

CENTRO DE TECNOLOGIA DA INDÚSTRIA QUÍMICA E TÊXTIL
FACULDADE DE ENGENHARIA QUÍMICA SENAI: CENTRO DE TECNOLOGIA DA
INDÚSTRIA QUÍMICA E TÊXTIL

Marina da Silva Leite

**EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DA ALGA MARROM *Macrocystis pyrifera*
PARA PRODUÇÃO DE BIOATIVOS COM APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS E
BIOFÁRMACOS**

Rio de Janeiro

2022



SENAI CETIQT



Marina da Silva Leite

**EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DA ALGA MARROM *Macrocystis pyrifera*
PARA PRODUÇÃO DE BIOATIVOS COM APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS E
BIOFÁRMACOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de graduação em engenharia química, da Faculdade de Engenharia Química SENAI CETIQT, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em engenharia química.

Orientador(a): Marta Cristina Picardo

Rio de Janeiro

2022

Ficha Catalográfica

n. autor Leite, Marina da Silva.

Extração de polissacarídeos da alga marrom *Macrocystis pyrifera* para produção de bioativos com aplicação em cosméticos e biofármacos / Marina da Silva Leite. 2022

n.º. f.: il.

Orientador: Marta Cristina Picardo

Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Química) – Centro de Tecnologia da Indústria Química e Têxtil, Faculdade de Engenharia Química Senai: Centro de Tecnologia da Indústria Química e Têxtil, Barra da Tijuca, Rio de Janeiro, 2022.

1. *Macrocystis pyrifera*. 2. Extrações. 3. Análises. 4. Alginato. 5. *Fuoidan*. I. Título.

Marina da Silva Leite

**EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS DA ALGA MARROM *Macrocystis pyrifera*
PARA PRODUÇÃO DE BIOATIVOS COM APLICAÇÃO EM COSMÉTICOS E
BIOFÁRMACOS**

Trabalho de conclusão de curso apresentado ao curso de graduação em engenharia química, da Faculdade de Engenharia Química SENAI CETIQT, como requisito parcial para obtenção do título de bacharel em engenharia química.

Aprovada em:

Aprovado por:

Orientador: Marta Cristina Picardo

Banca Examinadora:

Hector Napoleão Cozendey da Silva, D. Sc., SENAI CETIQT

Letícia Quinello Pereira, D. Sc., SENAI CETIQT

Mauro Sergio Gonçalves Pavão, Ph.D, UFRJ

Rio de Janeiro

2022



SENAI CETIQT



AGRADECIMENTOS

Primeiramente, gostaria de agradecer a Deus, porque sem ele ao meu lado, não iria conseguir está no local e na formação que estou hoje. Por sempre ter me guardado e me ajudado a caminhar nas batalhas e lutas da vida.

Sou grata imensamente a minha família por sempre estarem me apoiando e me ajudando em cada período, pois eles viram o quanto foi puxado esses últimos anos, e sempre me dando suporte.

Agradeço imensamente ao meu pai Nazareno de Souza Leite, por ter me dado suporte em todos os lados da vida, por todos os conselhos e ensinamentos, sem ele me ajudando, eu não estaria exercendo o curso dos meus sonhos. A minha mãe Mariza Celestina da Silva, pelos suportes e conselhos. Meus pais e familiares, que apesar das lutas, sempre irão estar no meu coração.

Ao meu namorado Emanuel da Silva Costa, que por todas as lutas e estresses que ele teve que aguentar em todos os períodos, sempre esteve ao meu lado e me incentivando a seguir em frente para concretizar o primeiro passo do meu sonho, a minha formação.

Agradeço também aos amigos que formei durante a graduação, que nos tornamos um grupo que sempre se ajudou nos períodos. Aos professores que tive em cada período, que sempre estarão no meu coração, pois foram eles que fizeram parte da grande maioria da possibilidade da minha formação. Além dos meus amigos do laboratório, e principalmente ao meu Orientador Mauro, que me deu uma oportunidade de fazer parte dos projetos, agradeço por todos os ensinamentos e conselhos recebidos, irei levar para toda minha vida.



RESUMO

Alginato e *fucoïdan* são polissacarídeos sulfatados presentes na matriz celular das algas pardas. Perante a grande demanda de estudos voltados para a formulação de cosméticos e fármacos, os polissacarídeos das algas se destacam em razão de apresentarem grandes propriedades como atividades antiproliferativas, antioxidantes, anti-inflamatórias e estabilizantes. Este trabalho visa a extração do alginato e *fucoïdan* presentes na alga, com a caracterização química dos polissacarídeos e aplicabilidades dos mesmos. Para tanto, procedam-se à extração da alga marinha *Macrocystis pyrifera*, por meio de hidrólise ácida e precipitações seletivas com etanol 70% para *fucoïdan* e 50% para alginato, realizados no *Laboratório de Tecidos Conjuntivos do Hospital Universitário - UFRJ*. Para melhor avaliação foram realizadas 6 extrações ao todo. As análises para a caracterização se basearam em dosagens de hexose pelo método fenol-sulfúrico, dosagem de ácido hexurônico por meio da reação do carbazol, eletroforese em gel de agarose, cromatografia de troca iônica e espectroscopia de infravermelho. Observou-se que o melhor peso seco foi da 1ª extração com rendimento de 20,20% de alginato e 9,85% de *fucoïdan*. A extração apresentou teor de ácido hexurônico de 0,601 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) para o alginato e 0,112 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) para *fucoïdan*, teor de açúcar total de 0,203 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) para alginato e 0,313 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) para *fucoïdan*. A presença de grupamentos sulfatos nas extrações podem ser analisadas mediante a metacromasia com o uso de corante azul de toluidina, através da eletroforese em gel de agarose, e por meio de vibrações características na espectroscopia de infravermelho. Quanto a precipitação em concentrações de sal, o alginato da 6ª extração precipitou-se em 6,0 g/mL enquanto o *fucoïdan* em 8,0 g/mL. Portanto, conclui-se que, as aplicabilidades dos polissacarídeos selecionados, foram por intermédio da presença de alginato e *fucoïdan*, juntamente as propriedades identificadas como espessantes, emulsificantes e atividades antiproliferativas nas análises realizadas.

Palavras-chave: *Macrocystis pyrifera*, extrações, análises, alginato, *fucoïdan*



ABSTRACT

Alginate and fucoidan are sulfated polysaccharides present in the cellular matrix of brown algae. In view of the great demand for studies aimed at the formulation of cosmetics and drugs, algae polysaccharides stand out due to their great properties such as antiproliferative, antioxidant, anti-inflammatory and stabilizing activities. This work aims at the extraction of alginate and fucoidan present in the seaweed, with the chemical characterization of the polysaccharides and their applicability. To do so, extract the seaweed *Macrocystis pyrifera*, by means of acid hydrolysis and selective precipitation with 70% ethanol for fucoidan and 50% for alginate, carried out at the Connective Tissue Laboratory of the University Hospital - UFRJ. For better evaluation, 6 extractions were performed in total. Through these, the characterization analyzes were based on hexose dosages by the phenol-sulfuric method, hexuronic acid dosage by means of the carbazole reaction, agarose gel electrophoresis, ion-exchange chromatography and infrared spectroscopy. Thus, it is observed that the best dry weight was from the 1st extraction with a yield of 20.20% of alginate and 9.85% of fucoidan. The extraction showed hexuronic acid content of 0.601 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) for alginate and 0.112 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) for fucoidan, total sugar content of 0.203 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) for alginate and 0.313 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) for fucoidan. The presence of sulfate groups in the extractions can be analyzed through metachromasia with the use of toluidine blue dye, through agarose gel electrophoresis, and through characteristic vibrations in infrared spectroscopy. As for precipitation in salt concentrations, the alginate from the 6th extraction precipitated at 6.0 g/mL while the fucoidan at 8.0 g/mL. Therefore, it is concluded that the applicability of the selected polysaccharides was through the presence of alginate and fucoidan, together with the properties identified as thickeners, emulsifiers and antiproliferative activities in the analyzes carried out.

Keywords: *Macrocystis pyrifera*, extractions, analysis, alginate, fucoidan



LISTA DE FIGURAS

Figura 2.1 -	Alga Vermelha - <i>Rhodophyta</i>	21
Figura 2.2 -	Algas Vermelhas.....	22
Figura 2.3 -	Divisão Chlorophyta.....	23
Figura 2.4 -	Algas Verdes.....	23
Figura 2.5 -	Alga parda – <i>Macrocystis Pyrifera</i>	24
Figura 2.6 -	Algas pardas.....	24
Figura 2.7 -	<i>Macrocystis Pyrifera</i>	26
Figura 2.8 -	Floresta de <i>Macrocystis Pyrifera</i>	26
Figura 2.9 -	Ciclo de vida da <i>Macrocystis Pyrifera</i>	28
Figura 2.10 -	Estrutura química do <i>fucoïdan</i>	29
Figura 2.11 -	Estrutura química do alginato de sódio.....	31
Figura 2.12 -	Características da estrutura química do alginato de sódio.....	32
Figura 3.1 -	Premissas adotadas para a realização das extrações.....	37
Figura 3.2 -	Fluxograma do processo de extração realizado no laboratório.....	38
Figura 3.3 -	Fluxograma da análise de ácido hexurônico nas amostras.....	42
Figura 3.4 -	Fluxograma da análise de hexose nas amostras.....	43
Figura 4.1 -	Dosagem padrão de Ácido hexurônico.....	48
Figura 4.2 -	Teor de hexurônico em cada extração.....	49
Figura 4.3 -	Dosagem padrão de Açúcares totais.....	50
Figura 4.4 -	Teor de açúcares totais em cada extração.....	51
Figura 4.5 -	Eletróforese em gel de agarose das amostras de <i>fucoïdan</i> das extrações	53
Figura 4.6 -	Eletróforese em gel de agarose das amostras de alginato das extrações.....	54
Figura 4.7 -	Cromatografia do padrão de alginato.....	55
Figura 4.8 -	Cromatografia do padrão de <i>fucoïdan</i>	55
Figura 4.9 -	Cromatografia do padrão de alginato e <i>fucoïdan</i>	56
Figura 4.10 -	Cromatografia da 1ª extração de alginato e <i>fucoïdan</i>	56
Figura 4.11 -	Cromatografia da 2ª extração de alginato e <i>fucoïdan</i>	57
Figura 4.12 -	Cromatografia da 3ª extração de alginato e <i>fucoïdan</i>	57
Figura 4.13 -	Cromatografia da 4ª extração de alginato e <i>fucoïdan</i>	58
Figura 4.14 -	Cromatografia da 5ª extração de alginato e <i>fucoïdan</i>	58



Figura 4.15 - Cromatografia da 6ª extração de alginato e <i>fucoïdan</i>	59
Figura 4.16 - Espectrofotometria de infravermelho referentes ao <i>fucoïdan</i>	61
Figura 4.17 - Espectrofotometria de infravermelho referentes ao alginato.....	63



LISTA DE QUADROS

Quadro 2.1 -	Propriedades específicas do fucoidan para cada aplicação.....	34
Quadro 2.2 -	Propriedades específicas do alginato para cada aplicação.....	35
Quadro 4.1 -	Aplicabilidades de alginato e fucoidan.....	65



LISTA DE TABELAS

Tabela 4.1 - Rendimentos das extrações de alginato e <i>fucoïdan</i>	46
Tabela 4.2 - Ácidos hexurônicos do alginato e <i>fucoïdan</i>	48
Tabela 4.3 - Açúcares totais do alginato e <i>fucoïdan</i>	51



SUMÁRIO

1. CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO	14
1.1. INTRODUÇÃO	14
1.2. OBJETIVOS	16
1.2.1. Objetivo geral	16
1.2.2. Objetivos específicos	16
1.3. JUSTIFICATIVA	17
1.4. DELIMITAÇÃO DO TRABALHO	17
2. CAPÍTULO 2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	18
2.1. INDÚSTRIAS QUE APLICAM POLISSACARÍDEOS	18
2.1.1. Indústria farmacêutica	18
2.1.2. Indústria de cosméticos	19
2.2. ALGAS MARINHAS	20
2.2.1. Macroalgas	20
2.2.2. <i>Macrocystis pyrifera</i>	25
2.3. POLISSACARÍDEOS DA ALGA MARROM	29
2.3.1. <i>Fuoidan</i>	29
2.3.2. Alginatos	30
2.3.3. Aplicabilidades dos polissacarídeos	33
2.3.3.1. <i>Fuoidan</i>	33
2.3.3.2. Alginato	34
3. CAPÍTULO 3 - METODOLOGIA	37
3.1. PREMISSAS UTILIZADAS PARA AS EXTRAÇÕES	37
3.2. EXTRAÇÕES DOS POLISSACARÍDEOS	38
3.2.1. Etapa de pré-tratamento e delipidação	39
3.2.2. Etapa de formação de ácido algínico, <i>fuoidan</i> e outro polissacarídeos	39
3.2.3. Etapa de precipitação de <i>fuoidan</i>	39
3.2.4. Etapa de precipitação de alginato	40
3.3. ANÁLISE DAS AMOSTRAS	40
3.3.1. Dosagem de ácido hexurônico	40
3.3.2. Dosagem de açúcares totais (dosagem de hexose)	42
3.3.3. Eletroforese em gel de agarose	43
3.3.4. Cromatografia de troca iônica	44
3.3.5. Espectrofotometria FT IR	45
3.3.6. Aplicação dos polissacarídeos	45
CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES	46

4.1.	EXTRAÇÕES DOS POLISSACARÍDEOS	46
4.2.	DOSAGEM DE ÁCIDO HEXURÔNICO	47
4.3.	DOSAGEM DE AÇÚCARES TOTAIS (HEXOSE)	50
4.4.	ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE	52
4.5.	CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA	54
4.6.	ESPECTROFOTOMETRIA FT IR.....	60
4.7.	APLICABILIDADES DO <i>FUCOIDAN</i> E ALGINATO EM COSMÉTICOS E FÁRMACOS	64
	CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES E DISCUSSÕES	67
5.1.	CONCLUSÃO.....	67
5.2.	SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS.....	68
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	69



1. CAPÍTULO 1 - INTRODUÇÃO

1.1. INTRODUÇÃO

Os seres marinhos têm recebido destaque ao longo dos anos, pelas suas aplicações, gerando lucros para as indústrias. Dentro do imenso mundo de seres marinhos, há extensos grupos de macroalgas ao redor do planeta, que incluem as algas verdes, vermelhas e as marrons (AMORIM, 2016). Por serem uma fonte renovável, são utilizadas de uma forma mais sustentável, sendo produzidas para a comercialização. Além disso, muitos locais e empresas coletam essas algas, resíduos, em litorais e costas para serem estudados para a produção de bioativos e bioestimulante (MARTINS *et al.*, 2018).

As algas marinhas, de forma geral, são encontradas no mar enquanto as demais algas podem ser encontradas em meio terrestre úmido, podendo formar diversas comunidades de seres fotossintetizantes. Esses seres surgiram há milhares de anos, apresentando diversas utilidades econômicas. A primeira utilização das algas marinhas é datada a mais de 2000 anos, pelos chineses, sendo utilizado como fonte de alimento (PRIYADARSHAMI *et al.*, 2012).

A alga *Macrocystis pyrifera* (família *Laminariaceae* / classe *Phaeophyceae*), é uma macroalga marrom ou parda conhecida como alga gigante ou alga da bexiga. Pode ser considerada uma das maiores algas existentes no planeta, chegando a medir até 100 metros de comprimento (TAIT *et al.*, 2021). Essas macroalgas são majoritariamente encontradas em habitats com temperaturas mais frias, se tornando, nessas regiões, a maior parte da biomassa formada pelas suas comunidades florestais (MURÚA *et al.*, 2020). Porém, essa espécie necessita de luz para a sua sobrevivência e, por isso, a máxima profundidade que pode ser encontrada é de 15 metros (FOSTER *et al.*, 1985).

Além disso, a coloração presente nessas macroalgas é de aspecto marrom, isso se dá devido à presença de fucoxantina (AQUINO, 2021; ALMEIDA, 2014), um pigmento, que pertence ao grupo das xantofilas (pigmento que está presente em algas marrons). Também ocorre a presença de clorofilas A e C, beta-caroteno e xantofilas, componentes responsáveis pela cor escura da alga *M. pyrifera*. Ademais, apresentam em sua estrutura a laminarina, glucano responsável pela reserva de carboidratos, sendo assim, rica em polissacarídeos, porém, o principal produto obtido a partir delas é o alginato (RAVEN *et al.*, 2007).

Vale ressaltar que, durante o ano, são encontradas grandes quantidades de macroalgas nas costas das praias ou flutuando em águas rasas (FARRAPEIRA, 2011; THIEL & GUTTOW, 2005), que foram arrancadas e carregadas pelas fortes ondas. As macroalgas *M. pyrifera* são encontradas em ambientes mais frios, portanto, quando encontradas nas redondezas de praias ou flutuando nos mares, é por intermédio seja humana, desequilíbrio, pescas ou poluição dos mares (TEGNER *et al.*, 2000).

Dada a crescente demanda por produtos naturais, os polissacarídeos – polímeros utilizados como reserva energética ou estrutura na célula - obtidos através das extrações das algas - são os produtos naturais mais procurados e utilizados por indústrias (ARAUJO *et al.*, 2009; FONSECA, 2016). Dentre estes polissacarídeos, as fucanas, polissacarídeos obtidos da extração, também conhecidas como *fucoidan*, são polissacarídeos sulfatados de cadeias estruturais compostas por *L-fucose*, além de conter glicose, xilose, manose e ácido glucurônico em sua constituição (ARAÚJO, 2018; ALMEIDA, 2014). Ainda, as fucanas apresentam grandes propriedades farmacológicas, sendo estudadas por suas propriedades medicinais antivirais; antioxidante; anticoagulante, entre outras (DINESH *et al.*, 2016; JIN *et al.*, 2013; SELLIMI *et al.*, 2014).

Da mesma forma que as fucanas, os alginatos são polissacarídeos, porém, não são sulfatados, obtidos também das extrações de algas marinhas. Esse polissacarídeo apresenta em sua composição monômeros de ácido β -D-manurônico, que são unidos por meio de ligações glicosídicas do tipo (1 $\rightarrow$ 4) e ácido α -L-gulurônico. O alginato apresenta propriedades, como emulsificantes, na formação de soluções mais viscosas (principalmente como materiais de moldagem na odontologia), na produção de curativos que impedem o ressecamento, entre outras (ALMEIDA, 2014).

Sendo assim, com o aumento do mercado de cosméticos e fármacos, a busca por materiais renováveis entrou em estudo, resultando em um grande valor estratégico (MIGUEL, 2011). Desta forma, na década de noventa houve a primeira ocorrência do selo verde, selo esse criado para incentivar as indústrias a voltarem mais os seus princípios para a sustentabilidade (FREITAS *et al.*, 2014; ADRIANO *et al.*, 2016). Portanto, muitas dessas indústrias buscam um cenário de consumo verde, no qual está relacionado a busca por materiais renováveis, visto que, nos últimos anos foi considerado um fator crucial para os seus crescimentos, sem que afetem o meio ambiente (MIGUEL, 2011; ENOQUE *et al.*, 2019). Deste modo, o trabalho visa estudar a alga marrom *Macrocystis pyrifera*, buscando os polissacarídeos obtidos das extrações, para aplicações nas indústrias de cosméticos e farmacêutica.



1.2. OBJETIVOS

1.2.1. Objetivo geral

O presente trabalho tem como objetivo extrair alginatos e fucoïdanas da alga marinha marrom *Macrocystis pyrifera*, seguido de análises químicas de cada extração para indicar a melhor aplicação em cosméticos e fármacos.

1.2.2. Objetivos específicos

- Extrair os compostos alginatos e fucoïdanas da alga;
- Identificar a presença de sulfatos através de metacromasia utilizando corante azul dimetilmetileno (DMB);
- Determinar a composição química dos compostos presentes a cada extração por análises químicas e físicas: *FT IR*, dosagem de hexose, dosagem de ácido hexurônico, cromatografia, eletroforese em gel de agarose;
- Avaliar a aplicação de forma teórica em produtos cosméticos e farmacêuticos;



1.3. JUSTIFICATIVA

As macroalgas são fontes muito importantes para o desenvolvimento do mundo, sendo amplamente utilizadas em vários setores, desde o alimentício ao farmacêutico, pela capacidade de se obter polissacarídeos como os alginatos e fucoidanas, fontes altamente rentáveis a economia, além de serem fontes de proteínas. Devido ao contínuo crescimento das empresas, as mesmas buscam migrar de fontes fósseis para renováveis, otimizando assim seus processos.

O projeto busca extrair as fontes rentáveis da macroalga *M. pyrifera*, para serem utilizadas na produção de fármacos e cosméticos, por apresentarem diversas propriedades com valor agregado, como a fotoproteção (fator importante para o envelhecimento prematuro), a inibição de collagenase (evitar a flacidez ou melhorá-la), pela sua atividade antimicrobiana (problemas de pele). Portanto, o uso de bioativos extraídos de macroalgas, apresenta benefícios econômicos e ambientais, permitindo a formulação de produtos com o mesmo objetivo dos que apresentam formulação com outros componentes sintéticos, porém, apresentando uma forma mais sustentável, e de menor impacto ambiental.

1.4. DELIMITAÇÃO DO TRABALHO

O projeto foi delimitado no estudo das algas marinhas pardas, *Macrocystis pyrifera*, para a extração dos seus polissacarídeos, com ênfase em *fucoidan* e alginato, tendo como análises químicas e físicas – metacromasia, RMN, cromatografia, ácido hexurônico, hexose, eletroforese - de cada extração da alga *M. pyrifera*. O trabalho teve como referência o *Laboratório de Tecido Conjuntivo do Hospital Universitário – UFRJ*. Ademais, os sistemas de tratamentos dos efluentes formados no processo não serão abordados neste trabalho.



2. CAPÍTULO 2 - FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

2.1. INDÚSTRIAS QUE APLICAM POLISSACARÍDEOS

2.1.1. Indústria farmacêutica

A primeira indústria farmacêutica surgiu no período da Segunda Revolução Industrial, envolvendo o fornecimento e uso da penicilina na época, sendo considerado um dos setores industriais mais inovadores (TAVARES, 2004). A indústria farmacêutica está voltada a pesquisas, ao desenvolvimento, fabricações e na distribuição de medicamentos voltados a tratamentos, sendo um dos setores que mais cresceu durante os anos (FIA, 2020). Por meio de estudos, o setor farmacêutico cresceu em torno de 10% em 2019, comparado com os demais anos que foram de 4% a 8% (LEONARDI *et al.*, s.d.). Desta forma, as indústrias farmacêuticas buscam cada vez mais métodos e meios que visam a sustentabilidade, através de investimentos em pesquisa e desenvolvimento, que tem como resultado, novos fármacos com materiais inovadores e sustentáveis (PINTO *et al.*, 2013).

A partir do desenvolvimento das indústrias farmacêuticas, ocorrem a manipulação e estudos de compostos químicos, com ênfase em princípios ativos (farmoquímicos), resultando em medicamentos para diversos tratamentos. Esse resultado ocorre por meio da cadeia produtiva, onde ocorrem transformações físico-químicas durante todos os processos ou, atualmente, têm-se estudos muitos recursos para o favorecimento de rotas biotecnológicas como integração para obtenção dos medicamentos (CAPANEMA *et al.*, 2007).

Com o avanço em pesquisas para a formulação de novos medicamentos, principalmente os genéricos, acarretaram grandes concorrências entre grandes laboratórios mundiais, principalmente pelo fato de as pesquisas estarem voltadas a também na redução dos custos durante o processo das formulações (MAGALHÃES *et al.*, 2003). Sendo assim, foram registrados um crescimento contínuo das indústrias farmacêuticas que buscam a sustentabilidade, havendo um aumento de 12,1% em 2021, comparado aos anos anteriores (REIS, 2021). Desta maneira, de pequenas a grandes indústrias, procuram meios e formas de tornar o processo dos seus fármacos mais lucrativos, ligados a sustentabilidade e a



biotecnologia, onde há estudos para o seu crescimento e aprimoramento, buscando matérias primas mais sustentáveis e com maiores rentabilidades, como são os casos dos lançamentos de linhas a base de produtos naturais e sustentáveis, por exemplo, as pílulas de vitaminas a base vegana (BALIAN *et al.*, 2010; MAGALHÃES *et al.*, 2003).

2.1.2. Indústria de cosméticos

Os cosméticos estão presentes em todo tempo na vida dos seres humanos. A definição de cosméticos conforme o Portal de Legislação, na Resolução RDC nº 211, de 14 de julho de 2005:

Produtos de Higiene Pessoal, Cosméticos e Perfumes, são preparações constituídas por substâncias naturais ou sintéticas, de uso externo nas diversas partes do corpo humano, pele, sistema capilar, unhas, lábios, órgãos genitais externos, dentes e membranas mucosas da cavidade oral, com o objetivo exclusivo ou principal de limpá-los, perfumá-los, alterar sua aparência e ou corrigir odores corporais e ou protegê-los ou mantê-los em bom estado. (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2005, Art. 1 - Anexo I)

As primeiras aparições do uso de cosméticos, datou-se em 3000 a.C. a 200 d.C., no Egito Antigo, como fonte de embelezamento e cuidados pessoais das mulheres (BARROS, 2020). O setor de cosméticos é considerado bem amplo, pois trata de junções interdisciplinares, além de estudos de costumes e etnias de diversas regiões. Desta forma, o setor cresceu mundialmente, cerca de 4,2% em 2019, comparado aos demais anos, aumentando disparadamente seus lucros, por meio de constantes processos e inovações (TREVISAN, 2011; MENDONÇA, 2020). Devido esse crescimento, há preocupações da população com a questão ambiental, resultando nas indústrias estudarem e se aperfeiçoarem em novas técnicas, que buscam a redução dos diversos impactos ao meio ambiente e principalmente aos animais (TIBALDI *et al.*, 2019; BOM *et al.*, 2019).

Por meio deste, as indústrias, no decorrer dos anos, focaram seus interesses em um cenário verde, priorizando seus processos com materiais orgânicos e naturais, onde ampliaram seus estudos e tecnologias para os segmentos que realizam as adaptações e implementações



desses meios para a sua empresa. Desta forma, alguns estudos relatam que houve um crescimento sustentável das industriais de cosméticos, estimasse que esse crescimento é de 8 a 25% ao ano (MIGUEL, 2011; AVELAR *et al.*, 2006). Com isso, apresenta uma das características de serem o setor que mais apresenta pesquisas contínuas de estudos de casos, simulações, novas técnicas, processos, reagentes, matérias e até mesmo seus objetivos, para que consigam inovações para as suas linhas de pesquisas e desenvolvimento (AVELAR *et al.*, 2006).

Com o aumento da demanda de produtos com formulações a base de produtos naturais, vem chamado a atenção dos compradores, aumentando assim as suas vendas, onde está vinculado a marketings que despertam o interesse desses consumidores - como por exemplo a questão do envelhecimento, sendo um ponto muito procurado para diminuir ou retardar esse efeito - e mostram o quão bem um produto natural faz ao corpo (MIGUEL, 2011). Desta forma, tende a aumentar o desenvolvimento tecnológico de cada formulação, onde buscam uma constância de inovações, para que a formulação esteja sempre adequada ao desejo do consumidor, juntamente aos agregados ecológicos, aumentando junto a competição (mercados globais) em lançar no mercado produtos com formulações com alto poder agregado, seja para o meio ambiente ou para o consumidor, pois quão natural for o produto, maior será o interesse do consumidor (MIGUEL, 2011; AVELAR *et al.*, 2006; CERQUEIRA, 2013).

2.2. ALGAS MARINHAS

2.2.1. Macroalgas

As algas marinhas são seres vivos, autótrofos, fotossintetizantes e clorofilados, apresentando grandes variedades de formas e tamanhos, sendo considerados muito importantes para a economia, pois, por meio delas, se obtém fontes de alimento, adubação, oxigênio e diversas outras utilidades (VIDOTTI *et al.*, 2004; AMORIM, 2016). Ademais, são seres eucariontes, com compartimentalização interna, possuindo também membrana celular e parede celular. Pelo fato de não apresentarem sistema vascular em sua estrutura, formam aglomerações



de fios ou lâminas que compõem os habitats dos oceanos, rios, rochas e solos (VIDOTTI *et al.*, 2004).

Uma das principais características para diferenciar uma alga da outra está em seu pigmento, apresentando como pigmento comum a clorofila, sendo importante para que a alga possa realizar a fotossíntese (ALMEIDA, 2014; AMORIM *et al.*, 2016). Por meio deste, as algas são separadas em três grupos: vermelhas, verdes e pardas. As algas vermelhas (filo *Rhodophyta*), sendo algas microscópicas, apresentando em sua composição: células eucarióticas; amido das florídeas (serve como material de reserva da fotossíntese); pigmentos ficobiliproteínas (vermelhos e azuis); tilacóides (conjunto de membranas que estão localizadas no interior do cloroplasto) não empilhados; cloroplastos (organela celular) sem retículo endoplasmático externo e a falta de flagelos (filamentos finos e compridos) (WOELKERLING, 1990). Esta alga apresenta mais de 6.500 espécies, dadas em 680 gêneros. Geralmente são encontradas em águas tipicamente doces, sendo a grande maioria encontrada em habitats que apresentem córregos e rios, além de outras em lagos e lagoas. Contudo, uma pequena quantidade de algas vermelhas é encontrada em solos e cavernas (SHEATH *et al.*, 2015). As algas vermelhas são ilustradas nas Figuras 2.1 e 2.2.

Figura 2.1.: Alga Vermelha - *Rhodophyta*



Fonte: Magalhães (s.d.)

Figura 2.2.: Algas Vermelhas



Fonte: Mendes (2019)

As algas verdes (filo *Chloropyta*) são eucariotas fotossintéticos (núcleo celular envolvido por uma membrana, e nesta é responsável pela fotossíntese) e são consideradas microscópicas, além de apresentarem em sua composição os seguintes: plastídios (organelas responsáveis pela fotossíntese) ligados a membrana dupla que contém as clorofilas *a* e *b*; β -caroteno e xantofilas (pigmentos); estrutura considerada estrelar ligando nove pares de microtúbulos (estrutura proteica que faz parte do citoesqueleto da célula) em base flagelar; amido que é depositado dentro dos plastídios, e é utilizado como polissacarídeo de reserva (LEWIS *et al.*, 2004; FRIEDL, 1997). Ademais, essa alga apresenta cerca de 3.500 espécies que fazem parte dos inúmeros habitats presentes no planeta, são encontradas em águas doces, rochas, árvores, são mais propícias a locais com maiores iluminações (KENNEDY, 2021; AMORIM *et al.*, 2016). Alguns exemplos dessa alga estão ilustrados nas Figuras 2.3 e 2.4.

Figura 2.3.: Divisão Chlorophyta

Fonte: Gonçalves (s.d.)

Figura 2.4.: Algas verdes

Fonte: Pasquali (2022)

As algas pardas (filo *Ochrophyta*), podem ser consideradas algas macroscópicas por chegarem a 70 m de comprimento ou mais, além de serem multicelulares e apresentarem em sua composição a xantofila, a clorofila A e C e o β – caroteno , pigmentos que resultam na cor parda ou marrom da alga; laminaria (responsável pelas reservas alimentares como açúcares); paredes celulares compostas por ácido algínico (auxilia na resistência para suportar determinados choques mecânicos), celulose e polissacarídeos sulfatados (WEHR, 2015; BHUTIA *et al.*, 2018; AMORIM *et al.*, 2016). Desta forma, essa alga apresenta em torno de 2.000 espécies localizadas em diversos habitats, geralmente encontradas em águas mais frias, pelas costas, em rochas, flutuando ou presa a alguma estrutura (BHUTIA *et al.*, 2018; KENNEDY, 2020) Além disso, as algas pardas apresentam reprodução sexuada e assexuada, sendo a sexuada por meio da formação de gametas móveis e assexuada por meio da formação

de zoósporos móveis, ambos apresentam dois flagelos desiguais (BRINGLOE *et al.*, 2020; BHUTIA *et al.*, 2018; CLAYTON, 1988). Alguns exemplos dessa alga estão ilustrados nas Figuras 2.5 e 2.6.

Figura 2.5.: Alga parda – *Macrocystis pyrifera*



Fonte: Silva (s.d.)

Figura 2.6.: Alga parda



Fonte: Dbiotec (2011)

Outrossim, as algas podem se diferenciar através do seu corpo, também conhecido como talo, além de apresentarem diversas formas como: aspecto de rede (filamentos que se desenvolvem formando redes); calcário (presença de carbonato de cálcio); cenocíticos (sem divisão celular); cilíndricos (forma cilíndrica); crostosos (crosta que recobre-o); filamentosos (apresenta uma fileira de células); filamentosos corticados (córtex diferenciado); foliáceos laminares (sem divisão de córtex e medula); foliáceos corticados (medula e córtex

diferenciados); globosos (formato esférico) (AMORIM *et al.*, 2016; PEREIRA, 2009). Também podem ser diferenciadas pelo tamanho, sendo separada em dois grupos: microalgas e macroalgas (AMORIM *et al.*, 2016; O’SULLIVAN *et al.*, 2010). As macroalgas são seres macroscópicos, multicelulares que habitam em ambientes com diversidades aquáticas ao redor do mundo, atingindo comprimentos superiores a 50 m, porém, algumas macroalgas apresentam milímetros de comprimento (AMORIM *et al.*, 2016; PEREIRA, 2009). As microalgas por sua vez, são seres unicelulares que apresentam morfologia diversa, heterogêneos, além de serem flexíveis quanto ao habitat, pois podem ser encontradas tanto em águas doces quanto salgadas. Além disto, atingem micrometros de comprimento, variando de 20-200 μm (HAKALIN, 2014; FRANCO *et al.*, 2013; SANT’ANNA *et al.*, 2008).

Ademais, as algas apresentam grande importância ecológica, pois não apenas são organismos fotossintetizantes (captam a luz solar), como também são fundamentais para a alimentação de animais marinhos. Ainda servem de moradias para determinados animais, além de fazem parte da alimentação de diversos países, como no Oriente Médio, visto que apresentam grandes fontes nutritivas (proteínas, vitaminas e sais minerais). Vale ressaltar que os produtos extraídos das algas são muito utilizados em indústrias de biotecnologia (indústrias de alimentos, bebidas e cosméticos) (JOHNSTON, 1970; BONEY, 1965; AMORIM *et al.*, 2016). Desta forma, observa-se a importância de sua preservação e principalmente de suas produções, pois as mesmas servem como moradia para diversos animais marinhos, além de impedir a fome.

2.2.2. *Macrocystis pyrifera*

A alga gigante *Macrocystis pyrifera*, com coloração marrom ou parda, é considerada a maior de todas as algas marrons, podendo chegar a 45 metros de comprimento, podendo crescer cerca de 12 centímetros por dia. A sua morfologia se baseia em uma estrutura de fixação (rizoide, exercem a função de raiz, sem que haja a estrutura das raízes), apresenta estipes (pedículo do caule), e por essas crescem as lâminas (com bordas irregulares), além de apresentarem as folhas com funcionalidades pneumatóforos (enche de ar e fazem com que a alga flutue). A alga é comumente encontrada na costa do Pacífico da América do Norte e nas costas do hemisfério sul, formando densos bosques pelas costas dos oceanos (SALAVARRÍA *et al.*, 2014; LOPES, 2018). A seguir têm-se ilustrações da alga *M. pyrifera* nas Figuras 2.7 e 2.8.



Figura 2.7.: *Macrocystis pyrifera***Fonte:** Fackler (s.d.)**Figura 2.8.:** Floresta de *Macrocystis pyrifera***Fonte:** Colla (s.d.)

A alga *M. pyrifera* apresenta grande importância econômica, tanto social quanto oceânica, por ser um produtor primário de O_2 (VALDEZ *et al.*, 1996). Portanto, deve-se preservar o seu habitat, pois ela necessita de alguns fatores para sua sobrevivência, sendo elas: movimento das águas do mar, nutrientes, temperatura adequada e iluminação. Em primeiro lugar, o movimento das águas pode causar o interrompimento do seu crescimento ou até mesmo arrancá-las de seu habitat. Já os nutrientes e a temperatura da água estão correlacionados, pois, quanto maior a temperatura da água, menor será a porcentagem de nutrientes no mar. A iluminação por sua vez, é importante visto que toda alga necessita de luz solar para sua sobrevivência, porém, em dias nublados, a alga *M. pyrifera* não é tão afetada quanto as demais, pois apresentam em sua fase adulta, ela apresenta extensas copas que permanecem abaixo da superfície do mar. Não só esses fatores, como também a interferência humana, que pode afetar a biota dos seres por meio de excesso de lixo nos mares, despejo de resíduos inadequados nos

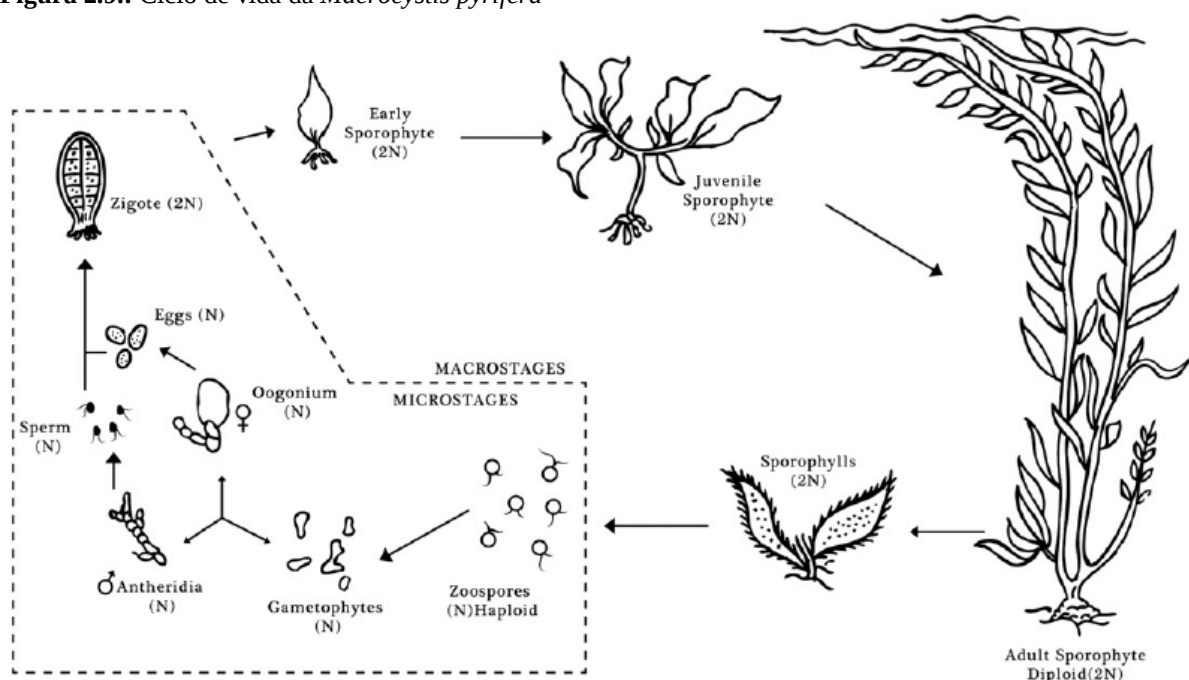
mares e redes de pesca que deslocam ou agridem populações marinhas (NORTH, 1984; VALDEZ *et al.*, 1996).

A *M. pyrifera*, é uma das algas mais importantes, principalmente por sobreviver a diversos locais, por ser uma alga extensa, podendo chegar a metros de comprimentos, e geralmente estar fixa ou flutuando pelos mares, em dias de maré alta, a luminosidade nem sempre está presente, impedindo-a de fazer foto autotrofismo (HAMERSLEY *et al.*, 2015; ZIMMERMAN *et al.*, 1985; BRZEZINKSI *et al.*, 2013). Portanto, em determinadas épocas essa espécie realiza heterotrofismo (não há capacidade de produzir seu próprio alimento, e sua alimentação ocorre por meio de nutrientes ao seu redor), sendo assim, em dias mais quentes e com maré alta, o mar não apresenta grande quantidade de nutrientes, dificultando sua alimentação (MESQUITA, 2013). Por mais que essa macroalga seja uma das mais estudadas, sua taxonomia ainda apresenta incógnitas a serem analisadas, desta forma, a sua taxonomia se baseia em: reino – *Chromista*; sub-reino – *Harosa*; infra reino – *Heterokonta*; filo – *Ochrophyta*; subfilo – *Feísta*; infra filo – *Limnista*; superclasse – *Fucistia*; classe – *Phaeophyceae*; subclasse – *Fucophycidae*; ordem – *Laminariales*; família – *Laminariaceae*; gênero – *Macrocystis*; espécie – *Macrocystis pyrifera* (RENDERS *et al.*, 2006; MACAYA *et al.*, 2010; CRIBB, 1954).

A *Macrocystis pyrifera* apresenta fucoxantina – pigmento presente em algas marrons -, além de apresentar clorofilas A e C e β -caroteno – responsáveis pela cor escura presente na alga – (WHEELER, 1980). Outro ponto importante é o ciclo de vida da alga, pois, é por meio dela que pode se analisar o número de reproduções, o tempo de crescimento da alga até a sua morte, e através de seu tempo de vida analisar se elas morreram de forma natural ou não, além de fazer diversas outras análises, este ciclo está ilustrado na Figura 2.9.



Figura 2.9.: Ciclo de vida da *Macrocystis pyrifera*



Fonte: Gaitán-Espitia *et al.*, (2014)

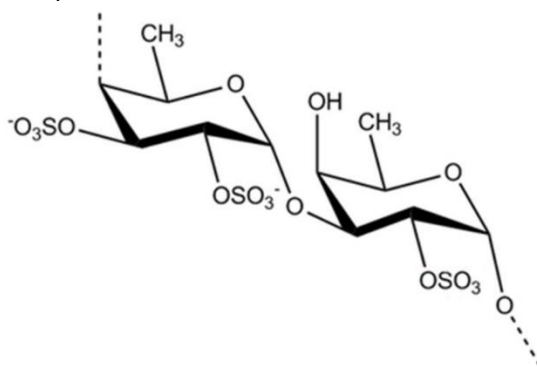
O ciclo de vida da *M. pyrifera* (Figura 2.9), apresenta uma vida heteromórfica, as reproduções, tanto assexuada quanto sexuada, ocorrem em indivíduos distintos. Desta forma, ocorrem entre o esporófito (estrutura que marca a fase diploide do organismo) diploide (2n) e um gametófito (reprodutora de gametas) haploide (n). Sendo assim, pela meiose ocorre a produção de zoósporos biflagelados (esporos assexuais com motilidade) que foram liberados por meio das lâminas reprodutoras ou pelos esporófitos, que são localizados próximo ao esporófito maduro. Para que ocorra a produção dos esporos, os esporófitos necessitam estar de 6 a 12 meses de idade, onde os zoósporos irão resultar em um gametófito (há diferenciação do feminino do masculino dentro de uma semana, onde os machos são responsáveis por produzir células biflageladas, que são os anterozoides, já as fêmeas são responsáveis por produzir o óvulo que se desenvolve em um embrião ocasionado após a fertilização). Posteriormente, após essa fertilização, o crescimento irá ocorrer durante algumas semanas, resultando em pequenas folhas, geralmente imperceptíveis a olho nu, chegando de 1 a 2mm de comprimento. Por fim, as próximas divisões como o surgimento das pequenas folhas ou folhas iniciais dá o prosseguimento do desenvolvimento da morfologia adulta da planta (Figura 2.9) (GAÍTAN-ESPITIA *et al.*, 2014; VALDEZ *et al.*, 1996; NORTH, 1987).

2.3. POLISSACARÍDEOS DA ALGA MARROM

2.3.1. *Fucoidan*

Os primeiros registros encontrados de fucoidanas foram em algas marrons a mais de 12.000 A.C., em documentos desenterrados no Chile. O *fucoidan* é considerado um polissacarídeo intercelular que possui grupos sulfatados, que estão ligados covalentemente, de cadeias longas (WANG *et al.*, 2019). Apresenta em sua composição principalmente a L-fucose sulfatada – fucose e sulfato -, e apresenta galactose, manose, xilose, glicose e ácidos urônicos, considerado uma estrutura química complexa (Figura 10) (WANG *et al.*, 2019; LI *et al.*, 2008; PÁDUA *et al.*, 2015). Geralmente, contêm em porcentagens de fucose e sulfato 44,1% e 26,3%, respectivamente, os outros dos demais componentes, porém, sua composição pode variar conforme diversos fatores, desde o habitat até as extrações para obtenção (LI *et al.*, 2008; BLACK *et al.*, 1952). A estrutura química do *fucoidan* está ilustrado na Figura 2.10.

Figura 2.10.: Estrutura química do *fucoidan*



Fonte: Kang *et al.*, (2015)

Visto isso, a parede celular das algas pardas (possui compartimento fibrilar composto por microfibrilas de celuloses, inserida em uma matriz composta por polissacarídeos ácidos que estão ligados por proteínas), como a *M. pyrifera*, são uma das fundamentais para retirada de compostos de suma importância comercialmente. Desta forma, o *fucoidan* é um dos compostos presentes na parede celular da alga marrom, podendo ser extraídos da parede celular das algas pardas ou marrons, e utilizados para fins comerciais (LIRA, 2009; AMORIM, 2018; ALMEIDA, 2014).

A posição que se encontra os grupos sulfatos presentes no *fucoïdan* é de suma importância, pois determina as atividades biológicas do polissacarídeo. Muitos são os métodos de observação e identificação dos sulfatos, sendo eles, espectroscopia de infravermelho, dessulfatação, RMN e muitas outras técnicas utilizadas (LI *et al.*, 2008). Ademais, alguns estudos relatam a formação de matriz mucilaginosa (um dos motivos para que alga *M. pyrifera* possa sobreviver tanto emerge quanto acima do mar) – responsável pela proteção contra a desidratação, caso ocorra períodos de maré baixa no local - em volta do *fucoïdan*, sendo muito importante para a captação de luz, sem que haja a necessidade de estar por completo na água (ALMEIDA, 2014).

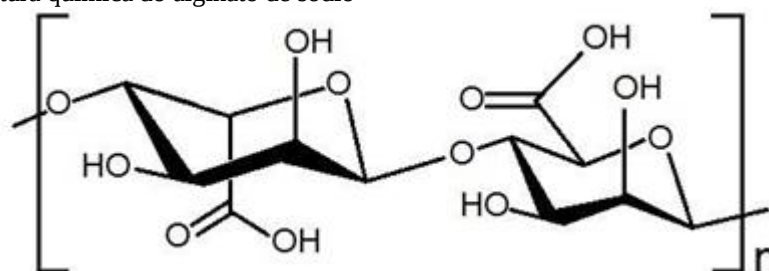
O *fucoïdan*, é caracterizado como polissacarídeo heterogêneo que apresenta pesos moleculares elevados, de 200-2000 kDa. Além disso, apresenta grupos éster sulfatados em sua composição (Figura 2.9), aderindo à célula cargas negativas, resultado da característica aniônica da macromolécula. Posto isso, o *fucoïdan* é um polissacarídeo único, podendo ser impostos diversas áreas medicinais e comerciais, principalmente pelas suas características: propriedades anticoagulantes; antioxidantes; antitumoral e entre outras propriedades que o torna um composto rico. Desta forma, as suas importantes propriedades dependem significativamente do seu peso molecular (em pesos maiores que 1000 kDa, podem torná-los insolúveis), além dos grupos sulfatados e compostos de monossacarídeos (PARK *et al.*, 2011; ZAYED *et al.*, 2020; ZHANG *et al.*, 2021).

2.3.2. Alginatos

Um dos primeiros registros encontrados de alginatos foi durante o século 40, por meio de estudos da cepa mucoide que foram isoladas de pacientes que apresentavam fibrose cística (HASHIMOTO, 2014; MÜLLER *et al.*, 2011). O alginato é considerado um polissacarídeo aniônico e linear, apresentando em sua estrutura compostos de ácidos β -D-manurônico e α -L-gulurônico, que são distribuídos e organizados em série definidas em blocos na sua estrutura polimérica (Figura 11). Além disso, essa distribuição dependerá da espécie da alga que o alginato foi obtido, e principalmente do habitat e localização que a alga vivia, onde esses parâmetros influenciam nas propriedades físico-químicas (ORE *et al.*, 2020; VASCONCELOS *et al.*, 2015; HASHIMOTO, 2014). A estrutura química do alginato de sódio é ilustrada nas Figuras 2.11 e 2.12.

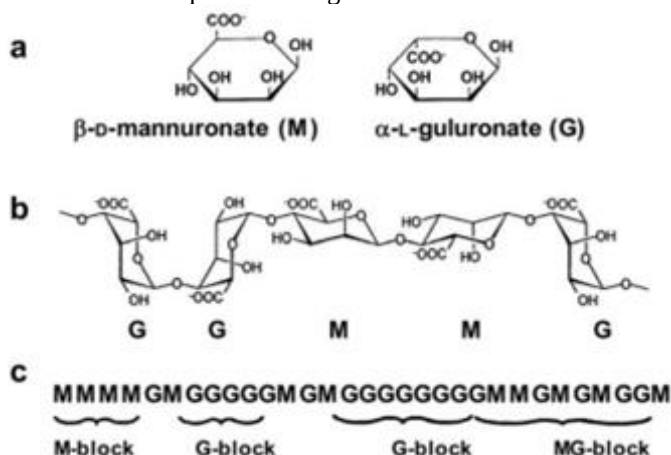


Figura 2.11.: Estrutura química do alginato de sódio



Fonte: Oliveira *et al.*, (2017)

Figura 2.12.: Características da estrutura química do alginato de sódio



Fonte: Draget *et al.*, (2011)

O alginato é um polímero que pode ser encontrado por meio de combinações de sais (K, Na, Mg, Ca), que compõem as estruturas das paredes celulares das algas marrons ou pardas (REDDY, 2021). Portanto, o alginato é um dos componentes presentes na parede celular das algas pardas, podendo ser extraído e utilizado em diversos setores. O alginato é formado por blocos M, G e trechos de MG, e distribuídos de forma que forme quatro ligações glicosídicas, onde ocorre a formação da cadeia (b), por meio dos monômeros de alginato (a), resultando na distribuição dos blocos (c) (Figura 2.12) (DRAGET *et al.*, 2011).

Dentre várias propriedades e aplicações que o alginato possui, uma das mais importantes é a capacidade de formar géis, que são muito estudadas para analisar suas propriedades, porém, essa formação depende das proporções M (resíduos manurônico) e G (resíduos gulurônico), além da formação das ligações cruzadas existentes nas cadeias poliméricas. Sendo assim, o gel de alginato é considerado iônico, e são formados a partir de cátions bivalentes, como Ca^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} e entre outros, juntamente com os monômeros de alginato (G), em que formam pontos de reticulação e resultam na gelificação (CACURO *et al.*, 2018; MÜLLER *et al.*, 2011).

O alginato é caracterizado como um copolímero, formado por blocos e sem que haja unidades de repetições regulares (Figuras 2.11 e 2.12). Logo, uma das maiores características físico-químicas dele é apresentar ligações seletivas de cátions multivalentes (formado ou que faz parte de 3 ou mais cromossomos homólogos (semelhante ao outro)), sendo uma das fundamentais para que o alginato possa formar os géis (propriedade principal do alginato), e essa ligação ocorre por meio do aumento do teor de α -L-gulurônico presentes nas cadeias (DRAGET *et al.*, 2011). Por outro lado, os alginatos são considerados insolúveis em água, onde nas extrações ocorrem em três etapas fundamentais, lavagem, trituração e secagem, e no final utiliza-se soluções básicas para que haja a formação do alginato de sódio (REDDY, 2021).

Além do mais, o alginato apresenta grandes propriedades físico-químicas, sendo elas: alto peso molecular (varia de região para região, devido ao habitat que se encontra, podendo chegar até 985 kDa); propriedades gelificantes (formação de géis por meio de soluções que contenham íons divalentes (Ca, Sr e Ba) ou íons trivalentes (Fe e Al)); solubilidade (os alginatos que apresentam tanto cátions bivalentes quanto trivalentes, não possuem a propriedade de serem solúveis em água, isso se dá, pois, em sua composição, apresenta -COO- (íon carboxílico), porém, apresenta a propriedade de grande absorção da água); toxicidade (os alginatos não apresenta toxicidade para as células, podendo ser estudadas sem que haja revertério). Além disso, em valores de pH muito baixos, há uma tendência na diminuição da solubilidade, enquanto a viscosidade não é alterada em pH altas (REDDY, 2021; TRUJILLO-ROLDÁN *et al.*, 2004; DOAN *et al.*, 2016).

Por meio dessas propriedades, podem ser analisadas as aplicabilidades do alginato, sendo elas, indústrias farmacêuticas (voltados para o trato gastrointestinal), alimentícia (cobertura para sorvetes, macarrão instantâneo e entre outros), cosméticos (hidratantes para epidermes, retenção da cor do batom e para loções) e na indústria têxtil (formação de padrões na indústria, em impressões e até para engrossar pastas, devido a sua propriedade espessante) e vastas outras utilidades (REDDY, 2021).



2.3.3. Aplicabilidades dos polissacarídeos

2.3.3.1. *Fucoidan*

Em um âmbito geral, os polissacarídeos extraídos de algas marinhas apresentam vastas aplicabilidades biológicas voltadas à área da saúde, além de ser muito importante nos setores de alimentos, farmacêuticos, biotecnologia e entre outros setores (VASCONCELOS *et al.*, 2015). Sendo assim, as fucoidanas apresentam grande valor econômico, atraindo várias empresas para seu estudo, pois apresentam grandes potenciais ao se tratar de atividades farmacológicas, tais como antiproliferativa, antioxidante, antiviral, anticoagulante, e várias outras (AQUINO, 2021). Diante de estudos, o *fucoidan* apresentou resultados positivos ao se tratar de sistema imunológico, sendo responsável em aumentar a fagocitose – ação que remove patógenos e restos celulares -, além de, em alguns testes clínicos em camundongos, haver a melhora em suas imunidades e na redução de possíveis inflamações (WANG *et al.*, 2022). De igual modo, o *fucoidan* pode apresentar resultados positivos de doenças pulmonares como bronquite e asma. Além disso, há início de estudos contra SARS-CoV-2, através de ação como agente anti-inflamatório (FITTON *et al.*, 2020). Algumas aplicações de *fucoidan* estão descritos no Quadro 2.1.



Quadro 2.1.: Propriedades específicas do *fucoïdan* para cada aplicação

Aplicações	Propriedades
Possibilidade de nutracêuticos	Formação de nanopartículas, hidrogéis, filmes comestíveis
Atividade antiproliferativa	Redução de proliferação de células de câncer
Possibilidade de morte celular em tumor	Promoveu a morte celular por vias de apoptose
Cosmocêuticas	Atividades antioxidantes
Atividade anti-inflamatória em câncer avançado	Diminuição dos efeitos causados pelos tratamentos em câncer avançado, como fadiga e náuseas
Atividade anti-HIV-1	Bloqueiam a entrada do vírus na célula hospedeira
Proteção contra danos nos rins	Diminuição dos níveis elevados de creatinina sérica e de nitrogênio ureico sérico

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados de (ZHANGA *et al.*, 2021; ARAUJO *et al.*, 2021; TAKAHASHI *et al.*, 2017; PROKOFJEVA *et al.*, 2013; WANG *et al.*, 2019; JESUMANI *et al.*, 2020)

Desta forma, o *fucoïdan* pode ser encontrado em diversos meios de aplicações, pois suas características apresentam agregados importantes para diversos produtos e tratamento de doenças. O *fucoïdan* é, através de estudos, considerado fundamental, devido as suas características como servir de anticoagulante, apoptose celular ou morte celular e até mesmo em atividades angiogênica seletiva em tumores. Além disso, as propriedades farmacológicas do *fucoïdan*, são muito estudadas e analisadas para os tratamentos de inflamações, infecções virais, tumores malignos e até distúrbios imunológicos (ZAYED *et al.*, 2020; FITTON *et al.*, 2019).

2.3.3.2. Alginato

O alginato por sua vez vem tendo muito reconhecimento durante os anos, devido as suas grandes aplicabilidades nos setores alimentícios, farmacêuticos e principalmente biotecnológicos (VASCONCELOS *et al.*, 2015). Por apresentar uma excelente propriedade em formar géis, o alginato é uma fonte muito agregada no setor alimentício, na preparação de polpas de frutas, servindo para preparação de alimentos reestruturados (elaboração de produtos,

utilizando pedaços de alimentos e reestrutura para obtenção de um produto consistente, com aspecto de produto integral). Porém, são nas áreas farmacêuticas e biotecnológicas que o alginato apresenta maior valor, principalmente nos últimos anos, sendo fundamental para sistemas imunogênicos como parte da formulação das vacinas. Estudos também apontam grande capacidade em curativos inteligentes (VASCONCELOS *et al.*, 2015; DRAGET *et al.*, 2009).

Alguns estudos, o alginato apresentou atividade antitumoral, em experimentos realizados com animais, onde notou-se resultados positivos na inibição do crescimento do sarcoma 180 (tumor de Crocker) (SOUSA *et al.*, 2007). Ademais, o setor de biotecnologia vem recebendo grande incentivo, principalmente depois que estudos apontarem a possibilidade de encapsulamento de células vivas para o uso *in vitro* (DRAGET *et al.*, 2009). Por outro lado, o alginato apresenta grande importância para as indústrias têxteis, pela sua capacidade em favorecer uma maior aderência das tintas na impressão dos tecidos e papeis (MÜLLER *et al.*, 2011). Abaixo mostra um quadro identificando as propriedades de algumas aplicações do alginato. Algumas aplicações de alginato estão descritas no Quadro 2.2.

Quadro 2.2.: Propriedades específicas do alginato para cada aplicação

Aplicações	Propriedades
Liberação controlada de drogas	Formação de gel, biodegradável, interações medicamentosas, espessante, emulsificante
Imobilização da célula	Formação de gel, bioinerte
Tecidos	Formação de gel, bio-campatível, difusividade
Terapia de câncer	Formação de gel, bio-campatível, difusividade
Estabilizante	Formação de gel, polieletrólito
Fibra alimentar	Quebra/redução do colesterol
Revestimento de medicamentos	Liberação controlada das substâncias ativas, incorporação de ingredientes
Tratamento de águas residuas	Agente de retenção

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados de (PENA *et al.*, 2011; ALMEIDA, 2014; PUSCASELU *et al.*, 2020)



Assim sendo, o alginato apresenta vastas e excelentes aplicações, devido as suas imensas características que os torna únicos para cada objetivo. Por meio destes, o alginato vem sendo usado para estudo de novas aplicações, pelas suas características não tóxicas, por ser um material bio-compatível, imunogênicos, hidrofílicos, além de ser biodegradável. Pelo fato do alginato ser um dos materiais com características na formação de gel, são muito utilizados como materiais para imobilização de célula *in vitro*, além de servir como um sistema para a liberação de drogas, usados para controlar a fibrose cística por meio de antígenos (PENA *et al.*, 2011; PUSCASELU *et al.*, 2020).



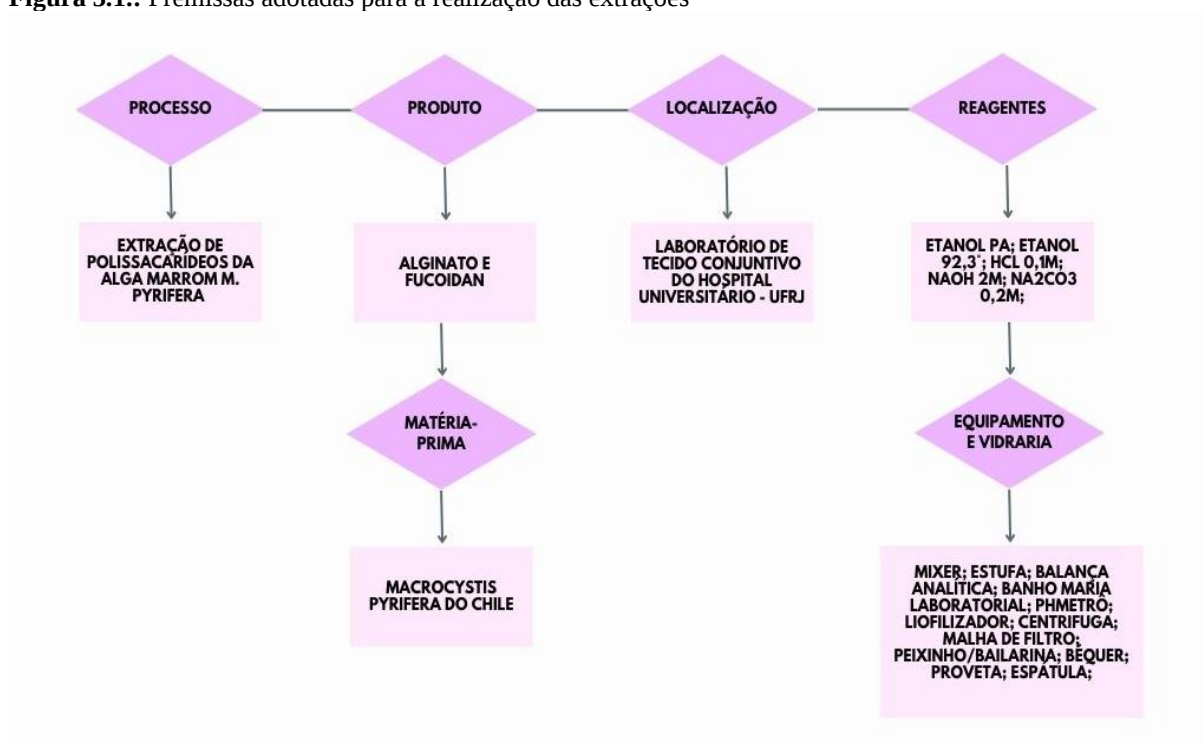
3. CAPÍTULO 3 - METODOLOGIA

A metodologia para a realização do projeto, consiste em alguns passos importantes. Sendo assim, cada extração dos polissacarídeos foi realizada com base nas etapas demonstradas abaixo, onde, as amostras obtidas de cada ensaio foram analisadas para que possam ser avaliadas quanto a aplicação.

3.1. PREMISSAS UTILIZADAS PARA AS EXTRAÇÕES

As premissas bases utilizadas para a realização de cada experimento estão listadas na Figura 3.1, sendo elas:

Figura 3.1.: Premissas adotadas para a realização das extrações

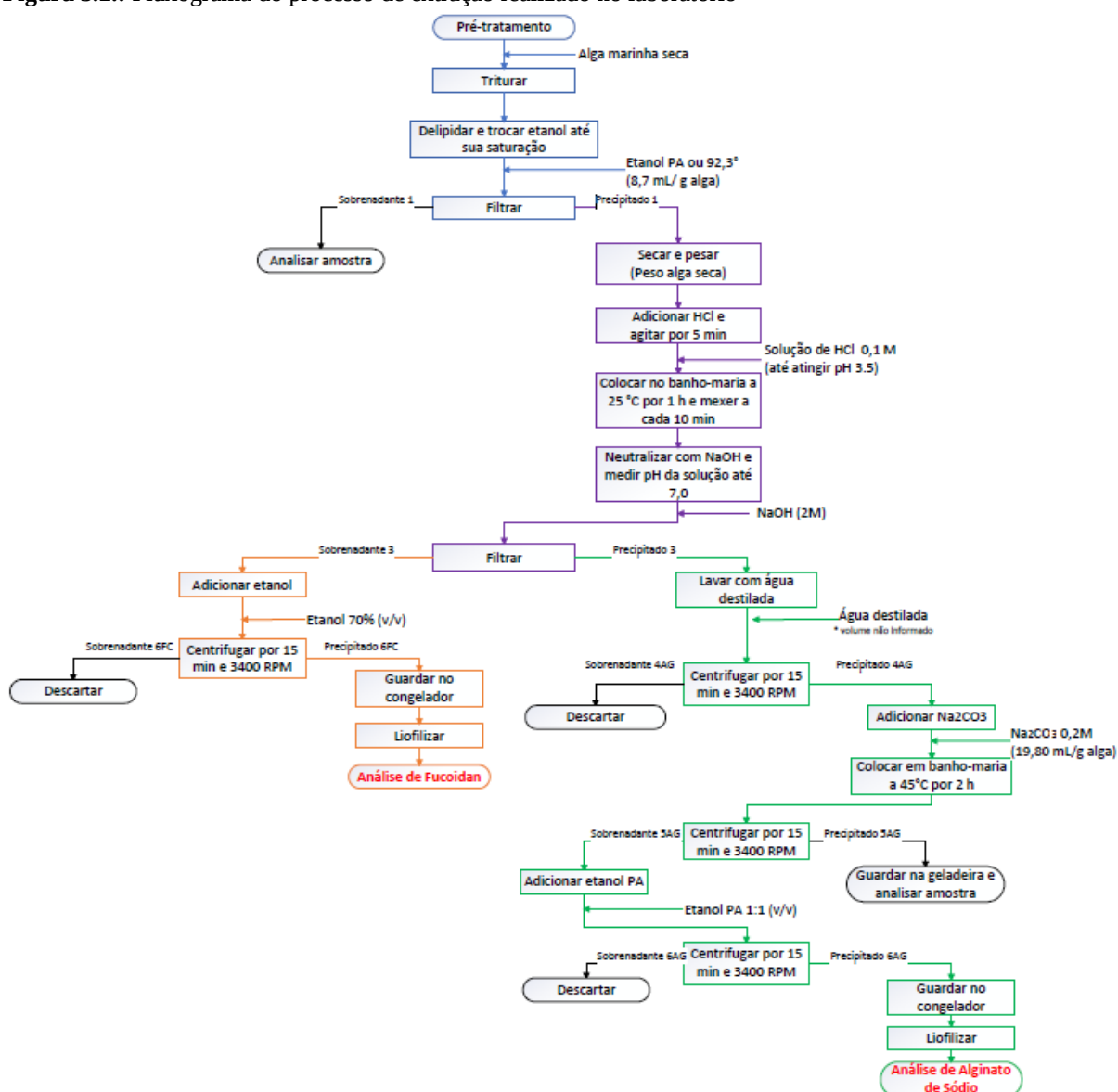


Fonte: Produzida pelo autor

3.2. EXTRAÇÕES DOS POLISSACARÍDEOS

O processo de extração foi realizado em bancada no laboratório de Tecido Conjuntivo do Hospital Universitário – UFRJ. Os ensaios foram baseados no método de extração de Lorbeer *et al.*, (2017). Um fluxograma contendo o passo a passo dos experimentos é apresentado na Figura 3.2. Para fazer uma melhor análise, foram realizadas seis extrações dos polissacarídeos, utilizando a mesma metodologia Figura 3.2.

Figura 3.2.: Fluxograma do processo de extração realizado no laboratório



Fonte: Fluxograma do autor

3.2.1. Etapa de pré-tratamento e delipidação

Esta etapa se baseia no tratamento da alga após ser recebida no laboratório. Primeiramente, a massa de alga é determinada. Logo após ela é triturada, para que o seu tamanho seja reduzido, com o objetivo de aumentar a superfície de contato. Após isso, está biomassa é lavada (primeira lavagem) com etanol PA ou etanol 92,3°, o volume de etanol utilizado é de 8,7 mL/g de alga triturada. Esta solução é filtrada com malha de filtro industrial, onde o precipitado é novamente lavado (segunda lavagem), com a mesma proporção de volume que a lavagem anterior. Adiante, filtra-se a solução e o precipitado formado é levado a estufa para secagem. Antes da filtragem, deve-se observar o escurecimento do sobrenadante, que indica a extração de lipídeos e pigmentos, para então proceder com as etapas seguintes.

3.2.2. Etapa de formação de ácido algínico, *fucoïdan* e outro polissacarídeos

Com a amostra seca, pesa-se a quantidade necessária para ser utilizada nas próximas etapas. Posteriormente, adiciona-se na alga o reagente HCl 0,1M, e seu volume utilizado é 19,80 mL/g de alga seca. Esta solução é agitada constantemente com o auxílio de um peixinho/bailarina em uma placa de aquecimento, e com o auxílio de um pHmetro para medir o pH a todo momento. Após a solução ser homogeneizada, é levada para o banho maria por 1 h, sendo agitada a cada 10 min (auxílio de uma espátula). Depois, neutraliza-se a solução a partir da adição gota a gota do reagente NaOH 2M, e logo em seguida, filtra-se a solução. O precipitado formado é o alginato e outros polissacarídeos, e o sobrenadante formado é o *fucoïdan* e outros polissacarídeos.

3.2.3. Etapa de precipitação de *fucoïdan*

Após a filtração, utiliza-se o sobrenadante para precipitação do *fucoïdan*. Adiciona-se etanol PA, no sobrenadante, o volume utilizado é o dobro do volume do sobrenadante. A solução é centrifugada por 15 min em 3400 rpm, logo após é descartado o sobrenadante e



utiliza-se o precipitado formado. Para precipitar o *fucoïdan*, faz-se necessário realizar uma precipitação seletiva, onde é adicionado na solução 70% de etanol PA. Nesta etapa, ao observar o precipitado se formando no fundo da vidraria, pode-se então centrifugá-lo por 15 min em 3400 rpm. Por fim, o precipitado formado é liofilizado, para ser retirada toda água ainda existente, a liofilização dura em média de 1 a 2 dias.

3.2.4. Etapa de precipitação de alginato

Para a precipitação do alginato é utilizado o precipitado formado na etapa de formação de ácido algínico. Este precipitado é lavado com água destilada (volume indeterminado, essa etapa é apenas para lavar a amostra), e logo em seguida é utilizado o vórtex para homogeneizar a solução. A solução solubilizada é centrifugada por 15 min em 3400 rpm. Posteriormente, descarta-se o sobrenadante, e o precipitado é adicionado o reagente Na_2CO_3 0,2M, o volume utilizado é 19,80 mL/g de alga seca

Logo após, a solução é levada ao banho maria por 2h a 45°C. Depois de ter passado o tempo determinado, a solução é centrifugada por 15 min em 3400 rpm. Pode-se então descartar o precipitado, e realizar uma precipitação seletiva com o sobrenadante, onde é adicionado na solução 50% de etanol PA. Ao observar todo o precipitado no fundo da vidraria, é possível então centrifugar o material por 15 min em 3400 rpm. Por fim, o precipitado formado é liofilizado, para retirada de toda água ainda existente, a liofilização dura em média de 1 a 2 dias.

3.3. ANÁLISE DAS AMOSTRAS

3.3.1. Dosagem de ácido hexurônico

Para realizar a quantificação dos polissacarídeos, é recomendado a dosagem de ácido hexurônico, por meio da reação do carbazol como agente de cor, formado pela reação de



compostos orgânicos presentes nas amostras (DISCHE, 1947). Para dar início a análise, as amostras são diluídas em concentração de 2 mg/mL, utilizando 10 µL das amostras em cada tubo de ensaio, e logo em seguida, é adicionado 200 µL de água destilada. Em seguida, adiciona-se 1,0 mL de H₂SO₄ com borato, homogeneizando cada tubo com o auxílio do vórtex para que possa ser levado para aquecer em banho seco a 100°C por 12 min. Após, adiciona-se 40 µL de carbazol, para ser também homogeneizado e colocado para aquecer em banho seco a 100°C por 12 min.

Para a leitura do material, deve-se aguardar até que todos os tubos de ensaios estejam em temperatura ambiente (para que não ocorra nenhum acidente e não queimar o equipamento de leitura). Com isso, a leitura é feita no espectrofotômetro em um comprimento de onda de 525 nm. A concentração de GAGs é realizada por intermédio de uma curva, que utiliza como padrão *glucurono lactona* 0,5 mg/mL. Por fim, plota-se a curva padrão no *Excel* e utiliza-se a equação da reta para calcular a quantidade de hexurônicos em cada amostra, para que possa ser comparado os resultados de cada extração. Um fluxograma contendo o passo a passo da análise é apresentado na Figura 3.3.

Figura 3.3.: Fluxograma da análise de ácido hexurônico nas amostras



Fonte: Fluxograma do autor

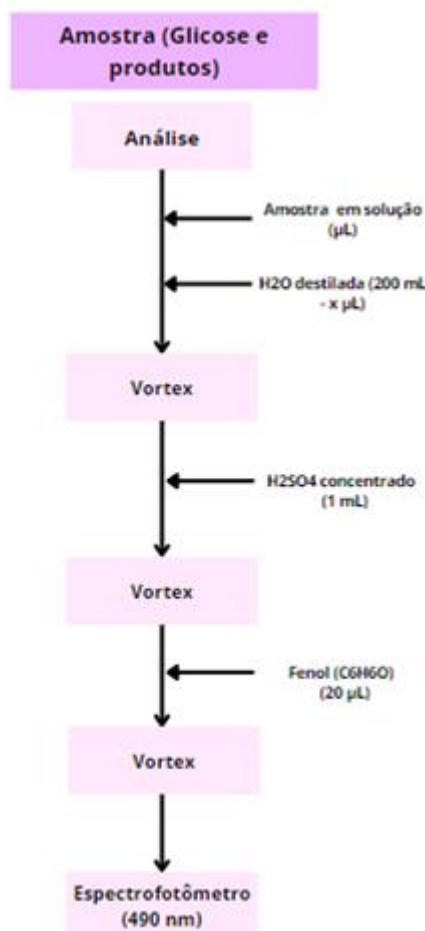
3.3.2. Dosagem de açúcares totais (dosagem de hexose)

Para realizar uma análise apenas para referenciar a quantidade dos açúcares totais na composição, utiliza-se o método do fenol sulfúrico, metodologia proposta por Dubois *et al.*, (1956). O método se baseia em um meio fortemente ácido, onde os açúcares sejam simples ou complexo, juntamente aos seus derivados (metil ésteres), são tratados com fenol e ácido sulfúrico concentrados, que resultam na coloração amarelo-alaranjado.

Desta forma, com as amostras dos produtos diluídas em concentração 2 mg/mL, é utilizado 10 µL das amostras em tubos de ensaio, adicionando 400 µL de volume total de água destilada. Logo em seguida, adiciona-se 20 µL de fenol 80%, para posteriormente adicionar 1,0 mL de H₂SO₄ para ser homogeneizada. Finalizado, é aguardado 30 min, até que todos os tubos estejam em temperatura ambiente. Por fim, a leitura do material, utiliza-se o espectrofotômetro

em um comprimento de onda de 490 nm. Após a leitura do material plota-se uma curva no *Excel*, utilizando como padrão a glicose 0,5 mg/mL, para que possa calcular a quantidade de açúcares totais em cada amostra, por meio da equação da reta. Um fluxograma contendo o passo a passo da análise é apresentado na Figura 3.4.

Figura 3.4.: Fluxograma da análise de hexose nas amostras



Fonte: Fluxograma do autor

3.3.3. Eletroforese em gel de agarose

Para realizar a preparação do gel, utiliza-se uma solução 0,6% de agarose, para diluir em solução tampão 1,3 diaminopropano acetato (PDA) 0,05 M e pH 9,0, que é colocado em lâmina de vidro (10 x 7 x 1,5 cm). Com isso, 12 µL (2 mg/mL) das amostras de *fucoïdan* e 30 µL das amostras de alginato, são aplicadas em poços no gel, sendo submetidos a corrida eletroforese (100 V) por aproximadamente 1 hora, em tampão PDA, dentro de uma cuba

refrigerada a 4 °C (DIETRICH *et al.*,1977). Após o tempo de corrida, as amostras de *fucoïdan* e alginato são precipitadas com brometo de cetiltrimetilamônio 0,1% (CETAVLON), por no mínimo, 2 horas à temperatura ambiente. Posteriormente, os géis são secos sob uma fonte luminosa. Com os géis secos, eles são corados com azul de toluidina 0,1% (solução de ácido acético 1%, etanol 50% e DMB). O excesso de corante é retirado com uma solução de descorante (solução de ácido acético 1% em etanol 50%), porém, para o gel que contém as amostras de alginato, é necessário fazer uma nova precipitação descrita por Newton *et al.*, (1974), a lâmina é imersa em solução tampão (ácido acético 0,2 M e acetato de sódio 0,2 M), por no mínimo 30 minutos, e depois corada novamente. A adição dessa etapa é para realizar a verificação dos compostos carboxilados que estão presentes na alginato. Logo após, as lâminas são postas para secagem em temperatura ambiente.

3.3.4. Cromatografia de troca iônica

Para realizar a análise de cromatografia, é utilizado o equipamento ÄKTA go. O objetivo dessa análise é a purificação das amostras (visando a observação de concentração de sal que cada amostra sai), utiliza-se o método de troca iônica, em que se baseia na separação dos compostos de uma amostra, de acordo com a diferença nas suas propriedades específicas (pela carga elétrica). Sendo assim, o processo é iniciado calibrando a coluna e os acessos, por meio de soluções tampões de sais de diferentes concentrações, ou seja, inicia-se com o tampão mais concentrado (2M NaCl e 20 mM Tris-HCl), para retirada de qualquer partícula presa aos acessos e a coluna, posteriormente utiliza-se o tampão menos concentrado (20 mM Tris-HCl) para neutralizar o meio para iniciar o processo. Com o equipamento pronto para iniciar, configura-se para realizar um gradiente de 1 mL/min, para coletá-los nos tubos de ensaio. Com o gradiente, a leitura da corrida é feita no *Software SoftMax Pro*, onde utiliza-se 20 μ L de cada amostra coletada dos tubos e 100 μ L de DMB, que são diluídos na placa de Elisa. Logo após, o material é lido no leitor de Elisa, sendo utilizado um comprimento de onda de 525 nm. Por fim, plota-se o gráfico e analisa-se os picos encontrados, juntamente a comparação de cada uma com o padrão utilizado (*fucoïdan* da Sigma e alginato da Aldrich).



3.3.5. Espectrofotometria FT IR

Para realizar a análise dos diferentes espectros da amostra, utiliza-se a análise de FT IR (FT IR *Bruker Vertex 80*) – pela transformada de Fourier -, no qual as moléculas absorvem a luz na região infravermelha do espectro eletromagnético, e as convertem em vibrações moleculares. Além disso, a absorção é caracterizada pelas ligações químicas que estão presentes em cada molécula. Desta forma, a análise é feita para as seis extrações, sendo analisadas separadamente para depois compará-las.

3.3.6. Aplicação dos polissacarídeos

Os polissacarídeos apresentam vastas propriedades, tais como: espessantes (aumento de viscosidade do material), emulsificantes (permite a emulsão ao longo do tempo); atividades antiproliferativas. Pelas propriedades desses polissacarídeos, podem ser utilizados para diversas aplicabilidades como anticoagulantes, antioxidantes, antivirais, espessantes e gelificantes. Todas as aplicabilidades estão interligadas as suas propriedades e características, em que serão identificadas por meio das análises feitas.



CAPÍTULO 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados juntamente as discussões são apresentadas nesse tópico de forma semelhante à metodologia desenvolvida para este projeto. Os resultados, apresentados abaixo compreendem aqueles obtidos nas análises realizadas.

4.1. EXTRAÇÕES DOS POLISSACARÍDEOS

Como descrito na metodologia, as extrações realizadas na alga *M. pyrifera* resultaram em *fucoïdan* e alginato, nessa ordem. Para a extração, o peso seco determinado é interligado a etapa de delipidação, pois nessa etapa é retirado os lipídeos e pigmentos, e com isso o material é pesado. A fim de que tenha melhores análises, foram realizadas 6 extrações ao todo, as 3 primeiras extrações foram realizadas para a familiarização da metodologia. Os resultados são apresentados na Tabela 4.1, mostrando as extrações com seus respectivos rendimentos.

Tabela 4.1.: Rendimentos das extrações de alginato e *fucoïdan*

Amostras	PS	Algin.	Fuco.	Rendimento (%)	
	(g)	(g)	(g)	Alginato	<i>Fucoïdan</i>
1º extração	8,90	1,80	0,88	20,20	9,85
2º extração	4,21	0,15	0,13	3,67	3,09
3º extração	8,80	0,54	0,66	6,15	7,46
4º extração	8,66	1,07	0,63	12,38	7,30
5º extração	4,00	0,61	0,07	15,24	1,78
6º extração	4,40	0,68	0,34	15,45	7,73

Fonte: Produzida pelo autor

Como observado na Tabela 4.1, os rendimentos de alginato e *fucoïdan* foram obtidos por meio da divisão das respectivas amostras pelo peso seco (PS) e multiplicando por 100%. Sendo assim, os rendimentos obtidos nas 3 primeiras extrações foram distantes comparadas as 3 últimas, pois as primeiras extrações foram realizadas para poder entender como cada etapa funciona, já as 3 últimas foram realizadas com maior entendimento do processo. Portanto,



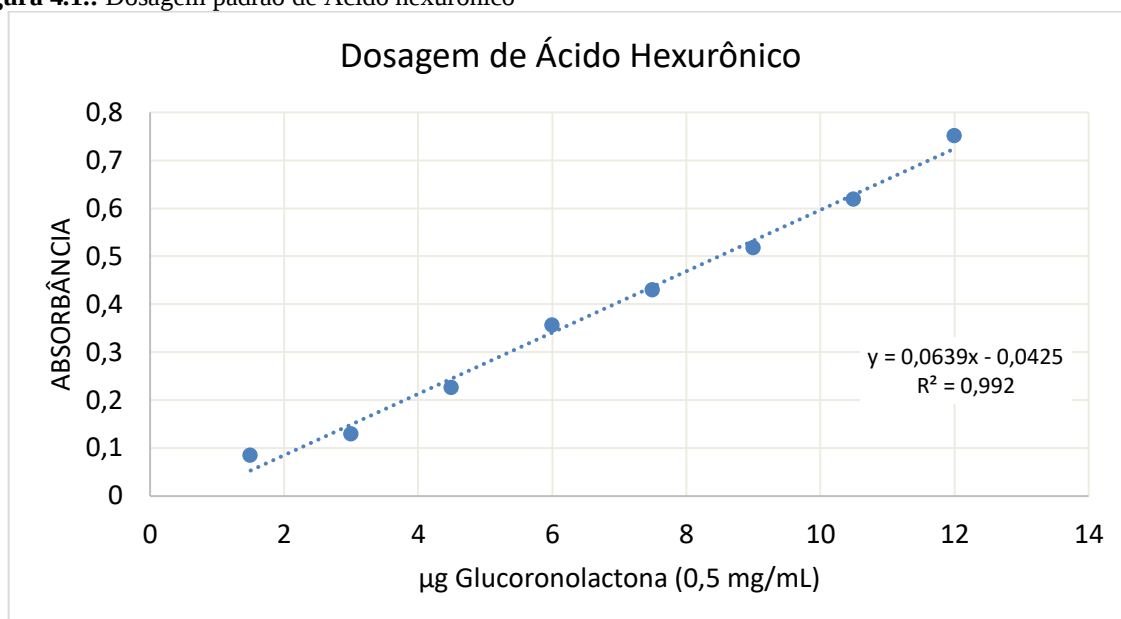
foram apresentados maiores rendimentos da quarta à sexta extração de alginato e *fucoïdan*, sendo a última extração com um melhor rendimento de 15,45% e 7,73% de alginato e *fucoïdan*, respectivamente, já que foi utilizado apenas 4,40 g de peso seco (PS) de alga. Pode-se considerar que, a primeira extração obteve um alto rendimento de 20,20% de alginato e 9,85% de *fucoïdan*, porém, foi menor que a última extração, considerando que o mesmo foi utilizado 8,90 g de peso seco, um peso maior comparado a última extração.

No artigo Oliveira (2015), a extração do *fucoïdan* da alga *Fucus vesiculosus*, foi realizada por meio de volumes de acetona, resultando em variações de 4,5% a 38,3% de *fucoïdan*, tais resultados variaram com a quantidade de acetona para a precipitação do produto. Em comparação aos resultados do artigo, a extração obtida nesse processo foi de 7,73% de *fucoïdan*, utilizando 70% de Etanol na solução. Já o artigo de Florentin (2015), a extração do alginato da alga *Dictyopteris Delicatula*, utilizou um método muito parecido com o utilizado nessa extração, obtendo 33,33% de alginato. Por comparação, a extração realizada nesse projeto foi de 15,45% de alginato. Deste modo, os valores analisados no projeto apresentaram resultados satisfatórios comparados aos dois artigos.

4.2. DOSAGEM DE ÁCIDO HEXURÔNICO

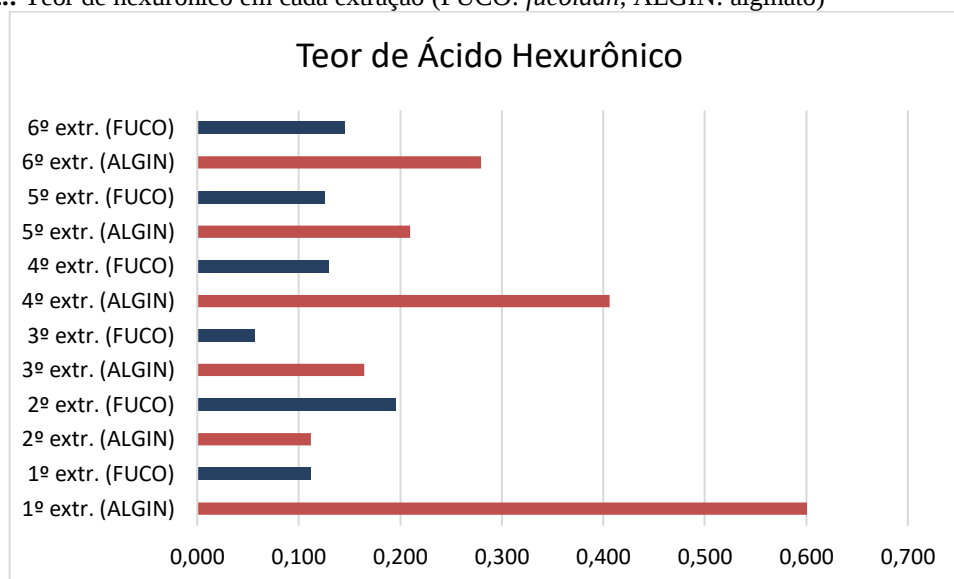
Do mesmo modo que está relatado na metodologia, essa etapa permitiu determinar a presença de ácidos hexurônicos presentes em cada amostra de alginato e *fucoïdan* das extrações pelo peso seco. Com isso, a Figura 4.1 mostra a curva que utiliza *glucoronolactona* 0,5 mg/ml como padrão. Por meio dessa curva padrão e a equação da reta, pôde-se analisar cada amostra pelos valores do teor de ácido hexurônico pelos valores de cada absorbância, representados na Tabela 4.2. Ademais, pode-se analisar os teores de hexurônico de cada extração por meio da Figura 4.2.



Figura 4.1.: Dosagem padrão de Ácido hexurônico**Fonte:** Produzida pelo autor**Tabela 4.2.:** Ácidos hexurônicos do alginato e *fucoidan*

Amostras	ABS (média)	Ac. Hex. (µg)	Ac. Hex. (µg) / PS (µg)
1º extração (algin)	0,766	12,018	0,601
1º extração (fuco)	0,143	2,242	0,112
2º extração (algin)	0,143	2,240	0,112
2º extração (fuco)	0,249	3,914	0,196
3º extração (algin)	0,210	3,292	0,165
3º extração (fuco)	0,072	1,133	0,057
4º extração (algin)	0,517	8,122	0,406
4º extração (fuco)	0,165	2,585	0,129
5º extração (algin)	0,267	4,194	0,210
5º extração (fuco)	0,160	2,504	0,125
6º extração (algin)	0,356	5,591	0,280
6º extração (fuco)	0,185	2,902	0,145

Fonte: Produzida pelo autor

Figura 4.2.: Teor de hexurônico em cada extração (FUCO: *fucoïdan*; ALGIN: alginato)

Fonte: Produzida pelo autor

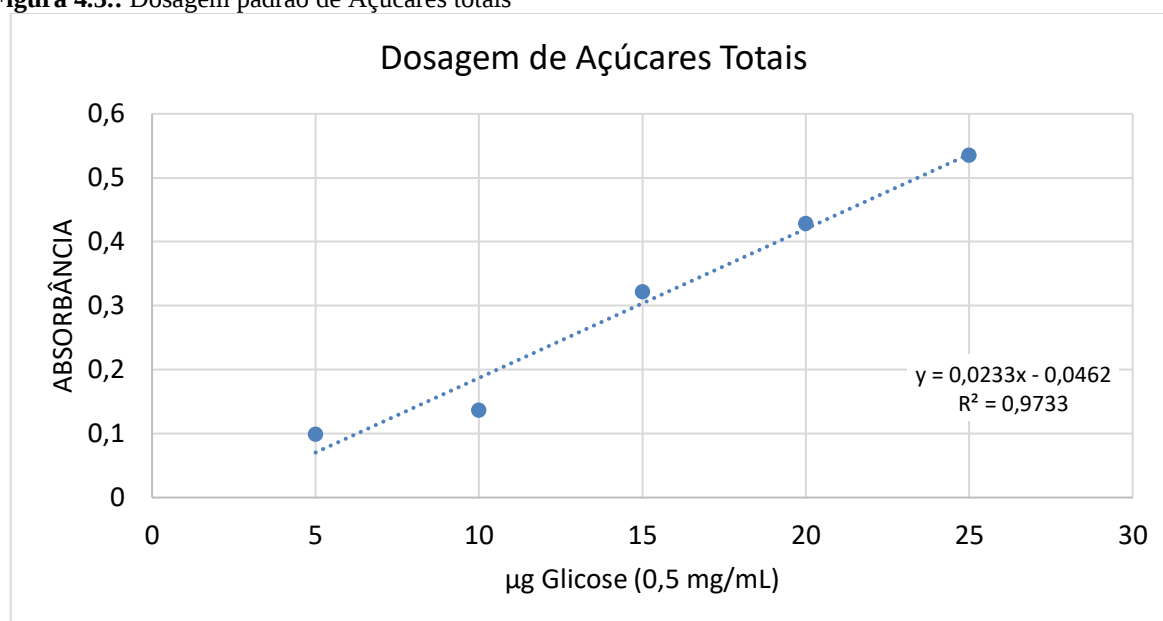
Com base na Tabela 4.2, observa-se uma diferença nos teores de ácido hexurônico entre os resultados de alginato e *fucoïdan*. Nota-se que os resultados dos teores de ácido hexurônico pelo PS da 1ª extração foram de 0,601 (µg/µg) para o alginato e 0,112 (µg/µg) para o *fucoïdan*, sendo o teor de alginato maior. Esses resultados em relação aos da 4ª extração foram semelhantes, pois apresentaram para o alginato um teor de 0,406 (µg/µg) e para o *fucoïdan* 0,129 (µg/µg). Os resultados da 1ª e da 4ª extração mostraram valores maiores comparados aos da 2ª, 3ª, 5ª e 6ª extração, observadas no Figura 4.2. Tais diferenças podem ser explicadas pelas características estruturais diferentes de cada amostra, além de poder apresentar possíveis contaminações durante a análise ou nas amostras.

Os dados obtidos das dosagens de ácido hexurônico no artigo Rioux *et al.*, (2007), foram de algas de espécies diferentes. As análises realizadas resultaram em uma variação de 0,056 (µg/µg) a 0,093 (µg/µg) de *fucoïdan* e 0,236 (µg/ µg) a 0,323 (µg/µg) para o alginato. Os resultados do artigo confirmam com os observados nesse projeto, em que o alginato apresenta maiores valores quando comparados aos de *fucoïdan*. Isso se explica, pois a dosagem de ácido hexurônico mostra qualquer tipo de ácido urônico presente nas amostras, sejam elas ácidos manurônicos, gularônicos e outros. Sendo assim, as amostras contidas com *fucoïdan* apresentam menores teores de ácidos hexurônico.

4.3. DOSAGEM DE AÇÚCARES TOTAIS (HEXOSE)

Assim como descrito na metodologia, essa análise permitiu determinar o teor de açúcares presentes na estrutura molecular, de cada amostra de alginato e *fucoïdan* das extrações pelo peso seco. Para analisar cada teor, fez-se necessário realizar uma curva utilizando glicose 0,5 mg/ml como padrão, observado na Figura 4.3. Por meio da curva padrão e a sua respectiva equação, pode-se calcular os valores do teor de açúcares pelos valores de absorbância, observados na Tabela 4.3. Ademais, pode-se analisar os teores de açúcares totais de cada extração por meio da Figura 4.4.

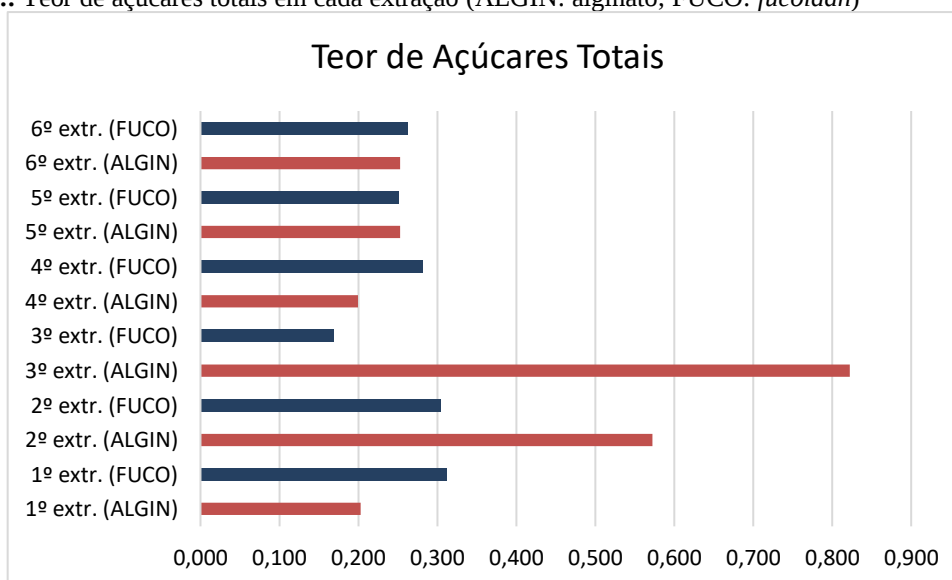
Figura 4.3.: Dosagem padrão de Açúcares totais



Fonte: Produzida pelo autor

Tabela 4.3.: Açúcares totais do alginato e *fucoïdan*

Amostras	ABS (média)	Aç. Tot. (µg)	Aç. Tot. (µg) / PS (µg)
1º extração (algin)	0,095	4,063	0,203
1º extração (fuco)	0,146	6,252	0,313
2º extração (algin)	0,267	11,452	0,573
2º extração (fuco)	0,142	6,087	0,304
3º extração (algin)	0,383	16,445	0,822
3º extração (fuco)	0,079	3,376	0,169
4º extração (algin)	0,093	3,991	0,200
4º extração (fuco)	0,131	5,629	0,281
5º extração (algin)	0,118	5,050	0,253
5º extração (fuco)	0,117	5,029	0,251
6º extração (algin)	0,118	5,057	0,253
6º extração (fuco)	0,123	5,265	0,263

Fonte: Produzida pelo autor**Figura 4.4.:** Teor de açúcares totais em cada extração (ALGIN: alginato; FUCO: *fucoïdan*)**Fonte:** Produzida pelo autor

De acordo com a Tabela 4.3, os teores de açúcares obtidos nas amostras de alginato são maiores quando comparadas com as amostras de *fucoïdan* na 2ª e 3ª. Observa-se que os valores do teor de açúcar pelo PS da 6ª extração foram de 0,253 (µg/µg) para o alginato, enquanto que o *fucoïdan* foi de 0,263 (µg/µg), ou seja, uma pequena diferença no teor. Já os valores da 1ª

extração de alginato foram 0,203 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$), e o de *fucoïdan* foi de 0,313 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$). Apesar da 2ª e 3ª extração, o alginato ter apresentado maiores concentrações de açúcares, as extrações da 4ª, 5ª e 6ª não mostraram uma diferença significativa entre os teores de açúcar do alginato e do *fucoïdan* (Figura 4.4). Os valores de alginato comparados aos de *fucoïdan* tendem a ser semelhantes, isso se dá pelo fato de a composição molecular de cada amostra ser composta por determinadas quantidades de hexose.

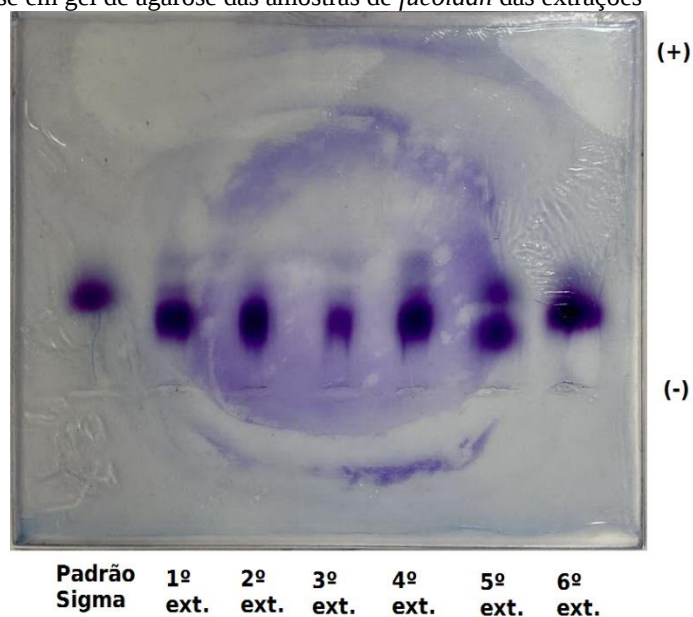
Ao analisar o artigo Rioux *et al.*, (2007), os autores estudam a caracterização das extrações de algas marrons. Nesse estudo, realizam análises químicas por dosagem de açúcares totais, contendo para o *fucoïdan* variações de 0,421 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) a 0,505 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$), enquanto que os de alginato, nesse artigo não foram realizados, pois não eram valores de interesse. Para os valores obtidos de alginato, no artigo de Almeida (2014), o autor analisa as extrações do alginato da alga *Lobophora Variegata*, onde os valores de alginato foram de 0,390 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) e 0,420 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$). Pode-se considerar que, os valores obtidos nesse projeto, apresentam composição de polissacarídeos em média de 0,384 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) para o alginato e 0,264 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) para o *fucoïdan*.

4.4. ELETROFORESE EM GEL DE AGAROSE

Como mencionado na metodologia, essa etapa permitiu analisar a presença de estruturas sulfatadas presentes nas amostras de cada extração, além da presença de possíveis contaminantes. A eletroforese foi realizada a partir de 12 μL para as amostras de *fucoïdan* e 30 μL para as amostras de alginato. Por meio deste, as Figuras 4.5 e 4.6 ilustram a presença desses sulfatos nas diferentes extrações de alginato e *fucoïdan*.



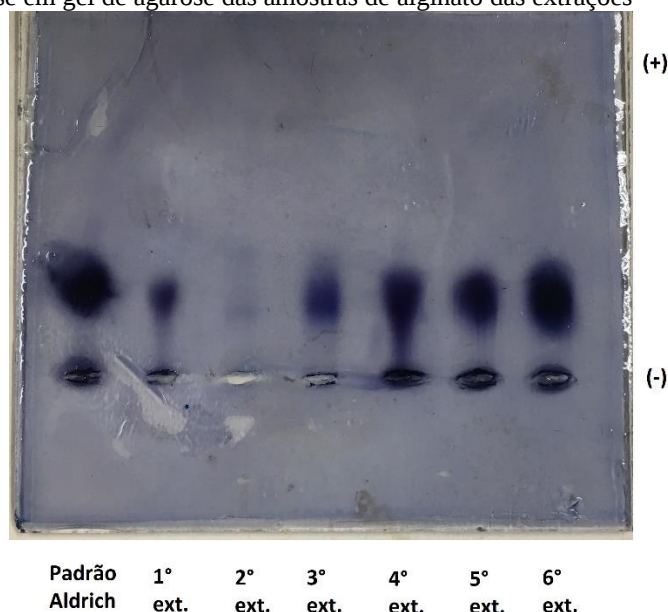
Figura 4.5.: Eletroforese em gel de agarose das amostras de *fucoïdan* das extrações



Fonte: Produzida pelo autor

Com base na Figura 4.5, os resultados de cada extração apresentaram metacromasia. O padrão da *Sigma*, serviu como base para identificação estrutural do *fucoïdan* em cada amostra, nas quais a 4ª e a 6ª extração apresentaram a banda de metacromasia muito similar ao do padrão. A 1ª, 2ª e 3ª extração, apresentaram metacromasia e bandas muito semelhantes entre si. Já a 5ª extração apresentou metacromasia, porém com duas bandas. Além disso, a 1ª, 3ª e 4ª extração apresentaram contaminação com DNA. Essas análises podem ser observadas pois, quando há presença de estruturas sulfatadas nas amostras, ocorre uma interação com o tampão (diamino) usado na corrida, e sua visualização dar-se-á por meio da coloração arroxeadada, conhecida como metacromasia, ocorrente pela interação do gel com o corante utilizado. Desta forma, as amostras apresentaram metacromasia, comprovando a presença de grupamentos de sulfato nas estruturas de cada extração. A seguir a Figura 4.6 ilustra a eletroforese nas extrações de alginato.

Figura 4.6.: Eletroforese em gel de agarose das amostras de alginato das extrações



Fonte: Produzida pelo autor

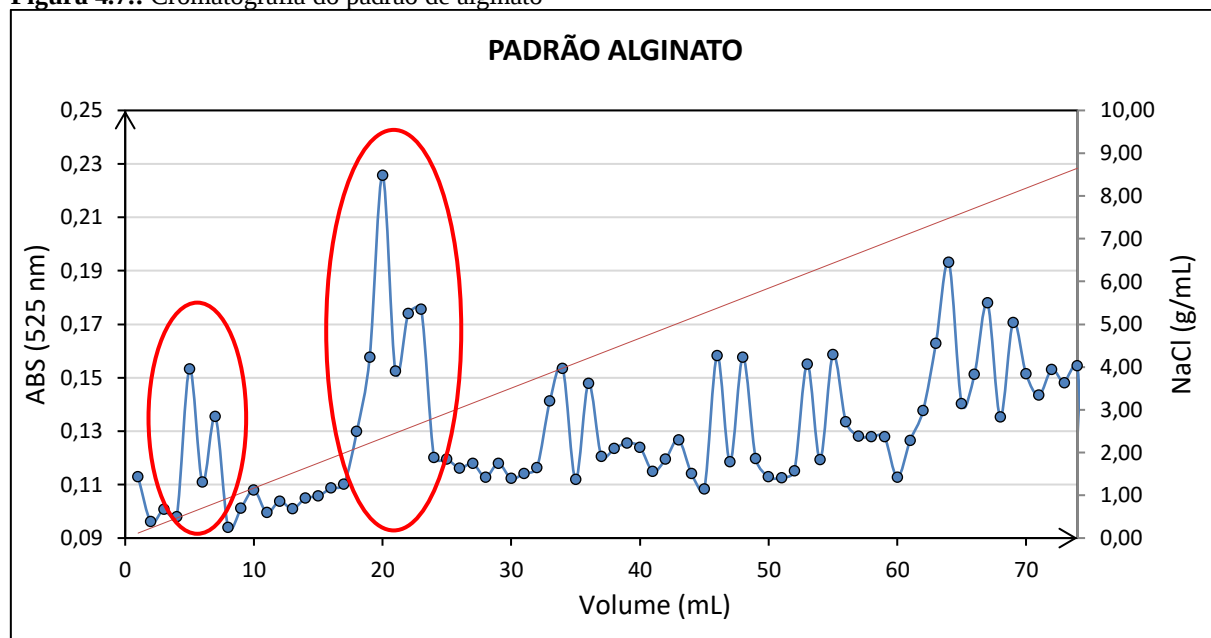
O padrão utilizado nessa análise foi o alginato de Aldrich, servindo como identificação da estrutura do alginato para as amostras. Os resultados da 3ª, 5ª e 6ª, apresentaram as bandas muito semelhantes entre si, além da 3ª extração apresentar contaminação com DNA. Já a 1ª e 4ª extração as amostras tiveram dificuldade para se deslocar, podendo ser contaminação com sal nessas duas amostras. Além disso, o resultado obtido na 2ª extração apresentou baixa metacromasia, mesmo após a imersão com solução tampão de acetato, para que os grupos carboxilados sejam ativados. Desta forma, as amostras apresentaram metacromasia por meio do corante, confirmando a presença de grupamentos sulfatados nas estruturas das extrações de alginato.

4.5. CROMATOGRAFIA DE TROCA IÔNICA

A análise cromatográfica possibilitou através do volume da solução salina utilizada a observação da interação do alginato e do *fucoïdan* com a coluna utilizada (DEAE). Para servir de referência, utilizou-se os padrões da Sigma e Aldrich para alginato e *fucoïdan*. A partir da primeira análise com apenas alginato (Figura 4.7) e uma apenas com *fucoïdan* (Figura 4.8), pôde-se utilizá-las como medida de determinação do volume que ocorre a precipitação do

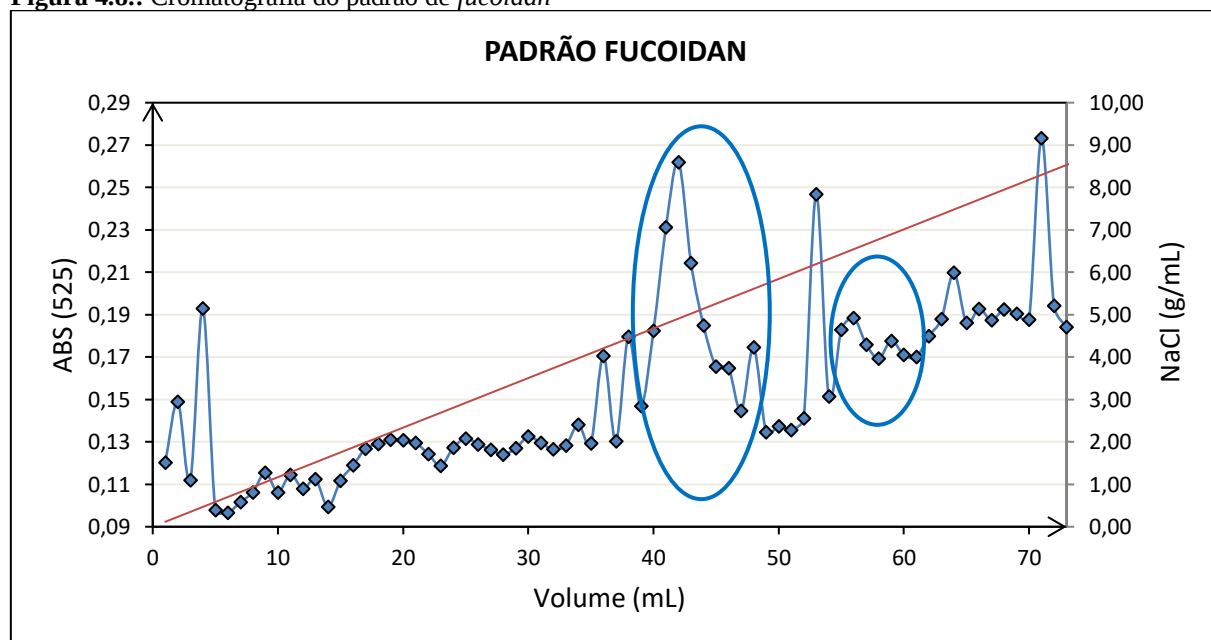
alginato e do *fucoïdan* da 1ª a 6ª extração, ilustradas nas Figuras 4.9, 4.10, 4.11; 4.12, 4.13, 4.14 e 4.15, pelas demarcações em vermelho (alginato) e azul (*fucoïdan*).

Figura 4.7.: Cromatografia do padrão de alginato

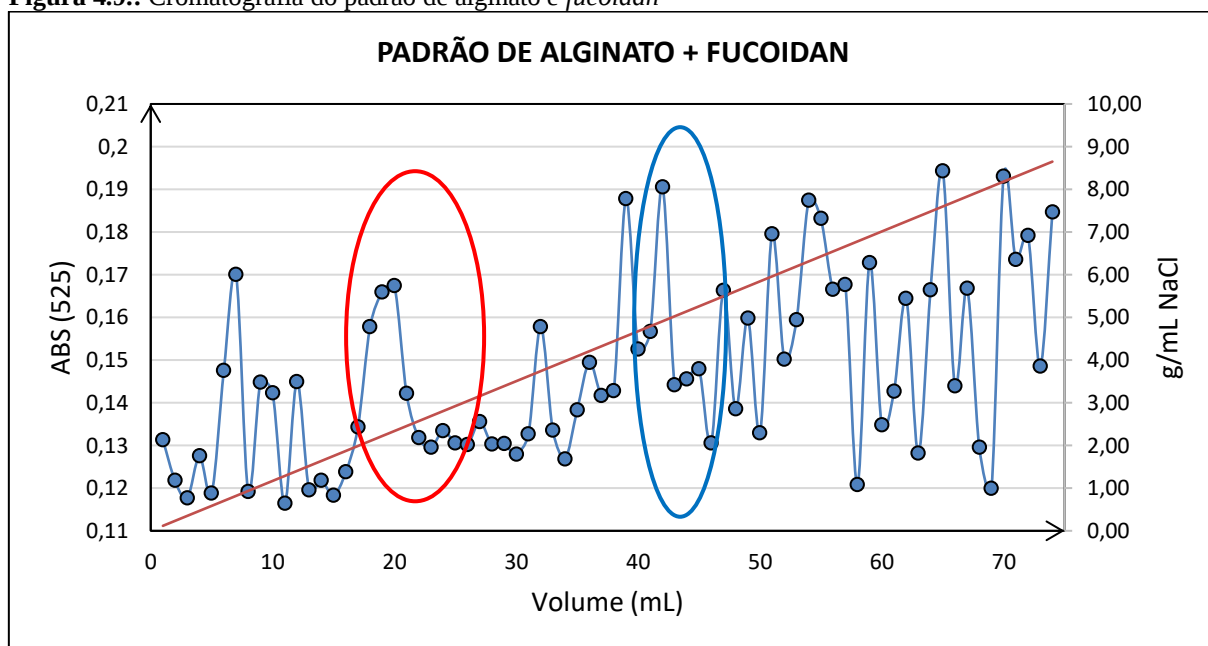


Fonte: Produzida pelo autor

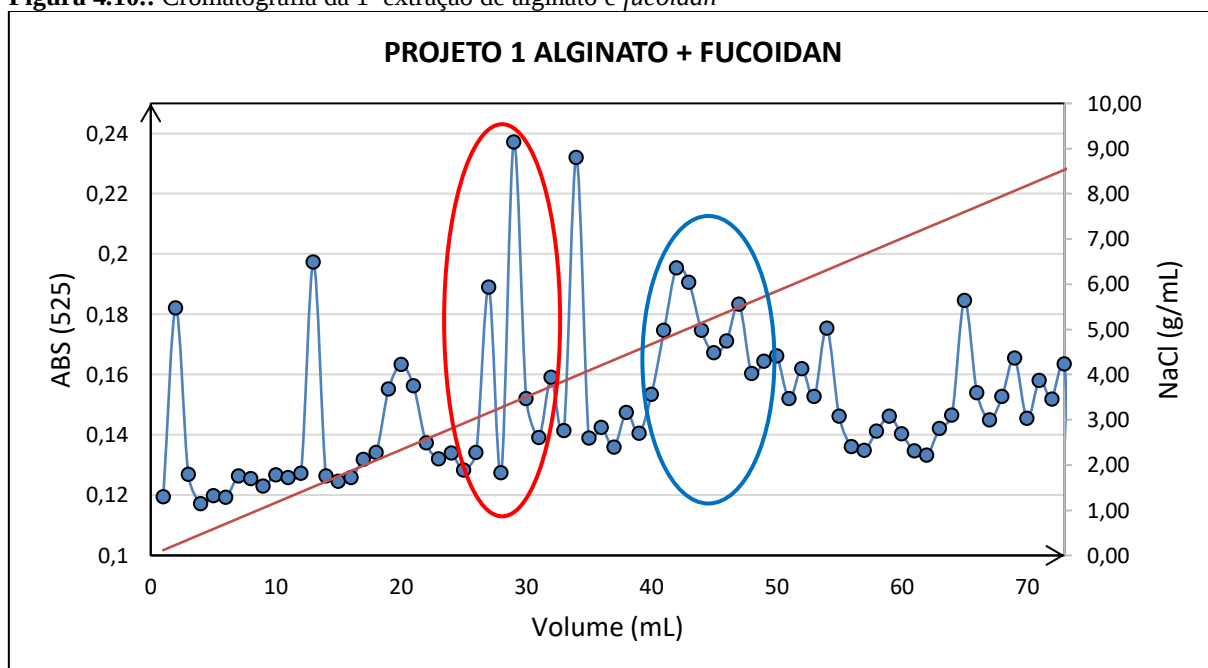
Figura 4.8.: Cromatografia do padrão de *fucoïdan*



Fonte: Produzida pelo autor

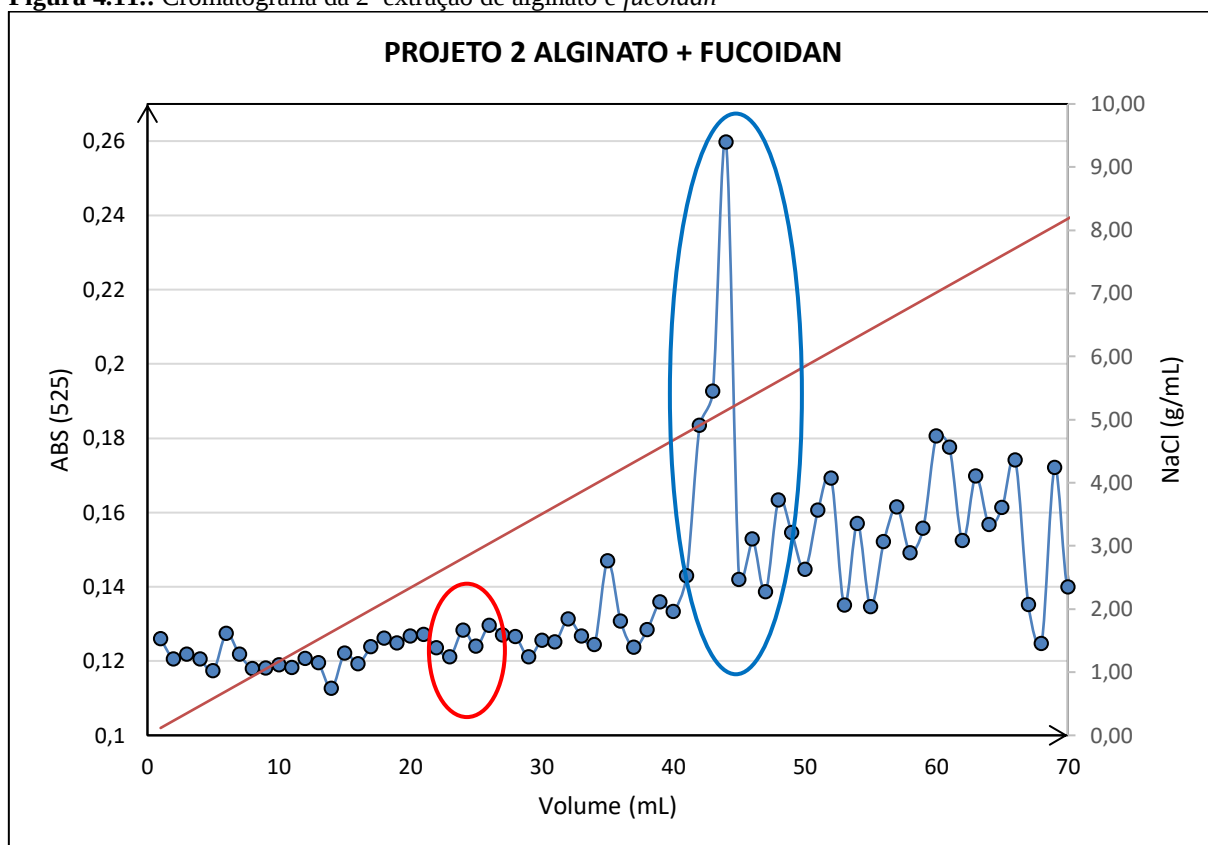
Figura 4.9.: Cromatografia do padrão de alginato e *fucoïdan*

Fonte: Produzida pelo autor

Figura 4.10.: Cromatografia da 1ª extração de alginato e *fucoïdan*

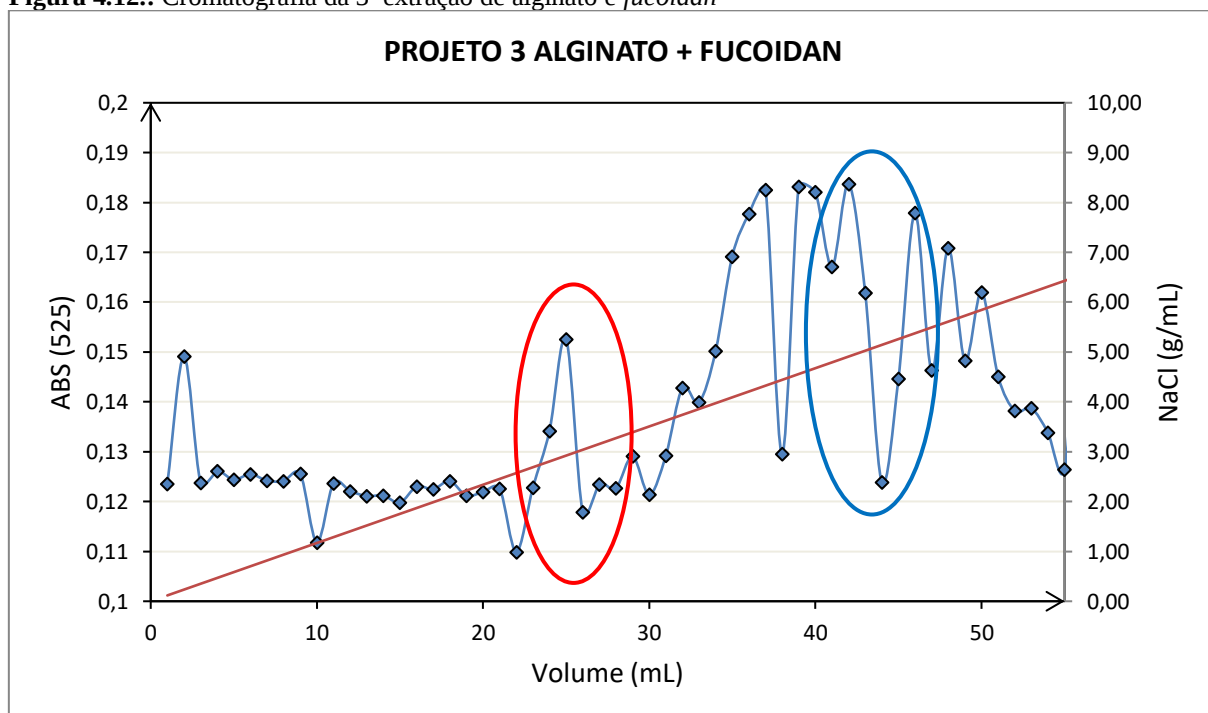
Fonte: Produzida pelo autor

Figura 4.11.: Cromatografia da 2ª extração de alginato e *fucoidan*



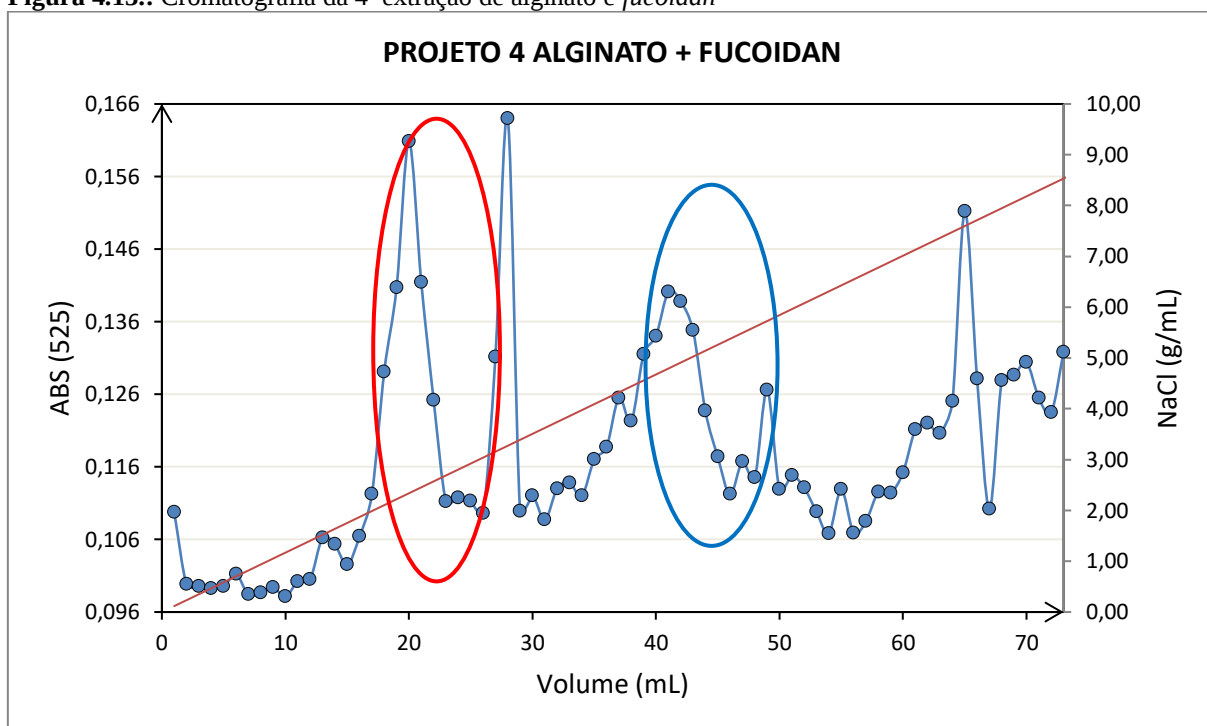
Fonte: Produzida pelo autor

Figura 4.12.: Cromatografia da 3ª extração de alginato e *fucoidan*



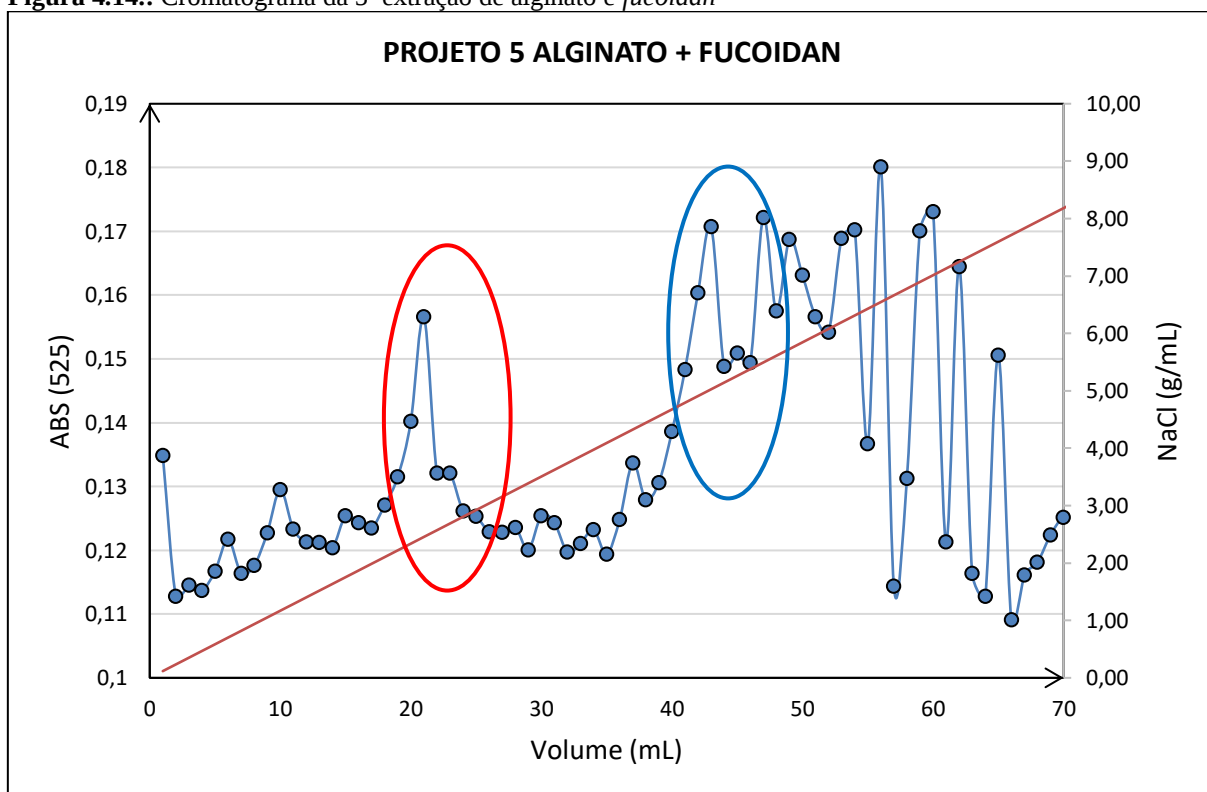
Fonte: Produzida pelo autor

Figura 4.13.: Cromatografia da 4ª extração de alginato e *fucoidan*

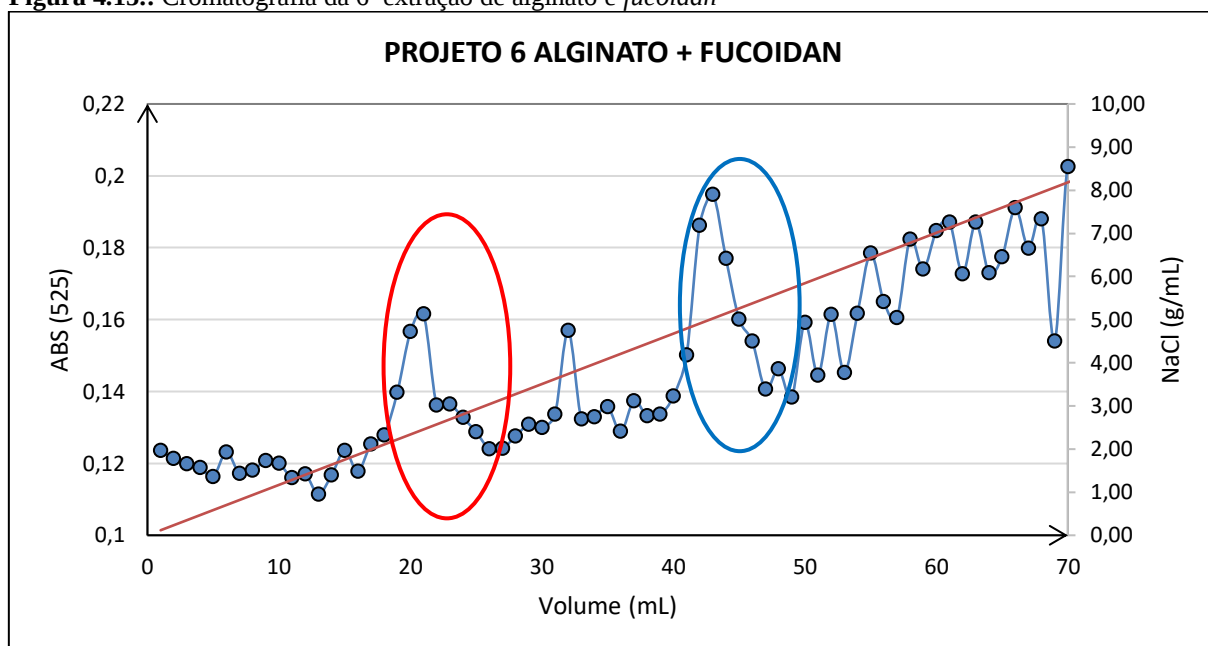


Fonte: Produzida pelo autor

Figura 4.14.: Cromatografia da 5ª extração de alginato e *fucoidan*



Fonte: Produzida pelo autor

Figura 4.15.: Cromatografia da 6ª extração de alginato e *fucoïdan*

Fonte: Produzida pelo autor

A partir da Figura 4.7 nota-se que o alginato precipita com volume entre 20 e 30 mL de NaCl e na Figura 4.8 o *fucoïdan* precipita com volume entre 40 e 50 mL de NaCl. Isso se explica, pois o *fucoïdan* apresenta uma maior carga negativa comparada ao do alginato, e como a coluna DEAE apresenta cargas positivas, o *fucoïdan* irá se prender com maior facilidade, sendo difícil a sua remoção, necessitando de uma maior concentração de sal para a sua remoção. Desta forma, a Figura 4.9 com os padrões, ilustra a precipitação do alginato e *fucoïdan* nas faixas determinadas pelas Figuras 4.7 e 4.8. Entende-se que, na Figura 4.5 o alginato necessita de uma concentração de aproximadamente 6,0 g/mL de NaCl enquanto o *fucoïdan* necessita de 8,0 g/mL de NaCl.

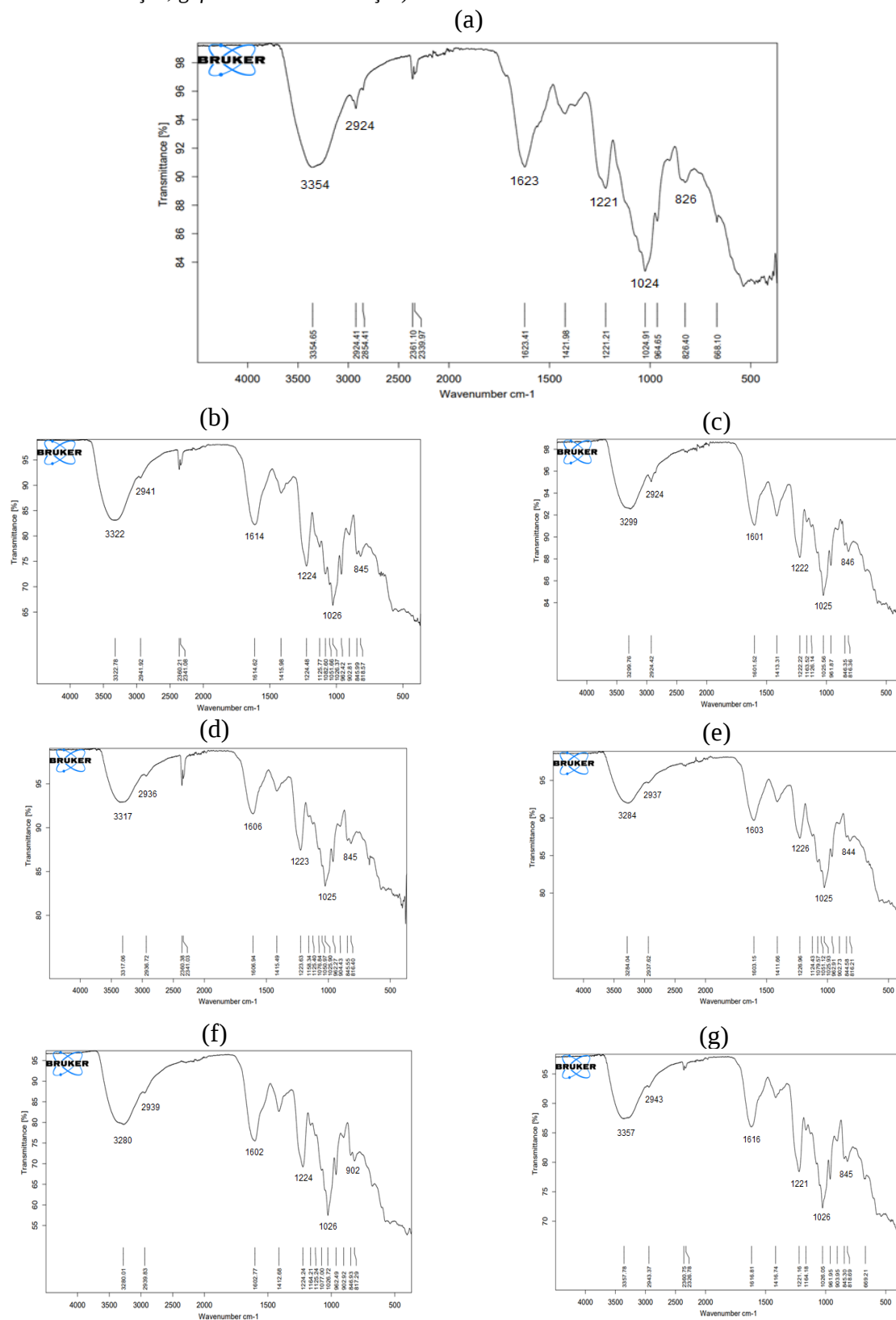
Em comparação as extrações não houve diferença significativa, as Figuras 4.10 e 4.13, da 1ª e 4ª extração, respectivamente, apresentaram resultados muito semelhantes, em que o alginato apresentou uma concentração de 9,0 g/mL de NaCl enquanto o *fucoïdan* apresentou 7,0 g/mL de NaCl. As figuras 4.9 e 4.10 da 3ª e 6ª extração de igual modo ilustraram semelhanças, onde o alginato exibiu uma concentração de 5,0 g/mL e o *fucoïdan* 8,0 g/mL. Em contrapartida, a 2ª extração (Figura 4.11) o alginato não foi detectado, já o *fucoïdan* apresentou uma concentração esperada de concentração, aproximadamente 9,0 g/mL. Isso se dá pois o rendimento do alginato na 2ª extração foi baixo, e como ele não tem muita interação com a coluna, pouca concentração de NaCl é necessária para a eluição do alginato, e como o *fucoïdan* apresenta uma interação maior, então a concentração necessária será maior.

4.6. ESPECTROFOTOMETRIA FT IR

Como exposto na metodologia, a espectroscopia de infravermelho (FT IR) é uma análise importante para a identificação de algum composto. Como parâmetro utilizou-se os padrões de alginato e *fucoïdan*, para averiguar o composto presentes na 1ª a 6ª extração, sendo ilustradas nas Figuras 4.16 e 4.17. Porém, como os gráficos apresentaram semelhanças entre si, utilizou-se a 1ª extração para analisar e discutir os resultados.



Figura 4.16.: Espectrofotometria de infravermelho referentes ao *fucoïdan* (a: padrão de *fucoïdan* da Sigma; b: *fucoïdan* da 1ª extração; c: *fucoïdan* da 2ª extração; d: *fucoïdan* da 3ª extração; e: *fucoïdan* da 4ª extração; f: *fucoïdan* da 5ª extração; g: *fucoïdan* da 6ª extração)

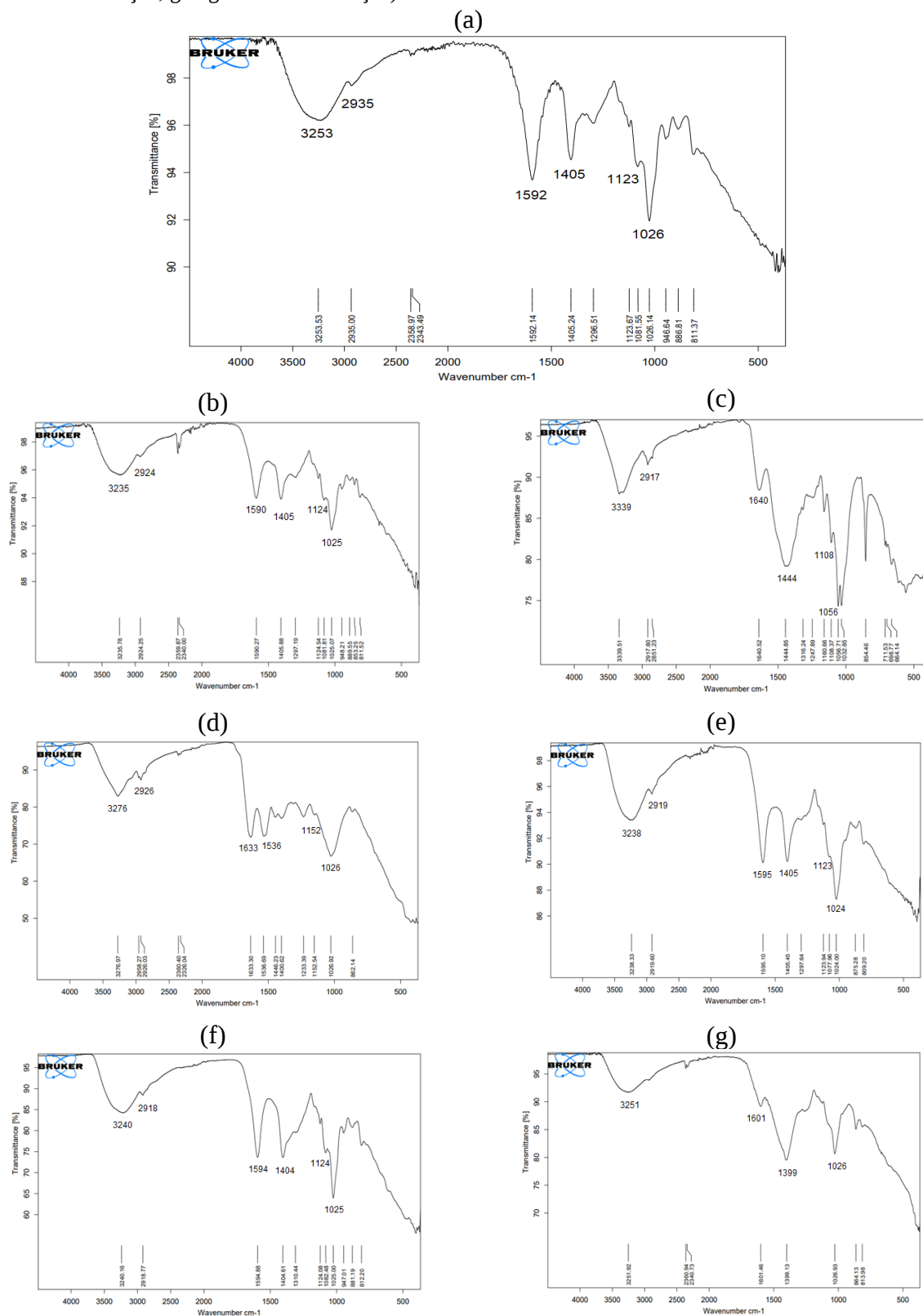


Fonte: Produzida pelo autor

Segundo a Figura 4.16, foram analisadas as bandas mais importantes do *fucoïdan*. Logo, o primeiro pico apresenta em 3322 cm^{-1} vibrações de alongamento de O-H dos anéis glicídicos, comum em polissacarídeos, e em 2941 cm^{-1} observa-se vibrações correspondentes a C-H de anéis glicídicos e grupos metis associados a *fucoïdan*. Em torno de 1614 cm^{-1} identifica-se pico correspondente a carboxila do grupo de ácidos hexurônico. Já os sinais em 1224 cm^{-1} e 1026 cm^{-1} podem ser associados a grupos sulfatos, e o pico em 845 cm^{-1} pode indicar a existência de fucose sulfatada. Entende-se que, as análises decorrentes das extrações de *fucoïdan* estão bem próximas as obtidas pelo padrão. A seguir a Figura 4.17 ilustra a espectrofotometria das extrações de alginato.



Figura 4.17.: Espectrofotometria de infravermelho referentes ao alginato (a: padrão de alginato da Aldrich; b: alginato da 1ª extração; c: alginato da 2ª extração; d: alginato da 3ª extração; e: alginato da 4ª extração; f: alginato da 5ª extração; g: alginato da 6ª extração)



Fonte: Produzida pelo autor

Do mesmo modo, a Figura 4.17 apresenta os picos mais característicos do alginato foram observadas em todo o espectro. Sendo assim, o primeiro pico apresenta uma banda larga em 3235 cm^{-1} , associada a vibrações de alongamento de O-H, e vibrações de alongamento de alifáticos C-H em 2924 cm^{-1} . A banda presente em 1590 cm^{-1} e 1405 cm^{-1} pode ser atribuída a vibração assimétrica e simétrica de carboxilato -COO- . Já as bandas fracas em 1124 cm^{-1} e 1025 cm^{-1} podem ser associadas a C-O, C-S e C-C vibrações de alongamento de anel de piranose. Pode-se considerar que, tanto os picos analisados para determinação de cada composto quanto os do padrão de alginato são similares, parecendo confirmar os dados obtidos nas extrações de alginato.

4.7. APLICABILIDADES DO *FUCOIDAN* E ALGINATO EM COSMÉTICOS E FÁRMACOS

As análises realizadas e discutidas para cada extração, foram fundamentais para a caracterização das amostras tanto de alginato quanto de *fucoïdan*, identificando a presença nos produtos. A partir das análises discutidas no decorrer dos tópicos, pode-se observar que as extrações obtiveram parâmetros que possibilitam para aplicações em futuros ensaios farmacológicos. Porém, como mencionado na metodologia, esta etapa é apenas com bases bibliográficas. Desta forma, foram representadas as aplicações dos produtos na Quadro 4.1.



Quadro 4.1.: Aplicabilidades de alginato e *fucoïdan*

Polissacarídeos	Aplicabilidades
<i>Fucoïdan</i>	Antioxidantes
	Anticoagulantes
	Antivirais
	Anti-inflamatórios
	Antitumorais
	Neuroprotetores
Alginato	Anti-agregantes plaquetários
	Espessantes
	Gelificantes
	Agentes coloidais
	Antitumorais

Fonte: Produzida pelo autor com base nos dados de (ARAUJO *et al.*, 2021; TAKAHASHI *et al.*, 2017; WANG *et al.*, 2019; PENA *et al.*, 2011; SELLIMI *et al.*, 2014; FUJIHARA *et al.*, 1992)

Conforme a Quadro 4.1, observa-se que tanto o *fucoïdan* quanto o alginato apresentam vastas aplicabilidades. Isso se dá, pois, os polissacarídeos apresentam propriedades que foram mostradas nos Quadros 2.1 e 2.2, como por exemplo: o alginato apresenta propriedades espessantes (aumento de viscosidade do material), emulsificantes (permite a emulsão ao longo do tempo), difusividades (capacidade em se misturar) e até mesmo na absorção de água; já o *fucoïdan* apresenta propriedades de formação de nanopartículas e atividades antiproliferativas. Desta forma, os polissacarídeos apresentam forte importância, principalmente para os novos estudos (ARAUJO *et al.*, 2021; WANG *et al.*, 2019; ALMEIDA, 2014; PENA *et al.*, 2011).

Por conseguinte, as aplicabilidades do *fucoïdan* (Quadro 4.1), como anticoagulantes, antioxidantes, antivirais, anti-inflamatórias e antitumorais, dependem principalmente dos grupamentos sulfatados presentes nas amostras (SELLIMI *et al.*, 2014). Por outro lado, a aplicabilidade em neuroprotetores, se explica pelas propriedades antioxidantes presentes no *fucoïdan*, além do peso molecular (JIN *et al.*, 2013). Propriedades identificadas nas análises realizadas para a caracterização das extrações, possibilitando identificação desse grupo em sua estrutura.

Em seguimento, as aplicações do alginato (Quadro 4.1), como espessantes, gelificantes (formação de gel) e como agentes coloidais (duas fases, uma como dispersante e a outra como disperso), dependem rigorosamente da hidratação da matriz, resultando na formação de

camadas gelatinosas, atuando como uma barreira para difusão do fármaco (LIEW *et al.*, 2006). Estudos relatam que o alginato apresenta grandes aplicações em antitumorais (ALMEIDA, 2014). Desse modo, a aplicação antitumoral é relacionada a vários fatores, principalmente pelos ácidos manurônico e gulurônico presentes na estrutura do alginato (SOUSA *et al.*, 2007; FUJIHARA *et al.*, 1992).



CAPÍTULO 5 – CONCLUSÕES E DISCUSSÕES

5.1. CONCLUSÃO

Diante do presente projeto foram realizadas seis extrações na alga marinha *Macrocystis pyrifera* por processo de hidrólise ácida resultando em polissacarídeos definidos como alginato e *fucoïdan*. Com isso, foi possível caracterizá-los por meio de análises de dosagens de hexose e ácidos hexurônico, cromatografia de troca iônica, eletroforese em gel de agarose e espectrofotometria de infravermelho.

Após as extrações, pôde-se observar que a alga *Macrocystis pyrifera* apresenta elevados rendimentos de alginato quando comparados com o *fucoïdan*, visto que, na 6ª extração o alginato apresentou 15,45% enquanto o *fucoïdan* 7,73%. Já as análises químicas mostraram que nessa extração o alginato apresentou teores de 0,280 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) de ácido hexurônico e 0,253 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) de açúcares totais, enquanto o *fucoïdan* apresentou teores de 0,145 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) de ácido hexurônico e 0,263 ($\mu\text{g}/\mu\text{g}$) de açúcares totais. Os valores de ácidos hexurônico maiores em alginato se explica, pois, o mesmo apresenta maiores quantidades de hexurônico em sua estrutura, já o *fucoïdan* apresenta maiores teores de açúcares totais, pois, em sua estrutura tende a apresentar maiores quantidades de hexose.

Ademais, as amostras de *fucoïdan* apresentam uma maior carga negativa comparada ao do alginato, sendo mais difícil sua remoção da coluna, comprovando os resultados obtidos na cromatografia de troca iônica, onde a 6ª extração apresentou precipitações de alginato em 5,0 g/mL de NaCl e *fucoïdan* 8,0 g/mL de NaCl. As amostras das extrações também podem ser caracterizadas pela existência de grupos sulfatados como também carboxilados em suas estruturas químicas, sendo comprovada por meio da eletroforese e espectroscopia de infravermelho.

As extrações de alginato e *fucoïdan* realizadas nesse projeto, obtiveram resultados significativos em seus rendimentos. Por mais que as três primeiras extrações foram para adaptação, a primeira extração obteve um alto rendimento quando comparado a última extração. Para comprovação da extração de polissacarídeos, os resultados obtidos por meio de metacromasia foram conclusivos, apresentando interação com o corante. De igual modo, foram averiguados pelas análises de determinação da composição química, obtendo a identificação de grupos presentes nos polissacarídeos, porém, apresentaram contaminações com DNA durante

o processo. É importante salientar que, as aplicabilidades selecionadas foram por meio dos resultados obtidos pelas análises, portanto, o alginato e *fucoïdan* apresentam propriedades que favorecem suas utilidades econômicas.

5.2. SUGESTÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

O trabalho foi ressaltado na extração dos polissacarídeos derivados da alga marinha marrom *Macrocystis pyrifera*, especificando as aplicabilidades do alginato e *fucoïdan*. No decorrer da metodologia foram feitas análises dos rendimentos obtidos nas extrações, para averiguar a composição química presente em cada amostra obtida. Diante disso, poderão ser avaliados em futuros trabalhos:

- Realizar análises de ressonância magnética linear (RMN) de cada amostra para avaliar com maior precisão a pureza dos compostos;
- Implementar otimizações na metodologia de extração para possíveis aumentos de rendimentos;
- Realizar análises *invivo* das aplicabilidades estudadas no projeto.



REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ADRIANO, A. S. *et al.* Certificado verde como diferencial para as indústrias. **JANUS**, São Paulo, v. 13, n. 23, p. 115-129, jun./2016. Disponível em: <http://publicacoes.unifatea.edu.br/index.php/Janus/article/view/378/351>. Acesso em: 5 abr. 2022.

ALMEIDA, Hugo Wescley Barros. **Extração, caracterização estrutural parcial e atividades farmacológicas do alginato obtido da alga marrom *Lobophora variegata* (lamouroux)**. Natal, v.1, f. 85. p. 66, fev. 2014. Dissertação (Bioquímica) – Universidade Federal Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

AMORIM, A. M. *et al.* **Botânica no Inverno**. 5. ed. São Paulo: GrupoA, 2016. p. 5-212.

AMORIM, Ana Maria. **Estudo de antioxidantes, potencial bioativo e composição química de *Chnoospora mínima*, *Dictyopteris plagiogramma*, *Padina gymnospora*, *Sargassum cymosum* (Ochrophyta) e *Codium isthmocladum* (Chlorophyta)**. 2018. Trabalho de conclusão de curso (Biociências) – Universidade de São Paulo, São Paulo, 2018.

AQUINO, Leonardo Medeiros. **Xantofilas marinhas bioativas: fucoxantina e astaxantina, uma revisão das suas atividades biológicas**. Natal, v.1, f. 68, p. 56, abr. 2021. Dissertação (Bioquímica) - Universidade Federal Rio Grande do Norte, Natal, 2021.

ARAUJO, G. S. *et al.* CULTIVO DE MICRO E MACROALGAS MARINHAS EM CONDIÇÕES CONTROLADAS, E EXTRAÇÃO DE POLISSACARÍDEOS SULFATADOS. **LABOMAR**, Fortaleza, v. 42, n. 1, p. 94-100, dez./2009. Disponível em: https://repositorio.ufc.br/bitstream/riufc/53660/1/2009_art_gsaraujo.pdf. Acesso em: 29 mar. 2022.

ARAÚJO, Thiago Laurentino. **Fucanas extraídas da alga *dictyota menstrualis* com atividades antioxidante, antiproliferativa e anticoagulante**. Natal, v. 1, f. 95, . p. 73, jun. 2018. Dissertação (Bioquímica) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2018.

AVELAR, Ana Cristina; SOUZA, C. G. D. INNOVATION AND PRODUCTS DEVELOPMENT IN THE COSMETIC INDUSTRY: A CASE STUDY. **Gestão Industrial**, Paraná, v. 2, n. 2, p. 87-97, set./2006. Disponível em: <https://periodicos.utfpr.edu.br/revistagi/article/view/116>. Acesso em: 20 jul. 2022.

BALIAN, J. E. A. *et al.* Inovação e estratégia de luxo como fatores que interferem na valorização da marca. **Estratégia**, São Paulo, v. 9, n. 8, p. 5-168, jun./2010. Disponível em: http://mirror.fAAP.br/revista_faap/estrategica/estrategica_9.pdf#page=104. Acesso em: 18 jul. 2022.

BARROS, Cleber. A história dos cosméticos. **Inovação Cosmética**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 1-15, dez./2020. Disponível em: <https://www.cleberbarros.com.br/a-historia-dos-cosmeticos/>. Acesso em: 16 mai. 2022.



BHUTIA, T. K. *et al.* Algas marrons. **Encyclopaedia Britannica**, Britanha, v. 1, n. 1, p. 1-5, mai./1999. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/brown-algae/additional-info#More-Articles>. Acesso em: 23 jun. 2022.

BIODIVERSITY4ALL. **Algas Verdes Filo Chlorophyta**. Disponível em: <https://www.biodiversity4all.org/taxa/50863-Chlorophyta>. Acesso em: 21 jun. 2022.

BLACK, W. A. P; DEWAR, E. T.; WOODWARD, F. N.. Manufacture of algal chemicals: IV-Laboratory-scale isolation of fucoidan from brown Marine Algae. **Journal of the science of food and agriculture**, Great Britain, v. 3, n. 3, p. 122-129, mar./1952. Disponível em: <https://doi.org/10.1002/jsfa.2740030305>. Acesso em: 23 mai. 2022.

BOM, S. *et al.* A step forward on sustainability in the cosmetics industry: A review. **ELSEVIER**, Portugal, v. 225, n. 1, p. 270-290, mar./2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.jclepro.2019.03.255> . Acesso em: 16 mai. 2022.

BONEY, A.d.. Aspects of the Biology of the Seaweeds of Economic Importance. **Advances in Marine Biology**, Gales, v. 3, n. 1, p. 105-253, abr./1965. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/S0065-2881\(08\)60397-1](https://doi.org/10.1016/S0065-2881(08)60397-1). Acesso em: 24 jun. 2022.

BRINGLOE, T. T. *et al.* Phylogeny and Evolution of the Brown Algae. **Critical Reviews in Plant Sciences**, Australia, v. 1, n. 1, p. 281-321, abr./2020. Disponível em: <https://www.britannica.com/science/brown-algae>. Acesso em: 24 jun. 2022.

BRZEZINSKI, M. A. .. *et al.* Multiple sources and forms of nitrogen sustain year-round kelp growth on the inner continental shelf of the Santa Barbara Channel. **Oceanography**, USA, v. 26, n. 3, p. 114-123, out./2013. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.5670/oceanog.2013.53>. Acesso em: 25 jun. 2022.

CACURO, Thiago Aguiar; WALDMAN, Walter. Alginato e seu Uso Como Polímero Sensível a pH. **Revista virtual de química**, Campos, v. 10, n. 5, p. 1607-1617, jul./2018. Disponível em: <http://static.sites.s bq.org.br/rvq.s bq.org.br/pdf/v10n5a32.pdf>. Acesso em: 6 jun. 2022.

CAPANEMA, L. X. D. L; FILHO, P. L. P. Indústria Farmacêutica Brasileira: Reflexões sobre sua Estrutura e Potencial de Investimentos. **Fármaco**, Mato Grosso do Sul, v. 1, n. 1, p. 165-204, jul./2007. Disponível em: https://web.bndes.gov.br/bib/jspui/bitstream/1408/14640/1/Indústria%20Farmacêutica%20Brasileira_Reflexões%20sobre%20sua%20Estrutura%20e%20Potencial%20de%20Investimentos_P_BD.pdf. Acesso em: 12 jul. 2022.

CERQUEIRA, A. C. D. Comportamento do consumidor de cosméticos: um estudo exploratório. **Formadores: Vivências e Estudos**, Bahia, v. 6, n. 1, p. 128-157, nov./2013. Disponível em: <https://seer-adventista.com.br/ojs3/index.php/formadores/article/view/292>. Acesso em: 20 jul. 2022.

COLLA, Phillip. **Ocean Light**. Sunlight glows throughout a giant kelp forest, *Macrocystis pyrifera*. Disponível em: <https://www.oceanlight.com/spotlight.php?img=37087>. Acesso em: 2 jun. 2022.



CLAYTON, M. N.. Evolution and Life Histories of Brown Algae. **Botanica Marina**, Australia, v. 31, n. 5, p. 379-387, mai./1988. Disponível em: <https://doi.org/10.1515/botm.1988.31.5.379>. Acesso em: 24 jun. 2022.

CRIBB, Ab. *Macrocystis pyrifera* (L.) Ag. in Tasmanian Waters. **Australian Journal of Marine and Freshwater Research**, Tasmânia, v. 5, n. 1, p. 1-34, abr./1954. Disponível em: <https://doi.org/10.1071/MF9540001>. Acesso em: 28 jun. 2022.

DBIOTEC. Alga-Marrom, um novo aliado ao tratamento contra a obesidade. 2011. Disponível em: <http://dbiotec.blogspot.com/2011/08/alga-marrom-um-novo-aliado-ao.html>. Acesso em: 28 jun. 2022.

Dietrich, C. P., & Dietrich, S. M. C. Electrophoretic behaviour of acidic mucopolysaccharides in diamine buffers. **Analytical Biochemistry**, v.70, n. 2, p. 645-647, 1976. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(76\)90496-6](https://doi.org/10.1016/0003-2697(76)90496-6)

DINESH, S. *et al.* In vitro anti-HIV-1 activity of fucoidan from *Sargassum swartzii*. **ELSEVIER**, USA, v. 1, n. 1, p. 1-6, set./2016. Disponível em: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26472515/#:~:text=In%20the%20present%20study%2C%20anti,levels%20and%20reverse%20transcriptase%20activity..> Acesso em: 1 abr. 2022.

DISCHE, Zacharias. A new specific color reaction of hexuronic acids. **Journal of Biological Chemistry**, Maryland, v. 167, n. 1, p. 189-191, jul./1946. Disponível em: https://web.archive.org/web/20180219100921id_/http://www.jbc.org:80/content/167/1/189.full.pdf. Acesso em: 8 ago. 2022.

DOAN, H. V. *et al.* Effects of low molecular weight sodium alginate on growth performance, immunity, and disease resistance of tilapia, *Oreochromis niloticus*. **Fish & Shellfish Immunology**, Tailândia, v. 55, n. 1, p. 186-194, ago./2016. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1050464816303412?casa_token=O8gkEfkQ8-MAAAAA:qoQVofY2nA5qBdbYF5bi-9sGcPt2DTUpAaWu8Xj-E6K3FgR6_37LrtpgUiXK2OvFQtQ6dIBBZA. Acesso em: 4 jul. 2022.

DRAGET, K. I.; TECHNOLOGY, N. U. O. S. A; NORWAY. Alginates. **Handbook of hydrocolloids**, Noruega, v. 29, n. 1, p. 807-828, abr./2009. Disponível em: <https://doi.org/10.1533/9781845695873.807>. Acesso em: 7 jun. 2022.

DRAGET, Kurt I.; TAYLOR, Catherine. Chemical, physical and biological properties of alginates and their biomedical implications. **Food Hydrocolloids**, Noruega, v. 25, n. 1, p. 251-256, abr./2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.foodhyd.2009.10.007>. Acesso em: 4 jul. 2022.

DUBOIS, M. *et al.* Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances. **Analytical Chemistry**, Minnesota, v. 28, n. 3, p. 350-356, set./1956. Disponível em: https://pubs.acs.org/doi/pdf/10.1021/ac60111a017?casa_token=yzYduE2ZfDcAAAAA%3AazM_Gv-Bg1CVRws5ciR9QeQvZgcHzdr6vRa_ROrfjImLxqLStatmbxptjde8osxOdTrLlzcOokhs5pg&cookieSet=1. Acesso em: 12 ago. 2022.



ENOQUE, Alessandro Gomes; SOUZA, Jéssica Silva; MIYAZAKI, Vitor Koiti. Reflexões acerca do consumo verde e sustentável na sociedade contemporânea. **CADERNOS EBAPE.BR**, Rio de Janeiro, v. 17, n. 2, p. 403-413, jun./2019. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/cebape/a/3mndB5MWfzmLggcMjmc76MP/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 30 mar. 2022.

FACKLER, Claire. **NOAA**. *Macrocystis pyrifera*. Disponível em: <https://creativecommons.org/licenses/by/2.0>. Acesso em: 10 set. 2022.

FARRAPEIRA, C. M. R. Invertebrados macrobentônicos detectados na costa brasileira transportados por resíduos flutuantes sólidos abiogênicos. **Gestão Costeira Integrada**, Pernambuco, v. 11, n. 1, p. 85-96, fev./2011. Disponível em: <https://www.redalyc.org/articulo.oa?id=388340132010>. Acesso em: 7 abr. 2022.

FIA. **Indústria farmacêutica: características, setores e mercado de trabalho**. Disponível em: <https://fia.com.br/blog/industria-farmaceutica/#>. Acesso em: 9 mai. 2022.

FITTON, H. J. *et al.* Therapies from Fucoïdan: New Developments. **Marine Drugs**, Austrália, v. 17, n. 10, p. 2-18, out./2019. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC6836154/>. Acesso em: 28 set. 2022.

FITTON, J. H. *et al.* Fucoïdan e função pulmonar: valor na infecção viral. **Drogas Marinhas**, Austrália, v. 19, n. 1, p. 1-7, dez./2020. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/19/1/4/htm>. Acesso em: 6 jun. 2022.

FLORENTIN, Kahena Quevedo. **Caracterização estrutural e atividades farmacológicas do alginato obtido da alga Dictyopteris delicatula (J. V. Lamouroux) e seu derivado sulfatado**. Natal, v. 1, f. 95, p. 75, out. 2015. Dissertação (Bioquímica) - Universidade Federal Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

FONSECA, Juliana Azevedo. **Aplicação de Algas na Indústria Alimentar e Farmacêutica**. Porto, v. 1, f. 75, p. 47, dez. 2016. Trabalho de Conclusão de Curso (Faculdade de Ciências da Saúde) - Universidade Fernando Pessoa, Porto, 2016.

FOSTER, Michael S.; SCHIELD, David R.. **The ecology of giant kelp forests in California: a community profile**. 85. ed. United States: U.S. Fish & Wildlife Service, 1985. p. 3-115.

FREITAS, F. H. D; BARRETO, P. S. L. M; CARVALHO, T. C. M. B. Assinatura Digital para o Selo Verde. **SBSI**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 1-9, set./2014. Disponível em: https://www.researchgate.net/profile/Paulo_Barreto5/publication/267767366_Assinatura_Digital_para_o_Selo_Verde/links/5760582a08ae227f4a3f24ff/Assinatura-Digital-para-o-Selo-Verde.pdf. Acesso em: 7 abr. 2022.

FRIEDL, Thomas. The evolution of the Green Algae. **PlantSystematics and Evolution**, Vienna, v. 11, n. 1, p. 87-101, set./1997. Disponível em: https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/978-3-7091-6542-3_4.pdf. Acesso em: 21 jun. 2022.



FUJIHARA, Michio; NAGUMO, Terukazu. The effect of the content of d-mannuronic acid and l-guluronic acid blocks in alginates on antitumor activity. **Carbohydrate Research**, Japan, v. 247, n. 7, p. 343-347, ago./1992. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0008-6215\(92\)84123-A](https://doi.org/10.1016/0008-6215(92)84123-A). Acesso em: 31 out. 2022.

FURTADO, B. K. F; SILVA, Daniel Pereira. Tendências e inovações na indústria de cosméticos. **Anais do XI Simpósio de Engenharia de Produção de Sergipe**, Sergipe, v. 1, n. 1, p. 1-7, dez./2019. Disponível em: <https://ri.ufs.br/bitstream/riufs/12573/2/TendenciasInovacoesIndComesticos.pdf>. Acesso em: 16 mai. 2022.

GAITÁN-ESPITIA, J. D. *et al.* Interactive effects of elevated temperature and pCO₂ on early-life-history stages of the giant kelp *Macrocystis pyrifera*. **Journal of Experimental Marine Biology and Ecology**, USA, v. 457, n. 1, p. 51-58, abr./2014. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jembe.2014.03.018> . Acesso em: 29 jun. 2022.

GONÇALVES, Fabiana. Divisão Chlorophyta (clorofíceas). INFOESCOLA, s.d.. Disponível em: <https://www.infoescola.com/biologia/divisao-clorophyta-cloroficeas/>. Acesso em: 15 jul. 2022.

HAMERSLEY, M. R. *et al.* Nitrogen fixation associated with the decomposition of the giant kelp *Macrocystis pyrifera*. **Aquatic Botany**, USA, v. 125, n. 1, p. 57-63, jun./2015. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.aquabot.2015.05.003>. Acesso em: 28 jun. 2022.

IGUIECOLOGIA. **Algas Vermelhas - Rhodophyta**. Disponível em: <https://www.iguiecologia.com/algas-um-show-de-diversidade/algas-vermelhas-rhodophyta/>. Acesso em: 20 jun. 2022.

INFOESCOLA. **Algas pardas**. Disponível em: <https://www.infoescola.com/biologia/algas-pardas/>. Acesso em: 24 jun. 2022.

INFOESCOLA. **Divisão Chlorophyta (clorofíceas)**. Disponível em: <https://www.infoescola.com/biologia/divisao-clorophyta-cloroficeas/>. Acesso em: 21 jun. 2022.

Jesumani V., Du H., Pei P., Aslam M., Huang N. Estudo comparativo sobre a atividade de proteção da pele de extrato rico em polifenóis e extrato rico em polissacarídeos de *Sargassum vachellianum*. **PLoS UM**. 2020; 15 :e0227308. doi: 10.1371/journal.pone.0227308.

JIN, W. *et al.* A comparative study of the anticoagulant activities of eleven fucoidans: Carbohydrate Polymers. **ELSEVIER**, China, v. 91, n. 1, p. 1-6, jan./2013. Disponível em: https://www-sciencedirect-com.translate.goog/science/article/abs/pii/S0144861712007400?casa_token=uZJgigaomwAAAAAA:S5eKe9a8I-h1Inwvcxn8wlZ3U5Q6zKCVhBGx7qNHuYpTkTLYDzfa1OxV7SiLiOxOR4AOclqtA&_x_tr_sl=auto&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt-BR&_x_tr_pto=wapp. Acesso em: 5 abr. 2022.

JOHNSTON, Hw. THE BIOLOGICAL AND ECONOMIC IMPORTANCE OF ALGAE, PART 2. **Journal of the Biological Society**, New Zeland, v. 14, n. 1, p. 19-35, abr./1970.



Disponível em: <https://nzetc.victoria.ac.nz/tm/scholarly/tei-Bio14Tuat01-t1-body-d5.html>. Acesso em: 24 jun. 2022.

KENNEDY, Jenifer. Algas verdes (Chlorophyta). **ThoughtCo**, USA, v. 1, n. 1, p. 1-6, set./2021. Disponível em: <https://www.thoughtco.com/green-algae-chlorophyta-2291973>. Acesso em: 21 jun. 2022.

KENNEDY, Jenifer. O que são algas marrons. **ThoughtCo**, USA, v. 1, n. 1, p. 1-5, ago./2020. Disponível em: <https://www.thoughtco.com/brown-algae-phaeophyta-2291972>. Acesso em: 24 jun. 2022.

LEONARDI, Egle; MATOS, Júlio. Indústria farmacêutica tem crescimento acelerado. ICTQ, s.d.. Disponível em: <https://ictq.com.br/industria-farmaceutica/1380-industria-farmaceutica-tem-crescimento-acelerado>. Acesso em: 24 jun. 2022.

LEWIS, Louise A.; MCCOURT, Richard M.. Green algae and the origin of land plants. **American Journal of Botany**, USA, v. 91, n. 10, p. 1535-1556, out./2004. Disponível em: https://bsapubs.onlinelibrary.wiley.com/doi/full/10.3732/ajb.91.10.1535?casa_token=rOHBohBUyKAAAAA%3AAsaXkUpzljBix5KcWFCsVv4cTh4mp1HJRtno0TUJUoofRkVY-tUewbrd702Dyngll5JmVrmXepmgzQ. Acesso em: 21 jun. 2022.

LI, B. *et al.* Fucoïdan: Estrutura e Bioatividade. **Molecules**, China, v. 13, n. 8, p. 1671-1695, ago./2008. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1420-3049/13/8/1671/htm>. Acesso em: 20 mai. 2022.

LIEW, C. V. *et al.* Evaluation of sodium alginate as drug release modifier in matrix tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, Singapore, v. 309, n. 1, p. 25-37, abr./2006. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijpharm.2005.10.040>. Acesso em: 30 out. 2022.

LIRA, Mariane. Estudo da utilização de fucana como agente de direcionamento de nanopartículas para macrófagos. 2009. Trabalho de conclusão de curso (Ciências Biológicas) – Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2009.

LOPES, Beatriz. *Macrocystis pyrifera*: características, taxonomia, ciclo de vida. **Lifeder**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 1-15, nov./2018. Disponível em: <https://www.lifeder.com/macrocystis-pyrifera/>. Acesso em: 18 mai. 2022.

LORBEER, A. J. *et al.* Sequential extraction and characterization of fucoïdians and alginates from *Ecklonia radiata*, *Macrocystis pyrifera*, *Durvillaea potatorum*, and *Seirococcus axillaris*. **Journal of Applied Phycology**, USA, v. 29, n. 1, p. 1515-1526, mai./2017. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s10811-016-0990-5>. Acesso em: 4 jul. 2022.

MACAYA, Erasmo C.; ZUCCARELLO, Giuseppe C.. DNA BARCODING AND GENETIC DIVERGENCE IN THE GIANT KELP MACROCYSTIS (LAMINARIALES). **Journal of phycology**, Nova Zelândia, v. 46, n. 4, p. 736-742, ago./2010. Disponível em: <https://doi.org/10.1111/j.1529-8817.2010.00845.x>. Acesso em: 28 jun. 2022.

MAGALHÃES, L. C. G. D. *et al.* ESTRATÉGIAS EMPRESARIAIS DE CRESCIMENTO NA INDÚSTRIA FARMACÊUTICA BRASILEIRA: INVESTIMENTOS, FUSÕES E

AQUISIÇÕES, 1988-2002. **IPEA**, Brasília, v. 1, n. 1, p. 7-38, nov./2003. Disponível em: http://repositorio.ipea.gov.br/bitstream/11058/2955/1/TD_995.pdf. Acesso em: 18 jul. 2022.

MAGALHÃES, Lana. Algas. **TODA MATÉRIA**, s.d.. Disponível em: <https://www.todamateria.com.br/algas/>. Acesso em: 18 jul. 2022.

MARTINS, A. P. *et al.* Biotechnological potential of benthic marine algae collected along the Brazilian coast. **ELSEVIER**, São Paulo, v. 33, n. 1, p. 316-327, jun./2018. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S2211926417305489?via%3Dihub>. Acesso em: 30 mar. 2022.

MENDES, Lucas. Algas vermelhas são capazes de eliminar emissões de gás metano produzida por bovinos que contribuem para o efeito estufa. **CARPE DIEM**, 2019. Disponível em: <https://www.revistacarpediem.com/essas-algas-sao-capazes-de-cortar-as-emissoes-de-gas-metano-produzida-por-bovinos-que-contribuem-para-o-efeito-estufa/>. Acesso em: 19 jul. 2022.

MENDONÇA, Estela. Setor de HPPC cresce 3,9% e atinge R\$ 116,8 bilhões em 2019. **COSMETIC INNOVATION**, 2020. Disponível em: <https://cosmeticinnovation.com.br/setor-de-hppc-cresce-39-e-atinge-r-1168-bilhoes-em-2019/>. Acesso em: 13 jul. 2022.

MIGUEL, Laís Mourão. TENDÊNCIAS DO USO DE PRODUTOS NATURAIS NAS INDÚSTRIAS DE COSMÉTICOS DA FRANÇA. **Geografia da América Central**, Costa Rica, v. 2, n. 1, p. 1-15, dez./2011. Disponível em: <https://www.redalyc.org/pdf/4517/451744820171.pdf>. Acesso em: 29 mar. 2022.

MINISTÉRIO DA SAÚDE: AGÊNCIA NACIONAL DE VIGILÂNCIA SANITÁRIA. **RESOLUÇÃO - RDC Nº 211, DE 14 DE JULHO DE 2005**. Disponível em: https://bvsms.saude.gov.br/bvs/saudelegis/anvisa/2005/rdc0211_14_07_2005.html. Acesso em: 20 mai. 2022.

MURÚA, P. *et al.* Morphological, genotypic and metabolomic signatures confirm interfamilial hybridization between the ubiquitous kelps *Macrocystis* (Arthrothamnaceae) and *Lessonia* (Lessoniaceae). **Scientific Reports**, Reino Unido, v. 10, n. 1, p. 1-15, jul./2020. Disponível em: https://www-nature-com.translate.goog/articles/s41598-020-65137-3?error=cookies_not_supported&code=15e08705-ea9a-4216-8e9a-604317710afb&_x_tr_sl=auto&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt-BR&_x_tr_pto=wapp. Acesso em: 7 abr. 2022.

MÜLLER, José Miguel; SANTOS, R. L. D; BRIGIDO, Riveli Vieira. Produção de Alginato por Microrganismos. **Polímeros**, Santa Catarina, v. 21, n. 4, p. 305-310, dez./2011. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0104-14282011005000051>. Acesso em: 24 jun. 2022.

MÜLLER, José Miguel; SANTOS, R. L. D; BRIGIDO, Riveli Vieira. Produção de alginato por microrganismos. **Polímeros**, Santa Catarina, v. 21, n. 4, p. 5-9, mai./2011. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/po/a/JzRbBTbKnGbC8mNQ6hpybv/?lang=pt>. Acesso em: 25 jul. 2022.



NEWTON, D. J., Scott, J. E., & Whiteman, P. The estimation of acid glycosaminoglycan-Alcian blue complexes eluted from electrophoretic strips. **Analytical Biochemistry**, v. 62, n. 1, p. 268–273, 1974. Disponível em: [https://doi.org/10.1016/0003-2697\(74\)90386-8](https://doi.org/10.1016/0003-2697(74)90386-8).

NORTH, Wheeler J.. Biologia do recurso *Macrocystis* na América do Norte. **FAO. Fish. Tech.**, California, v. 281, n. 1, p. 31-267, jun./1984. Disponível em: <https://www.fao.org/3/x5819e/x5819e0a.htm>. Acesso em: 18 mai. 2022.

OLIVEIRA, D. A. D. *et al.* Desenvolvimento de matriz polimérica de quitosana e alginato com imobilização de íons ferro (II) para degradação do corante tipo azóico vermelho de metila via processo Foto-Fenton. **Centro Paula Souza**, Rio de Janeiro, v. 1, n. 1, p. 2-11, dez./2017. Disponível em: [file:///C:/Users/Marina/Dropbox/My%20PC%20\(LAPTOP-7B55H6M1\)/Downloads/DesenvolvimentodematrizpolimricadequitosanaealginatocomimobilizaodeonsferroIIparadegradaodocorantetipoazicovermelhodemetilaviaprocessofoto-fenton.pdf](file:///C:/Users/Marina/Dropbox/My%20PC%20(LAPTOP-7B55H6M1)/Downloads/DesenvolvimentodematrizpolimricadequitosanaealginatocomimobilizaodeonsferroIIparadegradaodocorantetipoazicovermelhodemetilaviaprocessofoto-fenton.pdf). Acesso em: 4 jul. 2022.

OLIVEIRA, Ruth Medeiros. **Avaliação das atividades farmacológicas de fucoïdãns obtidos do extrato bruto de fucoïdã commercial de *Fucus vesiculosus***. Natal, v.1, f. 107, p. 104, dez. 2015. Dissertação (Bioquímica) - Universidade Federal Rio Grande do Norte, Natal, 2015.

ORE, Yerald; L., E. R. P; NEGRON, A. C. V. Extração e caracterização de alginato de sódio da macroalga *Macrocystis pyrifera*. **Revista da Sociedade Química do Peru**, Lima, v. 86, n. 3, p. 276-287, jul./2020. Disponível em: http://www.scielo.org.pe/scielo.php?pid=S1810-634X2020000300276&script=sci_arttext. Acesso em: 31 mai. 2022.

O'SULLIVAN, L. *et al.* Prebiotics from Marine Macroalgae for Human and Animal Health Applications. **Marine Drugs**, Irlanda, v. 8, n. 7, p. 2038-2064, jul./2010. Disponível em: <https://www.mdpi.com/1660-3397/8/7/2038>. Acesso em: 5 mai. 2022.

PARK, K. *et al.* Physicochemical properties and bioactivity of brown seaweed fucoïdã prepared by ultra high pressure-assisted enzyme treatment. **Korean Journal of Chemical Engineering**, Coreia, v. 29, n. 2, p. 221-227, jun./2011. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/s11814-011-0165-7.pdf>. Acesso em: 1 jul. 2022.

PASQUALI, Adriano. Conheça a alga verde e seus benefícios para a saúde. **PAVERSUL**, 2022. Disponível em: <https://www.paversul.com.br/beneficios-da-alga-verde/>. Acesso em: 5 jul. 2022.

PENA, C. *et al.* Bioprocess Design: Fermentation Strategies for Improving the Production of Alginate and Poly-?-Hydroxyalkanoates (PHAs) by *Azotobacter vinelandii*. **Rijeka, Croatia: INTECH-Open Access Publisher**, México, v. 1, n. 1, p. 214-242, nov./2011. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/17241>. Acesso em: 27 jul. 2022.

PEREIRA, Leonel. **Guia ilustrado das macroalgas**. 1. ed. Coimbra: mprensa da Universidade de Coimbra, 2009. p. 9-90.

PINTO, Angelo C.; BARREIRO, Eliezer J.. Desafios da indústria farmacêutica brasileira. **SCIELO**, Rio de Janeiro, v. 36, n. 10, p. 1557-1560, nov./2013. Disponível em:



<https://www.scielo.br/j/qn/a/KZTXW7Yk5kHcghcd4hNM4ZH/?lang=pt>. Acesso em: 9 mai. 2022.

PRIYADARSHANI, Indira; RATH, Biswajit. Commercial and industrial applications of micro algae: A review. **JABU**, North Orissa, v. 3, n. 4, p. 89-100, jun./2012. Disponível em: <https://d1wqtxts1xzle7.cloudfront.net/44276968/paper14vol3no4-with-cover-page-v2.pdf?Expires=1650382225&Signature=V~7P0R7sxZloJsgbgUNC62pt4PRot2i8DRrocXhE4DBx8MVGJFIn0k-gZJ~O-FqAEaMTVoKKeShgmAAaJIqNrs-76oD11vcNSrr2Wed4Ko-LSgo1Hp7jASOr0Av5mywuxa8CqOwWFPiLtPOqWnApWuDBPm8DX9d49l16vmh2yyDlfManBLjyOI6zXx>. Acesso em: 6 abr. 2022.

PROKOFJEVA, M. M. *et al.* Fucoidans como potenciais inibidores do HIV-1. **Marine Drugs**, Suíça, v. 11, n. 8, p. 3000-3014, ago./2013. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3766878/>. Acesso em: 27 set. 2022.

PUSCASELU, R. G. *et al.* Alginate: From Food Industry to Biomedical Applications and Management of Metabolic Disorders. **Polymers**, USA, v. 12, n. 10, p. 2400-2417, out./2020. Disponível em: <https://doi.org/10.3390/polym12102417>. Acesso em: 27 jul. 2022.

PÁDUA, D. *et al.* Compostos bioativos de algas marrons: floroglucinol, fucoxantina e fucoidan como agentes terapêuticos promissores contra o câncer de mama. **ELSEVIER**, Portugal, v. 14, n. 1, p. 91-98, set./2015. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1874390015300677?casa_token=LN6Icjkp3GwAAAAA:VbVfpgMk8CJYIpdY_ZFUd7pmB79PlsdAIF7PnAjkLdMPWpU3sPxr-KlwORnbKv7a7eewRLj3Q. Acesso em: 20 mai. 2022.

RAVEN, Peter H.; EVERT, Ray F.; EICHHORN, Susan E.. **Biologia Vegetal**. 5. ed. Rio de Janeiro: Guanabara, 1996. p. 1-711.

REDDY, S. Giridhar. Alginates - A Seaweed Product: Its Properties and Applications. **IntechOpen**, India, v. 1, n. 1, p. 1-15, dez./2021. Disponível em: <https://www.intechopen.com/chapters/78207#B16>. Acesso em: 4 jul. 2022.

RENDER, Kristel. *Macrocystis pyrifera* (Linnaeus) C.Agardh, 1820. **WoRMS**, Irlanda, v. 2, n. 1, p. 1-5, jul./2006. Disponível em: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=232231#distributions>. Acesso em: 26 jun. 2022.

REIS, Claudio. O crescimento contínuo e sustentável da indústria farmacêutica no Brasil. **SEGS**, 2021. Disponível em: <https://www.segs.com.br/saude/313404-o-crescimento-contínuo-e-sustentavel-da-industria-farmaceutica-no-brasil>. Acesso em: 26 jun. 2022.

REVISTA CARPEDIEM. **Algas vermelhas são capazes de eliminar emissões de gás metano produzida por bovinos que contribuem para o efeito estufa**. Disponível em: <https://www.revistacarpediem.com/essas-algas-sao-capazes-de-cortar-as-emissoes-de-gas-metano-produzida-por-bovinos-que-contribuem-para-o-efeito-estufa/>. Acesso em: 20 jun. 2022.

RIOUX, L.e.; S.L. TURGEON; M. BEAULIEU. Characterization of polysaccharides extracted from brown seaweeds. **Carbohydrate Polymers**, Canada, v. 69, n. 3, p. 530-537,



jul./2007. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2007.01.009>. Acesso em: 1 nov. 2022.

SALAVARRÍA, Erika; BENAVENTE, Mario; KODAKA, Patricia Gil. Histology of *Macrocystis pyrifera* (Linnaeus) C. Agardh 1820 (Phaeophyceae: Laminariales) in the central coast of Peru. **Arnaldoa**, Peru, v. 21, n. 1, p. 69-80, jun./2014. Disponível em: https://www.lareferencia.info/vufind/Record/EC_0336b8bf11ea352f26c03453122812f2. Acesso em: 18 mai. 2022.

SELLIMI, S. *et al.* Fucans from a Tunisian brown seaweed *Cystoseira barbata*: Structural characteristics and antioxidant activity. **ELSEVIER, ÁFRICA**, v. 66, n. 1, p. 281-288, fev./2014. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S0141813014001251>. Acesso em: 30 mar. 2022.

SHEATH, Robert G.; VIS, Morgan L.. **Red Algae**. 1. ed. USA: Freshwater Algae of North America, 2015. p. 237-264.

SILVA, Priscila. Algas pardas. INFOESCOLA, s.d.. Disponível em: <https://www.infoescola.com/biologia/algas-pardas/>. Acesso em: 30 jul. 2022.

SMALCI, Anderson; SILVA, Orlando Roque. AS BOAS PRÁTICAS DE PRODUÇÃO MAIS LIMPA NAS EMPRESAS INDUSTRIAIS FARMACÊUTICAS BRASILEIRAS: AS CONTRIBUIÇÕES DA INOVAÇÃO ABERTA. **Revista Metropolitana de Sustentabilidade**, São Paulo, v. 9, n. 3, p. 3-14, dez./2019. Disponível em: <http://revistaseletronicas.fmu.br/index.php/rms/article/view/2116/pdf>. Acesso em: 11 mai. 2022.

SOUSA, A. P. A. D. *et al.* In vivo growth-inhibition of Sarcoma 180 tumor by alginates from brown seaweed *Sargassum vulgare*. **Carbohydrate Polymers**, Ceará, v. 69, n. 1, p. 7-13, mai./2007. Disponível em: https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0144861706004164?casa_token=3AjBLJf99aIAAAAA:arJUfGkX-EmCbugwxQpAI4mMqrky2N_1zVIFcFTvtXeFflbDSWrws_Iqz9YnUAa5w9utj8YaQ. Acesso em: 7 jun. 2022.

TAIT, L. W. *et al.* Loss of Giant Kelp, *Macrocystis pyrifera*, Driven by Marine Heatwaves and Exacerbated by Poor Water Clarity in New Zealand. **Frontiers**, Nova Zelândia, v. 1, n. 1, p. 1145-1168, ago./2021. Disponível em: https://www-frontiersin-org.translate.goog/articles/10.3389/fmars.2021.721087/full?_x_tr_sl=auto&_x_tr_tl=pt&_x_tr_hl=pt-BR&_x_tr_pto=wapp. Acesso em: 5 abr. 2022.

TAKAHASHI, H. *et al.* Um estudo exploratório sobre os efeitos anti-inflamatórios do fucoidan em relação à qualidade de vida em pacientes com câncer avançado. **Integrative Cancer Therapies**, Japão, v. 17, n. 2, p. 281-291, jan./2017. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/10.1177/1534735417692097>. Acesso em: 27 set. 2022.

TAVARES, Leoberto Costa. QSAR: A ABORDAGEM DE HANSCH. **SCIELO**, São Paulo, v. 27, n. 4, p. 631-639, mai./2004. Disponível em:



<https://www.scielo.br/j/qn/a/GzGGqkKzC6m9p968RCCxRyL/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 9 mai. 2022.

TEGNER, M. J.; DAYTON, Paul. Ecosystem effects of fishing in kelp forest communities. **ICES**, USA, v. 57, n. 1, p. 579-589, jun./2000. Disponível em: <https://academic.oup.com/icesjms/article/57/3/579/635936?login=false>. Acesso em: 30 mar. 2022.

THIEL, Martin; GUTOW, Lars. THE ECOLOGY OF RAFTING IN THE MARINE ENVIRONMENT.: I. THE FLOATING SUBSTRATA. **Oceanography and Marine Biology**, Chile, v. 45, n. 1, p. 181-264, jun./2005. Disponível em: <http://www.bedim.cl/publications/thiel%26gutowOMBAR2005aCORR.pdf>. Acesso em: 13 abr. 2022.

TREVISAN, Carlos Alberto. História dos Cosméticos : Química Nova. **CRQ4**, São Paulo, v. 1, n. 1, p. 1-5, abr./2011. Disponível em: <https://www.crq4.org.br/historiadoscosmeticosquimicaviva>. Acesso em: 16 mai. 2022.

TRUJILLO-ROLDÁN, M. A. *et al.* The roles of oxygen and alginate-lyase in determining the molecular weight of alginate produced by *Azotobacter vinelandii*. **Applied Microbiology and Biotechnology**, México, v. 63, n. 1, p. 742-747, jul./2004. Disponível em: <https://link.springer.com/article/10.1007/s00253-003-1419-z#citeas>. Acesso em: 4 jul. 2022.

VALDEZ, Margarita Casas; DÍAZ, Germán Ponce. **Estudio del potencial pesquero y acuícola de Baja California Sur**. 2. ed. Mexico: FAO, 2018. p. 352-684.

VASCONCELOS, Andreanne Gomes; ARAÚJO, K. V. D; SANTANA, L. D. A. B. POLISSACARÍDEOS EXTRAÍDOS DE ALGAS MARINHAS E SUAS APLICAÇÕESBIOTECNOLÓGICAS: UMA REVISÃO. **Revista Brasileira de Inovação Tecnológica em Saúde**, Piauí, v. 1, n. 1, p. 27-44, abr./2015. Disponível em: <https://periodicos.ufrn.br/reb/article/view/5898/5694>. Acesso em: 31 mai. 2022.

VIDOTTI, Eliane Cristina; ROLLEMBER, M. D. C. E. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à bioremediação e à química analítica. **SCIELO**, Pernambuco, v. 27, n. 1, p. 1-7, jul./2003. Disponível em: <https://www.scielo.br/j/qn/a/C6WB9gmTy5SkDfyBcLL5STt/?format=pdf&lang=pt>. Acesso em: 4 mai. 2022.

WANG, J. *et al.* Use of fucoidan to treat renal diseases: A review of 15 years of clinic studies. **Progress in Molecular Biology Translational Science**, China, v. 163, n. 1, p. 96-107, abr./2019. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/abs/pii/S1877117319300560?via%3Dihub>. Acesso em: 20 mai. 2022.

WANG, J. *et al.* Use of fucoidan to treat renal diseases: A review of 15 years of clinic studies. **Progress in Molecular Biology and Translational Science**, China, v. 163, n. 1, p. 96-106, dez./2019. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/bs.pmbts.2019.03.011>. Acesso em: 27 set. 2022.



WANG, K. *et al.* Aplicação de fucoidan como tratamento para doenças cardiovasculares e cerebrovasculares. **Avanços Terapêuticos em Doenças Crônicas**, China, v. 13, n. 1, p. 1-15, abr./2022. Disponível em: <https://journals.sagepub.com/doi/full/10.1177/20406223221076891>. Acesso em: 6 jun. 2022.

WEHR, John D.. Brown Algae. **Freshwater Algae of North America**, USA, v. 1, n. 1, p. 851-868, set./2015. Disponível em: <http://dx.doi.org/10.1016/B978-0-12-385876-4.00019-0>. Acesso em: 23 jun. 2022.

WHEELER, W. N.. Pigment Content and Photosynthetic Rate of the Fronds of *Macrocystis pyrifera*. **Marine Biology**, USA, v. 56, n. 1, p. 97-102, mai./1980. Disponível em: <https://link.springer.com/content/pdf/10.1007/BF00397127.pdf>. Acesso em: 28 jun. 2022.

WOELKERLING, Wm. J.. **Biology of the red algae**. 1. ed. NY: Cambridge University Press, 1990. p. 1-6.

ZAYED, A. *et al.* Caracterização do Fucoidano: Determinação da Pureza e Propriedades Físico-químicas e Químicas. **Marine Drugs**, Alemanha, v. 18, n. 11, p. 2-31, nov./2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7699409/#B19-marinedrugs-18-00571>. Acesso em: 28 set. 2022.

ZAYED, A. *et al.* Fucoidan Characterization: Determination of Purity and Physicochemical and Chemical Properties. **Marine Drugs**, Suíça, v. 18, n. 11, p. 551-571, nov./2020. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7699409/>. Acesso em: 1 jul. 2022.

ZHANG, Xiaomin; WEI, Zihao; XUE, Changhu. Physicochemical properties of fucoidan and its applications as building blocks of nutraceutical delivery systems. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, China, v. 1, n. 1, p. 1-19, jun./2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1937042>. Acesso em: 1 jul. 2022.

ZHANGA, Xiaomin; XUEA, Changhu; WEIA, Zihao. Propriedades físico-químicas do fucoidan e suas aplicações como blocos de construção de sistemas de entrega nutracêutica. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition**, China, v. 1, n. 1, p. 1-19, ago./2021. Disponível em: <https://doi.org/10.1080/10408398.2021.1937042>. Acesso em: 2 set. 2022.





Datas e horários baseados no fuso horário (GMT -3:00) em Brasília, Brasil
Sincronizado com o NTP.br e Observatório Nacional (ON)
Certificado de assinatura gerado em 06/12/2022 às 22:31:38 (GMT -3:00)

Trabalho de conclusao de curso - Marina Leite (Final)

 ID única do documento: #9245c36d-cd82-4762-bf20-80d5335986aa

Hash do documento original (SHA256): 96d28b939ce29ccf4c245ecb813de31a99af2b264c9fc1fb0d3e34dfb9032c66

Este Log é exclusivo ao documento número #9245c36d-cd82-4762-bf20-80d5335986aa e deve ser considerado parte do mesmo, com os efeitos prescritos nos Termos de Uso.

Assinaturas (4)

- ✓ **Marta Picardo (Participante)**
Assinou em 06/12/2022 às 19:44:22 (GMT -3:00)
- ✓ **Hector Napoleão (Participante)**
Assinou em 07/12/2022 às 22:48:13 (GMT -3:00)
- ✓ **Leticia Quinello (Participante)**
Assinou em 07/12/2022 às 12:14:48 (GMT -3:00)
- ✓ **Mauro Pavão (Participante)**
Assinou em 06/12/2022 às 20:50:06 (GMT -3:00)

Histórico completo

Data e hora

06/12/2022 às 22:31:38
(GMT -3:00)

06/12/2022 às 22:44:22
(GMT -3:00)

Evento

Marina da solicitou as assinaturas.

Marta Picardo (Autenticação: e-mail mcpicardo@cetiqt.senai.br; IP: 187.67.177.182) assinou. Autenticidade deste documento poderá ser verificada em <https://verificador.contraktor.com.br>. Assinatura com validade jurídica conforme MP 2.200-2/01, Art. 10o, §2.



Data e hora

08/12/2022 às 01:48:13
(GMT -3:00)

Evento

Hector Napoleão (Autenticação: e-mail hnsilva@cetiqt.senai.br; IP: 45.7.197.34) assinou. Autenticidade deste documento poderá ser verificada em <https://verificador.contraktor.com.br>. Assinatura com validade jurídica conforme MP 2.200-2/01, Art. 10o, §2.

06/12/2022 às 23:50:06
(GMT -3:00)

Mauro Pavão (Autenticação: e-mail pavaomsg@gmail.com; IP: 179.245.228.159) assinou. Autenticidade deste documento poderá ser verificada em <https://verificador.contraktor.com.br>. Assinatura com validade jurídica conforme MP 2.200-2/01, Art. 10o, §2.

07/12/2022 às 15:14:48
(GMT -3:00)

Leticia Quinello (Autenticação: e-mail lquinello@cetiqt.senai.br; IP: 177.38.98.94) assinou. Autenticidade deste documento poderá ser verificada em <https://verificador.contraktor.com.br>. Assinatura com validade jurídica conforme MP 2.200-2/01, Art. 10o, §2.