



Faculdade de Ciências
Departamento de Ciências Biológicas
Licenciatura em Biologia Aplicada

Culminação de estudos II

Trabalho de investigação

Estudo comparativo da actividade antioxidante e fitocompostos das macroalgas: *Padina boryana*, *Eucheuma denticulatum*, *Kappaphycus alvarezii* e *Ulva lactuca*.

Autora: Ilda Fernando Nhampossa



Faculdade de Ciências
Departamento de Ciências Biológicas
Licenciatura em Biologia Aplicada

Culminação de estudos II

Trabalho de investigação

Estudo comparativo da actividade antioxidante e fitocompostos das macroalgas:
***Padina boryana*, *Eucheuma denticulatum*, *Kappaphycus alvarezii* e *Ulva lactuca*.**

Autora

Ilda Fernando Nhampossa

Supervisora

Prof^ª. Doutora Valera Dias

Maputo, Maio de 2025

AGRADECIMENTOS

Ao Senhor Deus, vai o meu maior agradecimento, por me permitir estar neste mundo, pela família, pela vida, força e motivação diária em meio a tantos obstáculos que a vida nos coloca, mas com a sua graça, tudo é possível inclusive vencer os obstáculos.

Um agradecimento mais que especial à senhora Carlota Cumbane, minha mãe, pelo apoio incondicional, pelo amor de mãe, pelo sacrifício feito em todos esses anos, pelo cuidado incansável nos longos anos de dificuldades que passei e pelo seu caráter complacente. A sua determinação e força são para mim, a minha maior motivação e orgulho de ser sua filha e por aprender consigo a ir atrás dos meus sonhos.

Ao Senhor Fernando Soquiço Nhampossa, meu pai, endereço o meu agradecimento por motivar aos meus irmãos e a mim a estudar, pois, em meio a tantas adversidades os nossos estudos sempre foram priorizados, e cada resultado positivo é mais uma alegria e recompensa ao seu esforço.

De igual forma, endereço os mais estimados agradecimentos à Prof^a. Doutora Valera Dias, pela supervisão, apoio e atenção prestados em todo o trabalho.

Ao Director do Laboratório de Engenharia de Moçambique, por me ter permitido realizar lá a parte inicial do trabalho, e um grande agradecimento se estende aos técnicos do laboratório, pelo acolhimento, motivação e as longas e alegres conversas que tivemos.

Aos meus irmãos, Isabel, Crimildo, Cláudio, Sónia, a minha sobrinha Fernanda e amigos Dalton, Denise e Adelene que me apoiaram emocionalmente no decorrer desta jornada académica, ousar dizer que sem eles o percurso seria exaustivo, embora cada um carrega seu fardo e suas dores, quando estamos juntos e compartilhamos as nossas dificuldades, tudo fica mais leve e o percurso menos turbulento. O vosso empenho e dedicação mostrou-me que por mais que alguns dos nossos sonhos pareçam verdadeiras quimeras, eles podem tornar-se reais, desde que coloquemos em prática todas as vontades e desejos de conquista que pairam em nosso âmago e assim torná-los realizáveis.

Aos meus colegas de ano, a Paula Chilengue, Tonelda Mucavele, Monteiro Tivane e ao Ciro Santana, agradeço pela amizade e companheirismo, agradeço igualmente aos amigos e colegas que não só compartilhamos trabalhos difíceis, mas também momentos difíceis e

outros alegres, vocês foram para mim uma grande inspiração para continuar e prosseguir, por isso e muito mais, agradeço a Deus por vos ter conhecido.

Foi uma longa jornada, com momentos difíceis, alguns alegres e divertidos, mas todos inesquecíveis, tudo isso graças às pessoas com as quais convivi ao longo desses quatro anos, aos meus colegas de ano e aos docentes do DCB que com eles tive a oportunidade de aprender várias lições não só académicas mais de vida, o meu muitíssimo obrigado, pois a faculdade foi mais que uma escola, foi uma casa.

Muito obrigada a todos!

DECLARAÇÃO DE HONRA

Declaro por minha honra, que o trabalho intitulado “**Estudo comparativo da atividade antioxidante e análise de fitocompostos das macroalgas *Padina boryana*, *Eucheuma denticulatum*, *Kappaphycus alvarezii* e *Ulva lactuca***”, foi elaborado por mim, Ilda Fernando Nhampossa, sob supervisão da Prof^a.Doutora Valera Dias, tendo sido redigido de acordo com as regras de elaboração de trabalhos científicos estabelecidos nesta instituição de ensino.

Declaro ainda que, a metodologia tanto quanto a revisão literária ou qualquer outra informação que aqui conste e que não seja da minha autoria, foram devidamente citadas.

E por fim, declaro a singularidade deste trabalho que será apresentado para a obtenção do grau de licenciatura em Biologia Aplicada.

Maputo, Maio de 2025

(Ilda Fernando Nhampossa)

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais, Carlota Cumbane e Fernando Nhampossa, a eles expresso o meu eterno e profundo agradecimento pelo suporte, amor e compreensão em todos os momentos desta jornada!

EPÍGRAFE

Pensa! O pensamento tem poder.

Mas não adianta só pensar.

Você também tem que dizer! Diz!

Porque as palavras têm poder.

Mas não adianta só falar.

Você também tem que fazer! Faz!

Porque você só vai saber se o final vai ser feliz depois que tudo acontecer.

(Gabriel O Pensador)

RESUMO

Nos últimos anos, tem se observado uma extensa procura por produtos de alto valor nutricional e que estejam livres de compostos sintéticos, de forma a melhorar a qualidade de vida e prevenir doenças que possam advir da má alimentação. As macroalgas surgem como uma opção inovadora, sustentável e saudável. O presente estudo tem como objectivo comparar a actividade antioxidante e a presença de compostos bioactivos nos extractos de metanol e acetona das macroalgas *Padina boryana*, *Eucheuma denticulatum*, *Kappaphycus alvarezii* e *Ulva lactuca*. Trata-se de um estudo descritivo experimental comparativo, onde foram coletadas quatro espécies de macroalgas marinhas: *Padina boryana*, *Eucheuma denticulatum*, *Kappaphycus alvarezii* (colhidas na Ilha de Inhaca) e *Ulva lactuca* (colhida na praia da Costa do Sol). As macroalgas foram colocadas em caixas térmicas e transportadas para o Laboratório de Engenharia de Moçambique, para posterior lavagem e secagem na estufa a 50°C, por 24-48 horas e de seguida trituradas. Para a análise de fitocompostos, foram preparados extractos de metanol e acetona a 0,01g/ml de solução para posterior análise de esteróides, taninos, cumarinas e alcalóides. Para a análise da atividade antioxidante, os extratos foram preparados na concentração de 0,05g/ml, seguida da adição do complexo fosfomolibdênio para leituras ao espectrofotómetro UV, a 695 nm. A curva de calibração foi feita usando 300 µl de ácido ascórbico a 0,01g/ml e 3 ml do complexo fosfomolibdênio. Nas análises colorimétricas de fitocompostos, foi verificada a presença de metabólitos nos dois extractos, com principal destaque para os alcalóides, cumarinas e taninos. Para a actividade antioxidante, os dois solventes (metanol e acetona) mostraram-se bons solventes extractores, as maiores concentrações do ácido foram verificadas na macroalga *Kappaphycus alvarezii* (3.54mg/g) no extracto de acetona e na macroalga *Padina boryana* (2.55mg/g) no extracto de metanol. As macroalgas marinhas apresentam um elevado potencial biotecnológico caracterizado pela vasta quantidade de substâncias com grande aplicabilidade em diversas áreas, necessitando apenas de mais estudos e elaboração de metodologias que garantam eficácia na análise de diferentes compostos presentes nas macroalgas.

Palavras-chave: macroalgas, atividade antioxidante, fitocompostos, metanol, acetona.

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS

AAT	Análise da atividade antioxidante
ADN	Ácido Desoxirribonucleico
DPPH	2,2-difenil-1-picril-hidrazil
EPI's	Equipamentos de proteção individual
EROs	Espécies reativas do oxigênio
ERN	Espécies reativas do nitrogênio
FeCl ₃	Cloreto férrico (III)
HCl	Ácido clorídrico
HgCl	Cloreto de Mercúrio
H ₂ O ₂	Peróxido de hidrogénio
LEM	Laboratório de Engenharia de Moçambique
NaOH	Hidróxido de sódio
ONU	Organização das Nações Unidas
TC	Taninos condensados
TH	Taninos hidrolisáveis
BHT	Butilhidroxitolueno
BHA	Butil Hidroxianisol
BHTQ	Terc-butil hidroquinona
SOD	Superóxido dismutase

Lista de unidades e símbolos

°C	Graus Celsius
µl	Microlitro
g	Grama
g/ml	Grama por mililitro
nm	Nanômetro
rpm	Repetições por minuto
UV	Ultravioleta
%	Porcentagem

Índice de figuras

Figura 1. Macroalga <i>Ulva lactuca</i>	25
Figura 2. Macroalga <i>Eucheuma denticulatum</i> .	28
Figura 3. Macroalga <i>Kappaphycus alvarezii</i> .	29
Figura 4. Representação da forma estrutural da base de taninos condensados.	33
Figura 5. Representação da estrutura básica dos ácidos presentes nas duas classes de taninos hidrolisáveis.	33
Figura 6. Forma estrutural base dos florotaninos.	34
Figura 7. Formação de um radical livre.	36
Figura 8. Acção de um antioxidante, doando um eletrão ao radical livre.	38
Figura 9. Representação estrutural dos antioxidantes sintéticos, BHA, BHT e TBHQ.	39
Figura 10. Estrutura molecular do ácido ascórbico.	42
Figura 11. Curva de Calibração do Ácido ascórbico	56
Figura 12. Valores médios da atividade antioxidante dos extratos de acetona em relação ao ácido ascórbico.	60
Figura 13. Comparação da capacidade antioxidante das macroalgas nos extractos de metanol e acetona.	61

Índice de Tabelas

Tabela 1. Valores de referência de antioxidantes permitidos em alimentos	23
Tabela 2. Resultados das análises colorimétricas de fitocompostos detectados nas macroalgas	34
Tabela 3. Ilustração dos fitocompostos detectados nas Macroalgas	35
Tabela 4. Valores das absorbâncias médias e do desvio da atividade antioxidante dos extratos de metanol.	39
Tabela 5. Valores das absorbâncias médias e do desvio da atividade antioxidante nos extratos de acetona.	40

ÍNDICE

AGRADECIMENTOS	I
DECLARAÇÃO DE HONRA	III
DEDICATÓRIA	IV
LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E ACRÓNIMOS	VII
ÍNDICE DE FIGURAS	XI
ÍNDICE DE TABELAS	XIII
1. INTRODUÇÃO	1
1.1 PROBLEMA	3
1.2 JUSTIFICATIVA	4
1.3 OBJECTIVOS	6
1.3.1 Geral	6
1.3.2. Específicos	6
1.4. HIPÓTESES	7
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	8
2.1. Macroalgas marinhas	8
2.2. Classificação das macroalgas	8
2.2.1. <i>Ulva lactuca</i> (Alface do mar)	9
2.2.2. <i>Padina boryana</i>	11
2.2.3. <i>Eucheuma denticulatum</i>	12
2.2.4. <i>Kappaphycus alvarezii</i>	13
2.4. Metabólitos secundários	14
2.4.1. Alcalóides	14
2.4.2. Esteróides	14
2.4.3. Cumarinas	15

2.4.4. Taninos	15
2.4.4.1. Taninos condensados	17
2.4.4.2. Taninos hidrolisáveis	17
2.4.4.3. Florotaninos	18
2.5. Radicais livres e estresse oxidativo	19
2.6. Antioxidantes	21
2.6.1. Diferenças entre os antioxidantes naturais e os sintéticos	22
2.6.2. Antioxidantes sintéticos	22
2.6.3. Antioxidantes naturais	23
2.7. Macroalgas marinhas como fonte de antioxidantes naturais	24
2.8. Ácido ascórbico	24
3. ÁREA DE ESTUDO	26
4. METODOLOGIA	28
4.1. Tipo de estudo	28
4.2. Amostragem	28
4.3. Variáveis em estudo	28
4.4. Materiais e equipamentos	28
4.4.1. Equipamentos	28
4.4.2. Materiais	29
4.4.3. Reagentes	29
4.4.4. Outros consumíveis e EPI's	29
4.4.5. Material biológico	30
4.5. Procedimentos	30
4.5.1. Análise colorimétrica de fitocompostos	30
4.5.2. Ensaio da atividade antioxidante	31

4.5.2.1. Análise da actividade antioxidante pelo Complexo Fosfomolibdênio	31
4.5.2.2. Diluição seriada dos extratos	32
4.6. Curva de calibração do Ácido ascórbico	33
4.7. Fluxograma de actividades laboratoriais	33
4.8. Análise de dados	34
5. RESULTADOS	35
5.1. Análise Colorimétrica de fitocompostos	35
5.2. Análise da atividade antioxidante das macroalgas pelo método do Complexo fosfomolibdênio.	39
5.2.1. Curva de calibração do Ácido ascórbico	39
5.2.2. Atividade antioxidante nos extratos de metanol	39
5.2.3. Atividade antioxidante dos extratos de acetona	41
6. DISCUSSÃO	44
6.1. Análise comparativa de fitocompostos obtidos nos extratos de metanol e acetona das algas marinhas	44
6.2. Análise da atividade antioxidante das macroalgas	47
7. CONCLUSÃO	49
8. LIMITAÇÕES	50
9. RECOMENDAÇÕES	51
10. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	52
11. ANEXOS	66

1. INTRODUÇÃO

O ambiente marinho apresenta uma grande diversidade de organismos vivos, e dentro dos organismos com maior distribuição e diversidade encontram-se as macroalgas (Inácio, 2023).

As macroalgas são organismos talófitos, ou seja, não apresentam na sua estrutura caule, raízes ou folhas (Kumar *et al*, 2021) são autotróficas e fotossintetizantes, possuem um amplo espectro de habitats, desde solos húmidos, lagos, rios e oceanos e a sua sobrevivência nos diferentes habitats deve-se a factores como a luz, temperatura e água, importantes na realização da fotossíntese (André, 2016), podendo ser igualmente encontradas em ambientes de água doce e salobra, desertos, montanhas cobertas de gelo e fontes termais (Inácio, 2023).

As macroalgas marinhas já vêm sendo usadas desde os tempos remotos, em países como Japão (13.000–300 a.C.), a China (2.700 a.C.), Egito (1.550 a.C.) e a Índia (300 a.C.) servindo como medicamento (Chye *et al*, 2018).

As macroalgas sintetizam metabólitos secundários que resultam do estresse ambiental sujeitas no seu habitat, gerado por diversos factores abióticos como a temperatura, salinidade, ciclos de imersão e emersão, a incidência dos raios solares entre outros factores (Irkin; Yayintaş, 2018; Seddek *et al.*, 2019).

A ocorrência de novos promotores do estresse oxidativo tem vindo a aumentar e consequentemente elevou a procura por compostos antioxidantes mais eficientes para fazer face aos agentes agressores, dessa forma, as algas tornaram-se alvos de grande importância se tratando da bioprospecção de novos compostos (André, 2016).

Os antioxidantes são substâncias que atuam inibindo a formação de compostos biológicos e espécies reativas, retardando ou evitando o dano celular causado pelo estresse oxidativo, originado pela exposição massiva a diversos factores ambientais (Chandrasekaran; Idelchik; Melendez, 2017).

Com o elevado crescimento populacional actualmente registado, associado ao surgimento de várias doenças e a insuficiência ou ineficácia de certos medicamentos, as indústrias

farmacêuticas, agrícola, alimentar e cosmética, tem virado a sua atenção a utilização de produtos naturais com a biomassa das algas, que permite obter substâncias de grande funcionalidade e menos nocivas aos consumidores (Barsanti e Gualtieri, 2006; Pereira, 2007) atuando como barreiras antioxidantes, antimicrobiana, antiparasitária, anti-inflamatória, antiviral, anticancerígena, antifúngica, antitumorais, antiproliferativa, antialérgica, herbicida e insecticida (Dias *et al.*, 2020a, Cavalcante *et al.*, 2024).

O uso tradicional das macroalgas, têm despertado na comunidade científica um grande interesse pois são vistas como uma fonte renovável de compostos bioativos em diversas áreas de aplicação (Afonso *et al.*, 2021; Cavaco *et al.*, 2021; José & Xavier, 2020).

Moçambique apresenta uma linha de costa extensa, com cerca de 2700 km e uma elevada variedade de ecossistemas sensíveis. No entanto, Moçambique ainda apresenta grandes lacunas de investigação científica quanto à composição fitoquímica, nutricional e das atividades biológicas das algas presentes nos vários ecossistemas ao longo da costa (Carvalho e Bandeira, 1998, Dias *et al.*, 2020a, b).

Sendo que as poucas investigações até o momento realizadas sugerem estudos mais aprofundados das diversas espécies de algas, com base em diferentes métodos de detecção de fitocompostos e da atividade antioxidante, assim como análises comparativas com diferentes solventes extratores.

Nesse contexto, o presente estudo tem como foco aferir a actividade antioxidante de quatro espécies de macroalgas marinhas e detecção de compostos fitoquímicos.

1.1 Problema

Nos últimos anos, a bioprospecção de novos compostos naturais levou a estudos mais aprofundados sobre a vida marinha, possibilitando descobertas de vários compostos bioativos que têm estimulado a biotecnologia. No entanto, devido ao pequeno número de estudos relacionados à vida marinha, ocasionado pela extensa fragilidade em termos de conhecimento e dificuldade na colheita de algumas amostras, apenas 10% das 220.000 substâncias encontradas e registradas são de origem marinha (André, 2016).

De acordo com alguns estudos relacionados aos efeitos dos radicais livres, têm sido perspectivado o uso dos antioxidantes naturais em detrimento dos sintéticos, como o Butil hidroxitolueno (BHT) e o Butil hidroxianisol (BHA), devido aos diversos males que podem causar a saúde humana (Jacobsen *et al*, 2019), e de entre os danos à saúde destacam-se: o efeito carcinogênico, o envelhecimento precoce, as doenças neuro-degenerativas como o Mal de Parkinson e Alzheimer, alterações enzimáticas, e outras condições que afetam negativamente a qualidade de vida (Vasconcelosa, 2014; kumar *et al.*, 2021).

Moçambique possui recursos naturais com potencial aplicação e que até ao momento não foram estudadas deixando lacunas sobre a actividade antioxidante de macroalgas e dos compostos fitoquímicos, colaborando para o surgimento de obstáculos na aplicação de métodos que façam das macroalgas uma fonte natural de antioxidantes, tanto para a indústria alimentar assim como para a cosmética e farmacêutica (Lautitano *et al*, 2016).

As macroalgas têm sido amplamente investigadas por se mostrarem como as melhores candidatas em descobertas biotecnológicas, pela sua composição nutricional e aplicabilidade, são fontes de minerais, polissacarídeos, proteína com todos aminoácidos essenciais, vitamina E e as vitaminas do complexo B (Carpena *et al.*, 2022) possuem ainda fibras e baixa carga calórica (kumar *et al*, 2021).

Assim sendo, no âmbito da procura por produtos que se encaixam as novas tendências alimentares sustentáveis e a necessidade de se desenvolver um estudo mais aprofundado sobre o potencial antioxidante das macroalgas marinhas, surge a seguinte questão: **será que os extratos de metanol e acetona das macroalgas *Padina boryana*, *Kappaphycus alvarezii*, *Eucheuma Denticulatum* e *Ulva lactuca* apresentam diferenças significativas na atividade antioxidante e na presença de compostos bioativos?**

1.2 Justificativa

Com o atual surgimento de novas tendências alimentares baseadas numa alimentação mais inovadora, saudável, sustentável e virada ao vegetarianismo (Mintel,2021), as macroalgas surgem como uma opção ideal para substituir os alimentos industrializados promovendo a sustentabilidade frente a exploração incessante das plantas terrestres e dos produtos de origem animal (Mouritsen e Styrbaek, 2020).

As macroalgas constituem uma das fontes mais ricas em antioxidantes e a sua utilização está voltada não só ao seu potencial redutor, mas por se apresentar também como um alimento natural e nutracêutico, capaz de gerar efeitos metabólicos a saúde (Sellimi *et al.*, 2018). Segundo os objetivos de desenvolvimento sustentável da ONU Agenda 2030, as macroalgas se enquadram com perfeição às metas traçadas, tendo sido criado o lema: "*Seaweeds Revolution: A Manifesto For A Sustainable Future*" (Cai *et al.*,2021).

Comparativamente aos alimentos de origem animal e vegetal, as macroalgas apresentam uma composição nutricional muito rica, com elevados níveis de proteínas, ácidos gordos polinsaturados, fibras alimentares, minerais como o iodo, compostos bioactivos como pigmentos, polissacarídeos sulfatados, acetogeninas, antioxidantes, vitaminas, tal como a B12 ausente em vegetais e plantas terrestres (Shannon & Abu-Ghannam, 2019).

Dessa forma, torna-se de grande importância pois está virado a realização de análises da composição fitoquímica das macroalgas marinhas e das suas possíveis atividades, contribuindo para um conhecimento mais abrangente sobre a sua importância e aplicabilidade, como alimento (sendo que em Moçambique, o seu uso como alimento ainda não tem grande aplicação), mas também como uma matéria-prima valiosa para diversas áreas de produção.

O presente estudo, tem um papel importante na deteção, identificação de compostos bioativos presentes em algumas macroalgas, trazendo uma comparação exaustiva dos diferentes solventes usados para extração e análise da atividade antioxidante, reunindo mais evidências práticas e científicas do potencial biotecnológico das macroalgas da costa moçambicana, revelando assim, possíveis aplicações em diversas áreas de produção e melhorando a saúde e a vida dos consumidores.

1.3 OBJECTIVOS

1.3.1 Geral

- Avaliar a atividade antioxidante e a presença de compostos bioativos em extratos de metanol e acetona das macroalgas *Padina boryana*, *Kappaphycus alvarezii*, *Eucheuma denticulatum* e *Ulva lactuca*.

1.3.2. Específicos

- Identificar os compostos bioativos presentes nos extratos de acetona e metanol a partir da análise colorimétrica.
- Determinar o potencial antioxidante a partir da concentração do ácido ascórbico, pelo método de Redução do Complexo Fosfomolibdênio.
- Comparar o potencial antioxidante das algas nos diferentes extratos, metanol e acetona.

1.4. HIPÓTESES

1.4.1. Hipótese nula

- Não há diferenças na actividade antioxidante e na presença de fitocompostos nos extratos de metanol e acetona das macroalgas *Padina boryana*, *Kappaphycus alvazeri*, *Eucheuma denticulatum* e *Ulva lactuca*.

1.4.2. Hipótese alternativa

- Há diferenças na actividade antioxidante e na presença de fitocompostos, nos extratos de metanol e acetona das macroalgas *Padina boryana*, *Kappaphycus alvarezii*, *Eucheuma denticulatum* e *Ulva lactuca*.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1. Macroalgas marinhas

As macroalgas ocorrem em todo o mundo e representam a fonte primária da alimentação de vários organismos aquáticos, são vegetais aquáticos, sem vascularização, apresentando uma estrutura em forma de talo, são autotróficas e vivem aderidas a um substrato (Vasconcelos e Gonçalves, 2013; Marmitt *et al*, 2015).

As macroalgas marinhas são organismos que produzem metabólitos secundários de alto valor, sendo por isso usados como alimento, na produção de biocombustível, na agricultura como bioestimulante (Preez *et al*, 2021). Para além disso, as algas marinhas já eram usadas nos tempos antigos como medicamento em países como a China, Índia, Japão e Egito (Kumar *et al*, 2021).

A produção mundial das macroalgas conta com dois métodos: aberto, que consiste em um cultivo realizado em sistema marinho natural e o sistema fechado, a título de exemplo, tem-se a aquacultura, que é um sistema de cultivo controlado, realizado em fotobiorreatores (Souza, 2011; Nayar e Bott, 2014; Ferdouse *et al*, 2018) e segundo as estatísticas da FAO (2014), a produção por meio da aquacultura tem sido superior comparativamente ao cultivo natural, tendo como maiores produtores a China e o Japão.

Para o cultivo das macroalgas, tanto no sistema fechado quanto no sistema aberto, existe alguns factores cruciais que determinam a qualidade da biomassa e o nível de crescimento das macroalgas, são eles: a área de cultivo, a água (pH, temperatura, salinidade), o ambiente (nível de contaminantes, competição por nutrientes), tipo de reprodução e propagação escolhida (De Oliveira, 2022).

2.2. Classificação das macroalgas

As macroalgas são classificadas de acordo com o pigmento fotossintético que produzem, agrupando-se dessa forma em três grupos taxonômicos (Cabral *et al*, 2011), abaixo citados alguns géneros mais importantes.

A. Rhodophytas (algas vermelhas): *Porphyra*, *Chondrus*, *Rhodymenia*, *Hypnea*, *Glacilaria*, *Laurencia* e *Iridaea*

B. Chlorophytas (algas verdes): Ulva, Enteromorpha, Monostroma e Caulerpa.

C. Phaeophytas (algas castanhas): Undularia, Sargassum, Eckonia, Durvillaea, Turbinaria.

Classe Chlorophyta

As algas do Filo Chlorophyta apresentam na sua composição clorofilas a e b, xantofilas e luteínas em maior abundância, carotenoides, actualmente os carotenóides e a clorofila "a" são conhecidos pela sua atividade antioxidante in vitro, potenciando a sua aplicação nas indústrias farmacêutica, cosmética e alimentar (Raymundo *et al*, 2004).

2.2.1. Ulva lactuca (Alface do mar)

Ulva lactuca é uma espécie de alga verde, cosmopolita e oportunista encontrada em rochas ou flutuando no mar. Esta alga apresenta talos com alta resistência às bruscas mudanças ambientais e com uma taxa alta de crescimento.

Classificação taxonomica

Reino: Plantae

Subreino: Viridiplantae

Filo: Chlorophyta

Subfilo: Chlorophytina

Classe: Ulvales

Família: Ulvaceae

Gênero: Ulva

Espécie: *Ulva lactuca*



Figura 1. Macroalga *Ulva lactuca*.Fonte: Saad *et al*, 2021.

Também conhecida como Alface-do-mar, a *Ulva lactuca* pode apresentar formas diferentes de crescimento de acordo com o local onde se encontra, quando está aderida a um substrato

a alga cresce de forma longitudinal, e quando se encontra a flutuar, ela cresce com uma estrutura radial (De Alencar *et al*, 2010).

Ulva lactuca, é constituída maioritariamente por heteropolissacarídeos sulfatados encontrados na parede celular, designados *Ulvans* constituídos por ácido glucurônico e filamentos de sulfato que estabelecem uma óptima afinidade química com glicosaminoglicanas (ácido hialurônico e sulfato de condroitina), responsável pelas actividades antiviral, antioxidante e anticoagulante (Chiellini e Morelli, 2011; Tziveleka *et al*, 2018).

Pelo facto das algas do género *Ulva* apresentarem uma rápida proliferação, principalmente em ambientes eutrofizados, ocasionam alguns problemas no ambiente marinho, com principal destaque para a morte de alguns animais por hipóxia. E como solução, tem vindo a se realizar estudos visando o aproveitamento da biomassa destas algas para gerar produtos tais como, cosméticos, nutrientes e medicamentos (Crescêncio *et al*, 2019).

Classe Phaeophyta

As algas do filo Phaeophyta encontram-se maioritariamente em ambientes marinhos, podendo acumular grandes quantidades de biomassa em mares tropicais, com cerca de 1800 espécies pertencentes a esta classe, famílias como Ectocarpaceae, Dictyotaceae, Sargassaceae, Fucaceae e Laminariaceae têm sido amplamente estudadas pela sua composição química, actividade biológica e produtos naturais (Verma *et al*, 2015).

Estas macroalgas são de cor castanha, devido a presença de pigmentos que elas possuem como a xantofila e fucoxantina, sendo que algumas algas desta classe apresentam grandes dimensões (Kumar *et al*, 2021).

As macroalgas pardas apresentam uma grande aplicação na indústria alimentar e também são usadas como fertilizantes, representando uma importante fonte de ácidos algínicos ou alginatos, cujas propriedades coloidais são aproveitadas na farmacologia, como pomadas e suspensões (Cabral *et al*, 2011).

2.2.2. *Padina boryana*

A macroalga *Padina boryana* pertence a grupo de macroalgas com características morfológicas bem diferenciadas, apresentando talos prostrados e, fixados por um

suporte rizoidal e com um comprimento total em torno de 20 cm (Dos Santos *et al*, 2023).

- **Domínio:** Eukaryota
- **Reino:** Plantae
- **Filo:** Phaeophyta
- **Classe:** Phaeophyceae
- **Ordem:** Dictyotales
- **Família:** Dictyotaceae
- **Gênero:** Padina



Figura 2: Macroalga *Padina boryana*.

Fonte: Dos Santos, *et al* 2023.

Esta macroalga é conhecida por produzir alginatos, com uma vasta aplicação como emulsificantes, gelificantes, estabilizantes, são usados também na indústria têxtil, cosmética e farmacêutica (Marmitt *et al*, 2015)

Dos metabolitos secundários da macroalga *Padina boryana* com potencial antioxidante, destacam-se os florotaninos, pois eles doam um hidrogênio ao radical livre quebrando as reações de oxidação em cadeia e inativando a sua funcionalidade (Da Silva, 2020).

Classe Rodophyta

As macroalgas da classe Rodophyta apresentam coloração avermelhada por conta dos pigmentos fotossintéticos ficocianinas, ficoeritrina, clorofila a e xantofila (Kumar *et al*, 2021). As algas vermelhas são eficientes na produção de polissacarídeos sulfatados, como as carragenas e o ágar que chegam a representar mais de 70% do seu peso e têm razoável valor comercial (Cabral *et al*, 2011).

2.2.3. *Eucheuma denticulatum*

A macroalga *Eucheuma denticulatum* ou simplesmente “*spinosum*” é uma macroalga vermelha, comestível e conhecida pela sua aplicabilidade na produção de diversos produtos alimentícios funcionais e benéficos a saúde (Balasubramaniam *et al.*, 2015).

- **Domínio:** Eukaryota
- **Reino:** Plantae
- **Filo:** Rhodophyta
- **Classe:** Rhodophyceae
- **Ordem:** Gigartinales
- **Família:** Solieriaceae
- **Gênero:** Eucheuma



Figura 3: Macroalga *Eucheuma denticulatum*. Fonte: Autor.

Apresenta talos cartilaginosos, cilíndricos, compridos e ramificados, sendo que algumas espécies podem apresentarem-se prostrados ou erectos. Esta macroalga constitui uma das principais espécies carragenófitas, respondendo por mais de 80% da produção mundial de um tipo específico de carragena, a iota carragenina (Azanza e Ask, 2017).

2.2.4. *Kappaphycus alvarezii*

Kappaphycus alvarezii ou *Cottonii* como é comercialmente conhecida, é uma espécie de alga vermelha, com as seguintes denominações taxonómicas:

- **Domínio:** Eukaryota
- **Reino:** Plantae
- **Filo:** Rhodophyta
- **Classe:** Rhodophyceae
- **Ordem:** Gigartinales
- **Família:** Solieriaceae
- **Gênero:** Kappaphycus



Figura 4. Macroalga *Kappaphycus alvarezii*. Fonte: Azanza, 2023.

Esta espécie de macroalga é originária do norte e sul da Ásia, sendo que o seu cultivo foi introduzido em outras regiões tropicais e subtropicais, como a Índia, e em países banhados pelo oceano pacífico e Índico (Azanza, 2023). O seu cultivo tem como objectivo principal, a obtenção de carragena, sendo a espécie mais cultivada em países como Indonésia e Filipinas (Neish *et al*, 2017) e segundo as estatísticas da FAO (2021), no ano 2019 esta espécie chegou a atingir 1.6 milhões de toneladas de biomassa fresca em todo o mundo.

A macroalga *Kappaphycus alvarezii* tem sido cultivada em larga escala para suprir as indústrias alimentares de carragena. Várias actividades biológicas têm sido descritas para a carragena, tais como antitumoral, antiviral, anticoagulante e imunomodulatória (Cabral *et al*, 2011).

A carragena é um polissacarídeo sulfatado linear, amplamente usado na indústria alimentar, como espessante, geleificante e proteína-agente de suspensão, e pela indústria farmacêutica como excipiente em comprimidos.

Dependendo da intensidade de luz a que estiverem expostas no ambiente, elas podem apresentar diferentes cores, variando entre castanho, verde e vermelho, sendo que o comprimento dos seus talos é de 28-48 cm (Azanza, 2023) e a sua reprodução feita por fragmentação ou cortes na alga (Azanza e Ask, 2017).

2.4. Metabólitos secundários

As macroalgas são organismos que apresentam um elevado número de metabólitos secundários tais como terpenos, compostos aromáticos, acetogeninas, derivados de aminoácidos e principalmente os polifenóis (halogenados e sulfatados), sendo esses os compostos responsáveis por conferir às macroalgas várias actividades já descritas na literatura, com maior destaque a actividade antioxidante e antimicrobiana (Cabral *et al*, 2011).

2.4.1. Alcalóides

São compostos de origem vegetal que apresentam na sua estrutura molecular, um átomo de nitrogénio, estando presentes em substâncias como a cafeína, morfina, nicotina e outros. Os alcalóides regulam, estimulam e induzem várias funções, interagindo principalmente com

os iões de sódio, acetilcolinesterase, recetoresopioides e muscarínicos, e outros (Ferreira *et al*, 2021).

A detecção de alcalóides pode ser feita com base em métodos colorimétricos usando reactivos e detectando a mudança de coloração do mesmo.

- a.** Reactivo de Mayer (Precipitado branco ou turvação)
- b.** Reactivo de Dragendorff (laranja a vermelho)
- c.** Reactivo de Wagner (laranja)

2.4.2. Esteróides

Esteróides são compostos orgânicos com uma estrutura tetracíclica, ou seja, constituída por quatro anéis, onde três deles são constituídos por seis átomos de carbono, e o outro anel é constituído por cinco átomos de carbono, totalizando 17 átomos.

Os esteróides estão amplamente distribuídos na natureza, podendo ser encontrados em plantas, animais, fungos ou obtidos por via sintética. Os esteróides são usados para agir como anti-inflamatórios, imunossuppressores, anabolizantes e contraceptivos, além de servir para o tratamento de leishmaniose, câncer da próstata e da mama (De Queiroz, 2022).

Dos vários esteróides que existem, os mais conhecidos são os hormônios sexuais, progestágenos e estrógenos, no primeiro grupo destaca-se a progesterona, sendo o único de origem natural, proveniente dos ovários e da placenta no decorrer de uma gestação.

A progesterona permite a síntese de outros esteróides, a título de exemplo, os corticosteróides hidrocortisona, ou simplesmente, cortisol, corticosterona, aldosterona. Estes são usados na regulação e ou controle do ciclo menstrual e como agentes contraceptivos (Dewick, 2009; Nelson e Cox, 2014).

No grupo dos esteróides estrógenos naturais, encontram-se o estradiol, estrona e estriol.

2.4.3. Cumarinas

As cumarinas são metabólitos secundários das plantas, pertencentes a uma família de substâncias chamadas benzopiranos. Nas plantas, as cumarinas podem ser encontradas no caule, folhas, tegumento e raízes, são igualmente biossintetizadas por fungos e leveduras,

gerando as aflatoxinas, a sua síntese é feita por meio da via do Ácido chiquímico, proveniente do metabolismo da fenilalanina (Vieira, 2010, Da Silva, 2020).

A principal função das cumarinas nas macroalgas é de sinalização e defesa contra o estresse ambiental, exibindo também actividades antimicrobianas, anti-alimentar e de bloqueio da germinação. Pertencem à família das cumarinas: as furanocumarinas lineares, furanocumarinas angulares, piranocumarinas e cumarinas substituídas (Vieira, 2010).

As cumarinas desempenham várias funções quando ingeridas ou administradas em seres humanos, sendo os efeitos mais comuns, antineoplásico, hemostático, narcótico, sedativo, anticoagulante, analgésico, espasmolítico, vasodilatador, anticancerígeno e regulador hormonal (Ferreira *et al*, 2021).

2.4.4. Taninos

Os taninos são compostos fenólicos com origem no metabolismo secundário dos vegetais, com a capacidade de inibição enzimática, formação de complexos com carboidratos e proteínas, podendo interferir na velocidade de absorção da glicose pelo intestino (De Souza, 2015).

Os taninos são compostos químicos naturais ou metabólitos secundários de alto peso molecular, podendo alcançar o peso de 30.000 Da (Falcão e Araújo, 2014). Há muitos anos que os taninos têm sido de grande utilidade, tendo sido introduzido para tratar a pele de animais em couro tratado, atualmente tem sido empregue nas indústrias de produção de agentes flocculantes para o tratamento de água, bebidas, plásticos, corrosivos (Beltran, 2019), são usados também para fins terapêuticos e na agricultura ecológica (Mamet *et al*, 2018).

Os taninos têm a capacidade de interagir e precipitar proteínas, poder antioxidante, capturando radicais superóxidos, e sua capacidade bacteriostática no crescimento de microrganismos (Vignault, 2018).

Nos alimentos, os taninos comumente encontrados são: procianidinas, prodelfinidinas, e propelargonidinas, com subunidades de catequina, epicatequina, galocatequina, epigalocatequina e epiafelazina (Kennedy, 2003).

A identificação de taninos pode ser feita de duas formas diferentes, quantitativa e qualitativa, existindo variadas metodologias para cada abordagem. O estudo em questão está voltado para análise qualitativa de taninos através de teste de verificação:

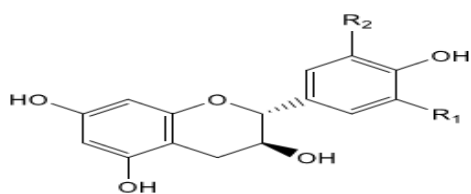
- **Teste de cloreto férrico:** identificação de taninos condensados, taninos hidrolisáveis e de flavonoides.
- **Teste de gelatina:** identificação de taninos totais, quando o extrato vegetal é precipitado.
- **Teste de acetato de chumbo:** identificação de taninos hidrolisáveis apenas.

Os dois últimos testes de identificação a quando da sua aplicação, deixaram grandes lacunas, primeiro pela dificuldade de identificação exacta do tipo de tanino no teste de gelatina e por fim as questões ambientais por conta do uso do chumbo, no teste de acetato de chumbo.

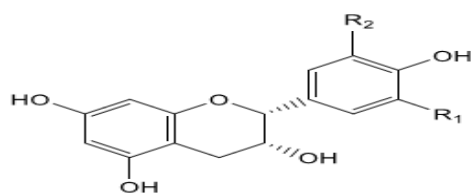
Os taninos são divididos de acordo com a sua estrutura química, em taninos condensados (TC), taninos hidrolisáveis (TH), florotaninos e taninos complexos. Os taninos condensados são polímeros de Flavan-3-ols ou Flavan-3,4-dióis ligados por pontes de Carbono, com estrutura complexa e elevada resistência à hidrólise (De Souza, 2015; De Carvalho, 2021).

2.4.4.1. Taninos condensados

Taninos condensados ou proantocianidinas são polímeros de Flavan-3-ols ou Flavan-3,4-dióis ligados por pontes de Carbono, com estrutura complexa e elevada resistência a hidrólise (De Souza, 2015)



(+)-catequina	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$
(+)-afzelequina	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}$
(-)-galocatequina	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}$



(-)-epicatequina	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{H}$
(-)-epiafzelequina	$R_1 = \text{H}, R_2 = \text{H}$
(+)-epigalocatequina	$R_1 = \text{OH}, R_2 = \text{OH}$

Figura 5. Representação da forma estrutural da base de taninos condensados. **Fonte:** De Carvalho, 2021.

2.4.4.2. Taninos hidrolisáveis

Os taninos hidrolisáveis são compostos formados por várias cadeias de ésteres do grupo – OH (Figura 2) e por ligações éster formando unidades de ácido polifenólico (Grasel *et al.*, 2016; Dehghan e Khoshkam, 2012) com um carboidrato central, como a sacarose, frutose, xilose e D-glucose com maior prevalência (ky *et al*, 2016).

O termo hidrolisável, surge da facilidade dos taninos hidrolisarem e consequentemente libertarem os ácidos correspondentes que irão determinar a classe dos taninos, galotaninos se o monômero for o ácido gálico e elagitaninos na presença do ácido gálico e hexahidroxidifênico (Serrano *et al*, 2009; ky *et al*, 2016).

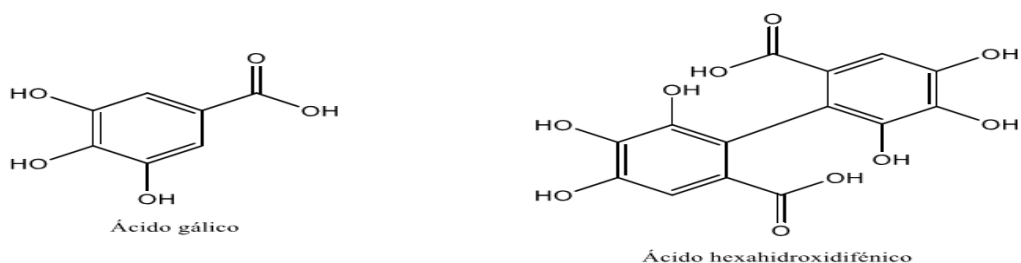


Figura 6. Representação da estrutura básica dos ácidos presentes nas duas classes de taninos hidrolisáveis. **Fonte.** De Carvalho, 2019.

Como metabólitos secundários de plantas, os taninos hidrolisáveis são de grande ocorrência na madeira, cascas, folhas e galhos de árvores (De Carvalho, 2021) e a sua quantificação é feita recorrendo a métodos colorimétricos, baseados no uso do iodeto de potássio (Makkar, 2003).

2.4.4.3. Florotaninos

Recentemente, tem sido estudada a presença de taninos em macroalgas castanhas (Divisão Phaeophyceae), denominados florotaninos. Os florotaninos são compostos polifenólicos com igual propriedade e aplicação dos taninos hidrolisáveis e condensados, embora apresentem um peso molecular baixo (640 KDa), comparando com os taninos vegetais (Beltran, 2019).

Os florotaninos são polímeros de unidade 1,3,5-trihidroxibenzeno, designado floroglucinol (figura 3) (Fraga-Corral *et al*, 2020) encontrados apenas em algas marinhas castanhas (Shibata *et al*, 2004; Serrano *et al*, 2009).

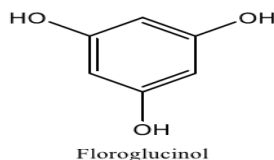


Figura 7. Forma estrutural base dos florotaninos. **Fonte:** Fraga-Corral *et al*, 2020.

De acordo com a estrutura das suas ligações e o número de grupos hidroxilo que apresenta, os florotaninos podem ser classificados em classes diferentes, nomeadamente, fucóis, floroetóis e os fucofloroetóis, fualois, ecóis e carmalois.

Embora os florotaninos sejam específicos das algas castanhas, os seus níveis podem variar entre os grupos taxonômicos devido as variadas alterações a que as algas estão propensas no seu habitat, como a intensidade luminosa, a salinidade, a profundidade da água, os nutrientes, a sazonalidade ou por outros fatores inerentes a alga, como o tamanho, tipo de tecido ou a idade (Rodrigues, 2015).

Como propriedades químicas já descritas em várias literaturas, destacam-se a actividade antioxidante, anti-inflamatória, anti-proliferativa, anticancerígena e proteção contra a radiação UV (Fraga-Corral *et al.*, 2020).

2.5. Radicais livres e estresse oxidativo

A ciência dos radicais livres nos sistemas biológicos foi descoberta há menos de 70 anos, onde o cientista Denham Harman em 1956, elaborou a hipótese de que os radicais livres de oxigênio são formados como subprodutos de reações enzimáticas *in vivo*, descrevendo-os como a "caixa de pandora" responsável por causar vários males à saúde, no entanto, em 1969 McCord e Fridovich descobriram a enzima Superóxido Dismutase (SOD), evidenciando a importância dos radicais livres na biologia, antes tidos como agentes reactivos patogênicos (Vizzato, 2017).

Os radicais livres são agentes químicos que possuem elétrons livres não pareados na sua camada orbital externa, sendo por isso considerados altamente energéticos e instáveis (Lovison, 2007, Vizzato, 2017).

As actividades metabólicas das células ocasionam a realização constante de processos de oxirredução, que previnem a formação de possíveis danos celulares ou estresse oxidativo que levaria a um estado pró-oxidante, em que a concentração de moléculas oxidantes supera a concentração de moléculas antioxidantes (Mei, 2019).

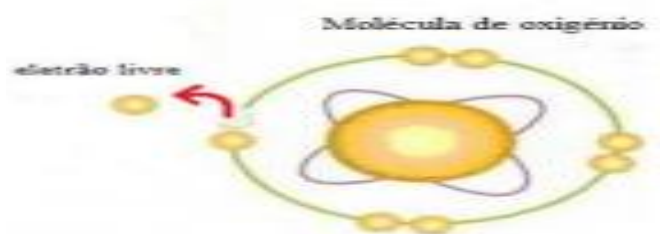


Figura 8. Formação de um radical livre. **Fonte:** Da Silva, 2020.

O estresse oxidativo é uma condição causada pelo desequilíbrio entre as espécies reativas e os elementos que permitem a eliminação das espécies reativas, os antioxidantes, gerados pela produção excessiva de agentes promotores da oxidação ou pelo decréscimo da velocidade de remoção destes pelo sistema de defesa antioxidante (Vizzato, 2017).

Na instalação do estresse oxidativo, destacam-se as Espécies Reativas do Oxigênio (EROs), geradas na mitocôndria durante a respiração celular e redução do O_2 , estes tornam-se importantes porque a maior parte dos organismos vivos, usam o oxigênio como receptor de electrões na cadeia respiratória (Burton e Jauniaux, 2018).

Estima-se que 2-3% do oxigênio absorvido pelos organismos aeróbicos é convertido em espécies reactivas do oxigênio, no entanto, existem também as espécies reactivas do nitrogênio (ERN), formados a partir do nitrogênio (Da Câmara, 2010).

Para além da produção das espécies reactivas a partir das actividades do metabolismo celular, as EROs podem ser produzidas outras de forma exógena, como por exemplo, em isquemias temporárias, contando com a ação da enzima Xantina oxidase que faz a transferência de elétrons para o O_2 , formando o H_2O_2 ou O_2 , para além da prática da

actividade, processos inflamatórios e a danificação dos peroxissomos. No entanto, a produção dos radicais livres não está ligada apenas ao metabolismo celular, as condições do meio em que o organismo se encontra também é um ponto a considerar, a radiação ionizante e a poluição promovem a formação de EROs (Silva, 2021).

Depois de serem formados, os radicais livres tornam-se capazes de reagir com diferentes constituintes celulares como ADN, carboidratos, proteínas e lípidos da membrana celular. Quando agem com o ADN, os radicais livres modificam as bases púricas e pirimídicas, gerando mutações e inactivando genes importantes caso não haja reparo, reagindo com proteínas, os radicais livres alteram a conformação e a função de grupos sulfidrilas (-SH) e pontes dissulfeto (S-S) através da sua oxidação, e por fim podem agir com os lípidos oxidando os ácidos graxos polinsaturados causando a peroxidação dos lípidos ou lipoperoxidação (Da Câmara, 2010).

Embora os radicais livres tenham um papel importante no metabolismo celular, a sua interação com as biomoléculas pode causar o surgimento ou agravamento de doenças crónicas como doenças cardiovasculares, envelhecimento precoce, câncer, doenças neurodegenerativa (Pisoschi e Pop, 2015) esterosclerose, défice de atenção, deficiências bioquímicas e alzheimer (Bedlovicová *et al*, 2020).

2.6. Antioxidantes

Os antioxidantes são substâncias capazes de atrasar ou inibir a taxa de oxidação, mesmo quando presentes em baixas concentrações, oxidação esta causada pela produção contínua de radicais livres durante a realização das actividades metabólicas que levam ao desenvolvimento de mecanismos de defesa antioxidante, com o objectivo de limitar o nível dos radicais no interior das células e impedir a indução a danos celulares (Vizzatto, 2017).

Quimicamente, os antioxidantes são substâncias capazes de doar hidrogênio aos radicais livres, retardando a oxidação (Simonetti *et al.*, 2019), e quando se trata de alimentos, os antioxidantes preservam as características sensoriais como a cor, sabor, odor e aparência, qualidades essas exigidas pelos consumidores (Pujol *et al.*, 2023).

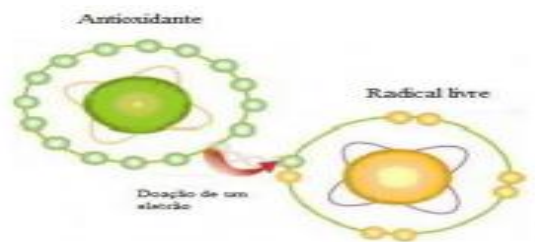


Figura 9. Ação de um antioxidante, doando um elétron ao radical livre. **Fonte:** Da Silva, 2020.

São vários os critérios de classificação dos antioxidantes, mas no geral há características imprescindíveis que ditam a eficiência de um antioxidante, são eles: a presença de doadores de elétrons substitutos ou de hidrogênio ao radical, em função do seu poder redutor, a capacidade de deslocar o radical formado em sua estrutura, a capacidade de quelar metais de transição acoplados na oxidação e o acesso ao local de ação, dependendo da sua característica, hidrofílica ou lipofílica e do seu coeficiente de partição (Sucupira, 2012).

2.6.1. Diferenças entre os antioxidantes naturais e os sintéticos

Existem vários critérios de classificação dos antioxidantes, uma dessas classificações baseadas na sua origem, separa os antioxidantes em naturais e sintéticos, apresentando diferenças significativas no seu mecanismo de atuação, eficácia e estabilidade antioxidante.

Atualmente são amplamente difundidas as diferenças entre o natural e o sintético, visando a promoção de uma vida mais saudável, sustentável e longe de substâncias químicas com potencial toxicológico e ou cancerígeno (Jacobsen, 2019).

2.6.2. Antioxidantes sintéticos

Na indústria alimentar, os antioxidantes sintéticos destacando o EDTA, BHA e BHT e butil hidroquinona terciária (TBHQ), são altamente usados na indústria alimentar pela sua habilidade de retardar a oxidação lipídica e seu baixo custo (Choe *et al.*, 2017), associado ao facto de conservarem a cor, o sabor e a aparência do próprio alimento, atributos estes que irão ditar o procura e aceitação do produto no mercado (Rahman *et al.*, 2021).

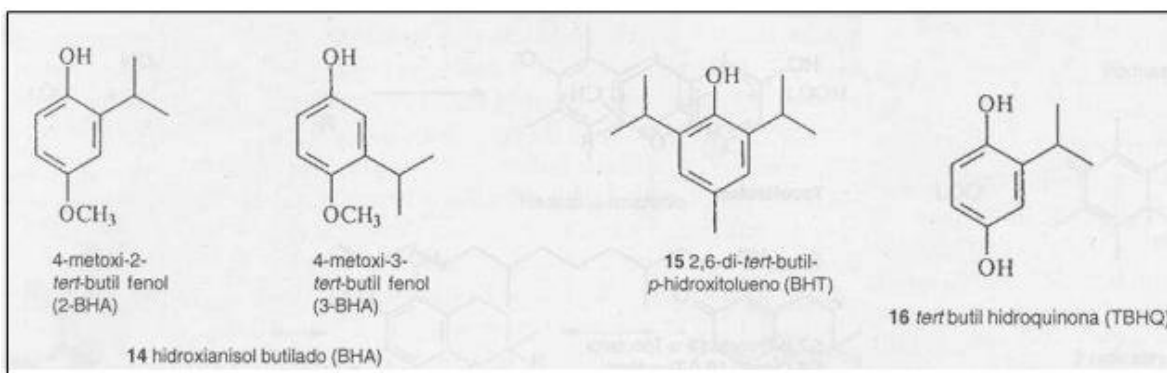


Figura 10. Representação estrutural dos antioxidantes sintéticos, BHA, BHT e TBHQ.
Fonte: Pereira, 2010.

Embora a sua aplicação seja ampla, atualmente são consideradas prejudiciais à saúde, pois são correlacionadas ao surgimento de várias doenças cancerígenas (Liang *et al.*, 2021). Outras desvantagens importantes a considerar nos antioxidantes sintéticos são as restrições na aplicação em determinados sistemas biológicos, apresentam uma certa selectividade na sua eficiência (Jacobsen, 2019).

Os antioxidantes sintéticos têm menos custos de produção comparativamente aos naturais, a sua utilização é ampla, embora apresentem baixa solubilidade em água e nos últimos anos a busca e a aplicação esteja em declínio (Pereira, 2010).

2.6.3. Antioxidantes naturais

Sob ponto de vista alimentar, um antioxidante ideal, deve ser seguro, mantendo todas as características organolépticas do alimento, ser funcional mesmo em pequenas quantidades, estável a altas temperaturas, fácil de ser incorporado, obtenção simples e de baixo custo (Pinteus, 2011) e até o momento os antioxidantes sintéticos não alcançaram o nível ideal para ser considerado seguro.

Dessa forma, inicia a procura por produtos mais seguros e sustentáveis, os antioxidantes naturais obtidos a partir de ervas, frutas, cereais, hortaliças, especiarias (Alves *et al.*, 2024) e algas marinhas destacando-se como uma das fontes mais ricas em antioxidantes naturais, aplicáveis na indústria alimentar assim como na indústria farmacêutica (Bernardi, 2018).

Os antioxidantes são definidos como substâncias presentes em tecidos animais ou vegetais que se apresentam ou podem ser extraídos durante o processamento de alimentos, correspondem na sua maioria, os ácidos fenólicos, flavonoides e tocoferóis.

Comparativamente aos antioxidantes sintéticos, os antioxidantes naturais têm uma grande variedade de compostos antioxidantes, são consideradas como substâncias inócuas, elevada solubilidade em diferentes substâncias, incremento do seu uso e aplicações, como limitações a destacar são as restrições no seu uso em determinados alimentos, para além do seu elevado custo de produção (Pereira, 2010).

Tabela 1. Valores de referência de antioxidantes permitidos em alimentos

Antioxidante	VDR (mg/kg peso corporal)
BHA	0-0,5
BHT	0-0,125
TBHQ	0-0,2
Tocoferóis	0,15-2,0
Ácido cítrico	Não limitado
Lecitina	Não limitado
Ácido ascórbico	Não limitado

Fonte: Pereira, 2010.

2.7. Macroalgas marinhas como fonte de antioxidantes naturais

No contexto actual, a actividade antioxidante tem sido de grande importância, uma vez que todos os sistemas biológicos têm o oxigênio como elemento principal para a realização de diversas reacções biológicas em que derivados de oxigênio e radicais livres são produzidos.

As macroalgas marinhas, como organismos cujo habitat está propenso a alterações de factores ambientais, como variações da temperatura, salinidade, radiação solar directa, dessecação em momentos de maré baixa e outras, que culminam com a produção de radicais livres e espécies reactivas de oxigênio (Bernardi, 2018).

Face a estas circunstâncias, as macroalgas produzem metabólitos para suportar as bruscas alterações do ambiente, enzimas e antioxidantes não enzimáticos como ascorbato, glutatona, tocoferol, carotenoides, flavonoides, fenóis, saponinas, esteróides e terpenóides

(Dias *et al*, 2020a) que actuam no controle dos níveis de EROs nas células, promovendo o reparo celular e remediando os danos causados pelo estresse oxidativo (Kumar *et al*, 2014).

Devido às várias questões levantadas sobre o uso dos antioxidantes sintéticos, relacionadas à toxicidade e absorção dos mesmos pelos tecidos do corpo, a prospecção e a identificação de antioxidantes naturais tem sido um tema de grande interesse para os pesquisadores.

E os organismos marinhos, em particular as algas, têm despertado muita atenção para a síntese de vários metabólitos com potencial antioxidante que garantam segurança e bem-estar aos consumidores (Da Silva, 2020).

2.8. Ácido ascórbico

O ácido ascórbico, também conhecido como vitamina C, é um antioxidante natural presente em diversas frutas e hortaliças, tem a habilidade de sequestrar radicais livres, como o ião superóxido, o radical hidroxilo, o peróxido de hidrogénio e o oxigênio singlete (Sucupira, 2012).

É um composto orgânico heterocíclico com seis átomos de carbono, um anel furano e um grupo enol. O ácido ascórbico tem uma característica particular de agir como um agente redutor que protege as células da ação dos radicais livres, isso resulta da sua estrutura molecular (Figura) (Guimarães *et al*, 2024).

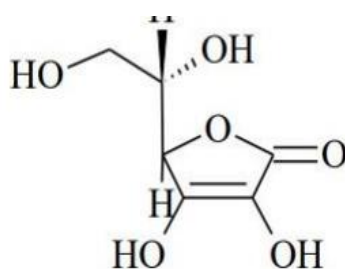


Figura 11. Estrutura molecular do ácido ascórbico. **Fonte:** Guimarães *et al*, 2024.

Apesar da vitamina C apresentar funções fisiológicas e vitamínicas já comprovadas, este composto ainda apresenta algumas restrições no uso, pois é muito sensível a temperaturas elevadas, exposição à luz, humidade e oxigénio reduzindo a sua estabilidade e interferindo nas suas funções e propriedades, induzindo a formação de substâncias prejudiciais à saúde.

E pensando nas suas limitações, na sua vasta aplicação principalmente na indústria farmacêutica, um dos maiores desafios atuais é desenvolver novas formulações do ácido ascórbico, para que a sua estabilidade seja conservada durante o tempo prescrito para o uso (Guimarães *et al*, 2024).

3. ÁREA DE ESTUDO

A ilha de Inhaca é uma pequena ilha situada no oceano Índico, na região sul de Moçambique, mais precisamente na Baía de Maputo, formando o Arquipélago de Inhaca junto da Ilha dos Portugueses, sendo a ilha de Inhaca a maior ilha deste Arquipélago, com uma área total de aproximadamente 42 km². Está localizada entre as Latitudes: 25°58' 14.47 "S e Longitudes: 32°59' 37.97", constituindo o distrito municipal KaNyaka (Pereira e Nascimento, 2016).

A ilha de Inhaca, atualmente chamada KaNyaka, Distrito do mesmo nome (que significa, De Nhaca), surge da aculturação de Nhaca, do nome Tsonga, que referenciava ao chefe que viveu em Maputo e deu origem ao nome da ilha, e está dividido em três bairros, nomeadamente, Ribjene, Nyakene e Inguane (Pereira e Nascimento, 2016).

Segundo Lopes (2009), a ilha de Inhaca é umas das ilhas moçambicanas com maior prestígio do ponto de vista de biodiversidade, pois possui representantes de vários ecossistemas e recursos marinhos existentes na costa moçambicana, para além ter uma grande importância a nível ecológico, científico e investigativo, turístico, económico e como património Biológico.

A praia da Costa do Sol está localizada na região sul de Moçambique, na província de Maputo, separada da Ilha da Inhaca e Xefina grande a este, do litoral da Ponta Moana a sul e a sudeste, o litoral de Katembe, a praia da Costa do Sol tem como paralelos 25°55'22.59"S e 32°38'27.64"E (Mabunda, 2019, Gaspar, 2021).

A praia da Costa do Sol, dista a 6 km a norte da Cidade de Maputo, estando localizada no Distrito Municipal de KaMavota, no Bairro da Costa do Sol (Traquino, 2022), encontrando-se associada a infraestruturas com valor cultural, histórico e turístico (Cossa, 2018).

Nos últimos anos esta praia tem sido alvo de vários estudos, por desempenhar grande papel a nível socioeconómico e científico no país (Mabunda, 2019). Caracterizada como uma praia arenosa, com dunas altas e com vegetação frágil, ocasionando a formação de grandes bancos de areia observados em quase toda a praia (Langa, 2007).

Na praia da Costa do Sol, a pesca tem sido uma actividade de grande presença, para além do turismo, algumas cerimônias e cultos mágicos religiosos. Não obstante, também se nota a prática de desporto, venda de produtos a disposição e o descarte de efluentes provenientes das diversas partes da cidade de Maputo (Vidro, 2024).

Segundo Hogueane (2007), as províncias banhadas pelo oceano Índico, como é o caso da província de Maputo, onde estão situadas a praia da Costa do Sol e a Ilha de Inhaca, apresentam um grande elenco de recursos marinhos e costeiro, possibilitando assim a prática de atividades pesqueiras semi-industrial e artesanal.

Mapa de localização geográfica da ilha de Inhaca e da praia da Costa do Sol.

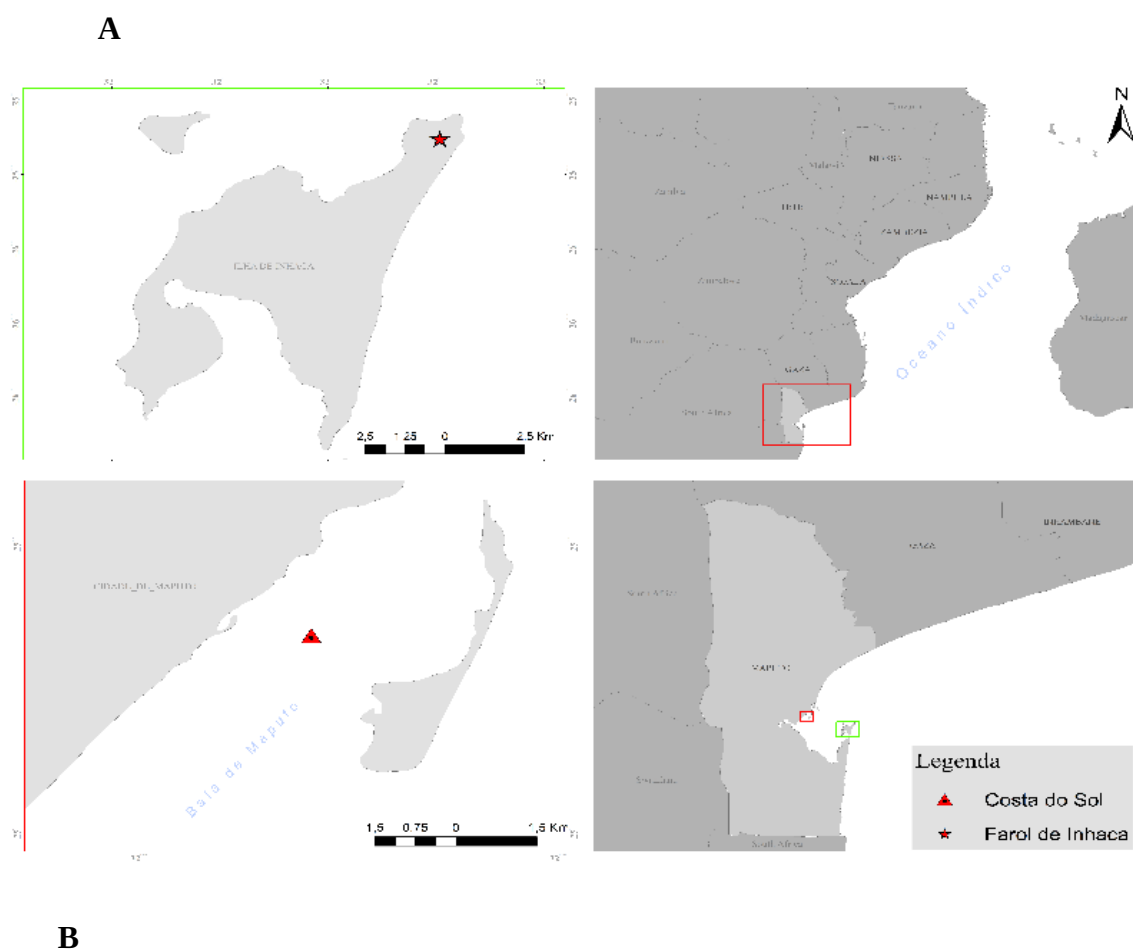


Figura 12. Localização da Ilha de Inhaca, representada por uma estrela e a praia da Costa do Sol representada por um triângulo. **Fonte:** Levene, 2025.

4. Metodologia

4.1. Tipo de estudo: o presente estudo traz uma abordagem descritiva, experimental e comparativa, com dados avaliados de forma quantitativa e qualitativa.

4.2. Amostragem

A colheita das amostras teve lugar em dois pontos distintos da Cidade de Maputo, Moçambique, nomeadamente, a Ilha de Inhaca, onde foram colhidas aproximadamente 500g das macroalgas *Padina boryana*, *Eucheuma denticulatum* e *Kappaphycus alvarezii*, de seguida foram colhidas as mesmas quantidades de *Ulva lactuca* na Praia da Costa do Sol, colocando água do mar para que as algas ficassem submersas e não perdessem as propriedades durante o acondicionamento e transporte, foi feita a higienização com água e Hipoclorito a 1 % para a retirada de areia e de epífitas.

De seguida, foram transportadas para o Laboratório de Engenharia de Moçambique (LEM), onde foram colocadas na estufa a temperatura de 50°C por 24-48 horas, depois da secagem foram trituradas em um moinho elétrico até atingir a granulometria de 150µm, após isso, foram novamente transportadas para o laboratório B9, no Departamento de Ciências Biológicas para análises subsequentes.

4.3. Variáveis em estudo

As variáveis em questão para este estudo são a presença de fitocompostos nas macroalgas e o potencial antioxidante dos extratos de metanol e acetona das macroalgas, expressas em níveis de concentrações do Ácido ascórbico.

4.4. Materiais e equipamentos

4.4.1. Equipamentos

- Agitador magnético
- Balança analítica
- Cabine de biossegurança
- Centrífuga
- Espectrofotómetro
- Estufa
- Banho-maria

4.4.2. Materiais

- Balão volumétrico de 200ml
- Copos de Becker
- Espátulas
- Pipetas automáticas

- Pipetas manuais
- Pontas de pipetas
- Tubos de ensaio
- Placas de Petri
- Funil

4.4.3.Reagentes

- Ácido acético glacial
- Ácido clorídrico
- Ácido ascórbico
- Ácido sulfúrico
- Acetona
- Cloreto férrico
- Hidróxido de sódio
- Iodato de potássio
- Metanol
- Molibdato de amónio
- Fosfato de sódio
- Hipoclorito

4.4.4.Consumíveis

- Algodão
- Papel alumínio
- Papel absorvente
- Parafilme
- Papel de filtro
- Tesoura
- Marcador
- Máscara KN95
- Luvas

4.4.5. Material biológico

Macroalgas: *Eucheuma denticulatum*, *Kappaphycus alvarezii*, *Padina boryana* e *Ulva lactuca*

4.5. Procedimentos

Todos os procedimentos de análise realizados no presente estudo, decorreram no Laboratório B9, do Departamento de Ciências Biológicas, que dispunha de equipamentos, reagentes e materiais necessários, o estudo foi dividido em duas etapas: análise colorimétrica de fitocomposto e análise da actividade antioxidante do extrato de metanol e acetona.

4.5.1. Análise colorimétrica de fitocompostos

Para análise fitoquímica das macroalgas, a metodologia aplicada neste estudo encontra-se descrita em Dias *et al*, 2020.

Os compostos bioativos foram extraídos das macroalgas com recurso a dois solventes, o metanol e a acetona, esses extractos foram usados em todos os ensaios experimentais.

Para análise dos compostos bioativos, 2 gramas de cada alga triturada foram pesadas e colocados em balões volumétricos, devidamente identificados e posteriormente adicionado 200 ml de metanol e 200ml de acetona nos 2 gramas da outra pesagem.

De seguida, foram colocados no agitador magnético por 1 hora à temperatura ambiente e depois os extratos foram dispensados em tubos de ensaio plástico e selados com parafilme, para evitar que os extratos vazassem e por fim centrifugados a 5000 rpm durante 10 minutos. Após a centrifugação, os extratos foram filtrados para separar o precipitado do sobrenadante, usando-se um funil e papel Whatman, os balões volumétricos foram fechados com algodão e parafilm e levados a geladeira à temperatura de 4°C por aproximadamente 24 horas, para posterior análise de fitocompostos.

□ **Teste de alcalóides**

Reagente Mayer: dissolveu-se em água destilada 2,71 gramas de HgCl e 10 gramas de Iodeto de potássio em balão volumétrico, e completou-se o volume com água para 200ml. Agitar até dissolver por completo e filtrar.

Em tubos de ensaio, colocou-se 1 ml de extracto de algas, 8 gotas de HCl e 3 gotas do Reagente Mayer. **Deteção:** aparecimento de turvação ou precipitado de cor branca.

□ **Teste de cumarinas:** preparou-se uma solução de NaOH a 10%, em tubos de ensaio foram colocados 1 ml de extrato de algas e 1ml da solução de hidróxido de sódio, mexendo até homogeneizar. **Deteção:** aparecimento da cor amarela.

□ **Teste de esteróides:** em tubos de ensaio, contendo 1ml de extracto de alga, foram adicionadas 1ml de ácido acético anidro e 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado. **Deteção:** aparecimento da cor verde.

□ **Teste de taninos:** preparou-se uma solução de Cloreto férrico a 5%, 1 ml dessa solução foi adicionada em tubo de ensaio contendo 1 ml de extracto de algas. **Deteção:** aparecimento da cor azul esverdeada.

4.5.2. Ensaio da actividade antioxidante

A atividade antioxidante das algas foi avaliada pelo método de Redução do Complexo Fosfomolibdênio, seguida das leituras de absorbância no Espectrofotômetro UV.

4.5.2.1. Análise da actividade antioxidante pelo Complexo Fosfomolibdênio

Os extractos de algas foram preparados pesando-se 5 gramas de algas para os extractos de metanol e igual quantidade para os extractos de acetona, colocados em balões volumétricos onde adicionou-se 100 ml do solvente extractor, de seguida foram acondicionados à temperatura ambiente ao abrigo da luz por 24 horas, para que não interferisse na extração realizada.

Para a preparação do complexo fosfomolibdênio, pesou-se 0.500g de fosfato de sódio e 0,400g de molibdato de amônia em copos diferentes e foram colocados para dissolver com 30 ml e 20 ml de água destilada, respectivamente. Depois de dissolvidos, foram colocados em uma proveta graduada e adicionado 2,90 ml de ácido sulfúrico concentrado e por fim ajustou-se o volume para 100 ml com água destilada.

4.5.2.2. Diluição seriada dos extractos

As diluições das soluções estoque de metanol e acetona foram feitas em série, os extractos foram colocados em três tubos de ensaio devidamente identificados como 1, 2 e 3 com concentrações de 1:10, 1:100 e 1:1000 respectivamente, 1 ml da solução estoque de algas para 9 ml de água destilada foram colocados no tubo 1 e vortexou-se até homogeneizar. De seguida, 1 ml dessa solução foi colocada no tubo 2 e o mesmo procedimento realizado para o tubo três.

Foram feitas repartições destas diluições em três tubos de ensaio, tomados como réplicas para cada concentração, foram colocados 300µl da solução diluída e 3 ml do complexo fosfomolibdênio. Os tubos foram fechados com parafilme e levados a Banho-maria a temperatura de 95°C por 90 minutos, após o resfriamento foram realizadas as leituras no espectrofotômetro UV no comprimento de onda de 695 nm.

- Branco de metanol: 3 ml de complexo fosfomolibdênio, 300 µl de metanol.
- Branco de acetona: 3 ml de complexo fosfomolibdênio, 300 µl de acetona.

A capacidade antioxidante das macroalgas expressa em percentagem, foi calculada pela seguinte fórmula:

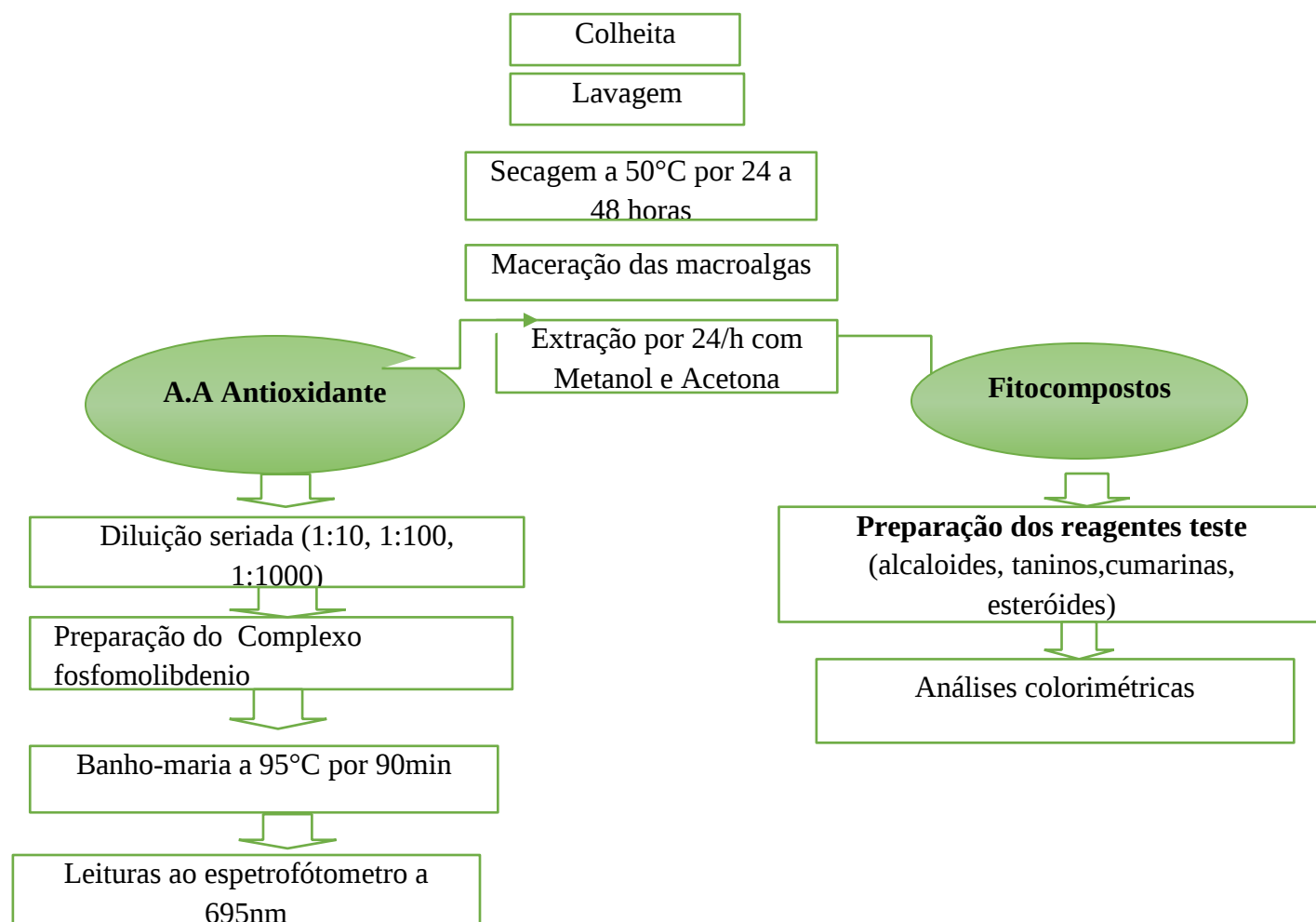
$$Capacidade\ Antioxidante\ Total = \frac{abs(a) - abs(b)}{abs(a)} * 100\%$$

Onde: abs(a)- absorbância da amostra; abs(b)-absorbância do branco.

4.6. Curva de calibração do Ácido ascórbico

A curva de calibração do ácido ascórbico foi feita com a solução inicial de 0.01g/ml de ácido usado para diluições seriadas de 1:10, 1:100 ,1:1000 e 1:10000. Para a leitura das absorbâncias, foram colocados no tubo de ensaio 300 µl do ácido diluído e 3 ml do complexo fosfomolibdênio, o branco foi realizado com 3 ml de água.

4.7. Fluxograma de atividades laboratoriais



4.8. Análise de dados

Os dados obtidos na análise colorimétrica, são de carácter qualitativo, e a sua determinação não exigiu nenhuma representação numérica.

Os valores da concentração do ácido ascorbico presente na macroalgas foram expressos em forma de média $\pm$ Desvio Padrão. As comparações estatísticas entre as concentrações do Ácido ascórbico no extracto de metanol e acetona foram realizadas no Microsoft Excel, usando o teste- *t*, considerando o nível de significância de 5% e a diferença foi considerada significativa nos valores de $P < 0.05$.

5. Resultados

5.1. Análise Colorimétrica de fitocompostos

A detecção de compostos bioativos nos extratos de metanol e acetona foi baseada na mudança de coloração das soluções, após a adição de reagentes específicos para cada tipo de fitocomposto a avaliar.

Os resultados desta análise encontram-se ilustrados na Tabela , onde estão evidenciadas as mudanças colorimétricas em relação às soluções iniciais.

No teste de alcalóides, observou-se uma ligeira turvação após a adição do Reagente Mayer nos extratos preparados com metanol nas algas *Eucheuma denticulatum* e *Kappaphycus alvarezii*, tornando-se mais intenso na alga *Padina boryana*. Os extratos de acetona apresentaram melhores resultados em comparação com o metanol, pois apresentaram turvação permanente e aparecimento de um precipitado branco como sugerem os testes de análise de alcalóides, como ilustram as imagens na Tabela 3.

Tabela 2. Resultados das análises colorimétricas de fitocompostos detectados nas macroalgas

	Metanol				Acetona			
Macroalga	A	C	E	T	A	C	E	T
<i>Eucheuma denticulatum</i>	+	+++	—	—	++	+++	—	+
<i>Kappaphycus Alvarezii</i>	+	+++	—	—	++	+++	—	+
<i>Ulva lactuca</i>	++	+	++	++	++	—	+	+
<i>Padina boryana</i>	+++	+	—	+++	+	+	—	+

Legenda: A-alcaloides, E-esteroides, C-cumarinas, T-taninos; (+) intensidade reduzida, (++) intensidade moderada, (+++) intensidade elevada, (-) ausência.

Para o teste de cumarinas, os resultados foram positivos para quase todas as amostras, tanto as de metanol assim como de acetona apresentaram coloração amarelada, excepto as amostras de acetona da macroalga *Ulva lactuca*, que apresentou uma tonalidade acastanhada, e intensa em relação as demais algas e ao extrato de metanol da mesma alga.

Os resultados da análise de taninos mostraram grandes diferenças entre os dois extratos analisados, para a alga *Eucheuma denticulatum*, o resultado foi negativo para metanol e positivo para acetona, o mesmo verificou-se para a alga *Kappaphycus alvarezii*, embora tenha reduzido a tonalidade da coloração minutos após a agitação dos tubos, seguida da adição do reagente, esse resultado que sugere a presença de taninos condensados, detectados pelo aparecimento da cor verde.

Para a alga *Ulva lactuca*, os resultados foram contrários aos das algas vermelhas, pois nesta alga o extrato de metanol é que apresentou a coloração esverdeada, esperada para os testes positivos de taninos condensados.

A alga *Padina boryana* apresentou resultado negativo para o extrato de acetona e resultado positivo para o extrato de metanol no teste de taninos, tendo sido a única alga em que se verificou a presença de taninos hidrolisáveis, detectados pela coloração azul no extrato.

Para os terpenóides, foram observados resultados positivos na alga *Ulva lactuca*, tanto no extrato de acetona, assim como no extrato de metanol, diferindo apenas na tonalidade da cor verde, a alga *Padina boryana* apresentou resultado negativo no extrato de acetona, sendo que para o extrato de metanol, apresentou uma coloração esverdeada nos primeiros dois minutos, após a agitação do tubo, a tonalidade ficou mais clara, como mostra a tabela abaixo.

Tabela 3. Ilustração dos fitocompostos detectados nas Macroalgas

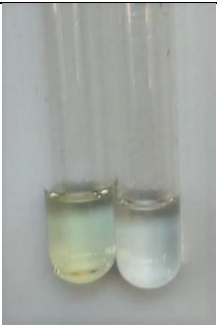
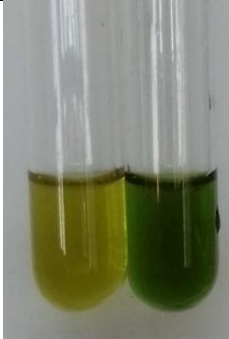
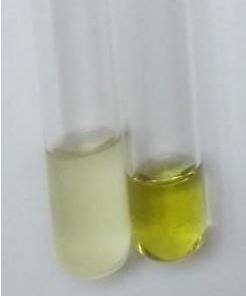
Algas	Esteróides	Alcalóides	Cumarinas	Taninos
<i>Eucheuma denticulatum</i> (metanol)				
<i>Eucheuma denticulatum</i> (acetona)				
<i>Kappaphycus alvarezii</i> (metanol)				
<i>Kappaphycus alvarezii</i> (acetona)				

Tabela 3. Ilustração dos fitocompostos detectados nas Macroalgas (Continuação)

Algas	Esteróides	Alcalóides	Cumarinas	Taninos
<i>Ulva Lactuca</i> (metanol)				
<i>Ulva lactuca</i> (acetona)				
<i>Padina boryana</i> (metanol)				
<i>Padina boryana</i> (acetona)				

5.2. Análise da actividade antioxidante das macroalgas pelo método de Redução do Complexo fosfomolibdênio.

5. 2.1. Curva de calibração do Ácido ascórbico

A curva de calibração foi feita utilizando como padrão o Ácido ascórbico e obtida a partir das concentrações decrescentes do ácido e das suas absorbâncias. A partir da análise de regressão, foi possível obter a equação de recta e o coeficiente R^2 do Ácido ascórbico, que evidencia uma relação forte positiva entre os valores das absorbâncias e a concentração do ácido.

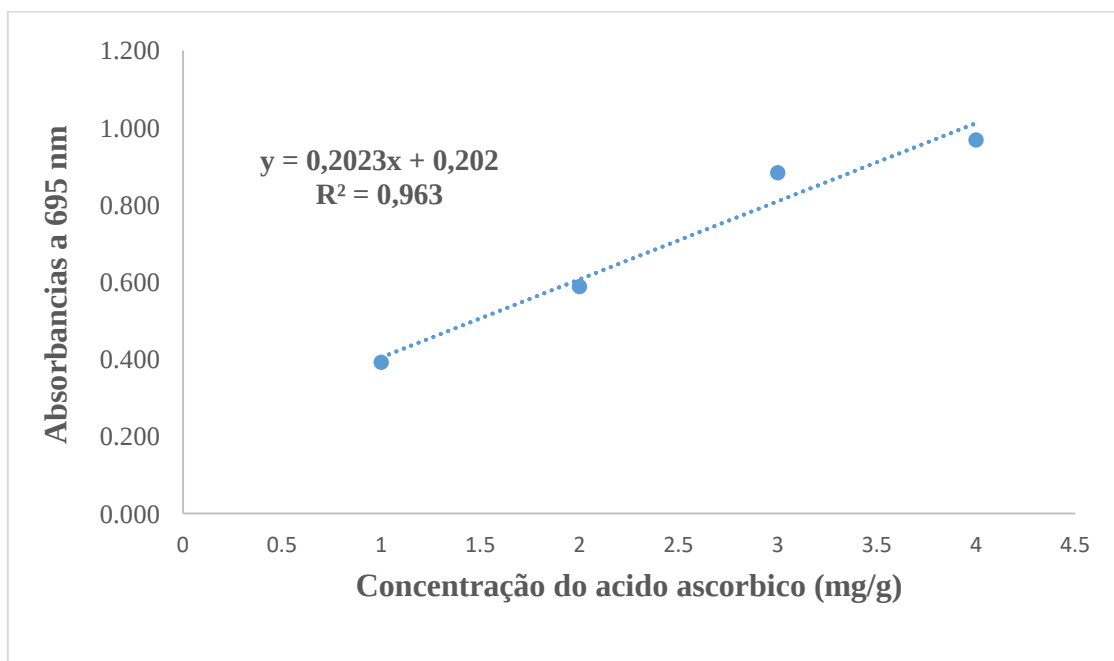


Figura.13 Curva de Calibração do Ácido ascórbico, obtido a partir das absorbâncias médias das diluições, e posterior inferência da Concentração do Ácido ascórbico através da equação da recta $Y=0,2023x+0.202$.

5.2.2. Actividade antioxidante no extracto de metanol

A análise antioxidante das macroalgas foi realizada pelo método de redução do Complexo fosfomolibdênio, onde a capacidade antioxidante em termos de Capacidade antioxidante Total nos extratos metanólicos, mostraram que houve diferenças quando comparadas as três concentrações de diluições, nas algas *Ulva lactuca* e *Eucheuma denticulatum*, contrariamente as algas *Padina boryana* e *Kappaphycus alvarezii*, que não apresentaram diferenças significativas entre as três concentrações de diluição.

A análise antioxidante das macroalgas, foi realizada por meio de três diluições seriadas sucessivas da solução estoque com concentração de igual a 0.05g/ml. Nas quatro algas analisadas usando o extrato de metanol, em média, os valores da Capacidade antioxidante Total absorbâncias decrescem a cada diluição realizada, assim sendo, a maior Capacidade antioxidante foi verificadas na primeira diluição de 10^1 , seguida da segunda diluição de 10^2 e por último a terceira diluição.

Tabela 4. Valores percentuais da capacidade antioxidante total e desvio padrão das macroalgas no extrato de metanol.

Macroalgas	Diluições		
	10^1	10^2	10^3
<i>Ulva lactuca</i>	70.5% $\pm$ 0.031	51.5% $\pm$ 0.099	45.8% $\pm$ 0.78
<i>Padina boryana</i>	71.8% $\pm$ 0.038	45.6% $\pm$ 0.024	39.0% $\pm$ 0.006
<i>Eucheuma denticulatum</i>	48.8% $\pm$ 0.059	34.1% $\pm$ 0.064	37.4% $\pm$ 0.020
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	38.7% $\pm$ 0.014	34.4% $\pm$ 0.087	28.6% $\pm$ 0.046

Nas três concentrações analisadas, apenas a alga *Ulva lactuca* e *Eucheuma denticulatum*, apresentaram diferenças significativas entre os diferentes grupos de diluições ($p < 0.05$), enquanto as algas *Padina boryana* e *Kappaphycus alvarezii*, mesmo apresentando um aumento da sua Capacidade antioxidante Total à medida que se reduz a diluição, os valores da Capacidade antioxidante total, não apresentaram diferenças estatisticamente significantes entre si ($p > 0,05$), abaixo estão ilustradas as concentrações do ácido ascórbico nas macroalgas, na primeira diluição que foi a que apresentou melhores resultados (Figura 15).

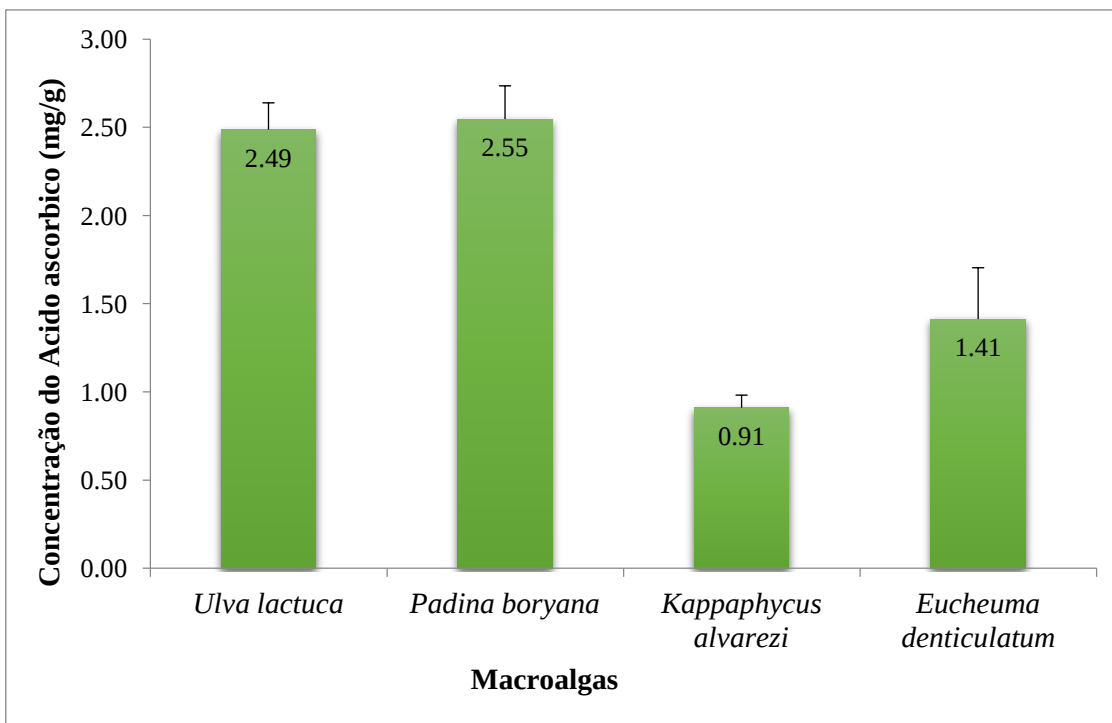


Figura 14. Valores médios da concentração do Ácido ascórbico no extracto de metanol das macroalgas.

Os resultados mostram que relativamente às concentrações do Ácido ascórbico nas macroalgas preparadas com metanol, maior concentração deste ácido foi detectada na macroalga *Padina boryana* com 2.55mg/g revelando desta forma, uma relação de proporcionalidade existente entre a concentração do Ácido ascórbico e a percentagem da Capacidade Antioxidante Total, que também foi elevada na primeira diluição da macroalga *Padina boryana* ($71.8\% \pm 0.038$) comparativamente as outras macroalgas.

5.2.3. Actividade antioxidante no extracto de acetona

Em geral, os valores da Capacidade antioxidante das macroalgas, usando acetona como solvente, comportaram-se de igual forma que os extratos de metanol, o que sugere novamente uma proporcionalidade direta entre as concentrações das diluições e os valores médios da Capacidade antioxidante. Ou seja, quanto mais concentrada for a solução analisada, maior será a Capacidade antioxidante das macroalgas.

Tabela 5. Valores da Capacidade antioxidante Total e desvio do extrato de acetona.

Macroalgas	Diluições		
	10 ¹	10 ²	10 ³
<i>Ulva lactuca</i>	70.2% ± 0.040	43.7% ± 0.042	31.5% ± 0.031
<i>Padina boryana</i>	50.9% ± 0.025	33.3% ± 0.048	21.8% ± 0.019
<i>Eucheuma denticulatum</i>	51.1% ± 0.037	34.1% ± 0.054	20.0% ± 0.041
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	91.9% ± 0.001	34.6% ± 0.015	30.2% ± 0.092

Relativamente à Capacidade antioxidante total, as algas no extracto de acetona apresentaram valores com uma distribuição semelhante à do extracto de metanol, sendo a macroalga *Kappaphycus alvarezii* a que apresentou a maior Capacidade antioxidante Total na primeira diluição (91.9% ± 0.001), apresentando igualmente a maior concentração do Ácido ascórbico com 3.54mg/g, como ilustra a figura 15.

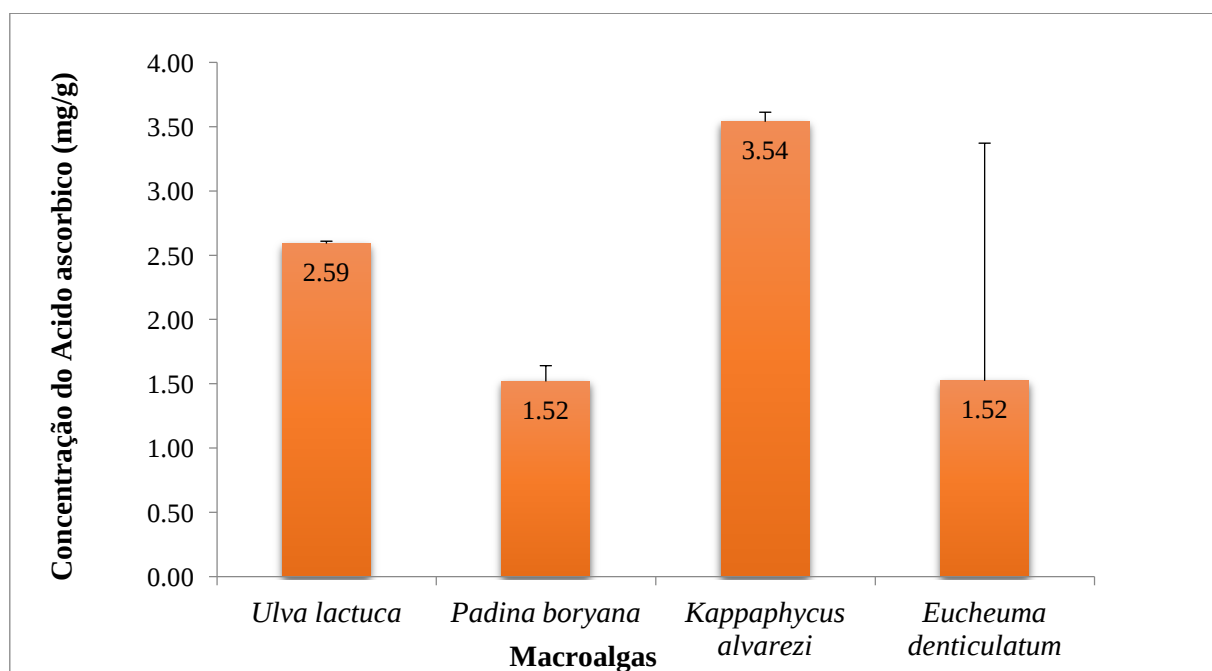


Figura 15. Valores da concentração do ácido ascórbico nos extractos de acetona nas macroalgas.

Em geral, a concentração do ácido ascórbico nas macroalgas, foi maior no extracto de acetona da macroalga *Kappaphycus alvarezii*, comparativamente ao extracto de metanol, e as diferenças estatísticas entre os dois solventes extratores nas macroalgas está ilustrada na Tabela 6, com as concentrações do ácido ascórbico (mg/g), os respectivos p-values e a sua comparação com o nível de significância de 0.05.

Tabela 6. Comparação das concentrações médias do Ácido ascorbico nas macroalgas

Macroalgas	Concentração do A. ascórbico no extracto de Metanol (mg/g)	Concentração do A. ascórbico no extracto de acetona (mg/g)	p –value
<i>Ulva lactuca</i>	2.48	2.59	$P_{(0.1798)} > 0.05$
<i>Padina boryana</i>	2.55	1.51	$P_{(0.0020)} < 0.05$
<i>Kappaphycus alvarezii</i>	0.91	3.54	$P_{(0.0001)} < 0.05$
<i>Eucheuma denticulatum</i>	1.41	1.52	$p_{(0.4639)} > 0.05$

6. Discussão

6.1. Análise comparativa de fitocompostos obtidos nos extractos de metanol e acetona das macroalgas marinhas

Nos últimos anos, as macroalgas têm se mostrado com diversas possibilidades de aplicação e com isso, vários estudos virados para extração e identificação de moléculas que constituem metabólitos secundários das espécies têm sido realizados e comprovada a sua relevância como uma fonte natural de compostos bioactivos (Da Silva, 2020).

Nas análises colorimétricas realizadas, na macroalga *Padina boryana* foi possível detectar a presença de esteroides e taninos hidrolisáveis apenas no extrato de metanol, resultados semelhantes aos obtidos por Miranda, (2023) num estudo similar, onde analisou apenas extractos metanólicos de *Padina boryana* e *Sargassum asperifolium*, no entanto nas análises de alcalóides e cumarinas, os resultados foram negativos, revelando algumas diferenças quando comparados com os resultados verificados neste estudo, pois detectou-se a presença de alcalóides e cumarinas nos dois extratos analisados.

A identificação de metabólitos secundários como taninos e flavonoides pode ser feita usando como solvente a água, no entanto para a obtenção de extratos mais concentrados podem ser usados solventes orgânicos (Tondi e Petutschnigg 2015).

Segundo Corsetto *et al*, (2020) são vários os fatores que determinam a composição fitoquímica e composição das algas castanhas, tratando-se de isolamento e extração de metabólitos secundários, destacando como o maior ponto de diferença, o método aplicado.

Os taninos são metabólitos secundários pertencentes ao grupo dos polifenóis, são importantes em várias aplicações terapêuticas, na agricultura e na indústria, para a produção de substâncias flocculantes, anticorrosivos, plásticos, clarificação de bebidas, e outros (Mamet, *et al.*, 2018).

Os taninos oxidam com muita facilidade, interagindo com enzimas vegetais específicas, na literatura são várias as metodologias aplicadas para a detecção de taninos, sendo que a maior parte deles utiliza o Cloreto férrico combinado com outro reagente para a formação de complexos. Esses sais férricos reagem com as substâncias fenólicas presentes nos extratos e a identificação de taninos torna-se possível através de reações cromogênicas, no

entanto, podem ocorrer erros de análise, quando a fonte de luz não é adequada (Beltran, 2019).

Em uma pesquisa realizada por Ajayi *et al.*, (2017), para detecção de taninos, onde observou a coloração verde acastanhada ou azul-preta, indicando a presença de taninos, os mesmos resultados obtidos neste estudo nos extratos de acetona das algas *Padina boryana* e *Ulva lactuca*.

O teste de cloreto férrico, para a análise de taninos, revelou certas imprecisões para a identificação de taninos detectados, devido ao rápido escurecimento dos extratos tornando-se difícil a distinção dos taninos hidrolisáveis dos condensados.

Como resposta a esta limitação, desde a década 80, vários cientistas têm vindo a estudar a aplicação de LED's em análises químicas, com propriedades que permitam a interação com os extratos analisados, revelando os resultados reais das reacções, através da transmitância (Hauser e Chiang 1993; Macka, 2014; Yeh *et al.* 2014; Bui e Hauser, 2015).

Os resultados obtidos na análise colorimétrica para a detecção de alcalóides, revelaram que esses metabólitos se encontram presentes em todas as espécies analisadas neste estudo, tanto nos extractos de metanol, assim como de acetona, resultados semelhantes foram observados por Dias *et al.*, (2020a) onde foram avaliados extractos metanólicos de algumas espécies de algas vermelhas, castanhas e verdes, incluindo a *Ulva lactuca*, também analisada no presente estudo.

Contrariamente a esses resultados, Miranda (2023) e Giro *et al.*, (2015) nas suas análises colorimétricas, obtiveram resultados negativos na alga *Padina boryana*, e associaram esse facto a possibilidade de os extratos apresentarem baixa concentração deste fitocomposto e a variação da sazonalidade das macroalgas.

De acordo com Cavalcante (2024) numa revisão sobre Classes, propriedades e métodos de extração, destaca a influência das condições de extração na caracterização e isolamento dos metabólitos secundários, sendo os principais factores: o tipo de solvente, tempo de extração, temperatura, e o método aplicado, fazem total diferença na composição

fitoquímica e nas propriedades biológicas dos extractos analisados, abrindo espaço para conclusões distintas em estudos semelhantes.

Os alcalóides apresentam algumas atividades terapêuticas naturais, agindo como anestésico, analgésico, psico-estimulante, neuro-depressores, etc. Apesar deste metabólito estar presente em diversos vegetais, as funções que desempenham nas plantas ainda levantam alguns questionamentos, mas até o momento, são considerados como reservatórios na síntese de proteínas, reguladores de crescimento, agentes finais da desintoxicação e da transformação de outras substâncias, sendo que em elevadas quantidades pode ser tóxica para a planta (Araújo *et al.*, 2014).

As cumarinas apresentaram resultados positivos em todas as algas analisadas, representam uma classe de metabólitos secundários, encontrados em diferentes partes das plantas e foi a partir de uma cumarina que se desenvolveu o primeiro medicamento para o tratamento de uma doença hemorrágica no gado, que posteriormente serviu como modelo para a produção de anticoagulantes (Simões, 2007).

Das actividades biológicas das cumarinas, destacam-se a actividade antidepressiva, anti-histamínica, acaricida, anti-inflamatória, hepatoprotetora e anti-melanogênica (Araújo *et al.*, 2014), também podem ser usados como narcóticos, sedativos, analgésico, vasodilatador e como regulador hormonal (Ferreira *et al.*, 2021).

Em relação aos esteróides, encontrados apenas na Alga *Ulva lactuca* nos dois extratos analisados, obtidos pelo teste de Liebermann Burchard, que estabelece a mudança de cor azul para verde e em determinados ensaios fitoquímicos, os esteróides são detectados em Chlorophytas e em outros, apenas em Phaeophytas (Dias *et al.*, 2020a).

Segundo Costa (2001), nos extractos em que os esteróides estão presentes, o reagente de Liebermann-Burchard irá desencadear perdas da molécula de água e de hidrogénio no núcleo do esteróide, formando derivados coloridos, com coloração azul-efémera seguida de verde para esteróides livres, sugerindo assim a presença de esteróides livres na macroalga *Ulva lactuca*.

Estudos relacionados a bioactividade dos esteróides, mostram que estes fitocompostos apresentam propriedades citotóxicas, antiviral, antitumoral, antioxidante, anti-malária e anti-inflamatória (Araújo, 2014).

Contudo, é importante ressaltar que a efectividade da prospeção e da caracterização dos compostos fenólicos tornam-se de elevada dependência das condições de extração ou condições laboratoriais, sendo que na extração, o solvente usado desempenha um dos papéis mais importantes nessa etapa, onde os mais usados são o metanol e o etanol (Cavalcante *et al.*, 2024). No entanto, outros solventes como acetona, acetato de etila, hexano, clorofórmio e outros mais podem ser testados para a optimização do processo de extração (Yakoub *et al.*, 2018).

6.2. Análise da actividade antioxidante das macroalgas

O interesse pelo estudo das algas como fonte de substâncias com potencial antioxidante, surgiu em decorrência da procura de adictivos alimentares que não prejudicasse a saúde humana. E o ponto de partida para esse estudo, é a capacidade que determinadas algas têm quando desidratadas, serem armazenadas por longos períodos sem apresentarem sinais de oxidação e mantendo-se intactas (Cabral *et al.*, 2011).

As macroalgas marinhas, apresentam uma extensa variedade de compostos com potencial antioxidante, como os compostos fenólicos, carotenóides, tocoferóis, polissacáridos e péptidos (Jacobsen *et al.*, 2019).

6.2.1. Actividade antioxidante no extracto metanólico das macroalgas marinhas

No grupo de algas analisadas neste estudo usando o extracto de metanol, a maior capacidade antioxidante foi detectada na macroalga *Padina boryana* ($71.8\% \pm 0.038$), com uma concentração do Ácido ascórbico igual a 2.55 mg/g, esses resultados são similares aos resultados obtidos nos estudos anteriormente realizados com esta alga. Como demonstra Macamo,(2023) num estudo onde comparou a actividade antioxidante de espécies dos três grupos de macroalgas, sendo que no grupo das macroalgas castanhas, a macroalga *Padina boryana* foi a segunda macroalga com maior concentração do ácido ascórbico (0.64 mg/g). Assim como Jayawardena *et al.*, (2020) no seu estudo constatou que de entre as algas

analisadas a macroalga *Padina boryana* apresentou a Capacidade Antioxidante Total mais elevada (56.34%).

Para além da alga *Padina boryana*, a macroalga *Ulva lactuca* também apresentou resultados animadores no extrato de metanol (2.49mg/g), sendo a segunda alga com maior concentração do ácido ascórbico usando o metanol como solvente extractor, não superando os resultados obtidos com o solvente acetona.

As diferenças apresentadas pelas algas, relativamente a concentração do ácido ascórbico e dos valores percentuais da Capacidade Antioxidante Total, são explicadas por Ramah et al. (2013), onde destaca a variação do ambiente onde a alga se encontra, tendo sido realizado um estudo onde analisaram a actividade antioxidante em estações diferentes do ano, e detectaram que os seus valores eram estatisticamente diferentes quando comparados os valores obtidos no verão e os obtidos no inverno.

De acordo com Cavalcante *et al.*, 2024, para além de factores como tempo de extração, temperatura, pH, razão sólido-líquido, tamanho da partícula e o número de etapas da extração, o tipo de solvente usado para a extração também apresenta um papel determinante na eficiência da extração, pois a extração com solventes de polaridades diferentes como metanol e acetona (embora este último seja considerado polar e apolar simultaneamente), os resultados obtidos mostram diferenças significativas, o que sugere que para a alga *Padina boryana*, o metanol é o melhor solvente extrator quando comparado com acetona, apresentando diferenças estatisticamente significantes ($P_{(0.0020)} < 0.05$) entre si, para esta alga.

6.2.2. Actividade antioxidante no extracto de acetona das macroalgas marinhas

No ensaio antioxidante realizado com o extracto de acetona, a macroalga *Kappaphycus alvarezii*, mereceu maior destaque pois apresentou a maior concentração de ácido ascórbico (3.54 mg/g), também apresentou a maior Capacidade antioxidante Total igual a 91.1%, apresentando diferenças significativas ($P_{0.0001} < 0.05$) com o extracto de metanol que apresentou uma concentração do Ácido ascórbico igual à 0.91 mg/g.

De acordo com Balasubramaniam *et al.*, (2015) a actividade antioxidante evidenciada pela alga vermelha, pode estar associada a quantidade de polissacarídeos, ácidos fenólicos e carotenóides que a alga possui nos seus extractos, sendo por isso considerado um dos factores com elevada influência na capacidade antioxidante da alga. Para a alga em questão, vale ressaltar que mesmo que os seus valores da capacidade antioxidante sejam amplamente diferentes, estatisticamente não apresentam diferenças significativas entre si ($p>0.05$).

A macroalga *Ulva lactuca* mostrou-se novamente com potencial antioxidante, com uma concentração de 2.49mg/g (metanol) e 2.59mg/g (acetona) o que sugere que o solvente acetona, apresentou-se com maior eficiência em relação ao metanol para a alga em questão.

Contrariamente, a *Ulva lactuca* e *Kappaphycus alvarezii* que apresentaram resultados reactivamente elevados no ensaio antioxidante usando acetona, a concentração do ácido ascórbico nas macroalgas *Eucheuma denticulatum* e *Padina boryana* foi de 1.41 e 2.55 mg/g respectivamente no extracto de metanol, sendo que no extracto de acetona a concentração do ácido foi de 1.52mg/g para as duas macroalgas.

A reduzida actividade antioxidante evidenciada nesta macroalgas usando o extrato de acetona quando comparado ao de metanol, verificada neste estudo, também foi verificada por Vimala (2015), ao analisar a actividade antioxidante da macroalga *Eucheuma denticulatum* a partir de quatro extractos, n-hexano, acetato de etila, acetona e etanol, e o extracto de acetona foi o terceiro com menor actividade antioxidante.

Esses resultados são semelhantes aos obtidos neste trabalho pois em geral, todas as macroalgas analisadas com o extracto de acetona, apresentaram uma actividade antioxidante reactivamente baixa. Segundo Vimala (2015), estes resultados sugerem que a actividade dos extractos pode estar ligada a uma mistura de compostos que podem actuar sinergicamente. Outro possível factor que pode afetar a falta de actividade, é que a etapa de diluição pode ter degradado ou retido alguns dos metabólitos importantes durante o processo.

A baixa actividade antioxidante verificada na macroalga *Padina boryana*, quando preparado o seu extracto com acetona, foi também verificada em outras macroalgas castanhas, como relata Da Câmara, (2010) onde analisou os extractos de duas macroalgas

castanhas, *C. cervivonis* e *D. delicatula* pelo método de sequestro do radical hidroxila e superóxido, sendo que a sua capacidade antioxidante foi de aproximadamente 8%. Contudo torna-se de elevada importância ressaltar que, tanto a concentração usada, assim como o método de análise da actividade antioxidante são totalmente diferentes aos aplicados neste estudo.

As macroalgas marinhas analisadas, demonstraram um grande potencial biotecnológico, evidenciando uma composição fitoquímica diversificada e promissora para futuras pesquisas e aplicações. As variações observadas nos solventes metanol e acetona, mostraram que existe um grande potencial na aplicação dos mesmos para a prospecção de novos fitocompostos e actividade antioxidante das macroalgas. Portanto, a seleção cuidadosa do solvente extractor é crucial para garantir resultados precisos e confiáveis tanto para a análise antioxidante quanto para a detecção de fitocompostos.

7. Conclusão

- ✓ Dos compostos analisados (alcaloides, esteroides, cumarinas e taninos), foi possível identificar cumarinas e alcalóides em todas as algas usando o solvente metanol, e os esteroides só foram detectados na macroalga *Ulva lactuca*
- ✓ Usando acetona como solvente, foi possível identificar alcalóides, taninos e cumarinas, em todas as espécies de macroalgas, com exceção da macroalga *Ulva lactuca* que apresentou resultado negativo para cumarina.
- ✓ Na análise antioxidante usando o extracto de metanol, a macroalga *Padina boryana* apresentou a maior concentração do ácido ascórbico que foi de 2.55mg/g.
- ✓ No extracto de acetona, a maior concentração do Ácido ascórbico foi verificada na macroalga *Kappaphycus alvarezii* com 3.54mg/g sendo os valores mais altos obtidos neste estudo.
- ✓ As macroalgas *Ulva lactuca* e *Eucheuma denticulatum* não apresentaram diferenças significativas ($p>0.05$) na concentração do ácido ascórbico comparando os dois solventes.
- ✓ Há diferenças significativas ($p<0.05$) na concentração do ácido ascórbico usando o metanol e acetona nas macroalgas *Kappaphycus alvarezii* e *Padina boryan*.

8. Limitações

- ✓ Limitada informação relacionada a preparação de extractos usando acetona como solvente extractor na análise antioxidante.
- ✓ Impossibilidade de realização de outros métodos de análise antioxidante, devido aos custos envolvidos no processo.
- ✓ Díficil identificação de metabólitos nos extratos em que a cor da amostra é semelhante a coloração esperada.

9. Recomendações

O presente estudo sugere:

- ✓ Uma avaliação prévia do local de colheita das amostras, tomando como parâmetros, o pH, a temperatura e a salinidade, pois são fatores que podem alterar a composição molecular das algas, interferindo nos resultados obtidos.
- ✓ A preparação dos extratos aplicando outro método de extração e outros tipos de solventes.
- ✓ A comparação de dois ou mais tempos diferentes de extração dos metabólitos
- ✓ Realização de uma análise quantitativa dos metabólitos secundários identificados.
- ✓ A utilização de dois ou mais métodos de análise antioxidante, assim como a detecção de compostos bioativos, para melhor comparação e avaliação da eficácia de cada um dos métodos escolhidos.

10. Referências Bibliográficas

- Afonso, C., Correia, A. P., Freitas, M. V., Baptista, T., Neves, M., Mouga, T. (2021). Seasonal Changes in the Nutritional Composition of *Agarophyton vermiculophyllum* (Rhodophyta, Gracilariales) from the Center of Portugal. *Foods*,10(5), 1145. <https://doi.org/10.3390/foods10051145>.
- Ajayia, E.I.O., Adeleke, M.A., Adewumia, T., Adeyemi, A.A. (2017) Antiplasmodial activities of ethanol extracts of *Euphorbia hirta* whole plant and *Vernonia amygdalina* leaves in *Plasmodium berghei*-infected mice *Journal of Taibah University for Science* 11 p.831–835.
- André, S.S.N (2016). *Estudos na Macroalga Carragenófito Gigartina pistillata da Costa Portuguesa: Análise do Colóide Produzido por FTIR-ATR e Determinação da Atividade Antioxidante*. Tese de mestrado. Universidade de Coimbra.
- Augustin, J. M. *et al.* (2011). Molecular activities, biosynthesis and evolution of triterpenoid saponins. *Photochemistry*, v. 72, n. 6, p. 435–457.
- Araújo, L. L. M., De Faria, M. J. M., Safadi, G. M. V. V. (2015) Prospeção fitoquímica da espécie *Justicia pectoralis* Jacq. var. *stenophylla* Leonard pertencente à família *Acanthaceae*. *Revista Eletrônica de Ciências Humanas, Saúde e Tecnologia* 2 (06), 4-14.
- Araujo, A. M., Salles, H. O (2020) Ensaio quantitativo para determinação de saponinas. Sobral. Embrapa. Sobral, Ceará.
- Azanza, R.V., Ask, E.I. (2017) Reproductive biology and eco-physiology of farmed *Kappaphycus* and *Eucheuma*. In: *Tropical Seaweed Farming Trends, Problems and Opportunities* [ed. by Hurtado, A.Q., Critchley, A. T., Neish, I.C. Focus on *Kappaphycus* and *Eucheuma* of Commerce. Springer, 45-53. DOI:10.1007/978-3-319-63498-2_3.
- Azanza, R.V. (2023) Cultured Aquatic species, Invasive species.
- Bandeira, S.O., António, C. M., Critchley, A. T. (2001) A taxonomic listing, including new distribution records, for benthic, intertidal seaweeds from Mecúfi, northern Mozambique. *South African Journal of Botany*, 67:492-496.
- Barbosa, M., Valentão, P., Andrade, P. B. (2014a). Bioactive Compounds from Macroalgae in the New Millennium: Implications for Neurodegenerative Diseases. *Marine Drugs*, 12(9), pp. 4934-4972.
- Barreiros, A. L. B. S., David J. M., David J.P.D.L. (2006). Estresse oxidativo: relação entre geração de espécies reativas e defesa do organismo. *Quim. Nova*. 29: 113-123.
- Barsanti, L., Gualtieri, P.(2006)*Algae – Anatomy, Biochemistry and Biotechnology*. CRC Press, Taylor & Francis Group. New York. USA.

Bast, A., Haenen, G.R.M.M., Doelman, C.J.A. (1991) Oxidants and antioxidants: state of the art. *Am J Med*, 91: 2-13.

Bedlovičová, Z. *et al* (2020) A brief overview on antioxidant activity determination of silver nanoparticles. *Molecules*, v. 25, n. 14, p. 1–24.

Beltran, J.E.R. (2019) *Dispositivo portátil para quantificar taninos e flavonoides*. Tese de doutoramento. UFPel, Brasil, RS.

Bernardi, J. (2018). *Variação da atividade antioxidante em macroalgas recifais de Pernambuco*. Tese de Doutorado. 140pp. Recife, Universidade Federal de Pernambuco.

Bitencourt, R. G. *et al* (2014) Fractionated extraction of saponins from Brazilian ginseng by sequential process using supercritical CO₂, ethanol and water. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 92, p. 272–281.

Boveris, A., Cadenas, E., Reiter, R., Chance, B., Jamieson; D. (1986) The relation of free radical production to hyperoxia. *Annu Rev Physiol*, 48: 703-19.

Bugs, L.C., Cupertini, P.M., Wolf, T.C., Treichel, H. (2018) Uso da Biomassa de Algas como Biossorvente para remoção de Metais Pesados: Uma Revisão. *Revista CIATEC – UPF*, vol.10 (1), p.p.53-67.

Bui, D.A., Hauser, P.C. (2015) Analytical devices based on light-emitting diodes – a review of the state-of-the-art. *Analytica Chimica Acta* 853 p. 46–58.

Burton, G. J., Jauniaux, E. (2018) Pathophysiology of placental-derived fetal growth restriction. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, v. 218, n. 2, p. S745–S761.

Cabral, I. S. R., Ligianne; D.S., Lia, F. A., Solange, T. C., Marília, O. (2011). Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante e antimicrobiano. *B.CEPPA*, Curitiba, v. 29, n. 2, p. 181-192.

Cai, J., Lovatelli, A., Aguilar-Manjarrez, J., Cornish, L., Dabbadie, L., Desrochers, A., Diffey, S., Garrido, G.E., Geehan, J., Hurtado, A., Lucente, D., Mair, G., Miao, W., Potin, P., Przybyla, C., Reantaso, M., Roubach, R., Tauati, M., Yuan, X. (2021). Seaweeds and Microalgae: An Overview for Unlocking their Potential in Global Aquaculture Development. *FAO Fisheries and Aquaculture Circular*, 1229. <https://doi.org/10.4060/cb5670en>

Carvalho A. M., Bandeira, S. O. (2003) Seaweed flora of Quirimbas Archipelago, northern Mozambique. In: Chapman ARO, Anderson RJ, Vreeland VJ and Davison IR (eds). *Proceedings of the XVIIth International Seaweed Symposium*, Cape Town, South Africa. Oxford University Press. ISBN 019 850742 9.

Carvalho, L. G. D. (2013). Avaliação do potencial biotecnológico de micro e macroalgas da flora Portuguesa. Universidade de Coimbra.

Cavaco, M., Duarte, A., Freitas, M. v., Afonso, C., Bernardino, S., Pereira, L., Martins, M., & Mouga, T (2021). Seasonal Nutritional Profile of *Gelidium corneum* (Rhodophyta, Gelidiaceae) from the Center of Portugal. *Foods*, 10(10), 2394. <https://doi.org/10.3390/foods10102394>

Cavalcante, M. A, Borges, W.L., Souza T.M. (2024) Phenolic compounds from vegetables: a review of classes, properties, and extraction methods. *Peer Review*, Vol. 6, Nº 10, DOI: 10.53660/PRW-2182-4023 ISSN: 1541-1389.

Chandrasekaran, A., Idelchik, M. D. P. S., Melendez, J. A. (2017) Redox control of senescence and age-related disease. *Redox Biology*, Amsterdam, v. 11, p. 91–102.

Chiellini, F., Morelli, A. (2011) In *Biomaterials-Physics and Chemistry*, R. Pignatello, Ed.; Intech, Rijeka, 75-98.

Choe, J., Kim, Y.H.B., Kim, H.Y., Kim, C.J. (2017). Evaluations of physicochemical and anti-oxidant properties of powdered leaves from lotus, shepherd's purse and goldenrod in restructured duck/pork patties. *Journal of Food Science and Technology*, vol. 54, no. 8, pp. 2494-2502. <http://doi.org/10.1007/s13197-0172693-6>. PMID:28740307.

Chye, F.Y., Ooi, P. W., Ng, S. Y., Sulaiman, M. R. (2018) Fermentation-derived bioactive components from seaweeds: functional properties and potential applications, *Journal of Aquatic Food Product Technology*, vol. 27, no. 2, pp. 144–164.

Cornish, M. L., Garbary, D. J. (2010). Antioxidants from macroalgae: Potential applications in human health and nutrition. *Algae*, 25 (4): 155-171.

Coppejans, E., Richmond, M.D., Clerck, O., Rabesandratona, R. (1997) Marine Macroalgae. Seaweeds. In: MD Richmond (ed) *A Guide to the seashores of eastern Africa and the western Indian Ocean Islands*. Sida. 70-97. 17.

Cossa, N. A. (2018). Estudo das tendências granulométricas na praia de costa do sol.

Crescencio, K.M.M., Venâncio, A.A., Thais, F.R.A., Fernando, B., Pamela, L.P.M., Juliana, F.S., Alessandra, C.R., Vitoria, S., Cecilia, T.B., Paulo, A.H.J., Eduardo, O.B., Marco, V.C. (2019) Extração seriada e caracterização físico-química do ulvan extraído da *Ulva lactuca* Linnaeus. 15o Congresso Brasileiro de Polímeros

Critchley, A.T., Aken, M.E., Bandeira, S.O., Kalk, M. (1994) A revised list of marine algae from Inhaca Island, Mozambique. *South African Journal of Botany*, 37:261–265.

Costa. A. C. S. (2022) *Inovação de uma Iguaria Gastronómica Ancestral através da Fermentação de *Palmaria palmata* e *Ulva rígida**. Tese de mestrado. Universidade NOVA de Lisboa, 135pp.

Da Camara, R. B.G. (2010) *Atividade anticoagulante e antioxidante de extratos brutos ricos em polissacarídeos sulfatados das macroalgas marinhas *Marrons Canistrocarpus cervicornes**. Tese de mestrado. 81pp. Natal, Universidade Federal do Rio Grande do Norte

Dapper, T., Pujarra, S., De Oliveira, A. J., De Oliveira, F. G. (2014) Review of the potentialities of sea macroalgae in agriculture. *Revista em Agronegócios e Meio Ambiente*, v.7, n.2, p. 295-313.

Da Silva, C. G. F. (2016) *Estudo de técnicas de extração de saponinas do fruto de erva mate (*Ilex paraguariensis* St. Hill)*. Tese de mestrado. Porto-alegre, Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

Da Silva, J. M. A. M.C. (2020) Metabolitos Secundários das Macroalgas Castanhas de Elevado Potencial para a Indústria Farmacêutica. Universidade Fernando Pessoa, Porto.

De Carvalho, D. E. M. (2021). *Caracterização físico-química de taninos para uso enológico- propriedades antioxidantes e efeito na copigmentação*. Tese de mestrado, Universidade do Porto. FCUP. Portugal.

Dehghan, G., Khoshkam, Z. (2012) Tin(II)-quercetin complex: synthesis, spectral characterisation and antioxidant activity. *Food Chem.* v.131 p.422– 426.

De Oliveira, A.V. (2022) Algas como fonte alternativa de proteínas e outros nutrientes para a alimentação humana: do cultivo à aplicação. Tese de Bacharel. Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia.

De Souza, F.R. (2015) A influência de taninos na glicemia pós-prandial de cães adultos. acadêmica de Zootecnia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul.

De Queiroz, T.M. (2022) *Biotransformação de esteroides por fungos de ambiente marinho e biossíntese de beta-ceto 1-2-3 trióis derivados de etilnestradiol*. Tese de doutoramento, Universidade de São Paulo. São Carlos.

Dewick, P.M. (2009) *Medinal natural product: a biosynthetic approach*. 2.ed.Chichester. John Wiley.

Dias. V., Uqueio. M., Nhaca. A., Salência, H. (2020a) Qualitative Analysis of Phytocompounds of *Liagora divaricata* and *Trematocarpus flabellatus*, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 10(5):75-81 <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i5.4355>

- Dias, V., Bandeira, S., Chaúque, E., Lipassula, M., Mussagy, A. (2020b) Evaluation of Phytocompounds and Chemical Elements Present In Selected Species of Seaweeds, to Sustain Future Quantitative Analysis for Bioactive Compounds, *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*. 10(5):232-239. <http://dx.doi.org/10.22270/jddt.v10i5.4422>
- D’Orazio, N., Gemello, E., Gammone, M. A., De Girolamo, M., Ficoneri, C., Riccioni, G. (2012) Fucoxantin: A treasure from the sea. *Marine drugs*, 10 (3): 604-616.
- Dos Santos, T. C., Obando, J. M. C., Cavalcanti, D. N., Martins, R. C. C. (2023) Seaweed natural products of the Dictyotaceae family: antifungal and antioxidant bioactive potential. *Revista Biodiversidade*, v.22, n.3, pág. 55.
- El-said, G. F., EL-Sikaily, A. (2013) Chemical composition of some seaweed from Mediterranean Sea coast, Egypt. *Environmental Monitoring and Assessment*, Dordrecht, v. 185, n. 7, p. 6089–6099.
- Falcão, L., Araújo, M.E.M. (2014) Application of FTIR spectroscopy to the analysis of tannins in historic leathers: the case study of the upholstery from the 19th century Portuguese Royal Train. *Vib. Spectrosc.* v.74, p.98–103.
- FAO (2021) FAO yearbook 2019: Fishery and aquaculture statistics: Aquaculture production. Rome, Italy: Food and Agriculture Organization of the United Nations. https://www.fao.org/fishery/static/Yearbook/YB2019_USBcard/navigation/index_content_aquaculture_e.htm
- Ferdouse, F., Holdt S. L., Smith, R., Muru’a, P., Yang, Z. (2018) The global status of seaweed production, trade and utilization, *Globefish Research Programme*, vol. 124.
- Nayar, S; Bott, K. (2014) “Current status of global cultivated seaweed production and markets,” *World Aquaculture Society*, vol. 45, no. 2, pp. 32–37.
- Ferreira, K. C., Leticia, G.A., Neuza, B.B., Rogelio, R. B., Celina A.B.L. (2021) *Acmella oleracea*, medicinal plant used as pain relief: colorimetric analysis of secondary metabolites. *Brazilian Journal of Development*, Curitiba, v.7, n.10, p. 101171-101183. DOI:10.34117/bjdv7n10-435.
- Fraga-Corral, M., García, O. P., Pereira, A. G., Lourenço, L. C., Jimenez, L.C., Prieto, M. A., Simal, G, J. (2020) Technological Application of Tannin-Based Extracts. *Molecules*. <https://doi.org/10.3390/molecules25030614>.
- Gaspar, C. G. L. (2021) Turismo e degradação ambiental na praia da costa do sol: Análise das transformações das características naturais (2010-2020). Escola Superior de Hotelaria e Turismo de Inhambane.

- Giro, Z. G., Reyes, M. F., Corbal, P. B., Castro, A. C., & Pérez, Y. V. (2015). Preliminary phytochemical analysis of two extracts of *Padina gymnospora* Algae. *Biotechnia*, 17(2), 26-29.
- Grasel, F. D. S., Ferrão, M.F., Wolf, C.R. (2016) Ultraviolet spectroscopy and chemometrics for the identification of vegetable tannins, *Ind. Crops Prod.* 91 p.279–285.
- Guimarães, A.P., Amaro, G.N., David, B.B.R., Thayna, G.S., Lucas, D. D. (2024) Recent advances in analytical methodologies using high performance liquid chromatography for determining ascorbic acid content in pharmaceutical formulations. *Brazilian Journal of Health Review*, Curitiba, v. 7, n. 9, p 25.
- Hauser P.C., Chiang, D.W.L. (1993) *Talanta*, 40, p.1193.
- Hoguana, A.M. (2007) Diagnosis of Mozambique Coastal Zone. Universidade Eduardo Mondlane, Escola Superior de Ciências Marinhas e Costeiras, Chuabo Dembe, P.O.Box 128, Quelimane, Moçambique. *Revista de Gestão Costeira Integrada* 7(1):69-82.
- Hostettmann, K., Marston, A. (2005) *Saponins*. [s.l.] Cambridge University Press.
- Inacio, L.D.G. (2023) *Biomassa de algas vermelhas – caracterização química e bioatividades*. Escola Superior de Turismo e Tecnologia do mar. Tese de mestrado, Portugal.
- Pereira, I. J. J. F., Mondlane, E., Do Nascimento, F. R. (2016) Avaliação dos recursos naturais na ilha da Inhaca (Oceano Índico, Moçambique) ISSN: 1984-8501 *Bol. Goia. Geogr.* (Online). Goiânia, v. 36, n. 2, p. 307-326.
- Irkin, L. C., Yayintas, O. (2018) Pharmacological Properties and Therapeutic Benefits of Seaweeds A Review. *International Journal of Trend in Scientific Research and Development*, Amreli, v. 2, n. 2, p. 1126–1131.
- Isaac, W.E. (1957) Some Marine Algae from Xai-Xai, *South African Journal of Botany*, 23:75-102.
- Jacobsen, C., Ann-Dorit, M.S., Susan, L.H; Casimir, C.A., Ditte, B.H. (2019) Source, Extraction, Characterization, and Applications of Novel Antioxidants from Seaweed. *Annu. Rev. Food Sci. Technol.* 10:541–68.
- Tang, Y.Q., Kaiser M., Ruqya, S; Muhammad, F. A. (2016) *Ulva Lactuca* and Its Polysaccharides: Food and Biomedical Aspects. *Journal of Biology, Agriculture and Healthcare* Vol.6, No.1

Jose, J., Xavier, J. (2020) Study of mineral and nutritional composition of some seaweeds found along the coast of Gulf of Mannar, India. *Plant Science Today*, 7(4), 631–637. <https://doi.org/10.14719/PST.2020.7.4.912>

Kennedy, J.A., Taylor, A.W. (2003) Analysis of proanthocyanidins by high-performance gel permeation chromatography, *J. Chromatogr. A*, v. 995, p. 99–107.

Kumar, Y., Ayon, T., Prarabdh, C. B. (2021) Seaweed as a Source of Natural Antioxidants: Therapeutic Activity and Food Applications. *Journal of Food Quality*. Volume 2021, Article ID 5753391, 17 pages.

Kumari, P., Kumar, M., Gupta, V., Reddy, C.R.K., Jha, B. (2010) Tropical marine macroalgae as potential sources of nutritionally important PUFAs. *Food Chemistry*. 120, 749–757.

Kumar, Y., Ayon, T., Prarabdh, C. B. (2021) Seaweed as a Source of Natural Antioxidants: Therapeutic Activity and Food Applications. *Journal of Food Quality*. Volume 2021, Article ID 5753391, 17 pages <https://doi.org/10.1155/2021/5753391>

Ky, I., Le Floch, A., Zeng, L., Pechamat, L., Jourdes, M., Teissedre, P.L. (2016) Tannins; Caballero, B., Finglas, P. M., Toldrá, F. B. T.-E. of F. and H., Eds.; Academic Press: Oxford, pp 247–255. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-384947-2.00683-8>.

Lee, R. (2008) *Phycology*, Colorado State University, USA: Cambridge University Press.

Lee, Jechan., Rai, P.k., Jeon, J. J., Ki-hyun, K., Kwon, E. E. (2017). The role of algae and cyanobacteria in the production and release of odorants in water. Vol. 227.P.252-262, Dordrecht, Environmental Pollution.

Liang, Z., Han, D., Han, F., Wu, Z., Zhao, X., Fu, W., Wang, W., Han, D. & Niu, L. (2021) Novel strategy of natural antioxidant nutrition quality evaluation in food: oxidation resistance mechanism and synergistic effects investigation. *Food Chemistry*, vol. 359, pp. 129768. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2021.129768>. PMID:33957329.

Lovison, C., Crestani, A. C., Marcante, M., Margarites, A. C., Dickel, E., Colla, L. M., Bertolin, T. E. (2007) Laboratório de Aulas Práticas, Curso de Engenharia de Alimentos, Universidade de Passo Fundo.

Freitas, T. B., Batista, E. A., Silva, N. C. (2023) Analysis of the presence of saponin in the plant drug salsaparrilha (*Smilax spp.*) *Journal of Exact Sciences*. Vol.37, n.2, pp. 30-32.

Mabunda, A. M. (2019) *Identificação de minerais presentes nos sedimentos da praia da Costa de Sol, Maputo*. Tese de licenciatura, ESCMC.

Macka, M., Piasecki T., Dasgupta, P. K. (2014) Light-emitting diodes for analytical chemistry, *Annu. Rev. Anal. Chem.* (Palo Alto Calif.) v.7, p.183– 207.

Makkar, H. (2003) Quantification of Tannins in Tree and Shrub Foliage. <https://doi.org/10.1007/97894-017-0273-7>.

Mamet, T., Ge, Z., Zhang, Y., Li, C. (2018) Interactions between highly galloylated persimmon tannins and pectins. *International Journal of Biological Macromolecules* v.106, p.410–417.

Marmitt, D.J., Eliete, D. F. M, Fabiele, M., Adriane, F., Ediana, A.R.B. (2015) Avaliação quali-quantitativa de algas marinhas macrófitas ocorrentes na Praia da Vigia, Garopaba/SC. Artigo científico, Revista CEPSUL - *Biodiversidade e Conservação Marinha*. 4 (1): 5-15.

Massingue, A. O., Bandeira, S. O. (2005) Distribution of Seagrasses and Common Seaweeds around Nampula Province (Northern Mozambique) with emphasis to Mozambique Island. *Western Indian Ocean Journal of Marine Science*, 4:175–183.

MeI, S. *et al.* (2019) Studies on Protection of Astaxanthin from Oxidative Damage Induced by H₂O₂ in RAW 264.7 Cells Based on 1H NMR Metabolomics. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 67, n. 49, p. 13568–13576.

Mekinić, I, G. *et al.* (2019) Phenolic content of brown algae (Pheophyceae) species: Extraction, identification, and quantification. *Biomolecules*, Basel, v. 9, n. 6.

Michalak, I., Tiwari, R., Dhawan, M., Alagawany, M., Farag, M. R., Sharun, K., Emran, T. Bin, & Dhama, K. (2022) Antioxidant effects of seaweeds and their active compounds on animal health and production—a review. *Veterinary Quarterly*, 42(1), 48–67. <https://doi.org/10.1080/01652176.2022.2061744>

Milinic, J., Mata, P., Diniz, M., & Noronha, J. P. (2021) Umami Taste in Edible Seaweeds: The Current Comprehension and Perception. *International Journal of Gastroonomy and food science*, 23 (June 2020), 100301. <https://doi.org/10.1016/j.ijgfs.2020.100301>

Ministério da Cultura e Turismo (2020) Moçambique Sobre Moçambique: Praias. Maputo, Moçambique. Disponível em: <https://www.turismomocambique.co.mz/pt/>. Acesso em: 12 jan. 2020.

Ministério para a coordenação da ação ambiental. (2013) *Diagnóstico Ambiental*. Maputo, Mocambique.Vol.1

Mintel. (2021) Global Food and drink Trends

Mouritsen, O. G., & Styrbæk, K. (2020). Design and ‘Umamification’ of Vegetable Dishes for Sustainable Eating. *International Journal of Food Design*, 5 (1–2), 9–42.

Nassar, C. (2012) Macroalgas marinhas do Brasil: Guia de campo das principais espécies. 1 ed. Rio de Janeiro: Technical Books, .178p.

Neffati, N., Aloui, Z., Karoui, H., Guizani, I.; Boussaid, M., Zaouali, Y. (2017) Phytochemical composition and antioxidant activity of medicinal plants collected from the Tunisian flora. *Natural Product Research*, v. 23, p. 1-6, 2017.

Neish, I.C., Sepulveda, M., Hurtado, A.Q., Chritchley, A.T. (2017) Reflections on the commercial development of eucheumatoid seaweed farming. In: Tropical Seaweed Farming Trends, Problems and Opportunities. Focus on Kappaphycus and Eucheuma [ed. by Hurtado, A.Q., Critchley, A.T., Neish, I.C.]. Springer. 1-28.

Nelson, C.R. (2014) The cytochrome P450. Human Genomics, London, v.4, p59-65.

Oleszek, W. A. (2002) Chromatographic determination of plant saponins. *Journal of Chromatography A*, v. 967, n. 1, p. 147–162.

Pereira, L. (2007) As Algas Marinhas e Respectivas Utilidades. Departamento de Botânica – Universidade de Coimbra.

Pereira, M.O. (2010) *Estudo Comparativo de Métodos de Avaliação da Capacidade Antioxidante de Compostos Bioativos*. Tese de mestrado. Universidade Técnica de Lisboa. Lisboa.

Pinteus, S.F.G. (2012) *Avaliação da capacidade antioxidante e antimicrobiana em algas da costa de Peniche (Portugal): identificação de compostos bioativos com elevado potencial biotecnológico*. Tese de mestrado, IPL, Portugal.

Prieto, P., Pineda, M., Aguilar, M. (1999) Spectrophotometric quantitation of antioxidant capacity through the formation of a Phosphomolybdenum Complex: specific application to the determination of vitamin E. *Anal Biochem*. 269(2)337-41. Disponível em: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10222007>.

Pisoschi, A. M.; Pop, A. (2015) The role of antioxidants in the chemistry of oxidative stress: A review. *European Journal of Medicinal Chemistry*, v. 97, p. 55–74.

Preez, R. du., Magnusson, M., Majzoub, M. E., Thomas, T., Praeger, C., Glasson, C. R. K., Panchal, S. K., Brown, L., Brown seaweed *Sargassum siliculosum* as an intervention for diet-induced obesity in male wistar rats. *Nutrients*, V. 13, 1754.

Pujol, A., Ospina-E, J.C., Alvarez, H. & Muñoz, D. A. (2023) Myoglobin content and oxidative status to understand meat products’ color: phenomenological based model.

Journal of Food Engineering, vol. 348, pp. 111439.
<http://doi.org/10.1016/j.jfoodeng.2023.111439>.

Raposo, A., João, E. (2024) Therapeutic potential of *Momordica balsamina* L.: A literature review. *Acta Farmacêutica Portuguesa* 2024 vol. 13, n.1, pp.35-41.

Raymundo, M. D. S., Paulo, H., Roseane, F. (2004) Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil). *Rev. Bras. Cienc. Farm. Braz. J. Pharm. Sci.* vol. 40, n. 4.

Rodrigues, M. S. (2015) *Caracterização da composição nutricional da macroalga Fucus vesiculosus e a alteração dos compostos bioativos nos diferentes métodos de secagem*. Tese de mestrado. Instituto superior de bragança ISB, Bragança.

Saad, E.M., Reda, F. E., Safaa, A.M, Khalid, M. E. (2021) New *Ulva lactuca* Algae Based Chitosan Bio-composites for Bioremediation of Cd(II) Ions. *Journal of Bioresources and Bioproducts* 6, 223–242. <https://doi.org/10.1016/j.jobab.2021.04.002>.

Serrano, J., Puupponen-Pimiä, R., Dauer, A., Aura, A. M., Saura-Calixto, F. (2009) Tannins: Current Knowledge of Food Sources, Intake, Bioavailability and Biological Effects. *Mol. Nutr. Food Res.* 53 Suppl 2, S310-29. <https://doi.org/10.1002/mnfr.200900039>.

Silva, M.M.C. L. (2021) *Comparação do potencial antioxidante in vitro, em cultivo de células e in vivo de fucoidans obtidos comercialmente*. Tese de mestrado, Natal. Universidade federal do rio grande do Norte.

Simões, C. M. O. (2007) *Farmacognosia: da Planta ao Medicamento*. 6. ed. Florianópolis: UFSC; Porto Alegre.

Simonetti, A., Perna, A., & Gambacorta, E. (2019) Comparison of antioxidant compounds in pig meat from Italian autochthonous pig Suino Nero Lucano and a modern crossbred pig before and after cooking. *Food Chemistry*, vol. 292, pp. 108-112. <http://doi.org/10.1016/j.foodchem.2019.04.057>. PMID:31054652.

Shannon, E., & Abu-Ghannam, N. (2019) Seaweeds as Nutraceuticals for Health and Nutrition. *Phycologia*, 58 (5), 563–577. <https://doi.org/10.1080/00318884.2019.1640533>

Seddek, N. H., Fawzy, M. A., El-Said, W. A., Ragaey, M. M. (2019) Evaluation of antimicrobial, antioxidant and cytotoxic activities and characterization of bioactive substances from freshwater blue-green algae. *Global Nest*, Athens, V-12.

Shibata, T., Kawaguchi, S., Hama, Y., Inagaki, M., Yamaguchi, K., Nakamura, T. (2004) Local and Chemical Distribution of Phlorotannins in Brown Algae. *J. Appl. Phycol.* 16 (4), 291–296. <https://doi.org/10.1023/B:JAPH.0000047781.24993.0a>.

Sousa, M. B., Pires, K. M. S., Alencar, D. B., Sampaio, A. H., Saker-Sampaio S. (2008) α , β -caroteno e α -tocoferol em algas marinhas “*in natura*”. *Ciência e Tecnologia de Alimentos*, v. 28, n. 4, p.953-958.

Sucupira, N. R., Silva, A. B., Pereira, G., Costa, J. N. (2012) Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. *UNOPAR Científica Ciências Biológicas e da Saúde*, v. 14, n. 4, p. 263-269. DOI: 10.17921/2447-8938.2012v14n4p%25p.

Vasconcelosa, T. B., Cardoso, A. R. N. C., Josinoc, J. B., Raimunda Hermelinda Maia Macenad, R. H. M., Bastose, V. P. D. (2014) Antioxidants and Free Radicals: Peril or Protection? *UNOPAR, Cient Ciênc Biol Saúde* ;16(3):213-9.

Tondi, G., Petutschnig, A. (2015) Middle infrared (ATR FT-MIR) Characterization of industrial tannin extracts, *Ind. Crops Prod.* v.65, p.422– 428.

Traquinho, E. F. (2022). *Análise da percepção ambiental dos pescadores da costa do sol em relação ao contributo na conservação das espécies marinhas*. Tese de Licenciatura. Departamento de Educação em Ciências Naturais e Matemática. Universidade Eduardo Mondlane.

Tziveleka, L. A., Pippa, N., Georgantea, P., Ioannou, E., Demetzos., V. Roussis (2018) *Int. J. Biol. Macromol.*, 118, 69–75.

Vasconcelos, B. M. D. F., Gonçalves, A. G. (2013) Macroalgae and theirs uses - alternatives for brazilian industries. *Revista Verde (Mossoró – RN - BRASIL*, v. 8, n. 5, p. 125 - 140, (Edição Especial) dezembro.

Verma, P., Arun, A., Dinabandhu, S. (2015) Brown Algae. Em: *The Algae World*. Dordrecht: Springer Netherlands, p. 177–204.

Vidro, C.D.A. (2024) Impactos da Crise Ambiental Causados pelo Desenvolvimento de Actividades dos Utentes da Praia da Costa do Sol

Vieira, L.C.C. (2010) *Síntese de uma coleção de cumarinas, possíveis inibidores da enzima acetilcolinesterase*. Tese de mestrado, Universidade Federal de São Paulo, SP.

Vignault, A., González-Centeno, M. R., Pascual, O., Gombau, J., Jourdes, M., Moine, V., Iturmendi, N., Canals, J. M., Zamora, F., Teissedre, P. L. (2018) Chemical Characterization, Antioxidant Properties and Oxygen Consumption Rate of 36 Commercial Oenological. *Food. Chem.* <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.06.031>

Vizzotto, E. (2017) Radicais livres e mecanismos de proteção antioxidante. *Disciplina de Fundamentos Bioquímicos dos Transtornos Metabólicos*, Programa de Pós-Graduação em Ciências Veterinárias, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 10p.

Wina, E., Muetzel, S., Becker, K. (2005) The Impact of Saponins or Saponin-Containing Plant Materials on Ruminant ProductionA Review. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, v. 53, n. 21, p. 8093–8105.

Yakoub, A. R. B., Abdehedi, O., Jridi, M., Elfalleh, W., Nasri, M. (2018) Flavonoids, phenols, antioxidant, and antimicrobial activities in various extracts from Tossa jute leave (*Corchorus olitorus* L.). *Industrial Crops & Products*, v. 118, p. 206- 213.

Yeh, N., Yeh, P., Shih, N., Byadgi, O., Cheng T. C. (2014) Applications of light-emitting diodes in researches conducted in aquatic environment. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*32. p.611–618.

11. Anexos

1. Valores das absorbâncias dos extractos de metanol, obtidos a partir do cálculo da Concentração inibitória mínima) IC50.

□ Macroalga *Ulva lactuca*

	Concentrações de diluição		
	10 ¹	10 ²	10 ³
Absorbâncias	0,724	0,408	0,373
	0,670	0,535	0,475
	0,722	0,602	0,526
Médias	0,705	0,515	0,458
Desvio Padrão	0,031	0,099	0,078

□ Macroalga *Padina boryana*

	Concentrações de diluição		
	10 ¹	10 ²	10 ³
Absorbâncias	0,714	0,460	0,393
	0,681	0,479	0,383
	0,757	0,431	0,393
Médias	0,718	0,456	0,390
Desvio Padrão	0,038	0,024	0,006

□ Macroalga *Kappaphycus alvarezii*

	Concentração de diluição		
	10 ¹	10 ²	10 ³
Absorbâncias	0.403	0.245	0.333
	0.378	0.408	0.288
	0.378	0.378	0.237

Médias	0.387	0.344	0.286
Desvio Padrão	0.014	0.087	0.048

□ **Macroalga *Eucheuma denticulatum***

	Concentração de diluição		
Absorbâncias	10¹	10²	10³
	0.422	0.403	0.388
	0.535	0.275	0.383
	0.507	0.345	0.351
Médias	0.488	0.341	0.374
Desvio Padrão	0.059	0.064	0.020

2. Valores das absorbâncias dos extractos de acetona, obtidos a partir do cálculo da concentração inibitória mínima (IC50).

□ **Macroalga *Ulva lactuca***

	Concentração de diluição		
Absorbancias	10¹	10²	10³
	0.729	0.484	0.279
	0.722	0.402	0.329
	0.728	0.424	0.338
Médias	0.726	0.437	0.315
Desvio padrão	0.004	0.042	0.031

□ **Macroalga *Padina boryana***

	Concentração de diluição		
Absorbâncias	10 ¹	10 ²	10 ³
	0.538	0.347	0.234
	0.495	0.372	0.222
	0.495	0.279	0.197
Media	0.509	0.333	0.218
Desvio	0.025	0.048	0.019

□ **Macroalga *Kappaphycus alvarezii***

	Concentração de diluição		
Absorbâncias	10 ¹	10 ²	10 ³
	0.364	0.347	0.918
	0.338	0.364	0.918
	0.338	0.197	0.920
Média	0.346	0.302	0.919
Desvio padrão	0.015	0.092	0.001

□ **Macroalga *Euchuema denticulatum***

	Concentração de diluição		
Absorbancias	10 ¹	10 ²	10 ³
	0.310	0.319	0.210
	0.279	0.300	0.155
	0.942	0.402	0.234
Média	0.511	0.341	0.200
Desvio padrão	0.374	0.054	0.041

Valores de absorbancia do acido ascobico

Absorbâncias	Concentracoes de diluicao		
	10 ¹	10 ²	10 ³
	0.974	0.881	0.573
	0.965	0.882	0.586
	0.964	0.886	0.604
Média	0.968	0.883	0.588
Desvio padrão	0.005	0.003	0.016

3. Comparação da concentração do Ácido ascórbico presente na macroalga *Padina boryana* no extracto de metanol e acetona.

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Variável 1	Variável 2
Média	1.519196	2.547372
Variância	0.01506	0.035487
Observações	3	3
Yp+	0	
Gl	3	
Stat t	-7.92098	
P(T<=t) uni-caudal	0.002098	
t crítico uni-caudal	2.353363	
P(T<=t) bi-caudal	0.004195	
t crítico bi-caudal	3.182446	

Interpretação : Há diferenças significativas nas concentrações do ácido ascórbico no extracto de metanol e acetona na macroalga *Padina boryana*, rejeitando-se a Hipótese nula.

4. Comparação da concentração do Ácido ascórbico presente na macroalga *Ulva lactuca* no extracto de metanol e acetona.

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	2.59186	2.488054
Variância	0.00035	0.022904
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	2	
Stat t	1.179064	
P(T<=t) uni-caudal	0.179819	
t crítico uni-caudal	2.919986	
P(T<=t) bi-caudal	0.359638	
t crítico bi-caudal	4.302653	

Interpretação : Não há diferenças significativas nas concentrações do ácido ascórbico no extracto de metanol e acetona na macroalga *Ulva lactuca* $P_{0.179} > 0.05$ aceitando-se a Hipótese nula.

5. Comparação da concentração do Ácido ascórbico presente na macroalga *Kappaphycus alvarezii* no extracto de metanol e acetona.

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	<i>Variável 1</i>	<i>Variável 2</i>
Média	3.542593508	0.911188
Variância	3.25797E-05	0.005091
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	2	
Stat t	63.67655999	
P(T<=t) uni-caudal	0.000123268	
t crítico uni-caudal	2.91998558	
P(T<=t) bi-caudal	0.000246536	
t crítico bi-caudal	4.30265273	

Interpretação : Há diferenças significativas nas concentrações do ácido ascórbico no extracto de metanol e acetona na macroalga *Kappaphycus alvarezii*, rejeitando-se a Hipótese nula.

6. Comparação da concentração do Ácido ascórbico presente na macroalga *Eucheuma denticulatum* no extracto de metanol e acetona.

Teste-t: duas amostras presumindo variâncias diferentes

	Variável 1	Variável 2
Média	1.524139	1.413742
Variância	3.42068	0.084618
Observações	3	3
Hipótese da diferença de média	0	
Gl	2	
Stat t	0.102131	
P(T<=t) uni-caudal	0.463985	
t crítico uni-caudal	2.919986	
P(T<=t) bi-caudal	0.92797	
t crítico bi-caudal	4.302653	

Interpretação : Não há diferenças significativas nas concentrações do ácido ascórbico no extracto de metanol e acetona na macroalga *Eucheuma denticulatum*, aceitando-se a Hipótese nula.