



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

KAROLINA COSTA DE SOUSA

**CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA PRELIMINAR E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE
EXTRATOS E FRAÇÕES DA MACROALGA MARINHA PARDA *Lobophora
variegata* (J. V. LAMOUREUX) WOMERSLEY EX E. C. OLIVEIRA
(OCHROPHYTA: PHAEOPHYCEAE)**

FORTALEZA

2023

KAROLINA COSTA DE SOUSA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA PRELIMINAR E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE
EXTRATOS E FRAÇÕES DA MACROALGA MARINHA PARDA *Lobophora variegata*
(J. V. LAMOUREUX) WOMERSLEY EX E. C. OLIVEIRA (OCHROPHYTA:
PHAEOPHYCEAE)

Tese de Doutorado submetida à
Coordenação do Programa de Pós-
Graduação em Engenharia de Pesca, da
Universidade Federal do Ceará, como
requisito parcial para a obtenção do grau de
Doutor em Engenharia de Pesca. Área de
concentração: Recursos Pesqueiros e
Engenharia de Pesca.

Orientadora: Prof^a Dr^a Silvana Saker
Sampaio

FORTALEZA

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação
Universidade Federal do Ceará
Sistema de Bibliotecas
Gerada automaticamente pelo módulo Catalog, mediante os dados fornecidos pelo(a) autor(a)

- S697c Sousa, Karolina Costa de.
Caracterização química preliminar e atividades biológicas de extratos e frações da macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux) Womersley ex E. C. Oliveira (Ochrophyta: Phaeophyceae) / Karolina Costa de Sousa. – 2023.
169 f. : il. color.
- Tese (doutorado) – Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências Agrárias, Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, Fortaleza, 2023.
Orientação: Prof. Dr. Silvana Saker-Sampaio.
1. Perfil cromatográfico. 2. Antioxidantes. 3. Antimicrobianos. 4. Filmes comestíveis. I. Título.
CDD 639.2
-

KAROLINA COSTA DE SOUSA

CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA PRELIMINAR E ATIVIDADES BIOLÓGICAS DE
EXTRATOS E FRAÇÕES DA MACROALGA MARINHA PARDA *Lobophora variegata*
(J. V. LAMOUREUX) WOMERSLEY EX E. C. OLIVEIRA (OCHROPHYTA:
PHAEOPHYCEAE)

Tese de Doutorado submetida à Coordenação
do Programa de Pós-Graduação em
Engenharia de Pesca, da Universidade
Federal do Ceará, como requisito parcial para
a obtenção do grau de Doutor em Engenharia
de Pesca. Área de concentração: Recursos
Pesqueiros e Engenharia de Pesca

Aprovada em 27 / 07 / 2023

BANCA EXAMINADORA

Prof^ª Dr^ª Silvana Saker Sampaio (Orientadora)
Universidade Federal do Ceará (UFC)

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

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

Dr^ª Fátima Cristiane Teles de Carvalho
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Dr^ª Cláudia Brandão Vieira
Universidade Federal do Ceará (UFC)

Aos meus pais, *Fernando José Silva de Sousa* e *Maria do Carmo Costa de Sousa*, e ao meu namorado e melhor amigo, *Marco Diego Aurélio Mesquita*.

AGRADECIMENTOS

Agradeço inicialmente a Deus, por ter me permitido chegar até este momento. Foram anos de dedicação e renúncias. Após uma pandemia que matou milhares de pessoas, eu tive que reiniciar a minha pesquisa, me adaptar a nova realidade e resignificar tudo o que vivemos. Estar finalizando mais uma etapa da minha jornada acadêmica, e ao lado das pessoas que amo, é uma verdadeira dádiva.

Aos meus pais, Fernando José Silva de Sousa e Maria do Carmo Costa de Sousa, que sempre estiveram ao meu lado em cada momento da minha vida, me apoiando e financiando os meus estudos. Nunca faltaram palavras encorajadoras, vibrando comigo em cada etapa alcançada. As minhas irmãs, Fernanda Luzy Costa de Sousa e Kamila Costa de Sousa, por todo incentivo. As minhas tias/madrinhas Catarina Aparecida Costa e Rosa Amélia Costa, e aos meus “primãos”, Francisco Rodrigo Costa da Rocha, Ana Patrícia Costa de Sousa, Larissa Costa de Sousa, por todo o carinho. A toda minha família que sempre me incentivou.

Ao meu namorado, Marco Diego Aurélio Mesquita, que está comigo nessa caminhada desde a graduação. Obrigada pelas aulas de cálculo, pela companhia nos congressos, por desenvolver e automatizar aparatos e *softwares* para facilitar o meu trabalho. Obrigada por me direcionar, me apoiar, me financiar e me aplaudir em cada pequena conquista. Esse título é nosso!

A minha orientadora, Prof^a Dr^a Silvana Saker Sampaio, a quem serei eternamente grata por tudo que me ensinou. A senhora é mais que uma orientadora. É uma mãe e uma amiga. Muito obrigada por me acolher em seu laboratório e dedicar muito do seu tempo e atenção a minha pessoa. Obrigada pelos vários momentos de carinho compartilhado, pelos lanches e conversas! Obrigada por sempre me ouvir, apoiar e incentivar. A senhora ficará guardada para sempre em meu coração.

Aos Professores Alexandre Holanda Sampaio, Fátima Cristiane Teles de Carvalho, Cláudia Brandão Vieira e Márcia Barbosa de Sousa, por aceitarem participar da banca examinadora. Obrigada pelas sugestões valiosas para engrandecer o meu trabalho!

Ao Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP) e ao Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE) nas pessoas de seus coordenadores Prof^a Dr^a Oscarina Viana de Sousa e Prof. Dr. Bartolomeu Warlene Silva de Souza, respectivamente, onde encontrei ajuda para a realização das análises e apoio irrestivo.

Aos Professores Bartolomeu Warlene Silva de Souza, Francisca Gleire Rodrigues de Menezes, Raimundo Nonato de Lima Conceição, Reynaldo Amorim Marinho e Oscarina

Viana de Sousa, por todo o carinho, amizade e incentivo; e a todos os professores do Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca.

Às Professoras Dávila de Souza Zampieri e Renata Mendonça Araújo, por me ajudarem com as análises de espectroscopia de ressonância magnética nuclear.

Aos servidores da Secretaria do Departamento de Engenharia de Pesca, Marcus Vinícius Nunes Guimarães, Matheus Victor Maciel Marques e Zacarias Bezerra Marreiro, muito obrigada por sempre me atenderem com carinho.

À Universidade Federal do Ceará, que com seu Programa de Pós-Graduação em Engenharia de Pesca, me deu a oportunidade de cursar Doutorado no Brasil.

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

Aos meus amigos Alexandra Sampaio de Almeida, Ana Vlândia da Silva Oliveira, Bárbara Mendes Baracho, Beatriz Emilly Alves Rebouças, Davi Araújo Cerqueira, Dayara Normando Marques, Francisco Regivânio Nascimento Andrade, Haysa Sales Rodrigues, Jaqueline de Melo Lima, João Eudes Farias Cavalcante Filho, Luana da Anunciação Silva, Raquel Cavalcante Soares e Thalyanne Mendes Paula, por me incentivarem e dividirem comigo essa caminhada acadêmica.

Aos meus amigos Adriana da Silva Rabelo, Cláudia Brandão Vieira, Cláudia Cinthia Santos de Oliveira, Daniel Cardoso Mesquita, Felipe Sampaio Forte Nóbrega, Iuri Saraiva Martins, Ivanildo José Gomes Ferreira, Maria das Graças Matias, Marta da Silva Sousa e Thâmis Thiago Ribeiro por todo o carinho e incentivo.

A todos que fazem parte do Projeto Animais Universitários (UFC) e que estiveram comigo na caminhada da causa animal. Não é fácil, mas vocês deixaram muitos momentos dolorosos, mais leves.

Por fim, e na certeza de ter esquecido de mencionar nominalmente muitas pessoas importantes, quero agradecer a todos que cruzaram o meu caminho, seja como professores, alunos, servidores e terceirizados, nesses quase treze anos de UFC. Muito obrigada!

Sonhar o sonho impossível,
Sofrer a angústia implacável,
Pisar onde os bravos não ousam,
Reparar o mal irreparável,
Amar um amor casto à distância,
Enfrentar o inimigo invencível,
Tentar quando as forças se esvaem,
Alcançar a estrela inatingível:
Essa é a minha busca.
(Dom Quixote)

RESUMO

As macroalgas marinhas pardas são importantes fontes de compostos bioativos com inúmeras atividades biológicas. O objetivo geral deste trabalho foi caracterizar preliminarmente as principais classes de compostos presentes na macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (Ochrophyta: Phaeophyceae), coletada na Praia de Paracuru-Ceará, avaliar seu potencial biotecnológico e selecionar as amostras aptas a serem incorporadas em matrizes de carragenana para elaboração de filmes comestíveis. A metodologia utilizada incluiu lavagem, liofilização e trituração da biomassa algal, que foi extraída em etanol (EtOH), hexano (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanol (MeOH). O maior rendimento (11,95%) foi no extrato EtOH. O extrato EtOH foi submetido a cromatografia de coluna (CC), obtendo-se as frações (Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH, MeOH-*n*-butanol, *n*-butanol e água). Os perfis cromatográficos dos extratos e frações indicaram a presença de fenóis com vários compostos com $R_f = 0,50$ mm e características polares. A quantificação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT) e flavonoides (TF) foi máxima nos extratos EtOH (76,013 mg EAG/g) e AcOEt (105,310 mg EQ/g). A determinação de atividade antioxidante *in vitro*: 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) foi realizada por métodos colorimétricos. Extrato e fração EtOH apresentaram as melhores atividades antioxidantes (DPPH, FRAP e BCB). Além disso, também foi determinada a atividade antibiótica pelo método da microdiluição em placas, em diferentes concentrações, pela concentração inibitória mínima (CIM), concentração bactericida mínima (CBM) e concentração inibitória mínima para matar 50% (IC₅₀) das cepas de *Escherichia coli* e *Staphylococcus aureus*. Compostos apolares do extrato (7,81 μ g/mL) e fração (125 μ g/mL) Hx mostraram potencial contra cepas de *E. coli*. Extratos e frações (Hx e EtOH) não exibiram atividade contra o fungo *Aspergillus niger* em diferentes concentrações. Essas amostras testadas na concentração de 100 μ g/mL não apresentaram atividade fitotóxica frente a sementes de pepino *Cucumis sativus*. As determinações de porcentagem relativa de germinação (RSG, %), porcentagem relativa de crescimento radicular (RRG, %) e índice de germinação (IG, %) indicaram que as amostras foram potencializadoras da germinação e do crescimento das raízes do pepino. A atividade citotóxica dos extratos e das frações Hx e EtOH, contra náuplios de *Artemia* sp., nas concentrações de 12,5 a 100 μ g/mL, revelou citotoxicidade do extrato Hx após 48 h de exposição, com mortalidade de 72,5% dos indivíduos. A qualidade dos filmes, incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração Hx, foi avaliada quanto à permeabilidade ao vapor de

água (PVA), solubilidade em água (S) e cor. O menor PVA (0,203 g/m² dia atm) foi registrado na Fr. Hx. O extrato e a fração Hx foram solúveis em água. Para as coordenadas de cor (L*, a* e b*), extrato e fração Hx apresentaram cor na faixa do branco/vermelho/amarelo. Assim, extratos e frações da ocrófita *L. variegata* e os compostos neles presentes possuem compostos dotados das atividades biológicas aqui registradas.

Palavras-chave: perfil cromatográfico; antioxidantes; antimicrobianos; filmes comestíveis.

ABSTRACT

Brown marine macroalgae are important sources of bioactive compounds with numerous biological activities. The general objective of this work was to preliminarily characterize the main classes of compounds present in the brown seaweed *Lobophora variegata* (Ochrophyta: Phaeophyceae), collected at Praia de Paracuru-Ceará, evaluate its biotechnological potential and select samples capable of being incorporated into carrageenan matrices for the preparation of edible films. The methodology used included washing, lyophilization and grinding of algal biomass, which was extracted in ethanol (EtOH), hexane (Hx), dichloromethane (DCM), ethyl acetate (AcOEt) and methanol (MeOH). The highest yield (11.95%) was in the EtOH extract. The EtOH extract was subjected to column chromatography (CC), obtaining the fractions (Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH, MeOH-n-butanol, n-butanol and water). The chromatographic profiles of the extracts and fractions indicated the presence of phenols with several compounds with $R_f = 0.50$ mm and polar characteristics. The quantification of total phenolic compounds (TPC) and flavonoids (TF) contents was highest in EtOH (76.013 mg EAG/g) and EtOAc (105.310 mg EQ/g) extracts. The determination of *in vitro* antioxidant activity: DPPH radical scavenging capacity, ferrous ion chelation power (FIC), ferric ion reducing power (FRAP) and β -carotene bleaching inhibitory activity (BCB) was performed by colorimetric methods. EtOH extract and fraction showed the best antioxidant activities (DPPH, FRAP and BCB). In addition, the antibiotic activity was also determined by the microdilution method in plates, at different concentrations, by the minimum inhibitory concentration (MIC), minimum bactericidal concentration (MBC) and minimum inhibitory concentration to kill 50% (IC_{50}) of the *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus* strains. Non-polar compounds from the Hx extract (7.81 $\mu\text{g/mL}$) and fraction (125 $\mu\text{g/mL}$) showed potential against *E. coli* strains. Hx and EtOH extracts and fractions showed no activity against *Aspergillus niger* at different concentrations. These samples tested at a concentration of 100 $\mu\text{g/mL}$ did not show phytotoxic activity against *Cucumis sativus* cucumber seeds. The determinations of relative percentage of germination (RSG, %), relative percentage of root growth (RRG, %) and germination index (GI, %) indicated that the samples were potentiators of germination and growth of cucumber roots. The cytotoxic activity of the Hx and EtOH extracts and fractions, against *Artemia* sp. nauplii, at concentrations from 12.5 to 100 $\mu\text{g/mL}$, revealed cytotoxicity of the Hx extract after 48 h of exposure, with a mortality of 72.5% of individuals. The quality of the films, incorporated with 1, 2 and 4 mg of the Hx extract and fraction, was evaluated in terms of water vapor permeability (WVP), water solubility (S) and color. The smallest WVP (0.203 g/m^2 day atm) was registered

in the Hx fraction. The Hx extract and fraction were soluble in water. For color coordinates (L*, a* and b*), the Hx extract and fraction showed color in the white/red/yellow range. Thus, extracts and fractions of the ochrophyte *L. variegata* and the compounds present in them have compounds endowed with the biological activities registered here.

Keywords: chromatographic profile; antioxidants; antimicrobials; edible films.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 - Fluxogramas das classes de compostos encontrados nas macroalgas marinhas pardas..... 34
- Figura 2 - Macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux) Womersley ex E. C. Oliveira, coletada na na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020..... 50
- Figura 3 - Tratamento e rendimento do extrato etanólico (EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, para obtenção de frações após cromatografia em coluna em gel de sílica com solventes de diferentes polaridades..... 53
- Figura 4 - Perfis cromatográficos e respectivos valores do fator de retenção (Rf) dos extratos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: hexano: acetato de etila (Hx:AcEOt – 50:50). Identificação dos extratos: EH (extrato hexânico), ED (extrato diclorometano), EA (extrato acetato de etila), EE (extrato etanólico) e EM (extrato metanólico). Identificação do padrão: Q (quercetina). Identificação dos reveladores: ácido sulfúrico (A), vapor de iodo (B) e permanganato de potássio (C)..... 75
- Figura 5 - Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) dos extratos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂ – 3:3:1:1). Identificação dos extratos: EH (extrato hexânico), ED (extrato diclorometano), EA (extrato acetato de etila), EE (extrato etanólico) e EM (extrato metanólico). Identificação do padrão: Q (quercetina). Identificação dos reveladores: ácido sulfúrico (A), reagente de Dragendorff (B), vapor de iodo (C) e vanilina (D)..... 77

- Figura 6 - Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) dos padrões ácido ascórbico (AA), ácido gálico (AG) e quercetina (Q) e do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: hexano:acetato de etila (Hex:AcOEt– 50:50). Identificação do extrato: EE (extrato etanólico). Identificação dos reveladores: ácido sulfúrico (A), cloreto férrico 3% (B), cloreto férrico 3%, UV 325 nm (C) e vanilina (D)..... 78
- Figura 7 - Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) dos padrões ácido ascórbico (AA), ácido gálico (AG) e quercetina (Q) e do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂ – 3:3:1:1). Identificação do extrato: EE (extrato etanólico). Sistema eluente, UV 325 nm (A). Identificação dos reveladores: hidróxido de potássio a 10% (B), vapor de iodo (C) e vanilina (D)..... 79
- Figura 8 - Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) do padrão quercetina (Q) e das frações oriundas da cromatografia de coluna (CC) do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: hexano:acetato de etila (Hx:AcOEt – 50:50). Identificação das frações: hexânica (H), diclorometano (D), acetato de etila (Ac), etanólica (E), metanólica (M), metanol:*n*-butanol (MB), *n*-butanol (B) e aquosa (A) Identificação dos reveladores: *p*-anisaldeído (A) e ácido fosfomolibdico (B)..... 80
- Figura 9 - Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) do padrão quercetina (Q) e das frações oriundas da cromatografia de coluna (CC) do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: hexano:acetato de etila (Hx:AcOEt – 50:50). Identificação das frações: hexânica (H), diclorometano (D), acetato de etila (Ac), etanólica (E), metanólica (M), metanol:*n*-butanol

	(MB), <i>n</i> -butanol (B) e aquosa (A) Identificação dos reveladores: ácido fosfomolibidco (A), <i>p</i> -anisaldeído (B), cloreto férrico a 3% (C) e vanilina (D).....	81
Figura 10 -	Atividade antifúngica contra o fungo filamentoso <i>Aspergillus niger</i> , dos extratos e frações hexânicos (Hx) e etanólicos (EtOH) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e do controle, ágar dextrose batata (ADB). (A) Extratos Hx e EtOH; (B) Frações Hx e EtOH.....	126
Figura 11 -	Atividade fitotóxica da (A) solução salina, (B) solução salina e clorofórmio, (C) água destilada, (D) água destilada e clorofórmio, (E) extrato hexânico (Hx), (F) extrato etanólico (EtOH), (G) fração hexânica (Fr. Hx), (H) fração etanólica (Fr. EtOH) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, contra sementes de pepino aodai melhorado (<i>Cucumis sativus</i>), após sete dias de incubação.....	130
Figura 12 -	Filmes elaborados com carragenana e incorporados com 4 mg do extrato hexânico (A) e fração hexânica (B), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	141

LISTA DE GRÁFICOS

- Gráfico 1 - Rendimentos dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020..... 70
- Gráfico 2 - Rendimentos das frações do extrato etanólico (EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020..... 71
- Gráfico 3 - Curva padrão de ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 150 µg/mL, usada para quantificar os teores de compostos fenólicos totais (CFT), nos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], obtidos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.. 84
- Gráfico 4 - Curva padrão de quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 10 a 100 µg/mL, usada para quantificar os teores de flavonoides (TF), controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH₁), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], obtidos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020..... 89

Gráfico 5 -	Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, dos controles positivos ([ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].....	95
Gráfico 6 -	Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	97
Gráfico 7 -	Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH) e metanólica (MeOH)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	98
Gráfico 8 -	Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, dos controles positivos [butil hidroxianisol (BHA), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].....	101
Gráfico 9 -	Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	103
Gráfico 10 -	Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, das frações do extrato etanólico [diclorometano (DCM), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica- <i>n</i> -butanólica (MeOH- <i>n</i> -ButOH), <i>n</i> -butanólica (<i>n</i> -ButOH) e aquosa (H ₂ O)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	105
Gráfico 11 -	Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorbância monitorada em 700 nm, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].....	108

Gráfico 12 -	Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em absorbância monitorada em 700 nm, dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	110
Gráfico 13 -	Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em absorbância monitorada em 700 nm, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica- <i>n</i> -butanólica (MeOH- <i>n</i> -ButOH), <i>n</i> -butanólica (<i>n</i> -ButOH) e aquosa (H ₂ O)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	112
Gráfico 14-	Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].....	116
Gráfico 15 -	Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH ₁) e metanólico (MeOH)] da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	118
Gráfico 16 -	Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH ₁), metanólica (MeOH), metanólica- <i>n</i> -butanólica (MeOH- <i>n</i> -ButOH), <i>n</i> -butanólica (<i>n</i> -ButOH) e aquosa (H ₂ O)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.	120
Gráfico 17 -	Letalidade de náuplios de <i>Artemia</i> sp. frente aos extratos hexânico (Hx) e etanólico (EtOH), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 μ g/mL, após exposição por 24 e 48 h.....	133

Gráfico 18 - Letalidade de náuplios de <i>Artemia</i> sp. frente às frações hexânica (Fr. Hx) e etanólica (Fr. EtOH) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.....	135
Gráfico 19 - Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de carragenana com incorporação de 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânicos (Hx), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	138

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 -	Informações sobre a obtenção dos extratos etanólico (EtOH), hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	51
Quadro 2 -	Informações sobre as condições utilizadas para a cromatografia em coluna (CC) do extrato etanólico (EtOH), obtido da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	53
Quadro 3 -	Informações sobre os reveladores utilizados nas cromatografias em camada delgada (CCD) dos extratos e das frações obtidos da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	55
Quadro 4 -	Classificação qualitativa da fitotoxicidade, com base no índice de germinação (IG, %), dos extratos hexânico (Hx) e etanólico (EtOH) e das frações hexânica (Fr. Hx) e etanólica (Fr. EtOH) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	65

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Rendimentos dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	70
Tabela 2 - Rendimentos das frações do extrato etanólico (EtOH), da macroalga <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	71
Tabela 3 - Valores de absorvância, monitorada em 765 nm (média \pm desvio padrão), de acordo com as concentrações da solução de ácido gálico (G7384, Sigma), variando de 25 a 200 μ g/mL.....	83
Tabela 4 - Teores dos compostos fenólicos totais (CFT), expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama, nos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica- <i>n</i> -butanólica (MeOH- <i>n</i> -ButOH), <i>n</i> -butanólica (<i>n</i> -ButOH) e aquosa (H ₂ O)], obtidos da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	85
Tabela 5 - Valores de absorvância, monitorada em 425 nm (média \pm desvio padrão), de acordo com as concentrações da solução de quercetina (33795-1, Aldrich), variando de 10 a 200 μ g/mL.....	88
Tabela 6 - Teores de flavonoides (TF), expressos em mg de equivalentes de quercetina (EQ) por grama, nos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato	

	etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica- <i>n</i> -butanólica (MeOH- <i>n</i> -ButOH), <i>n</i> -butanólica (<i>n</i> -ButOH) e aquosa (H ₂ O)], obtidos da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020...	90
Tabela 7 -	Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC ₅₀).....	94
Tabela 8 -	Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC ₅₀).....	96
Tabela 9 -	Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH ₁) e metanólica (MeOH)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC ₅₀).....	98
Tabela 10 -	Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, dos controles positivos [butil hidroxianisol (BHA), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC ₅₀).....	100
Tabela 11 -	Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC ₅₀).....	102

Tabela 12 -	Poder de quelação de íons ferrosos, expresso em porcentagem, das frações do extrato etanólico [diclorometano (DCM), etanólica (EtOH ₁), metanólica (MeOH), metanólica- <i>n</i> -butanólica (MeOH- <i>n</i> -ButOH), <i>n</i> -butanólica (<i>n</i> -ButOH) e aquosa (H ₂ O)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC ₅₀).....	104
Tabela 13 -	Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].....	107
Tabela 14 -	Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH ₁) e metanólico (MeOH)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	109
Tabela 15 -	Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em absorvância monitorada em 700 nm, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica- <i>n</i> -butanólica (MeOH- <i>n</i> -ButOH), <i>n</i> -butanólica (<i>n</i> -ButOH) e aquosa (H ₂ O)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	111
Tabela 16 -	Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].....	115
Tabela 17 -	Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH ₁) e metanólico (MeOH)] da macroalga marinha parda <i>Lobophora</i>	

	<i>variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.....	117
Tabela 18 -	Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica- <i>n</i> -butanólica (MeOH- <i>n</i> -ButOH), <i>n</i> -butanólica (<i>n</i> -ButOH) e aquosa (H ₂ O)], da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020...	119
Tabela 19 -	Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), expressas em $\mu\text{g/mL}$, dos extratos e das frações hexânicos (Hx) e etanólicos (EtOH) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, contra cepas padrão de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) e <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	122
Tabela 20 -	Concentração média necessária para impedir o crescimento de 50% da população (IC ₅₀), expressa em $\mu\text{g/mL}$, dos extratos hexânico (Hx) e etanólico (EtOH) e das frações hexânica (Fr. Hx) e etanólica (Fr. EtOH), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, contra cepas padrão de <i>Escherichia coli</i> (ATCC 25922) e <i>Staphylococcus aureus</i> (ATCC 25923).....	124
Tabela 21 -	Crescimento (cm) do fungo filamentosso <i>Aspergillus niger</i> , submetido a ação antifúngica dos extratos e das frações hexânicos (Hx) e etanólicos (EtOH), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e do controle ágar dextrose batata (ADB).....	126
Tabela 22 -	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 dos extratos e das frações hexânicos (Hx) e etanólicos (EtOH), obtidas a partir da macroalga marinha parda, <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, e dos	

	controles negativo e positivo, contra sementes de pepino aodai melhorado (<i>Cucumis sativus</i>), após sete dias de incubação.....	129
Tabela 23 -	Letalidade de náuplios de <i>Artemia</i> sp. frente ao extrato hexânico (Hx) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.....	132
Tabela 24 -	Letalidade de náuplios de <i>Artemia</i> sp. frente ao extrato etanólico (EtOH) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.	132
Tabela 25 -	Letalidade de náuplios de <i>Artemia</i> sp. frente à fração hexânica (Fr. Hx) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.....	134
Tabela 26 -	Letalidade de náuplios de <i>Artemia</i> sp. frente à fração etanólica (Fr. EtOH) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.....	134
Tabela 27 -	Espessura e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de carragenana incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânicos (Hx), da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020...	138
Tabela 28 -	Resultados das leituras das coordenadas de cor L* (luminosidade), a* (vermelho/verde: +a indica cor vermelha e -a indica cor verde) e b* (amarelo/azul: +b indica cor amarela e -b indica cor azul) dos filmes de carragenana incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânicos (Hx) da macroalga marinha parda <i>Lobophora variegata</i> , coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020...	142
Tabela 29 -	Valores de média ± desvio padrão das coordenadas de cor L* (luminosidade), a* (vermelho/verde: +a indica cor vermelha e -a indica cor verde) e b* (amarelo/azul: +b indica cor amarela e -b indica cor azul) dos filmes de carragenana incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânicos (Hx) da macroalga marinha parda	

Lobophora variegata, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará,
em setembro de 2020..... 143

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	30
2	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	32
2.1	Macroalgas marinhas.....	32
2.1.1	<i>Macroalgas marinhas pardas</i>	33
2.1.2	<i>Macroalga marinha parda Lobophora variegata</i>	35
2.2	Compostos fenólicos.....	37
2.3	Atividades biológicas.....	39
2.3.1	<i>Atividade antioxidante</i>	39
2.3.2	<i>Atividade antimicrobiana</i>	41
2.3.3	<i>Atividade toxicológica de substâncias de origem vegetal</i>	44
2.4	Filmes comestíveis.....	47
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	50
3.1	Coleta e Identificação da macroalga marinha.....	50
3.2	Desidratação da biomassa algal e Preparação dos extratos.....	50
3.3	Isolamento e Purificação de metabólitos secundários.....	52
3.3.1	<i>Métodos cromatográficos</i>	52
3.3.1.1	<i>Cromatografia de adsorção em coluna (CC)</i>	52
3.3.1.2	<i>Cromatografia em camada delgada (CCD)</i>	54
3.4	Determinação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos e das frações.....	56
3.5	Determinação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) dos extratos e das frações.....	56
3.6	Atividades antioxidantes <i>in vitro</i> dos extratos e das frações.....	57
3.6.1	<i>Capacidade de sequestro do radical DPPH</i>	57
3.6.2	<i>Poder de quelação de íons ferrosos (FIC)</i>	58
3.6.3	<i>Poder de redução de íons férricos (FRAP)</i>	59
3.6.4	<i>Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB)</i>	60
3.7	Atividade antimicrobiana.....	61
3.7.1	<i>Atividade antibacteriana</i>	61
3.7.2	<i>Atividade antifúngica</i>	63
3.8	Avaliação toxicológica dos extratos e das frações.....	63

3.8.1	<i>Atividade fitotóxica frente a sementes de pepino aodai melhorado (Cucumis sativus).....</i>	63
3.8.2	<i>Atividade citotóxica contra náuplios de Artemia sp.....</i>	65
3.9	Avaliação de filmes comestíveis.....	66
3.9.1	<i>Preparação das soluções dos filmes e revestimentos comestíveis.....</i>	66
3.9.2	<i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....</i>	67
3.9.3	<i>Solubilidade em água (S).....</i>	68
3.9.4	<i>Cor.....</i>	68
3.10	Análises estatísticas.....	69
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	70
4.1	Rendimentos dos extratos e das frações.....	70
4.2	Perfil cromatográfico por cromatografia em camada delgada (CCD)..	75
4.3	Teores de compostos fenólicos totais (CFT) nos extratos e nas frações.	83
4.4	Teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) nos extratos e nas frações.....	87
4.5	Atividades antioxidantes <i>in vitro</i> dos extratos e das frações.....	93
4.5.1	<i>Capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) dos controles positivos, dos extratos e das frações.....</i>	93
4.5.2	<i>Poder de quelação de íons ferroso (FIC) dos controles positivos, dos extratos e das frações.....</i>	100
4.5.3	<i>Poder de redução de íons férricos (FRAP) dos controles positivos, dos extratos e das frações.....</i>	106
4.5.4	<i>Atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB) dos controles positivos, dos extratos e das frações.....</i>	114
4.6	Atividade antimicrobiana.....	122
4.6.1	<i>Atividade antibacteriana.....</i>	122
4.6.2	<i>Atividade antifúngica.....</i>	125
4.7	Avaliação toxicológica dos extratos e das frações.....	128
4.7.1	<i>Atividade fitotóxica frente a sementes de pepino aodai melhorado (Cucumis sativus).....</i>	128
4.7.2	<i>Atividade citotóxica contra náuplios de Artemia sp.....</i>	131
4.8	Avaliação dos filmes comestíveis.....	136
4.8.1	<i>Permeabilidade ao vapor de água (PVA).....</i>	137

4.8.2	<i>Solubilidade em água (S)</i>	140
4.8.3	<i>Cor</i>	140
5	CONCLUSÕES	145
	REFERÊNCIAS	146

1 INTRODUÇÃO

A utilização de vegetais para fins medicinais e alimentares constitui uma prática milenar da fitoterapia e gastronomia orientais, que tradicionalmente empregam associações de várias plantas como medicamentos e/ou ingrediente ou condimento nas preparações culinárias. Neste grupo de vegetais, incluem-se as algas marinhas, cujos usos têm se ampliado devido ao seu valor nutritivo (DAI *et al.*, 2022; MATOS; NOVELL; TRIBUZI, 2022).

As macroalgas marinhas são fontes importantes de diversos compostos orgânicos e inorgânicos, como polissacarídeos sulfatados, lipídios, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, ácidos orgânicos, vitaminas, minerais e muitos oligoelementos. A variedade de moléculas oriundas do metabolismo secundário desses organismos tem despertado o interesse de pesquisadores com o objetivo de extrair, isolar e caracterizar substâncias com potencial de aplicação biotecnológica nas indústrias de alimentos, farmacêutica e de cosméticos (LI; YANG; LI, 2017; MAGWAZA; ISLAM, 2023; SANTOS *et al.*, 2023).

A síntese de biomoléculas nas macroalgas marinhas está diretamente relacionada às condições ambientais. O ambiente marinho costeiro está sujeito a variações de temperatura, salinidade e nutrientes ao longo do dia. Tais variações ocorrem naturalmente no ambiente, principalmente em decorrência do movimento das marés. Somadas às elas, ainda há alterações nos elementos presentes na água e, mais recentemente àquelas associadas a atividades antropogênicas, como a poluição por microplásticos. Assim, as macroalgas marinhas e muitos outros organismos vivos passam por múltiplos processos de adaptação, incorporando elementos presentes na água e sintetizando moléculas em resposta as condições do ambiente (HOU *et al.*, 2023; URREA-VICTORIA *et al.*, 2023).

Quando isoladas, essas biomoléculas fornecem ingredientes bioativos que podem ser utilizados na formulação de produtos alimentícios, além de poderem ser utilizadas como aditivo alimentar, agente emulsificante e estabilizante, aumentando a vida útil dos alimentos ao evitar a oxidação (CHINTALE ASHWINI *et al.*, 2013; PADOL *et al.*, 2022). A carragenana, por exemplo, um polissacarídeo sulfatado extraído de macroalgas vermelhas, tem total aproveitamento da sua biomassa na indústria de alimentos, podendo ser utilizada na elaboração de filmes e embalagens bioativas devido às suas características não tóxicas, biodegradáveis e biocompatíveis (KANATT *et al.*, 2015; SURYANTO *et al.*, 2023; WANG *et al.*, 2023).

Muitas das moléculas presentes nas macroalgas marinhas atuam como antioxidantes prevenindo a deterioração celular em condições de estresse oxidativo. Carotenoides, pigmentos, polifenóis, enzimas e diversos polissacarídeos funcionais tiveram

suas atividades antioxidantes relatadas na literatura e uma infinidade de compostos antioxidantes ainda estão sendo investigados para fins biotecnológicos (ARAÚJO *et al.*, 2020; CATARINO *et al.*, 2023; GHEDA *et al.*, 2023; PRADHAN; KI, 2023).

Outra demanda crescente no campo da indústria farmacêutica é a busca por novas moléculas com potencial antimicrobiano a partir de produtos naturais marinhos, tendo em vista o surgimento e a disseminação de micro-organismos resistentes aos antibióticos conhecidos. Peptídeos, terpenoides, esteróis, polissacarídeos, alcaloides, entre outros grupos químicos, são conhecidos por apresentarem características antifúngicas e antibacterianas e têm sido investigados em macroalgas marinhas (SANTOS *et al.*, 2023; THAWABTEH *et al.*, 2023).

Para a saúde humana, além das atividades antioxidantes e antimicrobianas supracitadas, as macroalgas oferecem diversas outras atividades biológicas como ação anti-inflamatória (FERNANDO *et al.*, 2019; JE *et al.*, 2021), anti-neuroinflamatória (HAN *et al.*, 2021; KO *et al.*, 2021; PANGESTUTI; KIM, 2011), antialérgica (KIM *et al.*, 2020), antidiabética (ISMAIL *et al.*, 2020; RENITTA *et al.*, 2020;), anticâncer (BAKUNINA *et al.*, 2023; PALANISAMY *et al.*, 2018; PRAIBOON *et al.*, 2018), anticoagulante (MANGGAU *et al.*, 2022), antiviral (SUN *et al.*, 2020; YIM *et al.*, 2021), anti-hipertensiva e antiobesidade (PREEZ *et al.*, 2021; SURABHI *et al.*, 2021), sendo, por isso, consideradas um reservatório de compostos bioativos com inúmeras aplicações.

É factível reconhecer a importância de se investigar os produtos naturais presentes nas macroalgas marinhas, tanto pelo potencial de aplicação, quanto pela escassez de informações sobre a ficoflora brasileira.

Desse modo, este trabalho teve como objetivo geral caracterizar preliminarmente as principais classes de compostos presentes na macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia de Paracuru-Ceará, e avaliar seu potencial biotecnológico. Extratos preparados com solventes de polaridades diferentes e frações obtidas por cromatografia de coluna foram avaliados especificamente quanto aos teores de compostos fenólicos totais e de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina), quanto às atividades antioxidante, antibacteriana, antifúngica, fitotóxica contra sementes de pepino aodai (*Cucumis sativus*), citotóxica contra náuplios de *Artemia* sp. e também com relação a sua incorporação em matrizes de carragenana para elaboração de filmes comestíveis.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Macroalgas marinhas

As algas marinhas são organismos aquáticos, autotróficos e fotossintetizantes, dotados de diferentes tipos de clorofila (*a*, *b*, *c* e *d*) e pigmentos acessórios, como carotenoides (carotenos e xantofilas) e ficobiliproteínas, que auxiliam na captação de energia luminosa, a qual é transferida para o sítio de reação fotossintética na clorofila *a*. Todas as macroalgas possuem clorofila *a*, mas podem apresentar diferentes pigmentos acessórios, sendo classificadas como: Cyanophyta (algas azuis) que possuem clorofila *a* e as ficobiliproteínas (ficocianinas e ficoeritrinas), como pigmentos acessórios; Chlorophyta (algas verdes) que possuem clorofilas *a* e *b* como principais pigmentos; Rhodophyta (algas vermelhas) que possuem clorofilas *a* e *d* e as ficobiliproteínas (ficocianinas e ficoeritrinas), sendo a ficoeritrina a principal ficobiliproteína; e Ochrophyta (algas pardas ou marrons) que possuem clorofilas *a* e *c* e fucoxantina (xantofila) como principal pigmento carotenoide (DOUGLAS; RAVEN; LARKUM, 2003; GRAHAM; WILCOX, 2009; LEE, 2008; SOUSA, 2017; TEIXEIRA, 2013).

O corpo das macroalgas marinhas é usualmente multicelular, chamado de talo, com grande diversidade morfológica, sendo uma importante característica para sua classificação.

A diversidade das algas está diretamente relacionada com sua ampla distribuição em diferentes ambientes marinhos e costeiros. Elas estão na base da cadeia alimentar, sendo as principais produtoras primárias de oxigênio molecular nos mares e oceanos (SAHOO; BAWEJA, 2015). Desempenham importantes funções ecológicas em seu *habitat*, sendo responsáveis pela ciclagem de nutrientes e de carbono, sequestro de partículas orgânicas, formação e manutenção dos recifes de corais (GHILARDI-LOPES; HADEL; BERCHEZ, 2012; SPILLIAS *et al.*, 2023).

As algas marinhas são parte importante da culinária tradicional dos povos orientais, sendo consumidas como alimento e consideradas fonte de carboidratos, fibras solúveis, proteínas, lipídios, ácidos graxos essenciais, antioxidantes, pigmentos, vitaminas e minerais (CÂMARA, 2010; KUMAR; TARAFDAR; BADGUJAR, 2021; MATOS; NOVELLI; TRIBUZI, 2022). Muitas das moléculas encontradas nas algas marinhas são estruturalmente diferentes e biologicamente ativas, sendo reconhecidas por apresentarem inúmeras atividades contra bactérias, fungos, protozoários, vírus e helmintos e, também, por atuarem na prevenção de doenças como diabetes, tuberculose, hipercolesterolemia, arteriosclerose, hipertensão e câncer (EL KHALLOUFI; OUDRA, 2023; MAYER *et al.*, 2020; PRADHAN; KI, 2023).

Estas descobertas têm contribuído para ampliar o interesse na produção de muitos produtos industriais, medicinais, farmacêuticos e comerciais a base de algas e de seus metabólitos (BOUKID; CASTELLARI, 2023).

2.1.1 Macroalgas marinhas pardas

As algas pardas da Classe Phaeophyceae são organismos multicelulares que podem apresentar desde formas microscópicas até as gigantes *kelps*. Atualmente, essa classe é composta por 2.118 espécies que estão agrupadas em 285 gêneros (GUIRY, 2023). A coloração marrom deriva principalmente da presença da xantofila fucoxantina, que mascara a cor verde da clorofila *a*. Em sua parede celular, são encontrados celulose, alginatos e fucoidina, esses últimos conferem a flexibilidade dessas algas. Possuem uma ampla variedade de moléculas com propriedades biológicas importantes, como policetídeos, polissacarídeos, ácidos graxos, esteróis, terpenoides e florotaninos (CARROLL *et al.*, 2023; GRAHAM; WILCOX, 2009; SANTOS *et al.*, 2023; VO; KIM, 2013).

As ocrófitas são encontradas no *habitat* marinho, em costões rochosos, e se fixam ao substrato por meio de rizoides. As espécies desse táxon são as mais abundantes em ambientes frios e polares (KONSTANTIN *et al.*, 2023).

Os teores dos compostos biologicamente ativos presentes nas algas marinhas pardas podem variar dependendo da estação do ano, ciclo de vida e condições do *habitat* (OBLUCHINSKAYA *et al.*, 2023).

A variedade de compostos presentes nas algas marinhas pardas é conhecida e destacada na literatura. Konstantin *et al.* (2023), usando técnicas de fluorescência (raio-x) e espectrometria (emissão atômica), estudaram a composição elementar das macroalgas pardas do norte da Rússia, tendo constatado predominância de ácidos graxos saturados em todas as espécies estudadas.

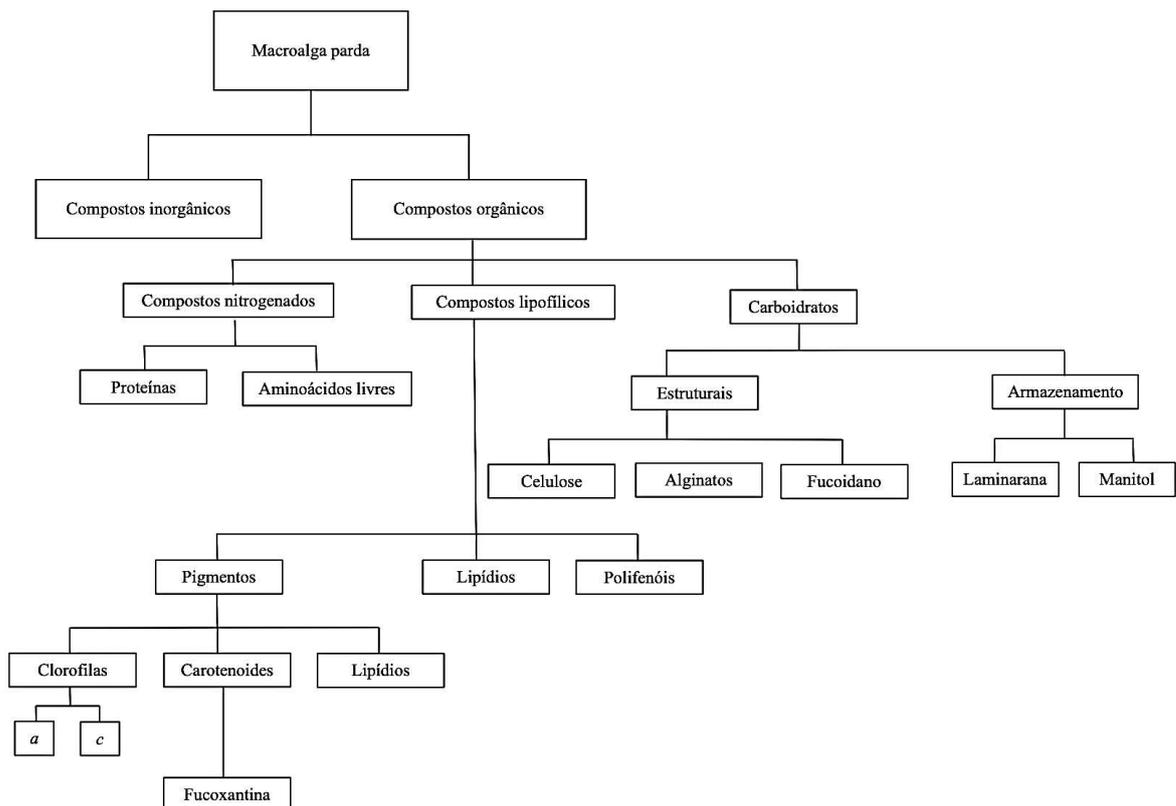
Shin *et al.* (2023) realizaram ensaios clínicos com 232 participantes e concluíram que as macroalgas pardas apresentaram efeito positivo tanto na redução de biomarcadores de dislipidemia, colesterol total e teor de lipoproteína de baixa densidade (LDL), quanto na elevação do teor de lipoproteína de alta densidade (HDL). Observações semelhantes foram relatadas por Aoe *et al.* (2021), que confirmaram diminuição significativa nos níveis de colesterol LDL e de iodo em indivíduos que consumiram *Laminaria japonica* em pó, durante oito semanas. Tais resultados foram atribuídos às características e às funções de difusão dos

polissacarídeos na água, que retiveram o colesterol e outros compostos fisiologicamente ativos e relevantes, impedindo a absorção de lipídios no trato gastrointestinal.

A xantofila fucoxantina, isolada das macroalgas pardas, apresenta inúmeros benefícios para a saúde humana. Sua característica anti-inflamatória desperta o interesse da indústria farmacêutica (SRAVYA; MOHAN; SRIVANI, 2023). Frações mais puras de fucoidanos, isolados da macroalga marinha parda *Alaria angusta*, apresentaram efeito quimiopreventivo e não citotóxico para linhagens de células epidérmicas normais de camudongo (JB6-CI41) e também inibiram a formação de colônias de melanoma humano (SK-MEL-28) *in vitro* (ZUEVA *et al.*, 2023).

A Figura 1 exemplifica algumas classes de compostos químicos encontrados em macroalgas marinhas pardas.

Figura 1 – Fluxogramas das classes de compostos encontrados nas macroalgas marinhas pardas.



Fonte: Adaptado de KONSTANTIN *et al.* (2023).

A macroalga marinha parda, *Lobophora variegata*, é bastante investigada. Em uma busca simples no Google acadêmico, plataforma de artigos acadêmicos, foram encontrados 4.620 artigos relacionados a esta espécie, percorrendo sobre um amplo espectro de atividades

biológicas. Recentemente, as atividades biológicas mais importantes dos compostos presentes em espécies do gênero *Lobophora* são anticâncer, antioxidante, antimicrobiana e antifúngica (PALANIAPPAN *et al.*, 2022; THAWABTEH *et al.*, 2023); os efeitos inibitórios da atividade da tirosinase e da melanogênese induzida pelo hormônio alfa-estimulante dos melanócitos (α -MSH), em células de melanoma (B16F10) (CHOOSUWAN *et al.*, 2023); os efeitos dos fitocompostos isolados no tratamento contra o vírus da imunodeficiência humana (MANDHATA; SAHOO; PADHY, 2023), além de outras atividades citadas nos resultados dessa busca.

2.1.2 Macroalga marinha parda *Lobophora variegata*

As macroalgas marinhas pardas do gênero *Lobophora* J. Agardh pertencem à família Dictyotaceae, são distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais do globo em profundidades que variam de 1 m a 36 m, com talos pequenos e de morfologia simples (CAMACHO *et al.*, 2019; GUIRY, 2023; VIEIRA *et al.*, 2017; VIEIRA *et al.*, 2021).

A espécie *L. variegata* (J. V. Lamouroux Womersley ex E. C. Oliveira) é a mais representativa do gênero. Os espécimes de *L. variegata* são relativamente pequenos, com lâminas curtas, manchas irregulares na superfície das folhas e de coloração marrom escuro. Quando comparada com outras macroalgas da mesma família, como *Padina gymnospora*, é observada uma estrutura mais rígida no seu talo (SOUSA, 2017). Elas crescem fixas aos substratos sendo um componente fundamental de recifes de corais e servem de abrigo para muitas espécies de invertebrados e larvas de animais marinhos (GRAHAM; WILCOX, 2009; VIEIRA *et al.*, 2019; VIEIRA *et al.*, 2021).

As espécies desse gênero são produtoras de uma variedade de moléculas de interesse biotecnológico. Dentre suas propriedades, destacam-se as atividades antimicrobianas, antioxidantes, anti-inflamatórias e antitumorais (MOO-PUC; ROBLEDO; FREILE-PELEGRÍN, 2009; SATHYASEELAN; MURUGESAN; SIVAMURUGAN, 2015; THAWABTEH *et al.*, 2023).

Vieira *et al.* (2016) ratificaram que a ocrófita *L. variegata* produz e/ou acumula uma variedade de metabólitos secundários com propriedades antimicrobianas, capazes de influenciar o microbioma dos corais e sofrer estresse alelopático, quando indivíduos dessa espécie crescem fixos em seus substratos.

Alcívar-Mendoza *et al.* (2021) observaram que nos meses de maior precipitação, houve um aumento nos níveis de nutrientes ao longo da costa equatoriana e,

concomitantemente, uma maior cobertura de *L. variegata*. Esta ampla cobertura de macroalgas pardas, principalmente *L. variegata*, afetou os corais negativamente de várias maneiras, diretas e indiretas, pois danificaram os indivíduos adultos por meio de abrasão, sombreamento e alelopatia (SPIERS; FRAZER, 2023).

Terpenoides, policetídeos e derivados fenólicos foram relatados na literatura como compostos comumente encontrados no gênero *Lobophora*. Gutiérrez-Cepeda *et al.* (2015) e Vieira *et al.* (2016) isolaram de *L. variegata* e *L. rosacea*, compostos com propriedades antimicrobianas e substâncias aleloquímicas, respectivamente. Apesar das duas espécies terem os mesmos compostos (loboforenóis, loboforesóis ou loboforesonas), essas moléculas apresentaram respostas biológicas diferentes.

O fucosterol, esteroide isolado de *L. variegata*, apresentou atividade contra *Escherichia coli* superior à da neomicina, usada como controle positivo. Seus derivados, fucosterol-9 e fucosterol-10, foram ainda mais ativos. O primeiro exibiu atividade contra cepa de *Klebsiella pneumoniae*, apresentando concentração inibitória mínima (CIM) de 0,479 mM; o fucosterol-10, por sua vez, foi mais ativo contra cepas de *Streptococcus mutans* e *Pseudomonas aeruginosa* com CIM de 0,465 mM (SILVA *et al.*, 2023).

As loboforesinas, macrolídeos espirotetronatos glicosilados com significantes atividades citotóxica, anti-inflamatória e antibacteriana, foram encontradas em associação de actinobactérias com organismos marinhos. A loboforesina K, isolada de *Streptomyces* em associação com o coral de água fria *Lophelia pertusa*, demonstrou ação contra linhagens de células tumorais (carcinoma pancreático e adenocarcinoma de mama) e também apresentou atividade antibiótica moderada e seletiva contra bactérias Gram positivas patogênicas. As loboforesinas A e B, por sua vez, foram obtidas de caldos de fermentação de um actinomiceto marinho incomum, com baixo índice de similaridade (0,138) com seu gênero mais próximo, *Streptomyces*, isolado da superfície de *L. variegata*, e apresentaram atividade anti-inflamatória e capacidade de redução de edema em modelo animal. A loboforesina CR1, descoberta na Costa Rica, juntamente com as loboforesinas A e B, foram capazes de causar a morte celular de duas linhagens de carcinoma oral escamoso (OLIVEIRA; PAULA; PUPO, 2023).

Polissacarídeos brutos isolados de *L. variegata* e de outras ocrófitas (*Turbinaria decurrens*, *Stoechospermum marginatum* e *Sargassum plagiophyllum*) apresentaram atividade antioxidante e anti-inflamatória, inibindo as isoformas da ciclo-oxigenase (COX-1 e COX-2) e da lipoxigenase (5-LOX) e atenuando citocinas anti-inflamatórias (mensageiro químico para regulação do sistema imune) em macrófagos de linhagem de monócitos humano (THP-1) (CHAKRABORTY; THAMBI; DHARA, 2023).

Outro polissacarídeo sulfatado isolado de *L. variegata*, o galactofucano, apresentou atividade inibitória da transcrição reversa do vírus da imunodeficiência humana (HIV-1) em 94% (MANDHATA; SAHOO; PADHY, 2023).

Em um estudo realizado por Kurinjery e Kulanthaiyesu (2022) com treze espécies de macroalgas pardas, coletadas ao longo da costa do Golfo de Mannar, a atividade antioxidante da fucoxantina isolada de *L. variegata* apresentou IC₅₀ de 1,58 µg/mL. Como houve diferença na bioatividade das fucoxantinas isoladas, os autores sugeriram que isso pode estar relacionado à forma estrutural, considerando que as fucoxantinas com isomeria geométrica *cis* apresentaram mais afinidade de ligação, enquanto as com isomeria *trans* exibiram mais bioatividade e citotoxicidade.

Devido à riqueza e à variedade de compostos fenólicos, flavonoides, fenóis, saponinas e às inúmeras atividades biológicas relatadas para essas moléculas, como anticâncer (KURINJERY; KULANTHAIYESU, 2022), anticoagulante (VO; KIM, 2013), anticolinesterase (BIANCO *et al.*, 2015), anti-inflamatória (CHAKRABORTY; THAMBI; DHARA, 2023), antileishmaniose (FREILE-PELEGRIN *et al.*, 2008), antimicrobiana (PALANIAPPAN *et al.*, 2022), antioxidante (BIANCO *et al.*, 2015; CHAKRABORTY; THAMBI; DHARA, 2023) e antiprotozoário (ESTRELLA-PARRA *et al.*, 2022), o interesse dos pesquisadores pelas macroalgas pardas foi despertado e tem crescido progressivamente (KURINJERY; KULANTHAIYESU, 2022).

Vários autores estudaram a taxonomia, morfologia e composição química da *L. variegata* ao longo dos anos e mesmo assim, relativamente pouco ainda se sabe sobre a biodiversidade de compostos presentes nessa espécie. Embora um número considerável de espécies pertencentes ao gênero *Lobophora* já tenha sido identificado, existem poucos relatos sobre suas investigações químicas, fazendo-se necessário que a busca por novas moléculas seja contínua. Oliveira-Filho (1977) fez o primeiro relato de *L. variegata* na costa brasileira através de estudos de identificação de espécies.

2.2 Compostos fenólicos

As algas são conhecidas por produzirem grandes quantidades de metabólitos secundários contra vários tipos de micro-organismos patogênicos. Dentre as moléculas bioativas, destacam-se os polissacarídeos, polifenóis, lectinas, proteínas, vitaminas, peptídeos, ácidos graxos poli-insaturados e pigmentos (AFZAL *et al.*, 2023). Essas evidências recentes sugerem a existência de uma infinidade desses compostos com atividade descrita a partir de

diferentes mecanismos de ação. Assim, a busca por novas moléculas com alto rendimento e com aplicação biotecnológica tem sido o objetivo de constantes investigações.

Os compostos fenólicos são antioxidantes naturais amplamente distribuídos na natureza e encontrados na maioria dos tecidos vegetais. Eles são sintetizados pelas vias do ácido chiquímico e fenilpropanoide e desempenham importante papel na evolução dos vegetais, atuando em seu crescimento e reprodução. No reino vegetal, esses compostos são originados do metabolismo secundário em resposta a diferentes condições de estresse como infecções, ferimentos, radiação ultravioleta e ataque de parasitas (CABRERA-CARRIÓN *et al.*, 2017; NACZK; SHAHIDI, 2004; ROSA *et al.*, 2019).

Esses compostos possuem estrutura simples ou complexas, anel aromático de carbono com um ou mais substituintes hidroxílicos e/ou grupos funcionais. Fazem parte da estrutura de proteínas, alcaloides e terpenos. Muitos compostos fenólicos são relatados na literatura, destacando-se os flavonoides, ácidos fenólicos, fenóis simples, taninos, tocoferóis, estilbenos, cumarinas e lignanas (ANGELO; JORGE, 2007; LEE *et al.*, 2005; SHAHIDI; NACZK, 1995; SILVA *et al.*, 2010).

Segundo a revisão de Sun e Shahrajabian (2023), os compostos fenólicos perdem apenas em abundância para os carboidratos, contudo, exibem uma grande variedade de estruturas, desde fenóis simples até estruturas mais complexas. Os autores consideram que os compostos fenólicos e os flavonoides são potenciais substitutos de agentes bioativos para a indústria farmacêutica, pois promovem a saúde humana, previnem e curam diversas doenças. Tal fato tem sido associado às inúmeras propriedades bioativas e, embora não sejam nutrientes, a ingestão dietética fornece efeitos protetores à saúde (ROSA *et al.*, 2019).

A diversidade química e a resposta biológica desses compostos são descritas na literatura. De acordo com a revisão de Khoddami, Wilkes e Roberts (2013), a extração de compostos fenólicos é um passo crítico após a preparação da amostra. A eficiência da extração é influenciada diretamente pela metodologia e solvente utilizados (PARYS *et al.*, 2007; SHAHIDI; AMBIGAIPALAN, 2015). Observações semelhantes foram feitas por outros pesquisadores, ao afirmarem que o solvente puro com alta polaridade ou a mistura de solventes tem influência direta sobre os rendimentos dos compostos fenólicos extraídos de algas marinhas (LI; YANG; LI, 2017; SOTO-GARCÍA; ROSALES-CASTRO, 2016). Os resultados da extração com diferentes solventes, encontrados por Sousa (2017), também mostraram maiores teores de compostos fenólicos totais e de flavonoides nos extratos etanólicos.

A síntese de compostos fenólicos em macroalgas marinhas sofre influência de fatores ambientais como distribuição e localização no ambiente, exposição à radiação

ultravioleta e predação (FARASAT *et al.*, 2014). Os florotaninos, um importante grupo de compostos polifenólicos, emergiram como poderosos compostos quimiopreventivos e quimioprotetores, regulando as vias de morte celular apoptótica *in vitro* e *in vivo* (PRADHAN; KI, 2023).

2.3 Atividades biológicas

2.3.1 Atividade antioxidante

Os mecanismos de oxidação celular oriundos do metabolismo humano são uma das principais causas de doenças relacionadas à velhice. As diversas reações oxidativas que ocorrem durante o processo de respiração celular levam à formação de radicais livres, os quais apresentam um ou mais elétrons desemparelhados em sua camada de valência, tornando-os espécies instáveis, de vida curta e altamente reativos (SADIQ, 2023). Quando em excesso, causam danos irreversíveis às células. Doenças cardiovasculares, mal de Alzheimer, tumores, além do envelhecimento precoce, são consequências inevitáveis da ação de espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, as chamadas EROs (SIKORA *et al.*, 2008).

EROs são moléculas altamente reativas, neutras, de vida curta e instáveis, contendo oxigênio (superóxido, radical hidroxil, radical peroxil, oxigênio singlete, peroxinitrito ou peróxido de hidrogênio) ou nitrogênio. São benéficas em baixas concentrações, pois regulam os processos bioquímicos nas células, desempenhando importantes funções biológicas, como controle da pressão sanguínea, sinalização celular, apoptose, fagocitose ao eliminar o agente agressor, fertilização de ovos e amadurecimento de frutos (MENSAH *et al.*, 2023; VASCONCELOS *et al.*, 2007).

Contudo, mudanças no balanço redox dos sistemas biológicos podem causar estresse oxidativo nas células saudáveis, aumentando a liberação desses radicais livres e desencadeando o surgimento de várias doenças (MENSAH *et al.*, 2023; SCHAFER; BUETTNER, 2001). EROs reagem com os elementos constituintes da célula (ácidos nucleicos, proteínas, lipídios, enzimas e outras pequenas moléculas), causando várias doenças degenerativas, como câncer, doenças cardiovasculares, artrite reumatoide, catarata, declínio do sistema imunológico, doenças hepáticas, diabetes *mellitus*, insuficiência renal, disfunção cerebral e envelhecimento (HALLIWELL; GUTTERIDGE; CROSS, 1992; MENSAH *et al.*, 2023; VINAYAK; SABU; CHATTERJI, 2011).

Entretanto existem substâncias que atuam na defesa do organismo e são capazes de atrasar, reduzir ou impedir danos às células durante a ação de agentes oxidantes – os antioxidantes. Seu mecanismo de ação envolve a neutralização ou eliminação dos radicais livres, reduzindo as reações com os lipídios e as proteínas (BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009). O corpo humano os produz e/ou os absorve através da dieta alimentar. α -Tocoferol (vitamina E), β -caroteno (provitamina A), fucoxantina (xantofila), ácido ascórbico (vitamina C) e compostos fenólicos, com destaque para os flavonoides e florotaninos, são exemplos de substâncias com alta capacidade antioxidante (ARUNKUMAR *et al.*, 2023; BAKUNINA *et al.*, 2023; PHANG *et al.*, 2023; PIETTA, 2000).

Butil hidroxianisol (BHA) e butil hidroxitolueno (BHT) são compostos fenólicos usados como antioxidantes sintéticos na indústria alimentícia, cujos limites são regulamentados por normas específicas. Os efeitos colaterais nocivos destes aditivos alimentares estão associados à potencial citotoxicidade, sendo considerados perigosos à saúde humana (BARREIROS; DAVID; DAVID, 2006; GOIRIS *et al.*, 2012; ORSINE; OLIVEIRA; MENDES, 2023; VALENTÃO *et al.*, 2002; WIJESKARA *et al.*, 2011).

As preocupações advindas dos possíveis efeitos colaterais associados ao uso de antioxidantes sintéticos levaram uma comissão europeia a produzir material científico sobre a segurança e eficácia do BHA como aditivo alimentar para todas as espécies animais (RYCHEN *et al.*, 2018). Alimentos com teores de lipídios mais elevados necessitam de uma maior quantidade de antioxidantes para evitar a formação de peróxidos. Costa *et al.* (2022) analisaram 84 alimentos desidratados para cães e gatos. Dentre eles, apenas um apresentou antioxidante sintético superior ao permitido pela Instrução Normativa MAPA Nº 42 de 16/12/2010 (até 150 mg/kg de ração). A concentração máxima permitida desses aditivos, seja para humanos ou animais, deve ser respeitada a fim de garantir a estabilidade do produto e prevenir que o consumo seja excedido, evitando os efeitos colaterais oriundos do excesso de uso.

As controvérsias existentes quanto ao uso de antioxidantes sintéticos despertaram o interesse da ciência pela busca de substâncias naturais com potencial ação antioxidante, capazes de inibir ou retardar a oxidação sem causar efeitos colaterais. Diante do que foi exposto, as macroalgas marinhas surgem como fonte alternativa de biomoléculas com inúmeras propriedades biológicas.

Produtos naturais, como alcaloides, flavonoides, terpenoides, esteroides e fenóis, extraídos de diferentes espécies de algas, apresentam diversas propriedades farmacológicas, incluindo funções antioxidantes e antidiabéticas. Flavonoides possuem atividade antimicrobiana e antioxidante, pois destroem os radicais livres (ABO-SHADY *et al.*, 2023).

Dang *et al.* (2018) avaliaram o potencial antioxidante de extratos etanólicos a 70% de seis espécies de macroalgas pardas, *Sargassum vestitum*, *S. linearifolium*, *S. podocanthum*, *Phyllospora comosa*, *Padina* sp. e *Hormosira banksii*, tendo concluído que os extratos de *H. banksii*, *S. vestitum* e *Padina* sp. apresentaram atividade antioxidante significativamente maior do que as outras espécies analisadas e do que os controles positivos (BHT, ácido ascórbico e alfa-tocoferol), nas concentrações de 0,06 a 1 mg/mL. Os autores destacaram que os compostos fenólicos totais (CFT) e a fucoxantina foram os principais responsáveis pela atividade antioxidante dos extratos.

A atividade antioxidante também pode ser avaliada pela presença de compostos com poder redutor de íons férricos (FRAP). Vega *et al.* (2020) observaram maior FRAP nos extratos hidroetanólicos das macroalgas *Halopithys incurva*, *Treptacantha abies-marina* e *Fucus spiralis*, coletadas na natureza, do que naqueles de macroalgas cultivadas. Lee, Park e Lee (2020) encontraram maior FRAP no extrato de *Sargassum nigrifolium*, dentre todas as macroalgas marinhas pardas analisadas.

Arunkumar *et al.* (2023), em ensaios biológicos *in vitro*, avaliaram o potencial antioxidante do chá (*Camellia sinensis*), preparado por decocção com as macroalgas pardas *Dictyota dichotoma*, *Padina gymnospora*, *Sargassum wightii* e *Turbinaria conoides*. O maior rendimento foi registrado para o chá suplementado com *S. wightii* ($1,548 \pm 1,512$ mg/g peso seco), e todos eles apresentaram atividade quanto ao sequestro do radical DPPH e ao FRAP. Os chás apresentaram coloração marrom por causa da fucoxantina, xantofila responsável pela atividade antioxidante, segundo os autores.

Neste contexto, as macroalgas pardas se destacam por conterem compostos bioativos em seus extratos e por apresentarem atividades antioxidantes importantes tanto *in vitro* como *in vivo* (AGUIAR *et al.*, 2022). Os compostos fenólicos são os principais componentes bioativos determinados nos extratos de diferentes algas e provaram exercer atividades antioxidantes significativas. Suas propriedades biológicas estão bem fundamentadas na literatura, mas, mesmo assim, para que novos compostos sejam investigados e suas eficiências de extração sejam melhoradas, mais estudos devem ser realizados.

2.3.2 Atividade antimicrobiana

Os micro-organismos habitam a Terra há milhões de anos. A coexistência de micro-organismos com a espécie humana revela relações benéficas e maléficas. Muitos micro-organismos são responsáveis por diversos tipos de patologias e, ao longo dos anos, tem se

observado um aumento no número de infecções causadas principalmente por bactérias, sendo consideradas verdadeiras armas biológicas devido a ameaça à saúde pública. Apesar do progresso no campo da medicina humana, a resistência a antimicrobianos tornou-se um problema global (OMS-OPAS, 2022; SANCHES *et al.*, 2020).

Desde a descoberta da penicilina em 1928 por Alexander Fleming, o uso de antibióticos no tratamento de diversas doenças infecciosas, muitas vezes de forma indiscriminada e descontrolada, levou ao surgimento de linhagens bacterianas resistentes, se tornando um grave problema da atualidade. Assim, muitos pesquisadores começaram a investigar os organismos marinhos com o propósito de buscar novas drogas, dotadas de elevada eficiência, baixa nocividade e capazes de inibir o crescimento de micro-organismos sem conferir-lhes resistência (CABRAL *et al.*, 2011; CARVALHO *et al.*, 2021).

Biomoléculas de macroalgas marinhas com potencial farmacológico vêm sendo estudadas como alternativa ao uso de antimicrobianos sintéticos. Karkhaneh Yousefi *et al.* (2020) avaliaram quatro espécies de ocrófitas (*Dictyota indica*, *Padina tenuis*, *Colpomenia sinuosa* e *Iyengaria stellata*), frente às bactérias Gram-negativa *Escherichia coli* e Gram-positiva *Staphylococcus aureus*. Os autores também quantificaram o teor de fucoxantina nessas espécies de algas, tanto no verão quanto no inverno, e constataram que *D. indica* apresentou a maior quantidade de fucoxantina, tanto no verão quanto no inverno, 462,79 e 210,72 µg/g, respectivamente, quando comparada às outras espécies e, conseqüentemente, maior atividade antimicrobiana contra as duas bactérias, com halo de inibição máximo de 18,26 mm.

A relação entre o teor de fucoxantina e a atividade antimicrobiana foi observada por Oliyaei e Moosavi-Nasab (2021), em extratos de macroalgas pardas coletadas na Costa do Golfo Pérsico no Irã. O extrato metanol/acetona de *Cystoseira indica* exibiu atividade inibitória sobre o crescimento das bactérias Gram-negativa *E. coli* e Gram-positiva *S. aureus*, enquanto o de *Sargassum angustifolium* apresentou fraca atividade antimicrobiana. De acordo com os autores, apesar dos extratos de *C. indica* e *S. angustifolium* apresentarem teores de fucoxantina muito próximos, 0,68 mg/g e 0,70 mg/g, respectivamente, o potencial de inibição foi diferente.

No estudo sobre a composição fitoquímica do extrato metanol:água da macroalga parda *Sargassum* sp., coletada no Mar Vermelho, Arábia Saudita, Alreshidi *et al.* (2023) identificaram quatro compostos majoritários: composto A: 2-pentadecanona, 6,10,14-trimetil-; composto B: ácido hexadecenóico; composto C: ácido *n*-hexadecanóico éster metílico; e composto D: ácido 1,2-benzenodicarboxílico e mono(2-etilhexil) éster. Os autores também avaliaram as atividades antimicrobianas e antibiofilme contra cepas das bactérias *Staphylococcus epidermidis*, *S. aureus* (cepas resistentes/sensíveis à meticilina), *E. coli* e

Klebsiella pneumoniae e do fungo *Candida albicans*, e constataram a eficácia do extrato bruto contra todos os micro-organismos testados. Assim, eles atribuíram ao extrato bruto, as potenciais atividades antimicrobianas e antibiofilme e aos compostos fitoquímicos presentes, as propriedades farmacocinéticas semelhantes às de drogas sintéticas.

A atividade antibacteriana dos extratos das macroalgas marinhas *Padina distromatica*, *Sargassum boveanum* e *Caulerpa sertularioides* foi avaliada pelo método de difusão em disco contra cepas de *E. coli*, *Pseudomonas aeruginosa* e *S. aureus*. Neste estudo, foi possível observar que o extrato aquoso apresentou o teor de polifenóis mais elevado, porém a maior zona de inibição do crescimento bacteriano foi registrada para o extrato hexânico. O extrato hexânico de *S. boveanum* mostrou maior atividade antibacteriana, sendo provável que tais compostos sejam apolares e solúveis em *n*-hexano (EBRAHIMI *et al.*, 2021).

A variedade de metabólitos secundários nas macroalgas marinhas foi tema de destaque na pesquisa de Pérez, Falqué e Domínguez (2016), que relataram uma diversidade na composição dos compostos fenólicos e uma variação nas atividades biológicas (antibacteriana e antioxidante). Moubayed *et al.* (2017) encontraram em extratos das macroalgas pardas *Sargassum latifolium* e *S. platycarpum* atividade antifúngica baixa e moderada contra o fungo diploide, *Candida albicans*, comumente encontrado na mucosa vaginal de mulheres. Alterações no equilíbrio desse fungo levam a sua proliferação e conseqüente aparecimento de sintomas característicos de candidíase, como coceira, secreção e ardência no local.

Na revisão de Thawabteh *et al.* (2023), 56 compostos antifúngicos e quarenta antibacterianos, isolados de organismos marinhos, inclusive algas, foram mencionados. O *caulerprenylol B*, isolado da clorófito *Caulerpa racemosa*, apresentou excelente atividade, com base na concentração inibitória mínima – CIM₈₀ de 16 µg/mL, contra o fungo *Trichophyton rubrum*, agente de infecções comuns como frieiras e coceiras. O *lobophorolide*, isolado da ocrófito *Lobophora variegata*, exibiu excelente atividade contra os fungos patogênicos *Lindra thalassiae* (IC₅₀ de 0,135 µg/mL), *Dendryphiella salina* (IC₅₀ de 0,034 µg/mL) e cepas de *Candida albicans*, selvagem e resistente a anfotericina (IC₅₀ de 1,3 e 0,5 µg/mL, respectivamente). O *isolauraldeído*, isolado da rodófito *Laurencia obtusa*, apresentou atividade antifúngica contra *C. albicans*, *Aspergillus fumigatus* e *A. flavus* com valores de CIM de 70, 100 e 1.000 µg/mL, respectivamente.

Uma parte significativa das novas drogas que vêm sendo investigadas tem origem marinha e possui atividades antifúngicas e antibacterianas. O interesse científico pelas propriedades antimicrobianas das macroalgas marinhas para a formulação de novos fármacos é crescente (SILVA *et al.*, 2022).

2.3.3 Atividade toxicológica de substâncias de origem vegetal

Destacada nas seções anteriores, a constante busca por substâncias naturais com o propósito de usá-las no tratamento de uma gama de doenças é repetidamente encontrada na literatura. Inúmeros processos biotecnológicos para a obtenção de novos fármacos são realizados, mas é preciso considerar que a produção de novos fármacos e, conseqüentemente, seu uso em humanos e animais, exigem análises rigorosas para elucidar os mecanismos de ação e as respostas das novas moléculas no organismo (CARVALHO *et al.*, 2020).

Estudar o comportamento das substâncias e os possíveis novos sítios biológicos que elas possam atuar é um fator importante e decisivo para a química medicinal. Quando surge uma nova substância e/ou droga, o primeiro passo é avaliar a existência de toxicidade para se conhecer o efeito do novo produto. Essa avaliação é feita através de bioensaios em laboratório com culturas de células vivas ou com organismos-teste a fim de comparar o efeito dessa nova substância com uma substância padrão conhecida (SHARIFIFAR *et al.*, 2017).

A toxicologia é definida como uma ciência que visa avaliar a sensibilidade de diferentes tipos de organismos expostos a substâncias químicas, observando-se o efeito sobre a sobrevivência, crescimento e reprodução dos organismos testados (NEPOVIMOVA; KUCA, 2020; SOUZA; AQUINO; SILVA, 2020). Conhecer a composição química das substâncias e seu papel no metabolismo ajudam a entender a sua influência na atividade toxicológica, a partir da avaliação da reatividade no bioensaio e das interações fármaco-receptor (BOZOROV; ZHAO; AISA, 2019; PATHANIA; NARANG; RAWAL, 2019).

Em ensaios de toxicidade de amostras de algas marinhas, comumente são utilizadas plantas e/ou sementes, devido a sua acentuada sensibilidade a algumas substâncias, que podem afetar seu desenvolvimento, crescimento e sobrevivência. Estes testes de ecotoxicidade com vegetais são feitos pela avaliação da mortalidade das plantas após um determinado período de exposição (dias) a uma substância (VELINI; OSIPE; GAZZIERO, 1995).

Devido à riqueza em biomoléculas presentes nas algas marinhas, seus extratos têm sido utilizados em culturas agrícolas como bioestimulantes, melhorando o desempenho das plantas e favorecendo o crescimento devido a sua baixa toxicidade, além de estimular a síntese de biomoléculas nos frutos, garantido a qualidade da produção e dos cultivos sem agredir o meio ambiente (KUMAR; SAHOO, 2011).

Extratos líquidos das macroalgas marinhas verdes (*Ulva lactuca* e *Caulerpa sertularioides*) e pardas (*Padina gymnospora* e *Sargassum liebmannii*), nas concentrações de 0,2%, 0,4% e 1%, foram testados como bioestimulantes na germinação e no crescimento de

tomates (*Solanum lycopersicum*). Os resultados mostraram que as sementes tratadas com os extratos de *U. lactuca* e *P. gymnospora* na concentração de 0,2% apresentaram as melhores respostas sobre a taxa de germinação, sugerindo que eles sejam utilizados como agentes promotores da germinação das sementes e do crescimento das plantas de tomate (HERNÁNDEZ-HERRERA *et al.*, 2014).

O carvão vegetal tem sido utilizado como uma estratégia para melhorar a degradação do solo causada pelo dióxido de carbono e para aumentar a produtividade das plantações. No entanto, Shang *et al.* (2023) testaram o efeito da combinação do carvão vegetal, originado das folhas de junco, com fertilizantes líquidos à base de algas. O objetivo dos autores foi melhorar o crescimento de mudas de tomates em solos afetados por estresse abiótico. Para tais análises, os resultados revelaram que o carvão vegetal, o fertilizante líquido de algas e a combinação dos dois elevaram significativamente o peso seco dos tomates em 23,33%, 29,93% e 63,66%, respectivamente. Além disso, os três tratamentos melhoraram o estado do solo, aumentaram significativamente a abundância relativa das bactérias benéficas *Pseudomonas* sp. e *Azospira* sp. na rizosfera do tomateiro, sendo considerados insumos efetivos para solos afetados por ácidos.

Fertilizantes naturais preparados com a macroalga parda *Ascophyllum nodosum* são conhecidos por apresentarem capacidade estimulante em plantas. Extratos de *A. nodosum* nas doses de 2,5 L/ha, 5 L/ha e 10 L/ha foram aplicados por encharcamento do solo com o intuito de avaliar o crescimento, a fisiologia, o rendimento e a qualidade de tomates. Das três concentrações testadas, a de 5 L/ha melhorou significativamente o crescimento e os aspectos fisiológicos do tomateiro (altura da planta, área foliar, massa seca da parte aérea e da raiz), além de aumentar o número de frutos, a produtividade por planta e a produtividade por hectare. Também foi observada uma melhoria na produção de biomoléculas presentes no tomate (sólidos solúveis totais, teor de ácido ascórbico, licopeno e açúcares totais) garantido melhor qualidade do fruto (SUBRAMANIYAN *et al.*, 2023).

Sementes de brócolis tratadas com o extrato de *A. nodosum* apresentaram desempenho superior quando comparadas com aquelas tratadas com o extrato da rodófito *Solieria* sp. Doses maiores do extrato da macroalga parda promoveram um aumento linear na quantidade de eletrólitos liberados pelas membranas das sementes. Por sua vez, o extrato da macroalga vermelha apresentou resultado diferente, ou seja, uma relação inversa na concentração de 2 mL/L. Outro registro que mereceu destaque para ambos os extratos foi o fato de que, após a germinação das sementes, à medida que as doses aumentavam, o envelhecimento foi acelerado. Os extratos de *A. nodosum* não apresentaram potencial toxicológico mesmo nas

concentrações mais elevadas, coincidindo com as maiores médias de crescimento das raízes (VIEIRA; SILVA; SILVA, 2023).

Extratos da ocrófita *Sargassum vulgare*, aplicados por imersão e por pulverização, foram utilizados como estimulante natural para o crescimento do rabanete *Raphanus sativus*. A pulverização das folhas apresentou resultados superiores quanto ao crescimento vegetativo, rendimento e qualidade nutricional dos rabanetes, em comparação ao método de imersão. Assim, o extrato de *S. vulgare* pode ser considerado como uma fonte promissora de fertilizantes naturais para a produção agrícola (MAHMOUD *et al.*, 2019).

Embora os bioensaios toxicológicos com sementes ou organismos de fisiologia rudimentar sejam relativamente menos explorados na literatura, eles contribuem para o conhecimento da toxicidade de um potencial fármaco e de sua função, quando testados para algumas atividades biológicas. Desse modo, é possível direcionar o pesquisador para uma resposta terapêutica com níveis toxicológicos aceitáveis para cada função.

O microcrustáceo da Ordem Anostraca, inserida na Classe Branchiopoda (Latreille 1817, Crustacean), *Artemia salina*, é utilizado como organismo-teste por apresentar alta sensibilidade, fornecer resultados confiáveis e se assemelhar a testes em seres humanos (OLIVEIRA *et al.*, 2019). Em análises preliminares de toxicidade, é bastante comum o uso de *Artemia* sp. como organismo-teste. As vantagens de seu uso incluem disponibilidade comercial, sendo possível a aquisição na forma de cistos em lojas de aquarismo, baixo custo, facilidade de cultura com ciclo de vida curto, alimentação não obrigatória nas primeiras fases de vida, produção de uma grande prole e fácil reprodutibilidade experimental. Com *Artemia* sp. é possível avaliar a letalidade causada pelo efeito tóxico de extratos de plantas, algas e outros organismos através da interrupção da locomoção, uma vez que esses microcrustáceos são animais filtradores e dependem da locomoção para respirar e se alimentar (COSTA *et al.*, 2008; MEYER *et al.*, 1982; PIMENTEL *et al.*, 2011).

Durante o procedimento experimental, os náuplios de *Artemia* sp. permanecem em contato direto com a amostra a ser testada (extrato, fração, composto), por períodos de tempos pré-definidos. Após a exposição, é possível determinar a concentração letal de amostra capaz de matar 50% dos organismos no tempo e nas condições do teste (CL₅₀). O efeito tóxico das substâncias nos testes de toxicidade com *Artemia* sp. se dá pela imobilização (cessação dos movimentos) dos náuplios, de modo que os indivíduos imóveis são considerados mortos (COSTA *et al.*, 2008).

Extratos metanólicos das macroalgas pardas *Dictyota dichotoma*, *Padina tetrastrmatica* e *Chnoospora bicanaliculata* apresentaram potencial citotóxico nas

concentrações 200, 300 e 400 µg/mL, matando de 14 a 100% dos náuplios de *Artemia* sp. após 24 h de exposição (MANILAL *et al.*, 2009). Vinayak, Sabu e Chatterji (2011) também observaram significativa atividade citotóxica e dose-dependência entre concentração (50, 100 e 500 µg) e tempo de exposição (6, 18 e 24 h), aumentando o número de náuplios mortos com o tempo. Os extratos de *Dictyopteryis australis*, *Spatoglossum aspernum*, *S. variable* e *Stoechospermum marginatum* foram altamente citotóxicos matando 100% dos náuplios após 24 h de exposição.

O uso de animais em testes de toxicidade *in vivo* é uma prática comum, pois fornecem, na fase pré-clínica, informações fundamentais para a análise de novas substâncias, ao responderem de várias maneiras ao limite tolerável. A revisão de literatura desta tese de doutorado mostra que as buscas por novas moléculas com propriedades farmacológicas apontam as macroalgas marinhas como uma fonte de biomoléculas que podem ser usadas para a prevenção e o tratamento de doenças. Contudo, o potencial toxicológico dessas algas e de seus compostos deve ser avaliado com o objetivo de definir a melhor aplicação.

2.4 Filmes comestíveis

A poluição ambiental causada pelo descarte de embalagens plásticas derivadas de petróleo é um problema sério. Entre muitas iniciativas para sanar o problema, o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis tem despertado o interesse de pesquisadores. As embalagens servem como barreiras físicas de proteção aos alimentos, entretanto, muitas delas, encontradas rotineiramente, não possuem capacidade de impedir o avanço de micro-organismos (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 1993).

A ação de micro-organismos e de agentes oxidantes nos alimentos contribui para a deterioração de forma rápida. Assim, é crescente a necessidade de se desenvolver filmes ou revestimentos comestíveis e/ou biodegradáveis, potencialmente adequados e preparados sob condições ideais. Esses revestimentos devem servir para minimizar a proliferação de micro-organismos patogênicos e a ação de agentes oxidantes, evitando a deterioração dos alimentos. Entretanto, o maior desafio enfrentado pelos cientistas consiste em encontrar embalagens semelhantes às convencionais, com efeitos ambientais menos nocivos em comparação com os plásticos sintéticos e que sejam dotadas de propriedades capazes de manter e proteger a qualidade dos alimentos, prolongando sua vida útil (CHILLO *et al.*, 2008; CUTTER, 2006; TRAN *et al.*, 2020).

A incorporação de componentes ativos naturais em filmes e revestimentos comestíveis, além de causar proteção aos alimentos, agrega valor a eles, modificando as características do filme em termos de propriedades físicas, funcionais e bioativas. Por isso, a busca por aditivos naturais com componentes ativos que não causem efeitos secundários e que apresentem características antioxidantes, antimicrobianos e agentes antiescurecimento é constante (KAUR *et al.*, 2023).

A busca por polímeros biodegradáveis como substitutos das embalagens de plástico concentrou os estudos na utilização de polissacarídeos derivados de algas marinhas para o desenvolvimento de filmes e revestimentos. Os polissacarídeos oriundos das macroalgas, como alginato, ágar e carragenana, já usados pela indústria alimentícia devido a sua capacidade de gelificação, podem também ser utilizados com sucesso para prolongar o tempo de prateleira dos alimentos, considerando seu potencial antioxidante já descrito na literatura (JAYAKODY; VANNIARACHCY; WIJESEKARA, 2022).

Filmes funcionais podem ser produzidos adicionando-se óleos essenciais extraídos de algas marinhas, os quais podem ser utilizados como aditivos naturais por apresentarem características que amplificam as propriedades antimicrobianas e antioxidantes dos filmes, além de melhorar as suas propriedades físicas, como resistência mecânica, hidrofobicidade, propriedades de barreira à luz ultravioleta e propriedades térmicas, tendo em vista a natureza fenólica dos óleos essenciais de algas marinhas. Os filmes feitos à base de ágar, alginato, furcellarana e carragenana já têm um bom potencial como filme comestível, contudo uma estratégia que amplifica as propriedades protetoras desses filmes é a adição de bioativos naturais com características funcionais (EBRAHIMZADEH *et al.*, 2023).

Biopolímeros e compostos bioativos são utilizados para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis e aplicações biomédicas (AKRAMI-HASAN-KOHAL *et al.*, 2020). A carragenana, polissacarídeo extraído das macroalgas vermelhas, se destaca por ser um dos principais polímeros naturais utilizados para o desenvolvimento de embalagens biodegradáveis. A utilização da carragenana se deve a sua excelente capacidade de formação de filme (ABDOU; SOROUR, 2014; VELASCO; FUNDADOR, 2020). Além das carragenanas, ágar, alginato e quitosana também são biopolímeros complexos e importantes na indústria de alimentos por formarem geis e gomas (LIN *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2020; WEBBER *et al.*, 2012).

Sena *et al.* (2016) utilizaram alginato (1% e 3%) como revestimento de pimentões verdes após a colheita com o objetivo de manter a qualidade dos frutos. Os pimentões ficaram em um expositor vertical a 7 °C e umidade relativa de 87% ± 1% por até 15 dias. Análises para

avaliar atributos de qualidade, como perda de massa fresca, firmeza do fruto, teores de acidez titulável, ácido ascórbico, pH, parâmetros de cor e atividade da enzima pectinametilesterase, foram realizadas a cada 3 dias. Com base nos resultados, o revestimento a base de alginato foi eficiente em retardar o metabolismo do pimentão, mantendo sua firmeza por mais tempo.

O extrato de folhas de oliveira, incorporado na matriz de carragenana, foi utilizado na elaboração de filme protetor para carne de cordeiro e avaliado quanto à atividade antimicrobiana. O filme apresentou 100% de proteção frente à bactéria *Escherichia coli* e foi considerado uma promissora embalagem ativa de alimentos (MARTINY *et al.*, 2018).

Filmes de alginato enriquecidos com extrato etanólico da macroalga parda *Sargassum muticum* (5%) foram usados em substituição a filmes plásticos para o revestimento de filés de salmão congelados. Os filés foram mantidos em câmaras industriais a $-18\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 6 meses e, após esse período de armazenamento, verificou-se que os filmes preveniram o ressecamento provocado pelo frio, devido à perda de água por sublimação da pele do salmão (MARQUES, 2019).

Nanocristais de celulose extraídos das macroalgas pardas *Laminaria japonica* e *Sargassum natans* foram utilizados na elaboração de filmes. Os teores de compostos fenólicos totais (CFT) e as atividades antioxidantes, medidas pelo sequestro do radical DPPH e pelo poder de reduzir íons férricos (FRAP), indicaram que o filme de *L. japonica* apresentou propriedades antioxidantes mais potentes do que o filme de *S. natans* (DOH; DUNNO; WHITESIDE, 2020).

A partir dessa breve revisão de literatura, é possível perceber que a busca por biomoléculas naturais, isoladas de macroalgas marinhas, com propriedades antimicrobianas e antioxidantes, para incorporação em filmes e revestimentos comestíveis é permanente. Ainda mais porque esses aditivos isolados de algas quando adicionados aos filmes são capazes de manter a qualidade física dos filmes e, conseqüentemente, dos alimentos. O exposto justifica a importância de mais pesquisas sobre esses organismos e sobre a incorporação das suas biomoléculas nas embalagens de alimentos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 Coleta e Identificação da macroalga marinha

A macroalga marinha parda, *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux) Womersley ex E. C. Oliveira (FIGURA 2), pertencente ao Filo Ochrophyta, Classe Phaeophyceae, Subclasse Dictyotophycidae, Ordem Dictyotales e Família Dictyotaceae, foi coletada na Praia do Paracuru (03°23'45" S, 039°0'13" O), município de Paracuru, Ceará, em setembro de 2020. A coleta foi autorizada pelo Sisbio (ID 33913-8).

Figura 2 – Macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux) Womersley ex E. C. Oliveira, coletada na na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

O material coletado foi acondicionado em sacos plásticos e transportado para o Laboratório de Produtos Naturais Marinhos (PROMAR), localizado no Departamento de Engenharia de Pesca (DEP), da Universidade Federal do Ceará (UFC). Uma exsicata da espécie foi depositada no Herbário Prisco Bezerra, do Departamento de Biologia da UFC e está identificada sob o número 59292.

3.2 Desidratação da biomassa algal e Preparação dos extratos

A biomassa coletada foi lavada com água para remoção de sujeiras macroscópicas, deixada sobre papel absorvente para drenar o excesso de água e, em seguida, liofilizada em um liofilizador Liobras, modelo Liotop K120, sob pressão de 800 µmHg a -80 °C por 48 h.

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

A biomassa algal liofilizada (70 g) foi misturada com etanol a 95%, na proporção de 1:10 (m/v), em um frasco de vidro de cor âmbar, e deixada no escuro a $25\text{ }^{\circ}\text{C}$ por 48 h. Terminada esta etapa, o extrato etanólico foi filtrado. O resíduo algal foi re-extraído com o mesmo volume de etanol (700 mL), mais cinco vezes, de modo que o tempo total de extração foi de 288 h, resultando no extrato etanólico (EtOH). O material proveniente das seis etapas de extração foi reunido e levado ao evaporador rotativo (Fisatom, modelo 802), para evaporação do etanol sob pressão. O extrato EtOH foi transferido do balão de evaporação para um frasco de vidro, previamente pesado, com auxílio de um pequeno volume de metanol, o qual foi totalmente evaporado em placa aquecedora em temperatura inferior a $40\text{ }^{\circ}\text{C}$ (QUADRO 1).

O resíduo algal da extração com etanol foi usado para re-extrações com *n*-hexano, diclorometano, acetato de etila e metanol, solventes de polaridade crescente, obedecendo ao mesmo procedimento descrito anteriormente. A duração das extrações para cada solvente foi, respectivamente, 144, 144, 48 e 96 h. O critério utilizado para a troca do solvente de extração foi a mudança de coloração, que inicialmente era intensa e clareava à medida que o procedimento de extração era conduzido. As transferências dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH), para frascos de vidro previamente pesados, também foram feitas com auxílio de pequeno volume de metanol, completamente evaporado como descrito acima (QUADRO 1).

Quadro 1 – Informações sobre a obtenção dos extratos etanólico (EtOH), hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt) e metanólico (MeOH), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Identificação	Extratos (1:10, m/v)				
	EtOH	Hx	DCM	AcOEt	MeOH
Ordem de extração	1 ^o	2 ^o	3 ^o	4 ^o	5 ^o
Biomassa algal seca (g)	70	70	70	70	70
Volume de solvente (mL)	700	700	700	700	700
Tempo de extração (h)	288	144	144	48	96
Número de extrações	6	3	3	1	2

Fonte: AUTORA (2023).

Os frascos contendo os extratos EtOH, Hx, DCM, AcOEt e MeOH foram pesados para o cálculo dos rendimentos de extração e conservados a $-24\text{ }^{\circ}\text{C}$ até sua utilização para a quantificação de compostos fenólicos totais (CFT) e de flavonoides (TF) e para as atividades antioxidante *in vitro*, antibacteriana, antifúngica, fitotóxica, citotóxica e elaboração de filmes comestíveis. Todas as análises foram feitas com quatro repetições.

O extrato EtOH foi submetido a técnicas de isolamento e purificação, usando solventes de diferentes polaridades para a obtenção de frações.

3.3 Isolamento e Purificação de metabólitos secundários

3.3.1 Métodos cromatográficos

O isolamento e a purificação de metabólitos secundários dos extratos EtOH, Hx, DCM, AcOEt e MeOH e das frações do extrato EtOH da macroalga marinha parda *L. variegata* foram feitos por dois métodos clássicos de cromatografia: cromatografia de adsorção em coluna (CC) e cromatografia em camada delgada (CCD).

3.3.1.1 Cromatografia de adsorção em coluna (CC)

As cromatografias em coluna (CC) foram realizadas em colunas de vidro de diferentes diâmetros usando gel de sílica 60 G, com granulometria de 0,063-0,2 mm / 70-230 mesh (Macherey-Nagel, Alemanha) (BAJPAI; MAJUMDER; PARK, 2016).

O extrato EtOH (1,377 g) foi macerado em gral de porcelana juntamente com 6 g de gel de sílica 60 G, com granulometria 0,063-0,2 mm / 70-230 mesh (Macherey-Nagel, Alemanha), para produzir um material macerado, que foi colocado no topo da coluna de vidro (26,5 cm \times 6 cm), previamente montada com gel de sílica (39,75 g), e *n*-hexano foi utilizado como fase móvel (QUADRO 2).

O extrato EtOH foi eluído com solventes puros em ordem crescente de polaridade, e com um volume arbitrário, conforme o esquema apresentado na Figura 3, e descrito a seguir: 2.820 mL de *n*-hexano (Hx), 2.194 mL de diclorometano (DCM), 3.309 mL de acetato de etila (AcOEt), 2.540 mL de etanol (EtOH), 2.000 mL de metanol (MeOH), 1.000 mL de metanol:*n*-butanol, 1.000 mL de *n*-butanol e 500 mL de água destilada (H₂O).

Quadro 2 – Informações sobre as condições utilizadas para a cromatografia em coluna (CC) do extrato etanólico (EtOH), obtido da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

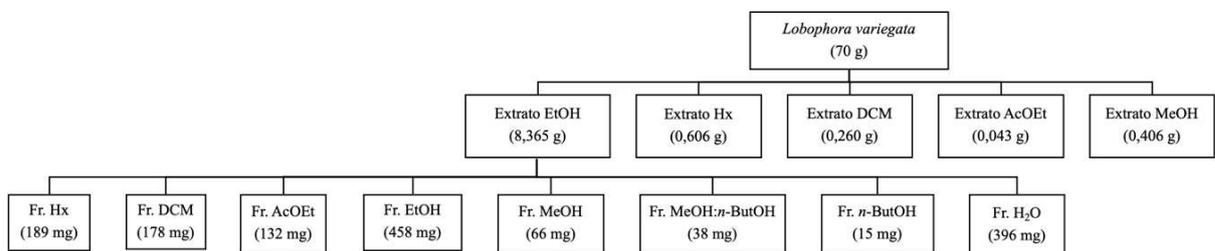
Identificação	Extrato EtOH
Massa da amostra (g)	1,377
Diâmetro da coluna (cm)	6,0
Altura da coluna (cm)	26,5
Quantidade de sílica (g)	39,75
Fase móvel	<i>n</i> -Hexano
Tempo de cromatografia (h)	15
Número de frações	8

Fonte: AUTORA (2023).

Os solventes eluídos da coluna foram trocados, respeitando-se os graus de polaridade, na medida em que se observava o arraste total dos constituintes com afinidade naquela polaridade, revelada pela mudança de coloração do solvente.

Foram obtidas oito frações a partir do extrato etanólico (EtOH), a saber: fração hexânica (Fr. Hx), fração diclorometano (Fr. DCM), fração acetato de etila (Fr. AcOEt), fração etanólica (Fr. EtOH), fração metanólica (Fr. MeOH), fração metanólica:*n*-butanólica (Fr. MeOH:*n*-ButOH), fração *n*-butanólica (Fr. *n*-ButOH) e fração aquosa (Fr. H₂O) (FIGURA 3).

Figura 3 – Tratamento e rendimento do extrato etanólico (EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, para obtenção de frações após cromatografia em coluna em gel de sílica com solventes de diferentes polaridades.



Fonte: AUTORA (2023).

3.3.1.2 Cromatografia em camada delgada (CCD)

Com o objetivo de fazer uma avaliação preliminar das substâncias presentes nos extratos e nas frações da macroalga marinha parda *L. variegata*, os cinco extratos e as oito frações obtidas na CC foram submetidos a cromatografias em camada delgada (CCD). Com base no perfil cromatográfico, avaliado através do valor do fator de retenção (R_f), expresso em milímetros (mm), (EQUAÇÃO 1), as amostras similares foram reunidas.

$$R_f = \frac{\text{Distância percorrida pela substância}}{\text{Distância percorrida pelo solvente}} \quad (1)$$

As cromatografias em camada delgada (CCD) foram realizadas em cromatoplasmas de poliéster de gel sílica 0,20 mm com indicador fluorescente UV_{254 nm} (Polygram® SIL G/UV_{254 nm}, Macherey-Nagel, Alemanha). As placas foram reveladas pela imersão em cubas cromatográficas com os seguintes sistemas eluentes: combinação binária dos solventes *n*-hexano:acetato de etila (Hx:AcOEt) e combinação quartenária dos solventes acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂), separadamente e em diferentes proporções, de acordo com a migração do(s) composto(s) nas cromatoplasmas.

Imediatamente após a imersão, as cromatoplasmas foram reveladas por métodos não-destrutivos e destrutivos. Os métodos não-destrutivos utilizados foram: exposição à irradiação em dois comprimentos de onda (254 nm e 365 nm), em câmara escura (CIENLAB), e exposição a vapores de iodo, condições sob as quais as substâncias fluorescentes e incolores foram reveladas. Em seguida, utilizaram-se métodos destrutivos, em que as substâncias presentes nas cromatoplasmas sofreram oxidação após pulverização com diferentes soluções reveladoras e aquecimento em estufa a 105 °C. Esse procedimento possibilitou a visualização das substâncias incolores e a detecção de substâncias orgânicas com os mais variados grupos funcionais (QUADRO 3). Ácido ascórbico, ácido gálico e quercetina foram utilizados como compostos padrão.

Quadro 3 – Informações sobre os reveladores utilizados nas cromatografias em camada delgada (CCD) dos extratos e das frações obtidos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Solução reveladora	Composição	Utilização
Anisaldeído	Etanol (200mL), ácido sulfúrico (10 mL) e <i>p</i> -anisaldeído (10 mL).	Compostos carbonílicos e saponinas.
Ninhidrina	0,3 g ninhidrina em 100 mL de <i>n</i> -butanol + 3 mL ácido acético.	Aminas, aminoácidos, ésteres, anidridos
Ácido fosfomolibdico	Solução a 10% em etanol.	Uso universal. Compostos insaturados e compostos redutores.
Vanilina	15 g vanilina em 250 mL etanol + 2,5 mL ácido sulfúrico.	Uso universal. Fenóis. Específico para álcoois superiores.
Permanganato de potássio	KMnO ₄ (1 g), carbonato de sódio (2 g) e água destilada (100 mL).	Olefinas, alcinos e aromáticos. Uso geral.
Ácido sulfúrico	Solução a 10% em água destilada.	Fenóis e compostos enolizáveis.
Reagente de <i>Dragendorff</i>	Solução A: 170 mg nitrato de bismuto III em 2 mL ácido acético + 8 mL água destilada. Solução B: 4 g iodeto de potássio em 10 mL ácido acético + 20 mL água destilada. Juntar as solução A e B e diluir até 100 mL com água destilada.	Compostos nitrogenados. Específico para alcalóides.
Iodo	Deixar alguns cristais em recipiente fechado.	Compostos aromáticos e insaturados.
Hidróxido de potássio	Solução a 10% em água destilada.	Antaquinonas, cumarinas
Cloreto férrico (3%)	3 g FeCl ₃ em 100 mL água destilada.	Fenóis. Compostos enolizáveis. Lactonas e taninos hidrolisáveis.

Quadro 3 – Informações sobre os reveladores utilizados nas cromatografias em camada delgada (CCD) dos extratos e das frações obtidos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Solução reveladora	Composição	Utilização
Vanilina	15 g vanilina em 250 mL etanol.	Compostos orgânicos. Taninos condensados.

Fonte: DEGANI; CASS; VIEIRA (1998); ENGEL *et al.* (2012); MATOS (2009); SOUZA (2014).

3.4 Determinação dos teores de compostos fenólicos totais (CFT) dos extratos e das frações

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 μ L dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) e das frações hexânica (Fr. Hx), diclorometano (Fr. DCM), acetato de etila (Fr. AcOEt), etanólica (Fr. EtOH), metanólica (Fr. MeOH), metanólica:*n*-butanólica (Fr. MeOH:*n*-ButOH), butanólica (Fr. *n*-ButOH) e aquosa (Fr. H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico (EtOH), preparados em concentrações variando de 50 a 2.500 μ g/mL, foram misturadas com 200 μ L do Folin-Ciocalteu a 10% e 800 μ L de carbonato de sódio a 7,5%. Depois de 2 h de incubação à temperatura ambiente, 200 μ L 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 μ L de MeOH a 95%, em substituição a extratos ou frações, e os demais reagentes.

Os resultados dos teores de CFT dos extratos e das frações, apresentados como média \pm desvio padrão, foram calculados com base na curva padrão do ácido gálico (G7384, Sigma), e expressos em miligramas de equivalentes de ácido gálico (mg EAG) por grama (g) de extratos ou frações.

3.5 Determinação dos teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) dos extratos e das frações

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 Peczalska (2014).

Em microplacas de poliestireno de 96 poços, a 100 µL dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) e das frações hexânica (Fr. Hx), diclorometano (Fr. DCM), acetato de etila (Fr. AcOEt), etanólica (Fr. EtOH), metanólica (Fr. MeOH), metanólica:*n*-butanólica (Fr. MeOH:*n*-ButOH), butanólica (Fr. *n*-ButOH) e aquosa (Fr. H₂O), obtidas a partir do extrato etanólico (EtOH), preparados em concentrações variando de 50 a 2.500 µg/mL, foram adicionados 100 µL de cloreto de alumínio a 2% em etanol. Depois de 1 h de incubação à temperatura ambiente, as absorbâncias foram monitoradas em 425 nm em leitora Biochrom Asys UVM 340. Um branco foi preparado com 100 µL de MeOH a 95%, em substituição a extratos ou frações.

Os resultados de TF dos extratos e das frações foram apresentados como média ± desvio padrão e expressos em miligramas de equivalentes de quercetina (mg EQ) por grama (g) de extratos ou frações, tendo em vista a curva padrão da quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 25, 50, 75, 100, 125, 150, 175 e 200 µg/mL.

3.6 Atividades antioxidantes *in vitro* dos extratos e das frações

3.6.1 Capacidade de sequestro do radical DPPH

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

Nos poços denominados amostra, foram adicionados 10 µL dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) e das frações hexânica (Fr. Hx), diclorometano (Fr. DCM), acetato de etila (Fr. AcOEt), etanólica (Fr. EtOH), metanólica (Fr. MeOH), metanólica:*n*-butanólica (Fr. MeOH:*n*-ButOH), butanólica (Fr. *n*-ButOH) e aquosa (Fr. H₂O), preparados em concentrações variando de 50 a 2.500 µg/mL, e 190 µL da solução metanólica de DPPH (D9132, Sigma) a 78 µM.

Os poços denominados branco das amostras foram preparados com 10 µL dos extratos ou 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.

Como controles positivos foram usados *L*-ácido ascórbico (A5960, Sigma), ácido gálico (G7384, Sigma), butil hidroxianisol (BHA, B1253, Sigma), butil hidroxitolueno (BHT,

B1215000, Sigma) e quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL, sendo tratados de forma idêntica aos extratos e frações.

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

A capacidade de sequestro do radical DPPH dos extratos, das frações e dos controles positivos foi calculada pela EQUAÇÃO 2, levando em consideração os valores de absorbância (Abs). Os resultados, expressos em porcentagem, foram apresentados como média ± desvio padrão.

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

3.6.2 Poder de quelação de íons ferrosos (FIC)

A determinação do poder de quelação de íons ferrosos (FIC) foi executada com base no método de Decker e Welch (1990), descrito por Wang, Jónsdóttir e Ólafsdóttir (2009).

Nos tubos denominados amostra, foram colocados 200 µL dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) e das frações hexânica (Fr. Hx), diclorometano (Fr. DCM), acetato de etila (Fr. AcOEt), etanólica (Fr. EtOH), metanólica (Fr. MeOH), metanólica:*n*-butanólica (Fr. MeOH:*n*-ButOH), butanólica (Fr. *n*-ButOH) e aquosa (Fr. H₂O), em concentrações variando de 50 a 2.500 µg/mL, e 20 µL de cloreto ferroso (FeCl₂) a 2 mM. Os tubos foram agitados e incubados por 5 min. Após a incubação, foram acrescentados 40 µL de ferrozina a 5 mM.

Nos tubos denominados brancos da amostra, a ferrozina foi substituída por metanol, enquanto nos tubos denominados controle negativo (ou controle da amostra), os extratos ou frações foram substituídos por metanol.

Como controles positivos foram usados *L*-ácido ascórbico (A5960, Sigma), ácido gálico (G7384, Sigma), butil hidroxianisol (BHA, B1253, Sigma), butil hidroxitolueno (BHT, B1215000, Sigma), quercetina (33.795-1, Aldrich) e sal dissódico etilenodiamino tetra-acético (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈.2H₂O – EDTA, Vetec), nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL, sendo tratados de forma idêntica aos extratos e frações.

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

O poder de quelação de íons ferrosos (FIC) dos extratos, das frações e dos controles positivos foi calculado pela EQUAÇÃO 3, levando em consideração os valores de absorvância (Abs). Os resultados, expressos em porcentagem, foram apresentados como média \pm desvio padrão.

$$FIC (\%) = \frac{[Abs_{CONTROLE NEGATIVO} - (Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO})]}{Abs_{CONTROLE NEGATIVO}} \times 100\% \quad (3)$$

3.6.3 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 100 μ L dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) e das frações hexânica (Fr. Hx), diclorometano (Fr. DCM), acetato de etila (Fr. AcOEt), etanólica (Fr. EtOH), metanólica (Fr. MeOH), metanólica:*n*-butanólica (Fr. MeOH:*n*-ButOH), butanólica (Fr. *n*-ButOH) e aquosa (Fr. H₂O), nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 μ g/mL, foram adicionados 250 μ L de tampão fosfato a 0,2 M (pH 6,6) e 250 μ L de ferricianeto de potássio a 1%. Os tubos foram incubados em banho-maria a 50 °C por 20 min, onde a reação se processou.

Após incubação e resfriamento dos tubos, a reação foi interrompida pela adição de 250 μ L de ácido tricloroacético (TCA) a 10%, sob vigorosa agitação. Os tubos foram centrifugados a 9.280 x *g* por 5 min. Em seguida, 250 μ L da camada superior da mistura reacional foram retirados e transferidos para tubos limpos, aos quais foram adicionados 250 μ L de água destilada e 50 μ L de cloreto férrico (FeCl₃) a 0,1%. Os tubos foram agitados e, deles retiradas alíquotas de 200 μ L, as quais foram transferidas para microplacas de poliestireno de 96 poços. As absorvâncias foram monitoradas a 700 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340).

Como controles positivos foram utilizados *L*-ácido ascórbico (A5960, Sigma), ácido gálico (G7384, Sigma), butil hidroxianisol (BHA, B1253, Sigma), butil hidroxitolueno (BHT, B1215000, Sigma), quercetina (33.795-1, Aldrich) e sal dissódico etilenodiamino tetraacético (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈.2H₂O – EDTA, Vetec), nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 μ g/mL, sendo tratados de forma idêntica aos extratos e frações.

Os resultados do FRAP foram apresentados em três casas decimais, porque corresponderam às leituras das absorvâncias em 700 nm, geradas pela leitora utilizada neste trabalho (Biochrom Asys, modelo UVM 340). Quanto maior a absorvância dos extratos, das frações e dos controles positivo, maior o poder de redução de íons férricos (FRAP).

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

A atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) foi determinada em microplacas de poliestireno de 96 poços, usando-se o sistema β -caroteno / ácido linoleico, de acordo com Duan *et al.* (2006).

Inicialmente, foi preparada uma solução de β -caroteno (C9750, Sigma) em clorofórmio na concentração de 1 mg/mL. Uma alíquota de 4 mL dessa solução 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 de ambos os balões foi evaporado em evaporador rotativo (Fisatom, modelo 802), sob pressão e, em seguida, 100 mL de água destilada saturada de oxigênio, concentração superior a 7,85%, foram adicionados lentamente ao resíduo semissólido, sob vigorosa agitação por 1 min até a formação de emulsão estável. A primeira foi denominada emulsão com β -caroteno (EC β), e a segunda, emulsão sem β -caroteno (ES β), que foi utilizada no branco da amostra.

Na microplaca de poliestireno de 96 poços foram colocados, separadamente, 50 μ L dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) e das frações hexânica (Fr. Hx), diclorometano (Fr. DCM), acetato de etila (Fr. AcOEt), etanólica (Fr. EtOH), metanólica (Fr. MeOH), metanólica:*n*-butanólica (Fr. MeOH:*n*-ButOH), butanólica (Fr. *n*-ButOH) e aquosa (Fr. H₂O), nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 μ g/mL, e 200 μ L da EC β , correspondendo à amostra.

As absorvâncias foram monitoradas a 470 nm (Biochrom Asys, modelo UVM 340) no tempo inicial (0 min). A microplaca foi deixada sobre a bancada, à temperatura ambiente (24 °C), e as absorvâncias monitoradas em intervalos de 60 min, até completar 300 min (tempo final). O branco da amostra foi preparado com os extratos e as frações nas diferentes concentrações (50 a 2.500 μ g/mL) e ES β . Os controles negativos (ou controles da amostra) foram preparados com 50 μ L de metanol e 200 μ L de EC β .

L-ácido ascórbico (A5960, Sigma), ácido gálico (G7384, Sigma), butil hidroxianisol (BHA, B1253, Sigma), butil hidroxitolueno (BHT, B1215000, Sigma), quercetina (33.795-1, Aldrich) e sal dissódico etilenodiamino tetra-acético (C₁₀H₁₄N₂Na₂O₈.2H₂O – EDTA, Vetec), nas concentrações 50, 100, 250, 500, 1.000, 1.500, 2.000 e 2.500 µg/mL, foram utilizados como controles positivos, sendo tratados de forma idêntica aos extratos e frações.

A atividade inibitória do branqueamento do β-caroteno (BCB) do extrato, das frações e dos controles positivos, foi calculada pela EQUAÇÃO 4 (DHONGADE; CHANDEWAR, 2013), levando em consideração os valores de absorbância (Abs). Os resultados, expressos em porcentagem, foram apresentados como média ± desvio padrão.

$$BCB (\%) = \left(\frac{Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO \text{ tempo final}}}{Abs_{AMOSTRA} - Abs_{BRANCO \text{ tempo inicial}}} \right) \times 100\% \quad (4)$$

Todas as determinações das atividades antioxidantes *in vitro* dos extratos, das frações e dos controles positivos foram realizadas em quadruplicata para cada concentração.

3.7 Atividade antimicrobiana

Os extratos hexânico (Hx) e etanólico (EtOH) e as frações hexânica (Fr. Hx) e etanólica (Fr. EtOH) foram avaliados quanto ao seu potencial antimicrobiano (antibacteriano e antifúngico). Como indicadores desse potencial foram utilizadas cepas de micro-organismos que fazem parte do Acervo Microbiológico do Laboratório de Microbiologia Ambiental e do Pescado (LAMAP), do Instituto de Ciências do Mar (Labomar)/UFC, onde as análises foram realizadas.

Os extratos e as frações foram diluídos com água destilada para obtenção da solução-estoque. Essa solução-estoque foi diluída em série para gerar as dez concentrações de trabalho, partindo de 1.000 até 1,953125 µg/mL.

3.7.1 Atividade antibacteriana

A atividade antibacteriana foi determinada pelo método de microdiluição em microplacas de poliestireno de 96 poços (HARIKRISHNAN *et al.*, 2021), que permitiu determinar a menor quantidade da amostra necessária para inibir o crescimento microbiano visível, valor conhecido como concentração inibitória mínima (CIM) e, posteriormente, estimar

a concentração bactericida mínima (CBM), equivalente à menor concentração da amostra capaz de matar 99,9% do inóculo do micro-organismo teste.

Para isso foram utilizados os micro-organismos teste *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), suspensos em caldo Müller Hinton duplo, e ajustados pela escala de McFarland a 5×10^5 UFC/mL. O antibiótico comercial utilizado como controle foi a ampicilina trihidratada (A6140, Sigma) na concentração 4 µg/mL. As amostras (extratos e frações) foram preparadas em diferentes concentrações (1.000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625, 7,8125, 3,90625 e 1,953125 µg/mL).

Os poços, preenchidos com volume total de 200 µL, foram preparados em triplicata e denominados: (1) amostra contendo caldo Müller Hinton duplo + micro-organismo teste + extratos ou frações nas diferentes concentrações; (2) branco contendo apenas o caldo Müller Hinton duplo; (3) controle negativo contendo caldo Müller Hinton duplo + micro-organismo teste + ampicilina; e (4) controle positivo contendo caldo Müller Hinton duplo + micro-organismo teste.

As absorbâncias foram monitoradas em 600 nm, em leitora de microplacas, e usadas para o cálculo da inibição celular ou concentração inibitória média, expressa em porcentagem, de acordo com a EQUAÇÃO 5.

$$\text{Inibição celular (\%)} = \left(\frac{\text{Abs}_{\text{CONTROLE POSITIVO}} - \text{Abs}_{\text{AMOSTRA}}}{\text{Abs}_{\text{CONTROLE POSITIVO}}} \right) \times 100\% \quad (5)$$

A concentração inibitória mínima (CIM) foi determinada em placas de Petri contendo ágar Müller Hinton, incubadas a 37° C por 24 h. Naquelas concentrações em que não houve crescimento bacteriano, a concentração bactericida mínima (CBM) foi estimada pelo subcultivo no mesmo meio e nas mesmas condições de incubação (JAYATILAKE; MUNASINGHE, 2020; TECHAOEI *et al.*, 2020).

A concentração inibitória (IC₅₀) foi determinada pela ação bactericida em 50% dos micro-organismos. Para isso, as médias das porcentagens de inibição celular (variável dependente) e as diferentes concentrações (1.000, 500, 250, 125, 62,5, 31,25, 15,625, 7,8125, 3,90625 e 1,953125 µg/mL) dos extratos Hx e EtOH e das Fr. Hx e Fr. EtOH (variável independente) foram plotadas separadamente, no plano cartesiano de coordenadas para estabelecer a faixa de linearidade, considerada para obtenção da equação da reta ($y = a + bx$), a partir da qual o IC₅₀ foi calculado.

3.7.2 Atividade antifúngica

Para avaliar a atividade antifúngica, os extratos e as frações foram testados frente a uma cepa ambiental do fungo filamentosso *Aspergillus niger*, usando o método de inibição do crescimento radial em placas, que é um teste preliminar.

A cultura fúngica foi repicada em placas de Petri contendo ágar dextrose batata (ADB) e incubadas a 28 °C por 7 dias. Terminado este período de tempo, os esporos foram transferidos para o centro de uma placa de Petri contendo ADB.

Nas extremidades das placas foram depositados os extratos e as frações nas concentrações de 1.000, 500, 250 e 125 µg/mL. As placas foram incubadas a 28 °C por 7 dias. O teste foi realizado em duplicata.

A avaliação da atividade antifúngica foi feita pela comparação do crescimento da colônia do fungo filamentosso na presença dos extratos e das frações, com o crescimento do fungo na placa contendo apenas ADB.

3.8 Avaliação toxicológica dos extratos e das frações

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

A determinação da fitotoxicidade baseiou-se na inibição do crescimento radicular nos sete primeiros dias de germinação das sementes e foi realizado seguindo a metodologia de Belo (2011), Kohatsu *et al.* (2018) e Vieira *et al.* (2016), com adaptações.

O experimento foi desenvolvido em placas de Petri (90 × 15 mm), forradas com papel filtro qualitativo (80 g) e umedecidas com 5 mL dos extratos hexânico (Hx) e etanólico (EtOH) e das frações hexânica (Fr. Hx) e etanólica (Fr. EtOH), separadamente. Todas as amostras foram preparadas em quadruplicata, com dez sementes de *Cucumis sativus* (pepino aodai melhorado), da marca ISLA (lote 152378-000, germinação S2 96%, safra 21/21, validade março de 2024, pureza 100%), que foram adquiridas comercialmente.

As placas foram devidamente identificadas, tampadas e vedadas com filme plástico para evitar a perda de água por evaporação, e incubadas à temperatura ambiente (24 °C), com fotoperíodo de 12 h claro com luz de led (G-light® T8 Tubular G13 20 W 100-240 V 190° FP > 0,92 6500 K branco frio 60 Hz 8 GL 10/18) e 12 h escuro, em um sistema controlado por *timer* temporizador analógico (BND – 60/B2 220 V~ 60 Hz µ – 16 (2) A 3520 W), com período de 24 h (granularidade de 15 min), durante 7 dias (168 h).

Nas placas denominadas amostra, 5 mL dos extratos Hx e EtOH e de Fr. Hx e Fr. EtOH, suspensos em água destilada na concentração de 100 µg/mL, foram usados para umedecer o papel de filtro. Do terceiro ao sexto dia de experimento, 1 mL dos extratos e das frações foi adicionado nas placas para garantir a umidade das sementes.

Duas placas denominadas controle positivo foram tratadas da mesma maneira, em que se utilizou apenas a solução salina (NaCl) a 0,5% e a solução salina (NaCl) a 0,5% acrescida de dez gotas de clorofórmio. Outras duas placas foram denominadas controle negativo (ou controle da amostra) em que se utilizou apenas água destilada e água destilada acrescida de dez gotas de clorofórmio. A adição de clorofórmio foi necessária para ajudar na dissolução do extrato e da fração EtOH.

A cada 24 h, as sementes foram avaliadas para verificar a protrusão radicular e, ao final de 7 dias da semeadura, as plântulas foram avaliadas quanto ao desenvolvimento da radícula e da parte aérea. O número de sementes germinadas e o crescimento radicular, medido com paquímetro digital KALA (exatidão $\pm 0,2$ mm/0,01 (< 100 mm) $\pm 0,3$ mm/0,01 (>100-200 mm)), foram registrados e usados para os cálculos da porcentagem relativa de germinação (RSG, %) (EQUAÇÃO 6), porcentagem relativa de crescimento radicular (RRG, %) (EQUAÇÃO 7), e por fim, o cálculo do índice de germinação (IG, %) (EQUAÇÃO 8).

$$RSG (\%) = \frac{\text{média das sementes germinadas na amostra}}{\text{média das sementes germinadas no controle negativo}} \times 100\% \quad (6)$$

$$RRG (\%) = \frac{\text{média do comprimento das raízes na amostra}}{\text{média do comprimento das raízes no controle negativo}} \times 100\% \quad (7)$$

$$IG = \frac{\%RSG \times \%RRG}{100} \quad (8)$$

A porcentagem de germinação e o crescimento radicular dos controles positivo e negativo, sem e com a adição de clorofórmio, foram comparados pelo teste *t* de Student bilateral para dados independentes.

O nível de fitotoxicidade dos extratos e das frações foi classificado de acordo com os valores percentuais de IG das sementes de pepino aodai (QUADRO 4), de acordo com Belo (2011).

Quadro 4 – Classificação qualitativa da fitotoxicidade, com base no índice de germinação (IG, %), dos extratos hexânico (Hx) e etanólico (EtOH) e das frações hexânica (Fr. Hx) e etanólica (Fr. EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

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

Fonte: Adaptado de BELO (2011).

3.8.2 Atividade citotóxica contra náuplios de *Artemia* sp.

O teste de resposta tóxica foi realizado pelo método de eclosão dos cistos do microcrustáceo marinho da Ordem Anostraca, *Artemia* sp., conforme descrito por Meyer *et al.* (1982), com algumas adaptações. Os cistos desidratados foram adquiridos no comércio varejista de aquarismo em Fortaleza, Ceará, com taxa de eclosão de 90%.

Inicialmente, 500 mg de cistos foram pesados e colocados em um béquer contendo 500 mL de água destilada, munido de aeração injetada por uma bomba de aquário e de iluminação fornecida por uma lâmpada de luz branca 18 W, permanecendo assim por 2 h.

Após o período de hidratação, a água foi drenada. Em seguida, os cistos, já hidratados, foram lavados primeiramente com hipoclorito de sódio (NaClO) a 50% até atenuação da coloração marrom original, e depois com água corrente, para remoção de quaisquer resquícios de NaClO. Finalmente, os cistos foram transferidos para um béquer, contendo 500 mL de água do mar (1 g/L), deixados sob iluminação de uma lâmpada de led (G-light® T8 Tubular G13 20 W 100-240 V 190° FP > 0,92 6500 K branco frio 60 Hz 8 GL 10/18), posicionada a uma distância aproximada de 30 cm. A aeração da água foi iniciada 15 min antes da transferência dos cistos e mantida durante todo o tempo de incubação (48 h), à temperatura de 25 °C, salinidade de 32 e pH 9,0.

O procedimento consistiu na preparação das soluções-estoque dos extratos (Hx e EtOH) e das frações (Fr. Hx e Fr. EtOH) pela dissolução de 5 mg de cada um em 500 µL de dimetilsulfóxido (DMSO) e adição de 4.500 µL de água do mar. A partir daí foram preparadas diluições seriadas para obtenção das concentrações teste: 100, 50, 25 e 12,5 µg/mL.

O bioensaio foi realizado em placas de acrílico de 24 poços. Em cada poço foram colocados dez náuplios de *Artemia* sp., na fase II de desenvolvimento. Neles foram adicionados

2,5 mL dos extratos (Hx e EtOH) ou das frações (Fr. Hx e Fr. EtOH) nas concentrações de 100, 50, 25 e 12,5 µg/mL. Como controle negativo foi utilizado 2,5 mL de água do mar e como controle positivo 2,5 mL de água do mar com dimetilsulfóxido (DMSO). O controle positivo foi preparado com 4.500 µL de água do mar e 500 µL DMSO. Todas as amostras foram preparadas em quadruplicata.

As placas foram mantidas por 48 h à temperatura de 25 °C. Com auxílio de uma lupa, o número de náuplios mortos foi contado após 24 h de incubação e no final do ensaio, com 48 h. A morte dos indivíduos foi evidenciada pela ausência de movimento e, para considerar o ensaio válido, foi admitida uma mortalidade máxima de 10% no controle negativo.

3.9 Avaliação de filmes comestíveis

As soluções filmogênicas foram preparadas com carragenana e glicerol e, em seguida, incorporadas com 1, 2 e 4 mg do extrato hexânico (Hx) e da fração hexânica (Fr. Hx).

A qualidade dos filmes comestíveis foi avaliada. As espessuras das películas foram medidas, e os efeitos da adição do extrato e da fração sobre as propriedades de permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água e cor foram determinados no Laboratório de Tecnologia do Pescado (LATEPE) do Departamento de Engenharia de Pesca/UFC.

3.9.1 Preparação das soluções dos filmes e revestimentos comestíveis

Os filmes foram produzidos pela técnica de *casting* (ou evaporação do solvente) seguindo as metodologias propostas por Arcan e Yemenicioglu (2011), Souza; Ditchfield; Tadini (2010), Vásquez *et al.* (2009) e Velásquez-Hernández *et al.* (2021), com adaptações.

Uma solução de carragenana, extraída da macroalga marinha vermelha *Hypnea musciformis*, foi preparada na concentração de 1,5% (m/v), pela dissolução de 6 g do polissacarídeo sulfatado em 400 mL de água destilada, mantida sob agitação mecânica constante durante 2 h.

Dessa solução foram usadas três porções de 120 mL cada, nas quais foram adicionados 300 µL de glicerol (agente plastificante), responsável por conferir maleabilidade ao filme e por reorganizar as cadeias poliméricas dos polissacarídeos. Em seguida, diferentes quantidades do extrato Hx e da Fr. Hx (1, 2 e 4 mg) foram acrescentadas e deixadas sob agitação em um agitador magnético por 30 min.

3.9.2 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

A permeabilidade ao vapor de água (PVA) foi determinada pelo método gravimétrico ASTM-E-96-92 com adaptações (GUILLARD *et al.*, 2003; MCHUGH; AVENA-BUSTILLOS; KROCHTA, 1993), e consistiu na taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área, através de um filme de espessura conhecida, a qual foi induzida por um gradiente de pressão entre duas superfícies específicas, de umidade relativa e temperatura conhecidas.

Os filmes preparados foram selados no topo de células de permeação, contendo 50 mL de água destilada, com umidade relativa de 100% e pressão de vapor de 2.337,808 Pa a 20 °C. As células foram colocadas em um dessecador contendo sílica gel, a 25 °C e 10% de umidade relativa. As condições de pressão de água em estado estacionário foram consideradas uniformes.

As células de permeação foram pesadas em intervalos de 2 h, durante 8 h, para o cálculo da perda de peso. Após o período de 8 h, as espessuras dos filmes de cada amostra (extrato e fração) foram medidas, em milímetros, com auxílio de um micrômetro digital (Digimess, São Paulo, Brasil), em nove posições diferentes.

Em seguida, os dados de perda de peso, expressos em gramas (variável dependente) foram plotados no plano cartesiano de coordenadas em função do tempo, expresso em horas (variável independente), para calcular os coeficientes angulares (b) das equações lineares correspondentes ao extrato Hx e à Fr. Hx (1, 2 e 4 mg).

As taxas de transmissão de vapor de água foram estimadas pela razão entre os coeficientes angulares de cada equação linear e a área dos filmes, medida em mm² e depois transformada em m² (5.674,502 mm² = 0,005675 m²).

Finalmente, a transferência da água do interior da célula de permeação para a sílica gel presente no dessecador, correspondente a PVA, foi calculada considerando a taxa de transmissão de vapor de água através do filme (TTVA, g/m² h), a espessura média do filme (L, m) e a diferença de pressão parcial de vapor da água nos dois lados do filme (ΔP , atm), conforme a EQUAÇÃO 10, sendo expressa em g/dia m atm.

$$PVA = \frac{(TTVA \times L)}{\Delta P} \quad (10)$$

3.9.3 Solubilidade em água (S)

A matéria seca inicial (MS_i) dos filmes foi determinada por secagem dos discos com 2 cm de diâmetro, cortados com auxílio de um bisturi cirúrgico de aço inoxidável, e deixados em uma estufa a 100 °C por 24 h. Terminado o tempo de secagem, os discos foram pesados e imersos em 50 mL de água destilada, com agitação periódica de 82 rpm em uma mesa agitadora orbital SL 180 (marca SOLAB), por 24 h a 25 °C. Em seguida, os filmes foram retirados, levados novamente à estufa a 100 °C por 24 h, para determinação da matéria seca final (MS_f).

A solubilidade em água (S) foi definida como a porcentagem da matéria seca do filme, após 24 h de imersão em água destilada (GONTARD; GUILBERT; CUQ, 2006), sendo calculada pela EQUAÇÃO 11. As determinações foram realizadas em triplicata.

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

3.9.4 Cor

As coordenadas de cor dos filmes foram determinadas segundo a metodologia proposta por Cian *et al.* (2014), usando um colorímetro digital (Konica Minolta Chroma metre CR-400).

De acordo com a escala de cores do sistema CIELab (L^* , a^* e b^*), desenvolvida em 1975 por Hunter, o sensor de refletância da amostra foi utilizado para medir o grau de luminosidade (L^*), vermelhidão ($+a^*$), esverdeamento ($-a^*$), amarelecimento ($+b^*$) ou azulamento ($-b^*$) dos filmes.

O instrumento foi calibrado com uma placa padrão com as seguintes coordenadas de cores: L^* padrão = 96,7; a^* padrão = -0,03; e b^* padrão = +1,73. Foram preparadas sete repetições para cada amostra de filme.

Os resultados da análise de cor (L^* , a^* e b^*) dos extrato e fração hexânicos (1, 2 e 4 mg) foram comparados pelo teste de Kruskal-Wallis, seguido do teste de Dunn, adotado um nível de significância de 5%.

3.10 Análises estatísticas

Os resultados das quantificações dos teores de compostos fenólicos totais (CFT) e flavonoides (TF) e das atividades antioxidantes e toxicológicas, usando sementes de pepino e náuplios de *Artemia* sp., foram apresentados como média \pm desvio padrão.

Os dados foram submetidos à análise de variância unifatorial, complementada pelo teste de Tukey, quando necessário, para comparação das concentrações dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) e das frações hexânica (Fr. Hx), diclorometano (Fr. DCM), acetato de etila (Fr. AcOEt), etanólica (Fr. EtOH), metanólica (Fr. MeOH), metanólica:*n*-butanólica (Fr. MeOH:*n*-ButOH), *n*-butanólica (Fr. *n*-ButOH) e aquosa (Fr. H₂O) do extrato etanólico (EtOH) de *L. variegata*.

A existência de correlação de Pearson entre concentração do controle positivo e atividade antioxidante foi avaliada e, no caso de resultado estatisticamente significativo, a regressão linear foi estabelecida.

Para todas as análises estatísticas, os pressupostos de normalidade e homocedasticidade foram testados para aplicação de testes paramétricos nos casos de obediência às exigências ou de testes não-paramétricos, quando elas não foram atendidas. Todas as análises foram realizadas usando o *software* BioEstat v. 5.3. O nível de significância estatística foi estabelecido em 5%.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 Rendimentos dos extratos e das frações

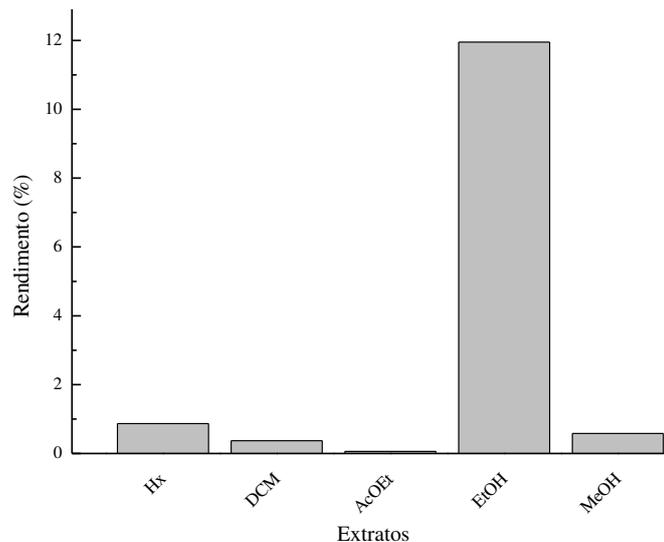
As massas resultantes dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) de *L. variegata* foram 0,606 g, 0,260 g, 0,043 g, 8,365 g e 0,406 g, respectivamente. Estes valores corresponderam a rendimentos de 0,87%, 0,37%, 0,06%, 11,95% e 0,58%, considerando-se que a massa inicial de 70 g equivaleu a 100% para todos os extratos (TABELA 1, GRÁFICO 1).

Tabela 1 – Rendimentos dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Identificação	Extratos				
	Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH
Massa inicial (g)	70,0	70,0	70,0	70,0	70,0
Massa resultante (g)	0,606	0,260	0,043	8,365	0,406
Rendimento (%)	0,87	0,37	0,06	11,95	0,58

Fonte: AUTORA (2023).

Gráfico 1 – Rendimentos dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

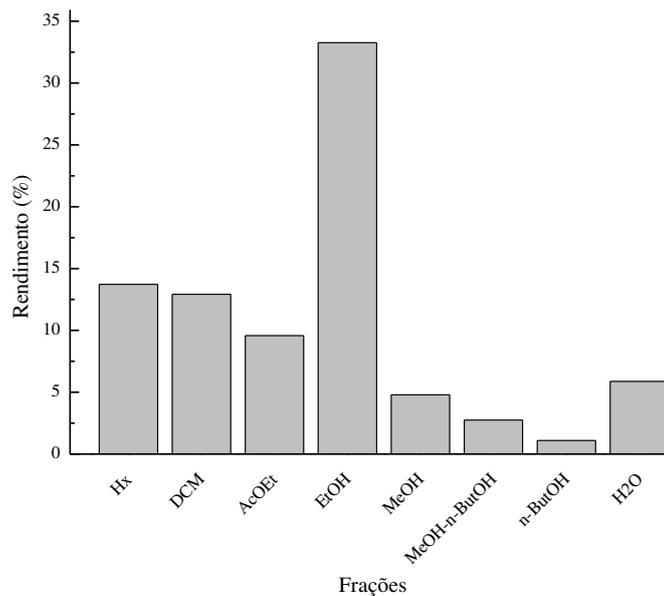
As massas resultantes das frações hexânica (Fr. Hx), diclorometano (Fr. DCM), acetato de etila (Fr. AcOEt), etanólica (Fr. EtOH), metanólica (Fr. MeOH), metanol/*n*-butanol (Fr. MeOH/*n*-butOH), *n*-butanol (Fr. *n*-butOH) e aquosa (Fr. H₂O) do extrato etanólico (EtOH) de *L. variegata* foram, respectivamente, 0,189 g, 0,178 g, 0,132 g, 0,458 g, 0,066 g, 0,038 g, 0,015 g e 0,081 g, correspondendo a rendimentos de 13,72%, 12,92%, 9,58%, 33,26%, 4,79%, 2,75%, 1,09% e 5,88%, considerando-se que a massa inicial de 1,377 g equivaleu a 100% (TABELA 2, GRÁFICO 2).

Tabela 2 – Rendimentos das frações do extrato etanólico (EtOH), da macroalga *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Identificação	Frações do extrato etanólico (EtOH)							
	Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH	MeOH/ <i>n</i> -ButOH	<i>n</i> -ButOH	H ₂ O
Massa inicial (g)	1,377	1,377	1,377	1,377	1,377	1,377	1,377	1,377
Massa resultante (g)	0,189	0,178	0,132	0,458	0,066	0,038	0,015	0,081
Rendimento (%)	13,72	12,92	9,58	33,26	4,79	2,75	1,09	5,88

Fonte: AUTORA (2023).

Gráfico 2 – Rendimentos das frações do extrato etanólico (EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

Os rendimentos dos extratos e das frações, obtidos neste trabalho, usando a metodologia de extração com solventes de polaridades crescentes, volume fixo dos solventes e adição de solvente para re-extração, de acordo com a observação da coloração do solvente, apresentaram valores dentro do amplo intervalo de variação relatado na literatura para macroalgas marinhas (MAHMOUD *et al.*, 2019).

Solventes alcóolicos estão entre os principais solventes escolhidos para extração de compostos algais. No presente trabalho, os rendimentos dos extratos da macroalga marinha parda *L. variegata* preparados com etanol e metanol resultaram em rendimentos de 11,95% e 0,58%, respectivamente. Comparados aos resultados de Sathya *et al.* (2017), utilizando metanol como solvente extrator da macroalga marinha parda *Cystoseira trinodis* (25,808%), tais valores foram inferiores. Resultados diferentes foram observados para as frações. No presente trabalho, as frações do extrato etanólico (EtOH) renderam: 12,92% (Fr. DCM), 9,58% (Fr. AcOEt) e 1,09% (Fr. BuOH). Esses rendimentos foram superiores aos reportados por Sathya *et al.* (2017), correspondentes a 1,656% (Fr. DCM), 0,808% (Fr. AcOEt) e 0,604% (Fr. BuOH), todas obtidas a partir do extrato metanólico.

A eficiência do isolamento de compostos bioativos está diretamente relacionada à complexidade das moléculas presentes nas amostras e sua afinidade pelos solventes extratores. Vega *et al.* (2020) descobriram que os extratos hidroetanólicos da maioria das espécies de macroalgas estudadas (cinco Rhodophyta, duas Ochrophyta e três Chlorophyta) exibiram maior poder redutor (atividade antioxidante) do que os extratos metanólicos. Esses resultados ratificaram as afirmações de Matsukawa *et al.* (1997) e Álvarez-Gómez, Korbee e Figueroa (2016) sobre a polaridade do solvente e o processo utilizado para a extração influenciarem a composição e as propriedades dos extratos.

A combinação de solventes é outra forma de maximizar os rendimentos da extração e obter substâncias com características bioativas. Flórez-Fernández, Domínguez e Torres (2019), em seu artigo de revisão, destacaram que a utilização de solventes de diferentes polaridades tem um impacto significativo na extração de diferentes compostos de algas marinhas. Solventes orgânicos, como etanol, metanol, acetona, clorofórmio, ou suas misturas binárias, como clorofórmio:metanol, têm sido empregados para extração de componentes antioxidantes, como polifenóis, flavonoides e carotenoides. No presente trabalho, o etanol foi o solvente que apresentou maior rendimento para o extrato (11,95%) e para a fração (33,26%). Contudo, ao contrário do que está relatado na literatura sobre combinação de solventes, neste trabalho, a fração obtida pela mistura de metanol e *n*-butanol (Fr. MeOH-*n*-ButOH) apresentou rendimento muito baixo (2,75%).

Nurrochmad *et al.* (2018) utilizaram a combinação binária de etanol e água (EtOH e H₂O – 96%) e conseguiram extrair fucoxantina do extrato ($284,9 \pm 3,3$ µg/g peso seco) e da fração ($653,4 \pm 30,6$ µg/g peso seco) da macroalga marinha parda *Turbinaria decurrens*, com rendimentos de 28,49% e 65,34%, respectivamente, referentes ao composto isolado.

Para Thoo *et al.* (2010), devido à complexidade das estruturas e das propriedades dos compostos bioativos, não existe um protocolo universal de extração disponível. Por isso, diferentes solventes, técnicas e equipamentos devem ser utilizados a fim de otimizar a extração e maximizar os rendimentos, mas sem aumentar os custos operacionais.

Flórez-Fernández, Domínguez e Torres (2019) sugeriram que os processos de extração com solventes orgânicos podem ser melhorados e/ou intensificados, quando associados simultaneamente a outras técnicas, por exemplo, o uso de ultrassom.

Segundo Okolie *et al.* (2017), extrações aquosas e com ácidos diluídos, usando tecnologias de micro-ondas e ultrassonicação e métodos enzimáticos, têm sido exploradas para melhorar o rendimento de extração de polissacarídeos de macroalgas marinhas. Praveen *et al.* (2019) utilizaram dois métodos de extração de polissacarídeos de macroalgas indianas comestíveis (*Sargassum wightii*, *Enteromorpha compressa* e *Acanthophora spicifera*): extração com água quente acidificada (HWE) e extração assistida por enzimas (EAE). Os autores constataram que o método EAE [pancreatina (PAE), celulase com pepsina (CPAE) e pancreatina-celulase-pepsina (PCPAE)] apresentou rendimentos superiores ao método HWE, obedecendo a seguinte ordem crescente: PCPAE > CPAE > PAE > HWE.

Para eleger a técnica de extração mais eficiente para a macroalga marinha parda *Padina pavonica*, Fayad *et al.* (2017) utilizaram extração líquida pressurizada (ELP), extração assistida por micro-ondas (EAM), extração por fluido supercrítico (EFS) e extração por eletroporação. Diferentes parâmetros (natureza do solvente, tempo, temperatura de extração e número de ciclos) foram avaliados e cuidadosamente otimizados, com o objetivo de extrair anticorpos anti-hialuronidase, usados na indústria de cosméticos. Os extratos aquosos de *P. pavonica* obtidos por ELP (água; 60 °C; 2 ciclos) e por EAM (água; 60 °C; 1.000 W; 2 min) produziram as inibições mais potentes, com valores de IC₅₀ muito baixos de apenas poucas dezenas de microgramas por mililitro.

Entretanto, para Górká e Wieczorek (2017), o método de extração de grupos não polares de compostos, como ácidos graxos ou pigmentos, usando fluido supercrítico (EFS), foi considerado o mais ecologicamente correto, devido aos baixos níveis de pressão e temperatura necessários, reduzindo consumo de solvente, além de não apresentar toxicidade.

Como apresentado nos parágrafos anteriores, a escolha do método de extração e os ajustes das variáveis envolvidas no procedimento podem contribuir para otimizar os rendimentos dos extratos, além de favorecer a obtenção de um número maior de compostos com atividade biológica. Contudo, ainda há entraves para obtenção de determinados tipos de bioativos. Os pigmentos das algas marinhas, por exemplo, apresentam reconhecido potencial biotecnológico, no entanto, Freitas *et al.* (2022) consideraram que as metodologias de extração e de purificação desses pigmentos são os maiores desafios para obtê-los.

Liu *et al.* (2019) usaram as metodologias de *design* e de superfície de resposta Box-Behnken com o intuito de obter extratos brutos da ocrófito *Ascophyllum nodosum* com alto rendimento e forte atividade antioxidante. Para isso, os autores investigaram três variáveis: a relação entre solvente e sólido (30 a 70 mL/g), a concentração de etanol no sistema solvente (40 a 80%) e a temperatura de extração (20 a 60 °C), tendo constatado que as diferentes combinações das variáveis foram responsáveis pela obtenção de resultados distintos quanto aos rendimentos e atividade antioxidante. O maior rendimento de extrato (55,6 mg extrato/g algas) foi alcançado com a combinação da temperatura de extração (60 °C), relação solvente/sólido (40,01 mL/g) e concentração de etanol (44,83%), enquanto a maior atividade antioxidante ($1/IC_{50} = 74,01$ mL/mg) foi lograda com a combinação da temperatura de extração (20 °C), relação solvente/sólido (70 mL/g) e concentração de etanol (80%).

Novas metodologias, técnicas e ajustes devem ser testados com o objetivo de favorecer e/ou melhorar a obtenção dos biocompostos. Han *et al.* (2022) utilizaram quatro diferentes métodos de extração: fervura (SBE), imersão (SSE), autoclavagem (SAE) e etanol (SEE), para obtenção de estimulantes naturais da ocrófito *Sargassum horneri*. Esses estimulantes foram usados para verificar a capacidade da macroalga marinha vermelha *Neopyropia yezoensis* em aumentar sua tolerância térmica quando cultivada nas temperaturas de 10 °C e 20 °C. O método SBE foi o mais eficiente para a extração dos estimulantes naturais, os quais melhoraram a tolerância térmica de *N. yezoensis* e, ainda, contribuíram para aumentar sua produção em 185%, em comparação ao controle a 20 °C.

Assim, para que o processo de extração seja eficiente e a obtenção de biomoléculas com características biotecnológicas seja otimizada, é importante que os métodos de extração sejam mais eficientes. Simultaneamente, os esforços devem ter como objetivo a redução do tempo, dos custos e da quantidade de solvente utilizada e, se possível, que sejam adicionados às técnicas, equipamentos que ajudem a maximizar os resultados. Esses ajustes nas variáveis são importantes para se conseguir êxito na obtenção das biomoléculas de interesse e diminuir o impacto no meio ambiente.

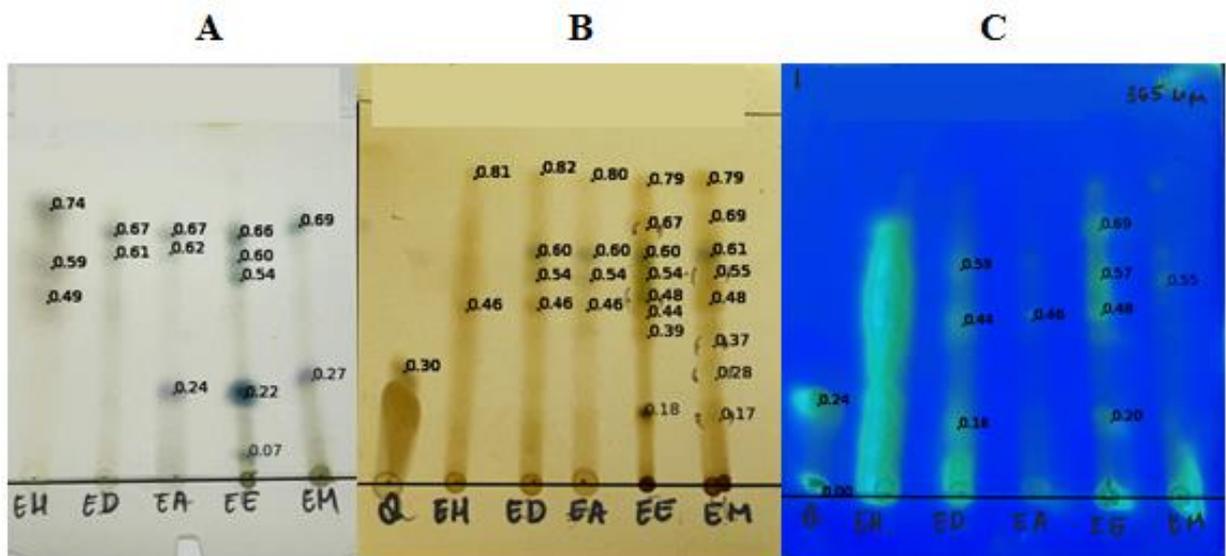
4.2 Perfil cromatográfico por cromatografia em camada delgada (CCD)

Foram obtidos vários perfis cromatográficos por CCD em gel de sílica 60 G, porém a marcante diferença de polaridade entre as amostras dificultou a obtenção de uma condição cromatográfica única para separação de todos os compostos presentes nos extratos e nas frações de *L. variegata*.

Dessa forma, foram propostos e otimizados dois sistemas eluentes distintos: (1) hexano:acetato de etila (Hx:AcOEt – 50:50) e (2) acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂ – 3:3:1:1), onze reveladores e três padrões (ácido ascórbico, ácido gálico e quercetina).

No sistema eluente Hx:AcOEt (50:50), usando os reveladores ácido sulfúrico, vapor de iodo e permanganato de potássio, foi possível observar, em todos os extratos, um número maior de compostos revelados (FIGURA 4).

Figura 4 – Perfis cromatográficos e respectivos valores do fator de retenção (Rf) dos extratos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: hexano:acetato de etila (Hx:AcOEt – 50:50). Identificação dos extratos: EH (extrato hexânico), ED (extrato diclorometano), EA (extrato acetato de etila), EE (extrato etanólico) e EM (extrato metanólico). Identificação do padrão: Q (quercetina). Identificação dos reveladores: ácido sulfúrico (A), vapor de iodo (B) e permanganato de potássio (C).



Fonte: AUTORA (2023).

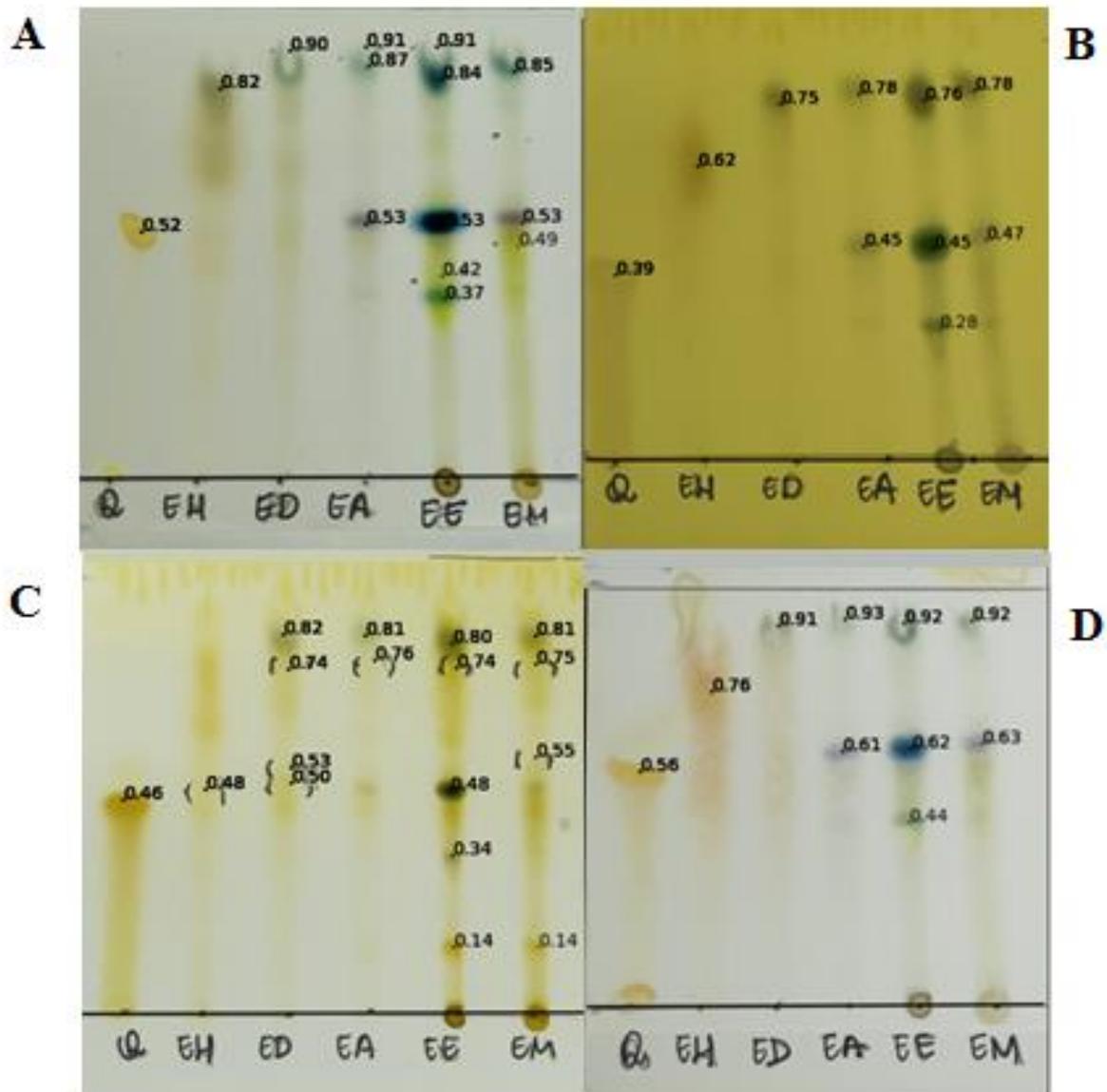
Os compostos que apareceram marcados da base até o meio das cromatoplasmas possuíam características apolares, enquanto os que apareceram do meio até a linha superior possuíam características polares. Os fatores de retenção (Rf) foram calculados com base na distância, em milímetros, percorrida por cada composto na cromatoplasma.

Cada revelador utilizado indicou a classe a qual aqueles compostos marcados na cromatoplaca pertenciam. Os *spots* da cromatoplaca da Figura 4A, revelada com ácido sulfúrico, possivelmente pertencem à classe dos fenóis e dos compostos enolizáveis; os *spots* da cromatoplaca da Figura 4B, revelada com vapor de iodo, são compatíveis com compostos aromáticos e insaturados; e os *spots* da cromatoplaca da Figura 4C, que foram revelados com permanganato de potássio, são concernentes à classe dos olefinas, alcinos e aromáticos, além de ter sido detectada a presença de compostos que emitem fluorescência.

No sistema eluente acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂ – 3:3:1:1), observou-se uma prevalência de *spots* correspondentes a compostos com características polares, tendo em vista sua distribuição próximo à linha superior das cromatoplas. Nesse sistema, as cromatoplas com mais compostos identificados foram aquelas reveladas com ácido sulfúrico, reagente de Dragendorff, vapor de iodo e vanilina (FIGURA 5).

Nas cromatoplas apresentadas na Figura 5, a maioria dos compostos encontrados apresentou R_f superior a 0,50 mm e com características polares. Os grupos aos quais esses compostos pertencem são possivelmente: fenóis e compostos enolizáveis (revelador: ácido sulfúrico, FIGURA 5A), alcaloides e compostos nitrogenados (revelador: reagente de Dragendorff, FIGURA 5B), compostos aromáticos e insaturados (revelador: vapor de iodo, FIGURA 5C) e compostos orgânicos e taninos condensados (revelador: vanilina, FIGURA 5D).

Figura 5 – Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) dos extratos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂ – 3:3:1:1). Identificação dos extratos: EH (extrato hexânico), ED (extrato diclorometano), EA (extrato acetato de etila), EE (extrato etanólico) e EM (extrato metanólico). Identificação do padrão: Q (quercetina). Identificação dos reveladores: ácido sulfúrico (A), reagente de Dragendorff (B), vapor de iodo (C) e vanilina (D).



Fonte: AUTORA (2023).

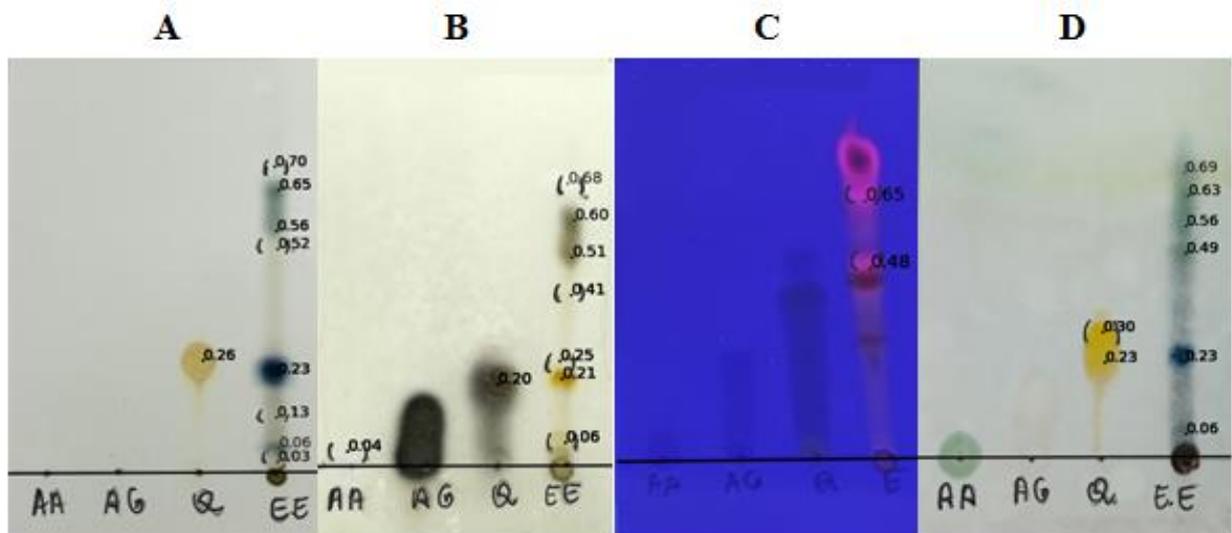
Por ter apresentado a maior quantidade de compostos revelados nas cromatoplacas, o maior rendimento entre os extratos (11,95%) e um amplo espectro de atividades biológicas, o extrato etanólico (EtOH) foi escolhido para ser submetido a cromatografia em coluna (CC), a fim de fazer uma pré-separação dos compostos presentes, de acordo com a polaridade do solvente eluído na coluna.

No sistema eluente Hx:AcOEt (50:50), o extrato EtOH apresentou *spots* para todos os reveladores utilizados, com Rfs variando entre 0,03 mm (ácido sulfúrico) e 0,85 mm (vapor

de iodo). Na Figura 6 estão apresentadas as cromatoplacas que exibiram maior quantidade de compostos.

Na cromatoplaca da Figura 6A, revelada com ácido sulfúrico, foi possível observar que o *spot* de coloração azulada, com Rf de 0,23 mm, foi igual ao Rf do composto da cromatoplaca revelada com vanilina na Figura 6D. Tanto o ácido sulfúrico como a vanilina foram capazes de revelar fenóis, que são compostos reconhecidamente dotados de atividade antioxidante e que estão presentes na constituição dos compostos fenólicos. O cloreto férrico (FeCl₃) a 3%, outro composto usado como revelador, também sinalizou a presença de fenóis na amostra, além de outros grupos (FIGURA 6B). Além do mais, foi possível observar no extrato EtOH, revelado com FeCl₃ a 3%, a presença de compostos que emitem fluorescência, com Rf de 0,56 mm, o mesmo encontrado na cromatoplaca revelada com ácido sulfúrico. Assim, é admissível sugerir que ambos se referem ao mesmo composto.

Figura 6 – Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) dos padrões ácido ascórbico (AA), ácido gálico (AG) e quercetina (Q) e do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: hexano:acetato de etila (Hex:AcOEt–50:50). Identificação do extrato: EE (extrato etanólico). Identificação dos reveladores: ácido sulfúrico (A), cloreto férrico 3% (B), cloreto férrico 3%, UV 325 nm (C) e vanilina (D).



Fonte: AUTORA (2023).

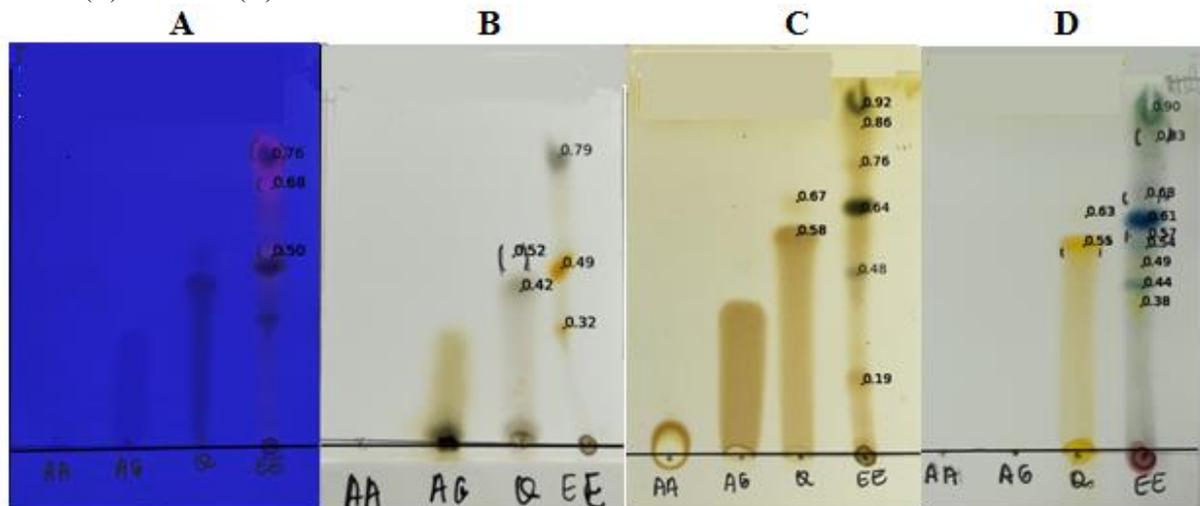
Com o sistema eluente acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂ – 3:3:1:1), sem a utilização de reveladores, o extrato EtOH apresentou compostos que emitem fluorescência a 325 nm (FIGURA 7A). Esses compostos foram marcados, e os Rfs calculados. Em seguida, quando os reveladores foram aplicados sobre as cromatoplacas, o extrato EtOH apresentou *spots* para todos eles. Contudo a maior quantidade

foi detectada com hidróxido de potássio (KOH) a 10% (FIGURA 7B), vapor de iodo (FIGURA 7C) e vanilina (FIGURA 7D).

Na Figura 7A, com a exposição do sistema eluente em câmara UV a 325 nm, foi possível observar três *spots* com Rfs de 0,50, 0,68 e 0,76 mm e todos eles emitiram fluorescência. Entretanto, quando a mesma amostra foi revelada com vapor de iodo (FIGURA 7C), apesar do valor de Rf ter sido idêntico (0,76 mm), o composto não apresentou fluorescência.

O KOH a 10%, revelador específico para antraquinonas e cumarinas, permite a visualização das referidas substâncias fenólicas que possuem coloração alaranjada e forte atividade antioxidante. Na Figura 7B, revelada com KOH a 10%, observou-se a presença de uma substância com as características supracitadas e Rf de 0,49 mm. Na Figura 7D, para o mesmo valor de Rf (0,49 mm), mas usando vanilina como substância reveladora, notou-se que a cor alaranjada ficou menos intensa, porém presente, uma vez que a vanilina é específica para fenóis e não para um determinado grupo específico como é o caso do KOH.

Figura 7 – Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) dos padrões ácido ascórbico (AA), ácido gálico (AG) e quercetina (Q) e do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂ – 3:3:1:1). Identificação do extrato: EE (extrato etanólico). Sistema eluente, UV 325 nm (A). Identificação dos reveladores: hidróxido de potássio a 10% (B), vapor de iodo (C) e vanilina (D).



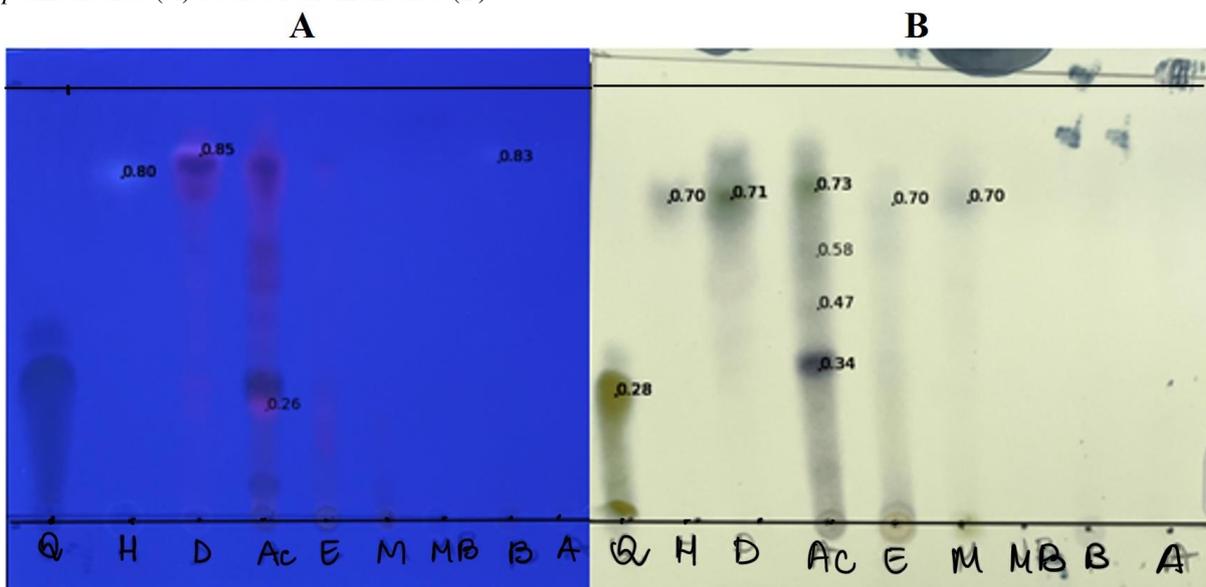
Fonte: AUTORA (2023).

O uso de diferentes reveladores e os valores de Rf obtidos por CCD servem para direcionar as amostras para os possíveis grupos de compostos aos quais elas pertencem. Desse modo, é razoável reunir as amostras que possuem os mesmos valores de Rf, pois possivelmente

elas possuem os mesmos compostos e fazer uma análise mais detalhada por cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE).

Assim, na tentativa de separar essas classes de compostos, que apareceram nas CCD do extrato EtOH, ele foi submetido a CC, e as frações, obtidas a partir desse processo cromatográfico, foram usadas para CCD. Diferentemente do que foi observado para os extratos, as frações hexânica (H), diclorometano (D), acetato de etila (Ac), etanólica (E), metanólica (M), metanol:*n*-butanol (MB), *n*-butanol (B) e aquosa (A) apresentaram uma melhor separação dos compostos, à medida que os reveladores iam sendo utilizados (FIGURA 8).

Figura 8 – Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) do padrão quercetina (Q) e das frações oriundas da cromatografia de coluna (CC) do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: hexano:acetato de etila (Hx:AcOEt – 50:50). Identificação das frações: hexânica (H), diclorometano (D), acetato de etila (Ac), etanólica (E), metanólica (M), metanol:*n*-butanol (MB), *n*-butanol (B) e aquosa (A). Identificação dos reveladores: *p*-anisaldeído (A) e ácido fosfomolibdico (B).



Fonte: AUTORA (2023).

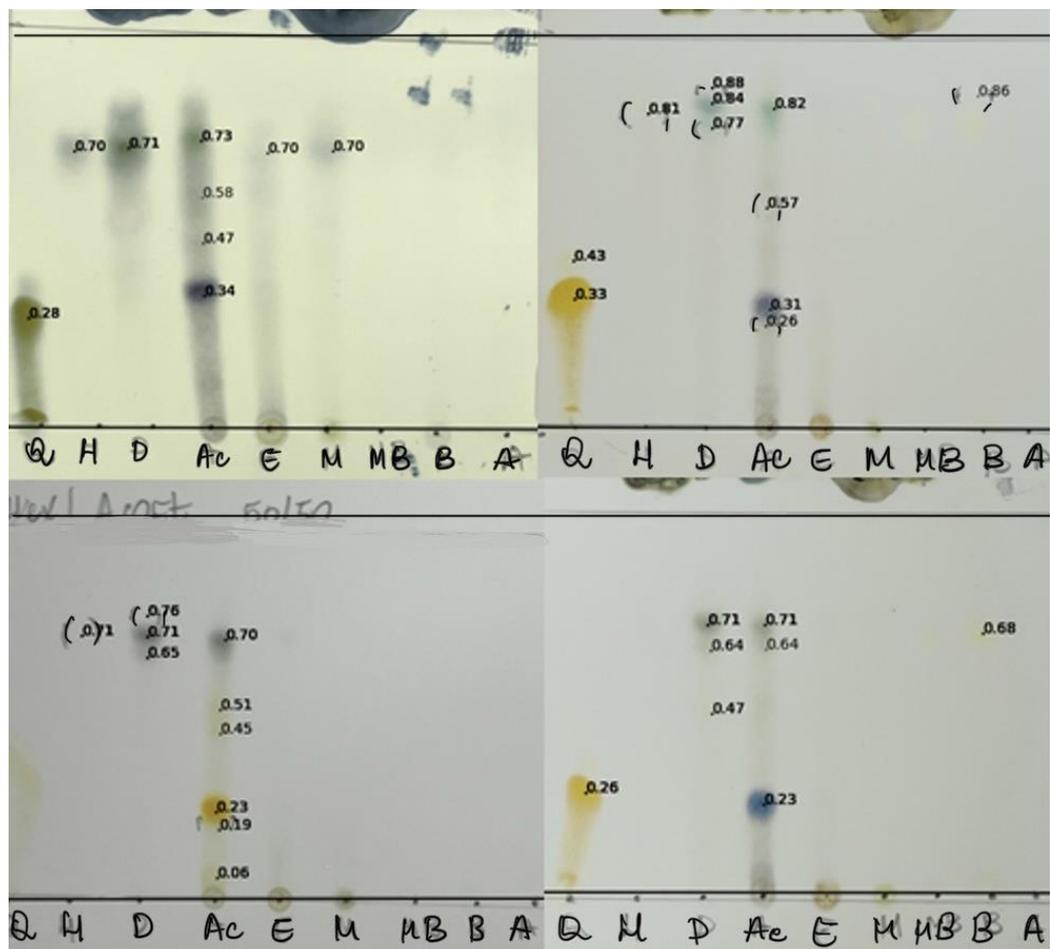
O sistema cromatográfico utilizando acetato de etila como fase móvel foi eficiente para separação dos compostos presentes na Fr. AcOEt, fato observado nas CCD (FIGURAS 8 e 9). Provavelmente, procedimentos de refracionamentos devem permitir uma melhor separação. É importante destacar que essa fração apresentou o segundo maior teor de compostos fenólicos totais e flavonoides, o que influenciou na sua atividade antioxidante.

A Figura 9 apresenta os perfis cromatográficos obtidos por CCD e os valores de Rf para o padrão (quercetina) e para as oito frações. Na Figura 9A é possível observar que para o ácido fosfomolibdico, um revelador de uso universal para compostos insaturados e redutores, as frações hexânica, etanólica e metanólica apresentaram Rfs de 0,70 mm, enquanto as frações

diclorometano e acetato de etila apresentaram Rfs similares de 0,71 e 0,73 mm, respectivamente, o que não descarta a possibilidade de ser o mesmo composto, uma vez que ambos exibiram um padrão semelhante na cromatoplaça. Na Figura 9B, a fração acetato de etila, revelada com *p*-anisaldeído, também apresentou uma coloração roxa após aquecimento, mas o Rf foi de 0,31 mm.

Os reveladores FeCl_3 a 3% (FIGURA 9C) e vanilina (FIGURA 9D) foram utilizados para verificar a presença de fenóis e outros compostos nas cromatoplaças. Para o eluente Hx:AcOEt (50:50) e para os reveladores utilizados, não foi possível observar a presença de compostos marcados nas cromatoplaças para a fração *n*-butanol. Entretanto, não se pode dizer que tais compostos não estão presentes na referida fração, uma vez que a CCD é apenas um *screen* de possíveis compostos presentes nas amostras analisadas.

Figura 9 – Perfis cromatográficos e respectivos valores de fator de retenção (Rf) do padrão quercetina (Q) e das frações oriundas da cromatografia de coluna (CC) do extrato etanólico da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, obtidos por cromatografia em camada delgada (CCD) em sílica gel. Eluente: hexano:acetato de etila (Hx:AcOEt – 50:50). Identificação das frações: hexânica (H), diclorometano (D), acetato de etila (Ac), etanólica (E), metanólica (M), metanol:*n*-butanol (MB), *n*-butanol (B) e aquosa (A). Identificação dos reveladores: ácido fosfomolibdico (A), *p*-anisaldeído (B), cloreto férrico a 3% (C) e vanilina (D).



Fonte: AUTORA (2023).

Para o sistema eluente constituído de acetato de etila:clorofórmio:água:ácido fórmico (AcOEt:CHCl₃:H₂O:CH₂O₂), não foi possível determinar uma proporção de reagentes capaz de separar os compostos presentes nas amostras das frações.

Mello *et al.* (2012), utilizando a mesma fase móvel deste trabalho (Hx:AcOEt), mas em proporções diferentes (80:20), conseguiram separar diferentes pigmentos das macroalgas marinhas pardas *Canistrocarpus cervicornis* e *Padina gymnospora*, coletadas em estações, épocas e locais diferentes, tendo verificado muitas bandas com diferentes valores de Rf. Assim, os autores concluíram que a mesma espécie coletada em locais e épocas do ano diferentes pode expressar diferenciações tanto na quantidade, quanto na concentração de pigmentos.

Freitas (2006) e Conceição (2019) demonstraram a possível ocorrência de diterpenos (Rf = 0,80 mm) e esteróis (Rf = 0,50 mm), em extratos da macrolaga parda *Dictyota mertensii*, utilizando vapor de iodo como revelador e diclorometano:acetato de etila (CH₂Cl₂:AcOEt) na proporção 70:30 (v:v), como fase móvel. No presente trabalho, para o mesmo revelador, mas fases móveis diferentes, foi possível encontrar valores de Rf iguais a 0,80 mm no EA – extrato acetato de etila (FIGURA 4B) e no EE – extrato etanólico (FIGURA 5C) e Rf de 0,50 mm no ED – extrato diclorometano (FIGURA 5C).

Nos extratos de *L. variegata*, analisados no presente trabalho, foi detectada a presença de alcaloides com o reagente de Dragendorff como revelador, sendo a maior quantidade detectada no EE (FIGURA 5B).

A partir do extrato bruto de *Canistrocarpus cervicornis* submetido a CC foram obtidas vinte frações, sendo que as mais promissoras (rendimentos e perfis cromatográficos) foram reunidas. A fração identificada como CLV9 (198,8 mg) foi submetida a uma nova separação cromatográfica em coluna aberta; as 117 frações obtidas foram agrupadas em função da sua semelhança cromatográfica em CCD. A Cc1, substância com características semelhantes a um óleo de coloração amarelada, apresentou *spot* com Rf de 0,35 mm mas, após revelação com anisaldeído sulfúrico, adquiriu coloração roxa de imediato, ficando marrom depois de algum tempo. O resultado da análise por ressonância magnética nuclear (RMN) sugeriu se tratar de um ácido graxo saturado (PHILIPPUS, 2016). A Fr. AcOEt, revelada com *p*-anisaldeído, também apresentou uma coloração roxa após aquecimento, com Rf de 0,31 mm (FIGURA 9B).

A coincidência dos valores de Rf dos *spots* de uma amostra desconhecida comparados com os de uma amostra-padrão fornece uma evidência da possível identidade daquela amostra. Os valores de Rf dos padrões utilizados neste trabalho, quando comparados aos das amostras de *L. variegata* (extratos e frações), não foram idênticos, entretanto, por ser

um método manual e a análise ser apenas preliminar, não é possível afirmar que os compostos das amostras não pertençam à mesma família das substâncias utilizadas como padrão.

4.3 Teores de compostos fenólicos totais (CFT) nos extratos e nas frações

As quantificações dos compostos fenólicos totais (CFT) nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)] foram feitas com base na curva padrão do ácido gálico, preparada nas concentrações de 25 a 200 µg/mL (TABELA 3). Entretanto a equação da reta ($y = a + bx$) foi calculada entre 25 e 150 µg/mL, faixa em que a linearidade entre as variáveis foi mantida (GRÁFICO 3).

Tabela 3 – Valores de absorvância, monitorada em 765 nm (média ± desvio padrão), de acordo com as concentrações da solução de ácido gálico (G7384, Sigma), variando de 25 a 200 µg/mL.

Concentração (µg/mL)	Absorvâncias em 765 nm ($\bar{x} \pm s$)
25	0,090 ± 0,004
50	0,218 ± 0,004
75	0,356 ± 0,017
100	0,431 ± 0,005
125	0,541 ± 0,011
150	0,667 ± 0,025
175	0,727 ± 0,014
200	0,794 ± 0,022

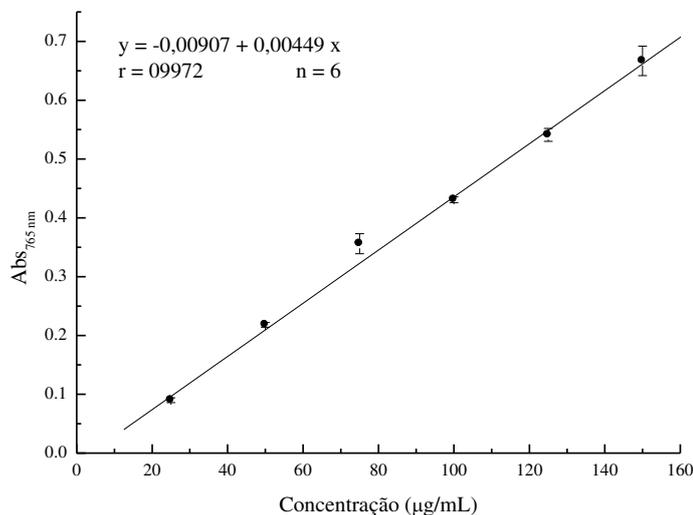
Fonte: AUTORA (2023).

A existência de correlação estatisticamente significativa entre os valores de absorvância em 765 nm e a concentração da solução de ácido gálico até 150 µg/mL permitiu o estabelecimento da regressão linear ($y = -0,00907 + 0,00449x$) com $r = 0,9972$ ($p < 0,0001$), obtida para seis pares de dados.

Essa regressão foi usada para a quantificação dos teores de CFT nos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx),

diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], obtidos da macroalga marinha parda *L. variegata* (TABELA 4).

Gráfico 3 – Curva padrão de ácido gálico (G7384, Sigma), nas concentrações de 25 a 150 µg/mL, usada para quantificar os teores de compostos fenólicos totais (CFT), nos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], obtidos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

Os teores de CFT nos controles positivos diferiram significativamente entre si ($p < 0,05$). Considerando o ácido gálico como referencial, ou seja 100%, já que o teor foi essencialmente 1.000 mg EAG/g, os outros controles positivos (ácido ascórbico, BHA, BHT e quercetina) corresponderam, respectivamente, a 46,2%, 32,8%, 23,2% e 86,6% do CFT do ácido gálico. O agente quelante, EDTA, por sua vez, não funcionou adequadamente como controle positivo para quantificar compostos fenólicos (TABELA 4).

Desconsiderando o EDTA, os teores de CFT dos demais controles positivos foram superiores aos registrados nos extratos. O etanol foi o solvente mais eficiente para extrair CFT, resultando em $76,013 \pm 2,159$ mg EAG/g, que correspondeu a 6,9% do teor obtido para o ácido gálico (TABELA 4).

Tabela 4 – Teores dos compostos fenólicos totais (CFT), expressos em mg de equivalentes de ácido gálico (EAG) por grama, nos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], obtidos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Identificação	CFT (mg EAG/g)	
Controles positivos	Ácido ascórbico	506,967 ^a ± 9,813
	Ácido gálico	1.096,968 ^b ± 67,190
	BHA	359,434 ^c ± 26,939
	BHT	254,796 ^d ± 6,804
	EDTA	-
	Quercetina	950,361 ^e ± 24,536
Extratos	Extrato Hx	13,811 ^f ± 0,715
	Extrato DCM	9,432 ^{ghi} ± 0,804
	Extrato AcOEt	21,722 ^j ± 0,959
	Extrato EtOH	76,013 ^k ± 2,159
	Extrato MeOH	12,264 ^{fg} ± 1,037
Frações	Fração Hx	24,691 ^l ± 1,521
	Fração DCM	26,883 ^m ± 3,504
	Fração AcOEt	40,248 ⁿ ± 2,196
	Fração EtOH	24,421 ^l ± 1,273
	Fração MeOH	8,887 ⁱ ± 0,448
	Fração MeOH- <i>n</i> ButOH	3,826 ^o ± 0,457
	Fração <i>n</i> ButOH	17,066 ^p ± 0,482
Fração H ₂ O	4,224 ^o ± 0,276	

Fonte: AUTORA (2023).

- CFT não mensurado com EDTA, 50 a 2.500 µg/mL.

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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

Os valores de CFT dos extratos e das frações de *L. variegata* estão dentro do intervalo relatado na literatura. O extrato EtOH foi aquele que apresentou maior teor de compostos fenólicos totais, com $76,013 \pm 2,159$ mg EAG/g. O segundo maior teor de CFT ($21,722 \pm 0,959$ mg EAG/g) foi detectado no extrato AcOEt. Dentre as frações do extrato EtOH, a Fr. AcOEt foi a que apresentou maior CFT, com $40,248 \pm 2,196$ mg EAG/g, seguida pela fração DCM com $26,883 \pm 3,504$ mg EAG/g. As frações Hx e EtOH apresentaram valores de

CFT de $24,691 \pm 1,521$ mg EAG/g) e $24,421 \pm 1,273$ mg EAG/g), respectivamente, sem diferença estatisticamente significativa (TABELA 4).

Os compostos fenólicos possuem em sua estrutura um anel aromático ligado diretamente a pelo menos um grupo hidroxila (-OH) e podem ser classificados em monoméricos, oligoméricos ou poliméricos. Estão presentes em todos os vegetais e são originados do metabolismo secundário das plantas, sintetizados como resposta às condições ambientais. Apresentam centenas de moléculas diferentes e são agrupadas em classes de acordo com a função e estrutura química. São conhecidos pela capacidade de sequestrar radicais livres e metais pró-oxidantes, intervindo em diferentes processos intracelulares e protegendo a célula contra o estresse oxidativo. Nas algas marinhas pardas, os florotaninos são os compostos fenólicos mais prevalentes, encontrados em diversas quantidades, embora experimentem variação não só entre as espécies, mas também devido ao clima e à exposição ao sol no ambiente em que o indivíduo se distribui (AGUIAR *et al.*, 2022; BASTOS; ROGERO; ARÊAS, 2009; CATARINO *et al.*, 2023).

A ocorrência e a concentração dos compostos fenólicos (fenóis e polifenóis), presentes nas macroalgas marinhas, sofrem influência de diversos fatores, dentre os quais se destacam, estação do ano, *habitat*, fatores extrínsecos (intensidade luminosa e disponibilidade de nutrientes na água do mar), solvente e método de extração utilizados. A eficiência do solvente de extração utilizado vai depender da sua afinidade e quantidade de moléculas presentes no material algal. Esta variação na quantidade de moléculas é observada entre diferentes indivíduos de uma mesma espécie e até mesmo nas diferentes partes do talo (DUAN *et al.*, 2006; PARYS *et al.*, 2007).

Wang, Jónsdóttir e Ólafsdóttir (2009) recomendaram o uso de misturas aquosas com etanol, metanol e acetona para extrair mais compostos fenólicos, pois estes geralmente são mais solúveis em solventes orgânicos polares. Sousa (2017), utilizando extratos etanólicos a 70% de *L. variegata*, encontrou CFT igual a $215,84 \pm 11,90$ mg EAG/g extrato. Li, Yang e Li (2017), usando o mesmo solvente para a preparação de extratos da macroalga marinha vermelha *Porphyra yezoensi*, quantificaram CFT de 73,17 g/100 g peso seco. Entretanto, ainda com o mesmo solvente (etanol a 70%), Soltani *et al.* (2011) encontraram baixos valores de CFT ($3,077 \pm 105$ mg EAG/g extrato) no extrato etanólico da clorófito *Cladophora glomerata*, coletada no Mar Cáspio (Sari Mazandaran, Irã).

Os resultados de CFT do extrato EtOH do presente trabalho foram, respectivamente, 2,83 vezes menores do que o relatado por Sousa (2017), e 1,038 e 24,70 vezes

maiores que os encontrados por Li, Yang e Li (2017) e Soltani *et al.* (2011), respectivamente, usando etanol absoluto como solvente de extração.

A combinação dos parâmetros de extração, previamente discutida, modifica a quantidade e as propriedades dos compostos presentes nos extratos, tornando-os diferentes. De acordo com Korzeniowska, Łęska e Wieczorek (2020), similarmente a outros pesquisadores, eles também reforçaram o fato de que as variações nos rendimentos de CFT entre as diferentes espécies de macroalgas são atribuídas a vários fatores como método de extração, solvente utilizado e parâmetros biológicos e ecológicos inerentes a elas.

Extratos etanólicos de onze espécies do gênero *Sargassum* apresentaram conteúdo fenólico total variando de 20,57 a 88,97 mg EAG/g extrato. As espécies *S. miyabei* Yendo ($88,97 \pm 4,34$) e *S. hemiphyllum* ($83,22 \pm 1,72$) exibiram os maiores conteúdos fenólicos, enquanto *S. confusum* ($20,57 \pm 1,00$), *S. coreanum* ($23,82 \pm 0,88$), *S. macrocarpum* ($26,32 \pm 1,72$) e *S. micracantum* ($28,62 \pm 1,00$) exibiram os menores (BAEK *et al.*, 2021). Quando comparados aos valores de CFT, obtidos para o extrato EtOH de *L. variegata*, eles foram 1,170 e 1,094 vezes menores que os obtidos com *S. miyabei* Yendo e *S. hemiphyllum*.

A escolha adequada do solvente (apolar ou polar) tem relação direta com a solubilidade das substâncias de interesse, de modo que, para as mesmas espécies de macroalgas foram relatadas diferentes concentrações de compostos fenólicos (GIADA, 2014). Entretanto, não se pode dizer que existe um único solvente capaz de extrair simultaneamente todas as classes de compostos fenólicos, pois a polaridade dos solventes usados e a solubilidade dos fenólicos determina a eficiência na extração.

4.4 Teores de flavonoides (flavonóis e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) nos extratos e nas frações

As quantificações dos flavonoides (flavonois e flavonas do subgrupo luteolina) (TF) nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)] foram feitas com base na curva padrão de quercetina, preparada nas concentrações de 10 a 200 µg/mL (TABELA 5).

Tabela 5 – Valores de absorvância, monitorada em 425 nm (média \pm desvio padrão), de acordo com as concentrações da solução de quercetina (33795-1, Aldrich), variando de 10 a 200 $\mu\text{g/mL}$.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Absorvâncias em 425 nm ($\bar{x} \pm s$)
10	0,111 \pm 0,005
20	0,230 \pm 0,009
30	0,453 \pm 0,006
40	0,561 \pm 0,026
50	0,770 \pm 0,030
60	0,942 \pm 0,026
70	1,076 \pm 0,030
80	1,244 \pm 0,032
90	1,385 \pm 0,013
100	1,512 \pm 0,035
125	1,742 \pm 0,030
150	1,852 \pm 0,025
175	1,917 \pm 0,009
200	1,926 \pm 0,011

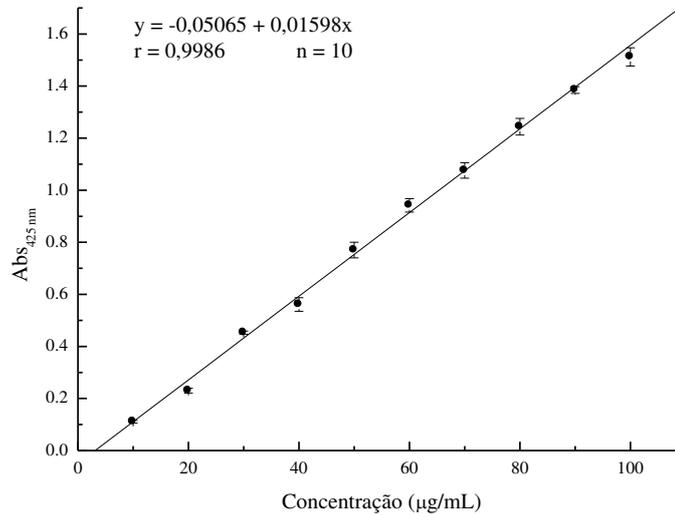
Fonte: AUTORA (2023).

A existência de correlação estatisticamente significativa entre os valores de absorvância em 425 nm e a concentração da solução de quercetina até 100 $\mu\text{g/mL}$ permitiu o estabelecimento da regressão linear ($y = -0,05065 + 0,01598x$) com $r = 0,9986$ ($p < 0,0001$), obtida para dez pares de dados (GRÁFICO 4).

Essa curva padrão foi usada para a quantificação de TF nos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], obtidos da macroalga marinha parda *L. variegata* (TABELA 6).

O único reagente que funcionou como controle positivo foi a quercetina, resultado já esperado. Os demais, ácido ascórbico, ácido gálico, BHA, BHT e EDTA, não apresentaram valores mensuráveis nas concentrações testadas, entre 50 e 2.500 $\mu\text{g/mL}$ (TABELA 6).

Gráfico 4 – Curva padrão de quercetina (33.795-1, Aldrich), nas concentrações de 10 a 100 µg/mL, usada para quantificar os teores de flavonoides (TF), controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH₁), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], obtidos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

No presente trabalho, apenas a quercetina apresentou TF, sendo seu valor superior aos registrados nos extratos e frações. Todos os solventes extraíram flavonoides dos extratos, cujos teores, expressos em mg EQ/g, variaram de $2,605 \pm 0,228$ (extrato Hx) a $105,310 \pm 3,096$ (extrato AcOEt). Para as frações do extrato etanólico (EtOH), os maiores valores de TF foram determinados nas frações AcOEt ($99,644 \pm 4,340$) e DCM ($84,251 \pm 1,869$) (TABELA 6).

A eficiência dos solventes de extração, apresentada nesta ordem decrescente, foi: AcOEt, o melhor extrator, correspondendo a 8,4% da atividade obtida para a quercetina, seguido de DCM e MeOH, os quais não apresentaram diferença estatística significativa, EtOH e, finalmente, Hx. A quantificação de TF no extrato AcOEt ($105,310 \pm 3,096$) e na fração AcOEt ($99,644 \pm 4,340$) não foi significativamente diferente (TABELA 6).

Estes resultados obtidos no presente trabalho foram superiores quando comparados aos dados obtidos para extratos etanólicos (EtOH a 80%) de quinze espécies de macroalgas: clorófitas de 8,43 a 33,39 mg EQ/g, ocrófitas de 20,72 a 32,89 mg EQ/g e rodófitas de 6,03 a 20,91 mg EQ/g (SAROJINI; LAKSHMINARAYANA; RAO, 2012).

Tabela 6 – Teores de flavonoides (TF), expressos em mg de equivalentes de quercetina (EQ) por grama, nos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], nos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] e nas frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], obtidos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

	Identificação	TF (mg EQ/g)
Controles positivos	Ácido ascórbico	-
	Ácido gálico	-
	BHA	-
	BHT	-
	EDTA	-
	Quercetina	1.253,379 ^a ± 13,185
Extratos	Extrato Hx	2,605 ^b ± 0,228
	Extrato DCM	43,636 ^c ± 2,233
	Extrato AcOEt	105,310 ^d ± 3,096
	Extrato EtOH	25,332 ^e ± 1,556
	Extrato MeOH	42,530 ^c ± 1,960
Frações	Fração Hx	1,894 ^b ± 0,128
	Fração DCM	84,251 ^f ± 1,869
	Fração AcOEt	99,644 ^d ± 4,340
	Fração EtOH	11,611 ^g ± 0,714
	Fração MeOH	30,685 ^h ± 1,470
	Fração MeOH- <i>n</i> ButOH	2,833 ^b ± 0,219
	Fração <i>n</i> ButOH	17,535 ⁱ ± 1,091
	Fração H ₂ O	4,214 ^b ± 0,181

Fonte: AUTORA (2023).

- TF não mensurado com ácido ascórbico, ácido gálico, BHA, BHT ou EDTA, de 50 a 2.500 µg/mL.

Comparações feitas por análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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

Para as condições de extração adotadas para espécie investigada (*L. variegata*), no presente trabalho, o etanol só foi o melhor solvente para a extração de CFT dos extratos. O acetato de etila, um solvente de polaridade intermediária, foi o mais eficiente, extraíndo maiores quantidades de CFT e TF. Alam, Bristi e Rafiquzzaman (2013), ao avaliarem solventes de extração comumente usados nos estudos sobre antioxidantes, relataram que o etanol, por ser orgânico e não tóxico e, ainda por sua polaridade favorecer a extração de compostos polares,

como fenólicos e flavonoides, é o mais utilizado. Dez anos depois, Catarino *et al.* (2023), após levantamento bibliográfico sobre métodos de extração que intensifiquem a extração de flavonoides da macroalga marinha parda *Sargassum* spp., constataram que solventes alcoólicos, principalmente EtOH, a mistura dele com água (50%) e a extração aquosa foram responsáveis pelos maiores teores de flavonoides e as melhores atividades antioxidantes.

A avaliação de extratos de acetato de etila, preparados por técnicas que envolvem líquidos pressurizados, mostrou a ausência de compostos naturais como terpenos, flavonoides e aminoácidos. Sob tais condições de extração, foi verificada a presença apenas de polifenóis e lipídios (FAYAD *et al.*, 2017; KHALED; HIBA; ASMA, 2012; MOHAMED; AGILI, 2013).

Segundo Farasat *et al.* (2014), a variação nos teores de flavonoides pode ser atribuída ao local de coleta. Para as espécies do gênero *Ulva* (*U. intestinalis*, *U. flexuosa* e *U. linza*), coletadas em Northern Ouli, Golfo Pérsico, os rendimentos (mg de equivalentes de rutina por grama de extrato – mg ER/g extrato) foram de 8,048, 9,462 e 10,431, respectivamente. Porém para outras espécies, *U. intestinalis* (25,316) e *U. clathrata* (33,094), coletadas em Dayyer e Taheri, respectivamente, locais diferentes no Golfo Pérsico, valores superiores foram observados. Os autores concluíram que o local onde a alga estava distribuída no ambiente e a exposição mais prolongada à radiação UV podem ter sido responsáveis pela produção dos diferentes componentes bioativos.

Como previamente ressaltado, nas metodologias de extração, a temperatura parece ser um fator importante para sua eficácia. No entanto, os efeitos da temperatura no conteúdo e atividade dos componentes bioativos presentes em vegetais devem ser avaliados cuidadosamente.

Os flavonoides estão amplamente distribuídos no Reino Vegetal. Essas substâncias polifenólicas de baixo peso molecular são conhecidas por desempenharem diversas funções importantes para a fisiologia da planta, como proteção contra a luz UV, proteção contra o ataque de herbívoros e micro-organismos patogênicos, ação como agentes citotóxicos, além da atração de insetos polinizadores e simbioses (CATARINO *et al.*, 2016).

Sousa (2017) observou que o extrato etanólico (EtOH a 70%) da macroalga marinha parda *L. variegata* apresentou as melhores atividades antioxidantes quanto ao sequestro do radical DPPH, poder de redução de íons férricos (FRAP) e atividade de inibição do branqueamento de β -caroteno (BCB), quando comparado ao extrato diclorometano. Os teores de CFT e TF no extrato EtOH a 70% foram iguais a $215,84 \pm 11,90$ mg EAG/g e $79,12 \pm 12,39$ mg EQ/g, respectivamente. A presença desses compostos pode ter sido determinante para os resultados alcançados nas atividades antioxidantes.

Seis ocrófitas, coletadas na Baía de Bateau, Austrália, *Sargassum vestitum*, *S. linearifolium*, *S. podocanthum*, *Phyllospora comosa*, *Padina* sp. e *Hormosira banksii*, foram submetidas à extração com EtOH a 70% em banho ultrassônico à temperatura de 30 °C por 60 min e apresentarem TF (mg de equivalentes de catequina/g extrato) de 17,78, 13,93, 22,38, 9,89, 20,74 e 29,31, respectivamente (DANG *et al.*, 2018). De acordo com Ismail (2017), o extrato acetônico da macroalga *Sargassum linifolium*, coletada na costa mediterrânea de Alexandria, Egito, apresentou TF de 4,53 mg EQ/g extrato.

Os valores de TF (mg EQ/g extrato metanólico a 80%) de amostras de dez macroalgas pardas (*Sargassum confusum*, *S. fusiforme*, *S. muticum*, *S. nigrifolium*, *Mielophycus simplex*, *Petalonia fascia*, *Petrospongium rugosum*, *Scytosiphon gracilis*, *S. lomentaria* e *Ishige foliacea*), oriundas do Sistema de Informações sobre Biorecursos Marinhos da Coreia, variaram de 4,9 (*S. confusum*) a 50,35 (*I. foliacea*) (LEE; PARK; LEE, 2020). Resultados semelhantes foram reportados para a ocrófito *Sargassum tenerrimum*. Os valores de CFT (mg EAG/g) e de TF (mg de equivalentes de rutina/g) foram, respectivamente 31,10 e 45,49 (BANU; SRI RAMANI; MURUGAN, 2020).

Abo-Shady *et al* (2023) elaboraram um artigo de revisão com trabalhos sobre o uso de extratos algais e ação dos flavonoides para o tratamento de doenças. Na literatura esse metabólito é conhecido por apresentar atividades biológicas, por exemplo, antimicrobiana, antioxidante, sequestradora de radicais livres e espasmolítica. Contudo, sua aplicação não se restringe apenas para tratar a saúde humana. Devido a sua capacidade fotoprotetora e estimulante, os flavonoides podem ser utilizados como bioestimulantes para o crescimento de plantas. Mohammed *et. al.* (2023), utilizando extrato aquoso da macroalga marinha parda *Sargassum polycystum*, confirmaram que a presença de compostos fenólicos e de flavonoides no extrato, influenciou positivamente a germinação e o crescimento das culturas de fava comum (*Vicia faba*) e girassol (*Helianthus annuus*).

Após a leitura do material bibliográfico sobre compostos fenólicos e flavonoides, foi possível reconhecer que os valores encontrados no presente trabalho estão dentro da faixa citada na literatura, e que a natureza polar dos flavonoides e a polaridade dos solventes foram fatores determinantes para os resultados alcançados.

4.5 Atividades antioxidantes *in vitro* dos extratos e das frações

4.5.1 Capacidade de sequestro do radical 2,2-difenil-1-picril-hidrazila (DPPH) dos controles positivos, dos extratos e das frações

Os resultados da capacidade de sequestro do radical DPPH dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina] e da concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC_{50}) estão apresentados na Tabela 7 e ilustrados no Gráfico 5.

Os controles positivos, utilizados como substratos doadores de elétrons, exibiram atividade de sequestro do radical DPPH máxima com ácido gálico ($EC_{50} < 50 \mu\text{g/mL}$), seguido de quercetina, BHA, BHT e ácido ascórbico. A capacidade de sequestro do radical DPPH do ácido ascórbico e BHT, usados como substratos doadores de elétrons, aumentou significativamente a partir da concentração de $100 \mu\text{g/mL}$, atingindo valores próximos a 100% de atividade na maior concentração testada ($2.500 \mu\text{g/mL}$). A capacidade de sequestro registrada para o EDTA, um agente quelante, que atua na formação de complexos muito estáveis com íons metálicos, permaneceu em torno de 10% (TABELA 7, GRÁFICO 5).

Tabela 7 – Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC₅₀).

Concentração (µg/mL)	DPPH (%) dos controles positivos					
	Ácido ascórbico	Ácido gálico	BHA	BHT	EDTA	Quercetina
50	1,149 ^{aA}	77,999 ^{aB}	42,726 ^{aC}	31,802 ^{aD}	6,457 ^{aE}	48,813 ^{aF}
	± 0,325	± 0,619	± 2,722	± 1,076	± 0,668	± 3,540
100	20,827 ^{bA}	93,211 ^{bB}	58,040 ^{bC}	46,810 ^{bD}	9,213 ^{aE}	90,965 ^{bB}
	± 1,442	± 0,617	± 0,853	± 1,975	± 0,895	± 0,810
250	88,438 ^{cA}	92,956 ^{bB}	81,317 ^{cC}	73,392 ^{cD}	9,961 ^{aE}	91,118 ^{bB}
	± 0,108	± 0,375	± 1,381	± 1,788	± 0,434	± 0,415
500	94,219 ^{dA}	92,917 ^{bB}	88,093 ^{dC}	86,409 ^{dC}	9,554 ^{aD}	90,914 ^{bB}
	± 1,394	± 0,700	± 0,617	± 0,905	± 1,513	± 1,004
1.000	95,023 ^{dA}	92,802 ^{bB}	89,204 ^{deC}	89,548 ^{eC}	9,567 ^{aD}	91,960 ^{bB}
	± 0,566	± 0,530	± 0,508	± 0,744	± 0,298	± 1,004
1.500	94,372 ^{dA}	93,874 ^{bcA}	89,510 ^{deB}	90,352 ^{eBD}	10,472 ^{abC}	91,654 ^{bD}
	± 1,428	± 0,530	± 0,198	± 0,217	± 0,490	± 0,476
2.000	94,985 ^{dA}	94,793 ^{cA}	90,442 ^{deB}	91,462 ^{eB}	10,499 ^{abC}	92,496 ^{bB}
	± 1,627	± 0,638	± 0,775	± 1,041	± 0,656	± 0,761
2.500	96,593 ^{dA}	95,138 ^{cB}	91,577 ^{eC}	91,730 ^{eC}	11,496 ^{bD}	94,142 ^{bB}
	± 1,071	± 0,785	± 1,206	± 0,781	± 0,568	± 0,775
EC ₅₀	163,34	< 50	73,75	118,00	> 2.500	51,41

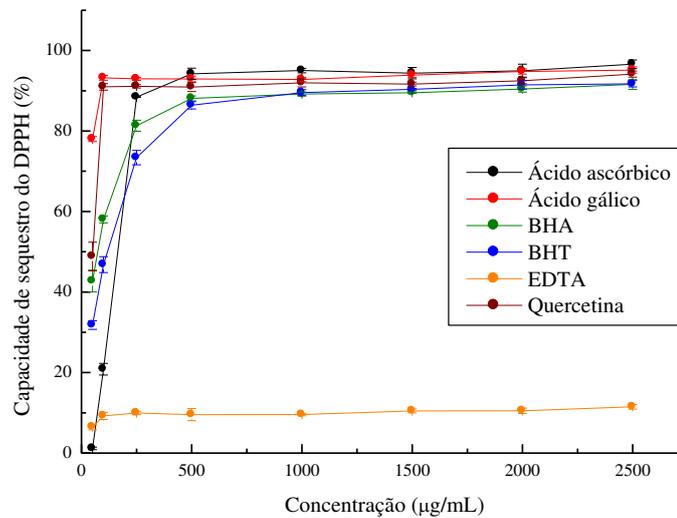
Fonte: AUTORA (2023).

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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, expresso em porcentagem, dos controles positivos ([ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].



Fonte: AUTORA (2023).

Os resultados da capacidade de sequestro do radical DPPH dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) da macroalga marinha parda *L. variegata* e da concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC_{50}) estão apresentados na Tabela 8 e Gráfico 6.

O extrato EtOH apresentou atividades crescentes de acordo com as concentrações testadas, atingindo valor máximo de aproximadamente 74% em 2.500 $\mu\text{g/mL}$.

Nos extratos Hx, DCM, AcOEt e EtOH, a capacidade de sequestro do radical DPPH variou entre $2,257\% \pm 0,758$ e $73,890\% \pm 1,450$. Em geral, as menores capacidades de sequestro foram observadas nos extratos Hx e DCM, da ordem de 8 a 13% na maior concentração testada (2.500 $\mu\text{g/mL}$). Nessa concentração, o extrato EtOH atingiu atividade máxima de $73,890\% \pm 1,450$, enquanto os extratos AcOEt e MeOH apresentam $26,034\% \pm 1,503$ e $29,301\% \pm 3,064$, respectivamente. Apesar de o extrato AcOEt ter apresentado os maiores teores de TF, foi no extrato EtOH em que se observaram as maiores porcentagens de atividade de sequestro do radical DPPH em todas as concentrações analisadas (TABELA 8, GRÁFICO 6).

Tabela 8 – Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC₅₀).

Concentração (µg/mL)	DPPH (%) dos extratos				
	Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH
50	5,360 ^{aA}	2,257 ^{aB}	12,213 ^{aC}	15,773 ^{aD}	9,290 ^{aE}
	± 0,433	± 0,758	± 0,754	± 0,552	± 0,843
100	8,270 ^{bA}	2,565 ^{aB}	16,539 ^{bC}	22,920 ^{bD}	11,996 ^{abE}
	± 1,299	± 0,521	± 1,104	± 0,771	± 1,423
250	9,648 ^{bcA}	2,757 ^{aB}	17,381 ^{bC}	32,721 ^{cdD}	13,323 ^{bcE}
	± 2,299	± 0,985	± 1,554	± 1,853	± 1,705
500	9,150 ^{bcA}	2,501 ^{aB}	18,581 ^{bcC}	45,840 ^{dD}	16,131 ^{cdE}
	± 1,349	± 1,564	± 1,651	± 1,511	± 2,146
1.000	9,456 ^{bcA}	2,757 ^{aB}	18,734 ^{bcC}	54,364 ^{eD}	17,305 ^{cdE}
	± 0,922	± 1,728	± 1,755	± 2,504	± 0,217
1.500	11,907 ^{cdA}	6,470 ^{bB}	21,937 ^{cdC}	65,620 ^{fD}	17,203 ^{cdE}
	± 1,169	± 1,865	± 1,302	± 0,923	± 1,609
2.000	12,404 ^{cdA}	12,634 ^{cb}	23,009 ^{deC}	70,291 ^{gD}	24,706 ^{ec}
	± 1,705	± 1,408	± 2,160	± 0,781	± 1,999
2.500	13,400 ^{dA}	8,270 ^{bB}	26,034 ^{aC}	73,890 ^{hD}	29,301 ^{fc}
	± 1,708	± 0,217	± 1,503	± 1,450	± 3,064
EC ₅₀	> 2.500	> 2.500	> 2.500	744,017	> 2.500

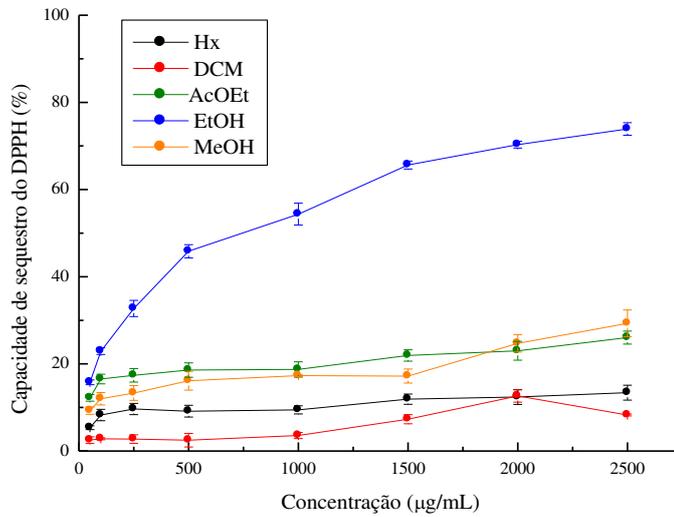
Fonte: AUTORA (2023).

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 – Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

Os resultados da capacidade de sequestro do radical DPPH das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH) e metanólica (MeOH)], da macroalga marinha parda *L. variegata*, e a concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC_{50}) estão apresentados na Tabela 9 e Gráfico 7. Nas concentrações testadas (50 a 2.500 µg/mL), nenhuma atividade foi registrada nas frações DCM, MeOH-*n*-ButOH, *n*-ButOH e H₂O.

Tabela 9 – Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH₁) e metanólica (MeOH), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC₅₀).

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	DPPH (%) das frações			
	Hx	AcOEt	EtOH	MeOH
50	13,740 ^{aA} \pm 0,795	6,220 ^{aB} \pm 0,834	11,927 ^{aC} \pm 0,552	21,805 ^{aD} \pm 1,612
100	13,951 ^{aA} \pm 1,357	9,488 ^{abB} \pm 2,492	14,650 ^{abA} \pm 1,239	18,634 ^{abC} \pm 1,298
250	13,780 ^{aA} \pm 1,185	6,415 ^{aB} \pm 1,108	18,268 ^{bC} \pm 1,514	12,341 ^{cA} \pm 1,897
500	13,561 ^{aA} \pm 0,937	11,951 ^{bA} \pm 2,269	23,561 ^{cB} \pm 1,975	13,463 ^{cA} \pm 1,824
1.000	14,195 ^{aA} \pm 1,232	12,707 ^{bA} \pm 1,713	29,659 ^{dB} \pm 1,978	14,805 ^{bcA} \pm 2,921
1.500	11,951 ^{aA} \pm 1,620	18,805 ^{cB} \pm 1,708	38,683 ^{eC} \pm 3,798	15,366 ^{bcAB} \pm 1,946
2.000	12,902 ^{aA} \pm 0,899	20,634 ^{cdB} \pm 0,588	46,292 ^{fC} \pm 2,738	16,536 ^{bcD} \pm 1,794
2.500	13,317 ^{aA} \pm 1,166	24,268 ^{dB} \pm 1,637	49,488 ^{fC} \pm 2,606	18,341 ^{abD} \pm 2,991
EC ₅₀	> 2.500	5.980,962	2.346,948	15.627,322

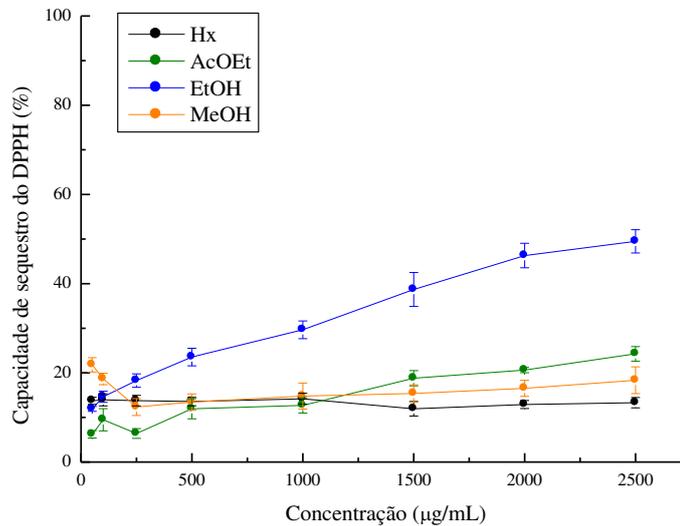
Fonte: AUTORA (2023).

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 7 – Capacidade de sequestro do radical DPPH, expresso em porcentagem, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH) e metanólica (MeOH)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

A característica polar do etanol determinou sua maior eficiência em extrair, da macroalga marinha parda *L. variegata*, moléculas capazes de doar átomos de hidrogênio ou outros radicais. Este fato foi observado anteriormente por Sousa (2017), ao comparar a

capacidade de sequestro do radical DPPH nos extratos DCM (28,54% a 52,49%) e EtOH 70% (32,01% a 94,39%). Aliás, o extrato EtOH apresentou também os melhores resultados para outras atividades antioxidantes (FRAP e BCB).

Valores de atividade de sequestro do radical DPPH superiores aos encontrados neste trabalho foram reportados por Rajauria *et al.* (2013), para os extratos MeOH a 60% da macroalga marinha parda *Himanthalia elongata*, na concentração de 100 ppm ou µg/mL correspondente a 87,4% e EC₅₀ de 57,2 ± 0,48 ppm ou µg/mL.

Dang *et al.* (2018) encontraram valores significativos de DPPH para as macroalgas *Sargassum vestitum* (209,50 mg de equivalente trolox (ET)/g extrato), *Hormosira banksii* (177,32 mg ET/g extrato) e *Padina* sp. (138,15 mg ET/g extrato), na concentração de 1 mg/mL. Curiosamente, para a mesma concentração, *S. vestitum* e *H. banksii* apresentaram DPPH superior ao do controle positivo BHT (178,40 mg ET/g extrato). No entanto, a atividade de sequestro do radical DPPH da fucoxantina isolada de *H. banksii*, nas concentrações de 0,03 a 0,06 mg/mL, apresentou valores superiores à do BHT na concentração 0,06 mg/mL. Os autores também observaram a existência de correlação direta ou positiva entre a atividade da fucoxantina e sua concentração.

O extrato EtOH de *L. variegata*, estudada no presente trabalho, apresentou a maior capacidade de sequestro do radical DPPH com 73,890% (2.500 µg/mL) e a maior quantidade de CFT (76,013 mg EAG/g). Extratos EtOH a 50% e MeOH de *Fucus spiralis* e *Treptacantha abies-marina*, coletadas ou cultivadas, também exibiram capacidade de sequestro (VEGA *et al.*, 2020). Baek *et al.* (2021), analisando extratos de onze espécies do gênero *Sargassum* (*S. confusum*, *S. coreanum*, *S. filicinum*, *S. hemiphyllum*, *S. horneri*, *S. macrocarpum*, *S. micracanthum*, *S. miyabei* Yendo, *S. serratifolium*, *S. siliquastrum* e *S. yendoi*), obtidos com EtOH a 70%, observaram que a maior atividade de DPPH foi registrada para *S. miyabei* Yendo (193,65 mg de equivalente de vitamina C/g peso seco), que foi também a que apresentou os maiores valores de CFT (88,97 mg EAG/g peso seco) e TF (82,33 mg EQ/g peso seco).

Assim como foi observada correlação positiva entre teor de CFT e TF e capacidade de sequestro do radical DPPH, outras moléculas, por exemplo, os pigmentos, foram descritas por suas fortes propriedades de eliminação de radicais e poder redutor. Extratos de *Sargassum cristaefolium*, ricos em pigmentos, apresentaram atividade antioxidante promissora para os ensaios DPPH e FRAP. Outra correlação positiva, observada por Catarino *et al.* (2023), foi que quanto maior o teor de carotenoides em *S. siliquosum* e *S. polycystum*, maior a atividade antioxidante descrita para os ensaios de ABTS, DPPH e FRAP.

Essa correlação também foi constatada no presente trabalho para os extratos, porém não foi possível comprová-la para as frações. A Fr. EtOH foi a que apresentou a maior capacidade de sequestro, entretanto os teores de CFT (24,421 mg EAG/g) e de TF (11,611 mg EQ/g) não foram os maiores, dentre as sete frações analisadas.

A avaliação da atividade antioxidante pelo método de sequestro do radical DPPH em extratos vegetais é considerado simples, rápido, acurado e reproduzível. Os resultados de capacidade de sequestro do radical DPPH, apresentados no presente trabalho, estão dentro da faixa de valores publicados na literatura. Tais resultados remetem ao sinergismo entre as diferentes moléculas bioativas presentes nos extratos (PYRZYNSKA; PEKAL, 2013; SÁNCHEZ-MORENO, 2002; SURVESWARAN *et al.*, 2007).

4.5.2 Poder de quelação de íons ferrosos (FIC) dos controles positivos, dos extratos e das frações

Os resultados do poder de quelação de íons ferrosos (FIC) dos controles positivos [butil hidroxianisol (BHA), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina] e da concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC₅₀) estão apresentados na Tabela 10 e Gráfico 8.

Tabela 10 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, dos controles positivos [butil hidroxianisol (BHA), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC₅₀).

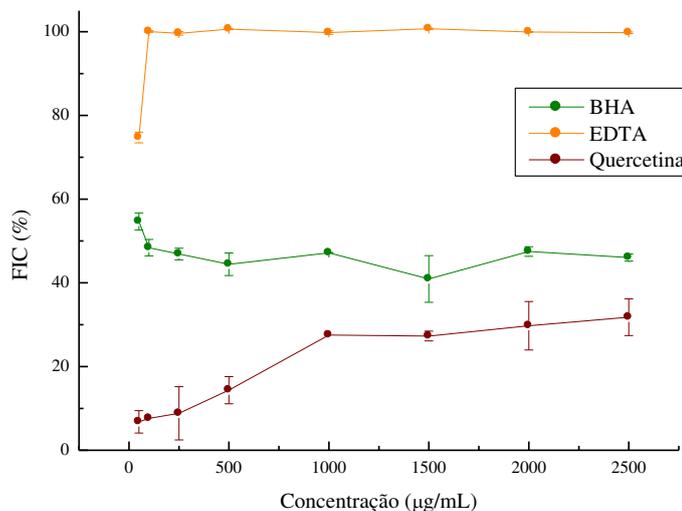
Concentração (µg/mL)	FIC (%) dos controles positivos		
	BHA	EDTA	Quercetina
50	54,668 ^{aA} ± 2,030	74,731 ^{aB} ± 1,284	6,793 ^{aC} ± 2,678
100	48,396 ^{bA} ± 1,971	100,051 ^{bB} ± 0,191	7,626 ^{aC} ± 0,000
250	46,894 ^{bcA} ± 1,388	99,609 ^{bB} ± 0,436	8,838 ^{aC} ± 6,357
500	44,440 ^{bcA} ± 2,700	100,627 ^{bB} ± 0,086	14,360 ^{bC} ± 3,236
1.000	47,184 ^{bA} ± 0,036	99,798 ^{bB} ± 0,434	27,525 ^{cC} ± 0,000
1.500	40,918 ^{cA} ± 5,570	100,694 ^{bB} ± 0,157	27,298 ^{cC} ± 1,179
2.000	47,500 ^{bA} ± 1,145	99,949 ^{bB} ± 0,6	29,747 ^{cC} ± 5,785
2.500	46,048 ^{bA} ± 0,850	99,752 ^{bB} ± 0,195	31,793 ^{cC} ± 4,393
EC ₅₀	-	1,164	> 2.500

Fonte: AUTORA (2023).

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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

Gráfico 8 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, dos controles positivos [butil hidroxianisol (BHA), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].



Fonte: AUTORA (2023).

Apesar da atividade dos três controles, os valores de FIC para BHA e quercetina não foram suficientemente bons para representar a atividade de quelação de acordo com as concentrações testadas. Apenas o EDTA apresentou valores coerentes, com atividade de quelação igual a 100%, a partir da concentração 100 µg/mL. Todas as leituras registradas com ácido ascórbico, ácido gálico e BHT foram iguais ou inferiores àquelas obtidas para os brancos.

Os resultados do FIC dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) da macroalga marinha parda *L. variegata* e da concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC_{50}) estão apresentados na Tabela 11 e Gráfico 9. O extrato Hx foi o mais efetivo quanto ao FIC, em todas as concentrações testadas, com valores próximos a 100%.

No presente trabalho, os extratos apolares (Hx e DCM) apresentaram os maiores percentuais de atividade de quelação e foram também os que apresentaram os menores conteúdos fenólicos (TABELA 11, GRÁFICO 9).

Tabela 11 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC₅₀).

Concentração (µg/mL)	FIC (%) dos extratos				
	Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH
50	85,871 ^{aA}	16,841 ^{aB}		11,321 ^{aC}	6,696 ^{aD}
	± 0,876	± 1,284	*	± 2,905	± 0,591
100	96,124 ^{bcA}	20,624 ^{aB} ±		12,000 ^{aC}	8,135 ^{aD}
	± 0,693	1,580	*	± 1,310	± 0,889
250	98,122 ^{bA}	41,888 ^{bB}		13,676 ^{aC}	4,655 ^{aD}
	± 0,367	± 0,461	*	± 5,280	± 0,000
500	97,300 ^{bA}	55,493 ^{bB}		14,316 ^{abC}	8,799 ^{aC}
	± 0,394	± 1,218	*	± 5,280	± 0,000
1.000	94,006 ^{cA}	71,384 ^{cB}		16,958 ^{abC}	8,892 ^{aD}
	± 0,787	± 3,573	*	± 1,732	± 2,304
1.500	89,583 ^{dA}	70,267 ^{cB}	7,728 ^{aC}	19,177 ^{abcD}	16,368 ^{bD}
	± 1,089	± 1,340	± 0,000	± 9,441	± 3,278
2.000	88,163 ^{dA}	70,779 ^{cB}	17,505 ^{bC}	23,743 ^{bcCD}	29,987 ^{cD}
	± 1,179	± 2,502	± 4,806	± 5,736	± 1,653
2.500	85,021 ^{aA}	70,601 ^{cB}	36,577 ^{cC}	28,236 ^{cD}	58,582 ^{dE}
	± 1,450	± 1,007	± 3,360	± 4,642	± 9,025
EC ₅₀	< 50	399,06	3.019,01	6.066,25	2.412,09

Fonte: AUTORA (2023).

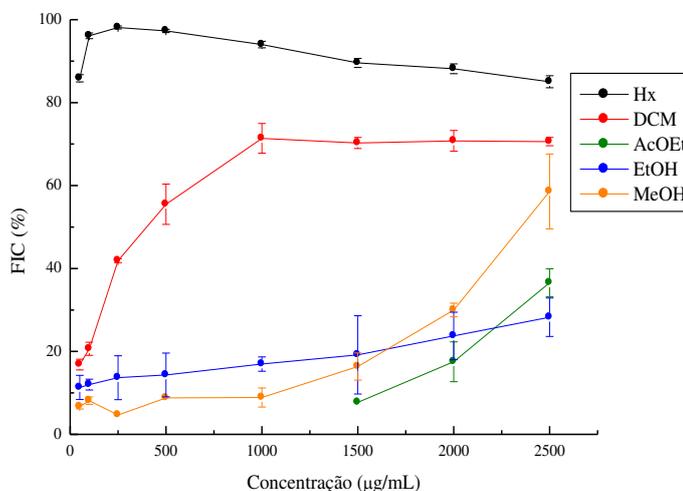
* Atividade não detectada.

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 9 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

Os resultados do FIC das frações do extrato etanólico [diclorometano (DCM), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *L. variegata*, e a concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC₅₀) estão apresentados na Tabela 12 e Gráfico 10. Nas concentrações testadas (50 a 2.500 µg/mL), nenhuma atividade foi registrada nas frações Hx e AcOEt.

As frações Fr. Hx e Fr. AcOEt não apresentaram atividade quelante, enquanto a Fr. *n*-ButOH exibiu atividade máxima registrada na concentração 1.000 µg/mL. As demais frações tiveram atividade quelante variando entre 70,224% e 103,795% na maior concentração testada (2.500 µg/mL). Dessas, apenas a Fr. DCM apresentou teor de flavonoides elevado, com 84,251 mg EQ/g (TABELA 12, GRÁFICO 10).

Tabela 12 – Poder de quelação de íons ferrosos, expresso em porcentagem, das frações do extrato etanólico [diclorometano (DCM), etanólica (EtOH₁), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e concentração necessária para se obter 50% de efeito antioxidante (EC₅₀).

Concentração (µg/mL)	FIC (%) das frações					
	DCM	EtOH	MeOH	MeOH- <i>n</i> ButOH	<i>n</i> ButOH	H ₂ O
50	33,556 ^{aA}	9,269 ^{aB}	37,197 ^{aA}	24,609 ^{aC}	-	21,834 ^{aC}
	± 1,886	± 1,361	± 2,527	± 2,718	-	± 0,584
100	44,089 ^{bA}	21,113 ^{bB}	63,569 ^{bC}	33,188 ^{bD}	7,751 ^{aE}	22,608 ^{aB}
	± 2,833	± 3,448	± 2,180	± 2,139	± 0,520	± 2,159
250	74,540 ^{cA}	11,201 ^{aB}	75,391 ^{cA}	92,824 ^{cC}	19,779 ^{bD}	27,852 ^{aE}
	± 1,251	± 1,301	± 3,852	± 0,860	± 2,279	± 3,448
500	91,398 ^{dA}	17,058 ^{bB}	90,731 ^{dA}	94,273 ^{cA}	31,555 ^{cC}	51,457 ^{bD}
	± 2,349	± 1,496	± 1,664	± 1,378	± 2,055	± 8,679
1.000	92,947 ^{deA}	33,993 ^{cB}	94,825 ^{deA}	95,768 ^{cA}	58,740 ^{dC}	63,845 ^{cC}
	± 1,657	± 5,102	± 0,325	± 0,771	± 1,631	± 0,898
1.500	95,308 ^{deA}	34,905 ^{cB}	97,171 ^{eA}	96,052 ^{cA}	-	83,609 ^{dC}
	± 0,195	± 2,901	± 2,154	± 3,322	-	± 0,065
2.000	97,570 ^{eA}	42,441 ^{dB}	95,515 ^{deAC}	92,525 ^{cC}	-	83,885 ^{dD}
	± 4,147	± 3,018	± 2,153	± 0,806	-	± 1,819
2.500	103,795 ^{fA}	75,529 ^{eB}	95,745 ^{deC}	92,717 ^{cC}	-	70,224 ^{cD}
	± 4,684	± 0,520	± 1,085	± 0,855	-	± 1,068
EC ₅₀	129,772	1.897,765	59,536	132,749	835,082	492,926

Fonte: AUTORA (2023).

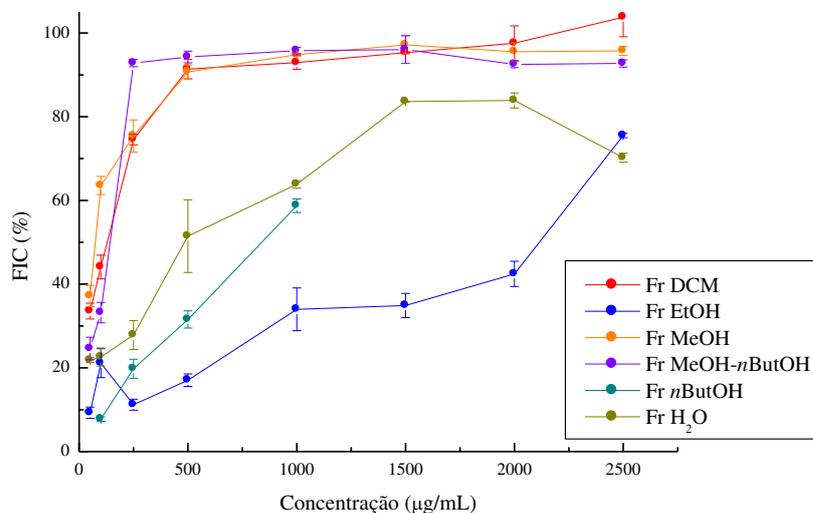
- Valores não registrados

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 10 – Poder de quelação de íons ferrosos (FIC), expresso em porcentagem, das frações do extrato etanólico [diclorometano (DCM), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

As frações que apresentaram máxima atividade FIC foram Fr. DCM, Fr. MeOH e Fr. MeOH-*n*-ButOH, com valores variando entre 90 e 100% na maior concentração testada (2.500 µg/mL).

O dano oxidativo causado por radicais com capacidade oxidante tem sido implicado na patogênese de doenças degenerativas e neurodegenerativas. As macroalgas pardas, em especial as do gênero *Sargassum*, são conhecidas como fontes promissoras de antioxidantes naturais. Lima *et al.* (2016), utilizando extrato metanólico na concentração de 100 µg/mL, detectaram FIC de 12,39%. Diferentes autores encontraram em macroalgas marinhas do gênero *Sargassum* grande potencial como fonte de compostos antioxidantes, com capacidade quelante de íons metálicos (FIC) e capacidade redutora (FRAP), sugerindo a utilização dessas algas como fontes promissoras de compostos bioativos (CATARINO *et al.*, 2023).

Com o objetivo de determinar o potencial antioxidante dos extratos aquosos e acetônicos a 70% de dez espécies de macroalgas marinhas islandesas, Wang, Jónsdóttir e Ólafsdóttir (2009) encontraram que os extratos aquosos apresentaram maior atividade FIC do que os extratos de acetônicos a 70%. Para os autores, nenhuma correlação pôde ser estabelecida com os valores de CFT, sugerindo que outros componentes, como polissacarídeos, proteínas ou peptídeos presentes nos extratos, poderiam possuir ação quelante mais eficaz do que os compostos fenólicos.

No presente trabalho, para os extratos não houve correlação entre o conteúdo fenólico, o teor de flavanoides e a capacidade quelante (FIC). Provavelmente, as substâncias com capacidade de quelar metais não foram extraídas pelo método usado, ou outros compostos presentes nas amostras bloquearam suas funções quelantes. Entretanto, foi possível observar que para as frações, que passaram por uma etapa de pré-purificação, os resultados foram bastante promissores. Desse modo, essas frações devem ser investigadas e os compostos ali presentes, identificados.

4.5.3 Poder de redução de íons férricos (FRAP) dos controles positivos, dos extratos e das frações

A determinação do poder de redução de íons férricos (FRAP) foi realizada através da redução do ferro férrico (Fe^{3+}) de cor amarela, presente na solução, em ferro ferroso (Fe^{2+}) de cor azul. A mudança de coloração da mistura reacional indicava que quanto maior a absorbância ou intensidade da cor, maior o potencial antioxidante da amostra (URREA-VICTORIA *et al.*, 2016).

Os resultados do FRAP dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina] foram expressos em valores de absorbância monitorada em 700 nm e estão apresentados na Tabela 13 e Gráfico 11.

Todos os controles positivos apresentaram valores de FRAP crescentes, considerando as concentrações testadas, sendo o FRAP do agente quelante, EDTA, o mais baixo de todos. A maior atividade foi registrada para a quercetina, seguida pelo BHT.

Tabela 13 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	FRAP dos controles positivos					
	Ácido ascórbico	Ácido gálico	BHA	BHT	EDTA	Quercetina
50	0,331 ^{aA}	0,535 ^{aB}	0,224 ^{aC}	0,344 ^{aA}	0,053 ^{aD}	0,526 ^{aB}
	$\pm 0,006$	$\pm 0,007$	$\pm 0,004$	$\pm 0,008$	$\pm 0,007$	$\pm 0,013$
100	0,605 ^{bA}	0,972 ^{bB}	0,387 ^{bC}	0,442 ^{bD}	0,067 ^{abE}	0,832 ^{bF}
	$\pm 0,008$	$\pm 0,024$	$\pm 0,010$	$\pm 0,016$	$\pm 0,010$	$\pm 0,019$
250	1,383 ^{cA}	1,422 ^{cdB}	0,782 ^{cC}	0,774 ^{cC}	0,073 ^{bdD}	1,408 ^{cAB}
	$\pm 0,007$	$\pm 0,024$	$\pm 0,017$	$\pm 0,010$	$\pm 0,013$	$\pm 0,007$
500	1,439 ^{dA}	1,409 ^{cB}	1,294 ^{dC}	1,067 ^{dD}	0,069 ^{bE}	2,262 ^{dF}
	$\pm 0,028$	$\pm 0,006$	$\pm 0,017$	$\pm 0,017$	$\pm 0,011$	$\pm 0,015$
1.000	1,624 ^{eA}	1,478 ^{dB}	1,393 ^{eC}	1,594 ^{eD}	0,094 ^{cE}	2,337 ^{eF}
	$\pm 0,019$	$\pm 0,025$	$\pm 0,022$	$\pm 0,003$	$\pm 0,003$	$\pm 0,023$
1.500	1,484 ^{fA}	1,458 ^{dA}	1,454 ^{fA}	1,804 ^{fB}	0,119 ^{dC}	2,344 ^{efD}
	$\pm 0,011$	$\pm 0,026$	$\pm 0,020$	$\pm 0,019$	$\pm 0,004$	$\pm 0,027$
2.000	1,534 ^{gA}	1,464 ^{dB}	1,398 ^{eC}	1,856 ^{gD}	0,140 ^{eE}	2,362 ^{efF}
	$\pm 0,021$	$\pm 0,015$	$\pm 0,010$	$\pm 0,014$	$\pm 0,004$	$\pm 0,037$
2.500	1,451 ^{dfA}	1,439 ^{dA}	1,438 ^{fA}	1,884 ^{hB}	0,153 ^{eC}	2,396 ^{fD}
	$\pm 0,025$	$\pm 0,014$	$\pm 0,022$	$\pm 0,013$	$\pm 0,005$	$\pm 0,034$

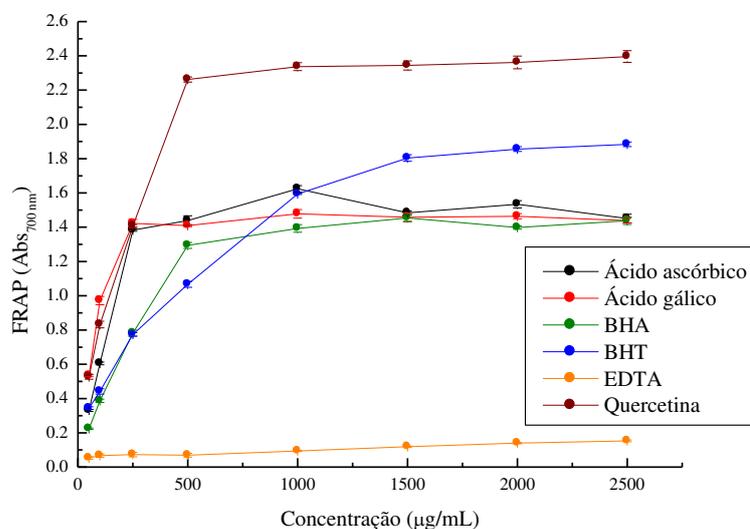
Fonte: AUTORA (2023).

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 11 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorvância monitorada em 700 nm, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].



Fonte: AUTORA (2023).

Os resultados de FRAP dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH) da macroalga marinha parda *L. variegata* estão apresentados na Tabela 14 e Gráfico 12.

Os extratos Hx, DCM, AcOEt, MeOH e EtOH apresentaram valores de FRAP entre 0,055 e 1,326, que foram crescentes com o aumento da concentração (dose dependência). A maior atividade foi registrada no extrato EtOH, seguido dos extratos MeOH e AcOEt e, por fim, pelos extratos Hx e DCM (TABELA 14, GRÁFICO 12).

Observou-se que o extrato EtOH apresentou FRAP 3,98 vezes maior que o extrato MeOH, responsável pela segunda maior atividade redutora, e 8,84 vezes superior àquela do extrato DCM, que exibiu a menor atividade de redução. Contudo, os valores obtidos no presente estudo, compreendidos no intervalo entre 0,150 e 1,326 (2.500 µg/mL), conferiram poder redutor potencialmente considerável, quando comparados àqueles relatados na literatura.

O extrato EtOH com a maior atividade antioxidante quanto ao FRAP apresentou dose dependência com relação à concentração. Em 2.500 µg/mL, a absorvância do extrato EtOH (1,326 ± 0,013) foi superior àquelas observadas para ácido ascórbico, ácido gálico e quercetina na concentração 100 µg/mL, para BHA na concentração 250 µg/mL e para BHT na concentração 500 µg/mL.

Comparados aos controles positivos, com FRAP de 0,053 (EDTA) a 2,396 (quercetina), os extratos Hx, DCM, AcOEt e MeOH na concentração 2.500 µg/mL

apresentaram atividades muito menores. O extrato EtOH foi o único que apresentou atividade próxima a encontrada nos controles. No entanto, é importante ressaltar que os controles positivos são substâncias com elevado grau de pureza, ao passo que os extratos consistiam em uma mistura de compostos desconhecidos. De maneira análoga, Torres *et al.* (2018) também relataram poder de redução maior nos controles positivos.

Tabela 14 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em valores de absorbância monitorada em 700 nm, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH₁) e metanólico (MeOH)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Concentração (µg/mL)	FRAP dos extratos				
	Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH
50	0,058 ^{aA}	0,061 ^{aA}	0,087 ^{aB}	0,105 ^{aC}	0,104 ^{aC}
	± 0,004	± 0,002	± 0,001	± 0,004	± 0,002
100	0,055 ^{aA}	0,082 ^{aB}	0,099 ^{abC}	0,160 ^{abD}	0,118 ^{abE}
	± 0,006	± 0,009	± 0,006	± 0,007	± 0,004
250	0,066 ^{abA}	0,077 ^{abA}	0,106 ^{bB}	0,281 ^{bC}	0,127 ^{bD}
	± 0,005	± 0,008	± 0,004	± 0,006	± 0,004
500	0,072 ^{bA}	0,100 ^{bB}	0,137 ^{cC}	0,474 ^{cD}	0,164 ^{cE}
	± 0,002	± 0,020	± 0,004	± 0,009	± 0,006
1.000	0,097 ^{cA}	0,116 ^{cA}	0,164 ^{dB}	0,702 ^{dC}	0,203 ^{dD}
	± 0,005	± 0,012	± 0,003	± 0,019	± 0,010
1.500	0,128 ^{dA}	0,122 ^{dA}	0,203 ^{eB}	1,016 ^{eC}	0,258 ^{eD}
	± 0,005	± 0,010	± 0,001	± 0,008	± 0,012
2.000	0,170 ^{eA}	0,146 ^{dA}	0,208 ^{eB}	1,253 ^{eC}	0,302 ^{fD}
	± 0,005	± 0,017	± 0,010	± 0,009	± 0,007
2.500	0,204 ^{fA}	0,150 ^{fB}	0,243 ^{fC}	1,326 ^{fD}	0,334 ^{gE}
	± 0,008	± 0,020	± 0,005	± 0,013	± 0,003

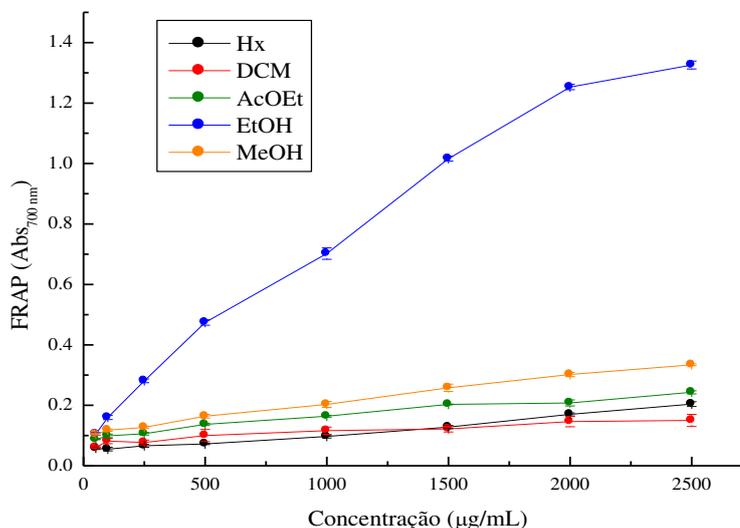
Fonte: AUTORA (2023).

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 12 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em absorvância monitorada em 700 nm, dos extratos hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

Os resultados do poder de redução de íons férricos (FRAP) das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *L. variegata*, estão apresentados na Tabela 15 e Gráfico 13.

As frações Hx, DCM, AcOEt, EtOH, MeOH, MeOH-*n*-ButOH, *n*-ButOH e H₂O apresentaram valores de FRAP, variando de 0,078 a 0,533, os quais foram crescentes com o aumento da concentração (dose dependência). A maior atividade foi registrada na Fr. AcOEt, seguida das Fr. EtOH, Fr. Hx e Fr. MeOH e, por fim, das frações DCM e MeOH-*n*-ButOH, as quais não diferiram significativamente. A Fr. *n*-ButOH apresentou valores crescentes de absorvância até a concentração de 1.000 µg/mL, mas nas concentrações subsequentes, não foi possível monitorar as absorvâncias (TABELA 15, GRÁFICO 13).

Todas as frações de *L. variegata* deste estudo apresentaram atividades redutoras superiores a encontrada no controle positivo EDTA. O FRAP do EDTA variou de 0,053 a 0,153. Nas frações os valores de absorvância variaram de 0,078 (Fr. H₂O) a 0,533 (Fr. AcOEt). Quando comparados aos extratos, os valores de absorvância foram inferiores, sendo considerado menor poder redutor (TABELA 15, GRÁFICO 13).

Tabela 15 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em absorbância monitorada em 700 nm, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Concentração (µg/mL)	FRAP das frações							
	Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH	MeOH- <i>n</i> ButOH	<i>n</i> ButOH	H ₂ O
50	0,114 ^{aA}	0,092 ^{aB}	0,083 ^{aB}	0,094 ^{aAB}	0,087 ^{aB}	0,084 ^{aB}	0,084 ^{aB}	0,078 ^{aB}
	± 0,007	± 0,004	± 0,008	± 0,011	± 0,005	± 0,006	± 0,002	± 0,014
100	0,123 ^{abA}	0,092 ^{aB}	0,100 ^{abA}	0,104 ^{abA}	0,099 ^{aA}	0,096 ^{abC}	0,104 ^{bcA}	0,079 ^{bD}
	± 0,006	± 0,012	± 0,007	± 0,008	± 0,005	± 0,010	± 0,007	± 0,017
250	0,135 ^{abcA}	0,125 ^{baB}	0,122 ^{baB}	0,139 ^{ba}	0,099 ^{aC}	0,106 ^{cbABC}	0,103 ^{baBC}	0,079 ^{bC}
	^B ± 0,014	± 0,009	± 0,002	± 0,021	± 0,008	± 0,012	± 0,003	± 0,025
500	0,147 ^{caB}	0,142 ^{baB}	0,161 ^{ca}	0,195 ^{cC}	0,129 ^{bbD}	0,109 ^{bD}	0,117 ^{cd}	0,083 ^{abE}
	± 0,015	± 0,015	± 0,006	± 0,010	± 0,002	± 0,010	± 0,007	± 0,010
1.000	0,200 ^{dA}	0,177 ^{caB}	0,263 ^{dC}	0,271 ^{dC}	0,149 ^{bD}	0,109 ^{bE}	0,162 ^{dAD}	0,078 ^{bF}
	± 0,003	± 0,012	± 0,011	± 0,008	± 0,005	± 0,006	± 0,008	± 0,019
1.500	0,206 ^{dA}	0,193 ^{ca}	0,372 ^{eB}	0,341 ^{cC}	0,186 ^{ca}	0,136 ^{cD}	-	0,084 ^{bE}
	± 0,012	± 0,006	± 0,011	± 0,006	± 0,007	± 0,005	-	± 0,016
2.000	0,222 ^{dAB}	0,184 ^{bc}	0,410 ^{fD}	0,430 ^{fD}	0,223 ^{dA}	0,160 ^{dC}	-	0,096 ^{bE}
	± 0,011	± 0,028	± 0,008	± 0,020	± 0,025	± 0,003	-	± 0,021
2.500	0,278 ^{eA}	0,196 ^{cb}	0,533 ^{gC}	0,454 ^{fD}	0,246 ^{dA}	0,184 ^{eB}	-	0,093 ^{bE}
	± 0,026	± 0,023	± 0,041	± 0,023	± 0,011	± 0,004	-	± 0,023

Fonte: AUTORA (2023).

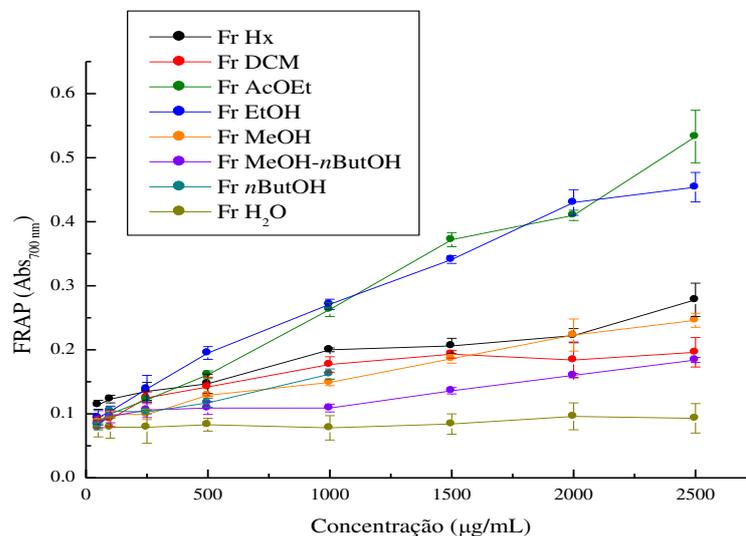
- Valores não registrados

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 13 – Poder de redução de íons férricos (FRAP), expresso em absorvância monitorada em 700 nm, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

Todos os controles, extratos e frações analisadas neste trabalho apresentaram dose-dependência, aumentando o poder redutor (FRAP) com o aumento da concentração das amostras. Similiarmente, Soltani *et al.* (2011) e Vinayak, Sabu e Chatterji (2011) também encontraram a mesma tendência de dose-dependência nos resultados do FRAP nos extratos de *Dictyopteris australis*, *D. delicatula*, *Padina tetrastromatica*, *Sargassum marginatum*, *Stapoglossum aspernum*, *S. variabile* e *Stoechospermum marginatum*.

Catarino *et al.* (2023), ao revisarem estudos sobre pigmentos isolados de algas marinhas, também verificaram uma correlação positiva entre a atividade antioxidante e o teor de carotenoides nos extratos das macroalgas pardas *Sargassum siliquosum* e *S. polycystum* em concentrações mais elevadas.

Extratos e frações ricos em fucoxantina, obtidos da macroalga marinha parda *Turbinaria decurrens*, coletada na costa de Krakal, na Indonésia, foram avaliados quanto à atividade antioxidante. Os valores de FRAP do extrato e da fração, ambos na concentração mais baixa de 20 µg/mL, foram comparáveis aos do composto puro, fucoxantina. Entretanto, nas concentrações mais altas de 40 e 80 µg/mL, o FRAP da fucoxantina foi maior ($p < 0,05$) (NURROCHMAD *et al.*, 2018).

A causa da possível variação na quantidade de compostos presentes nos extratos e nas frações já foi discutida anteriormente, e é notório que a escolha da metodologia de extração

pode influenciar positiva ou negativamente a extração desses compostos. Dang *et al.* (2018) estudaram o efeito de temperatura, tempo e potência ultrassônica sobre os teores de compostos fenólicos totais (CFT) e sobre as atividades antioxidantes (ABTS, DPPH e FRAP) dos extratos da macroalga marinha parda *Hormosira banksii*, chegando a conclusão de que as três variáveis representaram um impacto significativo sobre as determinações de interesse. Dentre as atividades antioxidantes, o FRAP foi o mais afetado pela temperatura, seguida do tempo e da potência do ultrassom. Nas condições de tempo longo (60 min), baixa temperatura (30 °C) e potência ultrassônica de 60% (150 W), foi observado o máximo valor de FRAP igual a 13,02 mg ET/g extrato.

Vega *et al.* (2020) constataram que para as macroalgas *Fucus spiralis* e *Treptacantha abies-marina*, o local de coleta, os métodos de cultivo e de extração, os solventes e os procedimentos de análise interferiram significativamente no poder de redução. Os extratos hidroetanólicos de *T. abies-marina* e *F. spiralis*, coletadas na natureza, apresentaram, respectivamente, as maiores atividades redutoras (24,9 e 20,0 mg EAA/g extrato).

Dez extratos metanólicos a 80% de macroalgas marinhas pardas coreanas (*Sargassum confusum*, *S. fusiforme*, *S. muticum*, *S. nigrifolium*, *Mielophycus simplex*, *Petalonia fascia*, *Petrospongium rugosum*, *Scytosiphon gracilis*, *S. lomentaria* e *Ishige foliacea*) foram avaliados quanto ao poder de redução (mM FeSO₄/g). Os valores mais elevados foram registrados em *S. nigrifolium* (0,173 ± 0,015), *I. foliacea* (0,130 ± 0,003) e *P. fascia* (0,074 ± 0,006). Apesar de *S. nigrifolium* ter exibido o maior FRAP, os teores de CFT e TF foram o terceiro (cerca de 45 mg EAG/g extrato) e quinto (cerca 25 mg EQ/g) maiores, respectivamente (LEE; PARK; LEE, 2020).

No presente trabalho, o extrato EtOH de *L. variegata* apresentou o maior teor de CFT e o sétimo de TF, enquanto a Fr. AcOEt, o segundo CFT e TF. Nos dois trabalhos, a atividade redutora não ocorreu obrigatoriamente nos extratos com mais compostos fenólicos e flavonoides, indicando a possibilidade de haver outros compostos com tal atividade. Korzeniowska, Łęska e Wieczorek (2020) reforçaram a proposta de que, apesar de todos os extratos terem apresentado atividade antioxidante, não é prudente concluir que essa atividade advenha apenas dos compostos fenólicos. Baek *et al.* (2021) verificaram que das onze espécies de *Sargassum* estudadas, as que apresentaram as menores atividades de ABTS, DPPH e FRAP foram aquelas que apresentaram os menores teores de compostos fenólicos e flavonoides.

Neste trabalho, houve uma correlação positiva entre os teores de compostos fenólicos e a atividade antioxidante (FRAP). O extrato EtOH apresentou o maior CFT e o maior FRAP. Este resultado também foi observado para as frações. A Fr. AcOEt apresentou maior

CFT e o segundo maior TF, e conseqüentemente o maior FRAP. Os resultados encontrados para este ensaio apontaram que o extrato EtOH e a fração AcOEt podem ser considerados fontes promissoras de moléculas bioativas com potencial poder de redução dos íons férricos.

4.5.4 Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB) dos controles positivos, dos extratos e das frações

Os resultados da atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina], estão apresentados na Tabela 16 e Gráfico 14. Neste ensaio, quanto maior a capacidade das amostras de impedir ou reduzir a descoloração (oxidação) do β -caroteno, maior a atividade antioxidante.

Os controles positivos, utilizados como substratos doadores de elétrons, apresentaram atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno máxima com BHA, seguido pela quercetina, ácido ascórbico e ácido gálico. Só foi possível registrar a atividade BCB na quercetina até a concentração de 1.000 $\mu\text{g/mL}$. O BCB registrado para o EDTA, um agente quelante, permaneceu em torno de 120%, valor superior ao encontrado para o BHT (TABELA 16, GRÁFICO 14).

Tabela 16 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilendiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	BCB (%) dos controles positivos					
	Ácido ascórbico	Ácido gálico	BHA	BHT	EDTA	Quercetina
50	153,663 ^{aA}	89,878 ^{aB}	140,117 ^{aC}	141,145 ^{abC}	124,448 ^{aD}	165,943 ^{aE}
	$\pm 2,402$	$\pm 2,813$	$\pm 0,866$	$\pm 1,144$	$\pm 0,389$	$\pm 6,907$
100	132,482 ^{bA}	86,223 ^{aB}	139,731 ^{abC}	139,030 ^{aC}	127,521 ^{bD}	164,357 ^{aE}
	$\pm 0,281$	$\pm 3,871$	$\pm 1,704$	$\pm 1,379$	$\pm 0,493$	$\pm 1,233$
250	123,468 ^{cA}	85,762 ^{aB}	148,754 ^{abC}	149,536 ^{bcC}	128,572 ^{bA}	165,339 ^{aD}
	$\pm 0,799$	$\pm 6,928$	$\pm 3,852$	$\pm 2,657$	$\pm 0,556$	$\pm 2,194$
500	145,902 ^{dA}	101,081 ^{bB}	158,454 ^{bcC}	173,886 ^{cD}	130,626 ^{bcE}	164,107 ^{aF}
	$\pm 0,893$	$\pm 1,505$	$\pm 3,294$	$\pm 1,627$	$\pm 1,076$	$\pm 0,412$
1.000	138,951 ^{eA}	126,377 ^{cB}	189,155 ^{cC}	187,601 ^{dC}	127,694 ^{bB}	175,331 ^{bD}
	$\pm 1,861$	$\pm 0,257$	$\pm 5,817$	$\pm 4,197$	$\pm 1,138$	$\pm 2,373$
1.500	161,017 ^{fA}	129,985 ^{cB}	206,793 ^{cC}	170,855 ^{cA}	128,963 ^{bcB}	-
	$\pm 1,401$	$\pm 11,653$	$\pm 4,725$	$\pm 2,745$	$\pm 0,514$	-
2.000	169,241 ^{gA}	125,160 ^{cB}	274,942 ^{dC}	134,276 ^{aB}	126,522 ^{abB}	-
	$\pm 1,382$	$\pm 0,624$	$\pm 13,053$	$\pm 8,191$	$\pm 1,804$	-
2.500	150,074 ^{hA}	128,718 ^{cAB}	265,228 ^{dC}	114,839 ^{eB}	120,107 ^{dB}	-
	$\pm 1,249$	$\pm 1,479$	$\pm 27,502$	$\pm 7,057$	$\pm 0,304$	-

Fonte: AUTORA (2023).

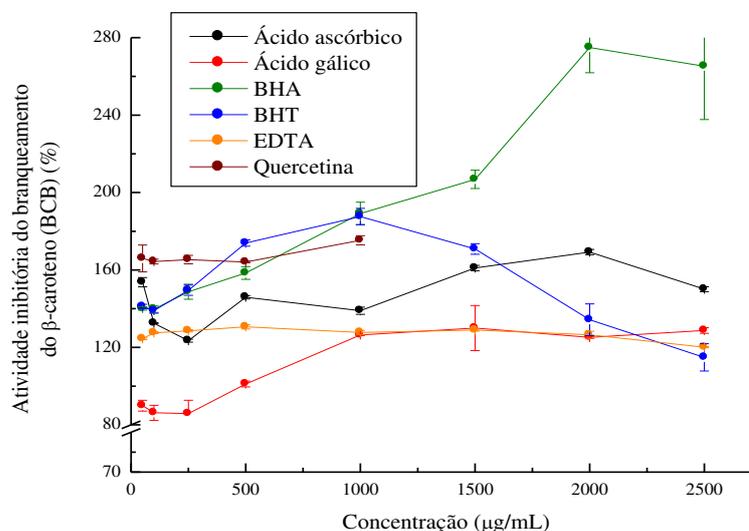
- Valores não registrados

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 14 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos controles positivos [ácido ascórbico, ácido gálico, butil hidroxianisol (BHA), butil hidroxitolueno (BHT), ácido etilenodiamino tetra-acético (EDTA) e quercetina].



Fonte: AUTORA (2023).

Os resultados da atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH) e metanólico (MeOH)] da macroalga marinha parda *L. variegata*, e da estão apresentados na Tabela 17 e Gráfico 15.

Todos os extratos testados apresentaram atividade de inibição acima de 50%. Os extratos AcOEt, EtOH e MeOH foram os que apresentaram os maiores potenciais de inibição, variando de 90 a 100%, enquanto o extrato Hx manteve sua atividade em torno de 70% (TABELA 17, GRÁFICO 15).

Tabela 17 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH_i) e metanólico (MeOH)] da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	BCB (%) dos extratos				
	Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH
50	83,944 ^{aA}	96,316 ^{aB}	94,415 ^{aB}	95,495 ^{aB}	87,470 ^{aA}
	$\pm 2,256$	$\pm 1,031$	$\pm 0,080$	$\pm 2,650$	$\pm 1,598$
100	76,053 ^{bcA}	93,906 ^{aB}	100,377 ^{bC}	100,049 ^{bC} \pm	89,365 ^{abD}
	$\pm 1,240$	$\pm 1,672$	$\pm 1,947$	1,843	$\pm 0,423$
250	79,092 ^{bA}	96,347 ^{aB}	102,599 ^{bC}	101,496 ^{bC}	94,531 ^{cB}
	$\pm 2,072$	$\pm 0,272$	$\pm 3,341$	$\pm 4,101$	$\pm 0,941$
500	74,746 ^{cdA}	91,708 ^{aB}	98,065 ^{bC}	106,075 ^{cd}	93,906 ^{cB}
	$\pm 1,035$	$\pm 3,081$	$\pm 3,470$	$\pm 1,297$	$\pm 1,088$
1.000	65,247 ^{eA}	81,560 ^{bB}	102,987 ^{bC}	105,656 ^{cC}	97,781 ^{cdD}
	$\pm 0,392$	$\pm 2,071$	$\pm 1,636$	$\pm 1,213$	$\pm 1,700$
1.500	70,661 ^{dfA}	78,640 ^{bB}	102,461 ^{bC}	111,676 ^{dD}	98,700 ^{dC}
	$\pm 1,177$	$\pm 2,557$	$\pm 1,683$	$\pm 1,328$	$\pm 1,850$
2.000	70,531 ^{fA}	68,857 ^{cB}	100,418 ^{bC}	111,078 ^{dD}	94,924 ^{cdE}
	$\pm 2,645$	$\pm 2,600$	$\pm 0,749$	$\pm 2,795$	$\pm 2,340$
2.500	64,167 ^{eA}	71,743 ^{cB}	93,807 ^{cC}	110,802 ^{dD}	93,148 ^{bcC}
	$\pm 2,176$	$\pm 0,735$	$\pm 0,821$	$\pm 0,621$	$\pm 2,085$

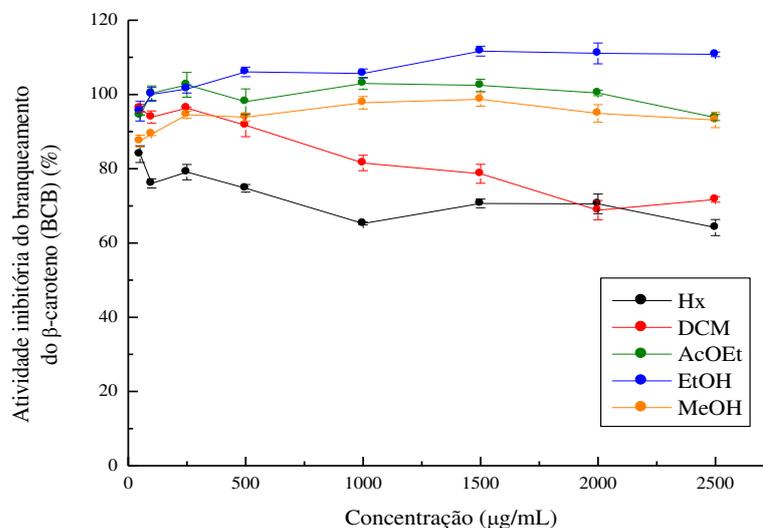
Fonte: AUTORA (2023).

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 15 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, dos extratos [hexânico (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólico (EtOH₁) e metanólico (MeOH)] da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

Os resultados da atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), expressos em porcentagem, das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH₁), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *L. variegata*, estão apresentados na Tabela 18 e Gráfico 16.

Nas concentrações testadas (50 a 2.500 $\mu\text{g/mL}$), todas as frações apresentaram capacidade de inibição do branqueamento do β -caroteno. Assim como nos extratos, todas as frações apresentaram atividade acima de 50%. Os percentuais de inibição variaram de 54,363% (Fr. *n*-ButOH) a 117,096% (Fr. AcOEt). A Fr. EtOH foi a que apresentou o segundo maior potencial de inibição, seguida pelas Fr. Hx e Fr. H₂O (TABELA 18, GRÁFICO 16).

Tabela 18 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Concentração ($\mu\text{g/mL}$)	Frações							
	Hx	DCM	AcOEt	EtOH	MeOH	MeOH- <i>n</i> ButOH	<i>n</i> ButOH	H ₂ O
50	80,007 ^a	78,786 ^a	105,069 ^a	73,541 ^a	56,437 ^a	58,440 ^a	54,363 ^a	67,242 ^a
	$\pm 2,122$	$\pm 1,453$	$\pm 0,582$	$\pm 0,896$	$\pm 1,175$	$\pm 2,365$	$\pm 2,477$	$\pm 2,850$
100	82,327 ^a	90,978 ^b	109,856 ^b	78,968 ^b	71,619 ^b	63,186 ^b	56,703 ^a	73,563 ^b
	$\pm 0,571$	$\pm 0,582$	$\pm 0,805$	$\pm 0,531$	$\pm 0,487$	$\pm 0,945$	$\pm 1,739$	$\pm 2,973$
250	85,852 ^{ab}	96,937 ^{ce}	115,334 ^c	86,988 ^c	73,356 ^b	65,147 ^b	63,685 ^b	76,745 ^{bc}
	$\pm 0,854$	$\pm 0,162$	$\pm 0,863$	$\pm 0,496$	$\pm 2,653$	$\pm 0,353$	$\pm 1,418$	$\pm 2,265$
500	87,424 ^b	100,810 ^c	113,315 ^b	100,542 ^d	87,947 ^c	71,363 ^c	71,185 ^c	81,980 ^c
	$\pm 0,844$	$\pm 1,681$	$\pm 0,800$	$\pm 0,682$	$\pm 1,826$	$\pm 1,120$	$\pm 0,616$	$\pm 3,505$
1.000	108,422 ^c	99,774 ^c	112,912 ^b	108,345	96,674 ^{de}	84,246 ^d	81,230 ^d	89,531 ^d
	$\pm 0,872$	$\pm 2,489$	$\pm 2,214$	$\pm 0,662$	$\pm 0,627$	$\pm 2,215$	$\pm 1,808$	$\pm 3,138$
1.500	99,682 ^d	92,470 ^{db}	117,096 ^c	109,526 ^e	96,877 ^d	86,432 ^{de}	-	75,162 ^b
	$\pm 1,112$	$\pm 1,238$	$\pm 3,523$	$\pm 0,979$	$\pm 1,220$	$\pm 3,694$	-	$\pm 0,417$
2.000	96,896 ^d	94,511 ^{de}	113,625 ^b	109,644 ^e	93,557 ^{ef}	86,654 ^{de}	-	91,969 ^d
	$\pm 3,340$	$\pm 2,461$	$\pm 2,986$	$\pm 1,060$	$\pm 0,672$	$\pm 1,823$	-	$\pm 2,328$
2.500	101,688 ^d	86,678 ^f	103,548 ^a	105,256 ^f	92,115 ^f	89,204 ^e	-	102,517 ^e
	$\pm 3,950$	$\pm 2,312$	$\pm 2,140$	$\pm 0,733$	$\pm 0,949$	$\pm 1,219$	-	$\pm 2,801$

Fonte: AUTORA (2023).

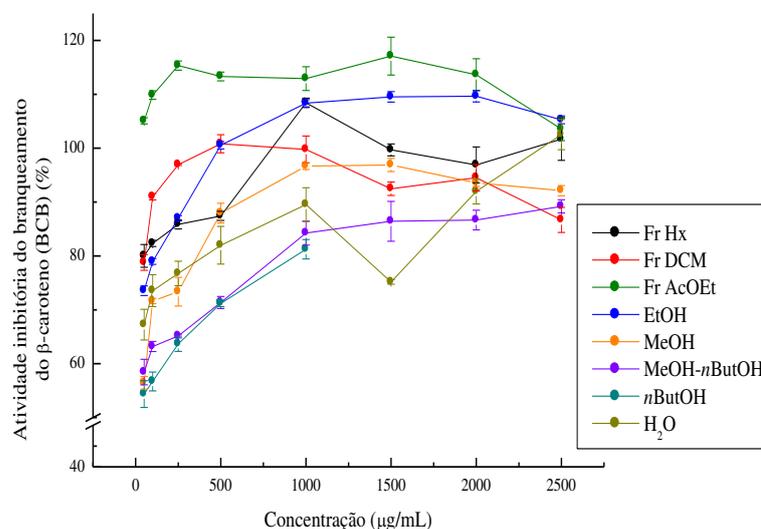
- Valores não registrados

Comparações feitas usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey.

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 16 – Atividade inibitória do branqueamento do β -caroteno (BCB), das frações do extrato etanólico [hexânica (Hx), diclorometano (DCM), acetato de etila (AcOEt), etanólica (EtOH₁), metanólica (MeOH), metanólica-*n*-butanólica (MeOH-*n*-ButOH), *n*-butanólica (*n*-ButOH) e aquosa (H₂O)], da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

Todas as frações na concentração máxima (2.500 µg/mL) apresentaram atividade BCB acima de 80%, exceto a Fr. *n*-ButOH, cujos registros não puderam ser feitos a partir da concentração 1.000 µg/mL. Nos extratos, na mesma concentração, foi encontrada atividade inferior, com 64,167% para o extrato Hx. Apesar dos resultados obtidos para os extratos serem inferiores aos encontrados para as frações, todas as amostras analisadas apresentaram atividade superior a 50%. Desse modo, elas são consideradas de grande importância, visto que foram obtidas com nenhum ou apenas pouco grau de purificação. Esses resultados corroboram com o que está disponível na literatura sobre as algas marinhas serem fontes promissoras de biosubstâncias com atividade antioxidante em potencial (TABELA 18, GRÁFICO 16).

No presente trabalho, foi possível observar correlação entre os teores de CFT e TF e a atividade BCB. Os extratos EtOH e AcOEt e a Fr. AcOEt apresentaram atividades com máximo de inibição de 110,802%, 93,807% e 103,548%, nesta ordem, na maior concentração testada.

Amorim, Nardelli e Chow (2020), com o objetivo de avaliar as propriedades antioxidantes e o teor de pigmentos e proteínas da macroalga marinha parda *Sargassum stenophyllum*, submetida a diferentes processos de secagem (liofilização, secagem em forno e secagem em sílica), verificaram elevada atividade antioxidante para os ensaios ABTS, DPPH e FRAP. Segundo os autores, o processo de liofilização evitou alterações nas propriedades

funcionais dos constituintes das algas, prevenindo a degradação de compostos termossensíveis e as reações de oxidação, uma vez que o processo ocorre a vácuo.

Alcaloides, terpenoides, esteroides e fenóis, metabólitos presentes nas algas marinhas, possuem diversas propriedades farmacológicas, incluindo suas funções antioxidantes e antidiabéticas. Numerosos estudos demonstraram os benefícios dessas biomoléculas. Os flavonoides têm forte atividade antimicrobiana e antioxidante, sendo conhecidos por destruírem os radicais livres (ABO-SHADY *et al.*, 2023).

Segundo Dang *et al.* (2018), os flavonoides podem ser os principais responsáveis pelas atividades antioxidantes e antimicrobianas dos extratos algais. Os autores avaliaram o potencial antioxidante de extratos etanólicos a 70% de seis espécies de macroalgas pardas (*Sargassum vestitum*, *S. linearifolium*, *S. podocanthum*, *Phyllospora comosa*, *Padina* sp. e *Hormosira banksii*) e verificaram que o extrato de *H. banksii* apresentou o maior valor de TF (29,31 mg CAE/g extrato), seguido pelos extratos de *S. vestitum* e *Padina* sp., que exibiram as maiores atividades antioxidantes para o radical ABTS, com valores comparáveis a todos os controles positivos (BHT, ácido ascórbico e α -tocoferol), em concentrações iguais ou maiores que 0,5 mg/mL.

Para as macroalgas pardas *Sargassum confusum*, *S. coreanum*, *S. filicinum*, *S. hemiphyllum*, *S. horneri*, *S. macrocarpum*, *S. micracanthum*, *S. miyabei* Yendo, *S. serratifolium* e *S. siliquastrum*, avaliadas quanto à capacidade antioxidante, Baek *et al.* (2021) observaram que *S. miyabei* Yendo apresentou os maiores teores de CFT (88,97 mg EAG/g peso seco) e de TF (82,33 mg EQ/g peso seco) e as melhores atividades, com máximas registradas para o radical ABTS (186,19 mg EVC/g peso seco), capacidade de sequestro do radical DPPH (193,65 mg EVC/g peso seco), eliminação do radical superóxido (43,66%) e FRAP (0,956 mM Fe^{2+} equivalentes/g peso seco).

O extrato EtOH de *L. variegata*, investigado neste trabalho, apresentou maior poder antioxidante, tendo valores máximos de atividade registrados no DPPH, FRAP e BCB. Os resultados preliminares apontaram o extrato EtOH e a Fr. AcOEt como os mais promissores, considerando os valores máximos de CFT e TF. Eles foram também os que exibiram as maiores atividades antioxidantes. O etanol tem sido considerado um bom extrator de biomoléculas ativas, embora neste trabalho também tenha sido possível observar que o acetato de etila foi um bom solvente extrator de biomoléculas.

Aguiar *et al.* (2022) avaliaram a capacidade antioxidante total, DPPH, FRAP, FIC, poder quelação de íons de cobre e atividades de eliminação do radical hidroxila e superóxido,

tendo constatado que os extratos algais, em especial os das pardas, apresentaram forte capacidade antioxidante.

4.6 Atividade antimicrobiana

4.6.1 Atividade antibacteriana

A atividade antibiótica frente a cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923) dos extratos e das frações Hx e EtOH, obtidos da macroalga marinha parda *L. variegata* e escolhidos por terem apresentado as melhores atividades antioxidante e toxicológica, foi avaliada com base nos resultados de concentração inibitória mínima (CIM), definida como a concentração mínima do antimicrobiano necessária para inibir o crescimento bacteriano, de forma que quanto menor o valor de CIM, maior o potencial da amostra analisada; concentração bactericida mínima (CBM), estabelecida como a concentração mínima da amostra capaz de matar 99,9% das células bacterianas, ou seja, a concentração a partir da qual a amostra analisada é um agente bactericida; e concentração inibitória média (IC₅₀), determinada como a concentração média necessária para impedir o crescimento de 50% da população bacteriana, assim, quanto menor o IC₅₀, maior o potencial da amostra analisada.

Na Tabela 19 estão apresentados os resultados de CIM e CBM dos extratos e das frações Hx e EtOH, obtidos da macroalga marinha parda *L. variegata* frente as cepas de *E. coli* e *S. aureus*.

Tabela 19 – Concentração inibitória mínima (CIM) e concentração bactericida mínima (CBM), expressas em µg/mL, dos extratos e das frações hexânicos (Hx) e etanólicos (EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, contra cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Identificação da amostra	<i>Escherichia coli</i>		<i>Staphylococcus aureus</i>	
	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)	CIM (µg/mL)	CBM (µg/mL)
Extrato hexânico	7,81	62,5	125,0	> 1.000
Extrato etanólico	> 1.000	> 1.000	> 1.000	> 1.000
Fração hexânica	125,0	500,0	> 1.000	> 1.000
Fração etanólica	> 1.000	> 1.000	> 1.000	> 1.000

Fonte: AUTORA (2023).

O extrato Hx apresentou CIM de 7,81 $\mu\text{g/mL}$ e CBM de 62,5 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli*, enquanto a Fr. Hx apresentou CIM igual a 125 $\mu\text{g/mL}$ e CBM igual a 500 $\mu\text{g/mL}$. Contudo, com relação à cepa de *S. aureus*, apenas o extrato Hx apresentou CIM de 125 $\mu\text{g/mL}$; os demais os valores foram superiores a 1.000 $\mu\text{g/mL}$. Tais resultados são muito promissores considerando que baixas concentrações do extrato Hx foram capazes de inibir e/ou destruir a bactéria Gram negativa *E. coli*, que possui maior resistência aos antibióticos, devido à composição de sua parede celular (ABRANTES; NOGUEIRA, 2021).

Com relação ao extrato EtOH e Fr. EtOH, as altas concentrações de biomassa bacteriana nas placas indicaram ausência de capacidade mínima inibitória (CIM) e de capacidade bactericida (CBM), para as cepas testadas, mostrando que não houve inibição do crescimento bacteriano, nem mesmo na concentração 1.000 $\mu\text{g/mL}$.

Os valores de IC_{50} foram calculados com base na equação da reta, considerando a faixa em que houve linearidade entre o percentual de inibição e a concentração das amostras (extratos Hx e EtOH e Fr. Hx e Fr. EtOH) e estão apresentados na Tabela 20. Para isso, diagramas de dispersão foram previamente elaborados no plano cartesiano de coordenadas, indicando a faixa de linearidade supracitada.

Mais uma vez, o extrato Hx mostrou uma potencial atividade antibiótica contra a cepa da bactéria patogênica *E. coli*, com IC_{50} de 5,463 $\mu\text{g/mL}$. Com relação ao *S. aureus*, foi necessária uma concentração 7,3 vezes maior para conseguir matar 50% dos organismos (TABELA 20).

O extrato EtOH apresentou IC_{50} de 43,783 $\mu\text{g/mL}$ para *E. coli*, não tendo sido possível registrar valores de atividade de inibição desse extrato para a bactéria *S. aureus* (TABELA 20).

Assim como observado para o extrato Hx, a Fr. Hx também apresentou menor IC_{50} para *E. coli* (11,978 $\mu\text{g/mL}$), não tendo sido possível registrar valores de atividade de inibição para o *S. aureus*. A Fr. EtOH apresentou IC_{50} para *E. coli* de 44,609 $\mu\text{g/mL}$ e para *S. aureus* de 598,332 $\mu\text{g/mL}$ (TABELA 20).

Diante dos resultados obtidos, o extrato Hx e a Fr. Hx apresentaram potenciais bioativos com características antibióticas para a bactéria *E. coli*. O extrato EtOH e a Fr. EtOH exibiram resultados semelhantes para a inibição de 50% do crescimento de *E. coli*, com valores de IC_{50} de 43,783 e 44,609 $\mu\text{g/mL}$. Contudo, concentrações maiores dos extratos e das frações foram necessárias para conseguir inibir 50% do crescimento de *S. aureus* (TABELA 20).

Tabela 20 – Concentração média necessária para impedir o crescimento de 50% da população (IC₅₀), expressa em µg/mL, dos extratos hexânico (Hx) e etanólico (EtOH) e das frações hexânica (Fr. Hx) e etanólica (Fr. EtOH), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, contra cepas padrão de *Escherichia coli* (ATCC 25922) e *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923).

Amostras	IC50 (µg/mL)	
	<i>E. coli</i>	<i>S. aureus</i>
Extrato hexânico (Hx)	5,463	40,116
Extrato etanólico (EtOH)	43,783	-
Fração hexânica (Fr. Hx)	11,978	-
Fração etanólica (Fr. EtOH)	44,609	598,332

Fonte: AUTORA (2023).

O resultado do potencial biológico encontrado no presente trabalho revelou maior atividade antibacteriana para extratos e frações obtidos com hexano, diferentemente do relatado por Suganya *et al.* (2019). Após investigação do potencial biológico de extratos acetônico, clorofórmico, metanólico, etanólico e aquoso da macroalga *Sargassum wightii*, os autores encontraram potenciais atividades biológicas e elevado conteúdo fenólico total e de flavonoides no extrato etanólico de *S. wightii*. Esse extrato promoveu uma redução significativa na formação de biofilmes, de 40%, para a bactéria *Pseudomonas aeruginosa*.

O fucoidano, polissacarídeo sulfatado extraído da macroalga parda *Fucus vesiculosus*, apresentou efeitos inibidores sobre o crescimento de bactérias patogênicas para saúde humana (*Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Aeromonas hydrophila*, *Escherichia coli*, *Salmonella Typhimurium*, *Enterococcus faecalis*, *Lactobacillus acidophilus*, *Streptococcus mutans*, *S. oralis*, *S. sobrinus*, *S. sanguinis* e *S. thermophilus*). Esse polissacarídeo apresentou valores de CIM de 125 µg/mL para *S. mutans* e de 1.000 µg/mL para *E. faecalis*. Também foi observada inibição do crescimento de *L. monocytogenes* (CIM de 250 µg/mL), *S. aureus* (CIM de 500 µg/mL) e de duas bactérias lácticas, ambas com CIM de 500 µg/mL (JUN *et al.*, 2018).

Alreshidi *et al.* (2023) avaliaram o potencial antibiótico do extrato metanol:água da macroalga parda *Sargassum* sp. coletada no Mar Vermelho. As atividades antimicrobiana e antibiofilme foram testadas contra cepas de *S. aureus* (resistentes/sensíveis à meticilina), *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus epidermidis* e *Candida albicans*. O extrato bruto foi efetivo contra todos os micro-organismos testados, com zonas de inibição de crescimento variando de 10,67 ± 0,58 mm (*S. aureus* sensível a meticilina) a 44,67 ± 1,15 mm para *S. epidermidis*. Os valores de CIM variaram de 6,25 a 12,5 mg/mL e os de CBM foram iguais ou superiores a 50 mg/mL. O extrato metanol:água foi capaz de inibir a formação de

biofilme de cepas de *Staphylococcus* spp. de maneira dependente da concentração, e a máxima porcentagem foi registrada em 12,5 mg/mL for *S. epidermidis* ($82,35 \pm 0,03\%$).

O ambiente marinho é conhecido por ser um grande depósito de novos produtos naturais bioativos, cujas estruturas e características químicas são constantemente investigadas. Diversos organismos aquáticos, por exemplo, organismos fitoplanctônicos, micro-organismos (bactérias, fungos), esponjas, algas, moluscos e celenterados, são destacados na literatura por possuírem compostos tóxicos, utilizados para impedir que os predadores os capturem, além de facilitar a captura de suas presas (LU *et al.*, 2021).

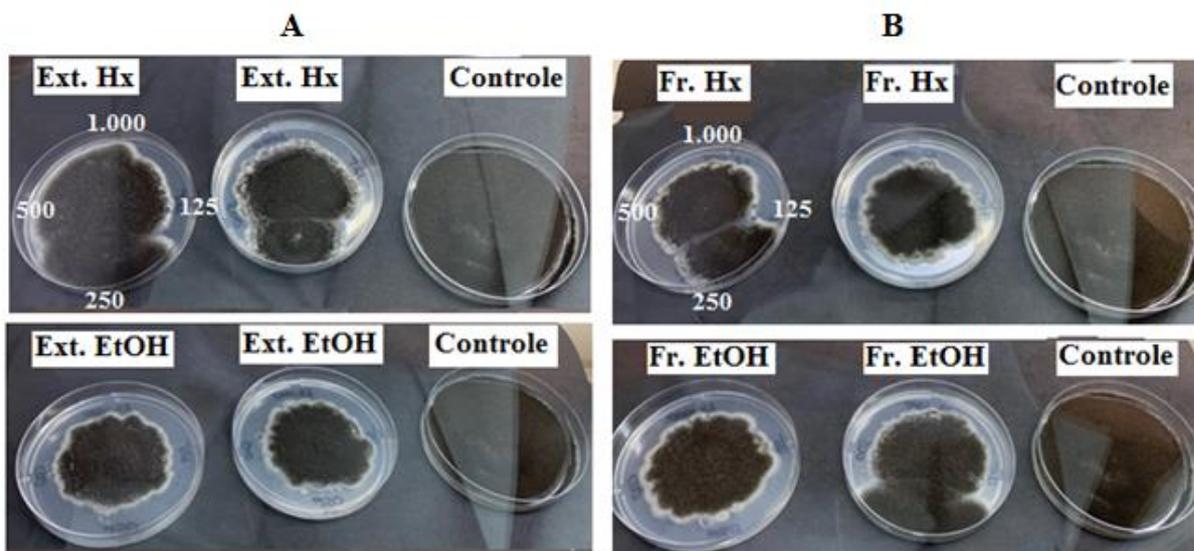
4.6.2 Atividade antifúngica

Os extratos (Hx e EtOH) e as frações (Hx e EtOH) não apresentaram atividade antifúngica contra o fungo filamentosso *Aspergillus niger* nas quatro concentrações testadas: 125, 250, 500 e 1.000 $\mu\text{g/mL}$ (FIGURA 10).

A avaliação da atividade antifúngica foi feita pela comparação do crescimento da colônia do fungo *A. niger* na presença dos extratos e das frações (Hx e EtOH), com o crescimento do fungo na placa denominada controle, contendo apenas ágar dextrose batata (ADB), meio de cultura utilizado com esta finalidade.

Assim, nesse ensaio, foi avaliada a eficácia das amostras em prevenir o crescimento de *A. niger*, tendo como referência o crescimento no controle (ADB), observando a ocorrência ou não de crescimento nas placas. Conforme as imagens da Figura 10, é possível observar que nas placas com os extratos e as frações (Hx e EtOH), houve um crescimento de forma retardada nas áreas onde as amostras foram inoculadas. Essa observação torna-se ainda mais perceptível, quando se compara com o crescimento nas placas controle.

Figura 10 – Atividade antifúngica contra o fungo filamentosso *Aspergillus niger*, dos extratos e frações hexânicos (Hx) e etanólicos (EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e do controle, ágar dextrose batata (ADB). (A) Extratos Hx e EtOH; (B) Frações Hx e EtOH.



Fonte: AUTORA (2023).

Na Tabela 21 estão apresentados os resultados do crescimento (cm) do fungo filamentosso *Aspergillus niger* nas placas contendo as amostras (extratos e frações Hx e EtOH) e o controle (ágar dextrose batata - ADB), das duas repetições e suas respectivas médias (cm).

Tabela 21 – Crescimento (cm) do fungo filamentosso *Aspergillus niger*, submetido a ação antifúngica dos extratos e das frações hexânicos (Hx) e etanólicos (EtOH), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020 e do controle ágar dextrose batata (ADB).

Identificação	Crescimento (cm) do fungo <i>Aspergillus niger</i>				
	Extrato Hx	Extrato EtOH	Fração Hx	Fração EtOH	ADB
Repetição 1	7,0	5,5	6,0	6,0	8,3
Repetição 2	6,5	5,7	5,5	6,3	8,3
Média	6,75	5,60	5,75	6,15	8,30

Fonte: AUTORA (2023).

Com base nos dados da Tabela 21, foi possível observar que os menores crescimentos do fungo *A. niger* ocorreram no extrato EtOH (5,6 cm) e na Fr. Hx (5,75 cm). Quando comparados ao crescimento constatado nas placas controle com ADB, os resultados do extrato EtOH e da Fr. Hx foram, respectivamente 1,48 e 1,44 vez menores. O fungo cresceu mais nas placas com o extrato Hx (6,75 cm) e com a Fr. EtOH (6,15 cm), correspondendo a 1,23 e 1,35 vez, respectivamente, comparados com o das placas controle. É importante destacar

que, embora a atividade antifúngica não tenha sido comprovada para as concentrações testadas, o fungo *A. niger* cresceu menos na presença das amostras (extratos e frações Hx e EtOH), em comparação ao controle, sendo razoável sugerir testar concentrações maiores.

A literatura reporta que muitos extratos algais possuem atividade contra diferentes estirpes de fungos. Begum, Selvaraju e Vijayakumar (2017) verificaram que extratos da macroalga marinha parda *Turbinaria conoides* nas concentrações de 15% e 20% apresentaram 100% de inibição do crescimento micelial do fungo *Fusarium oxysporum*.

Čmíková *et al.* (2022) avaliaram o potencial biológico das macroalgas kombu (*Laminaria japonica*), laminária (*L. japonica*), hijiki (*Sargassum fusiforme*), wakame (*Undaria pinnatifida*), dulce (*Palmaria palmata*) e arame (*Eisenia bicyclis*), frente a cepas das leveduras *Candida tropicalis*, *C. krusei*, *C. glabrata* e *C. albicans*. O efeito dessas amostras foi avaliado pela formação de halos de inibição. O extrato de kombu (*L. japonica*) teve atividade moderada frente às cepas de *C. glabrata* e *C. krusei* ($7,33 \pm 0,58$ mm e $6,33 \pm 0,58$ mm, respectivamente). Já com relação às cepas de *C. albicans* e *C. tropicalis*, a atividade antifúngica foi fraca. Os valores encontrados de CIM 50 e CIM 90 para laminária (*L. japonica*) variaram de 3,43 e 26,52 $\mu\text{L}/\text{mL}$ para *C. krusei* a 54,32 e 55,18 $\mu\text{L}/\text{mL}$ para *C. tropicalis*.

Produtos comerciais (numerados de 1 a 20) utilizados em plantações e feitos com algas (100%) ou com a mistura delas e outros bioestimulantes (% de alga variável) foram avaliados quanto ao potencial antifúngico frente a cepas de fungos patogênicos isolados dos frutos podres da laranja, morango, mirtilo e tomate. Os resultados mostraram os produtos comerciais que inibiram o crescimento fúngico por 22 dias. Em tomates, o fungo *Botrytis cinerea* foi inibido em 65% pelos produtos 4, 6, 8-14 e 16-20, enquanto o fungo *Penicillium digitatum* foi inibido em 25% com os produtos 5, 8-9, 13 e 17. A ação desses produtos comerciais foi associada à presença de polissacarídeos e metabólitos secundários presentes na constituição das algas (VALVERDE *et al.*, 2022).

O impacto das infecções causadas por fungos nas indústrias frutíferas gera perdas significativas na produção, com valores variando entre 20 e 25% do total. Diante disso e do conhecimento sobre as propriedades antimicrobianas das algas marinhas, Toledo *et al.* (2023) investigaram extratos *n*-hexano, acetato de etila, aquoso, etanólico e hidroetanólico das macroalgas *Asparagopsis armata*, *Codium* sp., *Fucus vesiculosus* e *Sargassum muticum*, contra cepas fúngicas patogênicas para frutos, *Alternaria alternata*, *Botrytis cinerea*, *Fusarium oxysporum* e *Penicillium expansum*. Os extratos acetato de etila e hidroetanólico da rodófito *A. armata* apresentaram as melhores atividades inibitórias *in vitro* contra *B. cinerea*, com

69,51% e 67,63% de inibição, enquanto o extrato aquoso da ocrófita de *S. muticum* apresentou resultados promissores contra *B. cinerea in vivo*.

É igualmente importante ressaltar que a presença de fungos afeta negativamente produtos de pescado salgados e defumados. Desse modo, extratos algais efetivos contra o crescimento desses micro-organismos encontram aplicação tecnológica para prolongar o tempo de vida útil desses produtos, conservando sua qualidade (MEI; MA; XIE, 2019).

4.7 Avaliação toxicológica dos extratos e das frações

4.7.1 Atividade fitotóxica frente a sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*)

Os resultados dos ensaios de fitotoxicidade dos extratos (Hx e EtOH) e das frações (Hx e EtOH), contra sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*), estão apresentados na Tabela 22.

Nos dois controles positivos, solução salina a 0,5% e solução salina a 0,5% acrescida de dez gotas de clorofórmio, não houve crescimento das sementes de *C. sativus*, resultado já esperado, visto que o cloreto de sódio (NaCl) afeta o crescimento das plantas em todos os estágios. A sensibilidade de sementes frente à concentração de sal é variável; algumas são tão sensíveis que mesmo quantidades mínimas de sal inibem severamente a emergência das mudas por causar deficiência de água e nutrientes e, conseqüentemente, toxicidade iônica (OLIVEIRA; OLIVEIRA, 2023) (TABELA 22, FIGURA 11).

Para os dois controles negativos, água e água acrescida de dez gotas de clorofórmio, foi feita uma análise estatística e não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), entre os valores encontrados para a germinação e o crescimento da planta. Assim, a média dos valores dos dois controles negativos foi calculada e passou a ser utilizada para os cálculos de médias de crescimento radicular (MCR), porcentagem relativa de germinação (RSG), porcentagem relativa de crescimento radicular (RRG) e índice de germinação (IG) (TABELA 22, FIGURA 11).

Nenhum dos extratos ou frações (Hx e EtOH) de *L. variegata* foi tóxico para as sementes de pepino aodai melhorado. Segundo a classificação de Belo (2011), considerando os valores de IG (%), os extratos e as frações foram classificados como potencializadores da germinação e do crescimento das raízes do pepino aodai melhorado, pois apresentaram valores acima de 100%. O crescimento do *C. sativus*, após sete dias de incubação, está apresentado na

Figura 11, sendo possível observar que houve crescimento em todas as placas, exceto naquelas referentes aos controles positivos.

Tabela 22 – 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 dos extratos e das frações hexânicos (Hx) e etanólicos (EtOH), obtidas a partir da macroalga marinha parda, *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, e dos controles negativo e positivo, contra sementes de pepino aodai melhorado (*Cucumis sativus*), após sete dias de incubação.

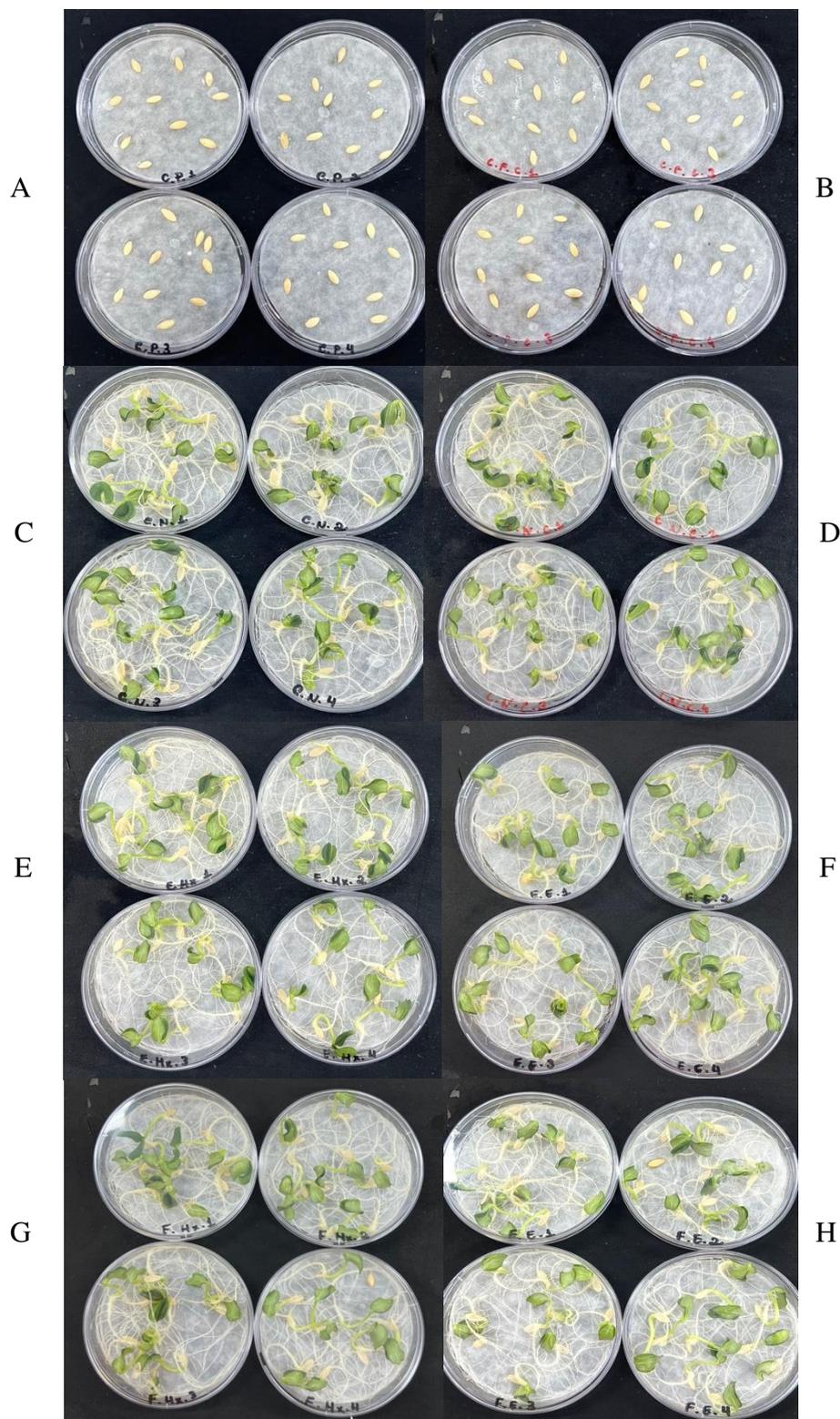
Identificação	MCR (mm)	RSG (%)	RRG (%)	IG (%)
Extrato Hx	133,053	100	111,314	111,314
Extrato EtOH	121,495	102,564	101,645	104,251
Fração Hx	121,884	100	101,937	101,937
Fração EtOH	120,318	100	100,660	100,660
Controle negativo (CN)	119,529	100	-	-
CN com clorofórmio	119,529	100	-	-
Controle positivo (CP)	0	0	0	0
CP com clorofórmio	0	0	0	0

Fonte: AUTORA (2023).

Para Carillo *et al.* (2020), apesar de serem conhecidos os benefícios do uso das algas marinhas como bioestimulantes para plantações, novas técnicas sustentáveis devem ser desenvolvidas, para que além do crescimento das plantas, o uso desses bioaditivos favoreçam seu melhoramento molecular e fisiológico e que aumentem a resistência delas ao sal. Desse modo, plantas mais toletantes poderiam ser cultivadas em muitas áreas do Nordeste brasileiro, por exemplo, onde as águas salobras seriam utilizadas para a irrigação dessas culturas.

Hernández-Herrera *et al.* (2014) avaliaram o efeito de extratos aquosos das macroalgas marinhas *Padina gymnospora* e *Sargassum liebmannii*, obtidos por extração a quente a 121°C em autoclave por 1 h, nas concentrações de 0,2, 0,4 e 1%, como bioestimulantes na germinação e crescimento do tomate *Solanum lycopersicum* em condições controladas de laboratório. As sementes tratadas com os extratos líquidos de *P. gymnospora* na concentração mais baixa (0,2%) apresentaram maior taxa de germinação, aumento no comprimento da parte aérea das plantas, aumento no comprimento das raízes e no peso, sendo considerados os melhores candidatos para o desenvolvimento de bioestimulantes eficazes para melhorar o crescimento de tomates.

Figura 11 – Atividade fitotóxica da (A) solução salina, (B) solução salina e clorofórmio, (C) água destilada, (D) água destilada e clorofórmio, (E) extrato hexânico (Hx), (F) extrato etanólico (EtOH), (G) fração hexânica (Fr. Hx), (H) fração etanólica (Fr. EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, contra sementes de pepino aoadi melhorado (*Cucumis sativus*), após sete dias de incubação.



Fonte: AUTORA (2023).

Extratos aquosos das macroalgas pardas *Cystoseira gibraltaria*, *Fucus spiralis* e *Bifurcaria bifurcata* também foram testados para avaliar a germinação e o crescimento do tomateiro *S. lycopersicum* nas concentrações 0,5, 1 e 1,5% e apresentaram resultados de germinação, crescimento e melhoramento bioquímico da planta, variando com a espécie e concentração testada. Os extratos de *C. gibraltaria* e *B. bifurcata*, na concentração 0,5%, favoreceram uma leve germinação do tomateiro. Os extratos de *F. spiralis* foram responsáveis por uma boa taxa de germinação nas três concentrações testadas. Nenhuma das espécies analisadas foi tóxica para o tomateiro, ao invés disso, os extratos de *B. bifurcata* e *F. spiralis* foram capazes de melhorar a composição bioquímica das plantas, mesmo em baixa concentração, sendo considerados excelentes bioestimulantes para incrementar o crescimento do tomateiro (BAROUD *et al.*, 2021).

Diante do exposto sobre a utilização das algas na agricultura e do que foi encontrado no presente trabalho, os extratos e as frações Hx e EtOH de *L. variegata* não foram tóxicos para as sementes de pepino aodai melhorado e, além disso, favoreceram o crescimento das plantas, comprovando o efeito positivo do uso das algas marinhas como bioestimulantes no cultivo de plantas superiores.

4.7.2 Atividade citotóxica contra náuplios de *Artemia* sp.

Os resultados do ensaio de letalidade contra náuplios do microcrustáceo *Artemia* sp. no estágio II de desenvolvimento, após 24 e 48 h de exposição, frente ao extrato hexânico (Hx), obtido da macroalga marinha parda *L. variegata*, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, e o percentual de mortos no controle estão apresentados na Tabela 23 e Gráfico 17.

Os resultados de letalidade dos controles constituídos de água do mar e água do mar acrescida de DMSO não apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$), portanto a média aritmética foi utilizada para os cálculos da letalidade. Os valores encontrados para a atividade citotóxica contra náuplios de *Artemia* sp. no controle se mantiveram dentro do limite máximo admitido de 10% de mortalidade. Provavelmente, a morte registrada no controle com 24 h de exposição tenha sido decorrente do manuseio durante a montagem das placas.

Com 24 h de exposição ao extrato Hx, foi possível observar que, nas duas maiores concentrações (50 e 100 µg/mL), houve mortalidade de 7,5% dos náuplios de *Artemia* sp. Após 48 h de exposição, no entanto, o número de indivíduos mortos aumentou com o aumento da concentração do extrato Hx, atingindo 72,5%. O extrato Hx apresentou toxicidade aos náuplios em todas as concentrações testadas, após 48 h de exposição (TABELA 23, GRÁFICO 17).

Tabela 23 – Letalidade de náuplios de *Artemia* sp. frente ao extrato hexânico (Hx) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.

Concentração do extrato (µg/mL)	Extrato hexânico (Hx)					
	24 h			48 h		
	Nº de indivíduos		% de indivíduos mortos	Nº de indivíduos		% de indivíduos mortos
	Total	Mortos		Total	Mortos	
12,5	40	0	0	40	1	2,5
25	40	0	0	40	4	10,0
50	40	3	7,5	40	8	20,0
100	40	3	7,5	40	29	72,5
Controle	40	1	2,5	40	2	5,0

Fonte: AUTORA (2023).

Para o extrato EtOH da macroalga marinha parda *L. variegata*, os resultados do ensaio de letalidade, após 24 e 48 h de exposição, contra náuplios de *Artemia* sp. no estágio II de desenvolvimento, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, e o percentual de mortos no controle estão apresentados na Tabela 24 e Gráfico 17.

Tabela 24 – Letalidade de náuplios de *Artemia* sp. frente ao extrato etanólico (EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.

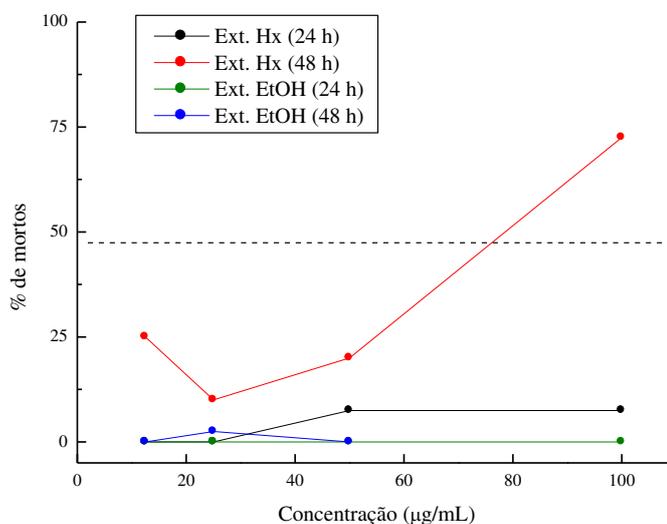
Concentração do extrato (µg/mL)	Extrato etanólico (EtOH)					
	24 h			48 h		
	Nº de indivíduos		% de indivíduos mortos	Nº de indivíduos		% de indivíduos mortos
	Total	Mortos		Total	Mortos	
12,5	40	0	0	40	0	0
25	40	0	0	40	1	2,5
50	40	0	0	40	0	0
100	40	0	0	40	0	0
Controle	40	1	2,5	40	2	5,0

Fonte: AUTORA (2023).

O extrato EtOH não foi tóxico nas concentrações testadas. Contudo, após 48 h de incubação, 2,5% dos náuplios morreram na concentração 25 $\mu\text{g/mL}$. Certamente, essa letalidade aleatória não se deveu aos princípios bioativos presentes no extrato, podendo ser atribuída ao manuseio durante a preparação da placa. Como todo o processo é manual, pode acontecer de o animal sofrer alguma injúria durante a captura e, após algum tempo, vir a morrer.

Comparando os extratos Hx e EtOH, observou-se que eles apresentaram toxicidades diferentes, o que pode determinar que seu uso dependerá dos objetivos do pesquisador. Por exemplo, o extrato Hx, por ter apresentado maior poder toxicológico, poderia ser utilizado para combater células cancerígenas, matar protozoários, como a *Leishmania* sp., e vírus como o SARS-Cov-2. O extrato EtOH, por sua vez, poderia ser utilizado para produção de fármacos, cosméticos ou produtos alimentícios, por exemplo, atuar como princípio ativo em revestimentos para evitar a ação oxidante em pescado.

Gráfico 17 – Letalidade de náuplios de *Artemia* sp. frente aos extratos hexânico (Hx) e etanólico (EtOH), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 $\mu\text{g/mL}$, após exposição por 24 e 48 h.



Fonte: AUTORA (2023).

Na Tabela 25 e Gráfico 18, estão apresentados os resultados do ensaio de letalidade da Fr. Hx, após 24 e 48 h de exposição, contra náuplios de *Artemia* sp. no estágio II de desenvolvimento, nas concentrações de 12,5 a 100 $\mu\text{g/mL}$, e o percentual de mortos no controle.

Tabela 25 – Letalidade de náuplios de *Artemia* sp. frente à fração hexânica (Fr. Hx) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.

Concentração da fração (µg/mL)	Fração hexânica (Fr. Hx)					
	24 h			48 h		
	Nº de indivíduos		% de indivíduos mortos	Nº de indivíduos		% de indivíduos mortos
	Total	Mortos		Total	Mortos	
12,5	40	0	0	40	0	0
25	40	0	0	40	2	5
50	40	0	0	40	0	0
100	40	0	0	40	0	0
Controle	40	1	2,5	40	2	5,0

Fonte: AUTORA (2023).

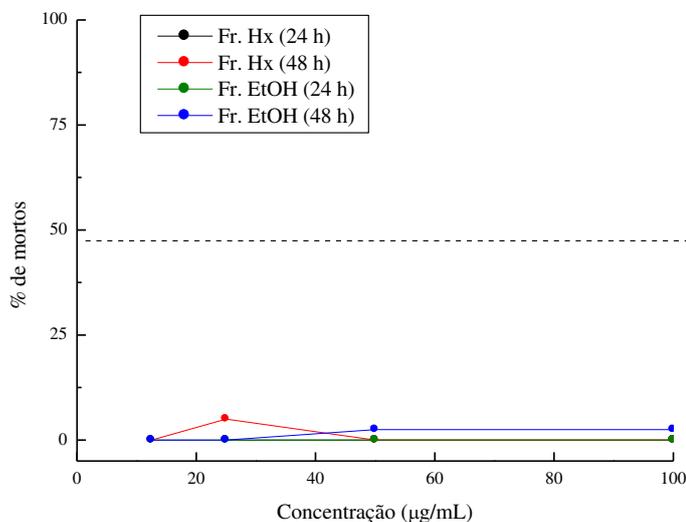
Na Tabela 26 e Gráfico 18 estão apresentados os resultados obtidos para o ensaio de letalidade da Fr. EtOH, após 24 e 48 h de exposição, contra náuplios de *Artemia* sp. no estágio II de desenvolvimento, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, e o percentual de mortos no controle.

Tabela 26 – Letalidade de náuplios de *Artemia* sp. frente à fração etanólica (Fr. EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.

Concentração da fração (µg/mL)	Fração etanólica (Fr. EtOH)					
	24 h			48 h		
	Nº de indivíduos		% de indivíduos mortos	Nº de indivíduos		% de indivíduos mortos
	Total	Mortos		Total	Mortos	
12,5	40	0	0	40	0	0
25	40	0	0	40	0	0
50	40	0	0	40	1	2,5
100	40	0	0	40	1	2,5
Controle	40	1	2,5	40	2	5,0

Fonte: AUTORA (2023).

Gráfico 18 – Letalidade de náuplios de *Artemia* sp. frente às frações hexânica (Fr. Hx) e etanólica (Fr. EtOH) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020, nas concentrações de 12,5 a 100 µg/mL, após exposição por 24 e 48 h.



Fonte: AUTORA (2023).

Assim como o extrato EtOH e a Fr. Hx, a Fr. EtOH apresentou baixa letalidade contra náuplios de *Artemia* sp., mesmo após 48 h de exposição. A máxima letalidade registrada no extrato EtOH foi de 2,5%, nas concentrações de 50 e 100 µg/mL, muito inferior àquela ocorrida com o extrato Hx, na concentração 100 µg/mL, que provocou a morte de 72,5% dos indivíduos, após 48 h de exposição. A Fr. Hx apresentou toxicidade muito menor (5% na concentração 25 µg/mL) do que aquela do extrato Hx. Para a Fr. EtOH, comparada ao extrato EtOH, o comportamento foi inverso. Por possuir baixa toxicidade, a Fr. Hx poderia ser utilizada na indústria farmacêutica, de cosméticos e alimentícia.

Guedes *et al.* (2014) investigaram as atividades biológicas dos extratos de *Padina gymnospora* e *Sargassum vulgare*, preparados com diferentes solventes de polaridade crescente, contra *Aedes aegypti* (atividade larvicida), *Biomphalaria glabrata* (atividade moluscicida) e *Artemia salina* (toxicidade). O extrato diclorometano de *P. gymnospora* exibiu as maiores atividades e foram submetidos ao fracionamento. A fração clorofórmio do extrato de *P. gymnospora* apresentou atividade moluscicida, em concentrações abaixo de 40 µg/mL, o mesmo tendo sido observado para a atividade larvicida. Os extratos não foram tóxicos para *A. salina*, enquanto as frações clorofórmio e hexânica de *P. gymnospora* apresentaram toxicidade moderada, indicando que os compostos tóxicos presentes nessas macroalgas eram não-polares.

O ensaio de letalidade utilizando *Artemia* é comumente utilizado por causa da sensibilidade desse organismo frente a compostos tóxicos, da avaliação rápida, por ser de fácil manuseio, pouco oneroso e com resultados confiáveis. Assim, com base na resposta toxicológica a dose experimental por unidade de superfície corporal da *Artemia*, os efeitos tóxicos das substâncias-teste podem ser extrapolados ao homem, sendo possível, a partir da resposta biológica do organismo testado, descobrir possíveis riscos aos humanos (ARAÚJO *et al.*, 2023). Contudo, para Ntungwe *et al.* (2020), o organismo primitivo da *Artemia* limita a sua utilidade em relação a doenças humanas, sendo necessário tal análise seja executada com organismo modelo mais evoluído, por exemplo, o peixe-zebra *Danio reio*.

O Forth® é um bioestimulante comercial utilizado para promover o crescimento das plantas e melhorar a tolerância à salinidade, ao calor e à desidratação. Entre outros constituintes, as macroalgas marinhas, *Ascophyllum nodosum* (parda), *Durvillaea potatorum* (parda) e *Lithothamnium calcareum* (vermelha), fazem parte da sua composição. Quando avaliado em estudos toxicogénicos frente a *Artemia salina*, com 24 e 48 h de exposição nas concentrações de 0,061 a 15,625 ppm, observou-se 100% de mortalidade a partir de 7,81 ppm (SILVA *et al.*, 2020).

El-Ghfar *et al.* (2022) pesquisaram a presença de elementos químicos na macroalga marinha parda *Padina pavonica* coletada na costa mediterrânea do Egito e verificaram baixos teores de Cd e Mn. Testes de letalidade foram realizados em todos os extratos (éter de petróleo, clorofórmio, isopropanol e água), que exibiram atividade citotóxica contra *Artemia* sp. com valores de CL₅₀ variando de 370 a 510 mg/L.

O uso de bioativos oriundos das algas marinhas para proporcionar bem-estar a animais cultivados, melhorando seus sistemas imunológicos e promovendo, simultaneamente, o desenvolvimento de antivirais, antibacterianos e antiparasitários, despertou o interesse da aquicultura por bioestimulantes naturais a base de algas marinhas (AFREEN; RASOOL; FATIMA, 2023). Por isso, há necessidade de avaliações preliminares do potencial toxicológico das algas marinhas, a fim de garantir que o resultado obtido esteja dentro do esperado.

4.8 Avaliação dos filmes comestíveis

Os filmes comestíveis são utilizados como uma barreira de proteção entre o alimento e o ambiente. Por essa razão, a busca por bioativos que melhorem essa proteção, sem causar alterações na cor, sabor e estrutura do alimento revestido, é constante. As algas dotadas

de diversas atividades biológicas e de bioativos reconhecidos são fortes candidatas a incorporação nesses revestimentos (VALENCIA-CHAMORRO *et al.*, 2011).

O extrato e a fração Hx foram escolhidos para elaboração de filmes comestíveis, dentre todas as amostras deste trabalho, devido aos resultados observados quanto à atividade antibacteriana, frente a cepa da bactéria patogênica *E. coli*. O extrato Hx apresentou os menores valores de CIM (7,81 µg/mL), CBM (62,5 µg/mL) e IC₅₀ (5,463 µg/mL), seguido da Fr. Hx, com CIM (125 µg/mL), CBM (500 µg/mL) e IC₅₀ (11,978 µg/mL).

Assim, os filmes comestíveis, preparados com a matriz de carragenana, um polissacarídeo extraído da macroalga vermelha *Hypnea musciformis*, foram incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato Hx e da Fr. Hx e apresentaram os resultados para as propriedades de permeabilidade ao vapor de água, solubilidade em água e cor.

4.8.1 Permeabilidade ao vapor de água (PVA)

Na Tabela 27 estão apresentados os dados de espessuras dos filmes de carragenana incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato Hx e da Fr. Hx e os valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA) das duas amostras analisadas.

No presente trabalho, os filmes preparados com o extrato Hx foram mais espessos do que àqueles preparados com a Fr. Hx. Isso pode ter ocorrido por causa da maior quantidade de sólidos em suspensão no extrato quando comparado com o filme da fração.

Os filmes incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato Hx apresentaram espessura entre 0,050 e 0,052 mm, sem diferença estatisticamente significativa ($p > 0,05$). Os filmes incorporados com 1, 2 e 4 mg da Fr. Hx apresentaram espessuras menores em todas as concentrações, quando comparadas às do extrato Hx, variando de 0,029 a 0,040 mm, em que houve diferença significativa entre 1 e 2 mg e entre 2 e 4 mg ($p < 0,05$) (TABELA 27). A adição do extrato Hx (extrato bruto) ao filme ocasionou um acréscimo na sua espessura, quando comparado às espessuras dos filmes incorporados com a Fr. Hx, que foi obtida por um processo mais refinado.

Os filmes incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato Hx apresentaram PVA entre 0,472 e 0,542 g/m² dia atm, enquanto os filmes incorporados com 1, 2 e 4 mg da Fr. Hx apresentaram valores de 0,203 a 0,282 g/m² dia atm. Isso pode ter ocorrido pela característica hidrofóbica dos compostos apolares presentes em maior quantidade no extrato Hx do que na Fr. Hx, uma vez que esta foi obtida através do fracionamento do extrato EtOH, solvente polar (TABELA 27, GRÁFICO 19).

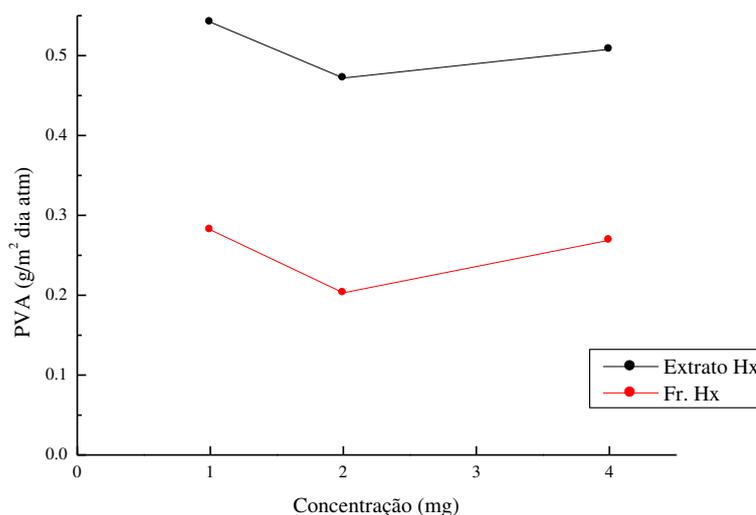
Tabela 27 – Espessura e permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de carragenana incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânicos (Hx), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Incorporação (mg)	Características avaliadas			
	Espessura (mm)		PVA ($\text{g/m}^2 \text{ dia atm}$)	
	Extrato Hx	Fração Hx	Extrato Hx	Fração Hx
1	$0,050^a \pm 0,009$	$0,039^a \pm 0,007$	0,542	0,282
2	$0,050^a \pm 0,011$	$0,029^b \pm 0,010$	0,472	0,203
4	$0,052^a \pm 0,013$	$0,040^a \pm 0,010$	0,508	0,269

Fonte: AUTORA (2023).

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

Gráfico 19 – Permeabilidade ao vapor de água (PVA) dos filmes de carragenana com incorporação de 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânicos (Hx), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

De acordo com a Lei de Fick, a permeabilidade ao vapor de água sob um determinado gradiente de pressão de vapor varia inversamente com a espessura do filme. Entretanto, alguns autores observaram que filmes a base de proteínas miofibrilares apresentaram correlação positiva entre a espessura e a PVA, enquanto a espessura não exerceu nenhum efeito sobre a PVA de filmes poliméricos (CUQ *et al.*, 1996).

O plastificante é de grande relevância na confecção de filmes comestíveis podendo afetar diretamente suas propriedades de transporte, como a PVA, considerando que a capacidade do agente plastificante em reduzir as forças intermoleculares e a mobilidade da cadeia polimérica é dependente da configuração do polímero, do número de hidroxilas livres e

da compatibilidade do plastificante com o polímero (SANTACRUZ; RIVADENEIRA; CASTRO, 2015).

No presente trabalho, o extrato Hx apresentou a menor CBM (62,5 µg/mL), enquanto a Fr. Hx teve CBM de 500 µg/mL, e foi ela que apresentou menor PVA.

A medida da permeabilidade ao vapor de água tem por objetivo analisar o efeito da taxa de transmissão de vapor de água por unidade de área através do filme, de espessura conhecida, induzida por um gradiente de pressão entre duas superfícies específicas (do alimento para o ambiente), de umidade relativa e temperatura especificadas. Cabe ao filme ter a capacidade de criar uma barreira de proteção contra agentes externos, evitando assim alterações na qualidade final do produto (MACHADO, 2019; MACHADO, 2021).

Filmes preparados com carragenana, um polissacarídeo extraído da alga vermelha *H. musciformis*, usualmente necessitam de aditivos para amplificar ou melhorar sua função de proteção do alimento. Por isso, a adição de agentes antimicrobianos aos filmes pode proporcionar aos alimentos maior prazo de validade e durabilidade, pois estes influenciam nas propriedades dos filmes, como permeabilidade aos gases e ao vapor de água (KHANEGHAH, HASHEMI, LIMBO, 2018; VALENCIA-CHAMORRO *et al.*, 2011).

Óleos essenciais extraídos de algas marinhas reduziram a barreira de água no filme, enquanto a hidrofobicidade do filme aumentou em 15%, em comparação ao filme controle (EBRAHIMZADEH *et al.*, 2023).

A busca por polímeros biodegradáveis que sejam compatíveis com produtos alimentícios, para fornecer aos consumidores benefícios adicionais à saúde tem sido constantemente perseguida. Alginato, carragenana e ágar são polissacarídeos extraídos de algas marinhas com diversas propriedades biológicas. Eles podem ser utilizados como matrizes para elaboração de filmes, pois exibem excelentes propriedades de formação de filme, proporcionando uma aparência uniforme, transparente e brilhante (GUPTA; BISWAS; ROY, 2023).

Muitos fatores podem influenciar positiva ou negativamente a permeabilidade dos filmes, por exemplo, sua espessura e solubilidade. A espessura dos filmes deve ser a mais homogênea possível, mas sua solubilidade depende da finalidade a que ele se propõe. Quanto mais espesso e mais solúvel o filme, maior o valor de PVA. Por esse motivo, os aditivos usados para a formulação de filmes podem conferir maior ou menor PVA. Por exemplo, para vegetais o ideal é um filme com baixo valor de PVA, mas quando se tratam de alimentos com elevada atividade de água como pescado, é preciso encontrar uma composição que confira ao filme um valor de PVA mais elevado (RAMBABU *et al.*, 2019).

4.8.2 Solubilidade em água (S)

Após 24 h de imersão em água destilada e incubação a 25 °C em estufa, os filmes preparados neste trabalho se dissolveram completamente. A carragenana, polissacarídeo sulfatado utilizado como matriz na elaboração dos filmes, é solúvel em água e, mesmo com a adição do extrato Hx e da Fr. Hx, sua característica de elevada solubilidade foi mantida.

Dependendo da concentração utilizada, o glicerol pode aumentar a solubilidade dos filmes por formar pontes de hidrogênio com os polímeros. A determinação da solubilidade serve para verificar a capacidade de um filme comestível se dissolver em água e também serve para averiguar se ele reterá água, quando usado como embalagem para alimentos. Quando um filme comestível é destinado a revestir alimentos que possuam alta atividade de água, por exemplo o pescado, uma baixa solubilidade pode ser considerada como um dos requisitos mais importantes (ATEF; REZAEI; BEHROOZ, 2015).

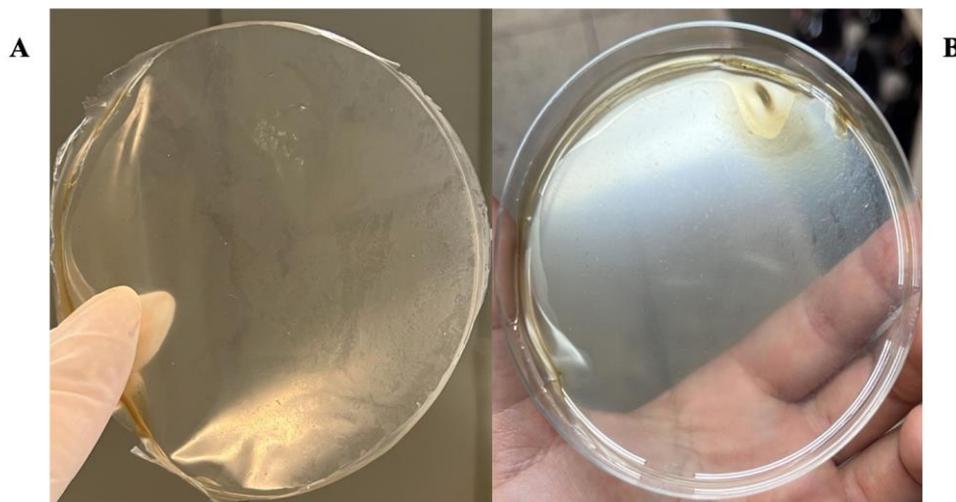
Essa característica também foi observada em filmes elaborados com ágar puro, outro tipo de polissacarídeo sulfatado. Esses polissacarídeos sulfatados possuem baixa elasticidade e, por isso, são relativamente quebradiços. Eles também apresentam baixa estabilidade térmica, alta sensibilidade à água e alta permeabilidade ao vapor de água. Todas essas características limitam o uso de filmes de ágar puro. Por esse motivo, a busca por biopolímeros e outras substâncias com características hidrofóbicas são necessárias para serem adicionados à matriz de ágar (JANG *et al.*, 2010; NIETO, 2009).

A incorporação de 1, 2 e 4 mg do extrato Hx e da Fr. Hx, como aditivos nos filmes de matriz de carragenana, não conseguiu reduzir a solubilidade desse polissacarídeo sulfatado, mesmo sendo aditivos com características apolares. Contudo, adições de massas maiores do extrato ou da fração, ou outros aditivos extraídos da *L. variegata*, utilizando outros solventes apolares, possivelmente teriam efeito diferente sobre a solubilidade do filme.

4.8.3 Cor

Visualmente, o filme de carragenana acrescido do extrato Hx (A) foi menos translúcido do que o filme acrescido da Fr. Hx (B), para adições de 1, 2 e 4 mg (FIGURA 12).

Figura 12 – Filmes elaborados com carragenana e incorporados com 4 mg do extrato hexânico (A) e fração hexânica (B), da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.



Fonte: AUTORA (2023).

A avaliação da cor dos filmes é de extrema importância, servindo para indicar sua atividade óptica quanto à incidência de luz. Sua interpretação está baseada nas seguintes coordenadas: L^* que representa a luminosidade e apresenta variações do 0 (preto) ao 100 (branco); a^* que representa a cor vermelha (valores positivos) e a cor verde (valores negativos); e b^* que representa a cor amarela (valores positivos) e a cor azul (valores negativos) (GENNADIOS *et al.*, 1996).

Os valores das coordenadas de cor (L^* , a^* e b^*) estão apresentados na Tabela 28. As medidas de L^* , obtidas tanto para o extrato quanto para a Fr. Hx, foram todas adjacentes a 100, indicando que os filmes apresentaram coloração mais próxima ao branco. Nos filmes preparados com a incorporação de 1, 2 e 4 mg do extrato Hx, as variações de L^* foram de 90,16 a 90,30, de 89,06 a 89,93 e de 92,48 a 92,64, respectivamente. Nos filmes incorporados com 1, 2 e 4 mg da Fr. Hx, os valores ficaram dentro dos intervalos de 91,83 a 91,97, 91,93 a 92,07 e 90,68 a 91,13, respectivamente (TABELA 28). Os maiores valores de L^* e, portanto, os mais próximos do branco, foram obtidos para os filmes preparados com 4 mg do extrato Hx e para aqueles preparados com 1 e 2 mg da Fr. Hx (TABELA 29).

As leituras de a^* referentes ao extrato e à Fr. Hx foram todas positivas, indicando coloração vermelha. Nos filmes preparados com 1, 2 e 4 mg do extrato Hx, as variações de a^* foram de +0,86 a +0,99, de +1,01 a +1,28 e de +0,43 a +0,50, respectivamente. Nos filmes incorporados com 1, 2 e 4 mg da Fr. Hx, as leituras ficaram dentro dos intervalos de +0,49 a +0,53, +0,50 a +0,55 e +0,68 a +0,78, respectivamente (TABELA 28).

Os valores de b^* do extrato Hx e da Fr. Hx também foram todos positivos, indicando coloração amarela. Nos filmes preparados com a incorporação de 1, 2 e 4 mg do extrato Hx, as variações de b^* foram de +9,55 a +9,68, +10,07 a +11,49 e +6,86 a +7,16, respectivamente. Nos filmes com 1, 2 e 4 mg da Fr. Hx, os valores ficaram dentro dos intervalos de +7,68 a +7,76, +7,46 a +7,58 e +8,58 a +9,37, respectivamente (TABELA 28).

Tabela 28 – Resultados das leituras das coordenadas de cor L^* (luminosidade), a^* (vermelho/verde: +a indica cor vermelha e -a indica cor verde) e b^* (amarelo/azul: +b indica cor amarela e -b indica cor azul) dos filmes de carragenana incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânicos (Hx) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Amostra	Parâmetros colorimétricos								
	L^*			a^*			b^*		
	1 mg	2 mg	4 mg	1 mg	2 mg	4 mg	1 mg	2 mg	4 mg
Extrato Hx	90,21	89,93	92,64	0,98	1,01	0,44	9,55	10,07	6,90
	90,16	89,67	92,58	0,99	1,06	0,45	9,56	10,56	6,86
	90,17	89,65	92,54	0,87	1,08	0,43	9,66	10,59	6,90
	90,16	89,06	92,51	0,87	1,28	0,50	9,67	11,49	7,14
	90,17	89,78	92,48	0,86	1,06	0,48	9,68	10,55	7,16
	90,30	89,78	92,51	0,99	1,07	0,46	9,57	10,57	7,01
	90,30	89,93	92,49	0,96	1,14	0,46	9,61	10,66	7,01
Fração Hx	91,97	92,07	91,12	0,53	0,52	0,72	7,76	7,51	8,61
	91,85	92,05	91,13	0,50	0,50	0,68	7,73	7,51	8,62
	91,85	92,05	91,13	0,52	0,53	0,70	7,69	7,49	8,58
	91,84	91,95	91,13	0,53	0,55	0,72	7,68	7,58	8,61
	91,87	91,95	90,82	0,49	0,53	0,74	7,70	7,58	9,16
	91,83	91,93	90,68	0,51	0,54	0,78	7,70	7,57	9,37
	91,86	92,03	90,68	0,51	0,52	0,78	7,70	7,46	9,35

Fonte: AUTORA (2023).

Os valores de a^* (vermelho) e de b^* (amarelo) máximos foram registrados nos filmes com 2 mg do extrato Hx e com 4 mg da Fr. Hx. Todas as coordenadas (L^* , a^* e b^*), medidas para os filmes com 1, 2 e 4 mg do extrato Hx apresentaram diferença estatisticamente significativa ($p < 0,0001$). Para as frações, os filmes com 1 e 2 mg não apresentaram diferença estatística ($p > 0,05$) entre os valores de L^* , a^* e b^* (TABELA 29).

Tabela 29 – Valores de média \pm desvio padrão das coordenadas de cor L* (luminosidade), a* (vermelho/verde: +a indica cor vermelha e -a indica cor verde) e b* (amarelo/azul: +b indica cor amarela e -b indica cor azul) dos filmes de carragenana incorporados com 1, 2 e 4 mg do extrato e da fração hexânicos (Hx) da macroalga marinha parda *Lobophora variegata*, coletada na Praia do Paracuru, Paracuru, Ceará, em setembro de 2020.

Parâmetros colorimétricos	Amostras					
	Extrato Hx			Fração Hx		
	1 mg	2 mg	4 mg	1 mg	2 mg	4 mg
L*	90,21 ^{aA}	89,69 ^{bC}	92,54 ^{cE}	91,87 ^{dB}	92,00 ^{dD}	90,96 ^{eF}
	$\pm 0,06$	$\pm 0,30$	$\pm 0,06$	$\pm 0,05$	$\pm 0,06$	$\pm 0,22$
a*	0,93 ^{aA}	1,10 ^{bC}	0,46 ^{cE}	0,51 ^{dB}	0,53 ^{dD}	0,73 ^{eF}
	$\pm 0,06$	$\pm 0,09$	$\pm 0,02$	$\pm 0,01$	$\pm 0,02$	$\pm 0,04$
b*	9,61 ^{aA}	10,64 ^{bC}	7,00 ^{cE}	7,71 ^{dB}	7,53 ^{dD}	8,90 ^{eF}
	$\pm 0,06$	$\pm 0,42$	$\pm 0,12$	$\pm 0,03$	$\pm 0,05$	$\pm 0,37$

Fonte: AUTORA (2023).

Nas colunas, comparações feitas separadamente para extrato (1, 2 e 4 mg) e para fração (1, 2 e 4 mg), considerando os parâmetros colorimétricos (L*, a* e b*), usando-se análise de variância unifatorial e teste de Tukey. Letras minúsculas iguais, $p > 0,05$; letras minúsculas diferentes, $p < 0,05$.

Nas linhas, comparações feitas separadamente para extrato e fração (1 mg), extrato e fração (2 mg) e extrato e fração (4 mg), considerando os parâmetros colorimétricos (L*, a* e b*), usando-se teste *t* de Student não pareado. Letras maiúsculas iguais, $p > 0,05$; letras maiúsculas diferentes, $p < 0,05$.

O maior valor de L* foi registrado na Fr. Hx com 2 mg, enquanto o menor ocorreu no extrato Hx com 4 mg. O filme com o extrato Hx com 2 mg apresentou os maiores valores de a* e de b* (TABELA 29).

Os filmes produzidos podem ter maior ou menor capacidade de transmitir ou absorver a luz que incide sobre suas superfícies. Um filme com um determinado grau de translucidez tem a vantagem de permitir ao consumidor a visualização do alimento em seu invólucro. Entretanto, filmes com maior opacidade podem ser igualmente desejáveis, quando se trata da proteção contra a luz de alimentos facilmente oxidáveis (CERQUEIRA *et al.*, 2010; COSTA *et al.*, 2015; SOUZA; DITCHFIELD; TADINI, 2010; VALE, 2017).

López-Mata *et al.* (2018) observaram que os filmes elaborados com 1% e 2% de quitosana apresentaram valores do parâmetro a* maiores, à medida que a concentração aumentava. Para os valores de b*, foi observada uma relação inversa.

No presente trabalho, os filmes com o extrato Hx como aditivo foram os que apresentaram maior espessura, maiores valores de PVA e maiores medidas colorimétricas para a* e b*. Na literatura há relatos sobre a existência de relação entre a espessura e a cor do filme. Sobral e Amaral (2000), em um estudo sobre a influência da espessura nas propriedades dos

filmes elaborados com gelatina, concluíram que quanto mais espesso o filme, maior sua influência sobre a permeabilidade ao vapor de água e a cor dos filmes.

Ziani *et al.* (2008) verificaram que os filmes elaborados com carragenana apresentaram coordenadas L* com valor máximo de 92,64 e justificaram que qualquer aditivo adicionado ao à matriz do filme afetará a sua cor.

Estudar as propriedades ópticas de um filme comestível é importante, pois a cor é um critério decisivo na escolha dos consumidores por produtos revestidos por bioplásticos. Filmes e revestimentos comestíveis são desenvolvidos para interagir favoravelmente com os alimentos, aumentando sua vida de prateleira.

Para Banu e Lakshmi (2023), as características químicas das biomoléculas presentes nas algas, como carga superficial, hidrofobicidade, comprimento da cadeia polimérica, tipo de plastificante, mistura de proteínas, polissacarídeos, lipídios e resinas, podem ser consideradas como fontes potenciais para a formulação de embalagens de alimentos.

Diante do exposto, sabe-se que as algas marinhas fornecem matéria-prima para elaboração de filmes comestíveis, como é o caso do ágar e da carragenana. Contudo, poucos trabalhos investigaram as outras biomoléculas presentes nas algas e que são capazes de proteger os filmes contra a ação microbiana, oxidante e do meio físico. As qualidades biocompatíveis, biodegradáveis, as atividades antioxidante e antimicrobiana e a falta de toxicidade dos metabólitos presentes na ocrófita *L. variegata*, sugerem que biomoléculas presentes nessa macroalga podem ser utilizadas como aditivos para elaboração de filmes comestíveis.

5 CONCLUSÕES

O extrato etanólico (EtOH) da macroalga marinha parda *L. variegata* apresentou rendimento de 11,95%.

Os perfis cromatográficos indicaram que os compostos dos extratos e das rações foram majoritariamente pertencentes ao grupo dos fenóis, o que justifica a alta atividade antioxidante, principalmente do extrato EtOH.

O extrato EtOH apresentou maior poder antioxidante, tendo máximos de atividade registrados para as atividades de sequestro do radical DPPH, FRAP e BCB. Os resultados preliminares apontaram o extrato EtOH e a Fr. AcOEt como os mais promissores, considerando os valores máximos de CFT e TF.

Compostos apolares presentes no extrato Hx e na Fr. Hx mostraram potencial antibiótico para cepas de *Escherichia coli*, bactéria que possui maior resistência aos antibióticos, devido à composição de sua parede celular, quando comparada ao *Staphylococcus aureus*.

Nenhuma das amostras testadas apresentou atividade antifúngica. Porém, observou-se um menor crescimento dos fungos nas placas que continham o extrato EtOH e a Fr. Hx, comparadas com o controle (ágar dextrose batata – ABD).

Os extratos e frações Hx e EtOH não foram tóxicas para sementes de pepino aodai (*Cucumis sativus*), o que justifica sua utilização em produtos para uso humano.

No ensaio de citotoxicidade contra o microcrustáceo *Artemia* sp., o extrato Hx apresentou toxicidade aos náuplios em todas as concentrações testadas, após 48 h de exposição, com mortalidade de até 72,5% dos indivíduos. O extrato EtOH não foi tóxico contra náuplios de *Artemia* sp., nas concentrações testadas, com potencial aplicação farmacológica.

A incorporação de 1, 2 e 4 mg da Fr. Hx aos filmes reduziu os valores de permeabilidade ao vapor de água (PVA), quando comparada à do extrato Hx (1, 2 e 4 mg). Os filmes também apresentaram coloração dentro do espectro do branco/amarelo/vermelho para as coordenadas de cor L*, a* e b*.

Com isso, pode-se concluir que os extratos e as frações obtidos da macroalga marinha parda *L. variegata* e os compostos neles presentes apresentaram classes de compostos químicos já descritos na literatura que são dotados das atividades biológicas aqui registradas. Essa espécie de macroalga deve ser investigada melhor e seus constituintes isolados para fins biotecnológicos.

REFERÊNCIAS

- ABDOU, E. S.; SOROUR, M. A. Preparation and characterization of starch / carrageenan edible films. **International Food Research Journal**, Selangor, v. 21, n. 1, p. 189-193, Jan 2014.
- ABO-SHADY, A. M.; GHEDA, S. F.; ISMAIL, G. A.; COTAS, J.; PEREIRA, L.; ABDEL-KARIM, O. H. Antioxidant and antidiabetic activity of algae. **Life**, Basel, v. 13, n. 2, ID 460, 26 p., 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/life13020460>.
- ABRANTES, J. A.; NOGUEIRA, J. M. R. Resistência bacteriana aos antimicrobianos: uma revisão das principais espécies envolvidas em processos infecciosos. **Revista Brasileira de Análises Clínicas**, Rio de Janeiro, v. 53, n. 3, p. 219-223, 2021. DOI: 10.21877/2448-3877.202102156.
- AFREEN, A. B.; RASOOL, F.; FATIMA, M. Bioactive properties of brown seaweed, *Sargassum wightii* and its nutritional, therapeutic potential and health benefits: A review. **Journal of Environmental Biology**, Lucknow, v. 44, p. 146-158, Mar 2023. DOI: <http://doi.org/10.22438/jeb/44/2/MRN-5081>.
- AFZAL, S.; YADAV, A. K.; POONIA, A. K.; CHOURE, K.; YADAV, A. N.; PANDEY, A. Antimicrobial therapeutics isolated from algal source: retrospect and prospect. **Biologia**, New York, 78, n. 2, p. 291-305, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11756-022-01207-3>.
- AGBOR, G. A.; VINSON, J. A.; DONNELLY, P. E. Folin-Ciocalteu reagent for polyphenolic assay. **International Journal of Food Science, Nutrition and Dietetics**, [s. l.], 2014. 10 p. ISSN 2326-3350. DOI: <http://dx.doi.org/10.19070/2326-3350-1400028>.
- AGUIAR, B. A.; SILVA, J. K. O.; BEZERRA, J. L.S.; RODRIGUES, A. Q.; ARAÚJO, L. O.; PAULINI, F. Composition, structure, isolation and antioxidant activity of secondary metabolites from brown algae. **Centro Nacional de Investigações Científicas CENIC – Ciências Biológicas**, Habana, v. 53, n. 3, p. 268-287, 2022.
- 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**, Oxford, v. 101, p. 1383-1392, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf048726s>.
- AINSWORTH, E. A.; GILLESPIE, K. M. Estimation of total phenolic content and other oxidation substrates in plant tissues using Folin-Ciocalteu reagent. **Nature Protocols**, Berlin, v. 2, n. 4, p. 875-877, 2007. DOI: 10.1038/nprot.2007.102.
- AKRAMI-HASAN-KOHAL, M.; GHORBANI, M., MAHMOODZADEH, F.; NIKZAD, B. Development of reinforced aldehyde-modified kappa-carrageenan/gelatin film by incorporation of halloysite nanotubes for biomedical applications. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 160, p. 669-676, Oct 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2020.05.222>.

ALAM, M. N.; BRISTI, N. J.; RAFIQUZZAMAN, M. Review on *in vivo* and *in vitro* methods evaluation of antioxidant activity. **Saudi Pharmaceutical Journal**, Amsterdam, v. 21, n. 2, p. 143-152, 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jsps.2012.05.002>.

ALCÍVAR-MENDOZA, L.; ARELLANO-VERDEJO, J.; VALLE, M.; CABNILLAS-TERÁN, N. Algae on coral rocky reefs as indicators of disturbances along the Ecuadorian coast. **Regional Studies in Marine Science**, Amsterdam, v. 46, ID 101899, 10 p., 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.rsma.2021.101899>.

ALRESHIDI, M.; BADRAOUI, R.; ADNAN, M.; PATEL, M.; ALOTAIBI, A.; SAEED, M.; GHANDOURAH, M.; AL-MOTAIR, K. A.; ARIF, I. A.; ALBULAIHED, Y.; SNOUSSI, M. Phytochemical profiling, antibacterial, and antibiofilm activities of *Sargassum* sp. (brown algae) from the Red Sea: ADMET prediction and molecular docking analysis. **Algal Research**, Amsterdam, v. 69, ID 102912, 12 p., 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2022.102912>.

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

AMORIM, A. M.; NARDELLI, A. E.; CHOW, F. Effects of drying processes on antioxidant properties and chemical constituents of four tropical macroalgae suitable as functional bioproducts. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 32, p. 1495-1509, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-020-02059-7>.

ANGELO, P. M.; JORGE, N. Compostos fenólicos em alimentos – Uma breve revisão. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, São Paulo, v. 66, n. 1, p. 1-9, 2007. DOI: <https://doi.org/10.53393/rial.2007.v66.32841>.

AOE, S.; YAMANAKA, C.; OHTOSHI, H.; NAKAMURA, F.; FUJIWARA, S. Effects of daily kelp (*Laminaria japonica*) intake on body composition, serum lipid levels, and thyroid hormone levels in healthy Japanese adults: A randomized, double-blind study. **Marine Drugs**, Basel, v. 19, n. 7, ID 352, 12 p., June 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/md19070352>.

ARAÚJO, G. G.; FLOR, N. S.; SILVA, A. J. S. V.; SILVA, J. L. V.; OLIVEIRA, T. K. B. Triagem toxicológica de extratos de *Lippia microphylla* frente à *Artemia salina*. **Anais da Faculdade de Medicina de Olinda**, Olinda, v. 1, n. 9, p. 11-18, 2023. DOI: <https://doi.org/10.56102/afmo.2023.233>.

ARAÚJO, P. G.; NARDELLI, A. E.; FUJII, M. T.; CHOW, F. Antioxidant properties of different strains of *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta) farmed on the Brazilian coast. **Phycologia**, Lawrence, v. 59, n. 3, p. 272-279, 2020. DOI: 10.1080/00318884.2020.1736878.

ARCAN, I.; YEMENICIOG, L. A incorporating phenolic compounds opens a new perspective to use zein films as flexible bioactive packaging materials. **Food Research International**, Amsterdam, v. 44, n. 2, p. 550-556, Mar 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodres.2010.11.034>.

ARUNKUMAR, K.; NALLURI, M.; ANJANA, K.; MOHAN, G.; RAJA, R. Fucoxanthin as antioxidant, anti-hyaluronidase and cytotoxic agent: potential of brown seaweeds decoction for tea supplement. **Journal of Food Measurement and Characterization**, New York, v. 17, p. 3980-3889, Apr 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-023-01911-x>.

ATEF, M.; REZAEI, M.; BEHROOZ, R. Characterization of physical, mechanical, and antibacterial properties of agar-cellulose bionanocomposite films incorporated with savory essential oil. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 45, p. 150-157, Mar 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2014.09.037>.

BAEK, S. H.; CAO, L.; JEONG, S. J.; KIM, H. R.; NAM, T. J.; LEE, S. G. The comparison of total phenolics, total antioxidant, and anti-tyrosinase activities of Korean *Sargassum* species. **Journal of Food Quality**, London, v. 2021, ID 6640789, 7 p., 2021. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/6640789>.

BAJPAI, V. K.; MAJUMDER, R.; PARK, J. G. Isolation and purification of plant secondary metabolites using column-chromatographic technique. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, Dhaka, v. 11, n. 4, p. 844-848, Oct 2016. DOI: [10.3329/bjp.v11i4.28185](https://doi.org/10.3329/bjp.v11i4.28185).

BAKUNINA, I.; IMBS, T.; LIKHATSKAYA, G.; GRIGORCHUK, V.; ZUEVA, A.; MALYARENKO, O.; ERMAKOVA, S. Effect of phlorotannins from brown algae *Costaria costata* on α -N-acetylgalactosaminidase produced by duodenal adenocarcinoma and melanoma cells. **Marine Drugs**, Basel, v. 21, n. 1, ID 33, 18 p., 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/md21010033>.

BANU, A. T.; SRI RAMANI, P.; MURUGAN, A. Effect of seaweed coating on quality characteristics and shelf life of tomato (*Lycopersicon esculentum mill*). **Food Science and Human Wellness**, Dongcheng, v. 9, n. 2, p. 176-183, June 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fshw.2020.03.002>.

BANU, A. T.; SUBHALAKSHMI, S. U. Edible biopolymers from marine algae used as an alternate packaging material: A review on their characteristics and properties. **Journal of Advanced Applied Scientific Research**, Khajanagar, v. 5, n. 2, p. 1-21, May 2023. DOI: <https://doi.org/10.46947/joaasr522023486>.

BAROUD, S.; TAHROUCH, S.; EL MEHRACH, K.; SADKI, I.; FAHMI, F.; HATIMI, A. Effect of brown algae on germination, growth and biochemical composition of tomato leaves (*Solanum lycopersicum*). **Journal of the Saudi Society of Agricultural Sciences**, Riyadh, v. 20, n. 5, p. 337-343, 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jssas.2021.03.005>.

BARREIROS, A. L. B. S.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P. Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. **Química Nova**, São Paulo, v. 29, n. 1, p. 113-123, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422006000100021>.

BASTOS, D. H. M.; ROGERO, M. M.; ARÊAS J. A. G. Mecanismos de ação de compostos bioativos dos alimentos no contexto de processos inflamatórios relacionados à obesidade. **Arquivos Brasileiros de Endocrinologia & Metabologia**, São Paulo, v. 53, n. 5, p. 646-656, jun 2009. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0004-27302009000500017>.

BEGUM, M. A. J.; SELVARAJU, P.; VIJAYAKUMAR, A. Evaluation of antifungal activity of seaweed extract (*Turbinaria conoides*) against *Fusarium oxysporum*. **Chemical Science Review and Letters**, Cambridge, v. 6, n. 21, ID CS132048011, p. 74-78, 2017.

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

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 antimolluscites), antioxidant and anticholinesterase activities of Brazilian and Spanish marine organism - evaluation of extracts and pure compounds. **Revista Brasileira de Farmacognosia**, Curitiba, v. 25, n. 6, p. 668-676, nov/dez 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bjp.2015.07.018>.

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

BOUKID, F.; CASTELLARI, M. Algae as nutritional and functional food sources. **Foods**, Basel, v. 12, ID 122, 3 p., 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12020122>.

BOZOROV, K.; ZHAO, J.; AISA, H. A. 1, 2, 3-Triazole-containing hybrids as leads in medicinal chemistry: A recent overview. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 27, n. 6, p. 3511-3531, Aug 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2019.07.005>.

CABRAL, I. S. R.; SHIRAHIGUE, L. D.; ARRUDA, L. F.; CARPES, S. T.; OETTERER, M. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. **Boletim do CEPPA - Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos**, Curitiba, v. 29, n. 2, p. 181-192, jul/dez 2011. DOI: <http://dx.doi.org/10.5380/cep.v29i2.25481>.

CABRERA-CARRIÓN, J. L.; JARAMILLO-JARAMILLO, C.; DUTÁN-TORRES, F.; CUN-CARRIÓN, J.; GARCÍA, P. A.; DE ASTUDILLO, L. R. Variación del contenido de alcaloides, fenoles, flavonoides y taninos en *Moringa oleifera* Lam. en función de su edad y altura. **Bioagro**, Barquisimeto, v. 29, n. 1, p. 53-60, 2017.

CAMACHO, O.; FERNÁNDEZ-GARCÍA, C.; VIEIRA, C.; GURGEL, C. F. D.; NORRIS, J. N.; FRESHWATER, D. W.; FREDERICQ, S. The systematics of *Lobophora* (Dictyotales, Phaeophyceae) in the Western Atlantic and Eastern Pacific oceans: eight new species. **Journal of Phycology**, Malden, v. 55, n. 3, p. 611-624, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/jpy.12850>.

CÂMARA, Rafael Barros Gomes da. **Atividade anticoagulante e antioxidante de extratos brutos ricos em polissacarídeos sulfatados das macroalgas marinhas marrons *Canistrocspus cervicornis*, *Dictyota mertensii* e *Dictyopteris delicatula* e de heterofucanas de *Canistrocspus cervicornis***. 2010. 81 f. Dissertação (Mestrado em Bioquímica) – Departamento de Bioquímica, Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2010.

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**, Basel, v. 9, n. 9, 21 p., 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/biology9090253>.

CARROLL, A. R.; COPP, B. R.; DAVIS R. A.; KEYZERS R. A.; PRINSEP, M. R. Marine natural products. **Natural Product Reports**, Dresden, v. 40, n. 2, p. 257-325, Feb 2023. DOI: <https://doi.org/10.1039/D2NP00083K>.

CARVALHO, J. J. V.; BOAVENTURA, F. G.; SILVA, A. C. R.; XIMENES, R. L.; RODRIGUES, L. K. C.; NUNES, D. A. A.; SOUZA, V. K. G. Bactérias multirresistentes e seus impactos na saúde pública: Uma responsabilidade social. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 10, n. 6, ID 58810616303, 11 p., 2021. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v10i6.16303>.

CARVALHO, R. A.; CONCEIÇÃO LIMA, A. M.; PEREIRA, A. I. S.; SOBRINHO, O. P. L.; RIBEIRO, F. A. A.; DA SILVA COSTA, S. T.; LOPES, T. Y. A. Potencialidades farmacológicas da babosa: Um estudo realizado por meio das técnicas de prospecção científica e tecnológica. **Cadernos de Prospecção**, Salvador, v. 13, n. 1, p. 184-196, 2020. DOI: <https://doi.org/10.9771/cp.v13i1.32555>.

CATARINO, M. D.; SILVA-REIS, R.; CHOUH, A.; SILVA, S.; BRAGA, S. S.; SILVA, A. M. S.; CARDOSO, S. M. Applications of antioxidant secondary metabolites of *Sargassum* spp. **Marine Drugs**, Basel, v. 21, n. 3, ID 172, 32 p., Mar 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/md21030172>.

CERQUEIRA, Miguel Ângelo Parente Ribeiro; SOUZA, Bartolomeu Warlene Silva de; MARTINS, Joana Teresa Rodrigues; VICENTE, Antônio Augusto. Improved hydrocolloid-based edible coatings/films systems for food applications. *In: TIWARI, Ashutosh. (ed.) Polysaccharides: Development, Properties and Applications*, New York: Science Publishers, 2010, p. 290-322.

CHAKRABORTY, K.; THAMBI, A.; DHARA, S. Sulfated polygalactofucan from triangular sea bell *Turbinaria decurrens* attenuates inflammatory cytokines on THP-1 human monocytic macrophages. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 231, ID 123220, 10 p., 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2023.123220>.

CHILLO, S.; FLORES, S.; MASTROMATTEO, M.; CONTE, A.; GERSCHENSON, L.; DEL NOBILE, M. A. Influence of glycerol and chitosan on tapioca starch-based edible film properties. **Journal of Food Engineering**, Oxford, v. 88, n. 2, p. 159-168, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2008.02.002>.

CHINTALE ASHWINI, G.; KADAM VAISHALI, S.; SAKHARE RAM, S.; BIRAJDAR GANESH, O.; NALWAD DIGAMBAR, N. Role of nutraceuticals in various diseases: A comprehensive review. **International Journal of Research in Pharmacy and Chemistry**, [s. l.], v. 3, n. 2, p. 290-299, 2013.

CHOOSUWAN, P.; PRAIBOON, J.; BOONPISUTTINANT, K.; KLOMJIT, A.; MUANGMAI, N.; RUANGCHUAY, R.; CHIRAPART, A. Inhibitory effects of *Caulerpa racemosa*, *Ulva intestinalis*, and *Lobophora challengeriae* on tyrosinase activity and α -MSH-induced melanogenesis in B16F10 melanoma cells. **Life**, Basel, v. 13, ID 934, 16 p., Apr 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/life13040934>.

CIAN, R. E.; SALGADO, P. R.; DRAGO, S. R.; GONZÁLEZ, R. J.; MAURI, A. N. Development of naturally activated edible films with antioxidant properties prepared from red seaweed *Porphyra columbina* biopolymers. **Food Chemistry**, Oxford, v. 146, p. 6-14, 2014. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.foodchem.2013.08.133>.

ČMIKOVÁ, N., GALOVIČOVÁ, L., MIŠKEJE, M., BOROTOVÁ, P., KLUZ, M., KAČÁNIOVÁ, M. Determination of antioxidant, antimicrobial activity, heavy metals and elements content of seaweed extracts. **Plants**, Basel, v. 11, n. 11, p. 1-19, ID 1493, June 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/plants11111493>.

CONCEIÇÃO, Cristiane Maria da. **Atividade citotóxica, genotóxica e mutagênica dos extratos orgânicos de *Dictyota mertensii* (Martius) Kuetzing (Heterokontophyta-Phaeophyceae) do litoral de Pernambuco**. 2019. 81 f. Dissertação (Mestrado em Saúde Humana e Meio Ambiente) – Programa de Pós-Graduação em Saúde Humana e Meio Ambiente, Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2019.

COSTA, C. R.; OLIVI, P.; BOTTA, C. M. R.; ESPINDOLA, E. L. G. A toxicidade em ambientes aquáticos: Discussão e métodos de avaliação. **Química Nova**, São Paulo, v. 31, n. 7, p. 1820-1830, set 2008. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422008000700038>.

COSTA, J. L. G.; PEDREIRA, R. S.; GOMES, A. C. P.; RESTAN, A. Z.; VASCONCELLOS, R. S., LOUREIRO, B. A. Concentration of synthetic antioxidants and peroxide value of commercial dry pet foods. **Animal Feed Science and Technology**, Amsterdam, v. 294, ID 115499, 7 p., Dec 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.anifeeds.2022.115499>.

COSTA, M. J.; CERQUEIRA, M. A.; RUIZ, H. A.; FOUNGNIÉS, C.; RICHEL, A.; VICENTE, A. A.; TEIXEIRA, J. A.; AGUEDO, M. Use of wheat bran arabinoxylans in chitosan-based films: Effect on pH; physicochemical properties. **Industrial Crops and Products**, Montana, v. 66, p. 305-311, Apr. 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.indcrop.2015.01.003>.

CUQ, B.; GONTARD, N.; CUQ, J. L.; GUILBERT, S. Functional properties of myofibrillar protein- based biopackagings as affected by film thickness. **Journal Food Science**, Chicago, v. 61, n. 3, p. 580-584, May 1996. DOI: [10.1111/j.1365-2621.1996.tb13163.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb13163.x).

CUTTER, C. N. Opportunities for bio-based packaging technologies to improve the quality and safety of fresh and further processed muscle foods. **Meat Science**, Oxford, v. 74, n. 1, p. 131-142, Sept 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.meatsci.2006.04.023>.

DAI, N.; WANG, Q.; XU, B.; CHEN, H. Remarkable natural biological resource of algae for medical applications. **Frontiers in Marine Science**, Lausanne, v. 9, ID 912924, June 2022. DOI: [10.3389/frmars.2022.912924](https://doi.org/10.3389/frmars.2022.912924).

DANG, T. T.; BOWYER, M. C.; VAN ALTENA, I. A.; SCARLETT, C. J. Comparison of chemical profile and antioxidant properties of the brown algae. **International Journal of Food Science & Technology**, Hoboken, v. 53, n. 1, p. 174-181, Jan 2018. DOI: <https://doi.org/10.1111/ijfs.13571>.

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

DHONGADE, H. J.; CHANDEWAR, A. V. An *in-vitro* investigation of the antioxidant activity of *Phyllanthus amarus*. **International Journal of Biomedical and Advance Research**, [s. l.], v. 4, n. 6, p. 435-439, 2013. DOI:10.7439/ijba.

DOH, H.; DUNNO, K. D.; WHITESIDE, W. S. Preparation of novel seaweed nanocomposite film from brown seaweeds *Laminaria japonica* and *Sargassum natans*. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 105, ID 105744, 11 p., Aug 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2020.105744>.

DOUGLAS, Susan E.; RAVEN, John A.; LARKUM, Anthony W. D. The algae and their general characteristics. *In*: LARKUM, Anthony W. D.; DOUGLAS, Susan E.; RAVEN, John A. (eds.). **Photosynthesis in algae**. vol. 14. Dordrecht: Springer, 2003. p. 1-10. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-94-007-1038-2>.

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**, Oxford, v. 95, n. 1, p. 37-43, Mar 2006. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.12.015>.

EBRAHIMI, S.; BABAEI, S.; NASERI, M.; GOLMAKANI, M. T. Polyphenols content, antioxidant and antibacterial activities of seaweeds from the Persian Gulf. **Environmental Engineering & Management Journal (EEMJ)**, Iași, v. 20, n. 7, p. 1203-1211, July 2021. DOI: 10.30638/eemj.2021.112.

EBRAHIMZADEH, S.; BISWAS, D.; ROY, S.; McCLEMENTS, D. J. Incorporation of essential oils in edible seaweed-based films: A comprehensive review. **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 135, p. 43-56, Mar 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2023.03.015>.

EL-GHFAR, A. M. A.; HASSAN, I. M.; IBRAHIM, M. T.; IBRAHIM, H. M. Element composition and toxicity of seaweed algae (*Ulva lactuca*, *Laurencia obtuse* and *Padina pavonica*) toward shrimp. **Arab Universities Journal of Agricultural Sciences**, Washington, v. 30, n. 1, p. 97-105, June 2022. DOI: <http://10.21608/AJS.2022.100471.1426>.

EL KHALLOUFI, Fatima; OUDRA, Brahim. Seaweeds as a new source of bioactive compounds and potent biotechnological applications. *In*: SANGEETHA, Jeyabalan; THANGADURAI, Devarajan (eds.). **Seaweed Biotechnology**. New York: Apple Academic Press. 2023. p. 229-287. ISBN 9781003300854.

ENGEL, Randall G.; KRIZ, George S.; LAMPMAN, Gary M.; PAVIA, Donald L. Técnicas 19 e 20 – Cromatografia em coluna e cromatografia em camada delgada. *In: VISCONTI, Solange Aparecida (Tradutora). Química Orgânica Experimental: Técnicas em escala pequena*. 3. ed., São Paulo: Cengage Learning, 2012. p. 229-263.

ESTRELLA-PARRA, E. A.; ARREOLA, R.; ÁLVAREZ-SÁCHEZ, M. E.; TORRES-ROMERO, J. C.; ROJAS-ESPINOSA, O.; CRUZ-SANTIAGO, J. A. D. L.; MARTINEZ-BENITEZ, M. B.; LOPEZ-CAMARILLO, C.; LARA-RIEGOS, J. C.; ARANA-ARGÁEZ, V. E.; RAMÍREZ-CAMACHO, M. A. Natural marine products as antiprotozoal agents against amitochondrial parasites. **International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance**, Oxford, v. 19, p. 40-46, Aug 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijpddr.2022.05.003>.

FARASAT, M.; KHAVARI-NEJAD, R. A.; NABAVI, S. M. B.; NAMJOOYAN, F. Antioxidant activity, total phenolics and flavonoid contents of some edible green seaweeds from Northern Coasts of the Persian Gulf. **Iranian Journal of Pharmaceutical Research**, Shertogenbosch, v. 13, n. 1, p. 163-170, 2014.

FAYAD, S.; NEHMÉ, R.; TANNOURY, M.; LESELLIER, E.; PICHON, C; MORIN, P. Macroalga *Padina pavonica* water extracts obtained by pressurized liquid extraction and microwave-assisted extraction inhibit hyaluronidase activity as shown by capillary electrophoresis. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1497, p. 19-27, May 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2017.03.033>

FERNANDO, I. P. S.; JAYAWARDENA, T. U.; KIM, H. S.; LEE, W. W.; VAAS, A. P. J. P.; DE SILVA, H. I. C.; ABAYAWEERA, G. S.; NANAYAKKARA, C. M.; ABEYTUNGA, D. T. U.; LEE, D. S.; JEON, Y. J. Beijing urban particulate matter-induced injury and inflammation in human lung epithelial cells and the protective effects of fucosterol from *Sargassum binderi* (Sonder ex J. Agardh). **Environmental Research**, San Diego, v. 172, p. 150-158, May 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.envres.2019.02.016>.

FLÓREZ-FERNÁNDEZ, N.; DOMÍNGUEZ, H.; TORRES, M.D. A green approach for alginate extraction from *Sargassum muticum* brown seaweed using ultrasound-assisted technique. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 124, p. 451-459, Mar 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.11.232>.

FREILE-PELEGRIN, Y.; ROBLEDO, D.; CHAN-BACAB, M. J.; ORTEGA-MORALES, B. O. Antileishmanial properties of tropical marine algae extracts. **Fitoterapia**, Napoli, v. 79, n. 5, p. 374-377, July 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fitote.2008.02.006>.

FREITAS, Odinéia do Socorro Pamplona. **Perfil químico e ação defensiva comparativa de extratos brutos de diferentes localidades do litoral brasileiro da alga parda marinha *Dictyota mertensii*** (Dictyotales, Phaeophyta). 2006. (Doutorado em Química Orgânica) – Programa de Pós-Graduação em Química Orgânica – Departamento de Ciências Exatas e da Terra, Universidade Federal Fluminense, Rio de Janeiro, 2006.

GENNADIOS, A.; WELLER, C.L.; HANNA, M.A.; FRONING, G.W. Mechanical and barrier properties of egg albumen films. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 61, n. 3, p. 585-589, May 1996. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1996.tb13164.x>.

GHEDA, S.; HAMOUDA, R. A.; NABY, M. A.; MOHAMED, T. M.; AL-SHAIKH, T. M.; KHAMIS, A. Potent effect of phlorotannins derived from *Sargassum linifolium* as antioxidant and antidiabetic in a streptozotocin-induced diabetic rats model. **Applied Sciences**, Basel, v. 13, n. 8, ID 4711, 16 p., Apr 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/app13084711>.

GHILARDI-LOPES, Natália Pirani; HADEL, Valéria Flora; BERCHEZ, Flávio. Os ecossistemas de substrato consolidado. *In*: GHILARDI-LOPES, Natália Pirani; HADEL, Valéria Flora; BERCHEZ, Flávio (org.). **Guia para educação ambiental em costões rochosos**. Porto Alegre: Artmed, 2012. p. 15-22.

GIADA, M. L. R. Uma abordagem sobre a capacidade antioxidante *in vitro* de alimentos vegetais e bebidas. **Demetra: alimentação, nutrição & saúde**, Rio de Janeiro, v. 9, n. 1, p. 137-146, 2014. DOI: [10.12957/demetra.2014.8256](https://doi.org/10.12957/demetra.2014.8256).

GOIRIS, K.; DE VREESE, P.; DE COOMAN, L.; MUYLAERT, K. Rapid screening and guided extraction of antioxidants from microalgae using voltammetric methods. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 60, n. 30, p. 7359-7366, July 2012. DOI: <https://doi.org/10.1021/jf302345j>.

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

GONTARD, N.; GUILBERT, S.; CUQ, J. L. Water and glycerol as plasticizers affect mechanical and water vapor barrier properties of an edible wheat gluten film. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 53, n. 1, p. 206-211, 1993. DOI: [10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x](https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb03246.x).

GRAHAM, Linda E.; WILCOX, Lee W. Introduction to the algae. *In*: GRAHAM, Linda E.; WILCOX, Lee W. (eds.). **Algae**. New Jersey: Prentice Hall. 2009. p.1-17.

GUEDES, E. A. C.; CARVALHO, C. M. D.; RIBEIRO-JUNIOR, K. A. L.; LISBOA-RIBEIRO, T. F.; BARROS, L. D.; LIMA, M. R. F.; SANT'ANA, A. E. G. Larvicidal activity against *Aedes aegypti* and molluscicidal activity against *Biomphalaria glabrata* of Brazilian marine algae. **Journal of Parasitology Research**, London, v. 2014, ID. 501328, 6 p., 2014. DOI: [10.1155/2014/501328](https://doi.org/10.1155/2014/501328).

GUILLARD, V.; BROYARD, B.; BONAZZI, C.; GUILBERT, S.; GONTARD, N. Preventing moisture transfer in a composite food using edible films: experimental and mathematical study. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 68, n. 7, p. 2267-2277, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2003.tb05758.x>.

GUIRY, Michael Dominic. *In*: GUIRY, Michael Dominic; GUIRY, G. M. 2023. *AlgaeBase*. World-wide electronic publication, National University of Ireland, Galway. Disponível em: <https://www.algaebase.org> Acesso em: 26 jul. 2023.

GUPTA, V.; BISWAS, D.; ROY, S. A comprehensive review of biodegradable polymer-based films and coatings and their food packaging applications. **Materials**, Basel, v. 15, n. 17, ID 5899, 38 p., Aug 2022. DOI: <https://doi.org/10.3390/ma15175899>.

GUTIÉRREZ-CEPEDA, A.; FERNÁNDEZ, J. J.; NORTE, M.; MONTALVÃO, S.; TAMMELA, P.; SOUTO, M. L. Acetate-derived metabolites from the brown alga *Lobophora variegata*. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 78, n. 7, p. 1716-1722, July 2015. DOI: <https://doi.org/10.1021/acs.jnatprod.5b00415>.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J. M. C.; CROSS, C. E. Free radicals, antioxidants and human disease: where are we now? **Journal of Laboratory and Clinical Medicine**, New York, v. 119, n. 6, p. 598-620, ID 1593209, June 1992.

HAN, E. J.; FERNANDO, I. P. S.; KIM, H. S.; LEE, D. S.; KIM, A.; JE, J. G.; SEO, M. J.; JEE, Y. H.; JEON, Y. J.; KIM, S. Y.; AHN, G. (-)-Loliolide isolated from *Sargassum horneri* suppressed oxidative stress and inflammation by activating Nrf2/HO-1 signaling in IFN- γ /TNF- α -stimulated HaCaT keratinocytes. **Antioxidants**, Basel, v. 10, n. 6, ID 856, 10 p., May 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10060856>.

HARIKRISHNAN, M.; SAIPRIYA, P. P.; PRAKASH, P.; JAYABASKARAN, C.; BHAT, S. G. Multi-functional bioactive secondary metabolites derived from endophytic fungi of marine algal origin. **Current Research in Microbial Sciences**, Amsterdam, v. 2, ID 100037, 13 p., Dec 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.crmicr.2021.100037>.

HERNÁNDEZ-HERRERA, R. M.; SANTACRUZ-RUVALCABA, F.; 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**, Dordrecht, v. 26, n. 1, p. 619-628, Feb 2014. DOI: [10.1007/s10811-013-0078-4](https://doi.org/10.1007/s10811-013-0078-4).

HOU, X.; MU, L.; HU, X.; GUO, S. Warming and microplastic pollution shape the carbon and nitrogen cycles of algae. **Journal of Hazardous Materials**, Amsterdam, v. 447, ID 130775, 10 p., Apr 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2023.130775>.

ISMAIL, G. A.; GHEDA, S. F.; ABO-SHADY, A. M.; ABDEL-KARIM, O. H. *In vitro* potential activity of some seaweeds as antioxidants and inhibitors of diabetic enzymes. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 40, n. 3, p. 681-691, July-Sept 2020. DOI: <https://doi.org/10.1590/fst.15619>.

JANG, S. A.; LIM, G. O.; SONG, K. B. Use of nano-clay (Cloisite Na⁺) improves tensile strength and vapour permeability in agar rich red algae (*Gelidium corneum*) - gelatin composite films. **International Journal of Food Science & Technology**, Hoboken, v. 45, n. 9, p. 1883-1888, Aug 2010. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.2010.02363.x>.

JAYAKODY, M. M.; VANNIARACHCHY, M. P. G.; WIJESEKARA, I. Seaweed derived alginate, agar, and carrageenan based edible coatings and films for the food industry: A review. **Journal of Food Measurement and Characterization**, New York, v. 16, n. 2, p. 1195-1227, Apr 2022. DOI: <https://doi.org/10.1007/s11694-021-01277-y>.

JAYATILAKE, P. L.; MUNASINGHE, H. Antimicrobial activity of cultivable endophytic and rhizosphere Fungi associated with “mile-a-minute,” *Mikania cordata* (Asteraceae). **BioMed Research International**, London, v. 2020, ID 5292571, 7 p., June 2020. DOI: <https://doi.org/10.1155/2020/5292571>.

JE, J. G.; LEE, H. G.; FERNANDO, K. H. N.; JEON, Y. J.; RYU, B. Purification and structural characterization of sulfated polysaccharides derived from brown algae, *Sargassum binderi*: Inhibitory mechanism of iNOS and COX-2 pathway interaction. **Antioxidants**, Basel, v. 10, n. 6, ID 822, 12 p., May 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10060822>.

JUN, J. Y.; JUNG, M. J.; JEONG, I. H.; YAMAZAKI, K.; KAWAI, Y.; KIM, B. M. Antimicrobial and antibiofilm activities of sulfated polysaccharides from marine algae against dental plaque bacteria. **Marine Drugs**, Basel, v. 16, n. 9, p. 1-13, Aug 2018. DOI: [10.3390/md16090301](https://doi.org/10.3390/md16090301).

KANATT, S. R.; LAHARE, P.; CHAWLA, S. P.; SHARMA, A. *Kappaphycus alvarezii*: its antioxidant potential and use in bioactive packaging films. **Journal of Microbiology, Biotechnology and Food Science**, Nitra, v. 5, n. 1, p. 1-6, Sept 2015. DOI: [10.15414/jmbfs.2015.5.1.1-6](https://doi.org/10.15414/jmbfs.2015.5.1.1-6).

KARKHANEH YOUSEFI, M.; SEYED HASHTROUDI, M.; MASHINCHIAN MORADI, A.; GHASEMPOUR, A. Seasonal variation of fucoxanthin content in four species of brown seaweeds from Qeshm Island, Persian Gulf and evaluation of their antibacterial and antioxidant activities. **Iranian Journal of Fisheries Sciences**, Tehran, v. 19, n. 5, p. 2394-2408, 2020. DOI: [10.22092/ijfs.2020.122396](https://doi.org/10.22092/ijfs.2020.122396).

KATO, K.; NINOMIYA, M.; TANAKA, K.; KOKETSU, M. Effects of functional groups and sugar composition of quercetin derivatives on their radical scavenging properties. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 79, p. 1808-1814, June 2016. DOI: [http://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00274](https://dx.doi.org/10.1021/acs.jnatprod.6b00274).

KAUR, J.; SINGH, J.; RASANE, P.; GUPTA, P.; KAUR, S.; SHARMA, N.; SOWDHANYA, D. Natural additives as active components in edible films and coatings. **Food Bioscience**, Amsterdam, v. 53, ID 102689, 10 p., June 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2023.102689>.

KHALED, N.; HIBA, M.; ASMA, C. Antioxidant and antifungal activities of *Padina pavonica* and *Sargassum vulgare* from the Lebanese Mediterranean coast. **Advances in Environmental Biology**, Rhineland-Palatinate, v. 6, n. 1, p. 42-48, 2012.

KHANEGHAH, A. M.; HASHEMI, S. M. B.; LIMBO, S. Antimicrobial agents and packaging systems in antimicrobial active food packaging: An overview of approaches and interactions. **Food and Bioprocess Processing**, Amsterdam, v. 111, p. 1-19, Sept 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2018.05.001>.

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**, Mandsaur, v. 6, n. 4, p. 156-160, Oct - Dec 2013.

KHODDAMI, A.; WILKES, M. A.; ROBERTS, T. H. Techniques for analysis of plant phenolic compounds. **Molecules**, Basel, v. 18, n. 2, p. 2328-2375, Feb 2013. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules18022328>.

KIM, H. S.; HAN, E. J.; FERNANDO, I. P. S.; SANJEEWA, K. K. A.; JAYAWARDENA, T. U.; KIM, H. J.; JEE, Y.; KANG, S. H.; JANG, J. H.; JANG, J. P.; HERATH, K. H. I. N. M.; JEON, Y. J.; AHN, G. Anti- allergy effect of mojabanchromanol isolated from *Sargassum horneri* in bone marrow-derived cultured mast cells. **Algal Research**, Amsterdam, v. 48, ID 101898, 8 p., June 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101898>.

KO, W.; LEE, H.; KIM, N.; JO, H. G.; WOO, E. R.; LEE, K.; HAN, Y. S.; PARK, S. R.; AHN, G.; CHEONG, S. H. LEE, D. S. The anti-oxidative and anti-neuroinflammatory effects of *Sargassum horneri* by heme oxygenase-1 induction in BV2 and HT22 cells. **Antioxidants**, Basel, v. 10, n. 6, ID 859, 21 p., May 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/antiox10060859>.

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

KONSTANTIN, B.; ANASTASIA, P.; NIKOLAY, I.; DARIA, P. Seasonal variation in the chemical composition of Arctic brown macroalgae. **Algal Research**, Amsterdam, v. 72, ID 103112, May 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2023.103112>.

KORZENIOWSKA, K.; ŁĘSKA, B.; WIECZOREK, P. P. Isolation and determination of phenolic compounds from freshwater *Cladophora glomerata*. **Algal Research**, Amsterdam, v. 48, p. 1-11, June 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2020.101912>.

KUMAR, G; SAHOO, D. Effect of seaweed liquid extract on growth and yield of *Triticum aestivum* var. pusa gold. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 23, n. 2, p 251-255, Apr 2011. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-011-9660-9>.

KUMAR, Y.; TARAFDAR, A.; BADGUJAR, P. C. Seaweed as a source of natural antioxidants: therapeutic activity and food applications. **Journal of Food Quality**, London, v. 2021, ID 5753391, 17 p., June 2021. DOI: <https://doi.org/10.1155/2021/5753391>.

KURINJERY, A.; KULANTHAIYESU, A. Anti-hyaluronidase and cytotoxic activities of fucoxanthin cis/trans isomers extracted and characterized from 13 brown seaweeds. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 122, p. 53-68, Nov 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.procbio.2022.09.024>.

LEE, C. H.; PARK, Y. N.; LEE, S. G. Analysis and comparison of bioactive compounds and total antioxidant capabilities of Korean brown algae. **Korean Journal of Food Science and Technology**, Mysore, v. 52, n. 1, p. 54-59, Feb 2020. DOI: <https://doi.org/10.9721/KJFST.2020.52.1.54>.

LEE, Robert Edward. The prokaryotic algae. In: **Phycology**. 4. ed. Cambridge: University Press, 2008. p. 43-44. DOI: <https://doi.org/10.1017/CBO9780511812897>.

LEE, S. J.; UMANO, K.; SHIBAMOTO, T.; LEE, K. G. Identification of volatile components in basil (*Ocimum basilicum* L.) and thyme leaves (*Thymus vulgaris* L.) and their antioxidant properties. **Food Chemistry**, Oxford, v. 91, n. 1, p. 131-137, June 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2004.05.056>.

LI, Y.; YANG, Z.; LI, J. Shelf-life extension of Pacific white shrimp using algae extracts during refrigerated storage. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, Hoboken, v. 97, n. 1, p. 291-298, Jan 2017. DOI: 10.1002/jsfa.7730.

LIMA, R. L.; PIRES-CAVALCANTE, K. M. S.; ALENCAR, D. B.; VIANA, F. A.; SAMPAIO, A. H.; SAKER-SAMPAIO, S. Avaliação da atividade antioxidante *in vitro* de extratos metanólicos obtidos de algas marinhas endêmicas da costa do Ceará, Brasil. **Acta Scientiarum – Technology**, Maringá, v. 38, n. 2, p. 247-255, Apr-June 2016. DOI: 10.4025/actascitechnol.v28i2.27275.

LIN, D.; LU, W.; KELLY, A. L.; ZHANG, L.; ZHENG, B.; MIAO, S. Interactions of vegetable proteins with other polymers: Structure-function relationships and applications in the food industry. **Trends in Food Science & Technology**, London, v. 68, p. 130-144, Oct 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.08.006>.

LIU, X.; LUO, G.; WANG, L.; YUAN, W. Optimization of antioxidant extraction from edible brown algae *Ascophyllum nodosum* using response surface methodology. **Food and Bioproducts Processing**, Amsterdam, v. 1, n. 14, p. 205-215, Mar 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbp.2019.01.003>.

LÓPEZ-MATA, M. A.; RUIZ-CRUZ, S.; ORNELAS-PAZ, J. J.; TORO-SÁNCHEZ, C. L. D.; MÁRQUEZ-RÍOS, E.; SILVA-BELTRÁN, N. P.; CIRA-CHÁVEZ, L. A.; BURRUEL-IBARRA, S. E. Mechanical, barrier and antioxidant properties of chitosan films incorporating cinnamaldehyde. **Journal of Polymers and the Environment**, New York, v. 26, p. 452-461, Feb 2018. DOI: DOI 10.1007/s10924-017-0961-1.

LU, W.; LI, H. J.; LI, Q. Y.; WU, Y. C. Application of marine natural products in drug research. **Bioorganic & Medicinal Chemistry**, Oxford, v. 35, ID 116058, Apr 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bmc.2021.116058>.

MACHADO, Bruno Rafael. **Desenvolvimento de filmes de pectina/quitosana/glicerol para produção de embalagens biodegradáveis para alimentos**. 2019. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ciência e Engenharia de Materiais) – Programa de Pós-Graduação em Ciência e Engenharia de Materiais. Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Londrina, 2019.

MACHADO, Maria Laura Quadros. **Síntese e caracterização de biofilme à base de quitosana e glicerol para aplicação em embalagens de alimentos**. 2021. 51 f. Monografia. (Graduação em Engenharia Química) – Departamento de Engenharia Química, Universidade Federal do Pampa, Bagé, 2021.

MAGWAZA, S. T. N.; ISLAM, M. S. Roles of marine macroalgae or seaweeds and their bioactive compounds in combating overweight, obesity and diabetes: A comprehensive review. **Marine Drugs**, Basel, v. 21, n. 4, ID 258, 34 p., Apr 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/md21040258>.

MAHMOUD, S. H.; SALAMA, D. M.; EL-TANAHY, 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**, Amsterdam, v. 64, n. 2, p. 167-175, Dec 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aos.2019.11.002>.

- MANDHATA, C. P.; SAHOO, C. R.; PADHY, R. N. A comprehensive overview on the role of phytochemicals in human immunodeficiency virus treatment. **Journal of Integrative Medicine**, Amsterdam, v. 21, n. 4, p. 332-353, July 2023. DOI: 10.1016/j.joim.2023.05.001.
- MANGGAU, M.; KASIM, S.; FITRI, N.; AULIA, N. S.; AGUSTIANI, A. N.; RAIHAN, M.; NURDIN, W. B. Antioxidant, anti-inflammatory and anticoagulant activities of sulfate polysaccharide isolate from brown alga *Sargassum polycystum*. **IOP Conference Series: Earth and Environmental Science**, Bristol, v. 967, n.1, ID 012029, 12 p., Jan 2022. DOI : 10.1088/1755-1315/967/1/012029.
- MANILAL, A.; SUJITH, S.; KIRAN, G. S.; SELVIN, J.; SHAKIR, C.; GANDHIMATHI, R.; PANIKKAR, M. V. N. Biopotentials of seaweeds collected from Southwest coast of India. **Journal of Marine Science and Technology**, Keelung, v. 17, n. 1, p. 67-73, Mar 2009. DOI: 10.51400/2709-6998.1979.
- MARQUES, Sônia Patrícia Eustáquio. **Desenvolvimento de filmes comestíveis com base em algas marinhas para salmão congelado**. 2019. 89 f. Dissertação (Mestrado em Gestão da Qualidade e Segurança Alimentar) – Escola Superior de Turismo e Tecnologia do Mar, Instituto Politécnico de Leiria, Leiria, 2019.
- MARTINY, T.; DOTTO, G. L.; MORAES, C. C.; ROSA, G. S. Filmes biodegradáveis preparados com carragenana e extrato de folhas de oliveira. **Revista da 15ª Jornada de Pós-Graduação e Pesquisa - Congrega Urcamp**, Bagé, p. 179-193, 2018.
- MATOS, A. P.; NOVELLI, E.; TRIBUZI, G. Use of algae as food ingredient: sensory acceptance and commercial products. **Frontiers in Food Science and Technology**, Lausanne, v. 2, ID 989801, Sept 2022. DOI: 10.3389/frfst.2022.989801.
- MATOS, Francisco José de Abreu. **Introdução à Fitoquímica Experimental**. Fortaleza: Edições UFC, 2009. 150 p.
- MAYER, A. M. S.; GUERRERO, A. J.; RODRÍGUEZ, A. D.; TAGLIALATELA-SCAFATI, O.; NAKAMURA, F.; FUSETANI, N. Marine pharmacology in 2014-2015: Marine compounds with antibacterial, antidiabetic, antifungal, anti-inflammatory, antiprotozoal, antituberculosis, antiviral, and anthelmintic activities; affecting the immune and nervous systems, and other miscellaneous mechanisms of action. **Marine Drugs**, Basel, v. 181, n. 1, p. 5, 2020. DOI: <https://doi.org/10.3390/md18010005>.
- MCHUGH, T. H.; AVENA-BUSTILLOS, R. J.; KROCHTA, J. M. Hydrophilic edible films: Modified procedure for water vapor permeability and explanation of related thickness effects. **Journal of Food Science**, Hoboken, v. 58, p. 899-903, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1365-2621.1993.tb09387.x>.
- MEI, J.; MA, X.; XIE, J. Review on natural preservatives for extending fish shelf life. **Foods**, Basel, v. 8, n. 10, ID 490, 23 p., Sept 2019. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods8100490>.

MELLO, Jacinta Machado; SAITO, Erica Naomi; SCHULZE, Beatriz; STICCA, Sarah Carvalho; BUELONI, Fernanda Soares; BEZAMAT, Carolina; PALUDO, Giovani Festa; FUENTES, Eduardo Vetromilla; TSUDA, Érika Tiemi; BAPTISTA, Itamê Karpinsk; SALDANHA, Juliana Hammel; HESSEL, Mônica; LHULLIER, Cinthia. Expressão de pigmentos em algas pardas (*Canistrocarpus cervicornis* e *Padina gymnospora*): uma abordagem quimioecológica. In: FUENTES, Eduardo Vetromilla; HESSEL, Mônica; HERNÁNDEZ, Malva Isabel Medina (org.). **Ecologia de campo na Ilha de Santa Catarina**. Florianópolis: Programa de Pós-Graduação em Ecologia, 2012. p. 191-200.

MENSAH, E. O.; KANWUGU, O. N.; PANDA, P. K.; ADADI, P. Marine fucoidans: Structural, extraction, biological activities and their applications in the food industry. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 142, ID 108784, 25 p., Sept 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2023.108784>.

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

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. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612014000100002>.

MOHAMED, S. F.; AGILI, F. A. Antiviral sulphated polysaccharide from brown algae *Padina pavonia* characterization and structure elucidation. **International Journal of ChemTech Research**, [s. l.], v. 5, n. 4, p. 1469-1476, Apr-June 2013.

MOHAMMED, S.; EL-SHEEKH, M. M.; HAMED ALY, S.; AL-HARBI, M.; ELKELISH, A.; NAGAH, A. Inductive role of the brown alga *Sargassum polycystum* on growth and biosynthesis of imperative metabolites and antioxidants of two crop plants. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 14, ID 1136325, 12 p., Feb 2023. DOI: [10.3389/fpls.2023.1136325](https://doi.org/10.3389/fpls.2023.1136325).

MOO-PUC, R.; ROBLEDO, D.; FREILE-PELEGRÍN, Y. *In vitro* cytotoxic and antiproliferative activities of marine macroalgae from Yucatán, Mexico. **Ciencias Marinas**, Ensenada, v. 35, n. 4, p. 345-358, Dec 2009. DOI: <https://doi.org/10.7773/cm.v35i4.1617>.

MOUBAYED, N. M.; AL HOURI, H. J.; AL KHULAIFI, M. M.; AL FARRAJ, D. A. Antimicrobial, antioxidant properties and chemical composition of seaweeds collected from Saudi Arabia (Red Sea and Arabian Gulf). **Saudi Journal of Biological Sciences**, Amsterdam, v. 24, n. 1, p. 162-169, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sjbs.2016.05.018>.

NACZK, M.; SHAHIDI, F. Extraction and analysis of phenolics in food. **Journal of Chromatography A**, Amsterdam, v. 1054, n. 1-2, p. 95-111, Oct 2004. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2004.08.059>.

NEPOVIMOVA, Eugenie; KUCA, Kamil. History of toxicology: from killers to healers. *In: GUPTA, Ramesh C. (ed.). Handbook of Toxicology of Chemical Warfare Agents*. New York: Academic Press, 2020. p. 3-15. DOI: <https://doi.org/10.1016/C2018-0-04837-9>.

NIETO, Marceliano B. Structure and function of polysaccharide gum-based edible films and coatings. *In: HUBER, Kerry C.; EMBUSCADO, Milda E. (eds.). Edible Films and Coatings for Food Applications*, New York: Springer, 2009.p. 57-112. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-0-387-92824-1>.

NTUNGWE, N. E.; DOMÍNGUEZ-MARTÍN, E. M.; AMILCAR, R.; TAVARES, J.; ISCA, V. M. S.; PEREIRA, P.; CEBOLA, M. J.; RIJO, P. *Artemia* species: An important tool to screen general toxicity samples. **Current Pharmaceutical Design**, Sharjah, v. 26, n. 24, p. 2892-2908, Apr 2020. DOI: <https://doi.org/10.2174/1381612826666200406083035>.

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 Pharmacy**, Yogyakarta, v. 29, n. 4, p. 188-197, 2018. DOI: [10.14499/indonesianjpharm29iss4pp188](https://doi.org/10.14499/indonesianjpharm29iss4pp188).

OBLUCHINSKAYA, E. D.; POZHARITSKAYA, O. N.; ZAKHAROV, D. V.; FLISYUK, E. V.; TERNINKO, I. I.; GENERALOVA, Y. E.; SHIKOV, A. N. Biochemical composition, antiradical potential and human health risk of the Arctic edible brown seaweed *Fucus spiralis* L. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 35, n. 1, p. 365-380, Feb 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-022-02885-x>.

OLIVEIRA, C. A.; PAULA, G. T.; PUPO, T. Produtos naturais bioativos a partir da associação simbiótica de abelhas e bactérias. **Revista Virtual de Química**, Curitiba, no prelo, 12 p., 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20230011>.

OLIVEIRA, L. B.; OLIVEIRA, L. B. Effects of water salinization on tomato seedlings (*Solanum lycopersicum*). **International Journal of Advanced Engineering Research and Science**, [s. l.], v. 10, n. 2, p. 15-21, Feb 2023. DOI: <https://dx.doi.org/10.22161/ijaers.102.2>.

OLIVEIRA, R. J.; SANTOS, C. S.; FREITAS-FILHO, J. R.; SANTOS, F. A.; MEDEIROS, H. I. R.; FREITAS, J. C. R. Síntese e bioensaio toxicológico de arilamidoximas. **Periódico Tchê Química**, Porto Alegre, v. 16, n. 31, p. 281-300, 2019.

OLIVEIRA-FILHO, Eurico Cabral de. **Algas marinhas bentônicas do Brasil**. 1977. 411 f. Tese (Doutorado em Ficologia) – Departamento de Botânica, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1977.

OLIYAEI, N.; MOOSAVI-NASAB, M. Ultrasound-assisted extraction of fucoxanthin from *Sargassum angustifolium* and *Cystoseira indica* brown algae. **Journal of Food Processing and Preservation**, Hoboken, v. 45, n. 8, ID 15929, 10 p., Sept 2021. DOI: [10.1111/jfpp.15929](https://doi.org/10.1111/jfpp.15929).

OMS-OPAS (ORGANIZAÇÃO PAN-AMERICANA DA SAÚDE). **Global Antimicrobial Resistance and Use Surveillance System (GLASS) Report 2022**. 82 p., Dec 2022.

Disponível em: <https://www.who.int/publications/i/item/9789240062702> Acesso em: 05 set. 2023.

ORSINE, J. V. C.; OLIVEIRA, F. P.; MENDES, P. N. R. Atividade antioxidante de especiarias naturais comumente utilizadas nas práticas alimentares da população brasileira. **Brazilian Journal of Health Review**, São José dos Pinhais, v. 6, n. 2, p. 6248-6259, mar-abr 2023. DOI: <https://doi.org/10.34119/bjhrv6n2-143>.

PADOL, S. A.; AGLE, K.; BHIWASNE, A.; SHELKE, P.; SANAP, G. Role of nutraceuticals in various diseases: a comprehensive review. **International Journal of Creative Research Thoughts (IJCRT)**, [s. l.], v. 10, n. 7, p. e132-e137, July 2022.

PÁDUA, M.; FONTOURA, P. S. G.; MATHIAS, A. L. Chemical composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützinger) Bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fasciata* (Delile). **Brazilian Archives of Biology and Technology**, Campinas, v. 47, n. 1, p. 49-55, Mar 2004. DOI: <https://doi.org/10.1590/S1516-89132004000100007>.

PANGESTUTI, R.; KIM, S. K. Neuroprotective effects of marine algae. **Marine Drugs**, Basel, v. 9, p. 803-818, May 2011. DOI: 10.3390/md9050803.

PALANIAPPAN, N.; BALASUBRAMANIAN, B.; ARUNKUMAR, M.; PUSHPARAJ, K.; RENGASAMY, K. R. R.; MALUVENTHEN, V.; PITCHAI, M.; ALANAZI, J.; LIU, W. C.; MARUTHUPANDIAN, A. Anticancer, antioxidant, and antimicrobial properties of solvent extract of *Lobophora variegata* through in vitro and in silico studies with major phytoconstituents. **Food Bioscience**, Amsterdam, v. 48, ID 101822, 15 p., Aug 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.fbio.2022.101822>.

PALANISAMY, S.; VINOSHA, M.; MANIKANDAKRISHNAN, M.; ANJALI, R.; RAJASEKAR, P.; MARUDHUPANDI, T.; MANIKANDAN, R.; VASEEHARAN, B.; PRABHU, N. M. Investigation of antioxidant and anticancer potential of fucoidan from *Sargassum polycystum*. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 116, p. 151-161, Sept 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.04.163>.

PARYS, S.; ROSENBAUM, A.; KEHRAUS, S.; REHER, G.; GLOMBITZA, K. W.; KONING, G. M. Evaluation of quantitative methods for the determination of polyphenols in algal extracts. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 70, n. 12, p. 1865-1870, Dec 2007. DOI: <https://doi.org/10.1021/np070302f>.

PATHANIA, S.; NARANG, R. K.; RAWAL, R. K. Role of sulphur-heterocycles in medicinal chemistry: An update. **European Journal of Medicinal Chemistry**, Issy-les-Moulineaux, v. 180, p. 486-508, Oct 2019. DOI: 10.1016/j.ejmech.2019.07.043.

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

PÉREZ, M. J.; FALQUÉ, E.; DOMÍNGUEZ, H. Antimicrobial action of compounds from marine seaweed. **Marine Drugs**, Basel, v. 14, n. 3, ID 52, 38 p. 8, Mar 2016. DOI: 10.3390/md14030052.

PHANG, S. J.; TEH, H. X.; LOOI, M. L.; ARUMUGAM, B.; FAUZI, M. B.; KUPPUSAMY, U. R. Phlorotannins from brown algae: A review on their antioxidant mechanisms and applications in oxidative stress-mediated diseases. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 35, n. 2, p. 867-892, Apr 2023. DOI: <https://doi.org/10.1007/s10811-023-02913-4>.

PHILIPPUS, Ana Cláudia. **Investigação química de extratos de algas pardas do Atlântico sul brasileiro**. 2016. 150 f. Dissertação (Mestrado em Farmácia) – Programa de Pós-Graduação em Farmácia, Centro de Ciências da Saúde, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2016.

PIETTA, P. G. Flavonoids as antioxidants. **Journal of Natural Products**, Washington, v. 63, n. 7, p. 1035-1042, May 2000. DOI: <https://doi.org/10.1021/np9904509>.

PIMENTEL, M. F.; SILVA-JUNIOR, F. C. G.; SANTAELLA, S. T.; LOTUFO, L. V. C. O uso de *Artemia* sp. como organismo-teste para avaliação da toxicidade das águas residuárias do beneficiamento da castanha de caju antes e após tratamento em reator biológico experimental. **Journal of the Brazilian Society of Ecotoxicology**, [s. l.], v. 6, n. 1, p. 15-22, 2011. DOI: 10.5132/jbse.2011.01.003.

PRADHAN, B.; KI, J. S. Antioxidant and chemotherapeutic efficacies of seaweed-derived phlorotannins in cancer treatment: A review regarding novel anticancer drugs. **Phytotherapy Research**, Hoboken, v. 37, n. 5, p. 2067-2091, May 2023. DOI: <https://doi.org/10.1002/ptr.7809>.

PRAIBOON, J.; PALAKAS, S.; NOIRAKSA, T.; MIYASHITA, K. Seasonal variation in nutritional composition and anti-proliferative activity of brown seaweed *Sargassum oligocystum*. **Journal of Applied Phycology**, Dordrecht, v. 30, n. 1, p. 101-111, Feb 2018. DOI: 10.1007/s10811-017-1248-6.

PREEZ, R.; MAGNUSSON, M.; MAJZOUB, M. E.; THOMAS, T.; PRAEGER, C.; GLASSON, C. R. K.; PANCHAL, S. K.; BROWN, L. Brown seaweed *Sargassum siliquosum* as an intervention for diet-induced obesity in male wistar rats. **Nutrients**, Basel, v. 13, n. 6, ID 1754, May 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/nu13061754>.

PYRZYNSKA, K.; PEKAL, A. Mini Review - Application of free radical diphenylpicrylhydrazyl (DPPH) to estimate the antioxidant capacity of food sample. **Analytical Methods**, London, v. 5, n. 17, p. 4288-4295, June 2013. DOI: <https://doi.org/10.1039/C3AY40367J>.

RAJAURIA, G.; JAISWAL, A. K.; ABU-GANNAM, N.; GUPTA, S. Antimicrobial, antioxidant and free radical-scavenging capacity of brown seaweed *Himantalia elongata* from Western coast of Ireland. **Journal of Food Biochemistry**, London, v. 37, n. 3, p. 322-335, June 2013. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.1745-4514.2012.00663.x>.

RAMBABU, K.; BHARATH, G.; BANAT, F.; SHOW, P. L.; COCOLETZI, H. H. Mango leaf extract incorporated chitosan antioxidant film for active food packaging. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 126, p. 1234-1243, Apr 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2018.12.196>.

RENITTA, R. E.; NARAYANAN, R.; CYPRIYANA P. J. J.; SAMROT, A. V. Antidiabetic potential of methanolic extracts of *Sargassum wightii* in streptozotocin induced diabetic mice. **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**, Amsterdam, v. 28, ID 101763, 7 p., Sept 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.bcab.2020.101763>.

ROSA, Laura A. de la; MORENO-ESCAMILLA, Jesús Omar; RODRIGO-GARCÍA, Joaquín; ALVAREZ-PARRILLA, Emilio. Phenolic compounds. *In*: YAHIA, Elhadi M.; CARRILLO-LOPEZ, Armando (eds.). **Postharvest Physiology and Biochemistry of Fruits and Vegetables**. Cambridge: Woodhead Publishing, 2019. p. 253-271. DOI: <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-813278-4.00012-9>.

RYCHEN, G.; AQUILINA, G.; AZIMONTI, G.; BAMPIDIS, V.; BASTOS, M. L.; BORIES, G.; CHESSON, A.; COCCONCELLI, P. S.; FLACHOWSKY, G.; KOLAR, B.; KOUBA, M.; LOPEZ-ALONSO, M.; PUENTE, S. L.; MANTOVANI, A.; MAYO, B.; RAMOS, F.; SAARELA, M.; VILLA, R. E.; WALLACE, R. J.; WESTER, P.; LUNDEBYE, A. K.; NEBBIA, C.; RENSHAW, D.; INNOCENTI, M. L.; GROPP, J. Safety and efficacy of butylated hydroxyanisole (BHA) as a feed additive for all animal species. **EFSA Journal**, Hoboken, v. 16, n. 3, ID 5215, 18 p., Mar 2018.

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

SAHOO, Dinabandhu; BAWEJA, Pooja. General characteristics of algae. *In*: SAHOO, Dinabandhu; SECKBACH, Joseph (eds.). **The Algae World**, v. 26. Dordrecht: Springer, 2015. p. 3-29. DOI: <https://doi.org/10.1007/978-94-017-7321-8>.

SANCHES, B.; GUERREIRO, R.; DIOGO, J.; CABRAL, M.; GOMES, A. A era da multirresistência: Incidência em dez anos numa unidade de cuidados intensivos neonatais. **Acta Medica Portuguesa**, Lisboa, v. 33, n. 3, p. 183-190, Mar 2020. DOI: <https://doi.org/10.20344/amp.12504>.

SÁNCHEZ-MORENO, C. Review: Methods used to evaluate the free radical scavenging activity in foods and biological systems. **Food Science and Technology International**, London, v. 8, n. 3, p. 121-137, Mar 2002. DOI: <https://doi.org/10.1106/108201302026770>.

SANTACRUZ, S.; RIVADENEIRA, C.; CASTRO, M. Edible films based on starch and chitosan. Effect of starch source and concentration, plasticizer, surfactant's hydrophobic tail and mechanical treatment. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 49, p. 89-94, July 2015. DOI: [10.1016/j.foodhyd.2015.03.019](https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2015.03.019).

SANTOS, T. C.; VALE, T. M.; CAVALCANTI, D. N.; MACHADO, L. P.; BARBARINO, E.; MARTINS, R. C. C.; OBANDO, J. M. C. Metabólitos bioativos e aplicações biotecnológicas de macroalgas do gênero *Sargassum*: uma revisão. **Revista Virtual de Química**, Curitiba, v. 15, n. 4, p. 741-758, Dec 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.21577/1984-6835.20220125>.

SAROJINI, Y.; LAKSHMINARAYANA, K.; RAO, P. S. Variations in distribution of flavonoids in some seaweed of Visakhapatnam coast of India. **Der Pharma Chemica**, [s. l.], v. 4, n. 4, p.1481-1484, 2012.

SATHYASEELAN, T.; MURUGESAN S.; SIVAMURUGAN, V. Structural identification and antioxidant properties of methanolic extract of brown algae *Lobophora variegata* (J. V. F. Lamouroux) Womersley ex E. C. Oliveira. **International Journal of Innovation in Pharma Biosciences and Research Technology**, [s. l.], v. 2, n. 2, p. 165-178, Jan 2015.

SCHAFER, F. Q.; BUETTNER, G. R. Redox environment of the cell as viewed through the redox state of the glutathione disulfide/glutathione couple. **Free Radical Biology and Medicine**, New York, v. 30, n. 11, p. 1191-1212, June 2001. DOI: [https://doi.org/10.1016/S0891-5849\(01\)00480-4](https://doi.org/10.1016/S0891-5849(01)00480-4).

SENA, E. O. A.; COUTO, H. G. S. A.; PAIXÃO, A. R. C.; SILVEIRA, M. P. C.; OLIVEIRA-JÚNIOR, L. F. G.; CARNELOSSI, M. A. G. Utilização de biofilme comestível na conservação pós-colheita de pimentão verde (*Capsicum annuum* L.). **Scientia Plena**, [s. l.], v. 12, n. 8, ID 080201, 9 p., Aug 2016. DOI: 10.14808/sci.plena.2016.080201.

SHAHIDI, F.; AMBIGAIPALAN, P. Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects - A review. **Journal of Functional Foods**, Amsterdam, v. 18, part B, p. 820-897, Oct 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2015.06.018>.

SHAHIDI, Fereidoon; NACZK, Marian. **Food phenolics: sources, chemistry, effects and applications**. Lancaster: Technomic Publishing, 1995. 331 p.

SHANG, X. C.; ZHANG, M.; ZHANG, Y.; LI, Y.; HOU, X.; YANG, L. Combinations of waste seaweed liquid fertilizer and biochar on tomato (*Solanum lycopersicum* L.) seedling growth in an acid-affected soil of Jiaodong Peninsula, China. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, San Diego, v. 260, ID 115075, 12 p., July 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115075>.

SHARIFIFAR, F.; ASSADIPOUR, A.; MOSHAFI, M. H.; ALISHAHII, F.; MAHMOUDVAND, H. Bioassay screening of the essential oil and various extracts of *Nigella sativa* L. seeds using brine shrimp toxicity assay. **Herbal Medicines Journal**, [s. l.], v. 2, n. 1, p. 26-31, Jan 2017. DOI: 10.22087/HMJ.V1I2.578.

SHIN, D.; SHIM, S. R.; WU, Y.; HONG, G.; JEON, H.; KIM, G. G.; LEE, K. J. How do brown seaweeds work on biomarkers of dyslipidemia? A systematic review with meta-analysis and meta-regression. **Marine Drugs**, Basel, v. 21, n. 4, ID 220, 15 p., Mar 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/md21040220>.

SIKORA, E.; CIESLIK, E.; LESZCZYNSKA, T.; FILIPIAK-FLORKIWUACZ, A.; PISULEWSKI, P. M. The antioxidant activity of selected cruciferous vegetables subjected to aquathermal processing. **Food Chemistry**, Oxford, v. 107, n. 1, p. 55-59, Mar 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2007.07.023>.

SILVA, F. E. F.; ÁVILA, F. N.; PEREIRA, N. M. O.; FREITAS, M. D.; PESSOA, O. D. L.; FONSECA, A. M.; COSTA, J. G. M.; SANTIAGO, G. M. P. Semisynthesis, *in silico* study and *in vitro* antibacterial evaluation of fucosterol derivatives. **Steroids**, New York, v. 189, ID 109137, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.steroids.2022.109137>.

SILVA, J. M. N.; CALADO, J. P.L.; BARROS, A. V.; SILVA, E. M. E; SOUZA, B. S.; RODRIGUES, W. S.; QUINTAS, J. M.; SANTOS, J.C.B. Novas abordagens terapêuticas: Compostos antimicrobianos produzidos por algas marinhas. **Research, Society and Development**, Vargem Grande Paulista, v. 11, n. 14, ID e38111436059, 8 p., 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i14.36059>.

SILVA, M. L. C.; COSTA, R. S.; SANTANA, A. S.; KOBLITZ, M. G. B. Compostos fenólicos, carotenoides e atividade antioxidante em produtos vegetais. **Semina: Ciências Agrárias**, Londrina, v. 31, n. 3, p. 669-682, jul-set 2010.

SINGLETON, V. L.; ROSSI JR., J. A. Colorimetry of total phenolics with phosphomolybdic-phosphotungstic acid reagents. **American Journal of Enology and Viticulture**, Philadelphia, v. 16, n. 3, p. 144-158, 1965. DOI: 10.5344/ajev.1965.16.3.144.

SOBRAL, P. J.; AMARAL, D. O. Influência da espessura de biofilmes feitos à base de proteínas miofibrilares sobre suas propriedades funcionais. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 35, n. 6, p. 1251-1259, jun 2000. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2000000600022>.

SOLTANI, S.; SAADATMAND, S.; KHAVARINEJAD, R.; NEJADSATTARI, T. Antioxidant and bacterial activities of *Cladophora glomerata* (L.) Kutz. in Caspian Sea coast, Iran. **African Journal of Biotechnology**, [s. l.], v. 10, n. 39, p. 7684-7689, July 2011. DOI: 10.5897/JMPR11.1462.

SOTO-GARCÍA, M.; ROSALES-CASTRO, M. Efecto del solvente y de la relación masa/solvente, sobre la extracción de compuestos fenólicos y la capacidad antioxidante de extractos de corteza de *Pinus durangensis* y *Quercus sideroxyla*. **Maderas, Ciencia y Tecnología**, Concepción, v. 18, n. 4, p. 701-714, 2016. DOI: <http://dx.doi.org/10.4067/S0718-221X2016005000061>.

SOUSA, Karolina Costa de. **Atividades antioxidante, antimicrobiana, antibiofilme e citotóxica de extratos da macroalga marinha parda *Lobophora variegata* (J. V. Lamouroux)**. 2017. 84 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) – Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

SOUZA, Ana Cristina de; DITCHFIELD, Cynthia; TADINI, Carmen Cecília. Biodegradable films based on biopolymers for food industries. *In*: PASSOS, Maria Laura; RIBEIRO, Claudio P. (eds.). **Innovation in Food Engineering: New Techniques and Products**. Boca Raton: CRC Press, 2010. p. 511-537.

SOUZA, B. W. S.; CERQUEIRA, M. A.; CASARIEGO, A.; LIMA, A. M. P.; TEIXEIRA, J. A.; VICENTE, A. A. Effect of moderate electric fields in the permeation properties of chitosan coatings. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 23, n. 8, p. 2110-2115, Dec 2009. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213651>.

SOUZA, C. C.; AQUINO, S. F.; SILVA, S. Q. Ensaios toxicológicos aplicados à análise de águas contaminadas por fármacos. **Engenharia Sanitária e Ambiental**, Rio de Janeiro, v. 25, n. 2, p. 217-228, mar-abr 2020. DOI: 10.1590/S1413-41522020183632.

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

SPIERS, L. J.; FRAZER, T. K. How herbivores reshape a macroalgal community on a Little Cayman coral reef: The role of herbivore type and density. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 562, ID 151884, 10 p., May 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2023.151884>.

SPILLIAS, S.; KELLY, R.; COTTRELL, R. S.; O'BRIEN, K. R.; IM, R. Y.; KIM, J. Y.; McDONALD-MADDEN, E. The empirical evidence for the social-ecological impacts of seaweed farming. **PLOS Sustainability and Transformation**, [s. l.], v. 2, n. 2, ID e0000042, Feb 2023. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pstr.0000042>.

SRAVYA, V.; MOHAN, G. K.; SRIVANI, A. Phytochemical and pharmacological properties of *Halimeda gracilis* (marine seaweed): A review. **Journal of Pharmacognosy and Phytochemistry**, [s. l.], v. 12, n. 1, p. 125-129, 2023.

SUBRAMANIYAN, L.; VEERASAMY, R.; PRABHAKARAN, J.; SELVARAJ, A.; ALGARSWAMY, S.; KARUPPASAMI, K. M.; THANGAVEL, K.; NALLIAPPAN, S. Biostimulation effects of seaweed extract (*Ascophyllum nodosum*) on phytomorpho-physiological, yield, and quality traits of tomato (*Solanum lycopersicum* L.). **Horticulturae**, Basel, v. 9, n. 3, ID 348, 17 p., 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/horticulturae9030348>.

SUGANYA, S.; ISHWARYA, R.; JAYAKUMAR, R.; GOVINDARAJAN, M., ALHARBI, N.S.; KADAIKUNNAN, S.; KHALED, J. M.; AL-ANBR, M. N. B.; VASEEHARAN, B. New insecticides and antimicrobials derived from *Sargassum wightii* and *Halimeda gracillis* seaweeds: Toxicity against mosquito vectors and antibiofilm activity against microbial pathogens. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 125, p. 466-480, Sept 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2019.08.006>.

SUN, Q. L.; LI, Y.; NI, L. Q.; LI, Y. X.; CUI, Y. S.; JIANG, S. L.; XIE, E. Y.; DU, J.; DENG, F.; DONG, C. X. Structural characterization and antiviral activity of two fucoidans from the brown algae *Sargassum henslowianum*. **Carbohydrate Polymers**, Oxford, v. 229, ID 115487, 10 p., Feb 2020. DOI: 10.1016/j.carbpol.2019.115487.

SUN, W.; SHAHRAJABIAN, M. H. Therapeutic potential of phenolic compounds in medicinal plants - Natural health products for human health. **Molecules**, Basel, v. 28, n. 4, ID 1845, 43 p., Feb 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/molecules28041845>.

SURABHI, G.; DHARA, S.; MANEESH, A.; CHAKRABORTY, K.; VALLURU, L.; CHENCHULA, S. R. Polygalacto-fucopyranose from marine alga as a prospective antihypertensive lead. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 183, p. 589-599, July 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2021.04.140>.

SURVESWARAN, S.; CAI, Y.Z.; CORKE, H.; SUN, M. Systematic evaluation of natural phenolic antioxidants from 133 Indian medicinal plants. **Food Chemistry**, Oxford, v. 102, n. 3, p. 938-953, Dec 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2006.06.033>.

SURYANTO, Heru; YANUHAR, Uun; AMINNUDIN, Aminnudin; PRADANA, Yanuar Rohmat Aji; BINTARA, Redyarsa Dharma. Starch/carrageenan blend-based biocomposites as packaging materials. In: SAPUAN, Salit Mohd; AHMAD, Imran (eds.). **Composites from the Aquatic Environment. Composites Science and Technology**. Singapore: Springer, 2023. p. 139-161. DOI: https://doi.org/10.1007/978-981-19-5327-9_6.

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

TEIXEIRA, V. L. Produtos naturais de algas marinhas bentônicas. **Revista Virtual de Química**, Curitiba, v. 5, n. 3, p. 343-362, out 2013. DOI: 10.5935/1984-6835.20130033.

THAWABTEH, A. M.; SWAILEH, Z.; AMMAR, M.; JAGHAMA, W.; YOUSEF, M., KARAMAN, R.; BUFO, S. A.; SCRANO, L. Antifungal and antibacterial activities of isolated marine compounds. **Toxins**, Basel, v. 15, n. 2, ID 93, 21 p., 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/toxins15020093>.

TOLEDO, E.; FÉLIX, C.; VICENTE, T. F. L.; AUGUSTO, A.; FÉLIX, R.; TOLEDO, B.; SILVA, J.; TRINDADE, C.; RAIMUNDO, D.; LEMOS, M. F. L. Seaweed extracts to control postharvest phytopathogenic fungi in Rocha pear. **Journal of Fungi**, Basel, v. 9, n. 2, ID 269, 19 p., Feb 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/jof9020269>.

TORRES, P.; SANTOS, J. P.; CHOW, F.; FERREIRA, M. J. P.; DOS SANTOS, D. Y. Comparative analysis of *in vitro* antioxidant capacities of mycosporine-like amino acids (MAAs). **Algal Research**, Amsterdam, v. 34, p. 57-67, Sept 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2018.07.007>.

TRAN, T. T.; ROACH, P.; NGUYEN, M. H.; PRISTIJONO, P.; VUONG, Q. V. Development of biodegradable films based on seaweed polysaccharides and Gac pulp (*Momordica cochinchinensis*), the waste generated from Gac oil production. **Food Hydrocolloids**, Oxford, v. 99, ID 105322, Feb 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2019.105322>.

URREA-VICTORIA, V.; GERALDES, V.; PINTO, E.; CASTELLANOS, L. Photosynthetic pigments and photoprotective metabolites of Colombian pacific marine macroalgae in response to contrasting ultraviolet-index periods. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, Amsterdam, v. 564, ID 151908, Apr 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jembe.2023.151908>.

URREA-VICTORIA, V.; PIRES, J.; TORRES, P. B.; SANTOS, D. Y. A. C.; CHOW, F. Ensaio antioxidante em microplaca do poder de redução do ferro (FRAP) para extratos de algas. **Instituto de Biociências: Universidade de São Paulo**, São Paulo, 6 p., Apr 2016. DOI: DOI:10.13140/RG.2.2.24094.64322.

VALE, Diego Alves do. **Filmes e revestimentos do caranguejo-uçá (*Ucides cordatus*) com aplicação em postas de serra (*Scomberomorus brasiliensis*) congeladas**. 2017. 95 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Pesca) – Departamento de Engenharia de Pesca, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2017.

VALENCIA-CHAMORRO, S. A.; PALOU, L.; DEL RIO, M. A.; PEREZ-GAGO, M. B. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: A Review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, Philadelphia, v. 51, n. 9, p. 872-900, Sept 2011. DOI: 10.1080/10408398.2010.485705.

VALENTÃO, P.; FERNANDES, E.; CARVALHO, F.; ANDRADE, P. B.; SEABRA, R. M.; BASTOS, M. L. Antioxidative properties of cardoon (*Cynara cardunculus* L.) infusion against superoxide radical, hydroxyl radical, and hypochlorous acid. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Washington, v. 50, n. 17, p. 4989-4993, ID 2166995, Aug 2002. DOI: 10.1021/jf020225o.

VALVERDE, S.; WILLIAMS, P. L.; MAYANS, B.; LUCENA, J. J.; HERNÁNDEZ-APAOLAZA, L. Comparative study of the chemical composition and antifungal activity of commercial brown seaweed extracts. **Frontiers in Plant Science**, Lausanne, v. 13, ID 1017925, 13 p., Dec 2022. DOI: 10.3389/fpls.2022.1017925.

VASCONCELOS, S. M. L.; GOULART, M. O. F.; MOURA, J. B. D. F.; MANFREDINI, V.; BENFATO, M. D. S.; KUBOTA, L. T. Espécies reativas de oxigênio e de nitrogênio, antioxidantes e marcadores de dano oxidativo em sangue humano: Principais métodos analíticos para sua determinação. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 5, p. 1323-1338, out 2007. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422007000500046>.

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

VEGA, J.; ÁLVAREZ-GÓMEZ, F.; GÜENAGA, L.; FIGUEROA, F. L.; GÓMEZ-PINCHETTI, J. L. Antioxidant activity of extracts from marine macroalgae, wild-collected and cultivated, in an integrated multi-trophic aquaculture system. **Aquaculture**, Amsterdam, v. 522, ID 735088, 10 p., May 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.aquaculture.2020.735088>.

VELASCO, E. M. Z.; FUNDADOR, N. G. V. Development and use of antimicrobial durian starch-carrageenan / carvacrol films. **Mindanao Journal of Science and Technology**, Cagayan de Oro, v. 18, n. 1, p. 118-128, Jan-June 2020.

VELÁSQUEZ-HERNÁNDEZ, M. J.; LINARES-MOREAU, M.; ASTRIA, E.; CARRARO, F.; ALYAMI, M.; KHASHAB, N. M.; SUMBY, C. J.; DOONAN, C. J.; FALCARO, P. Towards applications of bioentities@ MOFs in biomedicine. **Coordination Chemistry Reviews**, Lausanne, v. 429, ID 213651, 45 p., Feb 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ccr.2020.213651>.

VELINI, Edivaldo Domingues; OSIPE, Robinson; GAZZIERO, Dionisio Luiz Pisa (eds.). **Procedimentos para instalação, avaliação e análise de experimentos, com herbicidas**. Londrina: Sociedade Brasileira da Ciência das Plantas Daninhas, 1995. 42 p.

VIEIRA, C.; CAMACHO, O.; SUN, Z.; FREDERICQ, S.; LELIAERT, F.; PAYRI, C.; CLERCK, O. Historical biogeography of the highly diverse brown seaweed *Lobophora* (Dictyotales, Phaeophyceae). **Molecular Phylogenetics and Evolution**, San Diego, v. 110, p. 81-92, May 2017. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ympev.2017.03.007>.

VIEIRA, C.; CLERCK, O.; MILLET, L.; PAYRI, C. E. Description of ten new *Lobophora* species from the Bismarck Sea (Papua New Guinea). **Phycological Research**, Hoboken, v. 67, n. 3, p. 228-238, July 2019. DOI: <https://doi.org/10.1111/pre.12372>.

VIEIRA, C.; RASOAMANENDRIKA, F. A.; ZUBIA, M.; BOLTON, J. J.; ANDERSON, R. J.; ENGELEN, A. H.; D'HONDT, S.; LELIAERT, F.; PAYRI, C.; KAWAI, H.; CLERCK, O. *Lobophora* (Dictyotales, Phaeophyceae) from the Western Indian Ocean: diversity and biogeography. **South African Journal of Botany**, Amsterdam, v. 142, p. 230-246, Nov 2021. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2021.06.015>.

VIEIRA, C.; THOMAS, O. P.; CULIOLI, G.; GENTA-JOUVE, G.; HOULBREQUE, F.; GAUBERT, J.; DE CLERCK, O.; PAYRI, C. E. Allelopathic interactions between the brown algal genus *Lobophora* (Dictyotales, Phaeophyceae) and scleractinian corals. **Scientific Reports**, Berlin, v. 6, ID 18637, 11 p., Jan 2016. DOI: 10.1038/srep18637.

VIEIRA, L. C.; SILVA, V. N.; SILVA, M. B. P. Bioestimulantes de algas no tratamento biológico: eficiência no vigor de sementes de brócolis. **Scientific Electronic Archives**, [s. l.], v. 16, n. 1, p. 48-54, Nov 2023. DOI: <http://dx.doi.org/10.36560/16120231646>.

VINAYAK, R. C.; SABU, A. S.; CHATTERJI, A. Bio-prospecting of a few brown seaweeds for their cytotoxic and antioxidant activities. **Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine**, London, v. 2011, ID 673083, 9 p., Mar 2011. DOI: 10.1093/ecam/nej024.

VO, T. S.; KIM, S. K. Fucoidans as a natural bioactive ingredient for functional foods. **Journal of Functional Food**, Amsterdam, v. 5, n. 1, p. 16-27, Jan 2013. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jff.2012.08.007>.

WANG, H.; CAO, Z.; YAO, L.; FENG, T.; SONG, S.; SUN, M. Insights into the edible and biodegradable ulvan-based films and coatings for food packaging. **Foods**, Basel, v. 12, n. 8, ID 1622, Apr 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/foods12081622>.

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. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2009.02.041>.

WANG, Y.; ZHANG, R.; QIN, W.; DAI, J.; ZHANG, Q.; LEE, K.; LIU, Y. Physicochemical properties of gelatin films containing tea polyphenol-loaded chitosan nanoparticles generated by electrospray. **Materials & Design**, Oxford, v. 185, ID 108277, 12 p., Oct 2020. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.matdes.2019.108277>.

WEBBER, V.; CARVALHO, S. M. D.; OGLIARI, P. J.; HAYASHI, L.; BARRETO, P. L. M. Optimization of the extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* using response surface methodology. **Food Science and Technology**, Campinas, v. 32, n. 4, p. 812-818, Dec 2012. DOI: <https://doi.org/10.1590/S0101-20612012005000111>.

WIJESEKARA, Isuru; SENEVIRATHNE, Mahinda; LI, Yong-Xin; KIM, Se-Kwon Functional ingredients from marine algae as potential antioxidants in the food industry. In: KIM, Se-Kwon (ed.). **Handbook of Marine Macroalgae**. Hoboken: Wiley Online Books, 2011. p. 398-402, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1002/9781119977087.ch23>.

YIM, S. K.; KIM, K.; KIM, I.; CHUN, S. H.; OH, T. H.; KIM, J. U.; KIM, J.; JUNG, W. H.; MOON, H.; KU, B.; JUNG, K. Inhibition of SARS-CoV-2 virus entry by the crude polysaccharides of seaweeds and abalone viscera *in vitro*. **Marine Drugs**, Basel, v. 19, n. 4, ID 219, 14 p., Apr 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/md19040219>.

ZIANI, K.; OSES, J.; COMA, V.; MATÉ, J. I. Effect of the presence of glycerol and Tween 20 on the chemical and physical properties of films based on chitosan with different degree of deacetylation. **LWT - Food Science and Technology**, Amsterdam, v. 41, n. 10, p. 2159-2165, Dec 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2007.11.023>.

ZUEVA, A. O.; USOLTSEVA, R. V.; MALYARENKO, O. S.; SURITS, V. V.; SILCHENKO, A. S.; ANASTYUK, S. D.; RASIN, A. B.; KHANH, H. H. N.; THINH, P. D.; ERMAKOVA, S. P. Structure and chemopreventive activity of fucoidans from the brown alga *Alaria angusta*. **International Journal of Biological Macromolecules**, Amsterdam, v. 225, p. 648-657, Jan 2023. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2022.11.127>.