



UNIVERSIDADE FEDERAL FLUMINENSE
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS E BIOTECNOLOGIA

INGRID EDUARDA DE SOUSA LIMA

**CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA *IN NATURA* E
RESIDUAL DE MACROALGAS VERMELHAS
CULTIVADAS NO BRASIL E SEU POTENCIAL ANTIVIRAL**

Tese de Doutorado submetida a
Universidade Federal Fluminense visando à obtenção do grau de
Doutor em Ciências e Biotecnologia

**Orientador(es): Profa. Dra. Valéria Laneuville Teixeira
Profa. Dra. Wilma de Araújo Gonzalez**



Niterói
2026

INGRID EDUARDA DE SOUSA LIMA

**CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA *IN NATURA* E RESIDUAL DE
MACROALGAS VERMELHAS CULTIVADAS NO BRASIL E SEU
POTENCIAL ANTIVIRAL**

Trabalho desenvolvido no Laboratório Algamar e no Laboratório de Virologia Molecular e Biotecnologia Marinha, do Instituto de Biologia, Programa de Pós-Graduação em Ciências e Biotecnologia, Universidade Federal Fluminense e no Laboratório de Catálise, departamento de Engenharia Química, Programa de Pós Graduação em Química do Instituto Militar de Engenharia.

Apoio Financeiro: CAPES, CNPq, FAPERJ, UFF-FOPESQ

Tese de Doutorado
submetida à Universidade Federal
Fluminense como requisito parcial
visando à obtenção do grau de
Doutor em Ciências e Biotecnologia

**Orientador(es): Profa. Dra. Valéria Laneuville Teixeira
Profa. Dra. Wilma de Araújo Gonzalez**

Ficha catalográfica automática - SDC/BCV
Gerada com informações fornecidas pelo autor

L732c Lima, Ingrid Eduarda de Sousa
Caracterização da biomassa in natura e residual de
macroalgas vermelhas cultivadas no Brasil e seu potencial
antiviral / Ingrid Eduarda de Sousa Lima. - 2026.
88 f.: il.

Orientador: Valéria Laneuville Teixeira.
Coorientador: Wilma de Araújo Gonzalez.
Tese (doutorado)-Universidade Federal Fluminense, Instituto
de Biologia, Niterói, 2026.

1. Algas marinhas. 2. Caracterização da biomassa. 3.
Substâncias naturais. 4. Antivirais. 5. Produção
intelectual. I. Teixeira, Valéria Laneuville, orientadora.
II. Gonzalez, Wilma de Araújo, coorientadora. III.
Universidade Federal Fluminense. Instituto de Biologia. IV.
Título.

CDD - XXX

Bibliotecário responsável: Debora do Nascimento - CRB7/6368

INGRID EDUARDA DE SOUSA LIMA

**CARACTERIZAÇÃO DA BIOMASSA *IN NATURA* E RESIDUAL DE
MACROALGAS VERMELHAS CULTIVADAS NO BRASIL E SEU
POTENCIAL ANTIVIRAL**

Tese de Doutorado
submetida à Universidade Federal
Fluminense como requisito parcial
visando à obtenção do grau de
Doutor em Ciências e Biotecnologia

Banca Examinadora:

**Valéria Laneuville Teixeira – Programa de Pós Graduação em Ciências e Biotecnologia –
Universidade Federal Fluminense (Orientador/Presidente)**

**Caroline de Souza Barros – Departamento Imunobiologia – Universidade Federal
Fluminense**

**Izabel Christina Nunes de Palmer Paixão – Departamento de Biologia Celular e
Molecular – Universidade Federal Fluminense**

**Evelize Folly das Chagas – Departamento de Biologia Celular e Molecular – Universidade
Federal Fluminense**

**Joel Campos de Paula – Departamento de Botânica– Universidade Federal do Estado do
Rio de Janeiro**

**Leonardo dos Santos Corrêa Amorim – Gerência de Desenvolvimento Tecnológico,
Diretoria Científica– Instituto Vital Brazil**

**Carlos José Brito Ramos – Departamento de Biologia Marinha– Universidade Federal
Fluminense (Suplente)**

**Vitor Won-Held Rabelo – Departamento de Virologia– Instituto de Microbiologia Paulo
de Góes, Universidade Federal do Rio de Janeiro (Suplente)**

**Wilma de Araujo Gonzalez– Departamento de Engenharia Química– Instituto Militar de
Engenharia (Co-orientador)**

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus pela força e sabedoria obtidas durante o processo acadêmico. Foi minha fé que nos momentos de dificuldades me manteve em pé para seguir em frente.

Agradeço ao meu companheiro de vida pela paciência, por acreditar em mim e me incentivar. Sua presença foi fundamental nessa jornada, principalmente nos momentos desafiadores.

À minha família, agradeço pelo amor, carinho e apoio incondicional. Vocês são minha base e sempre acreditaram em mim.

Aos meus amigos pelas palavras de força e incentivo, pelos momentos que tornaram esse período mais leve.

Às minhas orientadoras, pela orientação e por compartilhar tantos ensinamentos que contribuíram para meu crescimento profissional e pessoal. Aos professores e todos que direta ou indiretamente fizeram parte da realização deste trabalho.

Agradeço as agências de fomento que financiaram essa pesquisa: CNPq, CAPES e FAPERJ.

SUMÁRIO

Lista de Abreviatura.....	X
Lista de Quadros.....	XII
Lista de Figuras.....	XIII
Lista de Tabelas.....	XV
Resumo.....	XVI
Abstract.....	XVII
1.Introdução	1
1.1 Macroalgas marinhas e sua composição	1
1.2 Cultivo, Sustentabilidade e Aplicações de macroalgas marinhas.....	3
1.3 Composição da biomassa da macroalga vermelha <i>Crassiphycus birdiae</i>	5
1.4 Composição da biomassa da macroalga vermelha <i>Kappaphycis alvarezii</i>	8
1.5 Potencial biotecnológico de macroalgas vermelhas com ação antiviral.....	10
1.6 Vírus Herpes simples tipo 1 (HSV-1).....	11
1.7 Vírus Mayaro (MAYV)	13
2. Objetivos	16
2.1 Objetivo Geral	16
2.2 Objetivos Específicos	16
3. Material e Métodos.....	17
3.1 Material algáceo, células e vírus	17
3.2 Obtenção do material residual.....	18
3.3 Microscopia Eletrônica de Varredura	18
3.4 Infravermelho das amostras de biomassa sólida	18
3.5 Calorimetria Exploratória Diferencial/ Calorimetria Diferencial de Varredura (DSC)	19
3.6 Ressonância Magnética Nuclear (RMN).....	19

3.7 Reação de auto-hidrólise em reator de micro-ondas das biomassas <i>in natura</i> e residual das macroalgas vermelhas.....	19
3.8 Análise de pH dos extratos brutos.....	21
3.9 Testagem do extrato aquoso da <i>C. birdiae</i> contra o vírus HSV-1.....	21
3.9.1 Preparo do extrato aquoso	21
3.9.2 Ensaio de citotoxicidade do extrato aquoso de <i>C. birdiae</i>	21
3.9.3 Ensaio de atividade antiviral do extrato aquoso de <i>C. birdiae</i> contra o HSV-1	22
3.10 Precipitação e secagem do extrato aquoso da <i>C. birdiae</i>	22
3.11 Avaliação antiviral dos extratos orgânicos das <i>C. birdiae</i> e <i>K. alvarezii</i> contra o vírus Mayaro.....	23
3.11.1 Ensaios de citotoxicidade celular dos extratos brutos orgânicos das macroalgas	23
3.11.2 Ensaio de redução de placas (MAYV).....	23
3.11.3 Ensaio antiviral dos extratos brutos orgânicos contra MAYV	24
3.12 Análise estatística	25
4. Resultados	26
4.1 Caracterização das biomassas da macroalga <i>C. birdiae</i> E <i>K. alvarezii</i> <i>in natura</i> e residual por MEV E EDS	26
4.2 Infravermelho das biomassas <i>in natura</i> e residual da <i>C. birdiae</i> e <i>K. alvarezii</i>	31
4.3 Análises de DSC da biomassas <i>in natura</i> e residual das macroalgas <i>C. birdiae</i> e <i>K. alvarezii</i>	33
4.4 Extração orgânica das macroalgas cultivadas	36
4.5 Caracterização do extrato bruto orgânico obtidos das macroalgas por RMN.	36
4.6 Extração das biomassas das macroalgas vermelhas <i>in natura</i> e residual assistida por reator de micro-ondas: reação de auto-hidrólise	37
4.7 Avaliação do potencial antiviral do extrato aquoso da biomassa residual de <i>C. birdiae</i> contra HSV-1	39

4.8 Precipitação e secagem da amostra aquosa da <i>C. birdiae</i> residual (CBextMO)	39
4.9 Avaliação inibitória da multiplicação de HSV-1 com amostra aquosa da <i>C. birdiae</i> residual após precipitação dos bioativos	40
4.10 Avaliação antiviral dos extratos orgânicos das macroalgas vermelhas <i>C. birdiae</i> e <i>K. alvarezii</i> contra o MAYV	40
5. Discussão	43
5.1 Análises MEV/EDS das macroalgas <i>C. birdiae</i> e <i>K. alvarezii</i> <i>in natura</i> e residual	43
5.2 Espectro de IV das amostras das macroalgas <i>C. birdiae</i> e <i>K. alvarezii</i>	45
5.3 Análises de DSC das biomassas <i>in natura</i> e residual das macroalgas <i>C. birdiae</i> e <i>K. alvarezii</i>	46
5.4 Análise por RMN de prótons dos extratos brutos orgânicos das macroalgas vermelhas	47
5.5 Extrato aquoso heterogêneo obtido por Microondas	49
5.6 Avaliação antiviral do extrato aquoso da biomassa residual de <i>C. birdiae</i> contra o HSV-1	51
5.7 Avaliação antiviral dos extratos orgânicos das macroalgas <i>C. birdiae</i> e <i>K. alvarezii</i> contra o vírus Mayaro	54
6. Considerações Finais	57
6.1 Conclusão	57
6.2 Perspectivas	58
7. Referências	59

Lista de abreviatura

δ – Deslocamento químico

AOS - agaro-oligosacarídeos

CC₅₀- Concentração da substância/extrato que reduz a viabilidade celular em 50%

CMC- Carboximetilcelulose

COS oligossacarídeos de carragenanas

DMEM – Meio *Dulbecco's Modified Eagle Medium*

DMSO- Dimetilsulfóxido

DSC- Calorimetria Exploratoria Diferencial do inglês *Differential Scanning Calorimetry* (a palavra em ingles deve estar em itálico)

EC₅₀- Concentração da substância/extrato capaz de inibir o vírus em 50%

EDS- Espectrometria de Raios X por Dispersão de Energia do inglês *Energy Dispersive X-Ray Spectroscopy*

GB- Extrato bruto da *Crassiphycus birdiae*

GBExT- Amostra da *Crassiphycus birdiae* residual

GBextMO- Extrato aquoso da *Crassiphycus birdiae*

GBI- Amostra da *Crassiphycus birdiae in natura*

HSV-1- Vírus Herpes simples tipo 1

HSV-2- Vírus Herpes simples tipo 2

IV- Infravermelho

KA – Extrato bruto da *Kappaphycus alvarezii*

MAYV- Vírus Mayaro

MEV – Microscopia Eletrônica de Varredura

MOI - Multiplicidade de Infecção do Inglês *Multiplicity of Infection*

MTT- Brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio

NAOS neoagaro-oligossacrídeos

ODS- Objetivo de Desenvolvimento Sustentável

Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura do inglês
Food and Agriculture Organization of the United Nations (FAO)

PBS- Tampão fosfato salina

PI- Percentual Inibitório

RMN – Ressonância Magnética Nuclear

SFB- Soro Fetal Bovino

SI - Índice de seletividade

VERO- Células de rim de macaco verde africano

UFP- Unidades formadoras de placa

LISTA DE QUADROS

Quadro 1- Características dos pigmentos, produtos de reserva e constituintes da parede celular de algas verde, pardas e vermelhas (adaptado de Davis <i>et al.</i> , 2003).....	1
--	---

LISTA DE FIGURAS

Figura 1-	Diferentes aplicações das macroalgas.....	4
Figura 2-	Macroalga vermelha <i>Crassiphycus birdiae</i>	6
Figura 3-	Estrutura química da unidade de ágar.....	6
Figura 4-	Cultivo da macroalga marinha <i>Kappaphycus alvarezii</i>	8
Figura 5-	Diferentes estruturas químicas das unidades de carragenanas.....	9
Figura 6-	Esquema representativo da estrutura da partícula do HSV-1.....	12
Figura 7-	Representação da estrutura do MAYV.....	14
Figura 8-	Esquema resumido da metodologia empregada neste trabalho.....	15
Figura 9-	Reator de Micro-ondas.....	20
Figura 10-	Micrografias da biomassa <i>in natura</i> e residual da macroalga <i>C. birdiae</i> . (a) micrografia da biomassa <i>in natura</i> com magnitude de 500x, (b) micrografia da biomassa <i>in natura</i> com 1000x e (c) micrografia da biomassa <i>in natura</i> 5000x, (d) micrografia da biomassa residual com magnitude de 500x, (e) micrografia da biomassa residual em 1000x e (f) micrografia da biomassa residual em magnitude de 5000x.....	26
Figura 11-	Micrografias e espectro de EDS da biomassa da alga <i>C. birdiae</i> . (a) Micrografia da biomassa <i>in natura</i> (50x) e (b) seu espectro de EDS com os elementos detectados. (c) Micrografia residual da biomassa residual (50x) e (d) seu espectro de EDS. O pico não marcado nos espectros de EDS é referente à platina. As regiões analisadas pelo EDS estão destacadas por uma marcação retangular.....	27
Figura 12-	Micrografia da diatomácea encontrada na biomassa <i>in natura</i> da alga <i>C. birdiae</i> , (a) Micrografia da diatomácea com magnitude 20.000x. (b) espectro de EDS da diatomácea. A região analisada pelo EDS está destacada por uma marcação retangular.....	28
Figura 13-	Micrografias da alga <i>K. alvarezii in natura</i> e do seu resíduo após a extração com diclorometano. (a) Algas <i>in natura</i> com magnitude de 500x, e (b) micrografias com magnitude de 1000x. Micrografias da biomassa residual (c) em uma magnitude de 500x e (d) em uma magnitude 1000x.....	28
Figura 14-	Micrografias e espectros de EDS da biomassa da <i>K. alvarezii</i> e do resíduo gerado após a extração com diclorometano. (a) Micrografia da biomassa <i>in natura</i> (magnitude 50x) e (b) seu espectro de EDS. (c) Micrografia da biomassa residual (magnitude 50x) e (d) seu espectro de EDS. O pico nos espectros de EDS que não foram marcados é referente à platina. As regiões analisadas pelo EDS estão destacadas por uma marcação retangular.....	29
Figura 15-	Micrografia e espectro de EDS da biomassa residual da macroalga <i>Kappaphycus alvarezii</i> . (a) Micrografia com as estruturas semelhantes a microfibrilas. (b) Espectro de EDS do ponto selecionado para análise (destacado em amarelo no painel a) e os elementos químicos detectados.....	30

Figura 16-	Estruturas detectadas por MEV/EDS na biomassa <i>in natura</i> da <i>K. alvarezii</i> . (a) e (b) Micrografias das estruturas com magnitude de 10000x. (c) Espectro de EDS da região do orifício presente na estrutura (d) Espectro de EDS da região lateral da estrutura.....	31
Figura 17-	Comparação do espectro de infravermelho da biomassa <i>in natura</i> (GBI; vermelho) e residual (GBExt; preto) da macroalga <i>C. birdiae</i> apresentando bandas características do ágar.....	32
Figura 18-	Espectro de infravermelho da biomassa <i>in natura</i> (KAI, vermelho) e residual (KAext; preto) da macroalga <i>K. alvarezii</i> apresentando bandas características da carragenana.....	33
Figura 19-	Termogramas das amostras de biomassa da <i>C. birdiae</i> (a) Termograma de DSC da biomassa <i>in natura</i> da <i>C. birdiae</i> (GBI). (b) Termograma de DSC da biomassa residual da <i>Crassiphycus C. birdiae</i> (GBExt).....	34
Figura 20-	Termogramas das amostras de biomassa da <i>K. alvarezii</i> (a) Termograma de DSC da biomassa <i>in natura</i> da <i>K. alvarezii</i> . (b) Termograma de DSC da biomassa residual da <i>K. alvarezii</i>	35
Figura 21-	Espectro de RMN ^1H do extrato bruto orgânico obtido em diclorometano da <i>K. alvarezii</i>	36
Figura 22-	Espectro de RMN de ^1H do extrato bruto orgânico obtido em diclorometano da <i>C. birdiae</i>	37
Figura 23-	(a) Biomassa da macroalga <i>K. alvarezii</i> residual antes da extração assistida por micro-ondas. (b) Extrato bruto heterogêneo da biomassa residual de <i>K. alvarezii</i> após extração assistida por micro-ondas utilizando 4 mL de solvente (c) Extrato bruto obtido utilizando 16 mL de água.....	38
Figura 24-	Amostra aquosa da <i>C. birdiae</i> residual (a) Precipitado do extrato bruto aquosa da <i>C. birdiae</i> residual obtido após filtração. (b) Aparência da amostra após o processo de secagem.....	40
Figura 25-	Inibição da replicação do MAYV pelos extratos KA e GB. Células Vero foram infectadas com MAYV (MOI 0,1) e tratadas com os extratos e ribavirina (controle) nas concentrações de 0,65; 1,25; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 e 40 $\mu\text{g/mL}$. Esses ensaios foram realizados três vezes de forma independente, cada um em triplicata. A análise estatística foi realizada com o método ANOVA seguido pelo teste de Tukey a partir da comparação com extratos KA e GB com a ribavirina	42

LISTA DE TABELAS

Tabela 1-	Composição química aproximada da <i>C. birdiae</i> comercial (adaptada de Torres <i>et al.</i> , 2019).....	7
Tabela 2-	Composição química de diferentes cepas da <i>K. alvarezii</i> (adaptado de Masarin <i>et al.</i> , 2016).....	10
Tabela 3-	Condições de reação de auto-hidrólise da biomassa de <i>K. alvarezii in natura</i> e residual em reator de micro-ondas.....	20
Tabela 4-	Condições de auto-hidrólise da <i>Crassiphycus birdiae</i> residual em micro-ondas.....	20
Tabela 5-	Amostras <i>in natura</i> e residual da <i>Kappaphycus alvarezii</i> com as respectivas condições de reação e o pH obtido após a auto-hidrólise em reator de micro-ondas.....	38
Tabela 6-	Citotoxicidade (CC ₅₀), atividade antiviral (EC ₅₀) e seletividade (IS) dos extratos orgânicos das macroalgas <i>K. alvarezii</i> (KA) e <i>C. birdiae</i> (GB) contra o MAYV. Os dados apresentados representam valores médios± desvios padrão de três experimentos independentes.	42

RESUMO

As macroalgas marinhas são formadas por macro e micromoléculas com alto valor agregado e pode ser utilizadas para diferentes aplicações biotecnológicas. Atualmente, algumas macroalgas já são cultivadas em diversos países, inclusive o Brasil. As macroalgas *Crassiphycus birdiae* e *Kappaphycus alvarezii* são duas algas cultivadas em território brasileiro e seus metabólitos primários e secundários são utilizados para diferentes finalidades. A literatura apresenta poucos trabalhos em relação à caracterização da biomassa *in natura* e residual (após o processo de extração), o que é importante para nortear suas possíveis aplicações. Por isso, o objetivo deste trabalho é caracterizar a biomassa *in natura* e residual e avaliar o potencial antiviral de seus extratos. As micrografias obtidas por Microscopia Eletrônica de Varredura possibilitaram a visualização morfológica das biomassas *in natura* e residual apresentando mudanças em ambas as amostras. A técnica de Espectrometria de raios X por dispersão de Energia (EDS) detectou elementos químicos presentes nas biomassas como C, O, Na, Mg, S, Cl, K, Si, Ca. O espectro de infravermelho das amostras *in natura* e residual indicou a presença de bandas características dos polissacarídeos presentes na parede celular das algas: ágar para *C. birdiae* e carragenana para *K. alvarezii*. A análise de Calorimetria Exploratória Diferencial DSC mostrou as regiões endotérmicas e exotérmicas das amostras de biomassas que correspondem à desidratação e degradação do polissacarídeo presente na parede celular. Também foi avaliada a potencial aplicação dos extratos obtidos das diferentes biomassas contra vírus de relevância para saúde humana. Os extratos orgânicos da biomassa *in natura* de ambas as macroalgas foram avaliados contra o vírus Mayaro. Estes foram capazes de inibir a biossíntese do MAYV de forma seletiva, apresentando valores de índice de seletividade de 22,1 e 178,4 para os extratos de *C. birdiae* e *K. alvarezii*, respectivamente. Já o hidrolisado da biomassa residual da *C. birdiae* obtido por extração em micro-ondas foi avaliado contra o HSV-1, porém, não exibiu atividade antiviral significativa a 50 µg/mL (inibição inferior a 20%). Os resultados obtidos mostram que as macroalgas vermelhas de cultivo são matérias-primas promissoras para setores biotecnológicos.

Palavras-chaves: Macroalgas, *Gracilaria birdiae*, *Crassiphycus birdiae*, *Kappaphycus alvarezii*, Biomassa, Antiviral.

ABSTRACT

Marine macroalgae are composed of macro- and micromolecules with high added value that can be used for different biotechnology applications. Currently, some macroalgae are cultivated in different countries, including Brazil. *Crassiphycus birdiae* and *Kappaphycus alvarezii* are two macroalgae cultivated in Brazil, whose primary and secondary metabolites are used for different purposes. There are few studies in the literature on the characterization of raw and residual biomass (after the extraction process), which is important for guiding its possible biotechnological applications. Therefore, the objective of this study is to characterize the raw and residual biomass and to evaluate the antiviral potential of their extracts. The micrographs obtained by scanning electron microscopy revealed morphological visualization of raw and residual biomass, showing changes in both samples. The Energy Dispersive X-ray Spectroscopy (EDS) technique detected chemical elements present in the biomass, such as C, O, Na, Mg, S, Cl, K, Si, and Ca. The infrared spectrum of the *in natura* and residual samples indicated the presence of characteristic bands of the polysaccharides present in the cell wall of algae: agar for *C. birdiae* and carrageenan for *K. alvarezii*. Differential Scanning Calorimetry analysis (DSC) showed endothermic and exothermic regions of the biomass samples, corresponding to the dehydration and degradation of the polysaccharide present in the cell wall. Furthermore, we evaluated the potential application of the extracts obtained from different biomasses studied against clinically relevant viruses. Regarding the use of substances extracted from macroalgae for antiviral evaluation against arboviruses, there are few articles in the databases. Therefore, the organic extracts obtained from raw biomass of both macroalgae were analyzed against the Mayaro virus. These extracts inhibited MAYV replication in a selective manner, presenting a selectivity index (SI) values of 22.1 and 178.4 for *C. birdiae* and *K. alvarezii* samples, respectively. The hydrolysate of residual biomass from *C. birdiae* obtained from microwave was evaluated against Herpes simplex type 1 (HSV-1), but no significant antiviral activity was observed at 50 µg/mL (inhibition lower than 20%). The results obtained show that cultivated red macroalgae are promising raw materials for biotechnology sectors.

Keywords: Macroalgae, *Gracilaria birdiae*, *Crassiphycus birdiae*, *Kappaphycus alvarezii*, Biomass, Antiviral.

1.INTRODUÇÃO

1.1 MACROALGAS MARINHAS E SUA COMPOSIÇÃO

O Brasil possui uma extensa costa, banhada pelo oceano atlântico, que se estende da foz do rio Oiapoque (AP) à foz do rio Chuí (RS), totalizando mais de 10.959 km, com uma grande diversidade marinha. No entanto, o clima apresenta nuances sendo clima tropical na região nordeste, uma zona temperada quente que se estende do estado do Rio De Janeiro ao sul do país e no meio dessas duas regiões uma zona de transição com características únicas, localizada no estado do Espírito Santo. Dentre os organismos que habitam o litoral brasileiro, encontram-se as macroalgas que são organismos eucariontes, aquáticos e multicelulares. O ciclo de vida das macroalgas é complexo e varia de uma espécie para outra, podendo se reproduzir sexual ou assexuadamente (JALILIAN *et al.*, 2020; DOS SANTOS *et al.*, 2023).

Existem três grupos principais de macroalgas marinhas, popularmente conhecida por: algas verdes (Chlorophyta), vermelhas (Rhodophyta) e pardas (Ochrophyta) (Pereira, 2021). O quadro 1 mostra de maneira resumida a divisão de macroalgas (verdes, pardas e vermelhas) e algumas características principais desses organismos, como: pigmentos presentes, material de reserva e composição da parede celular.

Quadro 1- Características dos pigmentos, produtos de reserva e constituintes da parede celular de algas verde, pardas e vermelhas (adaptado de DAVIS *et al.*, 2003)

Algas	Pigmentos	Material reserva	Parede celular
Verdes	Clorofila a,b; α , β , γ – carotenos; xantofilas	Amido (amilose e amilopectina (óleo em algumas)	Algumas possuem celulose (β -1,4-glicopirosideo, xilanos e mananos ou parede celular ausente, ou algumas apresentam calcificação
Pardas	Clorofila a,c; β -caroteno e fucoxantina e	Laminarano(β -1,3-glucopiranosidio)	Celulose, ácidoalgínico; Polissacarídio

	outras xantofilas	manitol	sulfatado (Fucoidano)
Vermelhas	Clorofila a; R- e C-ficocianina; Alocianina; R- e C-ficoeritrino; α e β – caroteno e xantófilas	Amido florideano (amilopectina)	Celulose; Xilano; Polissacarídeos sulfatados (galactanos)- algumas ainda possuem Calcificação e alginato em corolinaceae

A parede celular ou envoltório celular destes organismos varia conforme o grupo ao qual pertencem, mas, em geral, tem função de proteção, sustentação e forma, além de auxiliar na resistência as condições presentes no ambiente aquático. Esta estrutura é formada majoritariamente por uma matriz amorfa composta por polissacarídeos (DAVIS *et al.*, 2003). Os polissacarídeos da parede celular são metabólitos primários primordiais para o desenvolvimento celular, contribuindo para flexibilidade e resistência mecânica. Esses carboidratos possuem diferentes aplicabilidades na área da saúde e na indústria de alimentos e também podem ser utilizados como indicadores ambientais e biossorventes naturais. Essa capacidade de sequestrar metais do ambiente em que vivem é feita através de certos grupos funcionais encontrados nesses biopolímeros (MEICHIK *et al.* 2011).

Dentre os polissacarídeos encontrados na parede celular das macroalgas, pode-se citar a celulose, hemicelulose e outros polissacarídeos sulfatados, como ágar, alginatos ou carragenanas (DAVIS *et al.*, 2003). Os polissacarídeos sulfatados são constituídos por anéis cíclicos e grupos funcionais, que influenciam nas suas propriedades físico-químicas e consequentemente nas aplicações biotecnológicas. Outros constituintes da biomassa das macroalgas são proteínas, lipídios, outros carboidratos, vitaminas, esteróis, fibras, elementos inorgânicos, polifenóis, entre outros (WELLS *et al.*, 2017; GAMERO-VEJA *et al.*, 2020; EL-SAID E EL- SIKAILY, 2013).

1.2 CULTIVO, SUSTENTABILIDADE E APLICAÇÕES DE MACROALGAS MARINHAS

Em muitas regiões do mundo, algumas espécies de macroalgas marinhas são cultivadas e associadas a aplicações alimentares, principalmente em países que as consomem na sua alimentação. Os cultivos de macroalgas possuem importância econômica, ambiental e social. De acordo com a Organização das Nações Unidas para Alimentação e Agricultura (*Food and Agriculture Organization of the United Nations* - FAO), o cultivo de macroalgas na América Latina e Caribe cresceu 66% entre os anos de 2013 até 2023, ultrapassando 22000 tons em 2023, sendo as espécies mais cultivadas *Gracilaria* spp. e *Kappaphycus alvarezii* (FAO, 2025).

A algicultura deve ser realizada de forma consciente e sustentável, pois assim, será capaz de limitar a eutrofização e sequestrar do meio carbono e metais pesados (NAKHATE e MEER, 2021). Além disso, corroborará com o fato que a população mundial vive em constante crescimento e as algas cultiváveis são uma fonte alternativa de nutrientes para os seres humanos (KAZIR *et al.*, 2019; CARDOZO *et al.*, 2007).

No cenário mundial atual, existe uma intensa busca pelo desenvolvimento sustentável com grande preocupação com mudanças climáticas e isso não é diferente nas pesquisas científicas. As metas interligadas do Objetivo de Desenvolvimento Sustentável (ODS) contribuem para isso, podemos destacar algumas como: fome zero e agricultura sustentável; energia limpa e acessível; água potável e saneamento; indústria, inovação e infraestrutura; vida na água (NAÇÕES UNIDAS, 2023). Além das metas da ODS, existe a economia azul, que ocorre quando se utiliza os recursos dos oceanos e mares de forma sustentável (UNESCO, 2020). A sustentabilidade da indústria que utiliza macroalgas provém dos cultivos (maricultura) já que assim é a forma de obtenção de biomassa algal suficiente para produção dos seus produtos sem prejudicar os bancos naturais que preservam a vida marinha. Existem diferentes métodos de cultivo, podendo ser *offshore* ou *onshore*, através de sistema de balsas, long-line ou gaiolas. No entanto, a escolha do método ideal deve levar em consideração fatores ambientais e conflitos com outras atividades (SIMÕES *et al.*, 2016).

O setor alimentício é o que mais utiliza as macroalgas, mas elas possuem outras aplicações relevantes, como na produção de produtos biotecnológicos nos setores farmacêutico, cosmético, agricultura e de energia (Figura 1).

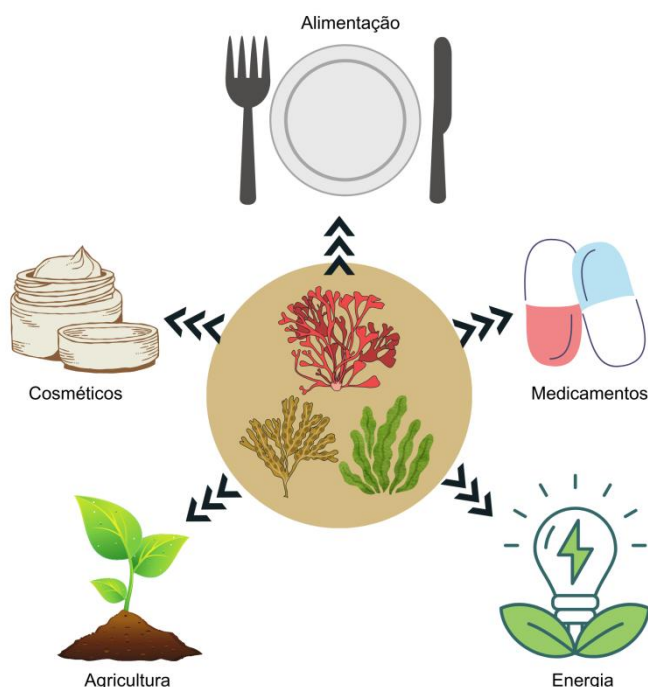


Figura 1- Diferentes aplicações biotecnológicas das macroalgas.

Neste contexto, a utilização da biomassa de macroalgas como fonte para obtenção de bioprodutos e biomateriais possui diversas vantagens, tais como crescimento rápido, não competir com áreas agrícolas destinadas à alimentação da população, não necessitar de insumos e irrigação, possibilidade de possuir substâncias químicas únicas e sua parede celular não possui lignina (PINTO *et al.*, 2002; LI *et al.*, 2011; SHARMILA *et al.*, 2021; CASSANI *et al.*, 2022). A composição da biomassa pode diferir de acordo com as espécies, região geográfica, clima, entre outros fatores (SHARMILA *et al.*, 2021). Por isso, a caracterização da biomassa utilizada como matéria-prima é fundamental para nortear a prospecção biotecnológica.

Neste estudo são utilizadas macroalgas vermelhas obtidas de cultivos legais em território brasileiro. Elas produzem metabólitos primários e secundários de grande interesse industrial que são estudados para diversos setores. Além de serem avaliadas pela sua composição nutricional (GAMERO-VEJA *et al.*, 2020), por possuírem alto teor de proteínas, minerais, vitaminas, fibras alimentares, ácidos graxos e polissacarídeos (PEÑALVER *et al.*, 2020).

A composição da sua biomassa é constituída por substâncias bioativas que são promissoras, principalmente para aplicações farmacêuticas como: ação anti-inflamatória, antioxidante, antiviral, antifúngica, antibactericida, anticoagulante, entre outras (AZIZ *et al.*, 2020; ISMAIL *et al.*, 2020), com segurança satisfatória em modelos *in vitro* e *in vivo* (BOUAFIR *et al.*, 2025).

O intuito do presente trabalho é caracterizar por diferentes técnicas a biomassa *in natura* e residual das macroalgas cultivadas *Crassiphycus birdiae* (E.Plastino & E.C.Oliveira) Gurgel, J. N. Norris & Fredericq (= *Gracilaria birdiae* E.M.Plastino & E.C.Oliveira) (Algaebase, 2022), identificada como (Rhodophyta, Florideophyceae, Gracilariales) (WoRMS, 2019) e *Kappaphycus alvarezii* (Doty) L.M.Liao (WoRMS, 2015) e avaliar os extratos brutos obtidos como possíveis agentes antivirais. As macroalgas de cultivo (maricultura) são fontes de substâncias bioativas e corroboram para não depredação de bancos naturais de algas, quando se visa obtenção de bioprodutos em larga escala contribuindo com a sustentabilidade.

1.3 COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA DA MACROALGA VERMELHA *Crassiphycus birdiae*

A alga vermelha *Gracilaria birdiae* E. M. Plastino & E. C. Oliveira (Algaebase 2022) é atualmente identificada como *Crassiphycus birdiae* (E. Plastino & E. C. Oliveira) Gurgel, J. N. Norris & Fredericq (Rhodophyta, Florideophyceae, Gracilariales) (WoRMS, 2019) (Figura 2). Esta espécie possui o ágar como componente da matriz amorfa presente na parede celular. O ágar é um coloide hidrofílico e um biopolímero complexo com padrão heterogêneo de substituição com diferentes graus e posições de sulfatação. Esses polissacarídeos possuem

função de material de estoque e são consideradas moléculas estruturais (ABD-RAHIM *et al.*, 2014).



Figura 2- Macraoalga vermelha *Crassiphycus birdiae*.

Fonte: Autora

O ágar é formado por uma mistura de D e L-galactose conectadas por ligações glicosídicas capazes de formar polissacarídeos com cadeias alternadas (Figura 3). Devido às diferentes conformações e cadeias laterais, formam um complexo grupo com padrão heterogêneo de substituição (PAULA *et al.*, 2018; CIANCIA *et al.*, 2020).

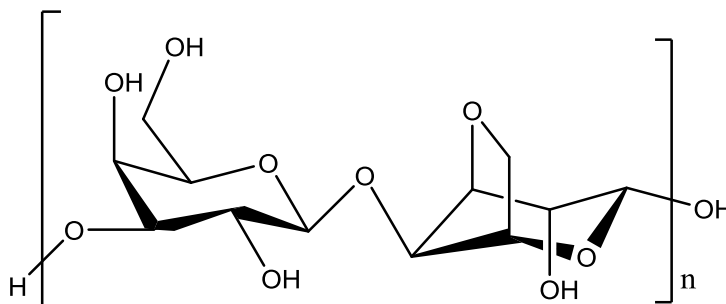


Figura 3- Estrutura química da unidade de ágar.

O teor de ágar presente nas paredes celulares das macroalgas vermelhas varia de 6 a 71% da sua massa seca. A qualidade deste polissacarídeo pode ser influenciada por características físicas e químicas. De acordo com Lee *et al.*, (2017), é difícil correlacionar os parâmetros que podem interferir na qualidade e rendimento deste polissacarídeo, já que uma diversidade de fatores como radiação solar, temperatura da água, nutrientes disponíveis, alteram suas características.

Além do ágar, outros polissacarídeos bioativos que são análogos à hemicelulose são encontrados na parede celular. Nas algas, esses constituintes

proporcionam maior flexibilidade frente à ação de correntezas e ondas no ambiente marinho (LEE *et al.*, 2017).

A composição das amostras comerciais de *C. birdiae* provenientes do Rio Grande do Norte, Brasil, foi determinada por Torres *et al.*, (2019), conforme apresentado na Tabela 1. A partir dos resultados, os pesquisadores concluíram que esta biomassa possui alto teor em fibras e de ágar, revelando uma fonte de matéria prima com potencial para diferentes aplicações biotecnológicas.

Tabela 1- Composição química aproximada da *C. birdiae* comercial (adaptada de TORRES *et al.*, 2019).

Composição química aproximada	Valores
Cinza _g (100g) ⁻¹	4,45 ± 0,13
Proteínas _g (100g) ⁻¹	9,56 ± 0,53
Valor energético _g (100g) ⁻¹	95,55 ± 6,69
Umidade _g (100g) ⁻¹	11,77 ± 1,17
Carboidratos _g (100g) ⁻¹	73,44 ± 1,31
Fibras _g (100g) ⁻¹	60,84 ± 0,87
Lipídeos	0,76 ± 0,08

A caracterização da biomassa ou dos bioprodutos obtidos da macroalga através de diferentes técnicas, métodos e procedimentos, como Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV), Infravermelho (IV), Ressonância Magnética Nuclear (RMN), Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC) (KRISHNAN *et al.*, 2024) são importantes, pois orientam sua aplicabilidade biotecnológica. Recentemente, a caracterização dos biomateriais obtidos de *C. birdiae* por diferentes técnicas possibilitou que Vieira *et al.*, (2025) analisassem o polissacarídeo ágar, e o biofilme produzido a partir deste biopolímero natural para utilização de embalagens de alimentos.

1.4 COMPOSIÇÃO DA BIOMASSA DA MACROALGA VERMELHA

MACROALGA VERMELHA *K. alvarezii*

A *Kappaphycus alvarezii* (Doty) L. M. Liao (Figura 4) é uma macroalga vermelha que pode ser produzida em larga escala. Ela é cultivada globalmente, incluindo na costa brasileira. A algicultura nacional da *K. alvarezii* apenas é permitida em áreas específicas nos estados do Rio de Janeiro, São Paulo, Santa Catarina e, mais recentemente, na Paraíba, por meio de uma autorização formal (VALENTI *et al.*, 2021).



Figura 4- Cultivo da macroalga marinha *Kappaphycus alvarezii*.

Fonte: algaebase.org

A *K. alvarezii* possui metabólitos bioativos em sua composição, conferindo-lhe um alto valor agregado que pode ser utilizado para diversos setores biotecnológicos, inclusive como substâncias promissoras para o desenvolvimento de fármacos (JALAL *et al.*, 2023). Neste contexto, destacam-se as carragenanas, polissacarídeos sulfatados, componente majoritário da parede celular que podem ser aplicadas em diversos setores como indústria alimentícia, de cosmético e farmacêutica (OVALLE *et al.*, 2026).

Estruturalmente, as carragenanas são galactanas sulfatadas de cadeia linear formadas pela díade β -(1 $\rightarrow$ 3)-D-galactopirranose e α (1 $\rightarrow$ 4)-D-galactopirranose ou α (1 $\rightarrow$ 4)-3,6-anidro-D-galactopirranose, unidas por ligação glicosídica, constituindo uma unidade repetitiva (USOV, 1984). Possuem ésteres sulfatados em suas estruturas, nas quais os grupos sulfatados são conectados pelas ligações éster aos carbonos C2, C4 ou C6 dos resíduos de galactose (DE RUITER e RUDOLPH, 1997). Estas são solúveis em água e sua estrutura regular varia de acordo com a fonte e com as condições de extração (HARGREAVES *et al.*, 2013).

Ress (1963) introduziu um sistema de nomenclatura no qual letras gregas são associadas às unidades repetitivas de carragenanas. Além disso, foi estabelecido que, com base no padrão de sulfatação da unidade A, pode-se agrupá-las em quatro famílias diferentes: kappa, lambda, beta e ômega (RESS, 1963) como mostra a Figura 5.

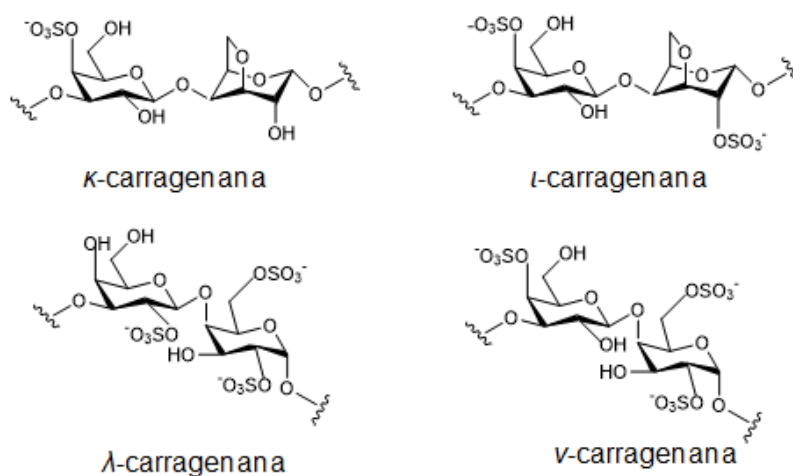


Figura 5- Diferentes estruturas químicas das unidades de carragenanas.

A composição química da biomassa é um fator importante para suas aplicações, obter informações sobre ela auxilia na compreensão das suas propriedades químicas e biológicas. Masarin *et al.*, (2016) realizaram uma pesquisa a qual utilizava diferentes cepas de *K. alvarezii*, cuja composição química está apresentada na Tabela 2, com isso foi possível observar a média percentual de constituintes das amostras.

Tabela 2- Composição química de diferentes cepas da *K. alvarezii* (adaptado de MASARIN *et al.*, 2016).

<i>Kappaphycus alvarezii</i>	
Cinzas (%)	14,6- 17,2
Proteínas (%)	2,3 – 3,8
Lipídios (%)	0,2-1,3
Carboidratos (%)	51,6 – 55,8
Grupos sulfatados (%)	9,6 – 10,8
Aromáticos insolúveis (%)	1,5 – 3,4
Ácido galacturônico (%)	0,9- 1,5

A *K. alvarezii* é uma das principais macroalgas cultivadas no mundo e, em um trabalho de revisão de Nunes *et al.*, (2024), foi abordado as diferentes aplicações biotecnológicas descritas para esta alga como: alimentação humana e animal, cosméticos e desenvolvimentos de novos medicamentos, mostrando o potencial dos seus metabólitos. Apesar de a literatura mostrar diferentes aplicações para as macroalgas, são escassos os estudos que relatam sobre sua caracterização antes e após serem submetidas a algum processo de extração seletiva. Assim, a caracterização das propriedades das macroalgas antes e após este processo é primordial para nortear as possíveis aplicações, valorizar as biomassas das macroalgas e garantir a sustentabilidade.

1.5 POTENCIAL BIOTECNOLÓGICO DE MACROALGAS VERMELHAS COM AÇÃO ANTIVIRAL

As macroalgas possuem diferentes substâncias bioativas promissoras para uma variedade de atividades biológicas, como a ação antiviral. Esse potencial biotecnológico pode ser obtido por meio de extratos brutos, substâncias isoladas ou até mesmo por combinações de substâncias (DA SILVA *et al.*, 2015; CARPENA *et al.*, 2023).

Os vírus são parasitas obrigatórios, ou seja, por não possuírem metabolismo próprio, necessitam das células hospedeiras para se multiplicarem. Eles são formados por um capsídeo (proteínas), genoma (DNA ou RNA) com fita simples ou dupla e alguns vírus podem ser envelopados, ou seja, apresentam uma

bicamada lipídica com glicoproteínas virais. Outros vírus possuem outros tipos de estruturas, alguns com maior complexidade estrutural (LOUTEN, 2016).

Os polissacarídeos sulfatados presentes na biomassa das macroalgas vermelhas são metabólitos de interesse como potencial antiviral. Esses polímeros naturais apresentam baixa toxicidade, são baratos, seguros e ainda biodegradáveis. As carragenanas e os ágaros são promissores antivirais para vírus envelopados e não envelopados (MONTANHA *et al.*, 2009; AHMADI *et al.*, 2015).

A diversidade estrutural das substâncias presentes nas macroalgas proporciona propriedades físico-químicas distintas que em conjunto com as características dos vírus atuam de forma diferentes em seus mecanismos de ação (LOMARTINE e GONÇALVES, 2022). Os biopolímeros são um exemplo, pois devido as diferentes estruturas químicas possuem um amplo espectro contra patógenos (COONEY *et al.*, 2025). Estas substâncias podem ser usadas não apenas como agentes antivirais (AKTER *et al.*, 2024).

O presente trabalho avaliou a atividade antiviral de seus extratos em dois vírus distintos, o Vírus Herpes simples tipo 1 (HSV-1) e o vírus Mayaro (MAYV).

1.6 VÍRUS HERPES SIMPLES TIPO 1 (HSV-1)

O vírus Herpes simples 1 (HSV-1) é envelopado e possui fita dupla de DNA como mostra a Figura 6 (SU *et al.*, 2024). De acordo com a Organização Mundial da Saúde (OMS), existem cerca de 3.8 bilhões de pessoas no mundo com idade inferior aos 50 anos, infectadas com o HSV-1 (WHO, 2024). A infecção por HSV-1 pode ser assintomática, porém quando ocorrem os sintomas incluem herpes orolabial, sicose herpética, infecção ocular, eczema herpético, infecção grave ou crônica (SALEH *et al.*, 2023). Além disso, no mundo, nas últimas décadas houve um aumento de infecções genital causada pelo HSV-1, mas principalmente entre adolescentes e jovens adultos de regiões de alta renda na América do Norte e Europa Ocidental (ANDREU *et al.*, 2025).

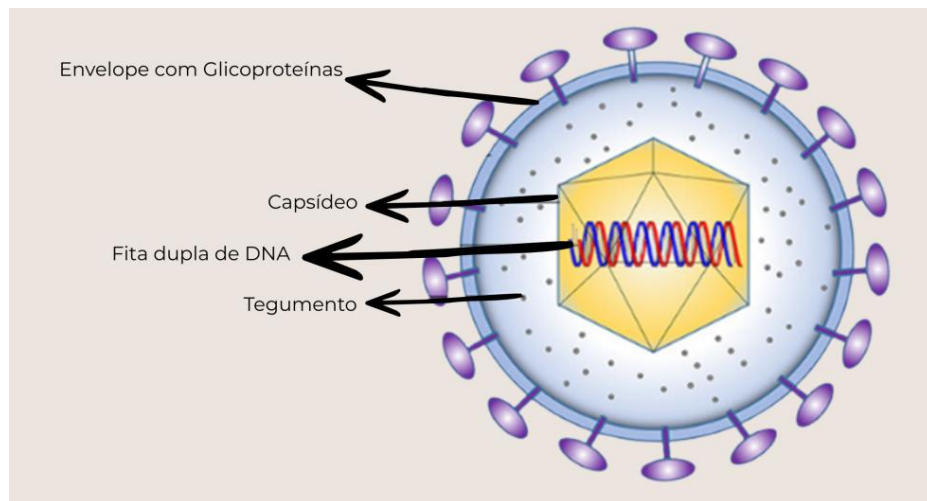


Figura 6- Esquema representativo da estrutura da partícula do HSV-1.

Fonte: adaptado de Su *et al.*, 2024.

Atualmente, ainda não existe vacina contra este vírus e o tratamento é realizado pelo uso de medicamentos como o aciclovir (WHO, 2025).

O aciclovir é um fármaco antiviral sintético, que atua inibindo a enzima de DNA polimerase viral, consequentemente interrompe a replicação viral, o que reduz a excreção viral, acelera o processo de cicatrização e interrompe o aparecimento de novas lesões (MORFIMN e THOUVENOL, 2003; GELLER *et al.*, 2012), a utilização do aciclovir e demais medicamentos não erradicam o vírus latente, ou seja, não eliminam o vírus completamente (CDC, 2021). No entanto, a emergência de cepas virais resistentes aos fármacos antivirais disponíveis justifica a busca por novos produtos bioativos, e as macroalgas marinhas têm sido demonstradas como fontes promissoras de novos agentes antivirais (BARROS *et al.*, 2014; LV *et al.*, 2025).

Na revisão realizada por Ahmadi *et al.*, (2015), os polissacarídeos, carragenanas e as galactanas, das macroalgas vermelhas apresentaram ação anti-herpética contra HSV-1 e o vírus Herpes simples tipo 2 (HSV-2) (AHMIDI *et al.*, 2015). Já em 219, Mahomoodally *et al.*, (2019) apresentou em seu trabalho de revisão substâncias provenientes de macroalgas, obtidas principalmente de fração aquosa, polissacarídeos e o Griffithsin, ambos com ação anti-herpética contra HSV-1 e HSV-2.

No trabalho publicado por Lee (2020) aborda sobre a utilização desse polissacarídeo sulfatado (carragenanas) de forma isolada ou em combinação com outras substâncias, que pode atuar como antiviral em diferentes vírus do herpes,

incluindo o HSV-1 (LEE, 2020). El-shafei *et al.* (2021) mostraram em sua revisão como as macroalgas vermelhas possuem potencial atividade antiviral contra o HSV-1 e HSV-2, devido os compostos bioativos presentes, particularmente os polissacarídeos sulfatados (EL-SHAFEI *et al.*, 2021).

A revisão publicada de Das & Bal, 2024 abordou o uso das carragenanas extraídas de algas como matrizes para diferentes aplicabilidades biotecnológicas. A ação antiviral de diferentes vírus, dentre eles o HSV-1 e HSV-2, é uma das bioatividades que as carragenanas são capazes de desempenhar devido as suas estruturas químicas, onde os polissacarídeos são carregados negativamente e podem se ligar as células da superfície viral, impedindo que o vírus penetre na célula do hospedeiro.

1.7 VÍRUS MAYARO (MAYV)

O vírus Mayaro (MAYV) é composto por envelope e fita simples de RNA polaridade positiva (Figura 7). Por ser uma arbovirose, é transmitido ao ser humano através da picada do mosquito fêmea infectado. Mosquitos do gênero *Haemagogous* são normalmente os vetores, porém estudos mais recentes demonstraram o potencial de transmissão por mosquitos *Aedes aegypti* (LONG *et al.*, 2011; MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2025). Este vírus ocorre em regiões da América Latina predominantemente. No Brasil, o maior índice de casos ocorre em diferentes áreas do Norte e Centro-Oeste, devido ao meio ambiente, mudanças climáticas e ações humanas. (WEI *et al.*, 2024; MARTINS-FILHO *et al.*, 2024). No Brasil, um estudo utilizando registros laboratoriais e informações populacionais entre 2015-2025, observou que foram notificados 379 com predominância nos estados da Amazonas, Goiás e Pará (OLIVEIRA *et al.*, 2026)

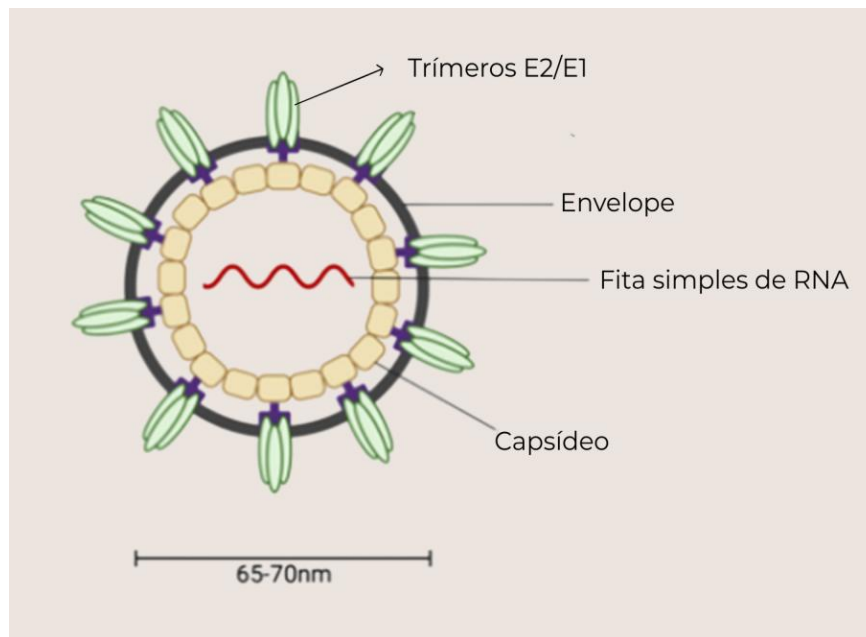


Figura 7- Representação da estrutura do MAYV.

Fonte: adaptado de Wei *et al.*, 2024

O MAYV é causador da Febre Mayaro e sintomas apresentados são febre, artralgias, vômitos, diarreia, dor de cabeça, que assemelham com os de outras arboviroses, principalmente a Chikungunya (GANJIAN e RIVIERE-CINNAMOND, 2020). Não existe vacina ou fármacos antivirais específicos para tratamento e prevenção desta virose (MINISTÉRIO DA SAÚDE, 2025). Ainda, o MAYV é uma preocupação para saúde pública, em regiões endêmicas e pela possível capacidade de disseminação em áreas urbanas. Por isso, se faz necessário à busca de antivirais e as macroalgas são matrizes promissoras para obtenção de extratos ou compostos com bioatividade.

A figura 8 apresenta de forma resumida a metodologia utilizada no presente trabalho para caracterização da biomassa das macroalgas *C. birdiae* e *K. alvarezii* e de seu potencial antiviral.

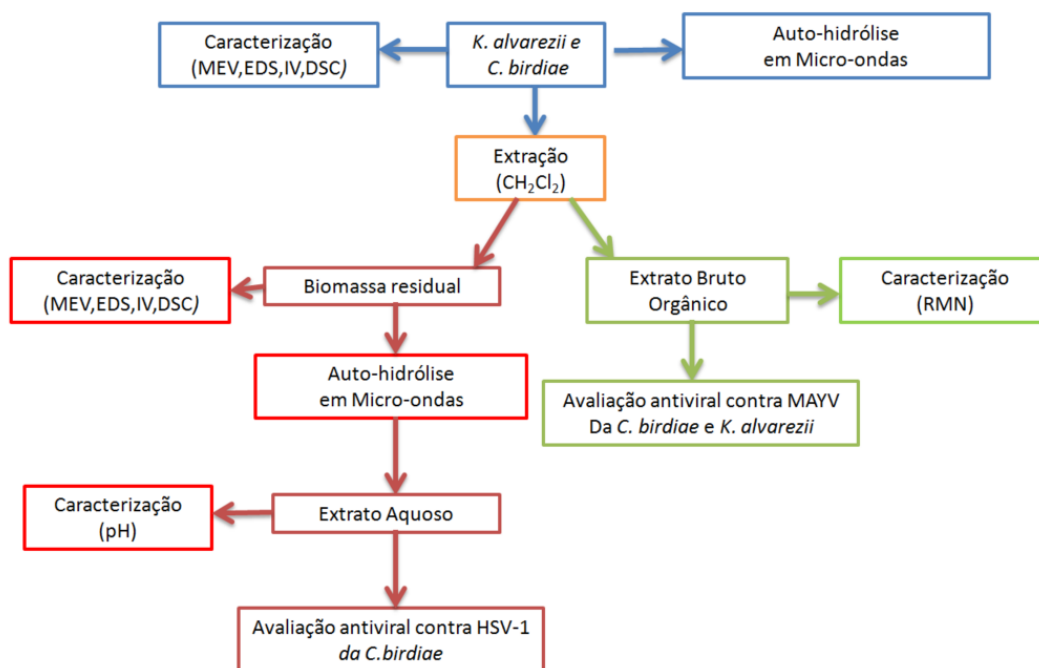


Figura 8- Esquema resumido da metodologia empregada neste trabalho

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Caracterizar a biomassa da macroalga *Crassiphycus birdiae* e *Kappaphycus alvarezii* antes e após o processo de extração orgânica e investigar seus extratos para utilização biotecnológica como agente antiviral.

2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

- Extrair extratos bioativos presentes nas macroalgas vermelhas;
- Caracterizar morfologicamente a biomassa das algas vermelhas *in natura* e residual por Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV);
- Analisar qualitativamente os elementos químicos presentes nas amostras de biomassas *in natura* e residual das macroalgas pela Técnica de Espectrometria de raios X por dispersão de Energia (EDS);
- Identificar os grupos funcionais presentes nas amostras sólidas da biomassa *in natura* e residual das macroalgas por Espectroscopia de infravermelho;
- Verificar as mudanças físico-químicas das biomassas das macroalgas através de processos endotérmicos, exotérmicos utilizando a técnica de Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC);
- Indicar os produtos naturais extraídos presentes no extrato orgânico obtido das biomassas *in natura* das macroalgas *C. birdiae* e *K. alvarezii* por RMN ^1H ;
- Obter extratos aquosos através da reação de auto hidrólise em reator de micro-ondas das amostras de biomassas;
- Avaliar o extrato bruto aquoso da *C. birdiae* residual como possível agente antiviral contra o HSV-1;
- Avaliar o extrato bruto orgânico das macroalgas vermelhas como agente antiviral contra o MAYV.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1 MATERIAL ALGÁCEO, CÉLULAS E VÍRUS

A macroalga *C. birdiae* foi obtida comercialmente da empresa AMBAP, localizada na região de Pitangui, no Estado do Rio Grande do Norte, Brasil. A macroalga *K. alvarezii* foi obtida comercialmente de área cultivada em Paraty, na região sul do estado do Rio de Janeiro (S 23° 13'; W 33') em 2016. Para continuidade do trabalho, foi necessário adquirir mais matéria-prima de *K. alvarezii* obtidas de algicultura, pela empresa Algastech, que cultiva as algas na Baía de Paraty, no sul do Estado do Rio de Janeiro, seguida de secagem natural. As amostras foram maceradas com auxílio do gral e pistilo para obtenção de partículas menores e pó.

Para realização dos experimentos contra o HSV-1 foram utilizadas células de rim de macaco verde africano (Vero; ATCC CCL-81) mantidas em meio DMEM suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB, GIBCO) e incubadas a 37° C em atmosfera de 5% de CO₂.

As Células Vero também foram utilizadas para as análises antivirais contra o MAYV. Elas foram cultivadas em meio de Eagle modificado por Dulbecco (DMEM; Invitrogen, cat. nº 11960) suplementado com 5% de soro fetal bovino (SFB; Invitrogen). Antibióticos foram adicionados em concentrações finais de 50 unidades/ml de penicilina e estreptomicina (Invitrogen, cat. nº 15070).

A cepa KOS do HSV-1 (sensível ao aciclovir) utilizada neste trabalho foi cedida gentilmente pela Profa. Dra. Ana Maria Viana Pinto, Departamento de Microbiologia e Parasitologia, UFF. Este isolado clínico foi amplificado em células Vero, usando multiplicidade de infecção (MOI) de 0,1. Em 72 horas pós-infecção (hpi), as células foram lisadas através de três ciclos de congelamento e descongelamento, o conteúdo total foi clarificado por centrifugação (4500 rpm por 3 minutos) e o sobrenadante foi coletado e armazenado a -80 °C. O aciclovir (ACV) foi utilizado como controle nas análises.

O MAYV foi gentilmente doado pelo professor Dr. Davis Ferreira, do Departamento de Virologia, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, e foi amplificado na linhagem celular C6/36 do mosquito *Aedes albopictus* (doadada pelo Prof. Davis Ferreira do departamento de microbiologia da Universidade Federal do Rio de Janeiro), a 28°C. As células foram cultivadas em meio L-15 (Leibovitz)

suplementado com 0,5% de caldo de triptose fosfato, 0,03% de glutamina, 1% de solução de aminoácidos não essenciais MEM e 5% de FBS (BARROS *et al.*, 2024).

3.2 OBTENÇÃO DO MATERIAL RESIDUAL

As macroalgas obtidas de maricultura foram submetidas ao processo extrativo com diclorometano durante uma semana em temperatura ambiente e sem agitação, solvente capaz de extrair ácidos graxos, terpenos e esteroides. Após a extração, o solvente foi retirado em evaporador rotatório sob pressão reduzida até a obtenção de um resíduo.

3.3 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA

As amostras secas de macroalgas cultivadas *in natura* e após o processo de extração (residual) foram transferidas em seguida para suporte contendo fita adesiva de carbono. Estes suportes foram então introduzidos no equipamento de deposição de platina, LEICA em ACE600, durante 2 minutos.

Após a etapa de deposição, estas biomassas foram analisadas por Microscopia Eletrônica de Varredura de emissão de campos FEI com detector de elétrons secundários e pela Espectrometria de Raios X por Dispersão de Energia (EDS) modelo X FLASH 6/60, da Bruker, para verificação morfológica e da composição química qualitativa da biomassa (LIMA *et al.*, 2019; LIMA *et al.*, 2024).

3.4 INFRAVERMELHO DAS AMOSTRAS DE BIOMASSA SÓLIDA

As análises de espectroscopia de infravermelho foram realizadas nas biomassas sólidas (*in natura* e residual) para observar as bandas características dos grupos funcionais presentes nas amostras. O equipamento utilizado foi um IRTrancer-100, um espectrofotômetro infravermelho de transformada de Fourier, e o acessório MIRacle, da Shimadzu. A análise foi medida usando um detector

DLATGS com varredura na faixa de 7800 a 350 cm^{-1} e resolução de 1 cm^{-1} . (LIMA *et al.*, 2024)

3.5 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL/ CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

As amostras (12mg) foram analisadas por DSC 404 F1 Pegasus Netzsch calibrado com uma amostra de índio sob uma atmosfera seca de Nitrogênio passante. O intervalo de temperatura foi de 50°C até 300°C, aumentando 10°C/min com finalidade de medir as mudanças de entalpia em função da temperatura (LIMA *et al.*, 2024).

3.6 RESSONÂNCIA MAGNÉTICA NUCLEAR (RMN)

Alíquotas de 5 mg do extrato bruto das macroalgas tiveram a adição de CDCl_2 (solvente deuterado) e foram analisadas por Ressonância Magnética Nuclear (300 MHz) no laboratório Multiusuário da Universidade Federal Fluminense.

3.7 REAÇÃO DE AUTO-HIDRÓLISE EM REATOR DE MICRO-ONDAS DAS BIOMASSAS *IN NATURA* E RESIDUAL DAS MACROALGAS VERMELHAS

O Reator de Micro-ondas CEM Discover, com pressão de 250 psi e o fluxo de ar compressor (Figura 9) foi utilizado para realizar extrações aquosas das biomassas *in natura* e residual das macroalgas vermelhas. Neste processo, foram utilizados tubos de reator de micro-ondas G30 com magneto em diferentes condições de análises: influência de tempo (t), temperatura (T) e volume de água (V) utilizado para a reação de autohidrólise para alga *Kappaphycus alvarezii* como mostra a Tabela 3.



Figura 9- Reator de Micro-ondas

Fonte: Autora

Tabela 3- Condições de reação de auto-hidrólise da biomassa de *K. alvarezii* in natura e residual em reator de micro-ondas.

Amostra	m (mg)	T (°C)	V (mL)	t(min.)
1- <i>in natura</i>	200	100	16	10
2,6,9- <i>in natura</i>	200	100	16	30
3- <i>in natura</i>	200	100	16	60
4- <i>in natura</i>	200	30	16	30
5- <i>in natura</i>	200	60	16	30
7- <i>in natura</i>	200	100	4	30
8- <i>in natura</i>	200	100	8	30
10- residual	200	100	16	10
11,15,18- residual	200	100	16	30
12- residual	200	100	16	60
13- residual	200	30	16	30
14- residual	200	60	16	30
16- residual	200	100	4	30
17- residual	200	100	8	30

A macroalga *C. birdiae* residual passou pelo processo de extração por meio da auto-hidrólise em reator de micro-ondas nas condições que mostra a Tabela 4.

Tabela 4- Condições de auto-hidrólise da *Crassiphycus birdiae* residual em micro-ondas.

Amostra	m (mg)	T (°C)	V (mL)	t (min.)
GBExtMO	200	100	16	60

T= temperatura em °C

t= tempo em min.

V= volume de água em mL

3.8 ANÁLISE DE pH DOS EXTRATOS BRUTOS

O pH das amostras auto-hidrolisadas foram determinados através do uso da fita indicadora de pH 0-14 da Merck.

3.9 TESTAGEM DO EXTRATO AQUOSO DA *C. birdiae* CONTRA O VÍRUS HSV-1

Os ensaios antivirais foram realizados em colaboração com o Laboratório de Virologia Molecular coordenado pela Profa. Izabel Paixão, Departamento de Biologia Celular e Molecular - GCM, Instituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense.

3.9.1 PREPARO DO EXTRATO AQUOSO

O extrato aquoso da *Crassiphycus birdiae*, obtido da auto-hidrólise em reator de microondas foi preparado em água estéril a 10 mg/mL.

3.9.2 ENSAIO DE CITOTOXICIDADE DO EXTRATO AQUOSO DE *C. birdiae*

Células Vero (2×10^4 células/poço) foram tratadas com diferentes concentrações das substâncias (50, 100, 250, 500 e 1.000 µg/mL) por 72h a 37 °C e 5% CO₂. Em seguida, a viabilidade celular foi determinada utilizando o método de MTT, como descrito previamente (RABELO *et al.*, 2023). Os experimentos foram realizados três vezes independentemente e em triplicata. A concentração necessária para reduzir a viabilidade celular em 50% (CC₅₀) foi estimada por regressão linear.

3.9.3 ENSAIO DE ATIVIDADE ANTIVIRAL DO EXTRATO AQUOSO DE *C. birdiae* CONTRA O HSV-1

Células Vero (2×10^5 células/poço) foram infectadas com o vírus *Herpes simplex* tipo 1 (HSV-1) cepa KOS na multiplicidade de infecção (MOI) de 1,0 por 1 h a 37 °C em atmosfera com 5% CO₂. Após este período, o inóculo viral foi removido e as células foram tratadas com 50 µg/mL do extrato aquoso da *C. birdiae* por 24 h. Em seguida, as células foram lisadas através de três ciclos de congelamento e descongelamento e o título viral foi determinado pelo ensaio de redução de placas, como descrito anteriormente. (PIRES DE MELLO *et al.*, 2016). A taxa de inibição foi calculada em relação ao grupo de células infectadas e não tratadas. Os experimentos foram realizados três vezes de forma independente e em triplicata. Esta metodologia também foi utilizada para avaliação antiviral do extrato aquoso após processo de precipitação.

3.10 PRECIPITAÇÃO E SECAGEM DO EXTRATO AQUOSO DA *C. birdiae*

A precipitação dos polissacarídeos e/ou oligossacarídeos foi realizada através do uso de etanol (CHEONG *et al.*, 2018; LEANDRO *et al.*, 2020) . O extrato aquoso junto com o solvente adicionado permaneceu 24 horas em repouso em temperatura ambiente. Após esse período foi realizada a filtração e separação do material com papel filtro. O precipitado ficou armazenado em temperatura de 1,5-2°C para secagem durante 1 mês, após isso seu armazenamento foi feito a 4°C.

3.11 AVALIAÇÃO ANTIVIRAL DOS EXTRATOS ORGÂNICOS DAS *C. birdiae* e *K. alvarezii* CONTRA O VÍRUS MAYARO

3.11.1 ENSAIOS DE CITOTOXICIDADE CELULAR DOS EXTRATOS BRUTOS ORGÂNICOS DAS MACROALGAS

Para avaliar o efeito citotóxico dos extratos brutos orgânicos, células VERO (10^5) foram cultivadas em placas de 96 poços até atingirem 90% de confluência. As células foram então tratadas com concentrações crescentes (25, 50, 100, 200, 400 e 800 $\mu\text{g/mL}$) dos extratos das macroalgas e incubadas 2 a 3 dias em meio de cultura DMEM com 5% de SFB a 37 °C em atmosfera com 5% de CO_2 (Barros *et al.*, 2024). Para avaliação da viabilidade celular, o método MTT foi utilizado. Em placas de 96 poços previamente tratadas com os extratos, adicionou-se o reagente brometo de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazólio (MTT, Sigma-Aldrich) na concentração de 5 mg/mL e incubou-se por 3 h a 37 °C (Cirne-Santos *et al.*, 2017). A solução de MTT foi então removida e adicionaram-se 100 μM de dimetilsulfóxido (DMSO) em cada poço, incubando-se por 15 minutos para dissolver os cristais de formazan. A leitura da absorbância foi realizada em um leitor de ELISA a 550 nm. A porcentagem de células metabolicamente ativas foi estimada em relação ao controle de células não tratadas e comparada com as células tratadas com os extratos, para determinar a citotoxicidade. Esses ensaios foram realizados três vezes de forma independente, cada um em triplicata.

3.11.2 ENSAIO DE REDUÇÃO DE PLACAS (MAYV)

Células VERO em placas de 24 poços (10^6) foram cultivadas em meio DMEM. Após atingirem a confluência, as células foram incubadas com MAYV (MOI 0,1) por 2 h (CIRNE-SANTOS *et al.*, 2017). Em seguida, as células foram lavadas com PBS para remover qualquer vírus residual e uma mistura de 2% (p/v) de CMC (Sigma Aldrich) foi adicionada ao meio DMEM suplementado com 5% de FBS, 5 mmol/L de L-glutamina e 0,20% de bicarbonato de sódio (CIRNE-SANTOS *et al.*, 2017). Diferentes concentrações dos extratos (0,65; 1,25; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0; 40,0 $\mu\text{g/mL}$) foram adicionadas e as células foram incubadas a 37 °C em

atmosfera com 5% de CO₂. A formação de placas foi analisada diariamente por 3 a 5 dias. Após a incubação, as células foram fixadas com formaldeído a 10%, coradas com cristal violeta a 1% e as placas de lise foram examinadas. O título viral foi determinado como unidades formadoras de placa (UFP)/mL utilizando a seguinte fórmula: contagem de placas x fator de diluição x (1 / volume de inoculação) (CIRNE-SANTOS *et al.*, 2017).

3.11.3 ENSAIO ANTIVIRAL DOS EXTRATOS BRUTOS ORGÂNICOS CONTRA MAYV

A atividade antiviral foi avaliada utilizando um ensaio de redução de placas virais. Inicialmente, células Vero foram cultivadas em placas de 24 poços sob as condições previamente mencionadas e em seguida, infectadas com MAYV (MOI 0,1) na presença ou ausência de uma concentração de 20 µg/mL dos extratos para a avaliação do potencial inibitório em concentração única. Após, foi avaliado o perfil de inibição em concentrações variáveis dos extratos, especificamente 0,65; 1,25; 2,5; 5; 10; 20 e 40 µg/mL. Após 1 hora de adsorção a 37 °C, o inóculo remanescente foi substituído por meio contendo 2% de metilcelulose e a concentração correspondente do extrato. As placas foram monitoradas diariamente e as placas foram contadas e avaliadas diariamente entre 3 a 5 dias de incubação a 37 °C em 5% de CO₂. A concentração inibitória 50% (EC₅₀) foi determinada como a concentração dos extratos necessária para reduzir a produção de UFP em 50%. Cada experimento foi realizado duas vezes com amostras em triplicata (Cirne-Santos *et al.*, 2017). A ribavirina foi utilizada como controle (PIRES DE MELLO *et al.*, 2018; MILLSAPPS *et al.*, 2022) nas concentrações de 40; 20; 10; 5; 2,5; 1,25 e 0,65 (curva dose- resposta).

3.12 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A análise estatística foi realizada com o método ANOVA seguido pelo teste de Tukey usando o programa GraphPad Instant versão 3 comparando os controles com os extratos das macroalgas e os níveis de significância são definidos por $p < 0,0001$; $p < 0.01$; $p < 0,05$.

4. RESULTADOS

4.1 CARACTERIZAÇÃO DAS BIOMASSAS DA MACROALGA *C. birdiae* E *K. alvarezii* IN NATURA E RESIDUAL POR MEV E EDS

As micrografias geradas pelo MEV possibilitaram a observação morfológica das biomassas estudadas. A biomassa *in natura* da alga *C. birdiae* apresentou morfologia compacta e com baixa porosidade (Figura 10a, 10b, 10c). Após a extração com diclorometano, a morfologia foi modificada, apresentando um aumento de porosidade (10d,10e,10f).

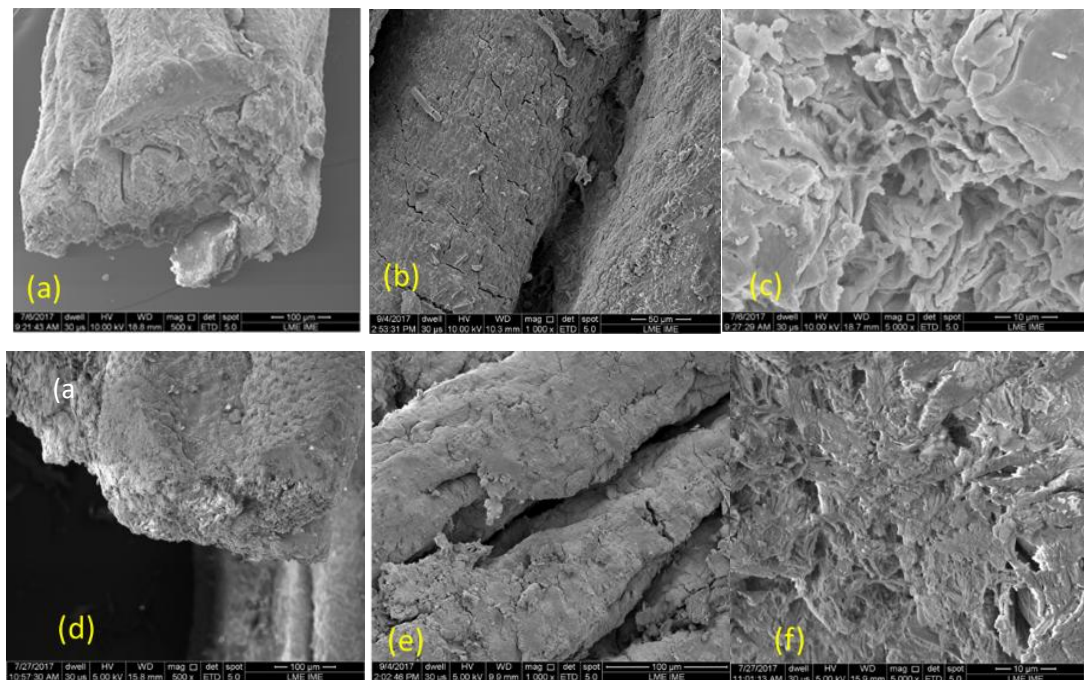


Figura 10- Micrografias da biomassa *in natura* e residual da macroalga *C. birdiae*. (a) micrografia da biomassa *in natura* com magnitude de 500x, (b) micrografia da biomassa *in natura* com 1000x e (c) micrografia da biomassa *in natura* 5000x, (d) micrografia da biomassa residual com magnitude de 500x, (e) micrografia da biomassa residual em 1000x e (f) micrografia da biomassa residual em magnitude de 5000x.

As amostras de algas da *C. birdiae* foram analisadas pela técnica de EDS, as regiões analisadas estão destacadas por uma marcação retangular como mostra a figura 11a e 11c. Na amostra *in natura*, foi observada a presença dos elementos químicos carbono, oxigênio, sódio, magnésio, silício, enxofre, cloro,

potássio, cálcio e alumínio (Figura 11b). Porém, no espectro de EDS da biomassa residual também foi observado o aparecimento de ferro como foi apresentado na figura 11d.

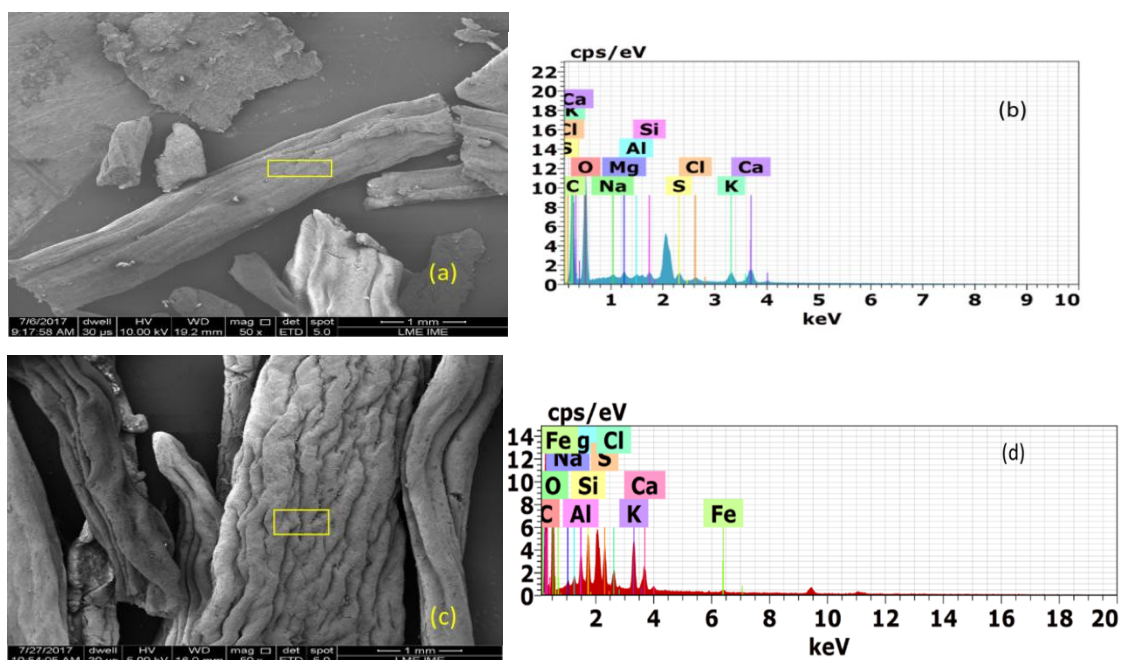


Figura 11- Micrografias e espectro de EDS da biomassa da alga *C. birdiae*. (a) Micrografia da biomassa *in natura* (50x) e (b) seu espectro de EDS com os elementos detectados. (c) Micrografia residual da biomassa residual (50x) e (d) seu espectro de EDS. O pico não marcado nos espectros de EDS é referente à platina. As regiões analisadas pelo EDS estão destacadas por uma marcação retangular.

A micrografia da amostra *in natura* da alga *C. birdiae* em uma magnitude de 20.000x possibilitou a visualização de uma espécie de diatomácea. A Figura 12a mostra a micrografia de uma estrutura retangular com alto teor de silício, detectado pela técnica de EDS. O espectro de EDS feito em uma única região na superfície deste organismo (região analisada pelo EDS está destacada por uma marcação retangular) e detectou os elementos químicos carbono, potássio e um alto teor de silício e oxigênio (Figura12b).

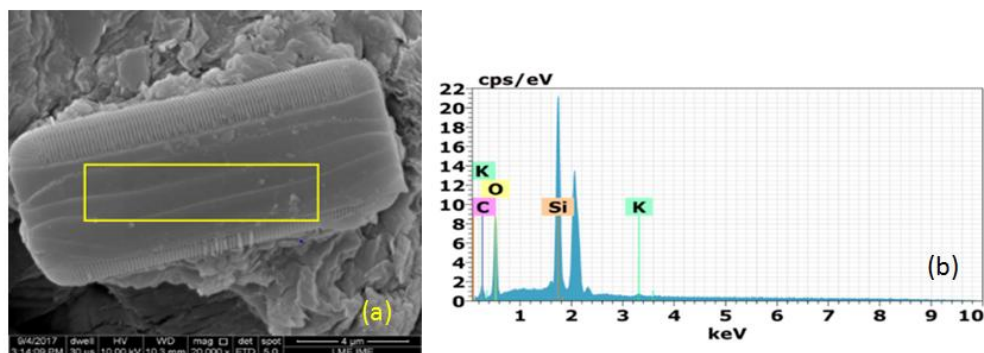


Figura 12- Micrografia da diatomácea encontrada na biomassa *in natura* da alga *C. birdiae*, (a) Micrografia da diatomácea com magnitude 20.000x. (b) espectro de EDS da diatomácea. A região analisada pelo EDS está destacada por uma marcação retangular.

As técnicas de MEV e EDS também foram utilizadas para analisar a biomassa de *K. alvarezii*. As micrografias obtidas por MEV mostraram diferenças morfológicas nas amostras de biomassas distintas. A amostra *in natura*, por exemplo, apresentou morfologia densa com algumas cavidades e regiões com aparência filamentosa (Figura 13 a,b), enquanto a amostra residual apresentou um aumento de aglomerados na sua superfície e aparência menos compactada (Figura 13 c,d).

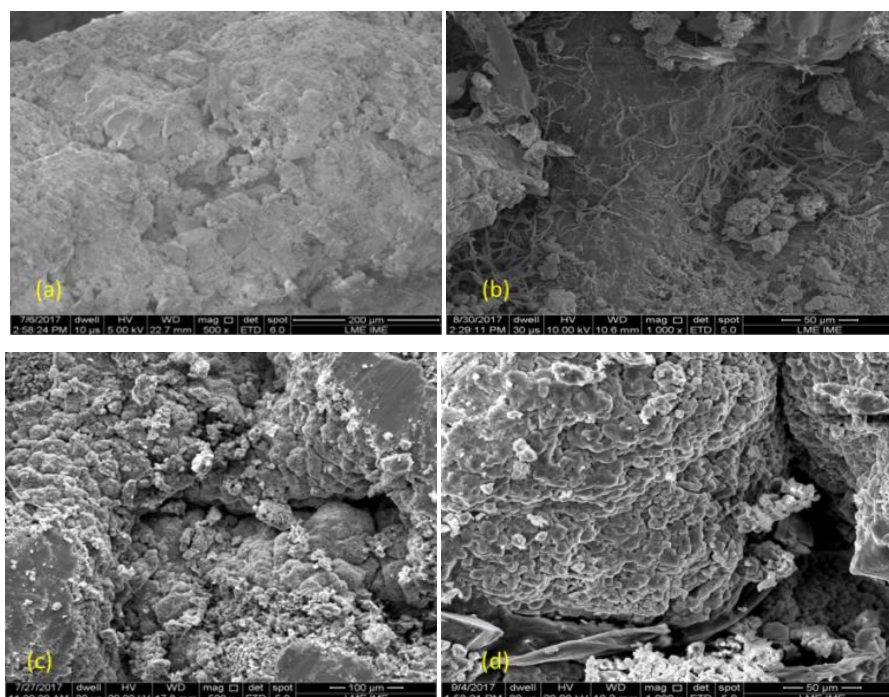


Figura 13- Micrografias da alga *K. alvarezii* *in natura* e do seu resíduo após a extração com diclorometano. (a) Algas *in natura* com magnitude de 500x, e (b) micrografias com

magnitude de 1000x. Micrografias da biomassa residual (c) em uma magnitude de 500x e (d) em uma magnitude 1000x.

Com relação às análises por EDS, as regiões analisadas estão destacadas por uma marcação retangular, como apresenta a Figura 14a e 14c. Nas duas amostras foram detectados os elementos químicos carbono, oxigênio, sódio, magnésio, enxofre, cloro, potássio (Figura 14b e 14d).

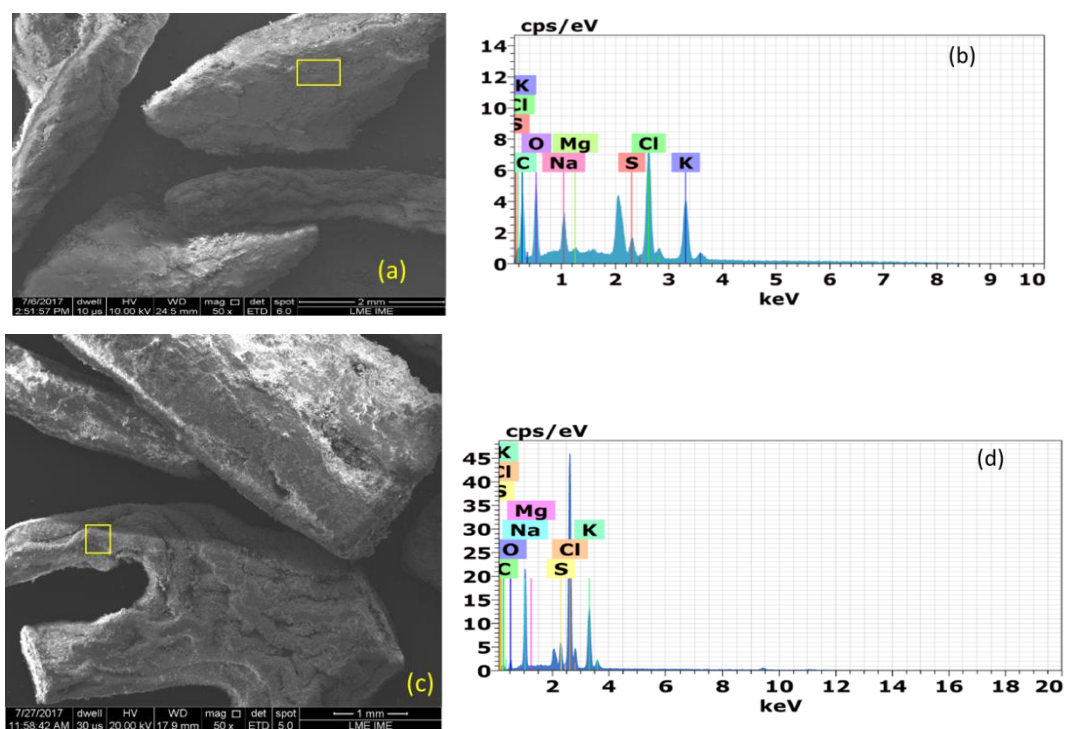


Figura 14- Micrografias e espectros de EDS da biomassa da *K. alvarezii* e do resíduo gerado após a extração com diclorometano. (a) Micrografia da biomassa *in natura* (magnitude 50x) e (b) seu espectro de EDS. (c) Micrografia da biomassa residual (magnitude 50x) e (d) seu espectro de EDS. O pico nos espectros de EDS que não foram marcados é referente à platina. As regiões analisadas pelo EDS estão destacadas por uma marcação retangular.

As estruturas semelhantes às microfibrilas, estruturas com aparência filamentosas como mencionado anteriormente, também foram analisadas pela técnica de EDS (Figura 15). A micrografia foi realizada na amostra residual e a análise de EDS foi feita de maneira pontual. Isso possibilitou a verificação de elementos químicos como carbono, oxigênio, cloro, potássio, nitrogênio, sódio, magnésio e enxofre.

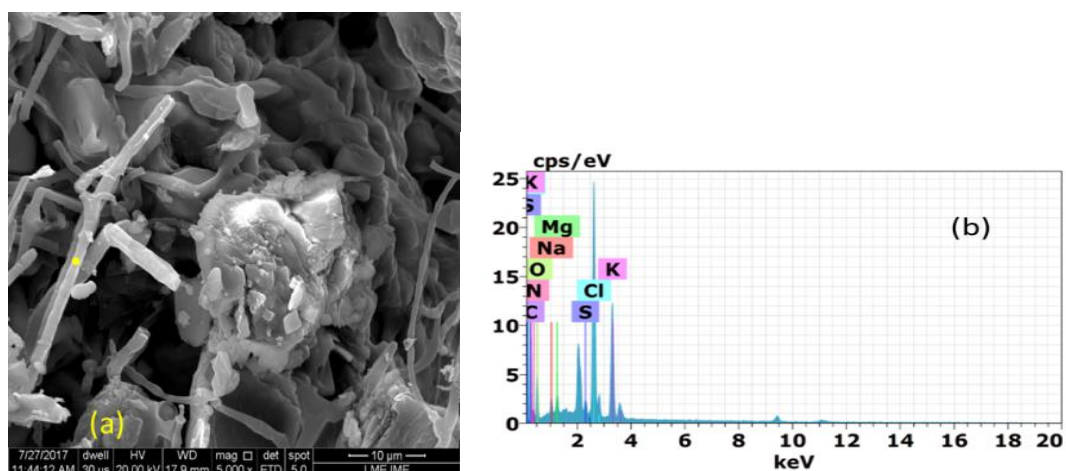


Figura 15- Micrografia e espectro de EDS da biomassa residual da macroalga *Kappaphycus alvarezii*. (a) Micrografia com as estruturas semelhantes a microfibrilas. (b) Espectro de EDS do ponto selecionado para análise (destacado em amarelo no painel a) e os elementos químicos detectados.

As análises de MEV e EDS com aumento de 10000x possibilitaram a visualização morfologia arredondadas com uma região semelhante a um orifício localizadas nas fendas presentes da biomassa *in natura* como mostra a Figura 16a. Através dos resultados de EDS em dois pontos distintos desta estrutura, foi possível detectar os elementos químicos presentes (um na região do orifício e outro na lateral). Nas regiões analisadas foram detectados os mesmos elementos químicos potássio, carbono, oxigênio, enxofre, cloro, sódio e magnésio indicando uma homogeneidade de elementos nesta estrutura (Figura 16b e 16d).

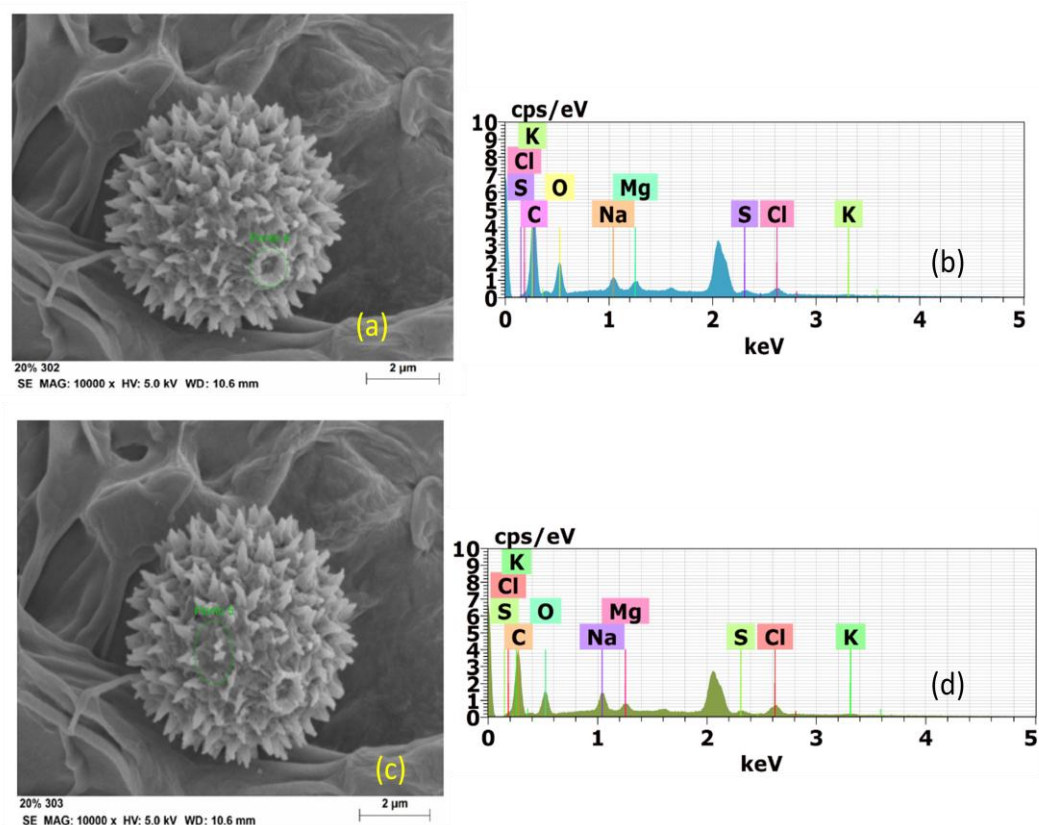


Figura 16- Estruturas detectadas por MEV/EDS na biomassa *in natura* da *K. alvarezii*. (a) e (b) Micrografias das estruturas com magnitude de 10000x. (c) Espectro de EDS da região do orifício presente na estrutura (d) Espectro de EDS da região lateral da estrutura.

4.2 INFRAVERMELHO DAS BIOMASSAS *IN NATURA* E RESIDUAL DA *C. birdiae* E *K. alvarezii*

O espectro de IV das biomassas *in natura* e residual da *C. birdiae*, que é composta principalmente pelo ágar (BEZERRA e MARINHO-SORIANO, 2010), está apresentado na Figura 17 e mostra bandas com comprimentos de onda em 1630 cm^{-1} que corresponde ao grupo C=O, bandas com absorções em 1367 e 1249 cm^{-1} são indicativas aos grupamentos éster sulfato e S=O, 1155 cm^{-1} e 1036 cm^{-1} possivelmente estão relacionadas aos grupos C-O-H, C-O, C-C dos polissacarídeos presentes na biomassa, em 927 cm^{-1} corresponde ao grupo C-O-C do 3,6 anidro- α -L-galactopiranoose e 886 cm^{-1} banda característica do C-O-SO₃ pertencente ao polissacarídeo agar. O espectro de infravermelho da biomassa *in*

natura da *C.birdiae* (vermelho) apresentou similaridade com o espectro da biomassa residual (preto).

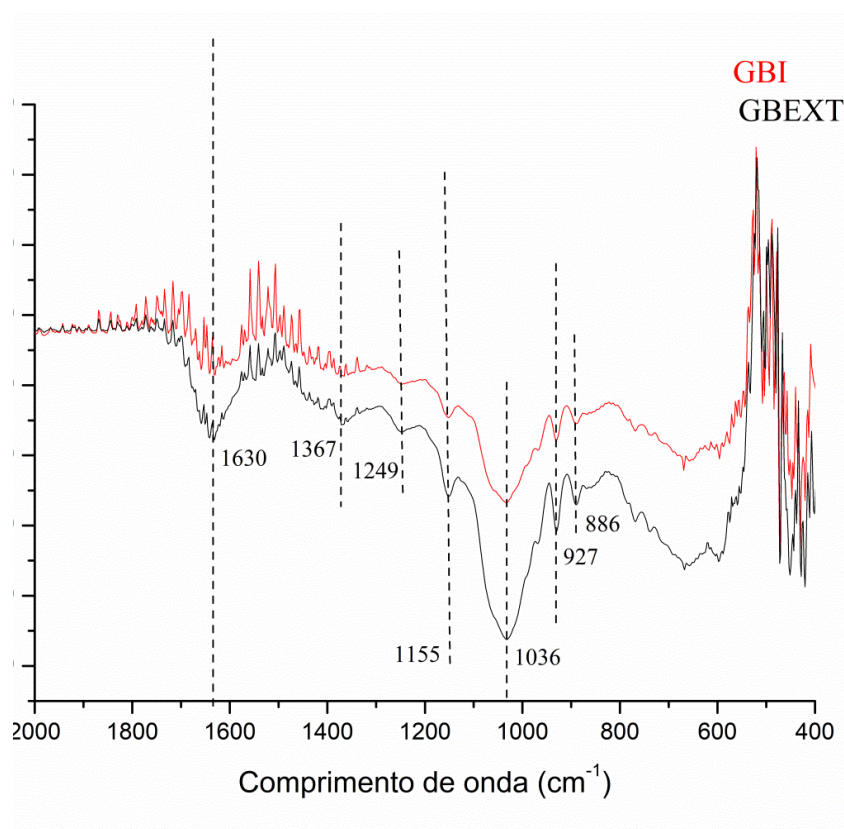


Figura 17- Comparação do espectro de infravermelho da biomassa *in natura* (GBI; vermelho) e residual (GBExt; preto) da macroalga *C. birdiae* apresentando bandas características do ágar.

O espectro de IV referente à biomassa da *K. alvarezii in natura* (vermelho) e residual (preto) está representado na Figura 18. Nele, é possível observar bandas em um comprimento de onda de aproximadamente 845 cm^{-1} característico de galactose-4-sulfatada, 1222 cm^{-1} banda indicativa de éster sulfatado, 1065 cm^{-1} referente a ligação glicosídica, 923 cm^{-1} sugere ser banda de 3,6-anidro-d-galactose. Em 1634 cm^{-1} , foi detectada uma banda característica do polímero ligado a água (MAHMOOD *et al.*, 2014) e, em 1152 e 1032 cm^{-1} , bandas sugestivas da presença de celulose foram observadas (CHEN *et al.*, 2016).

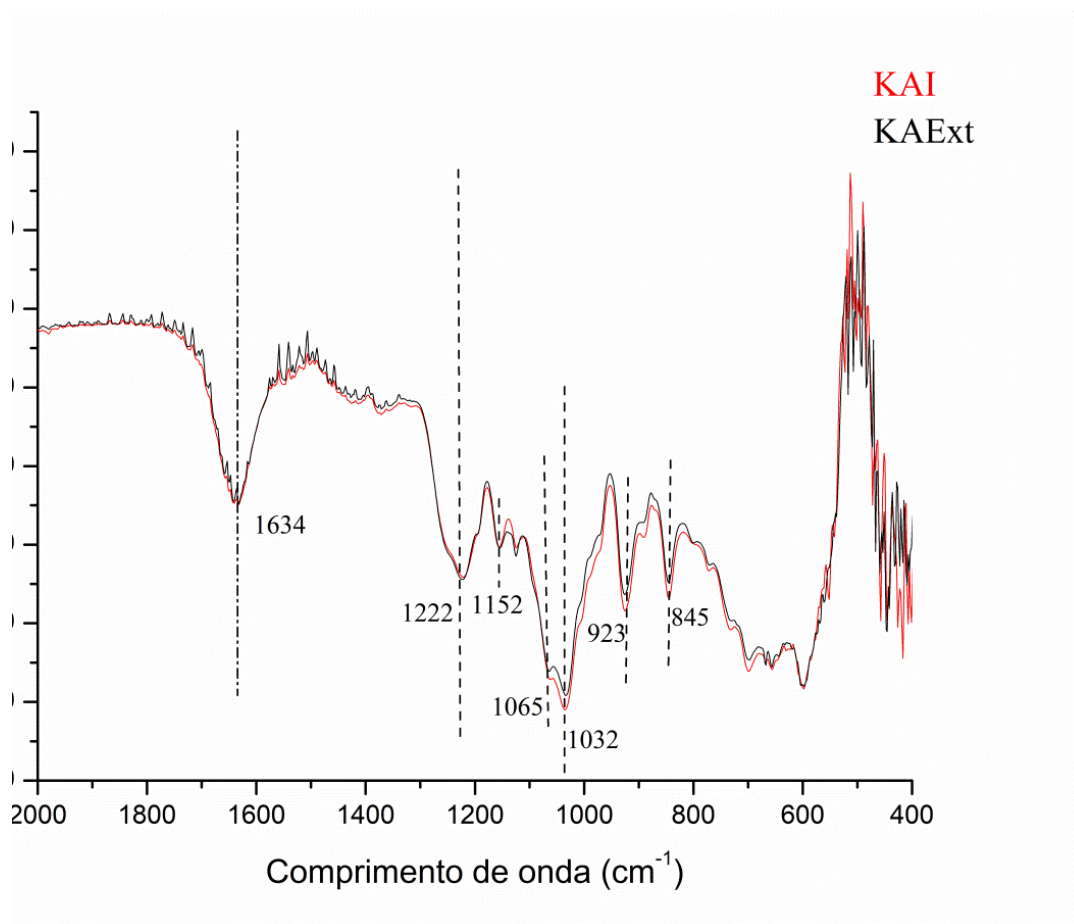


Figura 18- Espectro de infravermelho da biomassa *in natura* (KAI, vermelho) e residual (KAExt; preto) da macroalga *K. alvarezii* apresentando bandas características da carragenana.

4.3 ANÁLISES DE DSC DA BIOMASSAS *IN NATURA* E RESIDUAL DAS MACROALGAS *C.birdiae* e *K. alvarezii*

A técnica de DSC foi realizada com a finalidade de observar o comportamento da biomassa quando aquecido numa faixa de temperatura. O espectro de DSC da biomassa *in natura* da *C. birdiae* (GBI) apresentou duas regiões distintas. Uma região endotérmica com pico máximo em 90,5°C e uma região exotérmica com pico máximo em 261,8 °C (Figura 19a). O espectro da biomassa residual da *C. birdiae* (GBExt) apresentou uma região endotérmica com pico máximo em 92,1°C e a outra região é exotérmica com pico máximo de 260,6°C como mostra a figura 19b. Ambos os termogramas apresentaram similaridade, indicando que a região

endotérmica é referente à desidratação e a exotérmica indica a faixa de temperatura que ocorre a degradação dos polissacarídeos.

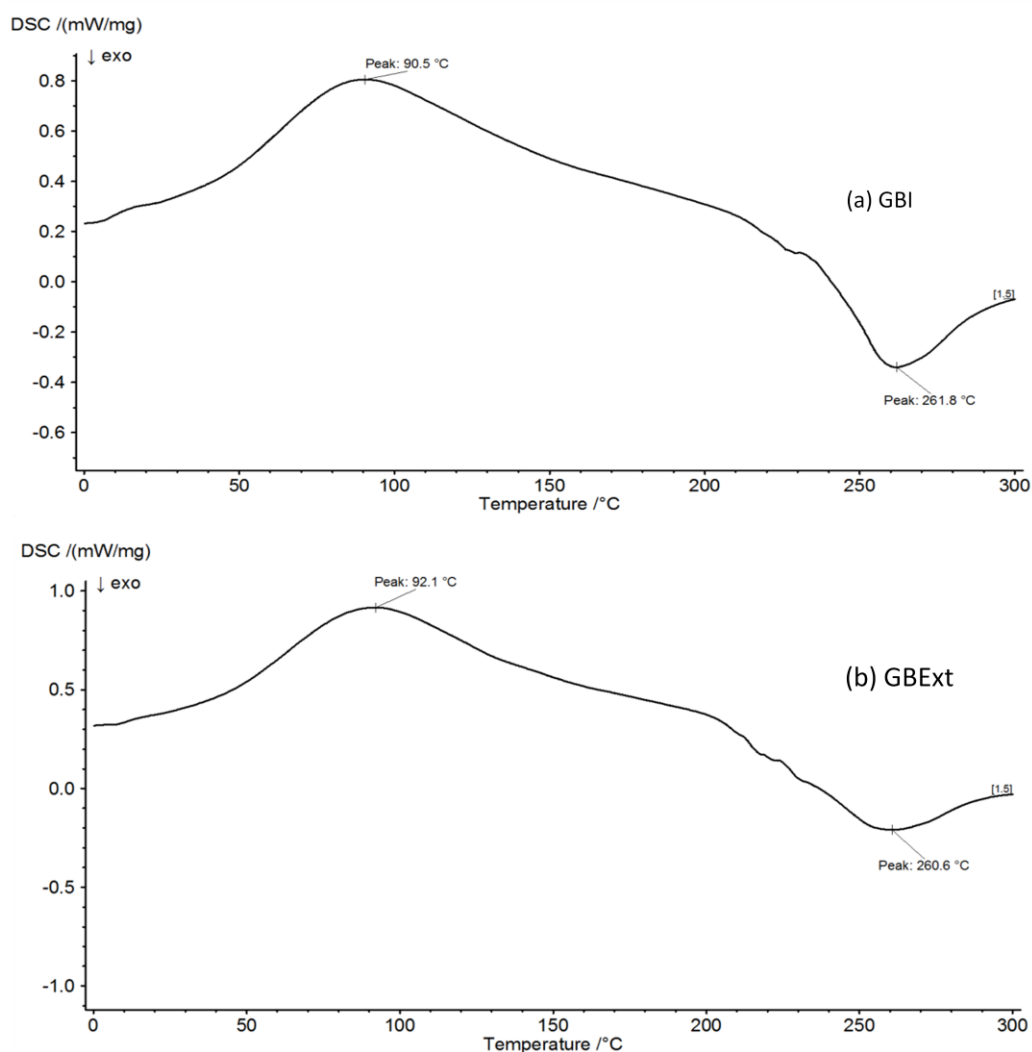


Figura 19- Termogramas das amostras de biomassas da *C. birdiae* (a) Termograma de DSC da biomassa *in natura* da *C. birdiae* (GBI). (b) Termograma de DSC da biomassa residual da *Crassiphycus C. birdiae* (GBExt).

A biomassa da alga *in natura* da *K. alvarezii* (KAI) e *residual* (KAExt) foi também analisada pela técnica de DSC. No espectro apresentado na Figura 20, foi possível observar duas regiões diferentes. Uma região endotérmica com pico máximo em 88,7°C outra região exotérmica, com dois picos máximos: o primeiro em 184,3°C e o outro em 193,8°C para amostra *in natura* (Figura 20a). Já análise

de DSC na biomassa residual da *K. alvarezii* apresentou uma região endotérmica com o pico máximo em 89,0°C, e uma região exotérmica que apresentou dois picos máximos em 186°C e 194,9°C (Figura 20b). Analisando os termogramas não ocorreu mudança significativa entre as amostras e apresentaram região endotérmica referente a perda de água (desidratação) da amostra e exotérmica indicativa da degradação dos polissacarídeos.

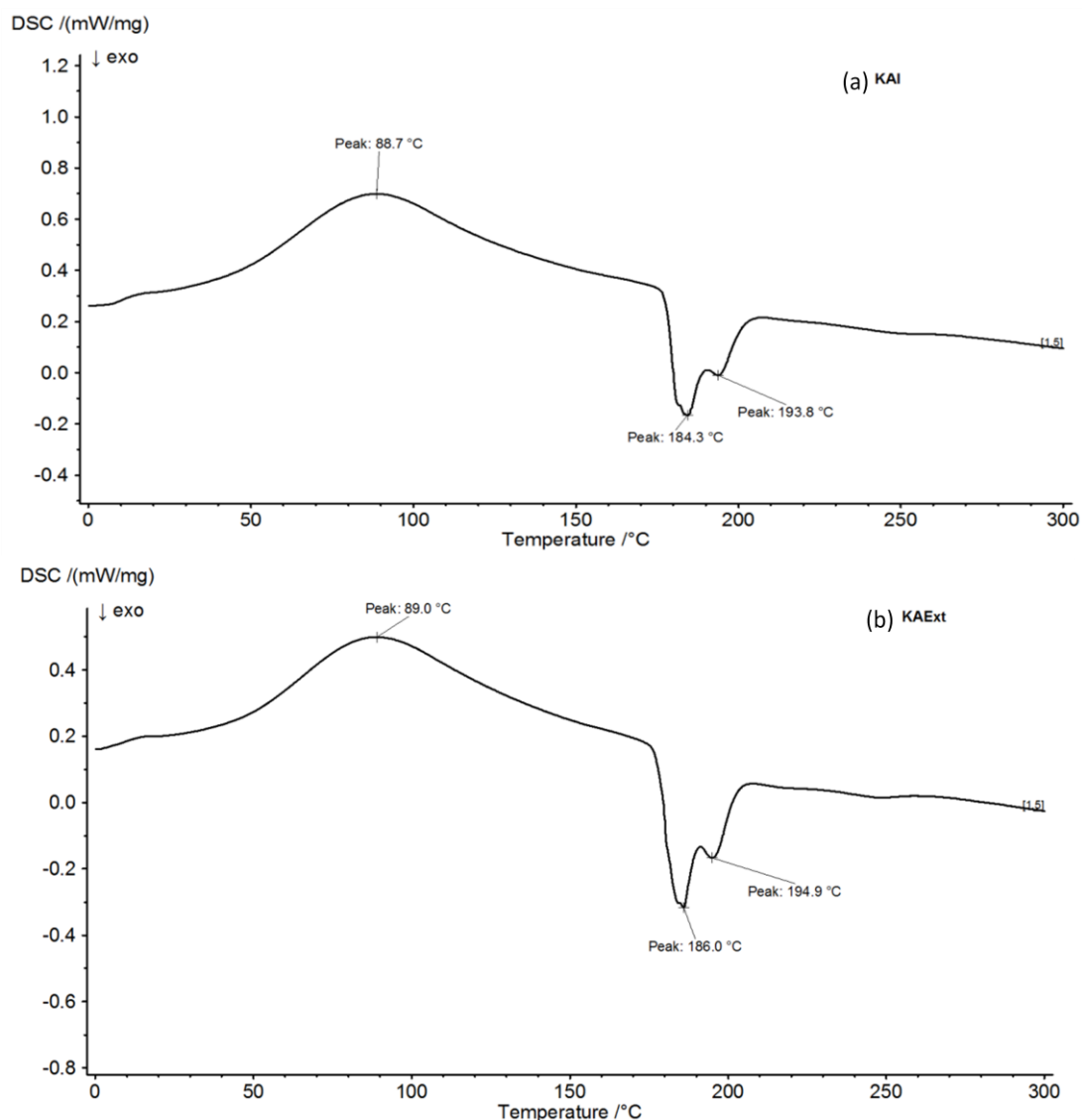


Figura 20- Termogramas das amostras de biomassas da *K. alvarezii* (a) Termograma de DSC da biomassa *in natura* da *K. alvarezii*. (b) Termograma de DSC da biomassa residual da *K. alvarezii*.

4.4 EXTRAÇÃO ORGÂNICA DAS MACROALGAS CULTIVADAS

A partir de 51,73 g de biomassa seca da *K. alvarezii* (empresa Algastech) foi possível obter 0,052g de extrato bruto. Já para a macroalga *C.birdiae*, de 30,00 g de biomassa seca, foi obtido 0,037g do extrato bruto.

4.5 CARACTERIZAÇÃO DO EXTRATO BRUTO ORGÂNICO OBTIDOS DAS MACROALGAS POR RMN

O extrato bruto obtido da alga *K. alvarezii* após a extração com diclorometano foi analisado por RMN de próton como mostra a Figura 21. No espectro, foi observado um sinal intenso em um deslocamento químico (δ) de 1,26 ppm referente aos CH_2 de ácidos graxos, um sinal em 0,68 ppm, região de deslocamento químico de CH_3 , sinais na região de 5,35 e 5,30 ppm indicativo do hidrogênio presente nas ligações duplas encontradas nas estruturas químicas das classes de esterol ($\text{C}=\text{C}-\text{H}$).

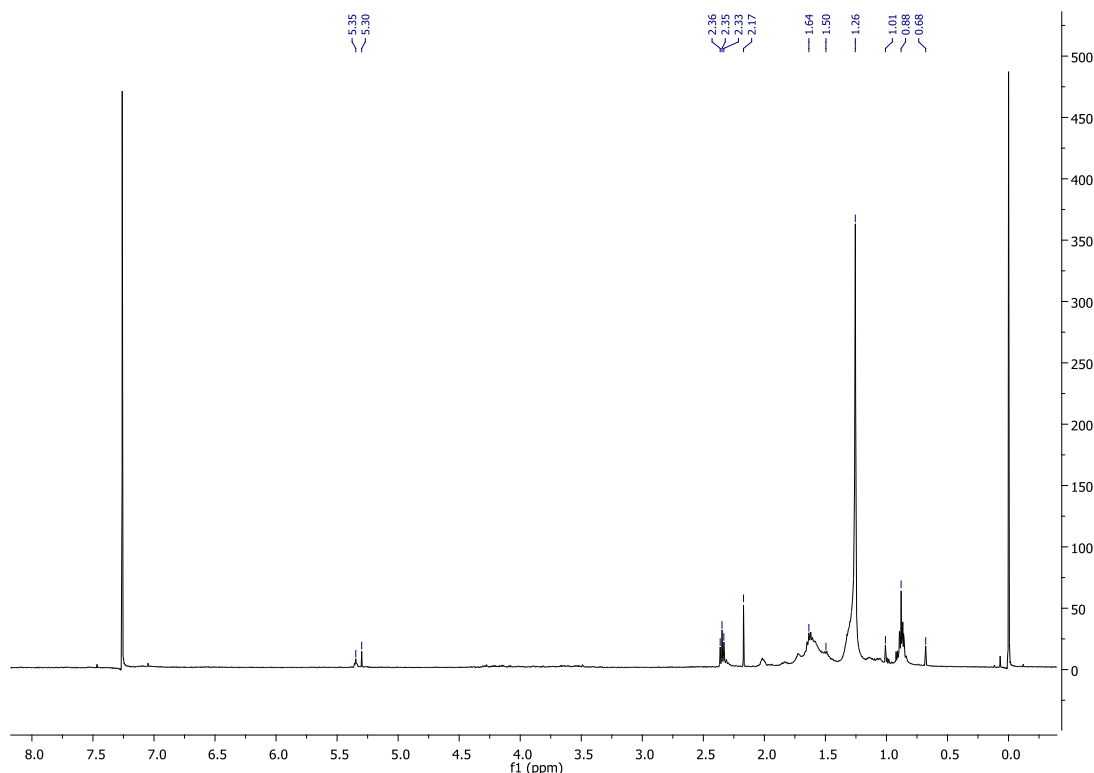


Figura 21-Espectro de RMN ^1H do extrato bruto orgânico obtido em diclorometano da *K. alvarezii*.

O extrato bruto obtido da extração com diclorometano da *C. birdiae* também foi analisado por RMN ^1H (Figura 22). Foram observados sinais de diferentes grupos funcionais de diversas classes químicas de produtos naturais. Por exemplo, foi possível verificar sinais na região com δ de 0,7 -1,2 referentes aos CH_3 ; 1,25 referente dos CH_2 das moléculas de ácidos graxos; 2-2,5 região indicativa de CH ; em 5,30 ppm referente ao $\text{C}=\text{C}-\text{H}$ encontradas nas estruturas química de esteróis.

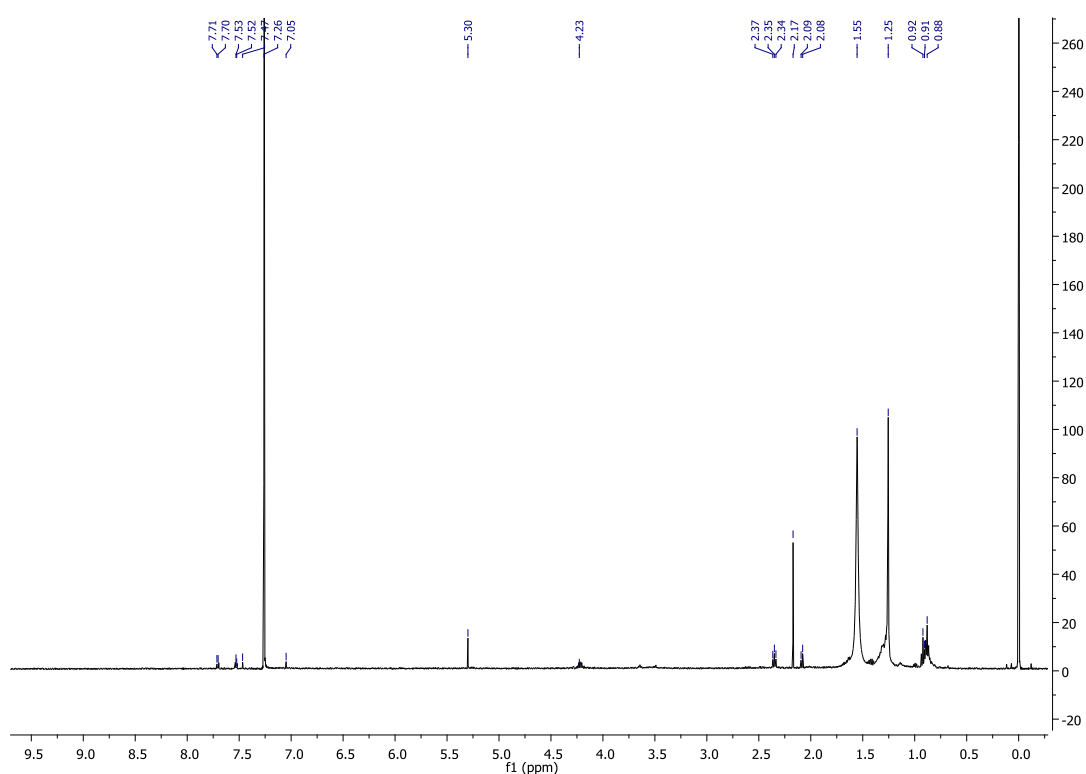


Figura 22- Espectro de RMN de ^1H do extrato bruto orgânico obtido em diclorometano da *C. birdiae*.

4.6 EXTRAÇÃO DAS BIOMASSAS DAS MACROALGAS VERMELHAS IN NATURA E RESIDUAL ASSISTIDA POR REATOR DE MICRO-ONDAS: REAÇÃO DE AUTO-HIDRÓLISE

A extração assistida por micro-ondas teve como objetivo realizar um processo de auto-hidrólise para romper a biomassa das macroalgas vermelhas, *in natura* e residual da *K. alvarezii* e residual da *C. birdiae*, pela ação da água, aumentando a eficiência de extração dos compostos bioativos. A Figura 23a mostra a biomassa

antes do processo extrativo aquoso e a Figura 23b e 23c como ela aparentou após a extração.

Os extratos brutos aquosos da *K. alvarezii* apresentaram aspectos líquidos e viscosos, com viscosidade crescente à medida que o volume de água utilizada na reação de auto-hidrólise foi reduzido. Porém, os hidrolisados da amostra 7 (biomassa *in natura*) e amostra 16 (biomassa residual) apresentaram aparência mais gelatinosa, já que as condições de extração foram: volume de água de 4 mL, 30 minutos e 100°C.

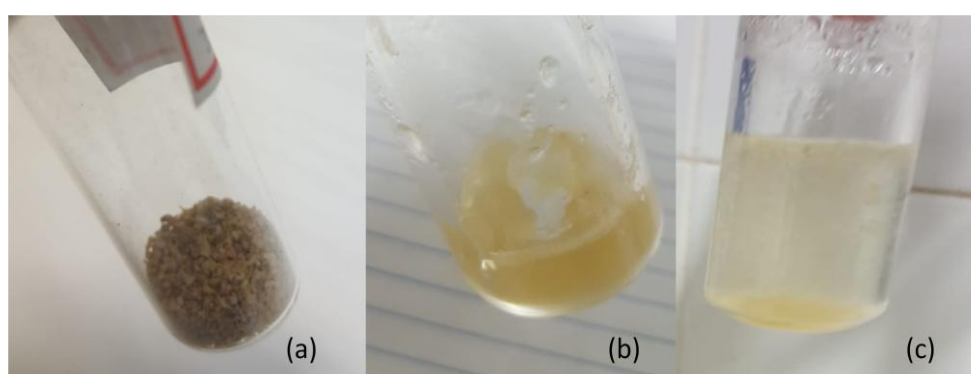


Figura 23- (a) Biomassa da macroalga *K. alvarezii* residual antes da extração assistida por micro-ondas.(b) Extrato bruto heterogêneo da biomassa residual de *K. alvarezii* após extração assistida por micro-ondas utilizando 4 mL de solvente (c) Extrato bruto obtido utilizando 16 mL de água.

A Tabela 5 mostra o pH obtido das amostras após o processo de extração. Os extratos brutos heterogêneos aquosos apresentaram valores de pH entre 4/5 e 7. Já o extrato bruto aquoso da *C. birdiae* obtido da auto-hidrólise em micro-ondas apresentou pH 6.

Tabela 5- Amostras *in natura* e residual da *Kappaphycus alvarezii* com as respectivas condições de reação e o pH obtido após a auto-hidrólise em reator de micro-ondas

Amostra	m (mg)	T (°C)	V (mL)	t(min.)	pH
1- <i>in natura</i>	200	100	16	10	5
2,6,9- <i>in natura</i>	200	100	16	30	6
3- <i>in natura</i>	200	100	16	60	5
4- <i>in natura</i>	200	30	16	30	5
5- <i>in natura</i>	200	60	16	30	5/6
7- <i>in natura</i>	200	100	4	30	5/6

8- <i>in natura</i>	200	100	8	30	4/5
10- residual	200	100	16	10	5
11,15,18- residual	200	100	16	30	5
12- residual	200	100	16	60	5
13- residual	200	30	16	30	4/5
14- residual	200	60	16	30	5
16- residual	200	100	4	30	6/7
17- residual	200	100	8	30	6/7

4.7 AVALIAÇÃO DO POTENCIAL ANTIVIRAL DO EXTRATO AQUOSO DA BIOMASSA RESIDUAL DE *C. birdiae* CONTRA HSV-1

O extrato aquoso da biomassa residual de *C. birdiae* (GBextMO) foi testado e apresentou um perfil citotóxico satisfatório, com baixa toxicidade para células Vero, o que é demonstrado pelo valor de CC₅₀ superior à maior concentração testada (1000 µg/mL). Então, a atividade antiviral foi avaliada frente à multiplicação do HSV-1 na concentração de 50 µg/mL. Apresentando taxas de inibição de 19.09% ± 3.46 para os extratos das macroalgas *C. birdiae*.

4.8 PRECIPITAÇÃO E SECAGEM DA AMOSTRA AQUOSA DA *C. BIRDIAE* RESIDUAL (CBextMO)

O extrato aquoso da biomassa da amostra GBextMO teve seus produtos precipitados com etanol absoluto. Depois do período de 24 h, a amostra com o solvente foi então filtrada e colocada em uma placa de petri para posteriormente ser submetida à secagem a frio. Após filtragem, a amostra apresentou aparência gelatinosa (Figura 24a), a qual ficou mais rígida e um pouco escurecida após secagem (Figura 24b).

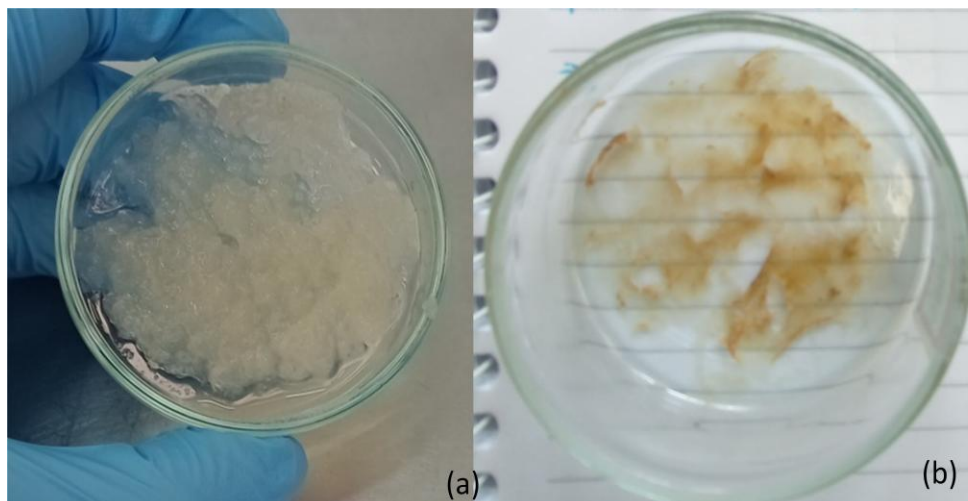


Figura 24- Amostra aquosa da *C. birdiae* residual (a) Precipitado do extrato bruto aquoso da *C.birdiae* residual obtido após filtração. (b) Aparência da amostra após o processo de secagem.

4.9 AVALIAÇÃO INIBITÓRIA DA MULTIPLICAÇÃO DE HSV-1 COM AMOSTRA AQUOSA DA *C. birdiae* RESIDUAL APÓS PRECIPITAÇÃO DOS BIOATIVOS

Inicialmente, o efeito antiviral do extrato GBextMO precipitado (50 µg/mL) foi avaliado frente à multiplicação da cepa HSV-1 (KOS) em células Vero. O extrato inibiu apenas 15,50% da produção de placas virais.

4.10 AVALIAÇÃO ANTIVIRAL DOS EXTRATOS ORGÂNICOS DAS MACROALGAS VERMELHAS *C. birdiae* E *K. alvarezii* CONTRA O MAYV.

Os extratos brutos orgânicos das macroalgas vermelhas foram avaliados contra o MAYV. Em relação à dose-resposta a ribavirina utilizada como controle apresentou baixa atividade antiviral ao longo de toda a faixa de concentrações testadas (0,65 a 40 µg), com apenas 5,3% de inibição viral a 20 µg/mL, não sendo possível determinar a EC₅₀, o que reflete sua eficácia limitada nas condições do ensaio, além de um CC₅₀ de 232 µg/mL.

O extrato orgânico da *K. alvarezii* (KA) 41% de inibição a 20 µg/mL, EC₅₀ de 42,2 µg/mL e CC₅₀ de 932 µg/mL, resultando em um índice de seletividade (IS) de 22,1. Em contraste, o extrato bruto da *C. birdiae* (GB) apresentou maior atividade antiviral, com 61% de inibição a 20 µg/mL, EC₅₀ de 5,8 µg/mL e CC₅₀ de 1035 µg/mL, resultando em um IS elevado de 178,4, evidenciando alta potência antiviral e ampla margem de segurança *in vitro*.

Na tabela 6, é possível observar que os extratos KA e GB apresentam baixa citotoxicidade, evidenciada pelos elevados valores de CC₅₀, quando comparados à ribavirina, utilizada como controle. O extrato GB exibiu o maior CC₅₀ (1035 µg/mL), indicando o menor potencial citotóxico entre os avaliados, seguido por KA (932 µg/mL). Em contraste, a ribavirina apresentou CC₅₀ significativamente inferior (232 µg/mL), sugerindo maior toxicidade celular. Em relação ao potencial inibitório (PI) a 20 µg/mL, o extrato GB destacou-se com 61% de inibição da biossíntese viral, seguido pelo extrato KA, o qual inibiu 41% da biossíntese do MAYV, enquanto a ribavirina demonstrou atividade antiviral limitada (5,3%).

A análise do EC₅₀, parâmetro diretamente relacionado à potência antiviral, reforça esse achado. Dessa forma, ao realizarmos uma análise do gráfico de dose–resposta, são notórias as diferenças entre os compostos avaliados frente ao MAYV (Figura 23). A ribavirina apresentou baixa atividade antiviral ao longo de toda a faixa de concentrações testadas (0,65 a 40 µg/mL), com apenas 5,3% de inibição a 20 µM, não sendo possível determinar a EC₅₀, o que reflete sua eficácia limitada nas condições do ensaio. O extrato GB apresentou EC₅₀ de 5,8 µg/mL, significativamente inferior ao observado para o extrato KA (42,2 µg/mL), evidenciando maior atividade antiviral em concentrações menores. Para a ribavirina, a EC₅₀ não foi determinada (N/D), possivelmente em função da baixa atividade antiviral observada nas condições testadas e para o MAYV.

Tabela 6- Citotoxicidade (CC₅₀), atividade antiviral (EC₅₀) e seletividade (IS) dos extratos orgânicos das macroalgas *K. alvarezii* (KA) e *C. birdiae* (GB) contra o MAYV. Os dados apresentados representam valores médios ± desvios padrão de três experimentos independentes.

Extrato	CC ₅₀ (µg/mL) ^a	PI (%) ^b	EC ₅₀ (µg/mL) ^c	IS ^d
KA	932 ± 5,2	41,0	42,2 ± 0,4	22,1
GB	1035 ± 6,8	61,0	5,8 ± 2,8	178,4
Ribavirina	232 ± 4,4	5,3	N/D	N/D

^aConcentração que reduziu 50% a viabilidade celular;

^bPotencial inibitório (20 µg/mL) dos extratos sobre a biossíntese do MAYV, calculado em relação ao grupo de células infectadas e não tratadas;

^cConcentração que reduziu 50% da produção de placas virais do MAYV;

^dO IS foi calculado como a razão entre CC₅₀ e EC₅₀.

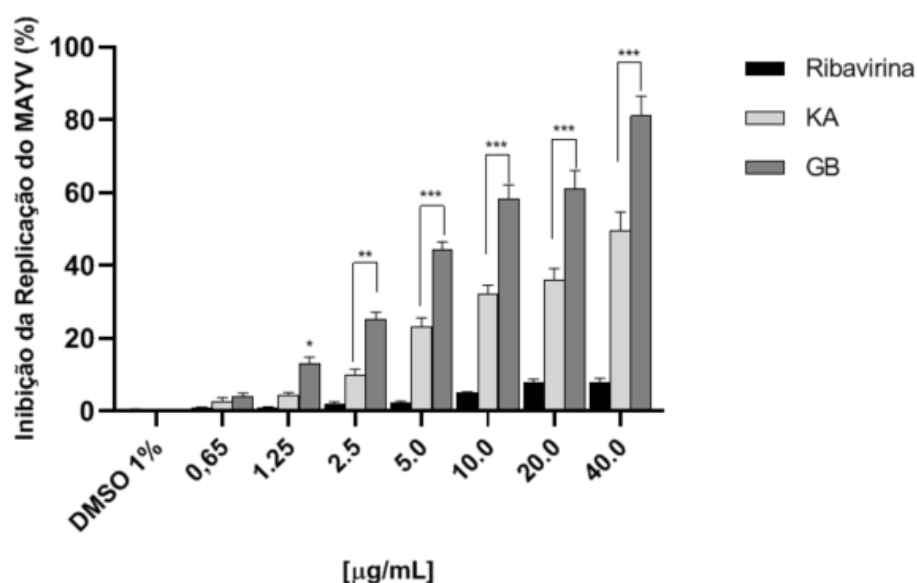


Figura 25- Inibição da replicação do MAYV pelos extratos KA e GB. Células Vero foram infectadas com MAYV (MOI 0,1) e tratadas com os extratos e ribavirina (controle) nas concentrações de 0,65; 1,25; 2,5; 5,0; 10,0; 20,0 e 40 µg/mL. Esses ensaios foram realizados três vezes de forma independente, cada um em triplicata. A análise estatística foi realizada utilizando o teste de Tukey, comparando os extratos KA e GB com a ribavirina. A significância estatística é indicada da seguinte forma: *p < 0,05; **p < 0,01; ***p < 0,001.

5. DISCUSSÃO

5.1 ANÁLISES MEV/EDS DAS MACROALGAS *C. birdiae* e *K. alvarezii* *IN NATURA* E RESIDUAL

As análises de MEV da *C. birdiae* em diferentes magnitudes possibilitaram observar as mudanças morfológicas após o processo de extração com diclorometano. A amostra *in natura* apresentou morfologia compacta e com baixa porosidade (Figura 10 a,b,c), após a extração, a morfologia foi modificada, apresentando um aumento de porosidade (Figura 10 d,e,f). Essa modificação sugere a ação do solvente na biomassa para extrair os produtos naturais presentes.

Os elementos químicos carbono e oxigênio foram detectados pela técnica de EDS e são formadores de diferentes classes de substâncias orgânicas, tanto metabólitos primários como secundários. Além disso, foi observada a presença do elemento enxofre. Este é característico do polissacarídeo ágar da parede celular da alga *C. birdiae* (ARVIZU-HIGUERA *et al.*, 2008).

Os elementos químicos Cálcio, Magnésio, Alumínio são metais leves que podem ser incorporados à biomassa das algas, muitas vezes, por serem necessários para sua própria sobrevivência. O aparecimento do elemento químico ferro na alga *C. birdiae* após extração com diclorometano sugere que a modificação na biomassa da macroalga possibilitou que este elemento ficasse exposto e assim mais fácil de ser detectado.

A partir da análise das micrografias, foi possível visualizar uma forma com alto teor de sílica presente na biomassa *in natura* da macroalga *C. birdiae*, característica de diatomácea (Figura 12). Elas também foram observadas através da técnica de MEV/EDS na biomassa da macroalga parda *Dictyota menstrualis* (LIMA *et al.*, 2019). As diatomáceas são organismos marinhos unicelulares revestidos por uma carapaça de sílica muito resistente. Apesar de ser uma macroalga cultivada e comercializada, são escassos os trabalhos que apresentam a caracterização da *C. birdiae* por MEV ou EDS tanto *in natura* quanto residual.

As imagens das biomassas *in natura* e residual da *K. alvarezii* obtidas pelo MEV possibilitaram verificar as alterações morfológicas que ocorreram na macroalga após a extração dos metabólitos secundários. A amostra *in natura* apresentou morfologia densa com algumas cavidades e regiões com aparência

filamentosa (Figura 13 a,b), enquanto a amostra residual apresentou um aumento de aglomerados na sua superfície e aparência menos compactada (Figura 13 c,d), impedindo ver com nitidez as estruturas com aparência de microfibrilas. Hans *et al.*, (2023) realizaram análises de MEV na biomassa residual de *K. alvarezii* para verificação de possíveis mudanças morfológicas oriundas de diferentes técnicas de extração como a realizada em condições fluido supercrítico para recuperar substâncias de alto valor agregado, mostrando a importância da caracterização das matérias-primas como foi apresentada nesse trabalho.

Em um estudo de Rajasulochama *et al.*, (2010), foram verificados os minerais presentes em espécies de *Kappaphycus*. Os resultados indicaram a presença de sódio, potássio, cálcio, magnésio, ferro, cobre, flúor, zinco, fósforo e molibdênio. Alguns metais, como potássio, sódio, magnésio, foram identificados nas amostras deste estudo através da técnica de EDS. Por outro lado, outros (zinco, fósforo e molibdênio) não foram detectados e isso indica que a composição da macroalga varia, por exemplo, do local e condições de cultivo.

O elemento enxofre foi detectado tanto na amostra *in natura* quanto na amostra residual, indicando a presença de carragenana, visto que é um o elemento fundamental na composição desta substância. A carragenana é um polissacarídeo presente na parede celular da alga e é formada por galactanas sulfatadas. (USOV, 1984)

A celulose, o xilano, a hemicelulose são outros componentes da parede celular das algas vermelhas (DAVIS *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2017). Essas substâncias possuem em sua composição o carbono e oxigênio, encontrado em quantidades significativas na *K. alvarezii in natura* e no resíduo de biomassa.

A macroalga *K. alvarezii* foi estudada por Roldán *et al.*, (2017) e foi sugerido que ela é composta majoritariamente por carboidratos, sendo os principais os galactanos e os glucanos. Ainda, os metais encontrados nestas amostras foram potássio, cálcio e sódio, além de proteínas, substâncias com grupos sulfatos e aromáticos insolúveis em sua biomassa (ROLDÁN *et al.* 2017). A biomassa da *K. alvarezii* é formada majoritariamente por uma matriz amorfa, carragenana que possui grupos sulfatados em sua estrutura química que foi detectada no presente trabalho pela técnica de EDS, além de outros metais como carbono, oxigênio, cloro, potássio, nitrogênio, sódio, magnésio.

No trabalho de Rudke *et al.*, (2024) foram observadas as morfologias da biomassa da *K. alvarezii* após diferentes métodos de extração dos seus compostos fenólicos, carragenanas e celuloses. A análise das micrografias mostrou as mudanças na morfologia das macroalgas causada pelos processos de extração. Na micrografia analisada de Rudke e colaboradores a biomassa tem morfologia intacta e rugosa em uma magnitude de 50x, e teve pouca alteração após a extração dos compostos fenólicos (extração com etanol), no entanto neste trabalho a biomassa residual obtida após a extração com diclorometano apresentou mudança morfológica na biomassa da macroalga.

5.2 ESPECTRO DE IV DAS AMOSTRAS DAS MACROALGAS *C. birdiae* e *K. alvarezii*

O espectro de infravermelho (IV) das amostras sólidas (biomassa) da *C. birdiae* antes e após o processo de extração com diclorometano apresentou similaridade com a observação de vibrações dos grupos característicos agarocoloides. A análise do espectro (Figura 17) mostrou a visualização de bandas com comprimentos de onda em 1630 cm^{-1} que corresponde ao grupo C=O, bandas com absorções em 1367 e 1249 cm^{-1} são relativas aos grupamentos éster sulfato e S=O, 1155 cm^{-1} e 1036 cm^{-1} possivelmente estão relacionadas aos grupos C-O-H, C-O, C-C dos polissacarídeos, em 927 cm^{-1} é referente ao grupo C-O-C do 3,6 anidro- α -L-galactopirranose, banda em 885 cm^{-1} característica do agar C-O-SO₃ (SOUZA *et al.*, 2012; AL-ALAWI *et al.*, 2018; ROCHA *et al.*, 2019). Esse polissacarídeo não pode ser extraído com solvente orgânico, mas sim com o uso de água quente. Ele é bastante utilizado para estudos biotecnológicos e na indústria farmacêutica (KHALIL *et al.*, 2018).

As amostras de biomassas da *K. alvarezii* foram analisadas por espectrometria de IV e o espectro apresentou diferentes bandas de absorção. A extração realizada com diclorometano retirou da biomassa apenas os produtos naturais capazes de serem extraídos por esse solvente. Por isso, foi possível observar bandas características da carragenana (Figura 18), polissacarídeo da parede celular desta alga.

Como exemplo, pode-se destacar as bandas características da kappa carragenana, um tipo de carragenana que pode ser encontrada em espécies de *K. alvarezii*. As bandas em um comprimento de onda de aproximadamente 845 cm^{-1} sugerem ser a galactose-4-sulfatada. O éster sulfatado apresenta banda em 1222 cm^{-1} , a ligação glicosídica possui uma absorção em torno de 1065 cm^{-1} , a banda com absorção em 923 cm^{-1} corresponde a 3,6-anidro-d-galactose (MANUHARA *et al.*, 2016; WEBBER *et al.*, 2012). Além disso, foram observadas bandas em 1634 cm^{-1} , característica de ligação C=O presente em proteínas e, em 1152 e 1032 cm^{-1} , bandas sugestivas da presença de celulose (CHEN *et al.*, 2016).

5.3 ANÁLISES DE DSC DAS BIOMASSAS *IN NATURA* E RESIDUAL DAS MACROALGAS *C. birdiae* e *K. alvarezii*

O termograma da amostra da biomassa *C. birdiae in natura* apresentou duas regiões distintas. Uma endotérmica pico máximo em 90,5°C, devido a um possível processo de desidratação e evaporação de voláteis, e uma região exotérmica com pico máximo em 261,8 °C, referente à degradação do polissacarídeo ágar presente na parede celular da macroalga (Figura 19a). O espectro da biomassa residual da *C. birdiae* (GBExt) apresentou uma região endotérmica com pico máximo em 92,1°C, devido ao processo de desidratação e desvolatilização, e a outra região é exotérmica com pico máximo de 260,6°, referente à degradação do Agar (Figura 19b). Ambos os termogramas não apresentaram diferenças significativas.

No termograma da *K. alvarezii in natura*, foi possível observar uma região endotérmica com pico máximo em 88,7 °C e outra região exotérmica com dois picos máximos, o primeiro em 184,3 °C e o outro em 193,8 °C (Figura 20a). No termograma residual foi observada uma região endotérmica com o pico máximo em 89,0 °C e uma região exotérmica com dois picos máximos em 186 °C e 194,9 °C, respectivamente (Figura 20b). Os termogramas das amostras da macroalga *K. alvarezii* apresentaram similaridade. A região endotérmica está associada à desidratação, evaporação dos voláteis e a exotérmica a degradação do polissacarídeo, carragenana.

Em um estudo de Wang *et al.* (2014), foram realizadas análises com diferentes algas, incluindo alga vermelha, em uma faixa de temperatura de 50-1200°C. O processo foi dividido em 3 estágios: desidratação, desvolatilização e estado “semi-coke” (WANG *et al.*, 2014). Porém, no presente trabalho a temperatura máxima de análise foi 300°C devido à limitação do equipamento utilizado. No entanto, foi possível observar no termograma a região indicativa da degradação do polissacarídeo sulfatado.

O perfil dos termogramas apresentado pelas amostras de *C. birdiae* e *K. alvarezii* apresentam diferenças, principalmente na região de degradação do polissacarídeo que compõe a parede celular. A *C. birdiae* que possui ágar teve seu carboidrato degradado em temperaturas mais elevadas que a *K. alvarezii*, porém esta apresentou na região de degradação dois picos com temperatura máxima. Cassani *et al.*, (2022) também observou essa diferença nas taxas de decomposição nas macroalgas analisadas, incluindo a *Porphyra purpurea* e *Palmaria palmata* (algas vermelhas) indicando que a composição química e estrutural das algas influencia nas diferentes temperaturas e perfis dos termogramas.

5.4 ANÁLISE POR RMN DE PRÓTONS DOS EXTRATOS BRUTOS ORGÂNICOS DAS MACROALGAS VERMELHAS

Os produtos naturais de organismos marinhos são produzidos em resposta ao ambiente em que vivem, pode ser para obtenção de território, se livrar de predadores ou até mesmo para ter uma reprodução eficaz (THOMPSON E THOMPSON, 2020). As macroalgas marinhas são um exemplo importante de produção de metabólitos secundários, pois são organismos que são fixados a substratos e constantemente tem influência das variáveis ecológicas daquele lugar.

Neste trabalho, foi utilizado o diclorometano como solvente orgânico para extrair produtos naturais e, dentre os metabólitos extraídos por este solvente, pode-se incluir terpenos, ácidos graxos e esteróis. Essas substâncias são bioativas com diferentes potenciais biotecnológicos e, por isso, é importante a

caracterização dos possíveis componentes do extrato (CORTÉS *et al.*, 2014; AZIZ *et al.*, 2019).

Na análise por RMN de Próton, os diferentes hidrogênios presentes na molécula possuem deslocamentos químicos distintos, porém com faixa de valores característicos dos grupamentos funcionais hidrocarbônicos.

O extrato bruto é composto por diversos metabólitos secundários, o que dificulta a análise por RMN de próton. Porém, foi possível observar no espectro da *K. alvarezii* (Figura 21) um sinal intenso em um deslocamento químico de 1,26 ppm característico de ácidos graxos, um sinal em 0,68 ppm referente a região do CH₃, sinais na região de 5,35 e 5,30 ppm referente ao hidrogênio presente nas ligações duplas encontradas nas estruturas químicas de esterois e os outros sinais que possuem intensidade significativa são o TMS (referência) e o solvente deuterado usado para análise (CDCl₂). Essas classes fitoquímicas também foram identificadas em diferentes tipos de extrato de *K. alvarezii* em trabalhos de HAYDELBA *et al.*, 2020 e VAGHELA *et al.*, 2022.

Na pesquisa realizada por Illijas *et al.*, (2023), foi observado que o método de extração empregado na amostra de *K. alvarezii* influenciou na obtenção de ácidos graxos e contribuiu para identificação de substâncias anteriormente não detectados. De acordo com os pesquisadores isso foi possível devido à desativação de enzimas por método de aquecimento que poderiam oxidar ácidos graxos poliinsaturados.

O extrato bruto obtido da extração com diclorometano da *C. birdiae* também foi analisado por RMN ¹H (Figura 22), onde apresentou sinais de diferentes grupos funcionais de diversas classes químicas de produtos naturais. Neste, foi possível verificar sinais na região com deslocamento químico de 0,7-1,2 ppm, característico de CH₃, sinais em 1,25 ppm, referentes a CH₂ dos ácidos graxos, sinais em 2-2,5 ppm característico de CH, em 5,30 ppm referente à C=C-H, presente nas estruturas químicas de esteróis. Algumas substâncias possíveis de serem extraídas da *C. birdiae* são diferentes ácidos graxos como: ácido palmítico, ácido mirístico e alguns derivados de colesterol (TOMAZ *et al.*, 2012).

Com base nos espectros dos extratos brutos de ambas as amostras, são possíveis verificar a maior incidência de produtos naturais pertencentes à classe dos ácidos graxos e esteróis em ambas as extrações com diclorometano. Os fitoquímicos extraídos das macroalgas são substâncias bioativas com grande

interesse para diferentes aplicabilidades biológicas, como por exemplo, ação antiofídica que utilizou o extrato bruto da *Plocamium brasiliense* para avaliar sua bioatividade contra o veneno da cobra *Bothrops jararaca* (Da Silva et al., 2015).

A caracterização da biomassa das macroalgas é primordial para aperfeiçoar sua aplicabilidade biotecnológica. Em um trabalho de Nunes et al., (2025) eles analisaram a macroalga *K. alvarezii* cultivada em regiões diferentes (São Paulo e Santa Catarina) e através de técnicas de caracterização foi possível indicar que condições ambientais a qual as algas se desenvolveram influenciaram na composição de seus metabólitos.

5.5 EXTRATO AQUOSO HETEROGÊNEO OBTIDO POR MICROONDAS

As biomassas das macroalgas *in natura* e residual foram submetidas ao processo de extração do polissacarídeo, substância com alto valor agregado para diferentes setores. Essa extração pode ser realizada com diferentes técnicas, normalmente utilizando água quente, de forma convencional ou através do uso de metodologias verdes. O uso de micro-ondas é um exemplo promissor de técnica de extração verde, assim como ultrassom, extração com fluido supercrítico e extração com solvente pressurizado. As vantagens de utilizar micro-ondas nas extrações são menor tempo de processo, pouco solvente, extração de diferentes matrizes, obtenção de produtos naturais e a possibilidade de ter amostras em larga escala (KHALIL et al., 2018; KRISHNAM et al., 2024).

As macroalgas são matrizes muito susceptíveis à irradiação micro-ondas, devido ao alto teor de umidade presente em sua biomassa (VÁZQUEZ-DELFÍN et al., 2014). Com isso, ocorre um aquecimento interno que expande as fibras e libera o conteúdo dessa biomassa no solvente utilizado (GAO et al., 2021).

O uso de reator de micro-ondas possui diferentes vantagens, a primeira delas é o tempo de realização da extração se tornando mais rápido que o método convencional, é uma técnica eficiente que pode ser usado com a biomassa fresca. A potência, tempo, temperatura e quantidade de solvente são variáveis que podem influenciar na extração por micro-ondas (PÉREZ et al., 2024).

El-shafei *et al.*, (2021) elaboraram um artigo de revisão que abordava a ação antiviral e antioxidante de substâncias bioativas extraídas de macroalgas. Um dos métodos de extração abordado foi com o uso de micro-ondas, uma técnica não convencional que consiste na absorção de energia pelas moléculas polares do solvente que gera uma perturbação nas ligações de hidrogênio dos compostos presentes na parede celular da alga facilitando a penetração do solvente, que, neste trabalho foi à água, aumentando a extração das substâncias.

Roldán *et al.*, (2017) realizaram experimentos com a finalidade de comparar a composição química, estrutural e ultraestrutural de resíduos gerados da extração das carragenanas obtidas da *K. alvarezii* para futura utilização na produção de bioetanol. Foram analisados os lipídios, proteínas, as galactanas e glucanas, as estruturas e ultraestruturas da biomassa por MEV, Difração de Raios X, IV e por RMN de carbono 13. Com essas técnicas, foi possível caracterizar e observar a morfologia das amostras, a presença de metais como K, Ca, Na e traços de magnésio, ferro e silício (ROLDÁN *et al.*, 2017). Neste trabalho foi utilizados também diferentes técnicas de caracterização para a biomassa residual, apresentando suas características para direcionar a sua aplicação biotecnológica, corroborando para uma valorização total da alga.

Os polissacarídeos das macroalgas servem como material de estoque e moléculas estruturais. Esses biopolímeros normalmente são hidrolisados por métodos químicos ou enzimáticos para obtenção de açúcares para serem fermentados e produzir bioetanol (ABD-RAHIN *et al.*, 2014).

Em um estudo de Li *et al.*, (2017), foi realizada a hidrólise de biomassa lignocelulósica em reator com água ou com solução ácida e os extratos obtidos precisaram ser neutralizados. O pH das amostras hidrolisadas com água geraram valor de aproximadamente 3,3, devido aos grupos acéticos da hemicelulose (LI *et al.*, 2017). Já no caso dos extratos brutos heterogêneos obtidos da biomassa *in natura* e residual de *K. alvarezii* tiveram seus valores de pH entre 4/5 e 7 e o extrato bruto aquoso da *C. birdiae* apresentou pH 6. Cabe destacar que a parede celular das macroalgas não possuem ligninas, o que pode contribuir para valores de pH diferentes das biomassas vegetais.

Em um estudo de Vázquez-Delfín *et al.*, (2014), foi possível observar a diferença entre a extração da carragenana da alga *Hypnea musciformis* de maneira convencional e com o uso de micro-ondas, usando a auto-hidrólise e o

KOH (reação alcalina) nos dois procedimentos. Nos experimentos com o uso de micro-ondas, foram utilizadas diferentes condições de temperatura e tempo das reações: 85°C por 10min; 85°C por 20min; 95°C por 10 min; 95°C por 20min e 105°C por 10 min. Com isso, foi observado que a carragenana é degradada e, para sua extração com uso de micro-ondas, é necessário que o processo ocorra em temperaturas mais baixas (VÁZQUEZ-DELFÍN *et al.*, 2014). Por isso, é necessário identificar as substâncias presentes no extrato aquoso para verificar se as condições de extração (Tabela 3 e Tabela 4) não degradaram o polissacarídeo produzindo oligossacarídeos e/ou açúcares.

A precipitação dos polissacarídeos e/ou oligossacarídeos da amostra residual da *C. birdiae* foi realizada com etanol absoluto (PERUMAL *et al.*, 2024) e a secagem foi feita a frio, possibilitando a retirada da água da amostra. É importante ressaltar que o método de secagem influencia nas propriedades funcionais, aparência e morfologia dos polissacarídeos (AHMADI *et al.*, 2019) e, como os polissacarídeos e/ou oligossacarídeos são formados por açúcares, a secagem em temperatura ambiente ou em estufa foram descartados.

5.6 AVALIAÇÃO ANTIVIRAL DO EXTRATO AQUOSO DA BIOMASSA RESIDUAL DE *C. birdiae* CONTRA O HSV-1

Na literatura, extratos aquosos de diferentes macroalgas já foram descritos utilizando diversos métodos, incluindo o uso de micro-ondas. Dentre eles, os pesquisadores Boulho *et al.* (2017) realizaram a extração assistida por micro-ondas do polissacarídeo da *Solieria chordalis* (C.Agardh) J.Agardh, 1842 em diferentes condições de tempo (10, 15, 20, 25 min.) e temperatura (90 e 105°C), e com isso analisaram qual extrato aquoso teria ação antiviral contra o HSV. Com os resultados obtidos pelos pesquisadores foi possível verificar que em condições extremas de extração pode ocorrer a degradação do polissacarídeo. As condições utilizadas nas análises de Boulho *et al.*, (2017) são diferentes das que foram utilizadas neste trabalho. No entanto, também foram aplicadas condições extremas nas extrações das amostras, que podem ter promovido a degradação da carragenana e agar.

A quebra dos polissacarídeos pode resultar em oligossacarídeos ou até mesmos açúcares (monossacarídeos). Os oligossacarídeos gerados através da hidrólise no polímero natural ágar são denominados agaro-oligosacarídeos (AOS), quando possuem as unidades de galactose, ou neoagaro-oligosacarídeos (NAOS), com as unidades de 3,6-anidrogactose. Já os oligossacarídeos de carragenanas (COS) podem ser classificados de acordo com o número e posição dos grupos sulfatos (CHEONG *et al.*, 2018). Com o uso de condições extremas na auto-hidrólise em reator de micro-ondas pode ter a possibilidade de degradação dos polissacarídeos sulfatados da biomassa das macroalgas gerando oligossacarídeos. Logo, são essas substâncias que podem estar presentes nos extratos brutos aquosos, até mesmo do que foi avaliado como antiviral contra HSV-1 neste trabalho.

O extrato aquoso da biomassa residual de *C. birdiae* (GBextMo) testada sem precipitação e secagem apresentou baixa citotoxicidade e taxa de inibição da biossíntese do HSV-1 de apenas 19,09%. Com o objetivo de otimizar a atividade antiviral, foi realizada a precipitação e secagem a frio, como pré-tratamento dos polissacarídeos e/ou oligossacarídeos presentes na amostra para uma nova avaliação da sua bioatividade. Ainda assim, a atividade anti-HSV-1 permaneceu baixa, com percentual inibitório de 15,50%. Observando os resultados das amostras avaliadas contra HSV-1, após a precipitação e secagem ocorreu uma diminuição no percentual inibitório, indicando que ao realizar esse processo a amostra pode ter perdido alguma substância (ou substâncias) que poderia estar atuando contra o vírus.

A ação antiviral de polissacarídeos de macroalgas ocorre majoritariamente durante a etapa de adsorção, já que essas substâncias competem pelo mesmo receptor celular (MATSUHIRO *et al.*, 2005; CHATTOPADHYAY *et al.*, 2007). Por isso, o tratamento de células já infectadas com o HSV-1 com os extratos aquosos pode ter resultado em inibição baixa da biossíntese do HSV-1. Outro fator importante a ser destacado são as condições de extrações no reator de micro-ondas que podem ter gerado degradação do polissacarídeo.

A literatura apresenta uma diversidade de algas vermelhas utilizadas como matriz de obtenção de polissacarídeos que podem estar em forma de extrato bruto, isolados ou até mesmo modificados quimicamente para avaliação como

agentes anti-herpéticos. Com isso, é possível verificar como os polissacarídeos, obtidos da extração aquosa, podem ser promissores agentes contra HSV-1.

Hao *et al.*, (2024) mostraram em sua revisão que os polissacarídeos das macroalgas vermelhas de fato podem ser utilizados como agentes antivirais contra o HSV-1.

A macroalga vermelha *Schizymenia binderi* teve seus polissacarídeos avaliados contra o HSV-1 e apresentaram $CC_{50} > 100 \mu\text{g/mL}$, EC_{50} de $0,18 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 5556$ (MATSUHIRO *et al.*, 2005).

Chattopadhyay *et al.* (2007) utilizaram como matriz a *Grateloupia indica* para avaliação dos polissacarídeos (galactanas sulfatados) em forma de extrato bruto e fração. O extrato apresentou EC_{50} de $0,27 \mu\text{g/mL}$ e IS de 3148, já a fração EC_{50} de $0,27 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 3703$.

Ghosh *et al.* (2009) verificou a ação anti-HSV-1 dos Xilomanos Sulfatados (polissacarídeos) presentes em *Sebdenia polydactyla*. A análise foi feita no polissacarídeo nativo que apresentou $CC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, EC_{50} de $2,8 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 357$ e no polissacarídeo modificado que indicou $CC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$, EC_{50} de $0,35 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 2857$.

No trabalho de Montanha *et al.* (2009) foi avaliado o polissacarídeo de três espécies distintas, o valor de $CC_{50} > 1500 \mu\text{g/mL}$ foi para todas as macroalgas. A *Eucheuma denticulatum* apresentou EC_{50} de $2,75 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 545$, já *Gigartina acicularis* o EC_{50} foi 26, $IS > 71$ e a *Kappaphycus cottonii* mostrou EC_{50} de $68 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 22$.

Sphaerococcus coronopifolius e *Boergeseniella thuyoides* foram as algas vermelhas utilizadas por Bouhlal *et al.*, (2011). O $CC_{50} > 250 \mu\text{g/mL}$ foi referente as amostras de polissacarídeos de ambas as macroalgas. A *S. coronopifolius* apresentou o EC_{50} de $4,1 \mu\text{g/mL}$ e IS de 61 e a *B. thuyoides* teve EC_{50} de $17,2 \mu\text{g/mL}$ e IS 14,5.

Os polissacarídeos nativos e modificados da *Nemalion helminthoides* apresentaram bioatividade ($\mu\text{g/mL}$) anti-HSV-1 de CC_{50} de 1000, $EC_{50} > 40$ e CC_{50} 250, EC_{50} de 1,89, respectivamente (Recalde *et al.*, 2012).

A *Lithothamnion muelleri* apresentou $CC_{50} > 2500 \mu\text{g/mL}$, EC_{50} $49,64 \mu\text{g/mL}$ e $IS > 50$, para os polissacarídeos avaliados como agentes anti-herpéticos (Malagoli *et al.*, 2014). A *Solieria chordalis* apresentou $CC_{50} > 200 \mu\text{g/mL}$ EC_{50} de $4,1 \mu\text{g/mL}$ (Boulho *et al.*, 2017).

Krylova *et al.* (2022) verificou a bioatividade das carragenanas extraídas da *Chondrus armatus*, *Tichocarpus crinitus* e *Ahnfeltiopsis flabelliformis*, os testes antivirais foram realizados e apresentaram $CC_{50} > 2000 \mu\text{g/mL}$ para todas as amostras. Em relação ao EC_{50} ($\mu\text{g/mL}$) e IS para *C. armatus* foi de 109,9 e 18,4, para *T. crinitus* foi de 56,4 e 35,7 e *A. flabelliformis* apresentou EC_{50} de 92 e IS 21,7.

A *Gracilaria corticata* teve frações dos seus polissacarídeos avaliados contra HSV e uma delas apresentou o seguinte índice de seletividade (IS) > 5263 (MAZUMDER *et al.*, 2002), mostrando como polissacarídeos de macroalgas vermelhas possuem margem terapêutica segura contra HSV.

Em um trabalho de Chattopadhyay *et al.*, 2008 foi observado que o alto peso molecular das galactanas sulfatadas extraídas da *Gracilaria corticata* reduziu a atividade anti HSV-1 e que os oligossacarídeos oriundos desses biopolímeros podem ser fatores determinantes para atividade anti-herpética devido a mudança de densidade de carga e peso molecular. Com base nisso, pode-se sugerir que a atividade viral do extrato aquoso foi proveniente dos polissacarídeos e/ou oligossacarídeos produzidos da autohidrólise.

A carragenana e o agar são as substâncias que estão presentes em maior concentração na biomassa das macroalgas vermelhas, o que justifica o maior número de trabalhos utilizando essas substâncias como possíveis agentes antivirais. No entanto, existem outros compostos interessantes presentes e podem ser também candidatos promissores (CARPENA *et al.*, 2023).

5.7 AVALIAÇÃO ANTIVIRAL DOS EXTRATOS ORGÂNICOS DAS MACROALGAS *C. birdiae* E *K. alvarezii* CONTRA O VÍRUS MAYARO

O extrato orgânico obtido a partir da extração com diclorometano da biomassa *in natura* das macroalgas *C. birdiae* e *K. alvarezii* foram avaliados contra a biossíntese do MAYV em células Vero. A $20 \mu\text{g/mL}$, o extrato da alga *C. birdiae* possui maior capacidade de interferir na biossíntese viral, já que apresentou inibição de 61%, enquanto o extrato de *K. alvarezii* inibiu 41% da biossíntese viral.

Ambos apresentaram maior atividade inibitória em comparação com a ribavirina (5,3%), utilizada como controle. Além disso, o extrato de *K. alvarezii* apresentou CC₅₀ de 932 µg/mL, EC₅₀ de 42,2 µg/mL e IS de 22,1, enquanto o extrato de *C. birdiae* apresentou CC₅₀ de 1035 µg/mL, EC₅₀ de 5,8 µg/mL e IS de 178,4.

O índice de seletividade (IS) é um parâmetro que indica a relação entre CC₅₀ e EC₅₀ e a partir dos resultados foi possível indicar que a o extrato de *C. birdiae* apresentou uma janela terapêutica mais ampla e maior segurança *in vitro*.

A partir dos resultados obtidos com os testes antivirais, o extrato de *C. birdiae* apresentou o melhor potencial antiviral, combinando baixa citotoxicidade, alta potência antiviral e elevado índice de seletividade, enquanto o extrato de *K. alvarezii* foi menos potente e seletivo. A ribavirina, nas condições experimentais utilizadas, apresentou desempenho inferior, reforçando o potencial dos compostos testados como candidatos promissores para estudos adicionais.

O extrato bruto obtido da extração com diclorometano possui diferentes classes químicas de produtos naturais. No caso de ambas as amostras das macroalgas, os produtos majoritários são ácidos graxos e esteróis como foi observado no espectro de RMN.

As macroalgas são promissores agentes antivirais contra arbovírus, como foi possível observar no trabalho de Cirne-Santos *et al.* (2019). Neste, foram avaliados extratos orgânicos de diferentes macroalgas vermelhas, inclusive a da *K. alvarezii* contra o vírus Chikungunya que avaliou o extrato etanólico, apresentando CC₅₀ de 423 ± 19,4 µg/mL, EC₅₀ de 3,25 ± 0,9 µg/mL e IS de 130,1. Os demais extratos analisados foram da *Bryothamnion triquetrum*, obtido pelo uso de diclorometano que apresentou CC₅₀ de 400 ± 13,5 µg/mL, EC₅₀ de 3,30 ± 0,82 µg/mL e índice de seletividade de 121,2, a *Laurencia dendroidea* foi submetida à extração com hexano e foi observado CC₅₀ de 178 ± 8,2 µg/mL, EC₅₀ de 7,78 ± 1,1 µg/mL e IS 22,9. O extrato etanólico da *Osmundaria obtusiloba* apresentou CC₅₀ de 525 ± 15,4, EC₅₀ de 1,25 ± 0,36 e IS de 420.

Cirne-Santos *et al.*, (2021) também analisaram o extrato bruto (diclorometano) da *Bryothamnion triquetrum* contra vírus Zika, o qual apresentou CC₅₀ de 400 µg/mL, EC₅₀ de 1.38 µg/mL e IS de 289,85.

O extrato etanólico da *K. alvarezii* foi avaliado contra o vírus Zika em um trabalho de Barros *et al.*, (2024), demonstrando um CC₅₀ de 423 µg/mL, EC₅₀ de 0.65 µg/mL e o IS de 651. Diante dos resultados observados na literatura, as

macroalgas são fontes promissoras de substâncias bioativas com ação antiviral para arboviroses.

A literatura apresenta poucos trabalhos que relacionam as substâncias extraídas de macroalgas atuando contra as arboviroses (FAGUNDES *et al.*, 2023), inclusive contra o MAYV. Deste modo, este é o primeiro trabalho que reporta a atividade de extratos de macroalgas vermelhas contra o MAYV. Ainda, é interessante destacar a utilização como matriz as macroalgas vermelhas cultiváveis para obtenção dessas substâncias bioativas, possibilitando produção de produtos em larga escala futuramente.

6. CONSIDERAÇÕES FINAIS

6.1 CONCLUSÃO

As micrografias possibilitaram a visualização morfológica das biomassas *in natura* e após o processo de extração dos produtos naturais. A biomassa *in natura* da alga *C. birdiae* apresentou morfologia compacta e com baixa porosidade. Após a extração, foi observado um aumento de porosidade. Já as imagens da biomassa *K. alvarezii in natura* apresentou morfologia densa com algumas cavidades e regiões com aparência filamentosa, enquanto a biomassa residual após extração apresentou um aumento de aglomerados na sua superfície e aparência menos compactada. Ainda, a técnica de EDS detectou elementos químicos presentes nas amostras de biomassas como C, O, Na, Mg, S, Cl, K, Si, Ca.

A caracterização pela técnica de espectrometria IV das biomassas *in natura* e residuais mostrou bandas características dos biopolímeros, ágar na *C. birdiae* e carragenana na *K. alvarezii*, uma vez que a extração com diclorometano não é capaz de extrair os polissacarídeos que compõem a parede celular das macroalgas.

A análise de DSC possibilitou ver diferentes regiões (endotérmica e exotérmica) nas biomassas *in natura* e residual das macroalgas. O perfil da região de degradação do polissacarídeo também demonstrou ser distinto quando comparado a *C. birdiae* e *K. alvarezii*.

A extração assistida por micro-ondas através da auto-hidrólise é uma técnica promissora e verde. Os extratos brutos obtidos das diferentes condições de análise das macroalgas possibilitaram a extração dos polissacarídeos e/ou oligossacarídeos e apresentaram pH entre 4/5 -7.

O extrato aquoso da biomassa residual da *C. birdiae* obtido da autohidrólise em reator de micro-ondas, antes e após a precipitação dos seus polissacarídeos e/ou oligossacarídeos, apresentou ação antiviral contra HSV-1 inferior a 20%. Por outro lado, os extratos orgânicos obtidos da biomassa *in natura* em ambas as macroalgas apresentaram atividade antiviral promissora contra o MAYV. A análise de RMN realizada nos extratos orgânicos indicou a maior presença de ácidos graxos e esteróis.

6.2 PERSPECTIVAS

A literatura nos apresenta diferentes aplicações biotecnológicas para as substâncias extraídas das macroalgas e os resultados obtidos das algas vermelhas cultiváveis mostram como são matrizes promissoras.

A caracterização da biomassa da macroalga e seus bioprodutos é um fator fundamental quando se pretende entender as características físico-químicas, elucidar estruturas, identificar composição para sua aplicação biotecnológica. Com base nisso, existem ainda diferentes técnicas que podem ser utilizadas, como por exemplo, identificar as substâncias bioativas presentes nos extratos das macroalgas através da utilização da cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas para o extrato orgânico e a cromatografia líquida para o extrato aquoso.

Em relação à ação antiviral, realizar a avaliação dos extratos aquosos da *K. alvarezii* obtidos em diferentes condições de extração em reator de micro-ondas e os extratos brutos orgânicos contra o HSV-1, devido a existência de cepas resistentes a medicamentos de primeira escolha. Já no que se referem às arboviroses, os extratos orgânicos podem ser testados em outros vírus como Zika, Chikungunya, Oropouche, principalmente aqueles presentes em nosso país que não possuem vacina ou medicamento específico.

7. REFERÊNCIAS

- Abd-Rahin F, Wasah H, Zakaria MR, Ariff A, Kapri R, Ramli N, Siew-Ling L. Production of high yield sugars from *Kapphycus alvarezii* using combined methods of chemical and enzymatic hydrolysis. *Food Hydrocoll.* 2014; 42:309-315.
- Ahmadi A, Moghadamtousi SZ, Abubakar S, Zandi K. Antiviral potential of algae polysaccharides isolated from marine sources: a review. *BioMed Res Int*, 2015; 2015:825203.
- Ahmadi S, Sheikh-Zeinoddin M, Soleimanian-Zas S, Alihosseini F, Yadav H. Effects of different drying methods on the physicochemical properties and antioxidant activities of isolated acorn polysaccharides. *LWT*, 2019; 100:1-9.
- Akter, A, Sobuj MKA, Islam MS, Chakroborty K, Tasnim N, Ayon MH, Hossain MF, Rafiquzzaman SM. Seaweed polysaccharides: Sources, structure and biomedical applications with special emphasis on antiviral potentials. *Future Foods.* (2024); 10: 100440.
- Al-alawi A, Chitra P, Al-mamun A, Al-Marhub I, Rahman MS. Characterization of Red Seaweed Extracts Treated by Water, Acid and Alkaline Solutions. *Int. J. Food Eng.*; 2018;14(4).
- Algaebase. *Crassiphycus birdiae* (E.Plastino & E.C.Oliveira) Gurgel, J. N. Norris & Fredericq. 2022. Disponível em: https://www.algaebase.org/search/species/detail/?species_id=E843a2e588899d57d#. Acesso em 07, março de 2026.
- Ali I, Mathias E. Chemen ME, Luana E. Piccini LE, Mukherjee S, Jana S, Elsa B. Damonte EB, Ray B, Garcia CC, Ray S. Chemically modified galactans of *Grateloupia indica*: From production to in vitro antiviral activity. *Int J Biol Macromol* .2024; 258:128824.
- Andreu S, Galdo-Torres D, Ripa I, Caballero O, Bello-Morales R, López-Guerrero JA. From HSV-2 to HSV-1: A change in the epidemiology of genital herpes. *J. Infect.* 2025; 91(5): 106636.
- Arvizu-Higuera DL, Rodríguez-Montesinos YE, Murillo-Álvarez JI, Muñoz-Ochoa M, Hernández-Carmona G. Effect of alkali treatment time and extraction time on agar from *Gracilaria vermiculophylla*. *J Appl Phycol.* 2008;20:515-519.

- Aziz DAS; JAFARAH NF; Sabri S WAHAB MAA, YUSOF ZNB. Antifungal activity of dichlorometane and hexane extracts of four malaysian seaweed species against *Ganoderma boninense*. *Malays. Appl. Biol.* 2019. 48(3): 189–196.
- Aziz E, Battol R, Klan UM, Rauf A, Akhtar W, Heydari M, Rehman S, Shahzad T, Malik A, Mosavat SH, Plygun S, Ali Shariati M. An overview on red algae bioactive compounds and their pharmaceutical applications. *J Complement Intergr Med.* 2020;17(4).
- Barros CS, Cirne-Santos CC, Esteves PO, Gomes MWL, Rabelo VW, Santos TM, Teixeira VL, de P Paixão ICN. Antiviral Activity of *Kappaphycus alvarezii* Seaweed against ZIKV. *Curr Top Med Chem.* 2024;24(18):1589-1598.
- Barros, C.S; Teixeira, V.L; Paixão, I.C. N. Seaweeds with anti-herpes simplex virus type 1 activity. *J Appl Phycol.* 2014, 27 (4).
- Bezerra AF, Marinho-Soriano E. Cultivation of the red seaweed *Gracilaria birdiae* (Gracilariales, Rhodophyta) in tropical waters of northeast Brazil, Biomass Bioenergy,. 2010, 34(12): 1813-1817.
- Bouafir Y, Bouhenna MM, Nebbak A, Belfarhi L, AOUZAL b, Boufahja F, Bendif H, Bruno M. Algal bioactive compounds: A review on their characteristics and medical properties. *Fitoterapia.* 2025; 183: 106591.
- Bouhlal R, Haslin C, Jean-Claude Chermann JC, Collic-Jouault S, Siquin C, Simon G, Cerantola S, Riadi H, Bourgougnon N. Antiviral activities of sulfated polysaccharides isolated from *Sphaerococcus coronopifolius* (Rhodophyta, Gigartinales) and *Boergeseniella thuyoides* (Rhodophyta, Ceramiales). *Mar. Drugs.* 2011; 9(7):1187–1209.
- Boulho R, Marty C, Freile-Pelegrin Y, Robledo D. Antiherpetic (HSV-1) activity of carrageenans from the red seaweed *Solieria chordalis* (Rhodophyta, Gigartinales) extracted by microwave-assisted extraction (MAE). *J Appl Phycol.* 2017; 29(5): 2219-2228.
- Cardozo KHM, Guaratini T, Barros MP, Falcão VR, Tonon AP, Lopes NP, Campos S, Torres MA, Souza AO, Colepicolo P, Pinto E. Metabolites from algae with economical impact. *Comp. Biochem. Physiol. C Toxicol. Pharmacol.* 2007; 146(1-2);60-78.

- Carpaena M, Garcia- Perez P, Garcia-Oliveira P, Chamorro F, Otero P, Lourenço-Lopes C, Hui Cao, Simal-Gandara J, Prieto MA. Biological properties and potential of compounds extracted from red seaweed. *Phytochem Rev.* 2023; 22:1509-1540.
- Cassani L, Lourenço-Lopes C, Barral-Martinez M, Chamorro F, Garcia-Perez P, Simal-Gandara J, Prieto MA. Thermochemical Characterization of eight seaweed species and evaluation of their potential use as an alternative for biofuel production and source of bioactive compounds. *Int. J. Mol. Sci.* 2022;23:1-24.
- Cassani L, Lourenço-Lopes C, Barral-Martinez M, Chamorro F, Garcia-Perez P, Simal-Gandara J, Prieto MA. Thermochemical characterization of eight seaweed species and evaluation of their potential use as an alternative for biofuel production and source of bioactive compounds. *Int. J. Mol. Sci.* 2022, 23: 2355.
- Centers for Disease Control and Prevention. CDC. 2021. Sexually Transmitted Infections Treatment Guidelines, Disponível em: <https://www.cdc.gov/std/treatment-guidelines/herpes.htm>. Acesso em: 7, março de 2026.
- Chattopadhyay K, Ghosh T, Pujol CA, Carlucci MJ, Damonte EB, Ray B. et al., Polysaccharides from *Gracilaria corticata*: Sulfation, chemical characterization and anti-HSV activity. *Int. J. Biol. Macromol.* 2008; 43(4): 346-351.
- Chattopadhyay K, Mateu CG, Mandal P, Carlos A. Pujol CA, Damonte EB, Ray B. Galactan sulfate of *Grateloupia indica*: isolation, structural features and antiviral activity. *Phytochemistry.* 2007; 68(10):1428–1435.
- Chen YW, Lee HV, Juan JC, Phang SM. Production of new cellulose nanomaterial from red algae marine biomass *Gelidium elegans*. *Carbohydr. Polym.* 2016;151:1210-1219.
- Cheong K-L, Qiu H-M, Du H, Liu Y, Khan BM. Oligosaccharides Derived from Red Seaweed: Production, Properties, and Potential Health and Cosmetic Applications. *Molecules.* 2018; 23(10):2451.

- Ciancia M, Matulewics MC, Tuvikene R. Structural diversity in galactans from red seaweed and its influence on rheological properties. *Front. Palnt Sci.* 2020; 11:559986.
- Cirne-Santos CC, Barros CDS, Nogueira CCR, Azevedo RC, Yamamoto KA, Meira GLS, Meira GLS, Vasconcelos ZFM, Ratcliff NA, Teixeira VL, , Schmidt-Chanasit J, Ferreira DF, Paixão ICNDP. Inhibition by marine algae of chikungunya virus isolated from patients in a recent disease outbreak in Rio de Janeiro. *Front. Microbiol.* 2019; 10: 2426.
- Cirne-Santos CC, Barros CDS, Rabelo VW, Esteves PO, Gomes MW, Teixeira VL, Paixão ICNP. In vitro antiviral activity against zika virus from natural products of the Brazilian red seaweed *Bryothamnion triquetrum*. *Acta Virol.* 2021; 65: 402-410.
- Cooney OC, Morrin ST, Buck RH, Owens RA, Hickey RM. Seaweed-derived polysaccharides as antibacterial and antiviral ingredients. *Int. J. Biol. Macromol.* 2025; 321:145823
- Cortés Y, Hormazábal E, Leal H, Urzúa A, Mutis A, Parra L, Quiroz A. Novel antimicrobial activity of a dichloromethane extract obtained from red seaweed *Ceramium rubrum* (Hudson)(Rhodophyta: Florideophyceae) against *Yersinia ruckeri* and *Saprolegnia parasitica*, agents that cause diseases in salmonids. *Electron.J. Biotechnol.* (2014). 17(3) :126-131.
- Da Silva GA, Domingos TF, Fonseca RR, Sanchez EF, Teixeira VL, Fuly AL. The red seaweed *Plocamium brasiliense* shows anti-snake venom toxic effects. *Journal of Venomous Animals and Toxins including Tropical Diseases.* 2015; 21: 1-9.
- Das IJ, Bal T. Exploring carrageenan: From seaweed to biomedicine—A comprehensive review. *Int. J. of Biol Macromol.* 2024; 268: 131822.
- Davis TA, Volesky B, Mucci A. A review of the biochemistry of heavy metal biosorption by brown algae. *Water Res.* 2003; 37:4311–4330.
- De Ruiter GA, Rudolph B. Carrageenan biotechnology. *Trends Food Sci. Technol.* 1997; 8 (12): 389-395.
- De S.F-Tischer PC, Talarico LB, Nosedá MD, Guimarães SMPB, Damonte EB, Duarte MER. Chemical structure and antiviral activity of carrageenans from

- Meristiella gelidium* against herpes simplex and dengue Virus. *Carbohydr. Polym.* 2006; 63 (4):459–465.
- Dos Santos GS, de Souza TL, Teixeira TR, Brandão JPC, Santana KA., Barreto L.H.S., Cunha S.S., Dos Santos D.C.M.B., Caffrey C.R., Pereira N.S., de Freitas Santos Júnior A. Seaweeds and Corals from the Brazilian Coast: Review on Biotechnological Potential and Environmental Aspects. *Molecules.* 2023; 28(11): 4285.
- El-Said GF; El-Sikaily A. Chemical composition of some seaweed from mediterranean Sea coast, Egypt. *Environ. Monit. Assess.* 2013;185:6089-6099
- El-Shafei R, Hegazy H, Acharya B. A review of antiviral and antioxidant activity of bioactive metabolite of macroalgae within an optimized extraction method. *Energies.* 2021; 14(11): 3092.
- Fagundes T S F, Vasconcelos T R A, Santos Junior F M dos , Rajsfus B F, Allonso D, Menezes J C J MD S, Valverde A L, CamposVR. Marine Natural Products in the Battle against Dengue, Zika, and Chikungunya Arboviruses. *J. Braz. Chem. Soc.* 2023. 34(4): 485–501.
- Food and Agriculture Organization. FAO. Seaweed Farming in Latin America and Caribbean. 2025. Disponível em: <https://www.fao.org/americas/news/news-detail/cultivo-macroalgas-creci%C3%B3-en-la-ultima-decada/en>. Acesso em: 9, março de 2026.
- Gamero-Veja G, Palacios-palacios M, Quitral V. Nutritional composition and bioactive compounds of Red Seaweed: A mini-review. *J.Food Nutr. Res.* 2020;8(8):431-440.
- Ganjian N, Riviere-Cinamond A. Mayaro virus in Latin America and the Caribbean. *Rev Panam Salud Publica.* 2020;44:e14.
- Gao Y, Remón J, Matharu AS. Microwave-assisted hydrothermal treatments for biomass valorisation: a critical review *Green Chem.* 2021, 23, 3502–352.
- Geller M, Neto MS, Ribeiro MG, Oliveira L, Naliato EC, Abreu C, Schechtman RC. Herpes simples: atualização clínica, epidemiológica e terapêutica. *DST j. bras. doenças sex. transm.* . 2012; 24(4): 260-266.
- Ghosh T, Pujol CA, Damonte EB, Sinha S, Ray B. Sulfated xylomannans from the red seaweed *Sebdenia polydactyla*: structural features, chemical

- modification, and antiviral activity. *Antivir. Chem. Chemother.* 2009;19(6): 235–242.
- Hans n, Gupta S, Pattnaik F, Patel AK, Naik S, Malik A. Valorization of *Kappaphycus alvarezii* through extraction of high-value compounds employing green approaches and assessment of the therapeutic potential of k- carrageenan. *Int. J. Biol. Macromol.* 2023; 250: 126230.
- Hao C; Xu Z; Xu C; Yao R. Anti-hepes simplex vírus activities and mechanisms of marine derived compounds. *Front. Cell. Infect. Microbiol.* 2024; 13:1302096
- Hargreaves PL, Barcelos CA, Costa ACA, Júnior NP. Production of etanol 3G from *Kappaphycus alvarezii*: Evaluation of different process strategies. *Bioresour. Technol.* 2013; 134:257-263.
- Haydelba D, Marylin N, Mary Isabel, S, Leonor, B, & Barrios, J. Chemical composition and biotoxicity of red algae *Kappaphycus alvarezii* Doty (Solieriaceae). 2020. *Aqua Technica* 2(1):31.
- Henríquez A, Vargas JPV, Landahur C, Corrales N, Agurto-Munoz A, González PA, Agurto-Muñoz C. Antiviral activity of red algae phycocolloids against herpes simplex virus type 2 in vitro. *Biotechnol. Rep.* 2023; 38: e00798.
- Ilijas. MI, Gwang-Woo K. Honda M, Itabashi Y. Characteristics of fatty acids from red alga *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Rhodophyta, Soliericeae). *Algal Research.* 2023;71:103005.
- Ismail MM, Alotaibi BS, El-Sheekh MM. Therapeutic uses of Red Macroalgae. *Molecules.* 2020;25:1-14.
- Jalal RS, Jalani KJ, Wahab IA, Eshak Z, Ibrahim AH, Mohsin HF. *Kappaphycus alvarezii* phytochemicals and ethnopharmacological significance. *J. Sustain. Sci. Manag.* 2023;18(10):187-208.
- Jalilian N, Najafpour GD, Khajouei M. Macro and micro algae in pollution control and biofuel production—a review. *ChemBioEng Rev.* 2020;7(1):18-33.
- Kazir M, Abuhassira Y, Robin A, Nahor O, Luo J, Israel A, Golberg A, Livney YD. Extraction of proteins from two marine macroalgae *Ulva* sp. and *Gracilaria* sp. For food application and evaluating digestibility, amino acid composition and antioxidant properties of the protein concentrates. *Food Hydrocoll.* 2019;87: 194-203.
- Khalil HPS, Tye YY, Saurabh CK, Leh CP, Lai TK, Chong EWN., Nurul Fazita MR, Mohd Hafiidz J, Banerjee A, Syakir MI. A review of extractions of seaweed

- hydrocolloids properties and applications. *Express Polym. Lett.* 2018; 11(4): 244-265.
- Krishnan I, Ravi N, Mondal AK, Akter F, Kumar M, Ralph M, Kuzhiumparambil U. Seaweed–based polysaccharides - review of extraction, characterization, and bioplastic application. *Green Chem.* 2024; 26: 5790-5823.
- Krylova, N.V.; Kravchenko, A.O.; Iunikhina, O.V.; Pott, A. B.; Likhatskaya, G.N.; Volodko, A.V.; Zapoeozhets, T.S.; Shcelkanov, M.Y.; Yermak, I.M. Influence of the structural features of carrageenans from red algae of the Far Eastern seas on their antiviral properties. *Mar. Drugs.* 2022;20 (1):60.
- Leandro A, Pacheco D, Cotas J, Marques JC, Pereira L, Gonçalves AMM. Seaweed's Bioactive Candidate Compounds to Food Industry and Global Food Security. *Life.* 2020; 10(8):140.
- Lee C. Carrageenans as broad-spectrum microbicides: current status and challenges. *Marine drugs.* 2020; 18(9): 435.
- Lee WK, Lim YY; Leow ATC, Namasivayam P, Abdulaah JO, Ho CL. Biosynthesis of agar in red seaweeds: a review. *Carbohydr. Polym.* 2017; 164:23-30.
- Li D, Chen L, Zhang X., Ye N, Xing F. Pyrolytic characteristics and kinetic studies of three kinds of red algae. *Biomass Bioenergy.* 2011;35(5):1765-1772.
- Li J, Xu Y, Zhang M, Wang D. Determination of furfural and 5-Hydroxymethylfurfural in biomass Hydrolysate by High- Performace Liquid Chromatography. *Energy & Fuel.* 2017; 31: 13769-13774.
- Lima IES, Martinez ST, Teixeira VL, Gonzalez WA. Morphological Analysis by Scanning Electron Microscopy of *Dictyota menstrualis in Natura* and Following an Extraction Process. *CET.* 2019. 75.
- Lomartine S, Gonçalves AMM. Antiviral activity and mechanisms of seaweeds bioactive compounds on enveloped viruses—A review. *Mar. Drugs.* 2022; 20(6):385.
- Long KC, Ziegler SA, Thangamani S, Hausser NL, Kochel TJ, Higgs S, Tesh RB. Experimental transmission of Mayaro virus by *Aedes aegypti*. *Am J Trop Med Hyg* 2011;85(4):750.
- Louten J. Virus Structure and Classification. *Essential Human Virology.* 2016:19–29.

- Lv W, Zhou L, Wu J, Cheng J, Duan Y, Qian W. Anti-HSV-1 agents: an update. *Front Pharmacol.* 2025. 15, 1451083.
- Mahomoodally MF, Lobine D, Rengasamy KRR, Gowrishankar S, Tewari D, Zengin G, Kim DH, Sivanesan I. Marine algae: A potential resource of anti-HSV molecules. *Processes.* 2019; 7(12); 887.
- Malagoli BG, Cardozo FTGS, Gomes JHS, Feraaz VP, Simões CMO, Braga FC. Chemical characterization and anti-herpes activity of sulfated polysaccharides from *Lithothamnion muelleri*. *Int. J. Biol. Macromol.* 2014; 66: 332–337.
- Manuhara GJ., Praseptian D, Riyanto R.A. Extraction and characterization of refined K-carragenana of red algae [*Kappaphycus alvarezii*(Doty ex P.C. Silva, 1996)] originated from Karimunjawa Islands. *Aquatic Procedis.* 2016; 7: 106-111.
- Martins-Filho PR, Carvalho TA, Dos Santos CA. Mayaro fever in Brazil from 2014 to 2024. *J Travel Med.* 2024; 31(7):taae105.
- Masarin F, Cedeno FRP, Chavez EGS, Oliveira LE, Gelli VC, Monti R. Chemical analysis and biorefinery of red algae *Kappaphycus alvarezii* for efficient production of glucose from residue of carrageenan extraction process. *Biotechnol. Biofuels.* 2016; 9:1-12,
- Matsuhiro B, Conte AF, Damonte, E.B.; Kolender, A.A.; Matulewicz, M.C.; Mejías, EG, Carlos A, Pujol CA, Zúñiga EA. Structural analysis and antiviral activity of a sulfated galactan from the red seaweed *Schizymenia binderi* (Gigartinales, Rhodophyta). *Carbohydr. Res.* 2005;340 (15):2392–2402.
- Mazumder S, Ghosal PK, Pujol CA, Carlucci MJ, Damonte EB, Ray B. Isolation, chemical investigation and antiviral activity of polysaccharides from *Gracilaria corticata* (Gracilariaceae, Rhodophyta). *Int. J. Biol. Macromol.* 2002; 31: 87-95.
- Meichik NR., Popova NI, Nikolaeva YI, Yermakov IP, Kamnev AN. Ion-Exchange properties of Cell Walls of Red Seaweed *Phyllophora crispa*. *Appl. Biochem. Microbiol.* 2011; 47:194-200.
- Millsapps EM, Underwood EC, Barr KL. Development and application of treatment for chikungunya fever. *Res Rep Trop Med.* 2022; 13, 55.

- Ministério da Saúde, Febre do Mayaro. 2025. <https://www.gov.br/saude/pt-br/assuntos/saude-de-a-a-z/f/febre-do-mayaro>. Acesso em 28 de Janeiro de 2026
- Montanha JA, Bourgougnon N, Boustie J, Amoros M. Antiviral activity of carrageenans from marine red algae. *Lat Am J Pharm*. 2009; 28(3): 443-8.
- Morfin F, Thouvenot D. Herpes simplex virus resistance to antiviral drugs. *J Clin Virol*. 2003.26(1):29-37.
- Nações Unidas. Take action for the Sustainable Development Goals. Disponível em: <https://www.un.org/sustainabledevelopment/sustainable-development-goals/>. Acesso em: 17, outubro de 2023.
- Nakhate P, Meer YVD. A systematic review on seaweed functionality: A sustainable bio- based material. *Sustainability*. 2021; 13:1-26.
- Nogueira, Caio Cesar Richter; Teixeira, Valéria Laneuville. *Seaweeds as source of new bioactive prototypes. Algae - Organisms for Imminent Biotechnology, Thajuddin, N., Dhanasekaran, D., Eds*, 2016:307-330.
- Nunes A, Gelli VC, Azevedo GZ, Dutra FS, Schneider AR, Oliveira ER, Monteiro gc, dos Santos AA, Maraschin M, Vianello F, Lima GPP. Characterization of seaweed, aqueous extract, and residue from *Kappaphycus alvarezii* cultivated in Brazil for potential industrial applications. *J. Food Compos. Anal*. 2025; 145:107780.
- Nunes A., Azevedo GA, Dutra FS, Dos Santos BR. Uses and applications of the red seaweed *Kappaphycus alvarezii*: a systematic reviews. *J. Appl. Phycol*. 2024; 36: 3409-3450.
- Oliveira GN, Sato LS, Novaes AHR, Oliveira NN, Lopes LDG, Bertolini DA. Entre o desconhecido e o emergente: mapeando os vírus Oropouche e Mayaro no Brasil. *Cad Saúde Pública*. 2026;42:E00067525.
- Ovalle LVC, Schneider AR, Nunes A, Maraschin M. Biotechnological Potential of Carrageenan Extracted from *Kappaphycus alvarezii*: A Systematic Review of Industrial Applications and Sustainable Innovations. *Biomass*. 2026; 6(1):11.
- Paula RCM de, Paulah CB de, Feitosa JPA (org). Polissacarídeos da biodiversidade brasileira.E-book. Fortaleza:Imprensa Universitária da UFC. 2018. 336 P. (Coleção Estudos da Pós-graduação) Disponível em: <HTTP://www.repositorio.ufc.br/handle/riufc/30349>. Acesso em: 07, março de 2026.

- Peñalver R, Lorenzo JM, Ros G, Amarowicz R, Pateiro M, Nieto G. Seaweed as a functional ingredient for a healthy diet. *Mar. Drugs*. 2020;18: 1-27.
- Pereira L. Macroalgae. *Encyclopia*. 2021; 1(1):177-188.
- Perumal PK., Huang CY, Singhania RR. *et al.* In vitro evaluation of antioxidant potential of polysaccharides and oligosaccharides extracted from three different seaweeds. *J Food Sci Technol*. 2024; 61, 1481–1491.
- Pinto AC, Silva DHS, Bolzani VS, Lopes NP, Epifanio RA. Produtos naturais: atualidade, desafios e perspectivas. *Quim. Nova*. 2002; 25: 45-61.
- Pires de Mello CP, Drusano GL, Rodriguez JL, Kaushik A, Brown AN. Antiviral Effects of Clinically-Relevant Interferon- α and Ribavirin Regimens against Dengue Virus in the Hollow Fiber Infection Model (HFIM). *Viruses*. 2018;10(6): 317.
- Pires De Mello CP, Sardoux NS, Terra L, Amorim LC, Vargas MD, Da Silva GB, Castro HC, Giongo VA., Madeira LF, Paixão ICNP. Aminomethylnaphthoquinones and HSV-1: In vitro and in silico evaluations of potential antivirals. *Antiviral Therapy*. 2016; 21(6):507–515
- Rabelo VWH, Da Silva VD, Sanchez Nuñez ML, Amorim L dos SC, Buarque CD, Kuhn RJ, Abreu P.A, Paixão I.C.N.D.P. Antiviral evaluation of 1,4-disubstituted-1,2,3-triazole derivatives against Chikungunya virus. *Future Virology*. 2023; 18(13):865–88
- Rajasulochana P, Krishnamoorthy P, Dhamotharan R. Amino acids, fatty acids and minerals in *Kappaphycus* sp. *ARPN Journal of Agricultural and Biological Science*. 2010;5 (5): 1-12.
- Recalde MP, Carlucci MJ, Nosedá MD, Matulewicz MC. Chemical modifications of algal mannans and xylomannans: effects on antiviral activity. *Phytochemistry*. 2012; 73: 57–64.
- Ress DA. The carrageenan system of polysaccharides. Part I. The relation between the *kappa* and the *lambda* components. *Journal of Chemical Society*. 1963:1821-1832.
- Rocha CMR, Sousa AMM, Kim JK, Magalhães JMCS, Yarish C, Gonçalves MP. Characterization of agar from *Gracilaria tikvahiae* cultivated for nutrient bioextraction in open water farms. *Food Hydrocoll*. 2019;89:260-271.
- Roldán IUM, Mitsuhashi AT, Desajacomo JPM, Oliveira LE, Gelli VC; Monti R; Sacramento LVS; Masarin F. Chemical, structural and ultrastructural

- analyses of waste from the carageenan and sugar-bioethanol processes for future bioenergy generation. *Biomass Bioenergy*. 2017;107: 233-243
- Rudke AR, Zanella E, Stambuk BU, Andrade CJ, Ferreira SRS. Deconstruction of *Kappaphycus alvarezii* biomass by pressurized solvents increase the carrageen purity. *Food Hydrocoll*. 2024; 155:110204.
- Ruiz-moreno JL, Carreño AL. Diatom biostratigraphy of Bahia Asunción, Baja California Sur, Mexico. *Rev. Mex. Cienc. Geol*. 1994;11(2): 243-252.
- Saleh D, Yarrarapu SNS, Sharma S. Herpes Simplex Tipo 1. 2023. Disponível em: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482197/>. Acesso em: 7, março de 2026.
- Sharmila VG, Kumar D, Pugazhendi A, Bajhaiya AK, Gugulothu P, Banu R. Biofuel production from Macroalgae: present scenario and future scope. *Bioengineered*. 2021;12(2): 9216-9238.
- Simões MA, Diniz S, Danielli S, De M, Dantas M, Olivera Gálvez A. *Algas Cultiváveis e Sua Aplicação Biotecnológica*; 1a Edição Instituto Federal; Instituto Federal de Sergipe: Aracaju, SE, Brazil, 2016; pp. 1–98. ISBN 978-85-68801-37-6
- Souza BWS, Cerqueira MA, Bourbon AI, Pinheiro AC, Martins JT, Teixeira JA, Coimbra MA, Vicente AA. Chemical characterization and antioxidant activity of sulfated polysaccharide from red seaweed *Gracilaria birdiae*. *Food Hydrocoll*. 2012; 27(2): 287-292.
- Souza GS, Koenin ML, Leça EE, Coêlho MPCA. Diatomáceas indicadoras de paleoambientais do quartenário de Dois Irmãos, Recife, PE, Brasil. *Acta Botanica*. Brasilica. 2007; 21(3):521-529.
- Su D, Han L, Shi C, Li Y, Qian S, Feng Z, Yu L. An updated review of HSV-1 infection-associated diseases and treatment, vaccine development, and vector therapy application. *Virulence*. 2024; 15(1).
- Thompson FL, Thompson CC (Org.). *Biotecnologia Marinha*. Rio Grande: Editora FURG, 2020. Disponível em: <https://cienciasdomarbrasil.furg.br/images/livros/LivroBiotecnologia.pdf>. Acesso em: 8, Março 2026

- Tomaz ACA, Miranda GEC, Souza MFV, Cunha EVL. Analysis and Characterization of methyl esters of fatty acids of some *Gracilaria*. *Biochemical Systematics and Ecology* 2012; 44: 303-306.
- Torres P, Nagai A, Teixeira DIA. Marinho-Soriano E, Chow F, dos Santos DYAC. Brazilian native species of *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta) as a source of valuable compounds and as nutritional supplements. *J Appl Phycol*. 2019; 31:3163–3173.
- Unesco. Economia Azul Sustentável. 2020 Disponível em: https://unesdoc.unesco.org/ark:/48223/pf0000374788_por .Acesso em: 17, outubro de 2023.
- Usov AI. NMR Spectroscopy of Red Seaweed Polysaccharides: Agars, Carrageenans, and Xylans. *Bot Mar.* 1984; 27:189-202.
- Vaghela P, Das AK, Trivedi K, Vijay Anand K.G., Shinde P, Ghosh A. et al. Characterization and metabolomics profiling of *Kappaphycus alvarezii* seaweed extract. *Algal Res*. 2022; 66:102774.
- Valenti WC Barros HP, Moraes-Valenti P, Bueno GW, Cavalli RO. Aquaculture in Brazil: past, present and future. *Aquac. Rep*. 2021; 19: 100611.
- Vázquez-Delfín E, Robledo D, Freile-Pelegrín Y. Microwave assisted extraction of the carrageenan from *Hypnea musciformis* (Cystocloniaceae, Rhodophyta). *J. Appl. Phycol*. 2014; 26: 901-907.
- Vidotti EC, Rollemberg MCE. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. *Quim. Nova*. 2004; 27(1): 139-145.
- Vieira CB, Sousa JR, Do Vale DA, Guimarães CP, De Sousa KC, Mattos ALA, Silva ALC, Filho MSMS, Souza BWS. Edible films based on sulfated polysaccharides from the *Gracilaria birdiae*: Phytochemical, optical and mechanical properties. *Carbohydr. Res*. 2025; 552 :109473.
- Wang S, Jiang AM, Wang Q, Ji, HS, Wu LF, Wang JF, Xu SN. Research of specific heat capacities of three large seaweed biomass. *J. Therm. Anal. Calorim*. (2014); 115(3): 2071-2077.
- Webber V, de Carvalho SM, Ogliari PJ, Hayashi L, Barreto PLM. Vanessa et al. Optimization of the extraction of carrageenan from *Kappaphycus alvarezii* using response surface methodology. *Food Sci. Technol*. 2012; 32(4):812-818.

- Wei LLL; Tom R, Kim YC. Mayaro Virus: An Emerging Alphavirus in the Americas. *Viruses*. 2024; 16: 1297.
- Wells ML, Potin P, Craigie JS, Raven JA, Merchant SS, Helliwell KE, Smith AG, Camire ME, Brawley SH. Algae as nutritional and functional food sources: revisiting our understanding. *J Appl Phycol*. 2017;29(2):949-982.
- World Health Organization (2024). Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus> Acesso em: 14, fevereiro de 2025
- World Health Organization. WHO. (2025). Herpes simplex virus. Disponível em: <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/herpes-simplex-virus>. Acesso em: 7, março de 2026.
- World Register of Marine Species .WoRMS. WoRMS Taxon details. 2019 Disponível em: <https://www.marinespecies.org/aphia.php?p=taxdetails&id=1380443>. Acesso em: 28, outubro de 2022.
- World Register of Marine Species .WoRMS. WoRMS Taxon details. 2015. Disponível em: World Register of Marine Species .WoRMS. WoRMS Taxon details. Acesso em: 01, Abril de 2026.



Structural Characterization of Biomass from *Crassiphycus birdiae* in natura and Residual

Ingrid Eduarda S. Lima,^a Wilma A. Gonzalez^b and Valéria L. Teixeira^{b,c}

^aInstituto de Biologia, Universidade Federal Fluminense, 24020-141 Niterói-RJ, Brazil

^bDepartamento de Química, Instituto Militar de Engenharia, 22290-270 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

^cInstituto de Biociências, Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro, 22290-255 Rio de Janeiro-RJ, Brazil

Macroalgae contains micro and macromolecules of great interest for various sectors, for example, food, cosmetics, and pharmaceuticals. These compounds can be obtained through different extraction methods, among them the use of organic solvents with varying polarities. In this study, materials were characterized using scanning electron microscopy and energy-dispersive X-ray spectroscopy, infrared spectrometry, X-ray diffraction and differential scanning calorimetry in the seaweed biomasses before and after an extraction process with organic solvents. The red macroalgae *Crassiphycus birdiae*, cultivated on the northeast coast of Brazil, appeared, after extraction, as an amorphous material with some porosity. Its composition includes the elements carbon, oxygen, sodium, magnesium, sulfur, chlorine, potassium, aluminum, silicon, calcium, and iron. The presence of the agar polysaccharide was also verified by infrared spectroscopy. The decomposition of this polysaccharide was observed using differential scanning calorimetry.

Keywords: macroalgae, red seaweed, residue, biomass, characterization analysis