA *et al.* (2018) encontraram rendimentos entre 0,03% e 4,39% em extratos preparados com hexano, acetona, etanol e metanol de seis espécies de macroalgas pardas, vermelhas e verdes, coletadas nas praias do Paracuru e Pacheco no Estado do Ceará. Esses resultados reforçam a existência de variabilidade no rendimento de extração, conforme os fatores citados anteriormente, mesmo que a coleta tenha sido realizada em locais com condições ambientais semelhantes.

Sathya *et al.* (2017) obtiveram para o extrato metanólico da macroalga marinha parda *Cystoseira trinodis*, coletada na Índia, um rendimento de aproximadamente 25%, valor considerado bastante elevado. Foo *et al.* (2017) encontraram resultados parecidos (24%),

também para o extrato metanólico de outra espécie de macroalga marinha parda, *Saccharina japonica*, preparado a partir de uma biomassa comercial.

Rendimentos superiores aos do presente trabalho também foram registrados por Chakraborty e Joseph (2016) para os extratos metanólicos das macroalgas marinhas pardas *Turbinaria ornata* e *T. conoides*, cujos rendimentos foram 6,8% e 8,4%, respectivamente. Chakraborty, Maneesh e Makkar (2017) encontraram rendimentos variando de 6,37% a 14,53%, nos extratos metanólicos de outras macroalgas marinhas pardas *Anthophycus longifolius*, *Sargassum plagiophyllum* e *S. myriocystum*. Sanger *et al.* (2019), estudando as macroalgas marinhas pardas *Sargassum olygocystum* e *Turbinaria decurrens*, coletadas na Indonésia, determinaram rendimentos de 4,95% e 5,72%, respectivamente.

No trabalho de Vasconcelos *et al.* (2017), os extratos diclorometano:metanol (2:1, v/v) de várias espécies de macroalgas, coletadas em Pernambuco, exibiram rendimentos variáveis, entre 3,76% e 4,05%.

Sanger *et al.* (2019) alcançaram rendimentos que oscilaram de 3% a 18%, trabalhando com macroalgas verdes, vermelhas e pardas. Os maiores rendimentos foram observados para a macroalga marinha verde *Halimeda macroloba*. Por sua vez, Chakraborty, Joseph e Praveen (2015) obtiveram os maiores rendimentos de extração com metanol para as macroalgas marinhas vermelhas *Hypnea musciformis* (4,83%), *H. valentiae* (6,54%) e *Jania rubens* (5,32%).

Belkacemi *et al.* (2020) determinaram rendimentos variando de 3,9% a 10,0% nos extratos da macroalga marinha verde *Caulerpa racemosa*, coletada na Argélia. Os diferentes rendimentos foram relacionados com as polaridades dos solventes de extração utilizados (metanol > clorofórmio > hexano).

Similarmente ao observado quanto ao rendimento de extração para macroalgas ocrófitas, rodófitas e clorófitas, também há variações entre as espécies de microalgas. Rendimentos muito elevados, variando de 31% a 48%, foram relatados por Foo *et al.* (2017), para as espécies *Chaetoceros calcitrans*, *Isochrysis galbana*, *Skeletonema costatum*, *Odontella sinensis* e *Phaeodactylum tricorutum*.

3.2 Quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT)

Os resultados de CFT do extrato e das frações Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O, obtidas a partir do extrato etanólico, apresentados como média ± desvio padrão, foram

calculados com base nas curvas padrão do ácido gálico e expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por grama (g) (TABELA 5).

Tabela 5 – Teores de compostos fenólicos totais (CFT) do extrato etanólico e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Identificação	CFT (mg EAG/g)
	Média ± Desvio padrão
Extrato etanólico	10,94 ^a ± 2,08
Fração Hx	21,27 ^b ± 1,59
Fração DCM	20,58 ^b ± 4,23
Fração AcOEt	38,85 ^c ± 2,03
Fração EtOH	5,31 ^d ± 0,25
Fração MeOH	2,61 ^d ± 0,06
Fração H ₂ O	6,45 ^{ad} ± 0,29

Fonte: AUTORA (2020).

Letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

O teor de CFT do extrato etanólico foi de $10,94 \pm 2,08$ mg EAG/g extrato. A fração AcOEt exibiu o maior valor de CFT, seguida das frações hexânica e diclorometano que não apresentaram diferença significativa. Etanol, metanol e água foram os solventes menos eficientes para extrair os compostos fenólicos, talvez pelo fato de os compostos fenólicos presentes em *S. vulgare* serem de baixa polaridade.

Segundo Fernando, Kim e Son (2016), os extratos etanólicos geralmente possuem maior rendimento e maior variedade de compostos fenólicos quando comparados com solventes mais polares como a água, ratificando os resultados de CFT obtidos no presente trabalho. Além disso, há relatos citados pelos autores, que apontam que, dentre as frações de extratos orgânicos, o acetato de etila é o solvente mais efetivo na extração de CFT, o que também está de acordo com os resultados obtidos no presente trabalho.

Na Classe Phaeophyceae, as Ordens Fucales e Dictyotales são descritas na literatura como as que possuem maiores níveis de florotaninos, grupo de compostos fenólicos produzidos exclusivamente pelas macroalgas pardas, que chegam a representar de 20% a 30% do peso seco dessas macroalgas. Estes metabólitos secundários atuam na defesa química contra herbívoros, possuem funções primárias estruturais da parede celular e têm participação no processo

reprodutivo. A quantidade desses compostos varia de acordo com a espécie e com a localização geográfica de sua ocorrência (PINTEUS *et al.*, 2017; VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Apesar da existência de muitos trabalhos científicos que descrevem métodos de extração e de semipurificação de compostos fenólicos, relativamente poucos estudos caracterizam o isolamento e a identificação estrutural desses compostos devido à alta diversidade estrutural dessas moléculas (FERNANDO; KIM; SON, 2016).

Na literatura às vezes são encontradas relações entre a quantidade de CFT e as atividades antioxidantes, as quais podem ser muito variáveis, indicando a versatilidade dos compostos fenólicos e suas diferentes respostas para cada método de determinação de atividade antioxidante. Essas diferenças podem estar relacionadas ao próprio método de determinação de CFT (Folin-Ciocalteu), pois ele mensura a soma dos compostos fenólicos presentes no material analisado, e cada um desses compostos fenólicos pode responder individualmente de maneira diferente (DEEPIKA; BHASKAR; MADHUSUDHANAN, 2016).

Assim, é comum a ocorrência de grandes variações nos teores de CFT, havendo situações em que os resultados encontrados no presente trabalho foram superiores, semelhantes ou inferiores, quando comparados aos reportados por outros pesquisadores.

O valor de CFT do extrato etanólico do presente trabalho foi mais elevado do que aqueles encontrados por Kok *et al.* (2016) para os extratos metanólico, acetato de etila e hexânico da macroalga marinha parda *Sargassum polycystum* (0,19 a 0,48 mg EAG/g). As frações Hx, DCM e AcOEt do extrato etanólico apresentaram CFT entre $20,58 \pm 4,23$ e $38,85 \pm 2,03$ mg EAG/g, enquanto o CFT das frações do extrato metanólico variaram de 16 a 42 mg EAG/g. Esses valores foram superiores aos das frações etanólica, metanólica e aquosa do presente trabalho.

Os valores de CFT do extrato etanólico analisado no presente trabalho foram superiores quando comparados com os apresentados por Foo *et al.* (2017) para a macroalga marinha parda *Sargassum japonica* (0,09 mg EAG/g), cuja extração foi realizada com metanol.

Sujatha, Siva e Nawas (2019) afirmaram que as macroalgas marinhas pardas exibem maior quantidade de compostos fenólicos totais do que as vermelhas e as verdes. Esta afirmação foi comprovada no trabalho de Nunes *et al.* (2017), em que foram analisadas sete espécies de macroalgas, dentre as quais, a ocrófita *Zonaria tournefortii* foi a que apresentou maior teor de compostos fenólicos em relação às demais (2,1 mg EAG/g). Contudo, ainda foi um resultado inferior quando comparado ao obtido no presente trabalho.

Chakraborty, Joseph e Praveen (2015) quantificaram CFT no extrato e nas frações das macroalgas vermelhas *Hypnea musciformis*, *H. valentiae* e *Jania rubens*. Os extratos

apresentaram valores diferentes de acordo com a espécie, e as frações também exibiram grandes variações de acordo com o solvente utilizado, corroborando com o que foi observado no presente trabalho. O extrato de *H. musciformis* apresentou valores de CFT semelhantes ao do extrato etanólico do presente estudo, enquanto aqueles das outras macroalgas analisadas foram inferiores. A fração hexânica de *H. musciformis* apresentou quantidade de CFT maior do que as outras duas espécies. Tanto a fração diclorometano das três macroalgas analisadas quanto a fração acetato de etila das espécies do gênero *Hypnea* exibiram resultados de CFT mais elevados do que os obtidos a partir do extrato etanólico do presente trabalho. A fração acetato de etila de *J. rubens* (32,27 mg EAG/g), por sua vez, apresentou CFT semelhante ao do presente trabalho. Os dados de Chakraborty, Joseph e Praveen (2015) não estão em concordância com Sujatha, Siva e Nawas (2019), sobre a afirmativa de que as macroalgas pardas possuem maiores teores de compostos fenólicos que as vermelhas e as verdes. Existem diversos fatores que podem influenciar na quantificação desses compostos, não parecendo adequado atribuir o resultado unicamente ao táxon ao qual elas pertencem.

O resultado de CFT do extrato etanólico do presente trabalho foi igual ao encontrado por Arguelles, Monsalud e Sapin (2019), para a espécie *Sargassum vulgare*, coletada nas Filipinas, cujo extrato foi preparado com éter de petróleo.

Outro trabalho com resultados semelhantes ao do extrato etanólico do presente estudo foi realizado por Sujatha, Siva e Nawas (2019), com a macroalga marinha parda *Sargassum swartzii*, coletada na Índia, cujos teores de CFT nos extratos aquoso, etanólico, metanólico e acetônico variaram de 9 a 15 mg EAG/g, sendo a quantidade máxima observada no extrato etanólico.

Silva *et al.* (2019) determinaram o conteúdo fenólico do extrato e das frações da macroalga marinha parda *Bifurcaria bifurcata*. De modo similar ao do presente trabalho, o extrato diclorometano apresentou 10,63 mg EAG/g. As frações do presente trabalho exibiram variação de $2,61 \pm 0,06$ a $38,85 \pm 2,03$ mg EAG/g, com o valor máximo registrado na fração acetato de etila, e o mínimo, na fração metanólica, enquanto os autores obtiveram variação semelhante (2 a 44 mg EAG/g), com valor mínimo registrado na fração obtida com metanol e diclorometano na proporção 1:2, e máximo, na fração obtida apenas com diclorometano.

Os valores de CFT de extratos, frações e subfrações da macroalga marinha parda *Cystoseira trinodis* variaram de 2 a 17 mg EAG/g, semelhantes ao do presente trabalho. A alta atividade antioxidante encontrada em *C. trinodis* foi atribuída à presença de grupos fenólicos em sua composição, principalmente os florotaninos que estão presentes principalmente no Filo Ochrophyta (SATHYA *et al.*, 2017).

Santos *et al.* (2019) quantificaram CFT em extratos da macroalga marinha parda *Sargassum vulgare*, coletada nos períodos seco e chuvoso na Bahia. Os resultados indicaram que houve variação nos teores de fenólicos de acordo com o solvente de extração e com o período do ano. A maior quantidade de CFT, aproximadamente 38 mg EAG/g, foi observada nos extratos preparados com água quente com a macroalga coletada no período chuvoso. Esse valor foi superior ao encontrado no extrato etanólico estudado no presente trabalho ($10,94 \pm 2,08$ mg EAG/g), porém, nos demais extratos algais dos dois períodos, os resultados de CFT foram semelhantes aos do presente trabalho.

Bianco *et al.* (2015) quantificaram compostos fenólicos em extratos de diversos organismos marinhos, dentre eles, invertebrados e macroalgas, preparados em diclorometano:metanol (2:1, v/v), tendo observado que o maior conteúdo foi encontrado na esponja *Ircinia* sp. (cerca de 62 mg EAG/g) e que, dentre as macroalgas, a espécie *Sargassum vulgare* var. *vulgare* se destacou com aproximadamente 25 mg EAG/g, quantidade superior àquela registrada para o extrato etanólico deste trabalho. Nos extratos das demais macroalgas analisadas, os teores de CFT variaram de 11 a 25 mg EAG/g. As diferenças nos resultados podem estar associadas aos métodos de extração e aos solventes utilizados.

Os teores de CFT nos extratos das macroalgas marinhas pardas *Sargassum plagiophyllum* e *S. myriocystum* foram semelhantes ao do extrato etanólico avaliado no presente estudo. Outra macroalga marinha parda, *Anthophycus longifolius*, apresentou CFT de 41,11 mg EAG/g, também maior do que o do extrato etanólico do presente trabalho. Os valores de CFT das frações hexânica (7,5 a 36,33 mg EAG/g), diclorometano (14,20 a 166,09 mg EAG/g) e acetato de etila (66,75 a 236,35 mg EAG/g) apresentaram grande amplitude de variação (CHAKRABORTY; MANEESH; MAKKAR, 2017), sendo a maioria deles superior aos das frações de *Sargassum vulgare* deste estudo.

Johnson *et al.* (2019) determinaram o conteúdo fenólico de extratos preparados com diferentes solventes (éter de petróleo, clorofórmio, acetona e metanol) das macroalgas marinhas pardas *Sargassum polycystum* e *S. duplicatum*, coletadas na Índia. Os valores de CFT de *S. polycystum* variaram de 17 a 33 mg EAG/g (valor máximo no extrato preparado com clorofórmio), tendo sido mais baixos do que os de *S. duplicatum*, entre 340 e 865 mg EAG/g (valor máximo registrado no extrato acetônico). Em ambas as espécies, os valores foram superiores ao extrato etanólico deste trabalho. Esta é mais uma evidência de que as diferenças nos teores dos compostos fenólicos entre espécies distintas do mesmo gênero podem estar também associadas ao solvente de extração.

Dang *et al.* (2018) determinaram CFT em extratos etanólicos a 70% das macroalgas marinhas pardas *Sargassum vestitum*, *S. linearifolium*, *S. podocanthum*, *Phyllospora comosa*, *Padina* sp. e *Hormosira banksii*, tendo encontrado valores superiores aos do presente trabalho, tanto para o extrato quanto para as frações. Apesar de algumas das macroalgas estudadas por eles pertencerem ao mesmo gênero da espécie do presente estudo, houve diferenças quanto ao teor de compostos fenólicos, que pode sofrer influência de vários fatores, como fase do ciclo de vida, idade, estágio reprodutivo, além das condições ambientais, que afetam a síntese de metabólitos secundários (VASCONCELOS *et al.*, 2019).

Valores de CFT elevados também foram encontrados nos extratos hexânico, metanólico e clorofórmio da clorófita *Caulerpa racemosa* var. *cylindracea* (28 a 166 mg EAG/g), analisada por Belkacemi *et al.* (2020), que compararam o perfil metabólico de espécimes de *C. racemosa* coletados em diferentes locais. Os autores atribuíram as diferenças às distintas condições climáticas e geográficas, sendo, portanto, uma resposta da adaptação dessa macroalga ao meio.

3.3 Quantificação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF)

Os resultados dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) do extrato etanólico e das frações Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O, obtidas a partir do extrato etanólico, apresentados como média \pm desvio padrão, foram calculados com base nas curvas padrão da quercetina e expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (mg EQ) por grama (g) (TABELA 6).

O valor de TF do extrato etanólico da macroalga marinha parda *S. vulgare* foi de $108,63 \pm 3,62$ mg EQ/g. A fração DCM foi a que exibiu o maior TF ($158,09 \pm 6,38$ mg EQ/g), enquanto na fração hexânica, esses compostos não foram detectados. Não houve diferença significativa entre as frações etanólica e metanólica, e o solvente menos eficiente foi a água.

Os flavonoides são importantes componentes que podem conferir aos extratos algais atividades biológicas distintas, por exemplo, antioxidante, antimicrobiana, tumoristática e inibidora da biossíntese de colesterol hepático (DANG *et al.*, 2018; MARTELLI *et al.*, 2020; SUJATHA; SIVA; NAWAS, 2019).

De maneira análoga ao que acontece com os compostos fenólicos totais, os teores de flavonoides também são variáveis. Na comparação com outros trabalhos, os resultados

obtidos para o extrato etanólico e suas frações às vezes foram superiores, semelhantes ou inferiores aos reportados na literatura.

Tabela 6 – Teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) do extrato e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Identificação	TF (mg EQ/g)
	Média ± Desvio padrão
Extrato etanólico	108,63 ^a ± 3,62
Fração Hx	ND
Fração DCM	158,09 ^b ± 6,38
Fração AcOEt	73,80 ^c ± 2,17
Fração EtOH	10,76 ^d ± 0,44
Fração MeOH	11,65 ^d ± 0,47
Fração H ₂ O	1,68 ^e ± 0,32

Fonte: AUTORA (2020).

ND – Não detectado.

Letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Dang *et al.* (2018) encontraram em seis espécies de macroalgas marinhas pardas valores de TF inferiores aos do presente trabalho, tanto para o extrato etanólico como para algumas frações, com exceção das frações hexânica, metanólica e aquosa.

A quantidade de flavonoides encontrada no extrato etanólico deste trabalho foi várias vezes maior do que àquela reportada por Sujatha, Siva e Nawas (2019), para o extrato etanólico da macroalga marinha parda *Sargassum swartzii*, coletada na Índia, de apenas 5 mg EQ/g. Os valores de TF dos outros extratos analisados pelos autores variaram de 0 a 26 mg EQ/g, os quais ainda foram inferiores ao do extrato etanólico analisado no presente trabalho.

Grina *et al.* (2020) relataram resultados muito baixos de TF nos extratos das macroalgas marinhas pardas, *Bifurcaria bifurcata*, *Cystoseira humilis*, *C. stricta*, *Fucus spiralis* e *Gelidium sesquipedale*, preparados com etanol a 70%, variando de 4,26 a 8,53 µg EQ/mL.

Os resultados dos teores de flavonoides no extrato etanólico e nas frações do presente trabalho foram maiores do que os dos extratos das macroalgas coletadas em Portugal, analisadas por Nunes *et al.* (2017). Esses autores observaram melhores resultados de TF nas

macroalgas marinhas verde *Ulva lactuca* (0,60 mg EQ/g), vermelha *Grateloupia lanceola* (0,20 mg EQ/g) e parda *Zonaria tournefortii* (0,15 mg EQ/g).

No estudo de Raja *et al.* (2015), os extratos das macroalgas marinhas parda *Eisenia arborea* e verdes *Codium fragile* e *Ulva prolifera* apresentaram teores de flavonoides inferiores ao do presente trabalho. Os autores observaram que o extrato metanólico de *E. arborea* (16,49 mg EQ/g) apresentou mais flavonoides do que o aquoso (12,05 mg EQ/g). O maior teor de flavonoides foi registrado no extrato metanólico de *U. prolifera* (55,04 mg EQ/g), praticamente a metade do encontrado no extrato etanólico de *S. vulgare* do presente estudo.

O teor de flavonoides da macroalga marinha verde *Caulerpa racemosa*, analisada por Belkacemi *et al.* (2020), variou de 64 a 114 mg EQ/g, de acordo com o solvente utilizado (metanol > clorofórmio > hexano). Com base nos dados desses autores, o metanol foi apontado como o solvente mais eficiente, por ter extraído quantidades maiores de compostos fenólicos. As frações obtidas a partir do extrato etanólico de *S. vulgare* apresentaram comportamento diferente, pois o diclorometano, menos polar que os outros solventes, com exceção do hexano, foi o mais eficiente para extrair os flavonoides.

Todas as variações encontradas na literatura são justificáveis. De acordo com Khalid *et al.* (2018), a quantidade de compostos bioativos nas algas sofre influência de fatores como a própria espécie e as condições ambientais (exposição à luz, nutrientes, temperatura, contaminantes, pH, temperatura, salinidade, disponibilidade de dióxido de carbono e interações bióticas).

3.4 Determinação da atividade antioxidante *in vitro*

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

Os resultados da atividade de sequestro do radical DPPH do controle positivo, ácido ascórbico, do extrato etanólico (TABELA 7, GRÁFICO 5A) e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) do extrato etanólico (TABELA 8, GRÁFICO 5B), acompanhados do EC₅₀, estão apresentados a seguir.

Tabela 7 - Capacidade de sequestro do radical DPPH do controle positivo (ácido ascórbico), do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019 e a e as concentrações efetivas do controle e do extrato que induzem metade do efeito máximo (EC₅₀).

Concentração (µg/mL)	DPPH (%)	
	Ácido ascórbico	Extrato
50	16,43 ^{aA} ± 1,39	10,58 ^{aB} ± 0,91
100	17,73 ^{aA} ± 2,09	12,70 ^{bB} ± 1,16
250	67,70 ^{bA} ± 3,08	12,32 ^{abB} ± 0,59
500	98,95 ^{cA} ± 0,38	15,95 ^{cB} ± 0,67
1.000	97,63 ^{cA} ± 0,38	16,57 ^{cB} ± 0,67
EC ₅₀ (µg/mL)	223,96	6.573,96

Fonte: AUTORA (2020).

Nas colunas, letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Tabela 8 - Capacidade de sequestro do radical DPPH do controle positivo (ácido ascórbico), das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019 e as concentrações efetivas do controle e das frações que induzem metade do efeito máximo (EC₅₀).

Concentração (µg/mL)	DPPH (%)					
	Ácido ascórbico	Frações				
		Hx	DCM	EtOH	MeOH	H ₂ O
50	19,92 ^a ± 1,33	7,96 ^a ± 2,17	2,55 ^a ± 0,07	3,48 ^a ± 1,48	9,94 ^a ± 0,83	7,34 ^{ab} ± 0,79
100	29,91 ^b ± 2,18	11,17 ^a ± 2,22	4,75 ^{ab} ± 0,78	6,44 ^b ± 0,95	10,44 ^a ± 0,46	8,49 ^{ab} ± 0,42
250	80,45 ^c ± 3,12	10,86 ^a ± 0,90	6,42 ^{bc} ± 1,00	6,57 ^b ± 0,60	9,30 ^a ± 0,37	8,06 ^{ab} ± 0,92
500	97,25 ^d ± 0,47	8,85 ^a ± 0,61	8,06 ^c ± 0,75	7,62 ^b ± 0,50	11,24 ^a ± 0,99	8,85 ^a ± 0,92
1.000	96,47 ^d ± 0,57	8,85 ^a ± 1,53	8,58 ^c ± 1,33	7,92 ^b ± 0,93	9,08 ^a ± 0,73	7,01 ^b ± 0,94
EC ₅₀ (µg/mL)	154,50	*	4.308,0	835,4	*	*

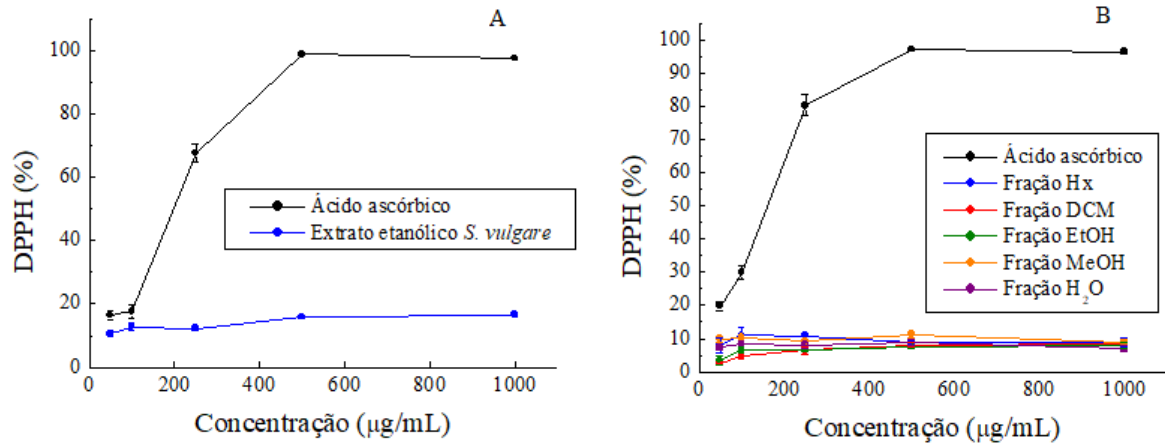
Fonte: AUTORA (2020).

* Não houve linearidade entre DPPH (%) e concentração (µg/mL).

Nas colunas, letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Gráfico 5 – Capacidade de sequestro do radical DPPH. (A) Controle positivo (ácido ascórbico) e extrato etanólico. (B) Controle positivo (ácido ascórbico) e frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



Fonte: AUTORA (2020).

Para a atividade do sequestro do radical DPPH, tanto o extrato etanólico quanto as frações, apresentaram valores inferiores ao controle positivo. A atividade do extrato etanólico variou de $10,58\% \pm 0,91$ a $16,57\% \pm 0,67$, crescendo com o aumento da concentração. Este mesmo comportamento foi observado nas frações diclorometano, etanólica e aquosa. Anjali *et al.* (2019) encontraram no extrato da macroalga marinha parda *Sargassum marginatum* valores de DPPH similares e com a mesma tendência crescente.

A máxima atividade verificada nas frações do extrato etanólico permaneceu em torno de 10%. Nenhuma atividade foi detectada na fração acetato de etila, e não houve correlação estatisticamente significativa entre atividade e concentração nas frações hexânica e metanólica.

Os valores de EC₅₀ obtidos por Johnson *et al.* (2019) para os extratos de acetona, clorofórmio, éter de petróleo e metanol das macroalgas marinhas pardas *Sargassum polycystum* (183 a 214 µg/mL) e *S. duplicatum* (225 a 287 µg/mL) foram menores do que os do presente trabalho. Os autores também observaram grandes variações nos valores de CFT e TF para as duas espécies, principalmente com relação aos solventes de extração. Além de serem espécies diferentes, embora do mesmo gênero, a polaridade dos solventes também afetou a extração dos compostos com atividade antioxidante e, conseqüentemente, os resultados.

Os valores de EC₅₀, relativos à atividade do DPPH de macroalgas marinhas pardas, verdes e vermelhas mencionados no trabalho de Vasconcelos *et al.* (2017), foram menores do que os do presente trabalho. Os extratos das macroalgas marinhas pardas *Padina tetrastomatica*, *P. gymnospora* e *Dictyopteris delicatula* exibiram EC₅₀ variando de 0,226 a 0,440 mg/mL, sendo mais eficientes para sequestrar o radical DPPH do que o melhor resultado encontrado no presente trabalho com a fração etanólica (0,835 mg/mL). Novamente, é reforçada a ideia de que as diferenças estão associadas às espécies analisadas, aos locais de coleta e aos procedimentos de extração. Ainda segundo Vasconcelos *et al.* (2017), a síntese de compostos com atividade antioxidante se deveu principalmente às condições de dessecação e à variação osmótica acompanhadas pela oscilação da maré nos recifes ou costões rochosos onde as macroalgas foram coletadas.

Os extratos etanólicos a 70% de cinco espécies de macroalgas marinhas pardas coletadas em Marrocos e analisadas por Grina *et al.* (2020), apresentaram valores de EC₅₀ (47,23 a 208,5 µg/mL) para a atividade de sequestro de DPPH, inferiores ao do presente trabalho.

Chakraborty e Joseph (2016), analisando extratos metanólicos das macroalgas marinhas pardas, *Turbinaria ornata* e *T. conoides*, observaram que esses extratos apresentaram atividade menor do que as frações acetato de etila, resultado divergente do presente trabalho. Quanto ao EC₅₀, essas frações apresentaram valores menores que as do presente trabalho, sendo de 210 µg/mL para *T. conoides* e 770 µg/mL para *T. ornata*, enquanto os extratos de *T. conoides* (6.130 µg/mL) e de *T. ornata* (4.090 µg/mL) exibiram resultados semelhantes ao do extrato de *S. vulgare* desse estudo.

No trabalho de Bianco *et al.* (2015), valores de EC₅₀ superiores a 1.000 µg/mL foram determinados em todos os extratos algais e em vários extratos de invertebrados marinhos, com exceção da esponja *Ircinia* sp., tendo sido considerado como tendo baixa atividade antioxidante. Esses resultados estão em conformidade com o que foi obtido no presente trabalho.

Extratos metanólicos das macroalgas marinhas vermelhas *Hypnea musciformis*, *H. valentiae* e *Jania rubens*, na concentração de 1.000 µg/mL, foram analisaram por Chakraborty, Joseph e Praveen (2015), exibindo atividades de sequestro do radical DPPH (7% a 17%), semelhantes às do presente trabalho. De um modo geral, as frações hexânica, diclorometano e acetato de etila mostraram maior capacidade antioxidante do que as frações do presente trabalho.

Sathya *et al.* (2017) encontraram atividade antioxidante no extrato metanólico da macroalga marinha parda *Cystoseira trinodis*, variando de 50% a 70%, semelhante à dos controles positivos (BHT, ácido ascórbico e ácido gálico). No entanto, as concentrações testadas para atingir tais resultados não foram informadas. Os extratos das macroalgas marinhas parda *Sargassum furcatum* e vermelhas *Bryothamnion triquetrum* e *Osmundaria obtusiloba*, preparados em diclorometano:metanol (2:1, v/v), nas concentrações de 150 a 1.000 µg/mL, apresentaram atividade de sequestro do DPPH variando de cerca de 10% a 140% (VASCONCELOS *et al.*, 2019). Tais resultados foram superiores aos encontrados no presente trabalho.

Sanger *et al.* (2019) determinaram atividades de sequestro do radical DPPH variando de aproximadamente 10% a 60% em extratos metanólicos com concentrações entre 3.000 e 12.000 µg/mL. A maior atividade foi detectada no extrato da macroalga parda *Turbinaria decurrens* e a menor, no extrato da macroalga parda *Sargassum olygocystum*. Embora os autores tenham registrado atividades superiores à do presente trabalho para o extrato etanólico de *S. vulgare*, é necessário destacar que eles trabalharam com concentrações de três a doze vezes maiores que as do presente trabalho.

Liu *et al.* (2017) compararam dois métodos de extração de florotaninos, compostos fenólicos presentes apenas nas ocrófitas, tendo concluído que o método de extração exerceu influência sobre os resultados da atividade de DPPH. Considerando que eles trabalharam com uma classe de antioxidantes, portanto, com um material mais purificado do que o extrato etanólico de *S. vulgare*, os resultados foram melhores, ou seja, os valores de EC₅₀ foram inferiores aos determinados no extrato analisado no presente trabalho.

Silva *et al.* (2019) encontraram valores de EC₅₀ para o extrato preparado em metanol:diclorometano (43,34 µg/mL) e frações (49 a > 1.000 µg/mL) da macroalga marinha parda *Bifurcaria bifurcata*. A atividade de sequestro do extrato de *B. bifurcata* foi mais elevada do que a do extrato de *S. vulgare* do presente estudo. Porém, as frações que apresentaram EC₅₀ superior a 1.000 µg/mL foram menos eficientes do que as do presente trabalho. Os dados relatados pelos autores indicaram que moléculas como polifenóis estão envolvidas nas atividades antioxidantes, devido a suas propriedades redox, pois agem como redutores e doadores de hidrogênio e, conseqüentemente, produzem radicais menos reativos e removem íons metálicos. Este mecanismo antioxidante contribui para a prevenção de processos oxidativos associados com o desenvolvimento de patologias neurodegenerativas como o mal de Parkinson.

Kok *et al.* (2016) avaliaram o potencial antioxidante dos extratos metanólico, acetato de etila e hexânico da macroalga marinha parda *Sargassum polycystum*. O maior EC₅₀ foi encontrado para o extrato acetato de etila (>10 mg/mL), sendo este menos eficiente que o extrato etanólico do presente trabalho. No entanto, os outros extratos mostraram maior eficácia com menores valores de EC₅₀ (2,76 mg/mL para o metanólico e 7,63 mg/mL para o hexânico). Os autores também avaliaram as frações obtidas a partir do extrato metanólico, as quais apresentaram EC₅₀ variando 15 a 69 mg/mL, sendo mais eficientes do que as frações do presente trabalho. Os melhores resultados, obtidos com o metanol, deveu-se ao efeito sinérgico dos compostos presentes no extrato.

Sanger *et al.* (2019) também calcularam os valores de EC₅₀ da macroalga marinha verde *Halimeda maculosa* e encontraram 18.540 µg/mL, ou seja, o extrato de *S. vulgare* desse estudo foi mais eficiente quanto ao sequestro do radical DPPH.

O resultado do trabalho de Junopía, Natsir e Dali (2020) mostrou que o extrato da macroalga marinha parda *Padina australis* foi capaz de inibir o radical livre DPPH em 70,917%, sendo considerada, pelos autores, uma atividade antioxidante moderada, com valor de EC₅₀ de 102,59 µg/mL, muito superior quando comparado ao extrato e às frações do presente trabalho.

3.4.2 Poder de quelção de íons ferrosos (FIC)

Os resultados do poder de quelção de íons ferrosos do controle positivo, EDTA, do extrato etanólico (TABELA 9, GRÁFICO 6A) e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) do extrato etanólico (TABELA 10, GRÁFICO 6B), acompanhados do EC₅₀, estão apresentados a seguir.

O controle positivo, EDTA, um composto orgânico que age como agente quelante, formando complexos muito estáveis com diversos íons metálicos, atingiu atividade máxima na concentração de 100 µg/mL, enquanto no extrato etanólico e nas frações, as atividades foram menores. A atividade do extrato ficou em torno de 20% em todas as concentrações testadas. Na fração hexânica, nenhuma atividade foi detectada; nas demais, a atividade aumentou com o acréscimo da concentração. A fração diclorometano foi a que apresentou os maiores resultados (32,93% ± 0,93 a 88,64% ± 1,90), seguida das frações metanólica (18,49% ± 1,60 a 68,13% ± 0,48), aquosa (27,79% ± 4,21 a 59,47% ± 7,06), acetato de etila (23,23% ± 3,75 a 58,74% ± 0,19) e etanólica (4,95% ± 0,58 a 11,72% ± 0,58). As frações apresentaram atividades

de quelação superiores as encontradas no extrato etanólico, provavelmente devido à interação dos compostos presentes no extrato, capazes de interferir na atividade.

Tabela 9 - Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA), do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019 e as concentrações efetivas do controle e do extrato que induzem metade do efeito máximo (EC_{50}).

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	FIC (%)	
	EDTA	Extrato
50	66,18 ^{aA} \pm 5,43	21,61 ^{aB} \pm 2,29
100	100,05 ^{bA} \pm 1,68	22,36 ^{aB} \pm 2,41
250	99,36 ^{bA} \pm 1,30	20,64 ^{aB} \pm 3,67
500	100,09 ^{bA} \pm 0,93	18,20 ^{aB} \pm 0,00
1.000	99,42 ^{bA} \pm 0,93	21,73 ^{aB} \pm 2,48
EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	26,124	*

Fonte: AUTORA (2020).

* Não houve linearidade entre FIC (%) e concentração ($\mu\text{g/mL}$).

Nas colunas, letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Tabela 10 - Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) do controle positivo (EDTA), das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H_2O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019 e as concentrações efetivas do controle e das frações que induzem metade do efeito máximo (EC_{50}).

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	FIC (%)					
	EDTA	Frações				
		DCM	AcOEt	EtOH	MeOH	H_2O
50	60,69 ^a \pm 1,40	32,93 ^a \pm 0,93	23,23 ^a \pm 3,75	ND	21,40 ^a \pm 2,02	ND
100	100,85 ^{bd} \pm 0,92	60,66 ^b \pm 3,99	34,66 ^b \pm 2,17	4,95 ^a \pm 0,58	18,49 ^a \pm 1,60	ND
250	100,85 ^{bd} \pm 0,75	77,24 ^c \pm 0,93	58,74 ^c \pm 0,19	7,30 ^b \pm 0,18	22,24 ^a \pm 1,38	27,79 ^a \pm 4,21
500	102,89 ^c \pm 0,32	86,04 ^d \pm 2,06	53,94 ^{cd} \pm 5,94	6,68 ^b \pm 1,00	41,27 ^b \pm 2,23	28,06 ^a \pm 2,26
1.000	101,22 ^{cd} \pm 0,97	88,64 ^d \pm 1,90	46,27 ^d \pm 4,64	11,72 ^c \pm 0,58	68,13 ^c \pm 0,48	59,47 ^b \pm 7,06
EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$)	36,70	80,80	196,90	6.631,00	685,20	849,30

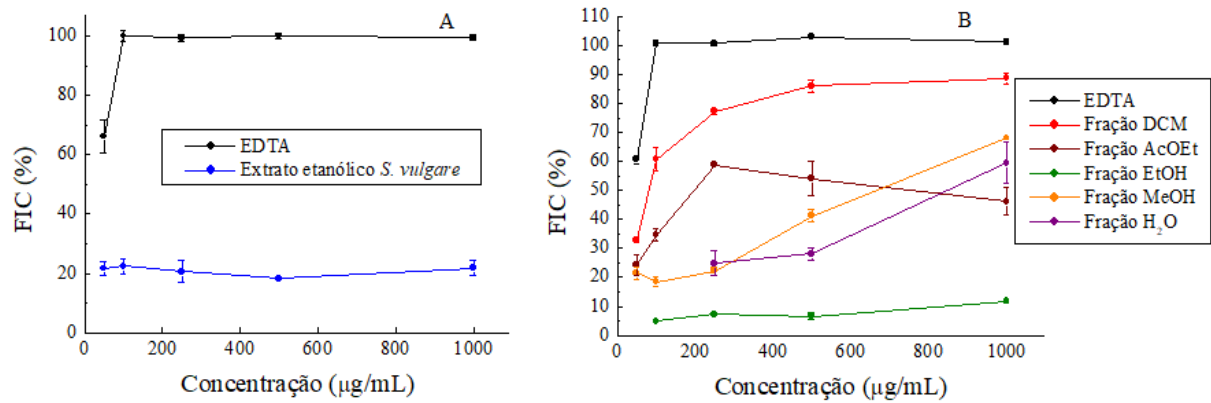
Fonte: AUTORA (2020).

ND - Não detectado.

Nas colunas, letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Gráfico 6 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC). (A) Controle positivo (EDTA) e extrato etanólico. (B) Controle positivo (EDTA) e frações diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



Fonte: AUTORA (2020).

Ao comparar os resultados do extrato de *S. vulgare* do presente trabalho com aqueles produzidos por Deepika, Bhaskar e Madhusudhanan (2016) para as macroalgas parda *Sargassum wightii* e vermelhas *Kappaphycus alvarezii* e *Gracilaria corticata*, foi possível constatar valores semelhantes aos de *S. wightii* e *K. alvarezii*, após extração de carragenana, apesar de o trabalho não ter informado as concentrações testadas. Os autores observaram que o modo de secagem das macroalgas, antes do preparo dos extratos, afetou a atividade antioxidante e a extração de determinados componentes, como a carragenana, que supostamente também exerceu influência sobre os resultados.

Dados semelhantes ao do extrato de *S. vulgare* do presente trabalho também foram encontrados por Nunes *et al.* (2017). Ao analisarem o FIC de extratos metanólicos de macroalgas verdes, vermelhas e pardas, eles observaram uma ampla variação, de 4% a 77,93%, associada às diferentes composições das macroalgas. A atividade mais elevada foi encontrada na macroalga marinha parda *Zonaria tournefortii*, embora a concentração do extrato não tenha sido informada, ela foi atribuída a alta quantidade de florotaninos em sua composição. Além disso, os autores encontraram relação entre teores elevados de gordura e compostos antioxidantes, de modo que talvez algumas substâncias lipofílicas presentes nas macroalgas sejam capazes de promover atividade antioxidante.

Similarmente ao encontrado no presente trabalho com o extrato etanólico de *S. vulgare* (50 a 1.000 µg/mL), Sanger *et al.* (2019) também registraram variações da atividade de quelação dos extratos das macroalgas pardas *Turbinaria decurrens* e *Sargassum*

olygocystum, entre 10% e 70%, em concentrações de 2.500 a 10.000 µg/mL. As clorófitas e rodófitas apresentaram atividade máxima em torno de 30%, enquanto o maior potencial antioxidante foi observado nas ocrófitas.

Analogamente ao presente trabalho, Jaballi *et al.* (2019) também observaram dose dependência entre a atividade antioxidante e a concentração do extrato. A atividade de quelação do polissacarídeo da macroalga marinha vermelha *Chondrus canicatulatus* em concentrações inferiores a 4.000 µg/mL foi semelhante à do presente trabalho, mas considerando que o extrato de *S. vulgare* atingiu os mesmos resultados em menores concentrações, sua eficiência foi superior. Na maior concentração testada (10.000 µg/mL), a atividade do polissacarídeo foi da ordem de 96,37%.

Os resultados do FIC do extrato etanólico de *S. vulgare* foram inferiores aos encontrados por Belattmania *et al.* (2016), que investigaram o extrato metanólico da macroalga marinha parda *Cystoseira humilisa*, em concentrações de 50 a 375 µg/mL. Quanto à atividade de quelação, os valores oscilaram entre 47% e 68%, e os autores consideraram esta atividade moderada. Eles afirmaram que a capacidade quelante dos compostos fenólicos presentes nas macroalgas está relacionada à quantidade, localização dos grupos hidroxila e presença de orto-dihidroxi-polifenóis (catecol). Outros componentes, como polissacarídeos e proteínas, podem ser quelantes de íons ferrosos mais eficazes do que os compostos fenólicos.

Sanger *et al.* (2019) calcularam os valores de EC₅₀ de várias espécies de macroalgas marinhas tendo encontrado os menores resultados nas pardas *Sargassum olygocystum* (5.180 µg/mL) e *Turbinaria decurrens* (7.302 µg/mL), e os maiores, nas rodófitas *Gracilaria salicornia* (13.120 µg/mL) e *Halimena durvilae* (14.390 µg/mL) e na clorófitas *Halimeda macroloba* (34.250 µg/mL). Os diferentes resultados podem ser atribuídos às diferenças de composição entre os filamentos de macroalgas, bem como as condições do ambiente onde elas foram coletadas.

No estudo de Farvin e Jacobsen (2013), dentre as dezesseis espécies de macroalgas marinhas analisadas, nas oito pardas os valores EC₅₀ dos extratos etanólicos variaram de 242,9 a 1.366,7 µg/mL e os dos extratos aquosos, de 128,6 a 1.750 µg/mL. De acordo com os resultados, a água utilizada como solvente foi mais eficiente para extrair os compostos das ocrófitas das espécies *Fucus serratus*, *F. vesiculosus*, *F. distichus*, *F. spiralis*, *Sargassum muticum*, *Saccharina latissima*, *Laminaria digitata* e *Dictyota dichotoma*, indicando maior polaridade dos componentes com capacidade antioxidante presentes nesses extratos.

De acordo com Grina *et al.* (2020), os valores de EC₅₀ dos extratos das macroalgas marinhas pardas variaram de 45,22 a 198,9 µg/mL, e esta atividade antioxidante foi

correlacionada com a atividade anticolinesterase. A importância dessa associação reside no fato de que a inibição da acetilcolinesterase, enzima responsável pela hidrólise do neurotransmissor acetilcolina nas sinapses colinérgicas, consiste em uma abordagem terapêutica para o tratamento sintomático da doença de Alzheimer.

No presente trabalho, a atividade de quelação foi mais pronunciada na fração acetato de etila do que no extrato etanólico. Mesmo resultado foi reportado por Chakraborty e Joseph (2016) com a fração acetato de etila e o extrato metanólico da macroalga marinha parda *Turbinaria ornata*. Antagonicamente, a atividade de quelação do extrato metanólico de *T. conoides* foi maior que a da fração acetato de etila. As duas espécies apresentaram variação no EC₅₀ de 0,46 a 1,07 mg/mL. Segundo os autores, a presença de compostos quelantes de íons ferrosos consiste em um indicativo de potencial inibição de peroxidação lipídica.

Chakraborty, Maneesh e Makkar (2017), analisando três espécies de macroalgas marinhas pardas, encontraram EC₅₀ variando de 220 a 1.330 µg/mL. Eles afirmaram que os compostos presentes nessas ocrófitas, incluindo as do gênero *Sargassum*, são potenciais quelantes de metais devido à presença de frações fenólicas e de polissacarídeos em sua composição.

3.4.3 Poder de redução de íons férricos (FRAP)

Os resultados do poder de redução de íons férricos do controle positivo, BHA, do extrato etanólico (TABELA 11, GRÁFICO 7A) e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) do extrato etanólico (TABELA 12, GRÁFICO 7B) estão apresentados a seguir.

Todas as absorvâncias do extrato etanólico e das frações foram inferiores às do controle positivo, BHA. As frações acetato de etila e hexânica apresentaram os maiores resultados, respectivamente, porém, foram inferiores às absorvâncias do extrato. No extrato e nas frações diclorometano, acetato de etila e etanólica, os resultados foram crescentes com o aumento das concentrações, porém esta tendência não foi verificada nas frações hexânica e metanólica.

A atividade antioxidante pelo FRAP mede a capacidade que uma substância tem de reduzir ferro férrico (Fe³⁺) a ferro ferroso (Fe²⁺) por transferência de elétrons e, assim, reduzir espécies reativas. O FRAP foi determinado no extrato etanólico de *S. vulgare*, e seu valor foi inferior ao encontrado no trabalho de Paiva *et al.* (2017), para o hidrolisado proteico da macroalga marinha parda *Fucus spiralis* e suas frações, nas concentrações de 3,55 a

28,41 $\mu\text{g/mL}$, cujas absorvâncias variaram de 0,2 a 0,5. As elevadas quantidades de florotaninos presentes no hidrolisado e nas frações foram responsáveis pela atividade de redução de íons férricos.

Tabela 11 - Poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo (BHA – butil hidroxianisol), do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	FRAP (Absorbância em 700 nm)	
	BHA	Extrato
50	0,149 ^{aA} \pm 0,012	0,090 ^{abB} \pm 0,017
100	0,253 ^{bA} \pm 0,008	0,080 ^{aB} \pm 0,013
250	0,722 ^{cA} \pm 0,020	0,094 ^{abB} \pm 0,008
500	1,560 ^{dA} \pm 0,024	0,115 ^{bB} \pm 0,012
1.000	1,647 ^{eA} \pm 0,028	0,143 ^{cB} \pm 0,013

Fonte: AUTORA (2020).

Nas colunas, letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Tabela 12 - Poder de redução de íons férricos (FRAP) do controle positivo (BHA), das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H_2O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	FRAP (Absorbância em 700 nm)						
	BHA	Frações					
		Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH	H_2O
50	0,241 ^a \pm 0,006	0,121 ^a \pm 0,010	0,068 ^a \pm 0,008	0,076 ^a \pm 0,009	0,062 ^a \pm 0,002	0,079 ^a \pm 0,013	0,072 ^{ab} \pm 0,012
100	0,373 ^b \pm 0,011	0,124 ^a \pm 0,015	0,066 ^a \pm 0,006	0,087 ^b \pm 0,011	0,070 ^{ab} \pm 0,010	0,075 ^a \pm 0,006	0,061 ^b \pm 0,008
250	0,768 ^c \pm 0,001	0,123 ^a \pm 0,004	0,080 ^{ab} \pm 0,003	0,111 ^c \pm 0,005	0,071 ^{ab} \pm 0,004	0,082 ^a \pm 0,007	0,075 ^{ab} \pm 0,006
500	1,149 ^d \pm 0,009	0,112 ^a \pm 0,006	0,089 ^b \pm 0,005	0,130 ^d \pm 0,006	0,083 ^b \pm 0,009	0,082 ^a \pm 0,003	0,085 ^a \pm 0,007
1.000	1,104 ^c \pm 0,011	0,110 ^a \pm 0,009	0,103 ^c \pm 0,006	0,138 ^d \pm 0,009	0,081 ^b \pm 0,003	0,092 ^a \pm 0,007	0,061 ^b \pm 0,006

Fonte: AUTORA (2020).

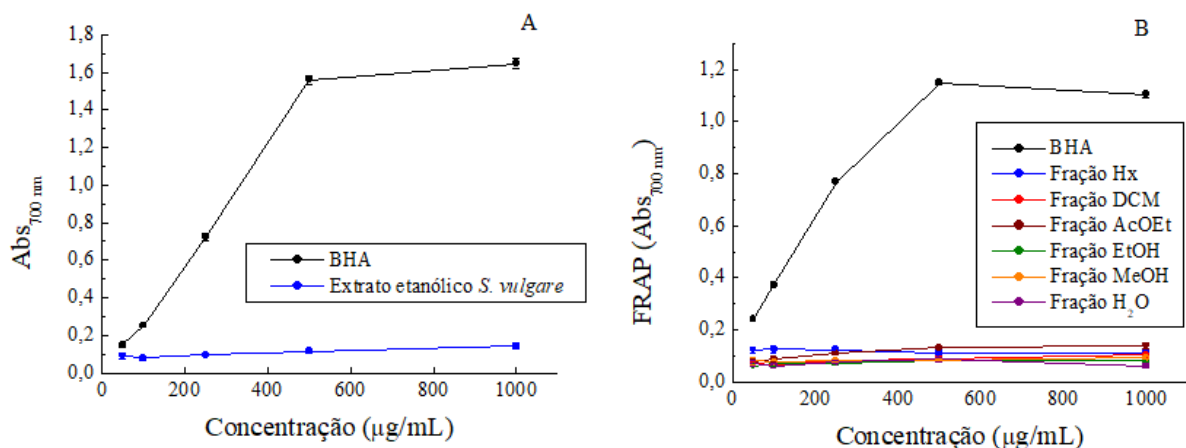
Nas colunas, letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Da mesma forma, o extrato etanólico de *S. vulgare* apresentou atividade menor do que a do polissacarídeo da macroalga marinha vermelha *Chondrus caniculatus*, com FRAP máximo de 2,16 na concentração de 10.000 $\mu\text{g/mL}$. As propriedades redutoras de

polissacarídeos geralmente estão relacionadas à presença de certos compostos como os ácidos urônico e glicurônico, os quais contêm altas quantidades de redutoras (JABALLI *et al.*, 2019).

Gráfico 7 – Poder de redução de íons férricos (FRAP). (A) Controle positivo (BHA) e extrato etanólico. (B) Controle positivo (BHA) e frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



Fonte: AUTORA (2020).

Os valores de FRAP do extrato etanólico e suas frações também foram menores que àqueles relatados por Chakraborty, Maneesh e Makkar (2017) para extratos e frações das macroalgas marinhas pardas *Anthophycus longifolius*, *Sargassum plagiophyllum* e *S. myriocystum*, que variaram de 0,41 a 1,42. Tais resultados foram associados ao fato de as espécies estudadas poderem conter polifenóis, capazes de atuar como agentes redutores, assim como à existência de outros estudos que também relataram a presença de agentes redutores em macroalgas marinhas pardas, incluindo as do gênero *Sargassum* coletadas em diferentes regiões geográficas.

As absorvâncias do extrato etanólico e suas frações também foram inferiores às registradas por Chakraborty e Joseph (2016) para extratos e frações acetato de etila das macroalgas marinhas pardas *Turbinaria ornata* e *T. conoides*. De acordo com os resultados obtidos pelos autores, as frações exibiram melhores resultados que os extratos, demonstrando o efeito antagônico da mistura de compostos que compõem o extrato.

Comparando os valores de FRAP do extrato etanólico de *S. vulgare* e suas frações com os de Sousa (2017), que trabalhou com extratos diclorometano e etanol a 70% da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, a atividade antioxidante foi semelhante aos

resultados do extrato diclorometano. Entretanto, as absorvâncias do extrato etanólico de Sousa (2017) nas maiores concentrações (125 a 1.000 µg/mL) foram mais elevadas, indicando maior atividade antioxidante. As propriedades redutoras dos extratos e frações podem estar associadas à presença de redutonas, que interrompem a reação em cadeia para formação de radicais livres através da doação de um átomo de hidrogênio.

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

Os resultados da atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno do controle positivo, ácido ascórbico, do extrato etanólico (TABELA 13, GRÁFICO 8A) e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) do extrato etanólico (TABELA 14, GRÁFICO 8B), acompanhados do EC₅₀, estão apresentados a seguir.

Tabela 13 - Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico), do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

Concentração (µg/mL)	BCB (%)	
	Ácido ascórbico	Extrato
50	83,71 ^{aA} ± 0,74	90,76 ^{aB} ± 0,34
100	84,62 ^{abA} ± 0,67	91,49 ^{bbB} ± 0,14
250	84,06 ^{aA} ± 1,06	94,68 ^{cbB} ± 0,82
500	86,29 ^{baA} ± 0,98	96,70 ^{dbB} ± 0,67
1.000	85,91 ^{baA} ± 0,55	94,69 ^{cbB} ± 0,05

Fonte: AUTORA (2020).

Nas colunas, letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

O extrato etanólico de *S. vulgare* e suas frações apresentaram valores de BCB superiores aos do controle positivo. Apenas as frações etanólica e metanólica exibiram atividades menores que a do extrato. A atividade antioxidante do extrato apresentou correlação positiva estatisticamente significativa com a concentração.

Tabela 14 - Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) do controle positivo (ácido ascórbico), das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.

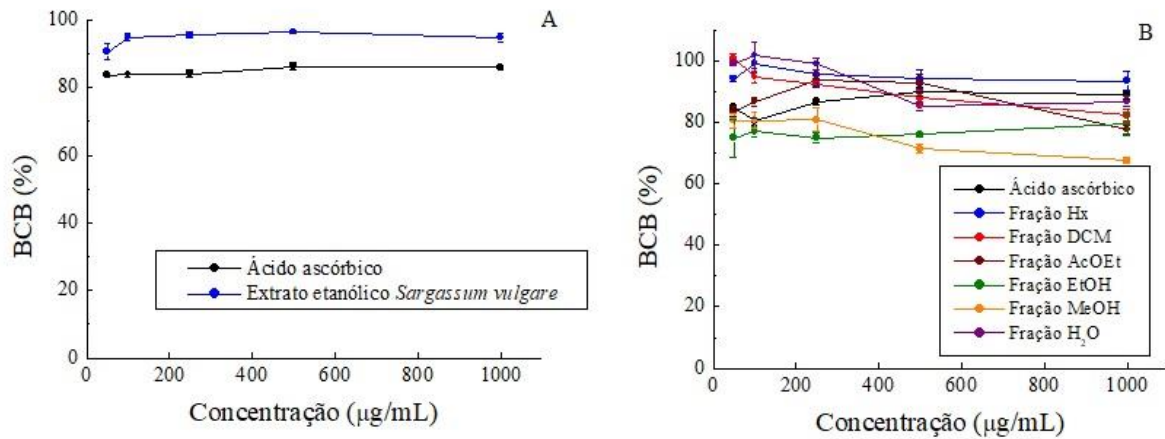
Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	BCB (%)						
	Ácido ascórbico	Frações (%)					
		Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH	H ₂ O
50	84,96 ^{aA} \pm 0,58	94,27 ^{aB} \pm 1,16	100,77 ^{aB} \pm 1,38	83,51 ^{aA} \pm 1,60	74,86 ^{aC} \pm 6,35	80,61 ^{aAC} \pm 2,38	99,28 ^{aB} \pm 0,47
100	80,37 ^{bA} \pm 1,22	99,24 ^{aBC} \pm 3,14	94,80 ^{bC} \pm 1,92	86,87 ^{aD} \pm 1,46	76,99 ^{aA} \pm 1,64	80,74 ^{aA} \pm 2,48	101,87 ^{aB} \pm 4,25
250	86,83 ^{bcAB} \pm 1,05	95,63 ^{aDE} \pm 3,92	92,43 ^{bAE} \pm 0,98	93,64 ^{bE} \pm 2,34	75,06 ^{aC} \pm 1,69	80,94 ^{aBC} \pm 3,92	99,04 ^{aD} \pm 1,93
500	89,86 ^{dABC} \pm 1,41	94,05 ^{aA} \pm 3,26	88,01 ^{cBC} \pm 2,60	92,77 ^{bAB} \pm 3,09	76,04 ^{aD} \pm 0,77	71,44 ^{bD} \pm 1,58	85,33 ^{bC} \pm 1,47
1.000	88,90 ^{cdAB} \pm 1,19	93,52 ^{aA} \pm 3,06	82,26 ^{dCD} \pm 1,84	77,70 ^{cD} \pm 1,28	79,60 ^{aD} \pm 3,96	67,66 ^{bE} \pm 1,07	86,91 ^{bBC} \pm 1,49

Fonte: AUTORA (2020).

Nas colunas, letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Gráfico 8 - Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB). (A) Controle positivo (ácido ascórbico) e extrato etanólico. (B) Controle positivo (ácido ascórbico) das frações e hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019.



Fonte: AUTORA (2020).

Os valores de EC_{50} do extrato e das frações foram inferiores a $50 \mu\text{g/mL}$, indicando que todos eles foram capazes de proteger o β -caroteno contra a descoloração do seu cromóforo. Não foi possível detectar o EC_{50} com maior precisão em função das concentrações testadas, mas pode-se sugerir a determinação do BCB dos extratos e das frações em concentrações mais baixas do que as usadas no presente trabalho.

No presente trabalho, a atividade BCB foi superior à maioria das macroalgas analisadas por Nunes *et al.* (2017), cuja variação permaneceu entre 2% e 95%. Apenas a macroalga marinha parda *Zonaria tournefortii* apresentou valores tão elevados quanto os do extrato etanólico de *S. vulgare* e de suas frações. Eles encontraram correlação entre a alta atividade BCB com compostos fenólicos, carotenoides e clorofila *a*, indicando a natureza lipofílica dos metabólitos responsáveis pela atividade antioxidante.

O extrato etanólico de *S. vulgare* e suas frações também apresentaram atividade maior do que a reportada por Jaballi *et al.* (2019) para o polissacarídeo extraído da macroalga marinha vermelha *Chondrus canaliculatus*, cuja máxima atividade atingiu aproximadamente 40%, apesar de as concentrações terem sido muito maiores como 10.000 µg/mL.

Da mesma forma, o extrato etanólico de *S. vulgare* e suas frações exibiram atividade BCB maior do que a relatada por Palanivel, Azeez e Muthaya (2017) para os extratos da macroalga marinha parda *Stoechospermum marginatum*. A variação da atividade BCB ficou no intervalo de 63% a 73%, sendo as maiores observadas nos extratos aquosos, embora não tenham sido indicadas as concentrações usadas.

Santos *et al.* (2019) avaliaram a capacidade de branqueamento do β-caroteno de extratos de *S. vulgare*, e os resultados indicaram variação da atividade de acordo com o solvente de extração e o período de coleta. O maior EC₅₀ foi registrado no extrato aquoso do material coletado no período seco (142,7 µg/mL), e o menor, no extrato metanólico (18 a 28 µg/mL).

Deepika, Bhaskar e Madhusudhanan (2016) analisaram a capacidade antioxidante pelo método do BCB das macroalgas marinhas parda *Sargassum wightii* e vermelhas *Kappaphycus alvarezii* e *Gracilaria corticata*. A atividade antioxidante do extrato etanólico de *S. vulgare* e suas frações foi semelhante as encontradas nas espécies de rodófitas, mas superior à da parda, apesar de os autores não terem informado as concentrações testadas.

Segundo Grina *et al.* (2020), os extratos de cinco macroalgas marinhas pardas, coletadas em Marrocos apresentaram EC₅₀ variando de 13,25 a 75,36 µg/mL. Nurrochmad *et al.* (2018) encontraram valores de EC₅₀ do extrato da ocrófito *Turbinaria decurrens* igual a 63,73 µg/mL e da fração metanólica, 57,07 µg/mL. A capacidade antioxidante dessa macroalga marinha parda foi atribuída ao conteúdo de fucoxantina, carotenoide abundante neste filo.

3.5 Determinação da atividade fitotóxica

Os resultados do ensaio de fitotoxicidade do extrato etanólico e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH)

e aquosa (H₂O), do extrato etanólico, contra as sementes de pepino-caipira *Cucumis sativus* estão apresentados na TABELA 15.

Tabela 15 – Resultados das médias de crescimento radicular (MCR), porcentagem relativa de germinação (RSG), porcentagem relativa de crescimento radicular (RRG) e índice de germinação (IG) da atividade fitotóxica do extrato e das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletadas na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019, e dos controles negativo e positivo.

Identificação	MCR (cm)	RSG (%)	RRG (%)	IG (%)
Extrato etanólico	11,61	100	94,44	94,44
Fração Hx	13,77	100	111,92	111,92
Fração DCM	13,66	100	111,00	111,00
Fração AcOEt	7,92	100	64,44	64,44
Fração EtOH	13,48	100	109,56	109,56
Fração MeOH	13,21	100	107,34	107,34
Fração H ₂ O	13,57	100	105,28	105,28
Controle negativo (CN)	12,31	100	-	-
CN com clorofórmio	12,29	100	-	-
Controle positivo (CP)	6,98	100	-	-
CP com clorofórmio	6,03	100	-	-

Fonte: AUTORA (2020).

O extrato etanólico de *S. vulgare* foi classificado como não fitotóxico, enquanto as frações foram capazes de potencializar a germinação e o crescimento das raízes, com exceção da fração acetato de etila, que foi moderadamente fitotóxica.

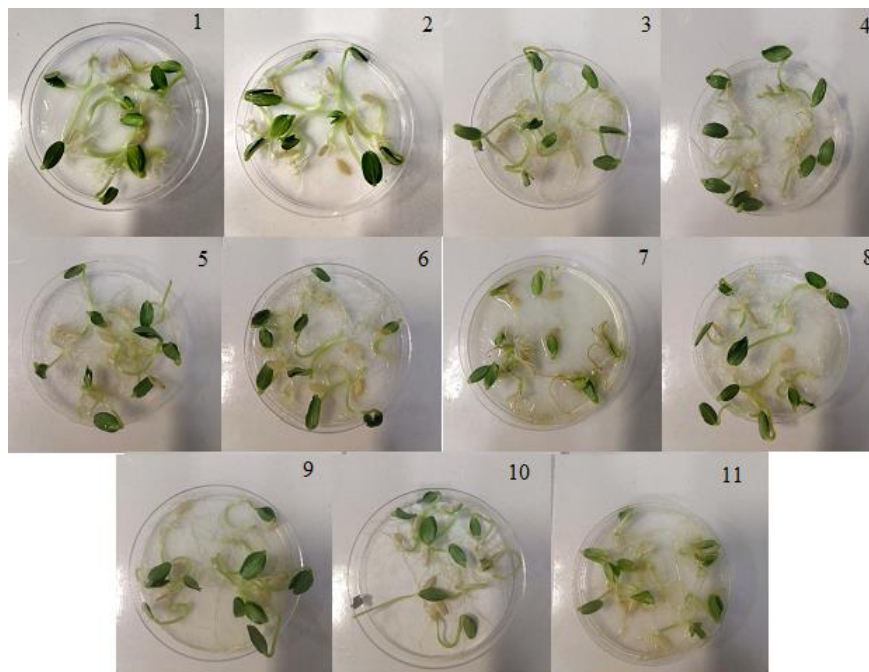
As diferenças entre os resultados obtidos para extratos e frações podem ser explicadas pelo grau de purificação de ambos. Os extratos consistem em uma combinação de vários compostos (polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, peptídeos, pigmentos, vitaminas, terpenoides e esteróis), e isso pode interferir nos efeitos dessas substâncias por causa das suas interações (BALBOA *et al.*, 2013; DU JARDIM, 2015; SILVA, 2004).

Os valores de IG do extrato e das frações avaliados no presente trabalho foram semelhantes aos reportados por Ronga *et al.* (2019), que testaram a fitotoxicidade de extratos das microalgas *Arthrospira platensis*, *Chlorella vulgaris*, *Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis gaditana* (= *Microchloropsis gaditana*), *Porphyridium cruentum* (= *P. purpureum*),

Scenedesmus acuminatus (= *Tetradesmus lagerheimii*) e *Tetraselmis suecica*, isoladas da água de um lago italiano na Planície Padana e das águas costeiras do Mar da Itália do Norte. Eles encontraram valores variando de cerca de 90% a 153%. Outro resultado interessante mencionado pelos autores foi sobre a atividade antimicrobiana exibida pelos extratos das microalgas, preparados com diferentes solventes.

O crescimento das sementes de pepino-caipira, após sete dias de incubação, está apresentado na FIGURA 3, sendo possível observar que houve crescimento em todas as placas.

Figura 3 – Atividade fitotóxica da (1) solução salina, (2) solução salina e clorofórmio, (3) água destilada, (4) água destilada e clorofórmio, (5) fração hexânica (Hx), (6) fração diclorometano (DCM), (7) fração acetato de etila (AcOEt), (8) fração etanólica (EtOH), (9) fração metanólica (MeOH), (10) fração aquosa (H₂O) e (11) extrato etanólico da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019, contra sementes de pepino-caipira, *Cucumis sativus*, após sete dias de incubação.



Fonte: AUTORA (2020).

Silva *et al.* (2016) encontraram nos extratos da macroalga marinha parda *Ascophyllum nodosum* na concentração de 2 mL/L resultados semelhantes aos das frações de *S. vulgare*. No entanto, nas concentrações mais elevadas (4 a 8 mL/L), os resultados foram negativos para o crescimento vegetal. Estudando a mesma espécie, Galindo *et al.* (2019) encontraram resultados diferentes dos de Silva *et al.* (2016), por não terem observado qualquer

relação com os índices agronômicos, ou seja, o extrato algal não causou efeito positivo ou negativo nas culturas vegetais.

Hernández-Herrera *et al.* (2014) observaram efeitos negativos sobre a germinação de tomates, expostos aos extratos das macroalgas marinhas *Caulerpa sertularioides* (verde) e *Padina gymnospora* e *Sargassum liebmannii* (pardas), em concentrações mais elevadas (1%). Nestas condições, a absorção de água pelas sementes foi inibida, impedindo sua germinação.

A hidratação das sementes concorre para o crescimento celular e o alongamento das raízes, no entanto, quando na solução aquosa estão presentes substâncias tóxicas, o crescimento das radículas pode ser inibido causando atraso na mitose (divisão celular) ou destruição das células (RESTREPO *et al.*, 2012).

Na literatura há vários estudos que comprovam efeitos positivos dos extratos algais na germinação de sementes, crescimento e vigor de plantas de várias espécies. Eles são apontados como capazes de melhorar a capacidade fotossintética, aumentar o teor de carbono orgânico no solo, elevar a disponibilidade e a absorção de nutrientes, acrescer a qualidade nutricional e aprimorar a resistência a estresses ambientais e, ainda, ampliar a vida útil de produtos perecíveis após a colheita (MAHMOUD *et al.*, 2019; SHUKLA *et al.*, 2019).

Extratos de macroalgas são considerados estimulantes para o crescimento de plantas ou fertilizantes biológicos, pois seus compostos bioativos afetam positivamente o metabolismo celular desses organismos. Os extratos de macroalgas marinhas pardas são usados na agricultura moderna devido à sua composição rica em fitohormônios naturais, como auxinas, giberelinas, citocininas e ácido abscísico, e ao conteúdo de micronutrientes, por exemplo, minerais como cálcio, cobre, ferro, magnésio, manganês e zinco, e macronutrientes, como nitrogênio, fósforo e potássio, que geralmente estão presentes em menor quantidade nas clorófitas e rodófitas (ABU SEIF, 2016; MAHMOUD *et al.* 2019; SILVA *et al.*, 2016).

A eficiência de compostos antioxidantes é influenciada pelas suas características estruturais, concentração, temperatura, tipo de substrato de oxidação, presença de outras substâncias, como pró-antioxidantes, e sinergia. Para a seleção de um antioxidante adequado a cada aplicação, recomenda-se que todos esses aspectos sejam levados em consideração (SHAIJI; ZHONG, 2015).

A quantidade de compostos bioativos nas algas sofre influência de fatores como a própria espécie e as condições ambientais (exposição à luz, nutrientes, temperatura, contaminantes, pH, temperatura, salinidade, disponibilidade de CO₂ e interações bióticas). Mesmo indivíduos da mesma espécie podem produzir diferentes níveis de metabólitos secundários, bem como diferentes compostos, o que dificulta a padronização de procedimentos

técnicos operacionais e a constância de um padrão de qualidade do produto. Além do mais, as empresas não divulgam os procedimentos de fabricação, porque são considerados componentes envolvidos na concorrência industrial (BELKACEMI *et al.*, 2020; CARILLO *et al.*, 2020; KHALID *et al.*, 2018).

Diversas formas de utilização das algas na agricultura vêm sendo estudadas, como demonstrado por Gunupuru *et al.* (2019), que obtiveram resultados promissores usando a combinação de um extrato comercial de *Ascophyllum nodosum* com uma solução de quitosana em plantas de trigo infectadas com o fungo *Fusarium graminearum*, e por Kopta *et al.* (2018), que utilizaram uma associação entre bactérias promotoras de crescimento de plantas (*Bacillus licheniformis*, *B. megatherium*, *Azotobacter* sp., *Azospirillum* sp. e *Herbaspirillum* sp.) e a clorófito de água doce *Chlorella vulgaris* e comprovaram o efeito positivo do tratamento sobre o rendimento de alfaces, a capacidade antioxidante total e os carotenoides totais, especialmente em condições de estresse e no verão.

Apesar dos benefícios do uso de biomassa, extratos ou derivados de macro e microalgas serem bastante investigados e conhecidos através de uma perspectiva aplicada, a exploração de diferentes abordagens científicas ainda é necessária para o desenvolvimento de novas estratégias sustentáveis. Um fator importante a ser considerado nas pesquisas, é avaliar a resposta molecular e fisiológica das plantas ao sal e aos extratos algais e como esse fator é influenciado pelos processos de extração e aplicação (CARILLO *et al.*, 2020).

3.6 Determinação da atividade antimicrobiana

A atividade antimicrobiana frente a cepas padrão Gram-positivas (SA 25, SA 70, SE 12 e SE 35) e Gram-negativas (PA 27 e EC 11) foi analisada quanto à concentração inibitória mínima (CIM) e à concentração bactericida mínima (CBM).

O CIM consiste na concentração de antimicrobiano necessária para inibir o crescimento bacteriano, de forma que quanto menor o CIM, maior a potência e, quanto maior a potência, maior a dificuldade que a bactéria enfrenta para desenvolver resistência, enquanto o CBM corresponde à concentração mínima do agente antimicrobiano que resulta na morte bacteriana, ou seja, a concentração a partir da qual um agente é bactericida.

Na TABELA 16 estão apresentados os resultados de CIM e CBM das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) do extrato etanólico.

Todas as frações apresentaram capacidade de inibir o crescimento bacteriano (CIM) de pelo menos uma das cepas testadas, principalmente DCM e AcOEt, que se destacaram por terem exibido atividade contra todos os micro-organismos avaliados.

Tabela 16 – Concentração inibitória mínima (CIM) e Concentração bactericida mínima (CBM), expressas em mg/mL, das frações hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH) e aquosa (H₂O) da macroalga marinha parda, *Sargassum vulgare*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em fevereiro de 2019, contra micro-organismos patogênicos.

Cepas	Frações (mg/mL)											
	Hx		DCM		AcOEt		EtOH		MeOH		H ₂ O	
	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM	CIM	CBM
SA25	5,000	-	0,625	-	0,625	-	5,000	-	-	*	-	*
SA70	-	*	0,156	-	0,156	2,500	5,000	5,000	0,156	2,500	0,625	-
SE12	-	*	0,156	-	0,312	-	-	*	-	*	1,250	-
SE35	0,078	-	0,078	-	0,312	-	0,312	-	0,078	-	0,078	-
PA27	-	*	0,625	-	0,625	-	-	*	0,625	-	-	*
EC11	-	*	2,500	-	1,250	-	-	*	-	*	-	*

Fonte: AUTORA (2020).

SA25 (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923); SA70 (*S. aureus* ATCC 700698); SE12 (*S. epidermidis* ATCC 12228); SE35 (*S. epidermidis* ATCC 35984); PA27 (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853); EC11 (*Escherichia coli* ATCC 11303).

- Não foi encontrada CIM ou CBM até a maior concentração testada.

* Não testada.

É importante lembrar que essas frações apresentaram os maiores teores de compostos fenólicos e flavonoides (TABELAS 5 e 6). A existência de correlação positiva entre as atividades biológicas, como antibacteriana e antifúngica, e o conteúdo fenólico está documentado na literatura e, além disso, alguns estudos também já indicaram que geralmente, o solvente acetato de etila apresenta os melhores resultados quanto ao isolamento de compostos antimicrobianos de extratos de algumas macroalgas marinhas (AKREMI *et al.*, 2017; ALSHUNIABER; KRISHNAMOORTHY; ALQHTANI, 2020; GHANIA *et al.*, 2019; JIMENEZ-LOPEZ *et al.*, 2021; KIM *et al.*, 2018).

Apresentaram capacidade inibitória do crescimento da cepa SA 25 (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), as frações Hx e EtOH (CIM de 5 mg/mL) e as frações DCM e AcOEt (CIM de 0,625 mg/mL), sendo as duas últimas mais potentes do que as primeiras. Até a maior

concentração testada, nenhuma atividade bactericida (CBM) foi detectada nas frações do extrato etanólico de *S. vulgare*.

As frações DCM, AcOEt e MeOH (CIM de 0,156 mg/mL) e H₂O (CIM de 0,625 mg/mL) inibiram o crescimento da cepa SA 70 (*Staphylococcus aureus* ATCC 700698). A fração Hx não foi capaz de inibir o crescimento da referida cepa. Com relação à atividade bactericida, as frações AcOEt e MeOH (CBM de 2,5 mg/mL) foram as únicas ativas. Os resultados de CIM e CBM, verificados na fração EtOH foram idênticos (5 mg/mL), o que pode indicar que o real valor de CIM está acima da maior concentração testada no presente estudo.

As frações DCM (CIM de 0,156 mg/mL), AcOEt (CIM 0,312 mg/mL) e H₂O (CIM de 1,25 mg/mL) inibiram o crescimento da cepa SE 12 (*S. epidermidis* ATCC 12228), sendo a fração DCM a mais potente, pois possui menor valor dentre todas as frações que exibiram atividade contra essa estirpe.

Todas as frações do extrato etanólico de *S. vulgare* apresentaram atividade (CIM de 0,078 mg/mL para as frações Hx, DCM, MeOH e H₂O e de 0,312 mg/mL para as frações AcOEt e EtOH), contra a bactéria Gram-positiva *S. epidermidis* (SE 35). Estes resultados foram valiosos, pois a cepa SE 35 é de interesse para a medicina, tendo em vista que, apesar de estar presente de maneira inofensiva na pele humana, ao romper a barreira epitelial, ela pode invadir o meio interno e participar de eventos de bacteremia (bactéria no sangue) e, nos casos mais graves, de sepse em recém-nascidos e em pacientes imunocomprometidos. Geralmente vários fatores estão associados, incluindo intervenções médicas invasivas e sistema imunológico imaturo ou danificado. Além disso, essas bactérias têm capacidade de formar biofilmes, comprometendo e dificultando o sucesso dos tratamentos clínicos (ALBANO *et al.*, 2019; RUIZ-RIPA *et al.*, 2021). As atividades observadas nas frações Hx, DCM, MeOH e H₂O foram consideradas importantes, de acordo com o preconizado por Alshuniaber, Krishnamoorthy e Alqhtani (2020), que afirmaram que valores de CIM inferiores a 0,1 mg/mL correspondem a metabólicos secundários com potencial antimicrobiano.

As frações DCM, AcOEt e MeOH (CIM de 0,625 mg/mL) foram ativas contra a cepa PA 27 (*Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853), e as frações DCM (CIM de 2,5 mg/mL) e AcOEt (1,25 mg/mL), contra a cepa EC 11 (*Escherichia coli* ATCC 11303). Estas foram as únicas que apresentaram atividade antimicrobiana contra as bactérias Gram-negativas testadas neste trabalho.

As diferenças encontradas entre os valores de CIM e CBM podem estar relacionadas ao mecanismo de ação dos compostos bioativos sobre os micro-organismos. Eles podem atuar alterando a permeabilidade das membranas das células dos micro-organismos e/ou

interagindo com moléculas intracelulares como mRNA e DNA. Em qualquer caso, eles prejudicam a função das células microbianas (ALSHUNIABER; KRISHNAMOORTHY; ALQHTANI, 2020). Devido às estruturas celulares das bactérias Gram-negativas e Gram-positivas serem distintas – as primeiras possuem uma membrana externa composta por lipopolissacarídeos, enquanto as segundas são formadas por uma camada espessa única, composta basicamente por peptidoglicanos, as Gram-negativas apresentam maior resistência aos agentes antimicrobianos, e Gram-positivas são mais sensíveis.

Há relatos na literatura sobre extratos algais ou substâncias deles derivadas, principalmente de macroalgas pardas, que apresentaram atividade antibacteriana contra cepas de *Staphylococcus aureus* (AKREMI *et al.*, 2017; GHANIA *et al.*, 2019).

Os compostos antimicrobianos das frações do extrato etanólico avaliadas neste trabalho foram mais eficientes que os encontrados no estudo de Ghania *et al.* (2019), em que as frações acetato de etila das macroalgas marinhas pardas *Cladostephus hirsutus* e *Sargassum vulgare* e da macroalga marinha vermelha *Rissoella verruculosa*, mostraram-se eficazes contra *Staphylococcus aureus* e *Bacillus cereus*, com CIM variando entre 0,937 e 7,5 mg/mL.

Apesar de os solventes e de os micro-organismos não terem sido os mesmos, os resultados da atividade antimicrobiana das frações do extrato etanólico do presente trabalho foram semelhantes aos descritos por Akremi *et al.* (2017), que encontraram os melhores resultados de CIM e CBM nas frações da macroalga marinha parda *Dictyopteris membranacea* com os solventes etanol (CIM 0,0156 a 0,25 mg/mL e CBM 0,0625 a 0,5 mg/mL) e acetona (CIM 0,0156 a 0,0625 mg/mL e CBM 0,0156 a 0,25 mg/mL), contra as bactérias Gram-negativas (*E. coli* ATCC 8739 e *Salmonella typhimurium* ATCC 14028), Gram-positivas (*Staphylococcus aureus* ATCC 6538, *Enterococcus faecium* ATCC 19434, *Streptococcus agalactiae*, *Bacillus subtilis* e *Enterococcus faecalis* ATCC 29212) e uma espécie de fungo (*Candida albicans* ATCC 10231).

Os resultados do presente trabalho também foram semelhantes àqueles reportados por Akbari, Safaiee e Yegdaneh (2020), porém com menos procedimentos de purificação, possivelmente indicando uma maior eficiência dos compostos antimicrobianos das frações de *S. vulgare*. Os autores avaliaram o potencial antimicrobiano do extrato metanol/acetato de etila, particionado em hexano (Hx), diclorometano (DCM), água (H₂O) e butanol (BuOH), da macroalga marinha parda *Padina australis* contra cepas de bactérias Gram-negativa (*Pseudomonas aeruginosa*) e Gram-positiva (*Staphylococcus aureus*) e do fungo (*Candida albicans*). Como a fração DCM apresentou maior eficácia contra os micro-organismos testados,

os autores refracionaram o material e encontraram os melhores resultados de CIM e CBM com variação de 0,078 a > 5 mg/mL.

Os resultados de CIM e CBM do presente trabalho também foram similares aos de Akbari, Sadaiee e Yegdaneh (2020), no que tange às concentrações mínimas terem ocorrido nos solventes apolares ou com menores polaridades, fato que está documentado na literatura.

Kim *et al.* (2018), por exemplo, detectaram os melhores resultados de CIM (0,064 a 0,512 mg/mL) e CBM (0,256 to 1,024 mg/mL) na fração hexânica do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Ishige okamurae*, contra bactérias patogênicas encontradas na pele (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Pseudomonas aeruginosa* e *Propionibacterium acnes*). Eles também verificaram efeito sinérgico contra bactérias resistentes entre a fração hexânica e alguns antibióticos (amicacina, ceftazidima, ciprofloxacina e meropenem).

A atividade antibacteriana, assim como as demais atividades biológicas, pode sofrer influência de muitos fatores e variar de acordo com a espécie estudada, *habitat*, diferentes estádios de vida, período de coleta, protocolos de extração e variações nos métodos de ensaio. Qualquer um desses fatores ou a combinação deles é capaz de determinar quais compostos são extraídos do material biológico de interesse e como eles agem frente às espécies de microorganismos utilizadas nos ensaios, exibindo diferentes graus de suscetibilidade/resistência (GHANIA *et al.*, 2019; MARTELLI *et al.*, 2020; SILVA *et al.*, 2020).

4 CONCLUSÃO

O extrato etanólico da macroalga marinha parda *Sargassum vulgare* apresentou rendimento de 1,52%.

Os teores de compostos fenólicos totais (CFT) foram de $10,94 \pm 2,08$ mg EAG/g no extrato etanólico e variaram de $2,61 \pm 0,06$ a $38,85 \pm 2,03$ mg EAG/g nas frações do extrato etanólico, sendo os maiores valores obtidos nas frações de menor polaridade, com destaque para a fração acetato de etila (AcOEt).

Os teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) corresponderam a $108,63 \pm 3,62$ mg EQ/g no extrato etanólico e variaram de $1,68 \pm 0,32$ a $158,09 \pm 6,38$ mg EQ/g nas frações do extrato etanólico, sendo os maiores valores encontrados nas frações diclorometano (DCM) e AcOEt.

Os resultados de CFT e TF indicaram que os compostos fenólicos presentes no extrato etanólico e em suas frações são de baixa polaridade.

As atividades antioxidantes *in vitro* foram medidas pela capacidade de sequestro do radical DPPH, poder de quelação de íons ferrosos (FIC), poder de redução de íons férricos (FRAP) e atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB). Este último apresentou resultados promissores, enquanto os ensaios DPPH, FIC e FRAP, de moderados a baixos.

Os resultados de DPPH do extrato etanólico variaram de $10,58\% \pm 0,91$ a $16,57\% \pm 0,67$ com EC_{50} de $6.573,96 \mu\text{g/mL}$, enquanto os das frações ficaram entre $2,55\% \pm 0,07$ a $11,24\% \pm 0,99$ com EC_{50} calculado apenas para as frações DCM ($4.308 \mu\text{g/mL}$) e etanólica (EtOH) ($835,4 \mu\text{g/mL}$).

Não houve variação da atividade antioxidante do extrato, medida pelo FIC, nas diferentes concentrações testadas, que permaneceu em torno de 20%. Dentre as frações, a DCM se destacou, chegando a atingir $88,64\% \pm 1,90$ de atividade, com EC_{50} de $80,80 \mu\text{g/mL}$. Nas outras frações, as atividades variaram de $4,95\% \pm 0,58$ a $68,13\% \pm 0,48$, com valores de EC_{50} oscilando de $196,90 \mu\text{g/mL}$ a $6.631 \mu\text{g/mL}$.

As absorvâncias obtidas no ensaio FRAP tanto para o extrato etanólico ($0,080 \pm 0,013$ a $0,143 \pm 0,013$), quanto para as frações ($0,061 \pm 0,006$ a $0,138 \pm 0,009$) foram consideradas baixas.

Dentre os ensaios de atividade antioxidante realizados, o BCB do extrato ($90,76\% \pm 0,34$ a $96,70\% \pm 0,67$) e das frações ($67,66\% \pm 1,07$ a $101,87\% \pm 4,25$) foi o que apresentou os valores mais elevados.

Com relação à fitotoxicidade frente a sementes de pepino-caipira, o extrato etanólico foi considerado não tóxico, enquanto suas frações potencializaram a germinação e o crescimento das raízes, com exceção da fração AcOEt, considerada moderadamente fitotóxica.

Os resultados da atividade antimicrobiana demonstraram que todas frações do extrato etanólico apresentaram atividade de inibição frente a pelo menos uma bactéria. Elas foram capazes de inibir o crescimento bacteriano das cepas, principalmente das bactérias Gram-positivas testadas: SA 25 (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923), SA 70 (*S. aureus* ATCC 700698), SE 12 (*Staphylococcus epidermidis* ATCC 12228) e SE 35 (*S. epidermidis* 35984). As frações DCM e AcOEt apresentaram os melhores resultados de concentração inibitória mínima (CIM), pois inibiram o crescimento de todas as bactérias testadas em concentrações mais baixas que as outras frações (0,078 a 2,5 mg/mL). Com relação à concentração bactericida mínima (CBM), as frações AcOEt e MeOH (2,5 mg/mL) apresentaram atividade bactericida contra a mesma cepa, SA 70 (*S. aureus* ATCC 700698). Valores idênticos (5 mg/mL) de CIM e CBM, verificados na fração EtOH contra a cepa SA 70, indicando que o real valor de CIM está acima da concentração de 5 mg/mL. Por fim, os resultados deste trabalho mostraram que o extrato etanólico da macroalga marinha parda *S. vulgare* e as suas frações (Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH e H₂O) demonstraram diferentes atividades biológicas com potencial para aplicação, tanto industrial como na agricultura, sendo necessárias mais investigações dos mecanismos de ação responsáveis por essas atividades e as formas de utilizar esses compostos em produtos de interesse.

REFERÊNCIAS

- ABDEL-LATIF, H. H.; EL-DIN, N. G. S.; IBRAHIM, H. A. H. Antimicrobial activity of the newly recorded red alga *Grateloupia doryphore* collected from the Eastern Harbor, Alexandria, Egypt. **Journal of Applied Microbiology**, v. 125, n. 5, p. 1321-1332, 2018. DOI 10.1111/jam.14050. Disponível em: <https://sfamjournals.onlinelibrary.wiley.com/doi/abs/10.1111/jam.14050?af=R>. Acesso em: 09 jul. 2021.
- ABU SEIF, Y. I.; EL-MINIAWY, S. E. -D. M.; ABU EL-AZM, N. A. I.; HEGAZI, A. Z. Response of snap bean growth and seed yield to seed size, plant density and foliar application with algae extract. **Annals of Agricultural Science**, v. 61, n. 2, p. 187-199, 2016.
- AGBOR, G. A.; VINSON, J. A.; DONNELLY, P. E. Folin-Ciocalteu reagent for polyphenolic assay. **International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics**, article 3801, 10 p., Aug 2014. DOI 10.19070/2326-3350-1400028. Disponível em: <https://zenodo.org/record/47591#.YOjTauhKjIU>. Acesso em: 09 jul. 2021.
- AHN, M. R.; KUMAZAWA, S.; USUI, Y.; NAKAMURA, J.; MATSUKA, M.; ZHU, F.; NAKAYAMA, T. Antioxidant activity and constituents of propolis collected in various areas of China. **Food Chemistry**, v. 101, p. 1383-1392, 2007.
- AINSWORTH, E. A.; GILLESPIE, K. M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. **Nature Protocols**, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007.
- AKBARI, V.; SAFAIEE, F.; YEGDANEH, A. Bioassay-guided fractionation and antimicrobial activities of *Padina australis* extracts. **Jundishapur - Journal of Natural Pharmaceutical Products**, v. 15, n. 4, e68304, 2020. DOI 10.5812/jjnpp.68304.
- AKREMI, N.; CAPPOEN, D.; ANTHONISSEN, R.; VERSCHAEVE, L.; BOURAOUI, A. Phytochemical and *in vitro* antimicrobial and genotoxic activity in the brown algae *Dictyopteris membranacea*. **South African Journal of Botany**, v. 108, p. 308-314, 2017.
- ALBANO, M.; CRULHAS, B. P.; ALVES, F. C. B.; PEREIRA, A. F. M.; ANDRADE, B. F. M. T.; BARBOSA, L. N. B.; FURLANETTO, A.; LYRA, L. P. S.; RALL, V. L. M.; FERNANDES-JÚNIOR, A. Antibacterial and anti-biofilm activities of cinnamaldehyde against *S. epidermidis*. **Microbial Pathogenesis**, v. 126, p. 231-238, 2019. DOI 10.1016/j.micpath.2018.11.009. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0882401018316061?casa_token=hSalevzX95gAAAAA:cs-U-5dYq5CeNNQO3MsRdHLae3OLZ6PdwpkwAuEh-zLA8cduT6Wjqovm6JE5fNG3HYojYkOi. Acesso em 12 jul. 2021.
- ALENCAR, P. O. C.; LIMA, G. C.; BARROS, F. C. N.; COSTA, L. E. C.; RIBEIRO, C. V. P. E.; SOUSA, W. M.; SOMBRA, V. G.; ABREU, C. M. W. S.; ABREU, E. S.; PONTES, E. O. B.; OLIVEIRA, A. C.; DE PAULA, R. C. M.; FREITAS, A. L. P. A novel antioxidant sulfated polysaccharide from the algae *Gracilaria caudata*: *In vitro* and *in vivo* activities. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 28-34, 2019.

- ALMADA, C. H. B. A.; YONESHIGUE-VALENTIN, Y.; NASSAR, C. A. G. Aspectos populacionais de *Sargassum vulgare* C. Agardh (Ochrophyta, Fucales) na Ponta do Arpoador - Rio de Janeiro. **Oecologia Brasiliensis**, v. 12, n. 2, p. 291-298, 2008.
- ALSHUNIABER, M. A.; KRISHNAMOORTHY, R.; ALQHTANI, W. H. Antimicrobial activity of polyphenolic compounds from *Spirulina* against food-borne bacterial pathogens. **Saudi Journal of Biological Sciences**, v. 28, n. 1, p. 459-464, 2020.
- ALVES, C.; SILVA, J.; PINTEUS, S.; GASPAR, H.; ALPOIM, M. C.; BOTANA, L. M.; PEDROSA, R. From marine origin to therapeutics: the antitumor potential of marine algae-derived compounds. Review. **Frontiers in Pharmacology**, v. 9, article 777, 24 p., Aug 2018. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fphar.2018.00777/full>. Acesso em: 09 jul. 2021.
- AMARILLAS, P. S. O.; BAEZA, A. M.; VEJA, M. E. R.; MIRANDA, E. E.; BEDEGOYA, D. G.; VADEZ, R. B. Composición química y actividad antimicrobiana de extractos de macroalga *Gracilaria vermiculophylla* sobre *Vibrio parahaemolyticus*. **Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud**, v. 18, n. 2, p. 27-31, 2016.
- ANJALI, K. P.; SANGEETHA, B. M.; DEVI, G.; RAGHUNATHAN, R.; DUTTA, S. Bioprospecting of seaweeds (*Ulva lactuca* and *Stoechospermum marginatum*): The compound characterization and functional applications in medicine - a comparative study. **Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology**, v. 200, 2019. DOI 10.1016/j.jphotobiol.2019.111622. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1011134419304129?via%3Dihub>. Acesso em: 09 jul. 2021.
- ANVISA – Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Antibióticos: uso indiscriminado deve ser controlado**. 2018. Disponível em: <https://www.gov.br/anvisa/pt-br/assuntos/noticias-anvisa/2018/antibioticos-uso-indiscriminado-deve-ser-controlado>. Acesso em: 10 jul. 2021.
- ARGUELLES, E. D. L. R.; MONSALUD, R. G.; SAPIN, A. B. Chemical composition and *in vitro* antioxidant and antibacterial activities of *Sargassum vulgare* C. Agardh from Lobo, Batangas, Philippines. **International Society for Southeast Asian Agricultural Sciences**, v. 25, n. 1, p. 112-122, 2019.
- BAJPAI, V. K. Antimicrobial bioactive compounds from marine algae: a mini review. **Indian Journal of Geo-Marine Sciences**, v. 45, n. 9, p. 1076-1085, 2016.
- BALBOA, E. M.; CONDE, E.; MOURE, A.; FALQUÉ, E.; DOMÍNGUEZ, H. *In vitro* antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. **Food Chemistry**, v. 138, n. 1, p. 1764-1785, 2013.
- BEAULIEU, L.; SIROIS, M.; TAMIGNEAUX, E. Evaluation of the *in vitro* biological activity of protein hydrolysates of the edible red alga, *Palmaria palmata* (dulse) harvested from the Gaspé coast and cultivated in tanks. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 5, p. 3101-3115, 2016.

BEDNARCZUK, V. O.; VERDAM, M. C. S.; MIGUEL, M. D.; MIGUEL, O. G. Testes in vitro e in vivo utilizados na triagem toxicológica de produtos naturais. **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 11, n. 2, p. 43-50, jul-dez 2010.

BELATTMANIA, Z.; ENGELEN, A. H.; PEREIRA, H.; ZRID, R.; BENTISS, F.; CHAHBOUN, N.; REANIA, A.; SABOUR, B. Potential uses of the brown seaweed *Cystoseira humilis* biomass: 2- Fatty acid composition, antioxidant and antibacterial activities. **Journal of Materials and Environmental Science**, v. 7, n. 6, p. 2074-2081, 2016.

BELKACEMI, L.; BELALIA, M.; DJENDARA, A. C.; BOUHADDA, Y. Antioxidant and antibacterial activities and identification of bioactive compounds of various extracts of *Caulerpa racemosa* from Algerian coast. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**, v. 10, n. 2, p. 87-94, 2020.

BELO, S. R. S. **Avaliação de fitotoxicidade através de *Lepidium sativum* no âmbito de processos de compostagem**. 2011. 79 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia do Ambiente) - Universidade de Coimbra, Coimbra, 2011.

BERRI, M.; SLUGOCKI, C.; OLIVIER, M.; HELLOIN, E.; JACQUES, J.; SALMON, H.; DEMAIS, H.; GOFF, M. L.; COLLEN, P. N. Marine-sulfated polysaccharides extract of *Ulva armoricana* green algae exhibits an antimicrobial activity and stimulates cytokine expression by intestinal epithelial cells. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 5, p. 2999-3008, 2016.

BIANCO, E. M.; KRUG, J. L.; ZIMATH, P. L.; KROGER, A.; PAGANELLI, C. J.; BOEDER, A. M.; SANTOS, L.; TENFEN, A.; RIBEIRO, S. M.; KUROSHIMA, K. N.; ALBERTON, M. D.; CORDOVA, C. M. M.; REBELO, R. A. Antimicrobial (including antimollicutes), antioxidant and anticholinesterase activities of Brazilian and Spanish marine organisms – evaluation of extracts and pure compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 25, n. 6, p. 668-676, Nov/Dec 2015.

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

BRASIL. Resolução RDC No 471, de 23 de fevereiro de 2021. Ministério da Saúde/Agência Nacional de Vigilância Sanitária/Diretoria Colegiada. Dispõe sobre os critérios para a prescrição, dispensação, controle, embalagem e rotulagem de medicamentos à base de substâncias classificadas como antimicrobianos de uso sob prescrição, isoladas ou em associação, listadas em Instrução Normativa específica. **Diário Oficial [da] República Federativa do Brasil**, Poder Executivo, Brasília, DF, 24 fev. 2021. Edição 36, Seção 1, p. 85

CABRAL, I. S. R. **Extratos de algas marinhas como agentes antioxidantes e antimicrobianos e seus efeitos na qualidade de minced de tilapia (*Oreochromis niloticus*)**. 2012. 139 f. Tese (Doutorado em Ciências), Universidade de São Paulo, São Paulo. 2012. Disponível em: <https://teses.usp.br/teses/disponiveis/64/64135/tde-21092012-100112/publico/IngridySimoneRibeiroCabral.pdf>. Acesso em 09 jul. 2021.

CARILLO, P.; CIARMIELLO, L. F.; WOODROW, P.; CORRADO, G.; CHIAIESE, P.; ROUPHAEL, Y. Enhancing sustainability by improving plant salt tolerance through macro- and micro-algal biostimulants. **Biology**, v. 9, n. 9, 21 p., 2020.

CARNEIRO, J. G. **Efeito gastroprotetor e perfil toxicológico dos polissacarídeos sulfatados da alga marinha verde *Caulerpa mexicana* Sonder ex Kützinger**. 2017. 72 f. Tese (Doutorado em Biotecnologia – RENORBIO), Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017. Disponível em:

http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/30443/3/2017_tese_jgcarneiro.pdf. Acesso em: 09 jul. 2021.

CARNEIRO, R. F.; LIMA-JUNIOR, P. H. P.; CHAVES, R. P.; PEREIRA, R.; PEREIRA, A. L.; VASCONCELOS, M. A.; PINHEIRO, A. L.; VASCONCELOS, M. A.; PINHEIRO, U.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H. Isolation, biochemical characterization and antibiofilm effect of a lectin from the marine sponge *Aplysina lactuca*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 99, p. 213-222, 2017b.

CARNEIRO, R. F.; TORRES, R. C. F.; CHAVES, R. P.; VASCONCELOS, M. A.; SOUSA, B. L.; GOVEIA, A. C. R.; ARRUDA, F. V.; MATOS, M. N. C.; MATTEWS-CASCON, H.; FREIRE, V. N.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H. Purification, biochemical characterization, and amino acid sequence of a novel type of lectin from *Aplysina dactylomela* eggs with antibacterial/antibiofilm potential. **Marine Biotechnology**, v. 64, p. 19-49, 2017a.

CARNEIRO, R. F.; VIANA, J. T.; TORRES, R. C. F.; SILVA, L. T.; ANDRADE, A. L.; VASCONCELOS, M. A.; PINHEIRO, U.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H. A new mucin-binding lectin from the marine sponge *Aplysina fulva* (AFL) exhibits antibiofilm effects. **Archives of Biochemistry and Biophysics**, v. 662, p. 169-176, Feb 2019.

CARROLL, A. R.; COPP, B. R.; DAVIS, R. A.; KEYZERS, R. A.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Products Reports**, v. 37, n. 2, p. 175-223, 2020.

CHAKRABORTY, K.; JOSEPH, D. Antioxidant potential and phenolic compounds of brown seaweeds *Turbinaria conoides* and *Turbinaria ornata* (Class: Phaeophyceae). **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 25, n. 8, p. 1249-1265, 2016.

CHAKRABORTY, K.; JOSEPH, D.; PRAVEEN, N. K. Antioxidant activities and phenolic contents of three red seaweeds (Division: Rhodophyta) harvested from the Gulf of Mannar of peninsular India. **Journal of Food Science and Technology**, v. 52, n. 4, p. 1924-1935, 2015.

CHAKRABORTY, K.; MANEESH, A.; MAKKAR, F. Antioxidant activity of brown seaweeds. **Journal of Aquatic Food Product Technology**, v. 26, n. 4, p. 406-419, 2017.

CHAVES, R. P.; SILVA, S. R.; NASCIMENTO-NETO, L. G.; CARNEIRO, R. F.; SILVA, A. L. C.; SAMPAIO, A. H.; SOUSA, B. L.; CABRAL, M. G.; VIDEIRA, P. A.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S. Structural characterization of two isolectins from the marine red alga *Solieria filiformis* (Kützinger) P.W. Gabrielson and their anticancer effect on MCF-7 breast cancer cells. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 107, Part A, p. 1320-1329, Feb 2018b.

CHAVES, R. P.; SILVA, S. R.; SILVA, J. P. F. A.; CARNEIRO, R. F.; SOUSA, B. L.; ABREU, J. O.; CARNEIRO, R. F.; SOUSA, B. L.; ABREU, J. O.; CARVALHO, F. C. T.; ROCHA, C. R. C.; FARIAS, W. R. L.; SOUSA, O. V.; SILVA, A. L. C.; SAMPAIO, A. H.; NAGANO, C. S. *Meristiella echinocarpa* lectin (MEL): a new member of the OAAH-lectin family. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, p. 2629-2638, Aug 2018a.

CHEN, C.; WANG, J.; GUO, H.; HOU, W.; YANG, N.; REN, B.; LIU, M.; DAI, H.; LIU, X.; SONG, F.; ZHANG, L. Three antimycobacterial metabolites identified from a marine-derived *Streptomyces* sp. MS100061. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 97, p. 3885-3892, 2013.

CHEN, Z.; ZHENG, Z.; HUANG, H.; SONG, Y.; ZHANG, X.; MA, J.; WANG, B.; ZHANG, C.; JU, J. Penicacids A–C, three new mycophenolic acid derivatives and immunosuppressive activities from the marine-derived fungus *Penicillium* sp. SOF07. **Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters**, v. 22, n. 9, p. 3332-3335, 2012.

CHIBI, F.; RCHID, H.; ARSALANE, W.; NMILA, R. Screening of the antioxidant activity of crude extracts in 86 algae species from El jadida coast (Morocco). **International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences**, v. 11, n. 3, p. 54-61, 2019.

CHOI, H.; PROTEAU, P. J.; BYRUM, T.; PEREIRA, A. R.; GERWICK, W. H. Cymatherelactone and cymatherols A–C, polycyclic oxylipins from the marine brown alga *Cymathere triplicata*. **Phytochemistry**, v. 73, p. 134-141, 2012.

CLSI - Clinical and Laboratory Standards Institute. **Performance standards for antimicrobial susceptibility testing**. 30. ed. CLSI supplement M100 (ISBN 978-1-68440-066-9 [Print]; ISBN 978-1-68440-067-6 [Electronic]). Clinical and Laboratory Standards Institute, 950 West Road, Suite 2500, Wayne, Pennsylvania 19087 USA, 2020.

CORONEL, L. G. **Avaliação da atividade antimicrobiana de extratos de algas frente a bactérias patogênicas para aquicultura**. 2016. 52 f. Dissertação (Mestrado em Aquicultura) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

DANG, T. T.; BOWEYER, M. C.; ALTENA, I. A. V.; SCARLETT, C. J. Comparison of chemical profile and antioxidant properties of the brown algae. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 53, n. 1, p. 174-181, 2018.

DE LOS, R.C.; ZBAKH, H.; MOTILVA, V.; ZUBIA, E. Antioxidant and anti-inflammatory meroterpenoids from the brown alga *Cystoseira usneoides*. **Journal of Natural Products**, v. 76, n. 4, p. 621-629, 2013.

DE PAULA, V. C. S. **Avaliação da fitotoxicidade e ecotoxicidade do extrato bruto de *Microcystis aeruginosa***. 2016. 55 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Tecnologia em Processos Ambientais), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Curitiba, 2016. Disponível em: http://repositorio.roca.utfpr.edu.br/jspui/bitstream/1/8989/1/CT_COAMB_2016_2_4.pdf. Acesso em: 09 jul. 2021.

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

DEEPIKA, R. C.; BHASKAR, T. C. J.; MADHUSUDHANAN, J. Antioxidant activities of a few common seaweeds from Gulf of Mannar and the effect of drying as the method of preservation. **International Research Journal of Engineering and Technology (IRJET)**, v. 3, n. 4, p. 2615-2620, 2016.

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

DOS SANTOS, P. L. F.; ZABOTTO, A. R.; JORDÃO, H. W. C.; BOAS, R. L. V.; BROETTO, F.; TAVARES, A. R. Use of seaweed-based biostimulant (*Ascophyllum nodosum*) on ornamental sunflower seed germination and seedling growth. **Ornamental Horticulture**, v. 25, n. 3, p. 231-237, 2019.

DU JARDIM, P. Plant biostimulants: Definition, concept, main categories and regulation. **Scientia Horticulturae**, v. 196, p. 3-14, 2015.

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

DUSSAULT, D.; VU, K. D.; VANSACH, T.; HORGEN, F. D.; LACROIX, M. Antimicrobial effects of marine algal extracts and cyanobacterial pure compounds against five foodborne pathogens. **Food Chemistry**, v. 199, p. 114-118, 2016.

ELLITHEY, M. S.; LALL, N.; HUSSEIN, A. A.; MEYER, D. Cytotoxic, cytostatic and HIV-1 PR inhibitory activities of the soft coral *Litophyton arboreum*. **Marine Drugs**, v. 11, n. 12, p. 4917-4936, 2013.

FAO – Food and Agriculture Organization of the United Nations. **The State of World Fisheries and Aquaculture 2020**. Sustainability in action. Rome: FAO, 2020. Disponível em <http://www.fao.org/3/ca9229en/ca9229en.pdf>. Acesso em: 07 jul. 2021.

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

FERNANDO, I. P. S.; KIM, M.; SON, K. T. Antioxidant activity of marine algal polyphenolic compounds: a mechanistic approach. **Journal of Medicinal Food**, v. 19, n. 7, p. 1-14, 2016.

FIDELIS, G. P.; SILVA, C. H. F.; NOBRE, L. T. D. B.; MEDEIROS, V. P.; ROCHA, H. A. O.; COSTA, L. S. Antioxidant fucoidans obtained from tropical seaweed protect pre-osteoblastic cells from hydrogen peroxide-induced damage. **Marine Drugs**, v. 17, n. 9, p. 506-524, 2019.

FLEITA, D.; EL-SAYED, M.; RIFAAT, D. Evaluation of the antioxidant activity of enzymatically-hydrolyzed sulfated polysaccharides extracted from red alga *Pterocladia capilacea*. **LWT - Food Science and Technology**, v. 63, p. 1236-1244, 2015.

FOO, S. C.; YUSOFF, F. M. D.; ISMAIL, M.; BASRI, M.; YAU, S. K.; KHONG, N. M. H.; CHAN, K. W.; EBRAHIMI, M. Antioxidant capacities of fucoxanthin-producing algae as influenced by their carotenoid and phenolic contents. **Journal of Biotechnology**, v. 241, p. 175-183, 2017.

GALINDO, F. S.; TEIXEIRA-FILHO, M. C. M.; BUZETTI, S.; ALVES, C. J.; GARCIA, C. M. P.; NOGUEIRA, L. M. Extrato de algas como bioestimulante na nutrição e produtividade do trigo irrigado na região de Cerrado. **Colloquium Agrariae**, v. 15, n. 1, p. 130-140, jan-fev 2019. ISSN on-line 1809-8215.

GHANIA, A.; NABILA, B-B.; LARBI, B.; ELISABETH, M.; PHILIPPE, G.; MARIEM, B.; KHADIDJA, K-K.; WACILA, B. R.; FAWZIA, A-B. Antimicrobial and antiparasitic activities of three algae from the northwest coast of Algeria. **Natural Product Research**, v. 33, n. 5, p. 742-745, 2019. DOI 10.1080/14786419.2017.1405403. Disponível em: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/14786419.2017.1405403?journalCode=gnpl20>. Acesso em: 09 jul. 2021.

GIANG, H. T.; GIANG, T. T.; OANH, D. T. H.; PHU, T. Q. Assessment of nutritional value and antioxidant activity of polysaccharide extracts from brown seaweed *Sargassum flavicans* for aquaculture uses. **Can Tho University Journal of Science**, v. 2, p. 69-76, 2016.

GRINA, F.; ULLAH, Z.; KAPLANER, E.; MOUJAHID, A.; EDDOHA, R.; NASSER, B.; TERZIOGLU, P.; YILMAZ, M. A.; ERTAS, A.; OZTURK, M.; ESSAMADI, A. *In vitro* enzyme inhibitory properties, antioxidant activities, and phytochemical fingerprints of five Moroccan seaweeds. **South African Journal of Botany**, v. 128, p. 152-160, 2020.

GUIRY, M. D. **AlgaeBase**. In: GUIRY, M. D.; GUIRY, G. M. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. 2021. Disponível em: https://www.algaebase.org/search/genus/detail/?genus_id=77&-session=abv4:AC1F06401144104E5ANG27A72C0A. Acesso em: 09 jul. 2021.

GUNUPURU, L. R.; PATEL, J. S.; SUMARAH, M. W.; RENAUD, J. B.; MANTIN, E. G.; PRITHIVIRAJ, B. A plant biostimulant made from the marine brown algae *Ascophyllum nodosum* and chitosan reduce *Fusarium* head blight and mycotoxin contamination in wheat. **PlosOne**, v. 14, n. 9, e0220562, Sept 2019. DOI <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0220562>.

HAMED, I.; OZOGUL, F.; OZOGUL, Y.; REGENSTEIN, J. M. Marine bioactive compounds and their health benefits: a review. **Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety**, v. 14, n. 4, p. 446-465, 2015.

HERNÁNDEZ-HERRERA, R. M.; SANTACRUZ-RUVALCABA, T.; RUIZ-LÓPEZ, M. A.; NORRIE, J.; HERNÁNDEZ-CARMONA, G. Effect of liquid seaweed extracts on growth of tomato seedlings (*Solanum lycopersicum* L.). **Journal of Applied Phycology**, v. 26, p. 619-628, 2014.

HUANG, X.; HUANG, H.; LI, H.; SUN, X.; HUANG, H.; LU, Y.; LIN, Y.; LONG, Y.; SHE, Z. Asperterpenoid A, a new sesterterpenoid as an inhibitor of *Mycobacterium tuberculosis* protein tyrosine phosphatase B from the culture of *Aspergillus* sp. 16–5c. **Organic Letters**, v. 15, n. 4, p. 721-723, 2013.

JABALLI, I.; SALLEM, I.; FEKI, A.; CHERIF, B.; KALLEL, C.; BOUDAWARA, O.; JAMOSSI, K.; MELLOULI, L.; NASRI, M.; AMARA, I. B. Polysaccharide from a Tunisian red seaweed *Chondrus canaliculatus*: structural characteristics, antioxidant activity and *in vivo* hemato-nephroprotective properties on maneb induced toxicity. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 123, p. 1267-1277, 2019.

JACOBSEN, C.; SORENSEN, A. D. M.; HOLDT, S. L.; AKOH, C. C.; HERMUND, D. B. Source, extraction, characterization, and applications of novel antioxidants from seaweed. **Annual Review of Food Science and Technology**, v. 10, p. 541-568, 2019.

JENSEN, J. E.; MOBILI, M.; BRUST, A.; ALEWOOD, P. F.; KING, G. F.; RASH, L. D. Cyclisation increases the stability of the sea anemone peptide APETx2 but decreases its activity at acid-sensing ion channel 3. **Marine Drugs**, v. 10, n. 7, p. 1511-1527, 2012.

JIMENEZ-LOPEZ, C.; PEREIRA, A. G.; LOURENÇO-LOPES, C.; GARCIA-OLIVEIRA, P.; CASSANI, L.; FRAGA-CORRAL, M.; PRIETO, M. A.; SIMAL-GANDARA, J. Main bioactive phenolic compounds in marine algae and their mechanisms of action supporting potential health benefits. **Food Chemistry**, v. 341, Part 2, Mar 2021.

JOHNSON, M.; KANIMOZHI, S. A.; MALAR, T. R. J. J.; SHIBILA, T.; FREITAS, P. R.; TINTINO, S. R.; MENEZES, I. R. A.; COSTA, J. G. M.; COUTINHO, H. D. M. The antioxidative effects of bioactive products from *Sargassum polycystum* C. Agardh and *Sargassum duplicatum* J. Agardh against inflammation and other pathological issues. **Complementary Therapies in Medicine**, v. 46, p. 19-23, 2019.

JUNOPIA, A. C.; NATSIR, H.; DALI, S. Effectiveness of brown algae (*Padina australis*) extract as antioxidant agent. **Journal of Physics: Conference Series**, n. 1463, 2020.

KASANA, N.; AMELIA, W.; MUKMININ, A.; TRIYANTO; ISNANSETYO, A. Antibacterial activity of Indonesian red algae *Gracilaria edulis* against bacterial fish pathogens and characterization of active fractions. **Natural Product**, v. 33, n. 22, p. 3303-3307, 2018.

KATO, K.; NINOMIYA, M.; TANAKA, K.; KOKETSU, M. Effects of functional groups and sugar composition of quercetin derivatives on their radical scavenging properties. **Journal of Natural Products**, v. 79, p. 1808-1814, June 2016.

KHALID, S.; ABBAS, M.; SAEED, F.; BADER-UL-AIN, H.; SULERIA, H. A. R. Therapeutic potential of seaweed bioactive compounds. **Intech Open**, provisional chapter, 21 p., July 2018. Disponível em: <https://www.intechopen.com/books/seaweed-biomaterials/therapeutic-potential-of-seaweed-bioactive-compounds>. Acesso em: 09 jul. 2021.

KHATUA, S.; ROY, T.; ACHARYA, K. Antioxidant and free radical scavenging capacity of phenolic extract from *Russula laurocerasi*. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 6, n. 4, p. 156-160, 2016.

- KIM, B.; KIM, M. -S.; PARK, S. -K.; KO, S. -C.; EOM, S. -H.; JUNG, W. -K.; KIM, Y. -M. Antibacterial effect of *Ishige okamurae* extract against cutaneous bacterial pathogens and its synergistic antibacterial effect against *Pseudomonas aeruginosa*. **Fisheries and Aquatic Sciences**, v. 21, n. 18, 6 p., 2018.
- KIM, M. -S.; OH, G. -W.; JANG, Y. -M.; KO, S. -C.; PARK, W. -S.; CHOI, I. -W.; KIM, Y. -M.; JUNG, W. -K. Antimicrobial hydrogels based on PVA and diphloretrohydroxycarmalol (DPHC) derived from brown alga *Ishige okamurae*: An *in vitro* and *in vivo* study for wound dressing application. **Materials Science and Engineering**, v. 107, article 110352, Feb 2020.
- KOHATSU, M. Y.; JESUS, T. A.; COELHO, L. H. G.; PEIXOTO, D. C.; POCCIA, G. T.; HUNTER, C. Fitotoxicidade de água superficial da Região Metropolitana de São Paulo utilizando bioensaio com *Sinapis alba*. **Acta Brasiliensis**, v. 2, n. 2, p. 58-62, 2018.
- KOK, J. M. -L.; JEE, J. -M.; CHEW, L. -Y.; WONG, C. -L. The potential of the brown seaweed *Sargassum polycystum* against *Acne vulgaris*. **Journal of Applied Phycology**, v. 28, n. 5, p. 3127-3133, 2016.
- KOPTA, T.; PAVLÍKOVÁ, M.; SEĀKARA, A.; POKLUDA, R.; MARŠÁLEK, B. Effect of bacterial-algal biostimulant on the yield and internal quality of lettuce (*Lactuca sativa* L.) produced for spring and summer crop. **Notulae Botanicae Horti Agrobotanici**, v. 46, n. 2, p. 615-621, 2018. DOI 10.15835/nbha46211110.
- LEE, S. H.; KANG, S. M.; KO, S. C.; LEE, D. H.; JEON, Y. J. Octaphloretol A, a novel phenolic compound isolated from a brown alga, *Ishige foliacea*, increases glucose transporter 4-mediated glucose uptake in skeletal muscle cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v. 420, n. 3, p. 576-581, 2012.
- LIU, X.; YUAN, W.; SHARMA-SHIVAPPA, R.; ZANTEN, J. V. Antioxidant activity of phlorotannins from brown algae. **International Journal of Agricultural and Biological Engineering**, v. 10, n. 6, p. 184-191, 2017.
- MAHMOUD, S. H.; SALAMA, D. M.; EL-TAHANY, A. M. M.; EL-SAMAD, E. H. A. Utilization of seaweed (*Sargassum vulgare*) extract to enhance growth, yield and nutritional quality of red radish plants. **Annals of Agricultural Sciences**, v. 64, p. 167-175, 2019.
- MARINHO, G. S.; SORENSEN, A. D. M.; SAFAFAR, H.; PEDERSEN, A. H.; HOLDT, S. L. Antioxidant content and activity of the seaweed *Saccharina latissima*: a seasonal perspective. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 1343-1354, 2018.
- MARQUES, D. N.; ALMEIDA, A. S.; SOUSA, A. R. O.; PEREIRA, R.; ANDRADE, A. L.; CHAVES, R. P.; CARNEIRO, R. F.; VASCONCELOS, M. A.; NASCIMENTO-NETO, L. G.; PINHEIRO, U.; VIDEIRA, P. A.; TEIXEIRA, E. H.; NAGANO, C. S.; SAMPAIO, A. H. Antibacterial activity of a new lectin isolated from the marine sponge *Chondrilla caribensis*. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 109, p. 1292-1301, 2018.

MARTELLI, F.; CIRLINI, M.; LAZZI, C.; NEVIANI, E.; BERNINI, V. Edible seaweeds and *Spirulina* extracts for food application: *in vitro* and *in situ* evaluation of antimicrobial activity towards foodborne pathogenic bacteria. **Foods**, v. 9, article 1442, 15 p., Oct 2020. DOI 10.3390/foods9101442. Disponível em: <https://www.mdpi.com/2304-8158/9/10/1442>. Acesso em: 09 jul. 2021.

MELEK, F. R.; TADROS, M. M.; YOUSIF, F.; SELIM, M. A.; HASSAN, M. H. Screening of marine extracts for schistosomicidal activity *in vitro*. Isolation of the triterpene glycosides echinosides A and B with potential activity from the sea cucumbers *Actinopyga echinites* and *Holothuria polii*. **Pharmaceutical Biology**, v. 50, n. 4, p. 490-496, 2012.

MIDWESTERN UNIVERSITY. **Clinical Pipeline**. Disponível em: <https://www.midwestern.edu/departments/marinepharmacology/clinical-pipeline>. Acesso em 28 jul. 2021.

MIGUEL, M. G.; NUNES, S.; DANDLEN, S. A.; CAVACO, A. M.; ANTUNES, M. D. Phenols, flavonoids and antioxidant activity of aqueous and methanolic extracts of propolis (*Apis mellifera* L.) from Algarve, South Portugal. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 34, n. 1, p. 16-23, Jan-Mar 2014.

MILLIDGE, J. J.; NIELSEN, B. V.; BAILEY, D. High-value products from macroalgae: the potential uses of the invasive brown seaweed, *Sargassum muticum*. **Reviews in Environmental Science and Biotechnology**, v. 15, p. 67-88, 2016.

MIRANDA, J. B. F.; MATIAS, S. S. R.; BORGES, I. V.; FERREIRA, M. D. S.; SILVA, T. F.; COSTA-JUNIOR, E. S. Mudaz de maracujazeiro amarelo produzidas com bioestimulante a base de algas marinhas. **Revista Verde de Agroecologia e Desenvolvimento Sustentável**, v. 14, n. 2, p. 354-358, 2019.

MUSBAH, H. A.; ABOUELKHAIR, W. S.; YOUSEF, S. A. E.; MOUSTAFA, E. E.; HASAN, A. M. H. Screening of antifungal activities of five algal crude extracts. **Journal of Scientific Research in Science**, v. 36, n. 1, p. 318-338, 2019.

NASCIMENTO-NETO, L. G.; CABRAL, M. G.; CARNEIRO, R. F.; SILVA, Z.; ARRUDA, F. V. S.; NAGANO, C. S.; FERNANDES, A. R.; SAMPAIO, A. H.; TEIXEIRA, E. H.; VIDEIRA, P. A. Halilectin-3, a lectin from the marine sponge *Haliclona caerulea*, induces apoptosis and autophagy in human breast cancer MCF7 cells through caspase-9 pathway and LC3-II protein expression. **Anti-Cancer Agents in Medicinal Chemistry**, v. 18, p. 521-528, 2018.

NAWAIN, A.; RANIA, A. B. A.; HAYFA, J. K.; AHLEM, R.; MEJDA, D. R. *Sargassum vulgare* extracts as an alternative to chemical fungicide for the management of *Fusarium* dry rot in potato. **Journal of Agricultural Science and Food Research**, v. 8, n. 4, extent 1000197, 2017.

NEGRI, M. L. S.; POSSAMAI, J. C.; NAKASHIMA, T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, v. 19, n. 2B, p. 553-556, abr-jun 2009.

NUNES, N., FERRAZ, S., VALENTE, S., BARRETO, M. C., DE CARVALHO, M. A. A. P. Biochemical composition, nutritional value, and antioxidant properties of seven seaweed species from the Madeira Archipelago. **Journal of Applied Phycology**, v. 29, n. 5, p. 2427-2437, 2017.

NURROCHMAD, A.; WIRASTI, W.; DIRMAN, A.; LUKITANINGSIH, E.; RAHMAWATI, A.; FAKHRUDIN, N. Effects of antioxidant, anti-collagenase, anti-elastase, anti-tyrosinase of the extract and fraction from *Turbinaria decurrens* Bory. **Indonesian Journal of Pharmacy**, v. 29, n. 4, p. 188-197, 2018.

OMAR, H.; AL-JUDAIBIAND, A.; EL-GENDY, A. Antimicrobial, antioxidant, anticancer activity and phytochemical analysis of the red alga, *Laurencia papillosa*. **International Journal of Pharmacology**, v. 14, n. 4, p. 572-583, 2018.

PAIVA, L.; LIMA, E.; NETO, A. I.; BAPTISTA, J. Angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory activity, antioxidant properties, phenolic content and amino acid profiles of *Fucus spiralis* L. protein hydrolysate fractions. **Marine Drugs**, v. 15, n. 10, p. 311-329, 2017.

PALANIVEL, R.; AZEEZ, T. B.; MUTHAYA, S. Nutrient content, phytonutrient composition, alpha amylase, alpha glucosidase inhibition activity and antioxidant activity of the *Stoechospermum marginatum* collected in pre monsoon season. **Turkish Journal of Agriculture - Food Science and Technology**, v. 5, n. 3, p. 275-280, 2017.

PEDUTO, T. A. G.; JESUS, T. A.; KOHATSU, M. Y. Sensibilidade de diferentes sementes em ensaio de fitotoxicidade. **Revista Brasileira de Ciência, Tecnologia e Inovação**, v. 4, n. 2, p. 200-212, 2019.

PEIXOTO, M. J.; FERRAZ, R.; MAGNONI, L. J.; PEREIRA, R.; GONÇALVEZ, J. F.; CALDUCH-GINER, J.; PÉREZ-SÁNCHEZ, J.; OZÓRIO, R. O. A. Protective effects of seaweed supplemented diet on antioxidant and immune responses in European seabass (*Dicentrarchus labrax*) subjected to bacterial infection. **Scientific Reports**, v. 9, article 16134, 12 p., 2019. DOI 10.1038/s41598-019-52693-6. Disponível em: <https://www.nature.com/articles/s41598-019-52693-6>. Acesso em: 09 jul. 2021.

PEKAL, A.; PYRZYNSKA, K. Evaluation of aluminium complexation reaction for flavonoid content assay. **Food Analytical Methods**, v. 7, n. 9, p. 1776-1782, Oct 2014.

PIMENTEL, F. B.; CERMEÑO, M.; KLEEKAYAI, T.; HARNEDY, P. A.; FITZGERALD, R. J.; ALVES, R. C.; OLIVEIRA, M. B. P. P. Effect of *in vitro* simulated gastrointestinal digestion on the antioxidant activity of the red seaweed *Porphyra dioica*. **Food Research International**, v. 136, n. 109309, Oct 2020.

PINTEUS, S.; SILVA, J.; ALVES, C.; HORTA, A.; FINO, N.; RODRIGUES, A. I.; MENDES, S.; PEDROSA, R. Cytoprotective effect of seaweeds with high antioxidant activity from the Peniche coast (Portugal). **Food Chemistry**, v. 218, p. 591-599, 2017.

PIRES, J.; TORRES, P. B.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F. Ensaio em microplaca do potencial antioxidante através do método de sequestro do radical livre DPPH para extratos de algas. **Instituto de Biociência. Universidade de São Paulo**, 6 p., Jan 2017. DOI 10.13140/RG.2.2.27450.08640. ISBN 978-85-85658-71-7. Disponível em: https://www.researchgate.net/publication/324452827_Ensaio_em_microplaca_do_potencial_antioxidante_atraves_do_metodo_de_sequestro_do_radical_livre_DPPH_para_extratos_de_algas. Acesso em: 09 jul. 2021.

PLOUGUERNE, E.; DE SOUZA, L. M.; SASSAKI, G. L.; CAVALCANTI, J. F.; VILLELA ROMANOS, M. T.; DA GAMA, B. A.; PEREIRA, R. C.; BARRETO-BERGTER, E. Antiviral sulfoquinovosyldiacylglycerols (SQDGs) from the Brazilian brown seaweed *Sargassum vulgare*. **Marine Drugs**, v. 11, n. 11, p. 4628-4640, 2013.

RAJA, R.; HEMAISWARYA, S.; ARUNKUMAR, K.; CARVALHO, I. S. Antioxidant activity and lipid profile of three seaweeds of Faro, Portugal. **Brazilian Journal of Botany**, v. 39, p. 9-17, 2015.

RAJAURIA, G.; FOLEY, B.; ABU-GHANNAM, M.; Identification and characterization of phenolic antioxidant compounds from brown Irish seaweed *Himanthalia elongata* using LC-DAD-ESI-MS/M. **Innovative Food Science and Emerging Technologie**, v. 37, part. B, p. 261-268, 2016.

RAJAURIA, G.; RAVINDRAN, R.; GARCIA-VAQUERO, M.; RAI, D. K.; SWEENEY, T.; O'DOHERTY, J. Molecular characteristics and antioxidant activity of laminarin extracted from the seaweed species *Laminaria hyperborea*, using hydrothermal-assisted extraction and a multi-step purification procedure. **Food Hydrocolloids**, v. 112, article 106332, 10 p., 2021.

RESTREPO, R.; REYES, D.; ORTIZ, M. C.; RUIZ, F. A. R.; KOUZNETSOV, V. V. Aberraciones cromosomales en bulbos de cebolla *Allium cepa* inducidas por moléculas híbridas 4-aminoquinolínicas. **Universitas Scientiarum**, v. 17, n. 3, p. 253-261, 2012. ISSN 0122-7483.

RIBEIRO, R. F.; LOBO, J. T.; CAVALCANTE, I. H. L.; TENREIRO, I. G. P.; LIMA, D. D. Bioestimulante na produção de mudas de videira cv. *Crimson seedless*. **Revista Scientia Agraria**, v. 18, n. 4, p. 36-42, 2017.

RONGA, D.; BIAZZI, E.; PARATI, K.; CARMINATI, D.; CARMINATI, E.; TAVA, A. Microalgal biostimulants and biofertilisers in crop productions. **Agronomy**, v. 9, n. 4, article 192, 22 p, Apr 2019. DOI 10.3390/agronomy9040192.

ROVER, T. **Caracterização estrutural e ultraestrutural do processo de embriogênese de *Sargassum cymosum* C. Agardh (Phaeophyceae, Fucales) como modelo de estudo de germinação de algas pardas tropicais, e sua alteração pela radiação ultravioleta**. 2014. Tese (Doutorado em Ciências) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2014. Disponível em: <https://repositorio.ufsc.br/xmlui/bitstream/handle/123456789/129642/329421.pdf?sequence=1&isAllowed=y>. Acesso em: 09 jul. 2021.

- RUIZ-RIPA, L.; FEßLER, A. T.; HANKE, D.; EICHHORN, I.; AZCONA-GUTIÉRREZ, J. M.; ALONSO, C. A.; PÉREZ-MORENO, M. O.; ASPIROZ, C.; BELLÉS, A.; SCHWARZ, S.; TORRES, C. Mechanisms of linezolid resistance among clinical *Staphylococcus* spp. in Spain: Spread of methicillin- and linezolid-resistant *S. epidermidis* ST2. **Microbial Drug Resistance**, v. 27, n. 2, 2021. Disponível em: <https://www.liebertpub.com/doi/abs/10.1089/mdr.2020.0122>. Acesso em: 12 jul. 2021.
- SÁEZ, M. I.; SUÁREZ, M. D.; ALARCÓN, F. J.; MARTÍNEZ, T. F. Assessing the potential of algae extracts for extending the shelf life of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*) fillets. **Foods**, v. 10, article 910, 13 p., 2021. DOI 10.3390/foods10050910. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/foods10050910>. Acesso em: 09 jul. 2021.
- SANGER, G.; RARUNG, L. K.; KASSEGER, B. E.; ASSA, J. R.; AGUSTIN, A. T.; Phenolic content and antioxidant activities of five seaweeds from North Sulawesi, Indonesia. **Aquaculture, Aquarium, Conservation & Legislation**, v. 12, n. 6, p. 2041-2050, 2019.
- SANTOS, J. P.; TORRES, P. B.; SANTOS, D. Y. A. C.; MOTTA, L. B.; CHOW, F. Seasonal effects on antioxidant and anti-HIV activities of Brazilian seaweeds. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 1333-1341, 2019.
- SATHYA, R.; KANAGA, N.; SANKAR, P.; JEEVA, S. Antioxidant properties of phlorotannins from brown seaweed *Cystoseira trinodis* (Forsskal) C. Agardh. **Arabian Journal of Chemistry**, v.10, n. 2, p. S2608-S2614, 2017.
- SAVAGHEBI, D.; GHADERI-GHAHFAROKHI, M.; BARZEGAR, M. Encapsulation of *Sargassum boveanum* algae extract in nano-liposomes: application in functional mayonnaise production. **Food and Bioprocess Technology**, v. 14, p. 1311-1325, 2021. DOI 10.1007/s11947-021-02638-7.
- SELLIMI, S.; MAALEJ, H.; REKIK, D. M.; BENSLIMA, A.; KSOUDA, G.; HAMDY, M.; SAHNOUN, Z.; LI, S.; NASRI, M.; HAJJI, M. Antioxidant, antibacterial and *in vivo* wound healing properties of laminaran purified from *Cystoseira barbata* seaweed. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 119, p. 633-644, 2018.
- SHAIJI, F.; ZHONG, Y. Measurement of antioxidant activity. **Journal of Functional Foods**, v. 18, part B, p. 757-781, Oct 2015.
- SHIH, H. J.; TSENG, Y. J.; HUANG, C. Y.; WEN, Z. H.; DAI, C. F.; SHEU, J. H. Cytotoxic and anti-inflammatory diterpenoids from the Dongsha Atoll soft coral *Sinularia flexibilis*. **Tetrahedron**, v. 68, n. 1, p. 244-249, 2013.
- SHUKLA, P. S.; MANTIN, E. G.; ADIL, M.; BAJPAI, S.; CRITCHLEY, A. T.; PRITHIVIRAJ, B. *Ascophyllum nodosum*-based biostimulants: sustainable applications in agriculture for the stimulation of plant growth, stress tolerance, and disease management. **Plant Science**, v. 10, 22 p., 2019. Disponível em: <https://www.frontiersin.org/articles/10.3389/fpls.2019.00655/full>. Acesso: 09 jul. 2021.

SILVA, A.; SILVA, S. A.; LOURENÇO-LOPES, C.; JIMENEZ-LOPEZ, C.; CARPENA, M.; GULLÓN, P.; FRAGA-CORRAL, M.; DOMINGUES, V. F.; BAROSSO, M. F.; SIMAL-GANDARA, J.; PRIETO, M. A. Antibacterial use of macroalgae compounds against foodborne pathogens. **Antibiotics**, v. 9, article 712, 41 p., 2020. DOI 10.3390/antibiotics9100712.

SILVA, C. C.; ARRAIS, Í. G.; ALMEIDA, J. P. N.; DANTAS, L. L. G. R.; FRANCISCO, S. O.; MENDONÇA, V. Extrato da alga *Ascophyllum nodosum* (L.) Le Jolis na produção de porta-enxertos de *Annona glabra* L. **Revista de Ciências Agrárias**, v. 39, n. 2, p. 234-241, 2016.

SILVA, F. M. **Verificação da eficiência dos bioensaios com extratos aquosos no diagnóstico de potencial alelopático: contribuição ao estudo de espécies nativas brasileiras**. 2004. 69 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 2004.

SILVA, G. C. **Extratos bioativos de algas marinhas da costa do Ceará: determinação de atividade contra o vírus da dengue e bactérias patogênicas resistentes a múltiplos antimicrobianos**. 2017. 91 f. Tese (Doutorado em Ciências Marinhas Tropicais) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017. Disponível em: http://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/28425/1/2017_tese_gcsilva.pdf. Acesso em: 09 jul. 2021.

SILVA, G. C.; SOARES, R. C.; CARVALHO, F. C. T.; ROCHA, R. S.; VIEIRA, R. H. S. F.; SOUSA, O. V. Antibacterial and cytotoxicity activity in macroalgae extracts: perspectives for the use against pathogenic bacteria from shrimp farms (*Litopenaeus vannamei*). **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v. 40, e40053, 2018.

SILVA, J.; ALVES, C.; FREITAS, R.; MARTINS, A.; PINTEUS, S.; RIBEIRO, J.; GASPAR, H.; ALFONSO, A.; PEDROSA, R. Antioxidant and neuroprotective potential of the brown seaweed *Bifurcaria bifurcata* in and in vitro Parkinson's disease model. **Marine Drugs**, v. 17, n. 2, p. 85-101, 2019.

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

SOUSA, K. C. **Atividades antioxidante, antimicrobiana, antibiofilme e citotóxica de extratos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux)**. 2017. 101 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) – Centro de Ciências Agrárias, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

SUJATHA, R.; SIVA, D.; NAWAS, P. M. A. Screening of phytochemical profile and antibacterial activity of various solvent extracts of marine algae *Sargassum swartzii*. **World Scientific News**, v. 115, p. 27-40, 2019.

TORRES, P. B. **Caracterização química e atividades biológicas de algumas espécies nativas de *Gracilaria* de importância econômica.** 2017. Tese (Doutorado em Ciências) – Instituto de Biociências da Universidade de São Paulo, São Paulo, 2017. Disponível em: https://teses.usp.br/teses/disponiveis/41/41132/tde-23052017-142455/publico/Priscila_Torres_CORRIG.pdf. Acesso em: 09 jul. 2021. Mudei o link

VASCONCELOS, J. B.; VASCONCELOS, E. R. T. P. P.; BEZERRA, P. S.; CONCENTINO, A. L. M.; NAVARRO, D. M. A. F.; CHOW, F.; FUJII, M. T. Screening for antioxidant capacity of tropical reef seaweeds: prospection for new natural antioxidants. **Tropical Oceanography**, v. 45, n. 2, p. 16-30, 2017.

VASCONCELOS, J. B.; VASCONCELOS, E. R. T. P. P.; URREA-VICTORIA, V.; BEZERRA, P. S.; REIS, T. N. V.; CONCENTINO, A. L. M.; NAVARRO, D. M. A. F.; CHOW, F.; ARECES, A. J.; FUJII, M. T. Antioxidant activity of three seaweeds from tropical reefs of Brazil: potential sources for bioprospecting. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 835-846, 2019.

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

WIJNANA, A.; ADHIKA, P.; KASANAHA, N.; TRIYANTO. Bioactivity of red seaweed *Gracilaria arcuata* against *Aeromonas hydrophila* and *Vibrio* sp. **The Natural Products Journal**, v. 8, n. 2, p. 147-152, 2018.

WON, T. H.; JEON, J. E.; LEE, S. H.; RHO, B. J.; OH, K. B.; SHIN, J. Beta-carboline alkaloids derived from the ascidian *Synoicum* sp. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, v. 20, n. 13, p. 4082-4087, 2012.

YANG, F.; HAMANN, M. T.; ZOU, Y.; ZHANG, M. Y.; GONG, X. B.; XIAO, J. R.; CHEN, W. S.; LIN, H. W. Antimicrobial metabolites from the Paracel Islands sponge *Agelas mauritiana*. **Journal of Natural Products**, v. 75, n. 4, p. 774-778, 2012.