

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO UNIVERSIDADE FEDERAL DO DELTA DO PARNAÍBA PRÓ-REITORIA DE ENSINO DE PÓS-GRADUAÇÃO *CAMPUS* MINISTRO REIS VELLOSO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOTECNOLOGIA

JOÃO MARCOS ANTÔNIO RODRIGUES DA COSTA

AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS ANTIOXIDANTE, CATALÍTICO E ECOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS COM EMPREGO DE POLISSACARÍDEOS EXTRAÍDOS DE MACROALGAS MARINHAS

> PARNAÍBA 2020

JOÃO MARCOS ANTÔNIO RODRIGUES DA COSTA

AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS ANTIOXIDANTE, CATALÍTICO E ECOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS COM EMPREGO DE POLISSACARÍDEOS EXTRAÍDOS DE MACROALGAS MARINHAS

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia da Universidade Federal do Delta do Parnaíba, como requisito obrigatório para obtenção do título de Mestre em Biotecnologia.

Linha de Pesquisa: Química e Bioquímica Aplicada a Biotecnologia.

Orientadora: Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva

PARNAÍBA 2020

FICHA CATALOGRÁFICA Universidade Federal do Piauí Biblioteca Setorial Prof. Cândido Athayde – Campus Parnaíba Serviço de Processamento Técnico

C837a Costa, João Marcos Antônio Rodrigues da Avaliação dos potenciais antioxidante, catalítico e ecotóxico de nanopartículas de prata estabilizadas com o emprego de polissacarídeos extraídos de macroalgas marinhas [recurso eletrônico] / João Marcos Antônio Rodrigues da Costa. – 2020. 106 f. : il. color. 1 arquivo em PDF
Dissertação (Mestrado em Biotecnologia) – Universidade Federal do Piauí, Campus Ministro Reis Velloso, 2020. Orientação: Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva.
1. Nanopartículas de Prata.. 2. Polissacarídeos. 3. Ressonância Plasmônica de Superfície. 4. Catalise. 5. Ecotoxicidade. I. Titulo.

CDD: 660.6

JOÃO MARCOS ANTÔNIO RODRIGUES DA COSTA

AVALIAÇÃO DOS POTENCIAIS ANTIOXIDANTE, CATALÍTICO E ECOTÓXICO DE NANOPARTÍCULAS DE PRATA ESTABILIZADAS COM EMPREGO DE POLISSACARÍDEOS EXTRAÍDOS DE MACROALGAS MARINHAS

Dissertação apresentada como parte dos requisitos necessários à obtenção do Título de Mestre em Biotecnologia e outorgado pela Universidade Federal do Delta do Parnaíba. Área de Concentração: Química e Bioquímica Aplicada a Biotecnologia.

Aprovada em: <u>30/ 06/ 2020</u>

Haras Antonia Juigues ale Costa

João Marcos Antônio Rodrigues da Costa

Profa. Dra. Durcilene Alves da Silva Orientador/Presidente - UFPI

Profa. Dra. Josy/Anteveli Osajima Furtini Membro examinador - UFPI

Daker Sam

Profa. Dra. Silvana Saker-Sampaio Membro examinador - UFC

Parnaíba, 30 de Junho de 2020.

À Deus por todas as vitórias conquistadas.

À minha família e amigos queridos.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, pois sem Ele eu não teria chegado até aqui, me dando sabedoria, perseverança e força para alcançar mais uma vitória (ainda tenho muito a caminhar). Agradeço à minha família, especialmente aos meus pais, Antônia Maria Rodrigues de Meneses e Francisco das Chagas Rodrigues da Costa, por terem dedicado apoio sentimental e com um grande esforço, o financeiro ao longo de toda essa jornada, além de horas investidas me ouvindo e aconselhando, sempre. Ao meu irmão Jonny Matchelo Rodrigues da Costa pelo companheirismo, brincadeiras e ''raiva'' kkkkkk que me propuseram momentos de relaxamento, alegria e estresse. Aos meus sobrinhos Yan Carlos Pereira da Costa e a Yanna Clara Pereira da Costa, que nos momentos de minha ausência dedicada a busca de conhecimento (graduação/ mestrado e quem sabe, talvez, em um doutorado), sempre fizeram entender, que o futuro é feito a partir da constante dedicação no presente!

Agradeço a minha ilustre orientadora Professora Doutora Durcilene Alves da Silva, pelo apoio, paciência, amizade, pelos momentos de descontrações, confiança, orientações na vida profissional e pessoal, e pelas grandes oportunidades oferecidas no decorrer dessa formação, sou eternamente Grato.

Agradeço a minha inspiradora Professora Doutora Engenheira Rosa Helena Rebouças, pela horas e dias de conselhos e puxões de orelha, és uma mulher forte, dedicada e um espelho no ponto de vista moral, ético e profissional que buscarei refletir.

Agradeço também a Professora Doutora Michele Vetorelli pelas oportunidades de trabalho em colaboração, e pelos minutos de orientação, e que venha mais batalhas e sucesso!!!

Aos meus queridos e eternos amigos Francisco Edmar Moreira de Lima Neto, Matheus Yuri Oliveira Araújo e Sayomara Vieira Aguiar, pelas alegrias, tristezas e dores compartilhadas. Com vocês tudo melhora. No mais, não tenho nem palavras para relatar tudo o que tenho a agradecer a vocês.

Aos meus amigos e companheiros de guerra, Wilson Rosas Vasconcelos Neto, Eryka Oliveira de Andrades, Manuel da Paixão Brito, Guilherme Lima de Araújo, Juliana Isis Araújo Pereira, Taiane Maria de Oliveira, Claudia Sousa Pires e Marcia Luana Perfeito pelo carinho, paciência, amizade, apoio e colaboração durante esses dois anos na execução desse trabalho (queria escrever no mínimo uma página de agradecimento para cada um, mas infelizmente o tempo não me favorece).

Às colaboradoras Lais Ramos Monteiro de Lima e Nadia Aline Pitombeira pelas análises elementar e de cromatografia de permeação realizadas na Universidade Federal do Ceará - UFC.

À Valeria Denise Nunes, pelo auxílio na obtenção de resultados.

Aos professores responsáveis pelo Laboratório Interdisciplinar de Materiais Avançados (LIMAV-UFPI) pela colaboração na obtenção de resultados.

Aos professores e alunos do Programa de Pós-graduação em Biotecnologia que de algum modo contribuíram para a execução desse trabalho.

Ao CNPq e CAPES pelos auxílios financeiros e bolsa concedida no último ano de mestrado.

'Hold on tight a little longer What don't kill ya, makes ya stronger Get back up, 'cause it's a hard love You can't change without a fallout It's gon' hurt, but don't you slow down Get back up, 'cause it's a hard love'' ''Segure firme um pouco mais O que não te mata. te faz mais forte Volte para cima. porque é um amor difícil Você não pode mudar sem uma queda Vai doer. mas não diminua a velocidade Volte para cima. porque é um amor difícil''

Hard Love - Needtobreathe

RESUMO

No presente trabalho foram investigados os potenciais antioxidante, catalítico e ecotóxico de nanopartículas de prata sintetizadas usando borohidreto de sódio como agente redutor na presença de frações ricas em polissacarídeos extraídos de algas marinhas pertencentes aos gêneros Gracilaria sp., Padina sp. e Ulva sp. Algas marinhas foram submetidas a extração aquosa de biomoléculas e isolamento de polissacarídeos. Em sequência, os extratos aquosos e os polissacarídeos isolados foram submetidos a análise de rendimento e caracterização físicoquímica pelas técnicas de espectroscopia UV-Vis, cromatografia líquida de alta eficiência (CLAE), cromatografia de permeação em gel (CPG), análise elementar, espectroscopia no infravermelho e análise de composição fitoquímica para avaliar o grau de pureza dos polímeros isolados. As nanopartículas de prata suportadas em matriz polimérica a base dos polissacarídeos isolados (AgNPs) foram caracterizadas por espectroscopia de absorção UV-Vis, Espalhamento de Luz dinâmico (ELD), Potencial zeta (Pz) e Microscopia de Força Atômica (MFA). Os diâmetros médios estimado das AgNPs apresentaram tamanhos na faixa de 70 a 140 nm com Índice de Polidispersão (IP) entre 0,188 a 1,000 e carga superficial entre -18,7 a -79,6 mV. Em temperatura laboratorial, o desempenho antioxidante e catalítico das AgNPs foi investigado frente aos métodos de DPPH e redução química dos corantes Verde de Bromocresol (VB), e Azul de Metileno (AM). Verificou-se que as AgNPs apresentam bom potencial antioxidante promovendo um eficiente efeito catalítico por processo de redução química dos corantes com baixo grau de toxicidade frente ao modelo in vivo em Artemia salina com 100% de taxa de sobrevivência em todas as concentrações testadas.

Palavras-chave: nanopartículas de prata, polissacarídeos, ressonância plasmônica de superfície, catálise, ecotoxicidade.

ABSTRACT

In the present work, the antioxidant, catalytic and ecotoxic potentials of silver nanoparticles synthesized using sodium borohydride as a reducing agent in the presence of fractions rich in polysaccharides extracted from seaweed belonging to the genera Gracilaria sp., Padina sp. and Ulva sp. Marine algae were subjected to aqueous extraction of biomolecules and isolation of polysaccharides. In sequence, the aqueous extracts and isolated polysaccharides were subjected to yield analysis and physico-chemical characterization by UV-Vis, CLAE, GPC spectroscopy techniques, elemental analysis, infrared spectroscopy and analysis of phytochemical composition to assess the degree of purity of the isolated polymers. The silver nanoparticles supported in a polymeric matrix based on the isolated polysaccharides, were characterized by UV-Vis absorption spectroscopy, Dynamic Light Scattering (DLS), zeta potential (Pz) and Atomic force microscopy (MFA). The estimated average diameters of the AgNPs showed sizes in the range of 70 to 140 nm with PdI between 0.188 to 1,000 and surface load between -18.7 to - 79.6 mV. At laboratory temperature, the antioxidant and catalytic performance of AgNPs was investigated against the methods of DPPH and chemical reduction of Bromocresol Green (BG) and Methylene Blue (MB) dyes. It was found that AgNPs have good antioxidant potential, promoting an efficient catalytic effect by the process of chemical reduction of dyes with a low degree of toxicity compared to the in vivo model in Artemia salina with a 100% survival rate in all tested concentrations.

Keywords: silver nanoparticles, polysaccharides, surface plasmon resonance, catalysis, ecotoxicity.

LISTA DE ABREVIAÇÕES

- AgNP A Nanopartículas de prata sintetizadas na ausência de derivados de macroalgas marinhas
- AgNP A01 Nanopartículas de prata sintetizadas na ausência de derivados de macroalgas marinhas na concentração de 0,05 molar de borohidreto de sódio
- AgNP A02 Nanopartículas de prata sintetizadas na ausência de derivados de macroalgas marinhas na concentração de 0,10 molar de borohidreto de sódio
- AgNP A03 Nanopartículas de prata sintetizadas na ausência de derivados de macroalgas marinhas na concentração de 0,20 molar de borohidreto de sódio
- AgNP G Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Gracilaria* sp.
- AgNP G01 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Gracilaria* sp. na concentração de 0,05 molar de borohidreto de sódio
- AgNP G02 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Gracilaria* sp. na concentração de 0,05 molar de borohidreto de sódio
- AgNP G03 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Gracilaria* sp. na concentração de 0,05 molar de borohidreto de sódio
- AgNP P Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Padina* sp.
- AgNP P01 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Padina* sp. na concentração de 0,05 molar de borohidreto de sódio
- AgNP P02 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Padina* sp. na concentração de 0,10 molar de borohidreto de sódio
- AgNP P03 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Padina* sp. na concentração de 0,20 molar de borohidreto de sódio
- AgNP U01 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Ulva* sp.
- AgNP U01 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Ulva* sp. na concentração de 0,05 molar de borohidreto de sódio
- AgNP U02 Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas *Ulva* sp. na concentração de 0,10 molar de borohidreto de sódio

AgNP U03	Nanopartículas de prata sintetizadas na presença de frações hidrossolúvel isolada da macroalgas marinhas <i>Ulva</i> sp. na concentração de 0,20 molar de borohidreto de sódio
AFM	Atomic force microscopy
Ag	Prata
Ag^{+1}	Prata com número de oxidação igual a mais um (prata catiônica)
Ag^0	Prata com número de oxidação igual a zero (prata neutra)
AgNO ₃	Nitrato de prata
AgNP	Nanopartícula de prata
A_0	Absorbância no temo zero
A _{amostra}	Absorbância da amostra
A _{DPPH}	Absorbância do radical livre DPPH
AlCl ₃	Cloreto de alumínio
AM	Azul de metileno
ANOVA	Analise de variância
AOP	Advanced oxidation process
As. Acid ¹	Ácido ascórbico
At	Absorbância no tempo t
ATR	Atenuated Total Reflectance
BG	Bromocresol green
Bi ₅ O ₂₂ H ₄ .N ₄	Subnitrato de bismuto
CHCl ₃	Clorofórmio
$C_{15}H_{10}O_7$	Quercetina
$C_2H_4O_2$	Ácido acético
$C_6H_{12}O_6$	D-glucose
$C_6H_8O_6$	L-ácid ascorbic
CH ₃ (CO)CH ₃	Acetona
CH ₃ CH ₂ OH	Álcool etílico
CH ₃ OH	Álcool metílico
CHNS	Carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre
CLAE	Cromatografia líquida de alta eficiência
CLAE/UV	Cromatografia liquida de alta eficiência acoplada a espectroscopia UV-Vis
CPG	Cromatografia de permeação em gel

DLS	Dynamic light scattering	
DPPH	2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl	
EAB	Extrato aquoso bruto	
EAB-G	Extrato aquoso bruto obtida da macroalga marinha Gracilaria sp	
EAB-P	Extrato aquoso bruto obtida da macroalga marinha Padina sp.	
EAB-U	Extrato aquoso bruto obtida da macroalga marinha <i>Ulva</i> sp.	
ELD	Espalhamento de luz dinâmico	
FeCl ₃	Cloreto de ferro-três	
FHS	Fração hidrossolúvel	
FHS-G	Fração hidrossolúvel isolado da macroalga marinha Gracilaria sp.	
FHS-P	Fração hidrossolúvel isolado da macroalga marinha Padina sp.	
FHS-U	Fração hidrossolúvel isolado da macroalga marinha Ulva sp.	
FTIR-ATR	Espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho com	
	transformada de Fourier por refletância total atenuada	
FWHM	Full width at half maximum – Largura à mea altura	
g	Gramatura	
GPC	Gel permeation chromatography	
HCl	Ácido clorídrico	
H_2O	Água	
H_2O_2/UV	Peroxido de hidrogênio combinado com radiação ultravioleta	
H_2SO_4	Ácido sulfúrico	
IC ₅₀	Half maximal inhibitory concentration	
IhAgNPs ¹	Nanopartículas de prata sintetizadas com extrato etanólico	
IHLE ¹	Extrato etanólico	
IP	Índice de polidispersão	
k	Constante de velocidade de reação química	
k ₁	Constante de velocidade de reações de primeira ordem química	
k ₂	Constante de velocidade de reações de segunda ordem química	
KI	Iodeto de potássio	
KMnO ₄	Permanganato de potássio	
KNaC ₄ H ₄ O ₆	Tartarato de sódio e potássio	
КОН	Hidróxido de potássio	
L	Litro	

\log_{M}	Logaritmo da massa molar
М	Molar
MB	Methylene Blue
MFA	Microscopia de força atômica
MNPs	Nanopartículas metálicas
mol	Número de Avogadro (quantidade de substância)
NaBH ₄	Borohidreto de sódio
Na ₂ CO ₃	Carbonato de sódio
NaCl	Cloreto de sódio
NaNO ₃	Nitrato de sódio
nm	Nanômetro
NPs	Nanopartículas
O ₃ /UV	Ozônio combinado com radiação ultravioleta
OS	Polissacarídeos sulfatados
POA	Processo de oxidação avançada
POE	Poluente orgânico emergente
POP	Poluente orgânico permanente
Pz	Potencial zeta
R ²	Coeficiente de determinação linear
RPS	Ressonância Plasmônica de Superfície
TiO ₂ /UV	Dióxido de titânio combinado com radiação ultravioleta
TRR	Taxa de redução química relativa
TRR _{max}	Taxa de redução relativa máxima
TS	Taxa de sobrevivência
u.a.	Unidade Arbitrária
UV-Vis	Espectroscopia de absorção molecular da luz na região do ultravioleta ao visível
VB	Verde de bromocresol
Ve	Volume de eluente
ΔT	Variação de tempo
$\Delta \theta$	Variação de temperatura
λ	Comprimento de onda

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Fluxograma de etapas da pesquisa, parte 01: Obtenção e caracterização das Figura 2. Fluxograma de etapas da pesquisa, parte 02: Desenho experimental da produção de Figura 4. Etapas do processo de fracionamento/isolamento e purificação de polímeros. 37 Figura 5. Síntese de nanopartículas de prata na presença e ausência de frações hidrossolúveis Figura 6. Representação gráfica das médias de rendimento de extração das macroalgas Figura 7. Espectros de absorção de luz na região do UV-Vis para as amostras oriundas do gênero Gracilaria. (a) Extrato aquoso bruto. (b) Sobrenadante após isolamento. (c) Fração Figura 8. Espectros de absorção de luz na região do UV-Vis para as amostras oriundas do gênero Padina. (a) Extrato aquoso bruto. (b) Sobrenadante após isolamento. (c) Fração Figura 9. Espectros de absorção de luz na região do UV-Vis para as amostras oriundas do gênero Ulva. (a) Extrato aquoso bruto. (b) Sobrenadante após isolamento. (c) Fração Figura 10. Perfis cromatográficos (CLAE/UV para os comprimentos de onda de 264 e 280 nm) dos extratos aquosos brutos (a, b) e das frações hidrossolúveis (c, d) isoladas da macroalga Figura 11. Perfis cromatográficos (CLAE/UV para os comprimentos de onda de 264 e 280 nm) dos extratos aquosos brutos (a, b) e das frações hidrossolúveis (c, d) isoladas da alga marinha Figura 12. Perfis cromatográficos (CLAE/UV para os comprimentos de onda de 264 e 280 nm) dos extratos aquosos brutos (a, b) e das frações hidrossolúveis (c, d) isoladas da alga marinha pertencente ao gênero Ulva......53 Figura 13. Cromatogramas de exclusão de tamanho, obtidos por cromatografia de permeação em gel (CPG), dos extratos aquosos brutos (EABs) e das frações hidrossolúveis (FHSs) isoladas das macroalgas marinhas vermelha Gracilaria sp. (a), parda Padina sp. (b) e verde Ulva sp. (c).

Figura 20. Espectros de absorção UV-Vis das nanopartículas de prata (AgNPs) resultantes do
monitoramento temporal da estabilidade coloidal
Figura 21. Histogramas resultantes da análise de espalhamento de luz dinâmico obtidos para
as amostras de nanopartículas de prata. (A), (B) e (C) distribuição de tamanho de partículas
para as amostras de AgNP A01, A02 e A03, respectivamente. (D), (E) e (F) distribuição de
tamanho de partículas para as amostras de AgNP G01, G02 e G03, respectivamente. (G), (H) e
(I) distribuição de tamanho de partículas para as amostras de AgNP P01, P02 e P03,
respectivamente. (J), (K) e (L) distribuição de tamanho de partículas para as amostras de AgNP
U01, U02 e U03, respectivamente
Figura 22. Micrografias de força atômica das amostras de nanopartículas de prata: (A) imagem
3D da amostras de AgNP A01. (B) imagem tridimensional da amostra de AgNP P01. (C)
imagem tridimensional da amostra de AgNP G01. (D) imagem tridimensional da amostra de
AgNP U01. Imagens com resolução de 512 pixels
Figura 23. Atividade antioxidante das nanopartículas de prata (AgNPs). (a) Perfil de inibição
radicalar das AgNPs sintetizadas na ausência de derivados de algas marinhas. (b) Perfil de
inibição radicalar das AgNPs G01, G02 e G03. (c) Perfil de inibição radicalar das AgNPs P01,
P02 e P03. (d) Perfil de inibição radicalar das AgNPs U01, U02 e U03
Figura 24. Espectros de absorção UV-Vis e taxas de redução dos corantes AM (a, b) e VB (c,
d) monitorados por 45 minutos sem nanopartículas74
Figura 25. Espectros de absorção UV-Vis resultantes do monitoramento da redução do corante
azul de metileno (AM) pelo sal redutor borohidreto de sódio (NaBH4) na presença de
nanopartículas de prata. (a) AgNP A01, (b) AgNP A02, (c) AgNP A03, (d) AgNP G01, (e)
AgNP G02, (f) AgNP G03, (g) AgNP P01, (h) AgNP P02, (i) AgNP P03, (j) AgNP U01, (k)
AgNP U02 e (l) AgNP U03
Figura 26. Espectros de absorção UV-Vis resultantes do monitoramento da redução do corante
verde de bromocresol (VB) pelo sal redutor borohidreto de sódio (NaBH4) na presença de
nanopartículas de prata. (a) AgNP A01, (b) AgNP A02, (c) AgNP A03, (d) AgNP G01, (e)
AgNP G02, (f) AgNP G03, (g) AgNP P01, (h) AgNP P02, (i) AgNP P03, (j) AgNP U01, (k)
AgNP U02 e (l) AgNP U03
Figura 27. Representações gráficas das taxas de sobrevivência da espécie Artemia salina
testadas para diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs). (a) AgNPs na
presença de agaranas. (b) AgNPs na presença de fucanas. (c) AgNPs na presença de ulvanas.
(d) AgNPs na ausência de polissacarídeos
Figura 28. Curvas de calibração dos padrões D-glucose (a) e Quercetina (b)

Figura 31. Curvas de cinética de redução química dos corantes AM (A, B, C e D) e VB (E, F, G e H) na ausência (A e E) e na presença de AgNPs ausentes de derivados de algas marinhas (B, C, D, F, G e H). Modelos de ordem zero, pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.99

LISTA DE EQUAÇÕES

Equação 1. Curva de calibração do padrão pululana.	
Equação 2. Conversão percentual	
Equação 3. Taxa de redução química relativa	
Equação 4. Taxa de sobrevivência	
Equação 5. Modelo matemático de cinética de ordem zero	77
Equação 6. Modelo matemático de cinética de pseudo-primeira ordem	
Equação 7. Modelo matemático de cinética de pseudo-segunda ordem	77

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Classificação de corantes segundo as classes químicas. 27			
Tabela 2. Classificação de corantes e pigmentos segundo a utilização por substrato. 27			
Tabela 3. Conteúdo de açúcares redutores e flavonoides investigados nas amostras de extratos			
aquosos brutos (EABs) e frações hidrossolúveis (FHSs) das macroalgas marinhas vermelha			
Gracilaria sp., parda Padina sp. e verde Ulva sp			
Tabela 4. Valores de distribuição de massa dos extratos aquosos brutos (EABs) e das frações			
hidrossolúveis (FHSs)) isoladas das macroalgas marinhas vermelha Gracilaria sp., parda			
Padina sp. e verde Ulva sp			
Tabela 5. Dados de análise elementar para as frações hidrossolúveis (FHSs) isoladas das			
macroalgas marinhas vermelha Gracilaria sp., parda Padina sp. e verde Ulva sp			
Tabela 6. Valores de diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão (IP) e carga superficial			
das nanopartículas de prata70			
Tabela 7. Resultados da atividade antioxidante das nanopartículas de prata (AgNPs). 72			
Tabela 8. Valores de taxa constante de velocidade e coeficiente de determinação linear obtidos			
experimentalmente para a reação de redução química do corante azul de metileno			
Tabela 9. Valores de taxa constante de velocidade (k) e coeficiente de determinação linear (R²)			
obtidos experimentalmente para a reação de redução química do corante verde de bromocresol			
Tabela 10. Resultados da análise da variância realizada para avaliar se há diferenças quanto ao			
teor de açúcares redutores presentes em cada amostras96			
Tabela 11. Resultado de ANOVA unifatorial para a investigação das diferenças entre os valores			
de IC ₅₀ (DPPH) das amostras de EABs e FHSs96			
Tabela 12. Resultado da análise de comparação de médias teste Post Hoc de Tukey para os			
valores de IC ₅₀ (DPPH) dos EABs e FHSs96			
Tabela 13. Resultados da análise da variância (ANOVA bifatorial) realizada para avaliar o			
efeito do tipo de estabilizante e da quantidade inicial de borohidreto de sódio sobre o valor de			
IC ₅₀ das suspensões coloidais de prata97			
Tabela 14. Resultado da análise de comparação de médias teste Post Hoc de Tukey para avaliar			
o efeito do fator A sobre os valores de IC ₅₀ 97			
Tabela 15. Resultado da análise de comparação de média Post Hoc de Tukey para avaliar o			
efeito do fator B			
efeito do fator B			

Tabela 16. Resultado da análise de variância (ANOVA unifatorial) para a investigação das
diferenças entre os grupos de AgNPs sintetizas com polissacarídeos extraídos das espécies
Gracilaia e Ulva
Tabela 17. Resultado da análise de comparação de médias teste Post Hoc de Tukey para avaliar
o efeito entre os grupos de AgNPs sintetizas com polissacarídeos extraídos das espécies
Gracilaia e Ulva.sobre os valores de IC _{50.} 98

LISTA DE QUADROS

Quadro 1. Tecnologias usadas para remoção de corantes em efluentes
Quadro 2. Dados utilizados na interpretação das reações de mudanças de coloração das
soluções em diferentes pH, resultantes da presença das principais classes de flavonoides40
Quadro 3. Dados utilizados na interpretação das reações de acidulação e alcalinização das
amostra para determinação de leucoantocianidinas e flavononas
Quadro 4. Composição fitoquímica qualitativa das amostras de extratos aquosos brutos (EABs)
e frações hidrossolúveis (FHSs) das macroalgas marinhas vermelha Gracilaria sp., parda Padina
sp. e verde Ulva sp. (■) presença da classe de compostos (□) ausência da classe de compostos.

SÚMÁRIO

1]	INTR	ODUÇÃO	23
2]	REFE	RENCIAL TEÓRICO	25
	2.1	Pol	uentes orgânicos	25
	2.2	Cor	antes	26
	2.3	Nar	notecnologia como alternativa para tratamento de efluentes	29
	2.3	3.1	Nanopartículas metálicas - MNPs	30
	2.3	3.2	Nanopartículas de prata - AgNPs	30
	2.3	3.3	Polímeros naturais	31
	2.3	3.4	Macroalgas	31
3	(OBJE	TIVO	33
	3.1	Obj	etivo geral	33
	3.2	Obj	etivos específicos	33
4]	PROC	CEDIMENTO EXPERIMENTAL	34
	4.1	Mat	erial	34
	4.2	Pla	nejamento experimental da pesquisa	34
	4.3 Coleta, triagem e limpeza das algas marinhas		36	
	4.4	Ext	ração e fracionamento de biomoléculas de algas marinhas	36
	4.5	Car	acterização dos extratos aquosos brutos e das frações hidrossolúveis	37
	4.5	5.1	Investigação fitoquímica qualitativa	37
	4.5	5.2	Análise fitoquímica quantitativa	42
	4.5	5.3	Espectroscopia de infravermelho	42
	4.5	5.4	Análise de absorção molecular da luz na região do ultravioleta ao visível	43
	4.5	5.5	Cromatografia líquida de alta eficiência	43
	4.5	5.6	Distribuição de massa molar	43
	4.5	5.7	Análise elementar	44
	4.6	Sín	tese e caracterização de nanopartículas de prata	44
	4.6	5.1	Produção das nanopartículas de prata	44
	4.6	5.2	Caracterização das nanopartículas de prata	44
	4.7	Det	erminação do potencial antioxidante	46
	4.8	Ens	aios de redução química de corantes orgânicos	46
	4.9	Ens	aios de ecotoxicidade em organismo modelo Artemia salina	47
5]	RESU	JLTADOS E DISCUSSÕES	48
	5.1	Ava	liação do rendimento de extração	48

5.2	Car	acterização e controle de qualidade dos polissacarídeos	
5	.2.1	Avaliação da composição fitoquímica qualitativa	
5	.2.2	Avaliação da composição fitoquímica quantitativa	
5 u	.2.3 ltraviol	Espectroscopia de absorção molecular da radiação eletromagnética na eta ao visível	a região do 51
5 is	.2.4 soladas	Perfil cromatográfico dos extratos aquosos brutos e frações hida de algas marinhas	rossolúveis 52
5	.2.5	Estimativa de massa molar	
5	.2.6	Análise elementar	
5 ir	.2.7 nfraver	Espectroscopia de absorção vibracional da radiação eletromagnética n melho	a região do 55
5 is	.2.8 solados	Atividade antioxidante dos extratos aquosos brutos e frações hide das macroalgas marinhas	rossolúveis 58
5.3	Sínt	tese e caracterização das nanopartículas de prata	61
5	.3.1	Monitoramento da cinética de produção das nanopartículas de prata	61
5	.3.2	Avaliação da estabilidade coloidal temporal	67
5	.3.3	Caracterização das nanopartículas de prata	
5.4	Ava	liação do potencial antioxidante das nanopartículas de prata	
5.5	Ava	liação do potencial catalítico das nanopartículas de prata	
5.6	Anź	ílise de ecotoxicidade para nanopartículas de prata	
CONC	CLUSÃ	0	
REFE	RÊNC	IAS BIBLIOGRAFICAS	
APEN	IDICE		
Prej	paro de	soluções e reagentes utilizados na prospecção fitoquímica qualitativa .	
Res	ultados	s complementares da pesquisa	
ΑΝΕΣ	XOS		

1 INTRODUÇÃO

A poluição ambiental é resultado de diversas atividades antropogênicas, tornando-se uma das principais consequências do desenvolvimento industrial. O aumento da contaminação dos recursos hídricos por efluentes oriundos da liberação de grandes quantidades de poluentes orgânicos preocupa tanto a comunidade científica como a população em geral (SOLTANI et al., 2012a; SINGH e BORTHAKUR, 2018). Os corantes orgânicos chamam atenção por serem um dos principais contaminantes de águas residuais, sendo largamente utilizados em diversos setores industriais (têxtil, curtume, cosmética, alimentício, produtos domésticos, clínicas humana e veterinária) por alterarem a dinâmica dos diferentes ecossistemas aquáticos, além de apresentarem resistência a biodegradação, serem tóxicos para humanos e animais mesmo em baixas concentrações (SOLTANI et al., 2012b; BHAT, APPATURI e ANWAR, 2019; TKACZYK, MITROWSKA e POSYNIAK, 2020).

O tratamento de águas residuais é parte essencial da geração de recurso hídrico reutilizável e extremamente importante à proteção à saúde pública e ao meio ambiente. Os processos de remediação de efluentes utilizados pela maioria das indústrias estão baseados em um pré-tratamento por sistemas físico-químicos (adsorção, coagulação e/ou precipitação) e tratamento biológico (principalmente pelo sistema de lodos ativados) (AZIZUL RAHMAN, MOHD SUHAIMI e OTHMAN, 2014; CHAO, CHANG e NIEVA, 2014; SINGH e BORTHAKUR, 2018). Para os efluentes de corantes, os tratamentos tradicionais acima citados apresentam algumas limitações como complexidade, alto custo e muitas vezes ineficazes em decorrência da grande variedade e estrutura molecular dos corantes (CRINI e BADOT, 2008; SRINIVASAN e VIRARAGHAVAN, 2010; AMETA et al., 2012). No entanto, os processos avançados de oxidação (Advanced Oxidation Process - AOP), uma tecnologia emergente conhecida, constituem uma classe especial de técnicas de oxidação que envolve o uso de agentes oxidantes potentes e sua aplicação na remoção de alguns poluentes, incluindo corantes, e que tem sido relatada com sucesso (NAHAR et al., 2019).

Os metais como platina, paládio, ródio, cobalto, ferro, cobre são catalisadores comumente usados para degradação de poluentes (BHAT, APPATURI e ANWAR, 2019). Na vertente em que a catálise é uma das abordagens ideais para a remoção de poluentes, os sistemas metálicos nanoestruturados apresentam vantagens pela grande capacidade em adsorver, interagir e reagir com átomos, moléculas ou sistemas complexos, permitindo que a eliminação dos contaminantes possa ocorrer por mecanismos diversos como por processos redutivos,

processos oxidativos, adsorção e precipitação/co-precipitação (CHEN et al., 2012; CRANE e SCOTT, 2012).

As nanopartículas metálicas podem ser obtidas por diversas metodologias e dependendo dos materiais a serem sintetizadas podem possuir tamanho, propriedades químicas, eletrônicas, magnéticas, mecânicas, ópticas e catalíticas distintas (JORTNER e RAO, 2002; CRANE e SCOTT, 2012; LI et al., 2014). Essas características desempenham papeis fundamentais quanto ao grau de toxicidade dos nanomateriais, sendo todos influenciados diretamente pelos fatores físico-químicos do meio onde estão submetidos (MILLER et al., 2012; BENNETT et al., 2013; VELEZ, 2017). O uso de polissacarídeos como estabilizantes na síntese de nanopartículas metálicas favorece a produção menos tóxica, pois são moléculas de baixa toxicidade e ótima biocompatibilidade (LEMARCHAND, GREF e COUVREUR, 2004; LI et al., 2008). Desse modo, os polímeros naturais são os materiais mais versáteis que existem, tendo inúmeras aplicações, sendo uma dessas aplicações a síntese de nanopartículas metálicas com caráter catalisador de corantes orgânicos. Com o avanço da Ciência Biotecnológica, tem-se tornado possível potencializar processos de tratamento e remediação de poluição, prevenção de poluição e de danos indiretos ao meio ambiente, como também detecção e monitoramento de poluição, utilizando-se do conhecimento nanotecnológico (QUINA, 2004). Assim, o objetivo da presente pesquisa foi desenvolver sistemas metálicos nanoestruturados na presença de polissacarídeos sulfatados extraídos de algas marinhas para utilização como agentes antioxidantes e catalisadores no processo de remoção de poluentes aquáticos.

2 REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Poluentes orgânicos

O nível de compostos xenobióticos nocivos a variados ecossistemas, seja eles aquáticos ou terrestres, se deve a atividade antropogênica sobre o meio ambiente. Produtos químicos são amplamente utilizados na sociedade moderna, sendo produzidos mundialmente em larga escala para as mais variadas aplicações industriais, no entanto, intrinsicamente a sua utilização estão os resíduos gerados, sejam aqueles derivados diretamente das atividades industriais ou produzidos após seu consumo pela sociedade. Ao longo dos últimos anos, agências ambientais regulatórias dos países desenvolvidos vêm tentando estabelecer procedimentos de caracterização e controle de substâncias prejudiciais ao meio ambiente e mais especificamente à saúde humana são os chamados poluentes orgânicos (SILVA e COLLINS, 2011; RATANKAR et al., 2016).

Dentre esses poluentes orgânicos destacam-se os poluentes orgânicos emergentes (POEs) ou contaminantes emergentes. O termo "poluente emergente" pode ser utilizado para definir um grupo especial de substâncias com características peculiares devido ao seu crescente nível de utilização pela sociedade e pelo seu real potencial de contaminação, pois diferentemente dos poluentes orgânicos permanentes (POPs) não precisam persistir no meio ambiente para causar efeitos negativos (NASCIMENTO et al., 2015).

Por definição, POE refere-se a qualquer composto químico presente numa variedade de produtos comerciais como medicamentos, produtos de uso veterinário, embalagens de alimentos, produtos de higiene, agrotóxicos, ou ainda qualquer micro-organismo, que podem ser encontrados em matrizes ambientais e biológicas, que não são usualmente monitorados ou que ainda não possuem legislação regulatória correspondente, mas que apresentam risco potencial à saúde humana e ao meio ambiente (SANTANA, 2013).

A investigação sobre contaminantes emergentes é recente, dessa forma, as legislações ambientais vigentes ainda não os contemplam, ademais, há uma carência de estudos toxicológicos e ecotoxicológicos que possam subsidiar sua regulação. Dessa forma, os candidatos a uma futura regulamentação dependerão dos resultados obtidos em estudos de ecotoxicidade, efeitos à saúde humana, potencial de bioacumulação, transporte e destino nos diferentes compartimentos ambientais, além da quantidade em que são lançados e, portanto, da concentração no ambiente (SANTANA, 2013; MONTAGNER, VIDAL e ACAYABA, 2017).

Houtman (2010) estabeleceu três categorias de POE: uma primeira faz referência a compostos introduzidos recentemente no ambiente, como novos produtos industriais; uma segunda categoria se refere a compostos que, mesmo presentes no ambiente durante longos períodos, só agora podem ser detectados graças ao desenvolvimento de técnicas analíticas e/ou biológicas avançadas; e, finalmente, a terceira categoria, compostos conhecidos por muito tempo, mas cujo potencial tóxico para ecossistemas e humanos possui determinação recente.

Uma das grandes preocupações, em nível mundial, relacionadas aos POEs são as graves consequências nocivas ao meio ambiente, uma vez que estes materiais podem persistir por vários anos causando danos irreparáveis aos ecossistemas. Um dos grandes problemas observados com relação aos POEs é a contaminação das águas por efluentes urbanos e industriais. Dentre os contaminantes emergentes, como fármacos, produtos de higiene pessoal e pesticidas, os corantes orgânicos e sintéticos são detectados em diversos tipos de águas, como residuais, superficiais e até mesmo na água potável e a presença desses contaminantes na água representa um grave risco para os sistemas aquáticos e consequentemente para a saúde humana (ANDRADE, 2015).

2.2 Corantes

Corantes são geralmente compostos aromáticos e heterocicliclos que absorvem ou emitem radiação no espectro de luz visível de maneira seletiva (EJHIEH e MOAZZENI, 2013, FERREIRA, 2018). Os corantes utilizados até o século XIX eram todos de origem natural, obtidos de moluscos, insetos, vegetais e outros tipos de matéria orgânica, mas em 1856 o primeiro corante sintético (malveína) foi descoberto pelo químico inglês William H. Perkin, revolucionando a formulação e fabricação de corantes, permitindo sintetizar uma grande quantidade de corantes, com diferentes tonalidades e fórmulas em escala industrial (ZOLLINGER, 1987). É possível perceber a aplicação dos corantes em inúmeras indústrias tais como: têxtil, impressão em papel, alimentos, farmacêutica, couro, cosméticos, pesquisa agrícola, células fotoeletroquímicas, portanto, essas indústrias são responsáveis pela produção de grandes volumes de efluentes poluídos com alta concentração de corantes e outros componentes (MARTÍNEZ-HUITLE e BRILLAS, 2009).

De acordo com Associação Brasileira da Indústria Química (2011), os corantes podem ser classificados segundo diversos aspectos, como classes químicas ou de acordo com uso a que se destinam. A categorização vinculada a composição química e segundo o campo de aplicação encontram-se nas tabelas 1 e 2, respectivamente.

CATEGORIZAÇÃO DOS CORANTES – SEGUNDO AS CLASSES QUÍMICAS		
Compostos	Categoria	
Acridina	Básicos, pigmentos orgânicos	
Aminocetona	À tina, mordentes	
Antraquinona	Ácidos, mordentes, à tina, dispersos, azoicos, básicos, reativos, pigmentos orgânicos	
Ao enxofre	Enxofre, à cuba	
Azina	Ácidos, básicos, solventes, pigmentos orgânicos	
Azo	Ácidos, diretos, dispersos, básicos, mordentes, reativos	
Azoico	Básicos, naftois	
Bases de oxidação	Corantes especiais para tingimento de pelo, pelegos, cabelos	
Difenilmetano	Ácidos, básicos, mordentes	
Estilbeno	Diretos, reativos, branqueadores ópticos	
Ftalocianina	Pigmentos orgânicos, ácidos, diretos, azoicos, à cuba, reativos, solventes	
Indamina	Básicos, solventes	
Indofenol	Básicos, solventes	
Indigoide	À tina, pigmentos orgânicos	
Metina	Básicos, dispersos	
Polimetina	Básicos, dispersos	
Nitro	Ácidos, dispersos, mordentes	
Nitroso	Ácidos, dispersos, mordentes	
Oxazina	Básicos, mordentes, pigmentos orgânicos	
Quinolina	Ácidos, básicos	
Tiazina	Básicos, mordentes	
Tiazol	Branqueadores ópticos, básicos, diretos	
Triarilmetano	Ácidos, básicos, mordentes	

Tabela 1. Classificação de corantes segundo as classes químicas.

Fonte: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA (2011).

Tabela 2. Classificação de corantes e pigmentos segundo a utilização por substrato.

CATEGORIZAÇÃO DOS CORANTES - SEGUNDO Á UTILIZAÇÃO POR SUBSTRATO		
Classe	Substrato	
À Cuba Sulfurados	Fibras naturais e fibras artificiais	
À Tina	Fibras naturais	
Ácidos	Alimentos, couro, fibras naturais, fibras sintéticas, lã e papel	
Ao Enxofre	Fibras naturais	
Azoicos	Fibras naturais, fibras sintéticas	
Básicos	Couro, fibras sintéticas, lã, madeira e papel	
Diretos	Couro, fibras naturais, fibras artificiais e papel	
Dispersos	Fibras artificiais e fibras sintéticas	
Mordentes	Alumínio anodizado, lã, fibras naturais e fibras sintéticas	
Reativos	Couro, fibras naturais, fibras artificiais e papel	
Solventes	Ceras, cosméticos, gasolina, madeira, plásticos, solventes orgânicos, tintas de	
	escrever e vernizes	
Pigmentos Orgânicos	Tintas gráficas, tintas e vernizes, estamparia têxtil, plásticos	
Pigmentos Inorgânicos	Tintas gráficas, tintas e vernizes, estamparia têxtil, plásticos	
Classe	Principais campos de aplicação	
Branqueadores ópticos	Detergentes, fibras naturais, fibras artificiais, fibras sintéticas, óleos, plásticos,	
	sauces, unitas e paper	

Fonte: ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA, (2011).

Os corantes sintéticos se enquadram na categoria de poluentes emergentes, que são definidos como qualquer substância química que não foi incluída em programas de monitoramento, nem em legislação pertinente a qualidade ambiental, mas que estão constantemente sendo introduzidas no ambiente devido às atividades antrópicas (KUNZ et al., 2002).

A poluição da água por corantes sintéticos é uma grande preocupação, devido à grande produção mundial de corantes. Considera-se que existem mais de 100.000 corantes comercialmente disponíveis com uma produção anual estimada em mais de 7×10^5 toneladas de corantes (ROBINSON et al., 2001). Devido à produção em grande escala e aplicação extensiva, os corantes sintéticos podem causar considerável poluição ambiental como o aumento da demanda bioquímica de oxigênio da água, toxicidade, redução da penetração da luz dificultando a fotossíntese, além de sérios riscos à saúde humana por serem mutagênicos e cancerígenos, podendo causar dermatites, irritação na pele, disfunção renal, reprodutiva e do sistema nervoso central dentre outros problemas (LIU et al., 2012; SAHA e MISHRA, 2012; KHAN et al., 2011).

Devido à grande toxicidade ambiental, se faz necessário a remoção desses corantes de efluentes. No entanto, há uma grande dificuldade na degradação desses compostos que apresentam origens sintéticas e estruturas aromáticas que são biologicamente não degradáveis (MOHAMMED, SHITU e IBRAHIM, 2014).

Os mecanismos para remoção de cor envolvem a separação física de corantes, quebra dos corantes ou descoloração por adsorção e ou biodegradação (ROBINSON et al., 2001; KHANDEGAR e SAROHA, 2013; FORGACS, CSERHATI e OROS, 2004). As principais tecnologias são classificadas como processos físico-químicos, químicos, oxidação avançada (AOs), biológicos e eletroquímicos como mostra o Quadro 1.

Método físico-químico	Adsorção
-	Suporte inorgânico
	Material de carbono
	Suporte orgânico
	Coagulação
	Filtração
	Nanofiltração
	Troca iônica
Métodos químicos	Ozonação
	Hipoclorito iônico
Processo de oxidação avançada	Reação feton (Fe^{2+}/H_2O_2)
	Fotocatálise
	TiO ₂ / UV
	H_2O_2/UV
	O ₃ /UV
Tratamento microbiano	Processo de iodo ativado
	Cultura mista
	Decomposição aeróbica
	Decomposição anaeróbica
	Culturas puras

	Fungo de podridão branca
	Bactérias
Decomposição enzimática	Utilização de enzimas
Método eletroquímico	Eletrocoagulação
_	Redução eletroquímica
	Oxidação eletroquímica
	Óxidos metálicos, ânodos de platina e grafite
	Ânodos de diamante dopado com boro
	Eletro-oxidação indireta com oxidantes fortes
	Eletro-oxidação com cloro ativado
	Eletro-fenton
	Métodos eletroquímicos fotoassistidos
	Fotoeletro-Fenton
	Fotoeletrocatálise
	Método combinado

Quadro 1. Tecnologias usadas para remoção de corantes em efluentes.

2.3 Nanotecnologia como alternativa para tratamento de efluentes

Segundo Melo e Pimenta (2004), os termos Nanociência e Nanotecnologia se referem, respectivamente, ao estudo e às aplicações tecnológicas de objetos e dispositivos que tenham ao menos uma de suas dimensões físicas menores que, ou da ordem de algumas dezenas de nanômetros. Assim, partindo para um contexto histórico, o conceito de Nanotecnologia foi primeiramente introduzido pelo engenheiro japonês Norio Taniguchi, que designou o conceito como uma nova tecnologia que vai além do controle de materiais e da engenharia em microescala. Tal definição é mais bem explicada quando se complementa com a definição formulada por Eric Drexler, que abordou o conceito de Nanotecnologia como, correspondente à metodologias de processamento envolvendo a manipulação átomo a átomo (USKOKOVIC, 2007; FERREIRA e RANGEL, 2009). Para Toledo e Soares (2016), a Nanotecnologia possui aspectos que podem contribuir com significativos avanços em diversos setores, como a indústria química, têxtil e automobilística. A matéria em escala nanométrica tem suas propriedades físicas e químicas modificadas (BATISTA et al., 2010; FERREIRA et al., 2016; SANTOS et al., 2016).

O interesse pelo uso de nanopartículas como solventes para remoção de poluentes orgânicos ou inorgânicos vem crescendo devido ás significativas vantagens que apresentam, tais como: facilidade de síntese e baixo custo, pequena quantidade de nanopartículas necessárias para a remoção dos poluentes de soluções aquosas e grande capacidade de adsorção por causa da alta área superficial específica, além de um grande número de átomos insaturados em suas superfícies (MA, ZHENG e CHEN, 2011).

2.3.1 Nanopartículas metálicas - MNPs

As nanopartículas inorgânicas são nanoestruturas constituídas de metais de transição, que possuem tamanho e forma controlados (MOURÃO et al., 2009), podendo serem utilizadas em estudos nas áreas de catálise, antioxidante, antimicrobiano entre outros (MILLER et al., 2012; BENNETT et al., 2013). As nanopartículas podem ser divididas em dois tipos: os agregados de metais de transição, que são estruturas com tamanho variando de 1 a 10 nm e tendo distribuição monomodal menor que 15%, já a outra classe consiste em coloides que são estruturas que possuem tamanho maior que 10 nm e distribuição variada (EUROPEAN COMISSION, 2011).

2.3.2 Nanopartículas de prata - AgNPs

As nanopartículas de prata são formadas pela redução dos íons de prata-mais (Ag^{+1}) para prata-zero (Ag^{0}) , a partir da presença de complexos redutores, podendo ser de caráter orgânico ou inorgânico (WEI et al., 2015). Segundo Husseim et al. (2008), as nanopartículas de prata apresentam boa condutividade elétrica, estabilidade química, e podem atuar como agentes catalisadores, além de expressar propriedades ópticas e elétricas, como o efeito de ressonância plasmônica (RAI et al., 2009; LUE, 2001). Dependendo do tamanho da nanoestrutura suas características podem mudar a exemplo de sua cor, seu potencial redutor, a temperatura de fusão e o comportamento magnético (GURUNATHAN et al., 2009). As nanopartículas de prata possuem uma área superficial específica alta em escala nanométrica, portanto, considera-se que elas podem ser usadas como um adsorvente único para remoção de poluentes (PATAKFALVI, OSZKO e DEKANY, 2003; TUAN et al., 2011; FLORES et al., 2010).

No presente trabalho, o método químico para a síntese de nanopartículas de prata foi auxiliado com o uso de polissacarídeos de algas marinhas, os quais foram empregados como agente estabilizante para síntese de nanopartículas de prata ambientalmente corretas. Compostos como os polissacarídeos atendem a estas expectativas, pois são moléculas de baixa toxicidade e ótima biocompatibilidade (LEMARCHARD et al., 2014; LI et al., 2008). Ademais, a síntese de nanopartículas com polissacarídeos tende a agregar-se menos do que nanopartículas produzidas com outros materiais (ELSABAHY e WOOLEY, 2012).

2.3.3 Polímeros naturais

Entre os polímeros naturais, os polissacarídeos vêm recebendo grande destaque como matrizes na preparação de nanocarreadores em decorrência de inúmeras vantagens: são seguros, baixa toxicidade, grande disponibilidade, além de baixo custo de processamento, características intrínsecas para aplicações biomédicas (LEMARCHARD et al., 2014; LI et al., 2008).

Polissacarídeos são polímeros naturais formados por subunidades de monossacarídeos. Quando presente um único tipo de monossacarídeo, os polissacarídeos são chamados de homopolissacarídeos, quando há a presença de dois ou mais monossacarídeos são chamados de heteropolissacarídeos (CUNHA, PAULA e FEITOSA, 2009).

Os polissacarídeos podem apresentar-se na forma linear ou ramificada, sendo as estruturas altamente ramificadas características de polissacarídeos de exsudatos. Dessa forma, os polissacarídeos apresentam uma ampla gama de peso molecular e composição química variável, que contribuem para a sua diversidade estrutural e propriedades (MOURA, 2009; NAMAZI, FATHI e HEYDARI, 2012). Os polissacarídeos são extraídos de vegetais (plantas superiores e algas) animais, fungos e também obtidos via fermentação microbiana (VASCONCELOS, 2015).

2.3.4 Macroalgas

As algas possuem uma distribuição muito ampla podendo ser encontradas em ambientes marinhos, lacustres, em regiões congeladas ou até mesmo no deserto (TAIZ e ZEIGER, 2010). Elas são organismos fotossintetizantes que possuem variedade de formas e se reproduzem pelo método assexuado e sexuado (DE OLIVEIRA, 1996).

As macroalgas podem ser classificadas em quatro filos de acordo com o pigmento fotossintético presente (ALI et a., 2001; BOCANEGRA et al., 2009): Cyanophyta (algas azuis) possuem clorofila a e as ficobiliproteínas (ficocianinas e ficoeritrinas), como pigmentos acessórios; Chlorophyta (algas verdes) possuem clorofilas a e b como principais pigmentos e carotenos e xantofilas; Rhodophyta (algas vermelhas) possuem os carotenos e ficobilinas como pigmentos; Ochrophyta (algas pardas ou marrons) possuem como pigmento acessório a clorofila C (RAVEN et al., 2001; DOS SANTOS, 2016).

Os polissacarídeos sulfatados (PS) são polímeros de açúcares repetitivos dotados de carga negativa devido à presença de radicais sulfato (DOS SANTOS, 2016). Os polissacarídeos sulfatados isolados de algas marinhas exibem uma variedade de atividades biológicas, portanto, atraem atenção como aditivos funcionais no campo farmacêutico, como também nas indústrias

alimentícias e cosméticas. Os principais polissacarídeos sulfatados encontrados em algas marinhas incluem agaranas e carragenanas de algas vermelhas (Rhodophyta), ulvana isolada de algas verdes (Chlorophyta) e fucanas de algas pardas (Ochrophyta) (PIRES, 2013). Em termos de aplicabilidade industrial, dos três polissacarídeos, a carragenana é a mais utilizada com ampla aplicação como emulsificante, estabilizante ou espessante. No entanto, as fucanas têm sido investigadas para desenvolver novos medicamentos e alimentos funcionais para aplicabilidade essencialmente na área farmacêutica, nutracêutica e cosmética e com a vantagem de disponibilidade comercial a partir de várias fontes baratas (CUNHA e GRENHA, 2016).

3 OBJETIVO

3.1 Objetivo geral

Desenvolver nanoestruturas metálicas de prata suportadas em matriz polimérica a base de polissacarídeos extraídos de algas marinhas de modo a investigar os potenciais antioxidante, catalítico e ecotóxico.

3.2 Objetivos específicos

- Proceder a extração e caracterização de biomoléculas de algas marinhas;
- Avaliar a capacidade antioxidante das biomoléculas;
- Sintetizar e caracterizar nanopartículas de prata na presença de polímeros isolados de extratos brutos de algas marinhas;
- Monitorar a estabilidade coloidal temporal das nanopartículas de prata na presença e na ausência de polímeros naturais;
- Investigar o potencial antioxidante das nanopartículas de prata;
- Verificar o potencial catalítico das nanopartículas de prata no processo de redução química dos corantes orgânicos azul de metileno e verde de bromocresol;
- Avaliar o grau de toxicidade aguda das nanopartículas de prata em ambiente aquático para a espécie Artemia salina.

4 PROCEDIMENTO EXPERIMENTAL

4.1 Material

Os seguintes reagentes químicos foram adquiridos de várias empresas e utilizados sem purificação adicional. Borohidreto de sódio (NaBH₄, pureza 98%), nitrato de prata (AgNO₃, pureza 99,8%), D-glucose ($C_6H_{12}O_6$, pureza 98%), quercetina ($C_{15}H_{10}O_7$, pureza 95%), ácido ascórbico (C₆H₈O₆, pureza 99%) e 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (C₁₈H₁₂N₅O₆, Pureza 99,8%) foram adquiridos da empresa Sigma-Aldrich. Acetona P.A. (CH₃(CO)CH₃, pureza 99,8%), álcool etílico ABS. P.A. - ACS (CH₃CH₂OH, pureza 99,5%) e álcool metílico (CH₃OH, pureza 99,8%) foram adquiridos da empresa Neon Comercial Reagentes Analíticos Ltda. Azul de metileno P.A. (C₁₆H₁₈ClN₃S), verde de bromocresol (C₂₁H₁₄Br₄O₅S) e azul de bromofenol (C₁₉H₁₀Br₄O₅S) foram adquiridos da empresa Vetec Química Fina Sigma-Aldrich. Ácido sulfúrico P. A. (H₂SO₄, pureza 95-98%), hidróxido de potássio (KOH, pureza 98%), hidróxido de sódio (NaOH, pureza 98%), carbonato de sódio (Na₂CO₃, Pureza 98%), sulfato de cobre (CuSO₄, pureza 99%), tartarato de sódio e potássio (KNaC₄H₄O₆.4H₂O, pureza de 98%) cloreto de alumínio anidro (AlCl₃, pureza 99,7%) e ácido acético glacial P.A. (C₂H₄O₂, pureza 99,8%) foram adquiridos da empresa Dinâmica[®] Química Contemporânea Ltda. Iodeto de potássio (KI, pureza de 98%), subnitrato de bismuto (Bi₅O₂₂H₄.N₄, pureza 98%), iodo ressublimado (I₂, pureza 97%) e cloreto de ferro três (FeCl₃, pureza 98%) foram adquiridos da empresa Synth[®].

4.2 Planejamento experimental da pesquisa

A pesquisa foi projetada e executada em etapas de acordo com os desenhos esquemáticos ilustrados nas figuras 1 e 2. A primeira fase da pesquisa englobou o conjunto de etapas que visaram a obtenção e caracterização das biomoléculas oriundas das macroalgas. A figura 1 é constituída de cinco etapas, delineadas pelas fases de coleta dos exemplares de algas marinhas (1), triagem/separação por filos (2), produção de extratos aquosos (3), isolamento/fracionamento de macromoléculas (4) e caracterização físico-química dos extratos e frações obtidas (5). A segunda fase, evidenciada na figura 2, apresenta o conjunto de três etapas que visaram a produção (6), caracterização (7) e avaliação das potencialidades das nanoestruturas de prata (8), com o propósito de investigar a eficiência das nanopartículas de prata no processo de remoção de efluentes aquáticos.

Assim, com o propósito de avaliar os efeitos de parâmetros de processos de síntese na estabilidade e consequentes potencialidades de sistemas metálicos nanoestruturados, um

planejamento matricial de dois fatores (fator 1: concentração do sal redutor, fator 2: tipo de estabilizante) foi desenvolvido para a produção de nanopartículas de prata coloidal.



Figura 1. Fluxograma de etapas da pesquisa, parte 01: Obtenção e caracterização das biomoléculas oriundas das macroalgas.



Figura 2. Fluxograma de etapas da pesquisa, parte 02: Desenho experimental da produção de nanopartículas de prata, caracterização estrutural e mensuração das potencialidades.

4.3 Coleta, triagem e limpeza das algas marinhas

Os exemplares de algas marinhas foram coletados no período de setembro a outubro de 2018 no litoral norte do estado do Piauí (Praia do Coqueiro, Luiz Correia, Piauí, sob as coordenadas geográficas de latitude 2° 53' 03,4" S e longitude 041° 38' 06,3" W). As algas coletadas foram triadas/selecionadas por gênero, separadas de epífitas, lavadas com água destilada e acondicionados em congelador a temperatura de -20 °C.

4.4 Extração e fracionamento de biomoléculas de algas marinhas

A extração aquosa de biomoléculas foi realizada seguindo a metodologia descrita por Rodrigues et al. (2010), com algumas modificações conforme ilustra a figura 3. Inicialmente as algas marinhas pertencentes aos gêneros *Gracilaria* sp., *Padina* sp. e *Ulva* sp. foram, individualmente secas em estufa a 50 °C, por um período de 24 horas. Em seguida, o tecido de alga marinha foi pesado e hidratado em água destilada (5,0 % - m/v), e a mistura foi submetida a agitação constante de 600 rpm sob aquecimento de 80 °C por 4 horas. Após esse período, o material foi filtrado, e o extrato aquoso obtido foi caracterizado.



Figura 3. Produção do extrato aquoso de algas marinhas.

Posteriormente ao processo de obtenção dos extratos aquosos, procedeu-se a etapa de fracionamento por diferença de solubilidade com o propósito de isolar macromoléculas hidrossolúveis (polímeros/polissacarídeos) conforme ilustrado na figura 4.


Figura 4. Etapas do processo de fracionamento/isolamento e purificação de polímeros.

Os polímeros totais presentes nos extratos aquosos foram precipitados com etanol comercial na proporção volumétrica 1:2 (v/v), em seguida a mistura foi submetida a centrifugação ($2.500 \times g$; 25 °C; 10 min), o precipitado foi lavado com etanol P.A. (99,5% - m/v), filtrado e lavado com propanona P.A. (98% - m/v) e o material sólido obtido foi levado a estufa para secagem sob temperatura de 75 °C por 3 horas, após a secagem os polissacarídeos obtidos foram pesados, caracterizados e armazenados. O rendimento de extração dos polímeros isolados foi calculado e analisado por meio do teste de ANOVA unifatorial, considerando p < 0.05. Durante as etapas de separação o etanol residual gerado foi recuperado por destilação.

4.5 Caracterização dos extratos aquosos brutos e das frações hidrossolúveis

As amostras de extratos aquosos brutos (EABs) e as frações hidrossolúveis (FHSs) ricas em polímeros produzidas foram submetidas as análises de prospecção fitoquímica qualitativa e quantitativa, espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho, espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta ao visível, cromatografia líquida de alta eficiência, cromatografia de permeação em gel e análise elementar com o intuito de investigar a composição, o grau de isolamento e pureza dos polímeros extraídos.

4.5.1 Investigação fitoquímica qualitativa

As análises fitoquímicas qualitativas preliminares das amostras de EABs e FHSs foram realizadas para a detecção de ácidos orgânicos, açúcares (com caráteres redutores, não redutores e heterosídios), alcaloides, catequinas, depsídios, depsidonas, esteroides, triterpenoides, fenois, taninos, flavanoides (antocianinas, antocianidinas, chalconas, auronas, flavanonois, flavonas,

flavanois, xantonas e flavanonas), leucoantocianidinas, polissacarídeos e saponinas espumídicas, seguindo os métodos relatados por Barbosa et al. (2004) e Kantamreddi, Lakshmi, e Kasapu (2010).

4.5.1.1 Prospecção qualitativa de ácidos orgânicos

Para a análise qualitativa de ácidos orgânicos, foram dissolvidos 10 mg de amostra seca (extratos e frações isoladas de macroalgas marinhas) em 5 mL de água destilada. Em seguida, 2 mL da solução foi transferida para um tubo de ensaio e adicionadas 3 gotas do reativo de Pascová (ver no apêndice o preparo). Posteriormente, foi verificado o desaparecimento da coloração do reativo, indicando a presença de ácidos orgânicos na amostra.

Tal procedimento foi repetido substituindo o volume de amostra por água destilada tomada como controle negativo do método, a reação com agua não provoca mudança na coloração do reativo de Pascová.

4.5.1.2 Prospecção qualitativa de açúcares redutores

Para a investigação qualitativa de açúcares redutores, procedeu-se com a dissolução de 5 mg de amostra seca (extratos e frações isoladas de macroalgas marinhas) em 2,5 mL de água destilada. Logo após, foram adicionados 1 mL do reativo de Fehling A (ver no apêndice o protocolo de preparo) e 1 mL do reativo de Fehling B (ver no apêndice o protocolo de preparo). Em seguida a mistura foi aquecida em banho maria sob estado de ebulição durante 5 minutos. Prontamente, realizou-se a verificação da formação de precipitado com coloração vermelho tijolo indicativo da presença de açúcares redutores na amostra.

O procedimento foi repetido substituindo o volume de amostra por água destilada, tomado com controle negativo do método, a ausência de açúcares redutores não induz a formação de precipitado com coloração vermelho-tijolo.

4.5.1.3 Prospecção qualitativa de açúcares não redutores e heterosídios.

Para a análise qualitativa de açucares não redutores e heterosídeos, foram dissolvidos 2 mg de amostra (extratos e frações isoladas de macroalgas marinhas) em 2,5 mL de água destilada. Posteriormente, adicionou-se 0,5 mL de ácido clorídrico concentrado (HCl à 37%) e ferveu em banho maria durante 5 minutos. Em seguida, a solução foi esfriada e neutralizada com adição de hidróxido de sódio (NaOH) a 20%. Logo após, foram adicionados 1 mL do reativo de Fehling A (ver no apêndice o preparo) e 1 mL de Fehling B (ver no apêndice o preparo), submetendo a mistura a um aquecimento em banho maria por 5 minutos e verificando, em seguida o aparecimento de um precipitado vermelho, indicando a presença de açúcares não redutores.

O procedimento foi repetido substituindo o volume de amostra por água destilada, tomado com controle negativo do método, a ausência de açúcar não induz a formação de precipitado com coloração vermelho-tijolo.

4.5.1.4 Prospecção qualitativa de alcaloides

Para a verificação da presença de metabolitos pertencentes a classe de alcaloides, procedeu-se com a execução dos métodos de Broucherdat e Dragendorff, Desse modo, foram dissolvidos 8 mg da amostra (extratos e frações isoladas das macroalgas marinhas) em 2 mL de ácido clorídrico (HCl) a 5%, após mistura e filtragem foram retiradas alíquotas de 1 mL e transferidas para três tubos de ensaios e rotulados de A e B. Em seguida, foram adicionados 3 gotas do reagentes Dragendorff (ver preparo no apêndice) no tubo A, e 3 gotas dos reagente Bouchardat (ver preparo no apêndice) no tubo B. A presença de um precipitado vermelho tijolo (Dragendorff) no tubo A e de um precipitado laranja avermelhado (Bouchardat) indicou a presença do metabólito alcaloide.

4.5.1.5 Prospecção qualitativa de catequinas (taninos catequinos)

Para a detecção de taninos pertencentes a classe de catequinas, foi necessário a utilização de palito de fósforo imersão em uma mistura contendo a amostra (extratos e frações isoladas de macroalgas marinhas) e metanol a 98%. Posterior a imersão o solvente foi evaporado e o fósforo foi umedecido em ácido clorídrico concentrado (HCl à 37%) e submetido a secagem sob ação de uma chama forte, evitando sua carbonização. Em seguida, o fósforo foi analisado e o aparecimento da coloração vermelha indica a presença de catequinas. O mesmo procedimento foi repetido com cloreto de sódio (NaCl), tomando como branco para o teste, de modo a não resultar no aparecimento da coloração vermelha após o procedimento.

4.5.1.6 Prospecção qualitativa de depsídios e depsidonas

Para a análise qualitativa de detecção dos metabólitos depsídios e depsidonas nas amostras (extratos e frações isoladas de macroalgas marinhas), 5 mg de amostra seca foram dissolvidos em 5 mL de Éter Etílico. Posteriormente, a mistura foi filtrada e o solvente éter etílico foi evaporado em banho maria. Logo após, o resíduo é disperso em um volume de 3 mL de metanol, agitado e adicionar 3 gotas de solução de cloreto de ferro-três (FeCl₃) a 1%. O aparecimento de coloração verde, azul ou cinza, foi tomado como indicativo de reação positiva para o teste.

4.5.1.7 Prospecção qualitativa de esteroides e triterpenoides

Para a identificação de composto pertencentes a classe de esteroides e triterpenoides nas amostras (extratos e frações isoladas de macroalgas marinhas), procedeu-se com a dissolução de 5 mg de amostra em 10 mL de Clorofórmio (CHCl₃). Em seguida, a mistura filtrada sobre carvão ativado e o filtrado foi transferido para um tubo de ensaio completamente seco. Logo após, foi adicionado 1 mL de Anidrido Acético e agitado suavemente, após a agitação, adicionou-se cuidadosamente, 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado (H₂SO₄ à 95-97%) e agitado suavemente. Posteriormente, observações de mudança de coloração foram registrada. O desenvolvimento de cores, que vão do azul evanescente, ao verde persistente, indicam resultado positivo para o teste.

4.5.1.8 Prospecção qualitativa de fenóis e taninos

Para a análise qualitativa de ácidos orgânicos nas amostras (extratos e frações isoladas de macroalgas marinhas), foram dissolvidos 5 mg de amostra seca em 5 mL de água destilada e adicionados 2 gotas de solução alcoólica de cloreto de ferro-três (FeCl₃) a 1%. Logo após a adição da solução, alterações como, mudanças na coloração entre o azul e o vermelho ou formação de precipitado escuro de tonalidade azul, são indicativo de reação positiva para fenóis e taninos respectivamente, quando comparado com o teste em branco (água mais solução alcoólica de cloreto de ferro-três).

4.5.1.9 Prospecção qualitativa das principais classes de flavonoides

Para investigar a presença de metabolitos pertencentes a classe de flavonoides nas amostras (extratos e frações isoladas de macroalgas marinhas), foram dissolvidos alguns miligramas de amostra seca em 10 mL de água destilada. Em seguida, volumes iguais de 3 mL da solução foram transferidos para três tubos de ensaio, Logo após, procedeu-se com acidulação para o valor de pH 3 em um dos tubos e alcalinização dos dois restantes para os valores de pH 8,5 e 11 cada, os tubos foram mantidos em repouso por 5 minutos e analisados quando a mudança de coloração de acordo com o quadro abaixo.

Constituintes investigados	Coloração em meio constituintes			
	Ácido pH 3	Alcalino pH 8.5	Alcalino pH 11	
Antocianinas e antocianidinas	Vermelha	Lilás	Azul púrpura	
Flavonas, flavonóis e xantonas	-	-	Amarela	
Chalconas e auronas	Vermelha	-	Vermelho - púrpura	
Flavanonóis	-	-	Vermelho - laranja	

Quadro 2. Dados utilizados na interpretação das reações de mudanças de coloração das soluções em diferentes pH, resultantes da presença das principais classes de flavonoides.

4.5.1.10 Prospecção qualitativa de leucoantocianidinas, catequinas e flavononas

Para investigar a presença de constituintes pertencentes a classe de leucoantocianidinas e flavononas nas amostras estudadas, procedeu-se com o protocolo a seguir, em dois tubos de ensaio adicionou-se 3 mL da amostra em solução (1 mg/mL), em seguida, um dos tubos foi acidificado com ácido clorídrico (HCl à 10%) para o valor de pH entre 1 e 3 e o outro alcalinizado para o valor de pH 11 com solução de hidróxido de sódio (NaOH à 10%). Posteriormente os tubos foram cuidadosamente aquecidos durante 3 minutos, logo após, os tubos foram analisados quando a mudança de coloração de acordo com o quadro abaixo.

Constituintes investigados Coloração em :		io constituintes	
	Meio ácido	Meio alcalino	
Leucoantocianidinas	Vermelha	-	
Catequinas	Pardo - amarelo	-	
Flavononas	-	Vermelho- alaranjado	

Quadro 3. Dados utilizados na interpretação das reações de acidulação e alcalinização das amostra para determinação de leucoantocianidinas e flavononas.

4.5.1.11 Prospecção qualitativa de polissacarídeos

Para a análise de detecção de polissacarídeos nas amostra de extrato e frações hidrossolúveis isoladas de macroalgas marinhas, foram dissolvidos 5 mg de amostra seca em 2,5 mL de água destilada e adicionadas duas gotas de lugol. Após esse procedimento, a mudança de tonalidade clara para tonalidade escura da mistura foi avaliada de modo a indicar a presença de polissacarídeos na amostra.

4.5.1.12 Prospecção qualitativa de saponinas espumídicas

Para a investigação da presença de saponinas espumídicas na amostra (extratos aquosos e frações hidrossolúveis isoladas de macroalgas marinhas), procedeu-se com a dissolução de 3 mg de amostra seca em 5 mL de água destilada. Em seguida, a solução foi diluída com agua destilada para o volume final de 15 mL e agitada vigorosamente durante 2 minutos em tubo fechado. Após esse procedimento, os tubos foram mantidos em repouso por 30 minutos e a persistência de uma camada de espuma é resultante da presença de saponinas na amostra.

4.5.2 Análise fitoquímica quantitativa

As análise de composição fitoquímica quantitativa foram realizadas para determinar os teores de açúcares redutores e flavonoides presentes nos extratos aquosos brutos e nas frações hidrossolúveis isoladas de algas marinhas com o propósito de mensurar e identificar as possíveis moléculas existentes após o processo de isolamento de macromoléculas.

4.5.2.1 Determinação do teor de açúcares redutores totais

A análise foi realizada pelo método proposto por Masuko et al. (2005), com adaptações. Para a curva de calibração foi utilizado o padrão D-Glucose em diferentes concentrações variando de 5 a 100 µg/mL em água destilada (Figura 28.a - Apêndice). Para esse método 500 µL (0,1 mg/mL) da amostra foram adicionados a 1.500 µL de ácido sulfúrico concentrado. Em seguida, foram adicionados rapidamente 300 µL de fenol (5%), e posteriormente levados ao banho-maria a 90 °C por 5 minutos, seguido de banho de gelo por 5 minutos. A leitura foi realizada em espectrofotômetro sob comprimento de onda (λ) de 490 nm no UV-Vis.

4.5.2.2 Determinação do teor de flavonoides totais

O teor de flavonoides totais foi determinado utilizando método descrito por Kumaran (2007), onde em 100 μ L de cada extrato (1 mg/mL) foram adicionado 100 μ L de AlCl₃ (200 mg/mL) e 1 gota de ácido acético concentrado. A solução foi diluída com etanol para o volume final de 2.500 μ L e a absorbância registrada em espectrofotômetro sob comprimento de onda (λ) de 450 nm após 40 min de reação ao abrigo da luz. O branco para o método foi realizado substituindo o extrato por água Milli-Q. O teor de flavonoides totais foi determinado usando uma curva de calibração (Figura 28.b - Apêndice) produzida com o padrão de quercetina nas concentrações variando de 10 a 100 μ g/mL e expresso como mg de equivalente de quercetina por 100 mg de amostra.

4.5.3 Espectroscopia de infravermelho

Os espectros de absorção na região do infravermelho das amostras de EABs e FHSs foram obtidos em equipamento Shimadzu IRAffinity-1S com transformada de Fourier (FTIR) na faixa espectral de 4.000 a 700 cm⁻¹ de resolução, com módulo ATR (*Atenuated Total Reflectance*). Todas as análises foram feitas a 45 scans em cristal de seleneto de zinco (ZnSe).

4.5.4 Análise de absorção molecular da luz na região do ultravioleta ao visível

As análises de absorção molecular foram realizadas em espectrofotômetro modelo Uv-1800 UV Spectrofotometro (Shimadzu, Tokio - Japão), na região de 190 a 1.100 nm, em cubetas/células de quartzo com caminho óptico de 10 mm.

4.5.5 Cromatografia líquida de alta eficiência

Para análise do perfil cromatográfico dos extratos, foi utilizado um cromatógrafo líquido de alta eficiência (CLAE, Shimadzu, Tokio - Japão) híbrido composto por sistema binário de bombas LC-6AD, um desgazeificador DGU-20A5, forno CTO-20A, um detector UV-Vis SPD-20A, injetor automático SIL-10AF e um controlador CBM-20A. As condições usadas para a obtenção dos cromatogramas foram: coluna analítica C18 Phenomenex-Luna (250 x 2 mm e 4 μ m), comprimento de onda (λ) de 264 e 280 nm, fluxo de 0,3 mL/min e injeção automática de 5 μ L. As amostras foram diluídas em água ultrapura (1 mg/mL). Fase móvel: água ultrapura (Mili-Q) (A) e acetonitrila (B), segundo o gradiente de 95% A e 5% B até 70% A e 30% B por 10 minutos, 70% A e 30% B até 50% A e 50% B no tempo de 15 minutos permanecendo até tempo 25 minutos, no tempo 25 a 30 minutos sobiu para 5% A e 95% B permanecendo até 40 minutos e depois no tempo de 40 a 45 minutos desceu para 95% A e 5% B. O *software* utilizado foi o LC solution Release 1.24 SP1.

4.5.6 Distribuição de massa molar

A distribuição de massa molar foi determinada por cromatografia de permeação em gel (cromatrografia de exclusão de massa) em equipamento Shimadzu LC-20AD acoplado a um detector de índice de refração (RID-10A). Para a análise utilizou-se coluna Polysep linear, 300 x 7,8 mm, utilizando nitrato de sódio (NaNO₃) a 0,1 mol/L como eluente. A medida foi feita a 30 °C, com fluxo de 1 mL/min e o volume injetado da amostra foi de 50 µL na concentração de 1 mg/mL. A curva de calibração foi construída utilizando padrões de pululana com massas molares no intervalo de 10³ a 10⁶ g/mol, como mostrada na equação 1.

Equação 1. Curva de calibração do padrão pululana.

$$log_{M} = 14,336 - 1,123 \times V_{e}$$

4.5.7 Análise elementar

A análise elementar de carbono, hidrogênio, nitrogênio e enxofre das FHSs foi executada utilizando um Analisador Elementar - Perkin Elmer 2400 series II no modo CHNS.

4.6 Síntese e caracterização de nanopartículas de prata

4.6.1 Produção das nanopartículas de prata

Nanopartículas de prata (AgNPs) foram preparadas em soluções aquosas utilizando o método de redução química por via úmida na presença de diferentes frações isoladas de algas marinhas (FHS-G, P e U), esquematicamente representado na Figura 5.



Figura 5. Síntese de nanopartículas de prata na presença e ausência de frações hidrossolúveis (FHS), isoladas das macroalgas marinhas *Gracilaria* sp., *Padina* sp. e *Ulva* sp.

As nanopartículas de prata foram preparadas de acordo com o procedimento descrito por Dong et al. (2012), com algumas adaptações. Primeiramente três volumes de 9 mL da solução de nitrato de prata a 1 mM preparada previamente, foram transferidos para três frascos enumerados de 1 a 3 e levados a agitação, em seguida, a estas soluções, foram adicionada 9 mL de solução de FHS a 0,01% (m/v) (ou H₂O). Logo em seguida, a cada um dos frascos adicionaram-se rapidamente 3 mL de solução aquosa refrigerada de borohidreto de sódio (NaBH₄) recém-preparada nas respectivas concentrações de 50, 100 e 200 mM.

4.6.2 Caracterização das nanopartículas de prata

As amostras de AgNPs sintetizadas foram caracterizadas quanto a distribuição de tamanho, carga superficial, morfologia e monitoradas quanto a cinética de formação e estabilidade coloidal temporal de modo a investigar suas propriedades estruturais.

4.6.2.1 Monitoramento da formação das nanopartículas de prata

Para acompanhar a formação das AgNPs, um protocolo de monitoramento temporal foi realizado. Desse modo, alíquotas de 100 µL das suspensões coloidais de AgNPs foram coletadas nos intervalos de tempo de 5, 10, 15, 20, 25 e 30 minutos de reação (sistema sob agitação mecânica) e analisadas por espectroscopia de absorção UV-Vis. Em seguida, os valores de absorção máxima e largura a meia altura (*full width at half maximum* - FWHM) das bandas de ressonância plasmônicas foram calculados estimando os valores das curvas gaussianas através da utilização do *software* OriginPro versão 8.1.

4.6.2.2 Monitoramento da estabilidade coloidal temporal

Posterior a síntese, os coloides de prata foram submetidos a análise de estabilidade coloidal. Para tal análise, as suspensões foram mantidas em temperatura ambiente de 26 °C ao abrigo da luz e analisadas por espectroscopia de absorção UV-Vis nos dias de 1, 30 e 60.

4.6.2.3 Análise de distribuição de tamanho e carga superficial

Os valores do diâmetro hidrodinâmico médio e das cargas superficiais das suspensões coloidais de AgNPs foram determinados por espectroscopia de correlação fotônica e anemometria laser Doppler, respectivamente através das técnicas de espalhamento de luz dinâmico e potencial zeta, utilizando um Zetasizer Nano ZS90 (Malvern Instruments, UK). As medidas foram realizadas a 25 °C, com amostras concentradas (22,6 µg[Ag]/mL). Cada análise de tamanho perdurou 120 s e foi obtida com um ângulo de detecção a 90°.

4.6.2.4 Análise de microscopia de força atômica

As imagens de microscopia força atômica (MFA) foram obtidas em um equipamento TT-AFM (AFM Workshop - EUA) no modo de contato intermitente, com pontas TED PELLA (TAP300-G10) em uma frequência de amplitude de aproximadamente 241 kHz. As amostras foram preparadas dispersando 10 μ L das nanopartículas de prata (AgNPs) em uma superfícies de mica e deixadas por 15 minutos em temperatura ambiente para a secagem, seguida de duas lavagens com água Milli-Q e posterior secagem para realização da análise de acordo com a metodologia descrita por Eaton (2017).

4.7 Determinação do potencial antioxidante

As amostras de extratos aquosos brutos (EABs), frações hidrossolúveis (FHSs) e nanopartículas de prata (AgNPs) sintetizadas foram testadas quanto às suas propriedades antioxidantes através da utilização do método DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazil), descrito inicialmente por Kato et al. (1988) e adaptado por Parveen et al. (2016). Neste procedimento, as amostras foram diluídas para diferentes concentrações (EAB com concentrações variando de 0,039 a 5,0 mg/mL; FHS: com concentrações variando de: 0,039 a 5,0 mg/mL e AgNPs: 0,240 a 30,804 μ g de [Ag]/mL) em água Milli-Q. Em seguida foi adicionado 1,0 mL de solução metanólica de DPPH a 0,3 mM em 3,0 mL das amostras em diferentes concentrações. As amostras foram mantidas ao abrigo da luz pelo período de 30 minutos sob temperatura ambiente de 26 \pm 2 °C. Após esse período as absorbâncias das misturas foram registradas sob o comprimento de onda de 517 nm em espectrofotômetro UV-Vis. A atividade de inibição do radical DPPH (ou atividade de inibição radicalar) foi calculada pela equação 2:

Equação 2. Conversão percentual.

Atividade antioxidante (%) =
$$\left[\frac{(A_{DPPH} - A_{amostra})}{A_{DPPH}}\right] \times 100\%$$

Onde A_{DPPH} é a absorbância do radical livre DPPH em metanol (4,0 mL a 0,075 mM) e A_{amostra} é a absorbância das amostras com diferentes concentrações após o contato com o DPPH.

Os valores de concentração inibitória (IC_{50}) representaram a concentração necessária para inibir 50% das espécies reativas de radical livre e foram obtidas pela análise de curva doseresposta, plotada entre os valores de porcentagem de inibição radicalar e concentração avaliadas no experimento. Todos os experimentos foram realizados em triplicatas.

4.8 Ensaios de redução química de corantes orgânicos

Para avaliar o potencial catalítico das AgNPs sintetizadas por via de oxirredução, foram executados ensaios de redução química tomando como sistema modelo os compostos orgânicos azul de metileno (AM) e verde de bromocresol (VB). Os experimentos foram realizados seguindo a metodologia descrita por Yu et al. (2019), onde inicialmente 0,50 mL de solução de AgNPs (22,6 µg[Ag]/mL) e 1,50 mL de NaBH₄ (0,01 M) foram adicionados em 1,50 mL de solução aquosa do corante AM (ou VB) a 50 mg/L. Em seguida, o desempenho catalítico das AgNPs foi monitorado registrando os espectros de absorção UV-Vis para o tempo total de 45 minutos, com intervalos de leitura de 45 segundos.

Os valores da taxa de redução química (TRR) dos corantes foram calculados através da equação 3 (JIAO et al., 2015):

Equação 3. Taxa de redução química relativa.

$$TRR(\%) = \frac{(A_0 - A_t)}{A_0} \times 100\%$$

Onde A_0 é o valor da absorbância da mistura no tempo zero, A_t é o valor da absorbância no tempo t. Os valores de absorbância utilizados nas equações foram coletados sob os comprimentos de onda de 665 e 616 nm para os compostos AM e VB, respectivamente.

4.9 Ensaios de ecotoxicidade em organismo modelo Artemia salina

Os ensaios de ecotoxicidade foram executados segundo a metodologia reportada por Becaro et al. (2015) com algumas adequações. Desse modo, indivíduos jovens do camarão de salmoura Artemia salina foram usados como organismos teste. Aproximadamente 24 horas antes do teste, 1.200 mL de água do mar foram colocados em um recipiente de 2 L. Essa água foi previamente filtrada, e seus parâmetros de qualidade foram mensurados (pH: 8.2; condutividade: 40,22 µS cm⁻¹). Nesse recipiente foram adicionados aproximadamente 2 g de cistos de Artemia. A suspensão dos cistos foi mantida sob intensa aeração a uma temperatura de aproximadamente 27 °C. Os náuplios obtidos foram expostos às concentrações nominais de AgNPs variando de 0,919 a 46,621 µg de [Ag]/mL durante o período de 24 horas a 21 °C. Através do uso de micropipeta, 10 organismos foram transferidos para cada poço das placas de 96 poços e esses preenchidos com 300 µL de cada concentração da solução teste, em triplicata, a água do mar (salinidade de 44,0 g.L⁻¹, contendo 5,38 mg.L⁻¹ de oxigênio dissolvido e pH em torno de 8.37 a 23 °C) foi tomada como controle negativo. Após os períodos de 24 horas, o número de organismos testados e a concentração que afeta a mobilidade em 50 % da população para os tempos de exposição de 24 horas (EC₅₀), juntamente com seu intervalo de confiança de 95 %, foram determinados. A sobrevivência percentual foi calculada seguindo a equação 4.

Equação 4. Taxa de sobrevivência.

$$TS (\%) = \left[\frac{N \acute{u}mero \ de \ n \acute{a}uplios \ de \ art \acute{e}mias \ vivos}{N \acute{u}mero \ inicial \ de \ n \acute{a}uplios \ de \ art \acute{e}mias \ vivo}\right] \times 100\%$$

5 RESULTADOS E DISCUSSÕES

5.1 Avaliação do rendimento de extração

O emprego do método de extração aquosa para obtenção de extratos ricos em polissacarídeos promoveu diferenças significativas quanto ao rendimento de extração dos materiais em relação aos três gêneros estudados com [F (2, 8) = 514,217; p < 0,001]. A maior quantidade em massa de extrato foi obtida com o uso da macroalga marinha vermelha *Gracilaria* sp. (54,69 ± 2,08 %), seguida do isolamento a partir da macroalga marinha verde *Ulva* sp. (22,01 ± 1,00 %) ambas com valores de rendimento superior aos da macroalga marinha parda *Padina* sp. (15,69 ± 1,52 %) como mostra a figura 6.



Figura 6. Representação gráfica das médias de rendimento de extração das macroalgas vermelha *Gracilaria* sp., parda *Padina* sp. e verde *Ulva* sp..

Os valores maiores de rendimentos encontrados para o gênero *Gracilaria* estão de acordo com o obtido por Ogretmen e Duyar (2018), ao isolar polissacarídeos da espécie *Gracilaria caudata* (obtiveram um rendimento do 45,79 \pm 0,85), com emprego de extração aquosa. Mohsen et al. (2007) obtiveram rendimentos de extração semelhantes aos aqui obtidos para a *Padina* utilizando a espécie *Sargassum latifolium* (20,75 \pm 0,36 %) resultante do mesmo método de extração aquosa. Neto et al. (2018) relataram em seus estudos com as macroalgas marinhas verde *Ulva rígida*, vermelha *Gracilaria* sp. e pardas *Fucus vesiculosus* e *Saccharina latíssima*, os teores de 58,1 \pm 0,7; 46,9 \pm 0,4; 56,4 \pm 0.4 e 68,9 \pm 0,3% de polissacarídeo constituinte, respectivamente. Esses resultados de rendimentos de polissacarídeos em macroalgas marinhas podem ser explicados pelo fato de eles serem influenciados por diversos fatores, tais como: período de coleta (variações sazonais), morfologia da espécie, *habitat*, estágio de vida e metodologia de extração (MARINHO-SORIANO e BOURRET, 2003; ROMERO et al., 2008; ALENCAR et al., 2019).

5.2 Caracterização e controle de qualidade dos polissacarídeos

Com o intuito de investigar a composição e o grau de pureza das FHSs ricas em polissacarídeos após a etapa de isolamento, procedeu-se com a série de análises para caracterização, incluindo investigação de composição fitoquímica qualitativa e quantitativa, ensaios de espectroscopia de absorção molecular na região do ultravioleta ao visível, análises de cromatografia líquida de alta eficiência e de permeação em gel, análise elementar, espectroscopia de absorção vibracional na região do infravermelho com os compostos estudados (EABs e FHSs de polissacarídeos isolados das macroalgas marinhas).

5.2.1 Avaliação da composição fitoquímica qualitativa

A análise fitoquímica qualitativa dos extratos aquosos brutos (EABs) e das frações hidrossolúveis (FHSs) revelou a presença de compostos pertencentes a classes de ácidos orgânicos, alcaloides, flavonoides, saponinas e carboidratos (entre eles, polissacarídeos, açúcares redutores, não redutores e heterosídios) como mostrado o quadro 4.

Classes de compostos		Amostras				
		FHS – G	EAB – P	FHS-P	EAB – U	FHS – U
Ácidos orgânicos						
Açúcares não redutores e heterosídios						
Açúcares redutores						
Alcaloides						
Catequinas (taninos catequinos)						
Depsídios e depsidonas						
Esteroides e triterpenoides						
Fenóis e taninos						
Flavanoides (antocianinas e antocianidinas)						
Flavanoides (chalconas e auronas)						
Flavanoides (flavanonois)						
Flavanoides (flavonas, flavanois e xantonas)						
Flavanonas						
Leucoantocianidinas						
Polissacarídeos						
Saponinas totais						

Quadro 4. Composição fitoquímica qualitativa das amostras de extratos aquosos brutos (EABs) e frações hidrossolúveis (FHSs) das macroalgas marinhas vermelha *Gracilaria* sp., parda *Padina* sp. e verde *Ulva* sp. (\blacksquare) presença da classe de compostos (\Box) ausência da classe de compostos.

Pode-se observar que alguns componentes presentes nos EABs foram efetivamente removidos após o processo de isolamento. Dentre eles nota-se a remoção de flavonoides pertencentes a classe de antocianinas e antocianidinas identificados nos extratos aquosos da espécie *Gracilaria* sp. após o processo de isolamento. Do mesmo modo, pode-se constatar a retirada efetiva de compostos pertencentes a classe de saponinas presentes no extrato aquoso da espécie *Padina* sp.; os demais componentes identificados nos extratos aquosos das três espécies, tais como, ácidos orgânicos, açúcares redutores e não redutores permaneceram após o processo de isolamento, pois tratam-se de compostos com caráter de solubilidade semelhante aos polissacarídeos.

5.2.2 Avaliação da composição fitoquímica quantitativa

Os teores de açúcares redutores e flavonoides investigados através da análise de prospecção fitoquímica quantitativa dos extratos aquosos brutos (EABs) e frações hidrossolúveis (FHSs) estão representados na tabela 3.

Tabela 3. Conteúdo de açúcares redutores e flavonoides investigados nas amostras de extratos aquosos brutos (EABs) e frações hidrossolúveis (FHSs) das macroalgas marinhas vermelha *Gracilaria* sp., parda *Padina* sp. e verde *Ulva* sp.

Amostras	Componentes fitoquímicos			
	Açúcares redutores (mg/100 mg) ¹	Flavonoides (mg/100 mg) ²		
EAB – G	$18,37 \pm 3,35^{a}$	$1,33 \pm 0,07$		
$\mathbf{EAB} - \mathbf{P}$	$8,19 \pm 1,33^{b}$	-		
$\mathbf{EAB} - \mathbf{U}$	$26,56 \pm 2,74^{\circ}$	-		
FHS – G	$28,18 \pm 3,16^{\circ}$	-		
FHS – P	$6,12 \pm 0,59^{b}$	-		
FHS – U	$32,62 \pm 2,14^{c}$	-		

¹ mg equivalente de D-glucose; ² mg equivalente de quercetina; letras sobrescritas diferentes indicam diferenças significativas entre as médias (p < 0.05, ANOVA, teste de Tukey).

Foi possível observar para todas as amostras a presença de açúcares redutores entretanto. Para a espécie *Gracilaria* foi observado o maior aumento nos valores de açúcares redutores, comparando-se o extrato bruto e a fração hidrossolúvel. As amostras provenientes da macroalga *Padina* sp. (EAB e FHS) e *Ulva* sp. (EAB e FHS) não apresentaram diferença significativa quanto aos teores de açúcares redutores. Flavonoides foram quantificados nos extratos EAB-G $(1.33 \pm 0.07 \text{ mg}/100 \text{ mg})$, resultado este compatível com os da análise qualitativa.

5.2.3 Espectroscopia de absorção molecular da radiação eletromagnética na região do ultravioleta ao visível

As figuras 7, 8 e 9 mostram os espectros de absorção de luz UV-Vis dos extratos aquosos, dos sobrenadantes após o isolamento dos polissacarídeos (mistura de etanol e água) e das frações hidrossolúveis ricas em polissacarídeos isolados das macroalgas marinhas *Gracilaria* sp., *Padina* sp. e *Ulva* sp., respectivamente. Embora a espectroscopia de absorção UV-Vis não seja uma ferramenta comumente utilizada para elucidação estrutural, os espectros trouxeram informação relacionada à estrutura de possíveis componentes presentes durante o processo de obtenção dos polissacarídeos (MOREIRA et al., 2014).



Figura 7. Espectros de absorção de luz na região do UV-Vis para as amostras oriundas do gênero *Gracilaria*. (a) Extrato aquoso bruto. (b) Sobrenadante após isolamento. (c) Fração hidrossolúvel.



Figura 8. Espectros de absorção de luz na região do UV-Vis para as amostras oriundas do gênero *Padina*. (a) Extrato aquoso bruto. (b) Sobrenadante após isolamento. (c) Fração hidrossolúvel.



Figura 9. Espectros de absorção de luz na região do UV-Vis para as amostras oriundas do gênero *Ulva*. (a) Extrato aquoso bruto. (b) Sobrenadante após isolamento. (c) Fração hidrossolúvel.

Os extratos aquosos brutos e as soluções sobrenadantes residuais do fracionamento/isolamento dos polissacarídeos absorveram radiação UV e visível sob os

comprimentos de onda na faixa de 260 a 411 nm, essas absorções podem ser associadas a presença de compostos fenólicos (TARGETT et al., 1995), florotaninos (SUGAWARA et al., 2002) ou aminoácidos do tipo micosporina (KORBEE et al., 2006), componentes esses comuns em todas as macroalgas marinhas (SCHMITZ, BARUFI e MARASCHIN, 2017; TORRES et al., 2019). As frações isoladas das macroalgas *Gracilaria* e *Padina* apresentaram absorção sob os comprimentos de onda de 266 nm e *Ulva* em 264 nm, evidenciando a permanência de possíveis componentes contaminantes após o processo de isolamento e lavagem dos extratos. Além disso, nota-se no espectro de absorção da fração isolada da macroalga marinha *Padina* sp. (figura 8.c) uma absorção molecular mais intensa, evidenciando uma maior concentração de contaminantes, que segundo Schmitz, Barufi e Maraschin (2017) pode estar correlacionada com a presença de diferentes classes de aminoácidos do tipo micosporina e a compostos fenólicos (KARENTZ, 1994; NAUMANN et al., 2005) característica comum as macroalgas marinha da çasse Phaeophyceae (CARROL e SHILK, 1996).

5.2.4 Perfil cromatográfico dos extratos aquosos brutos e frações hidrossolúveis isoladas de algas marinhas

Os perfis cromatográficos das amostras de EABs e FHSs, antes e depois do processo de fracionamento, estão representados nas figuras 10, 11 e 12.



Figura 10. Perfis cromatográficos (CLAE/UV para os comprimentos de onda de 264 e 280 nm) dos extratos aquosos brutos (a, b) e das frações hidrossolúveis (c, d) isoladas da macroalga marinha pertencente ao gênero *Gracilaria*.



Figura 11. Perfis cromatográficos (CLAE/UV para os comprimentos de onda de 264 e 280 nm) dos extratos aquosos brutos (a, b) e das frações hidrossolúveis (c, d) isoladas da alga marinha pertencente ao gênero *Padina*.



Figura 12. Perfis cromatográficos (CLAE/UV para os comprimentos de onda de 264 e 280 nm) dos extratos aquosos brutos (**a**, **b**) e das frações hidrossolúveis (**c**, **d**) isoladas da alga marinha pertencente ao gênero *Ulva*.

Para as amostras da *Gracilaria* não foi observada a presença de metabólitos secundários com a programação cromatográfica empregada. Para as demais macroalgas, o processo de isolamento promoveu considerável redução da presença de metabólitos secundários, resultado compatível com os obtidos pela análise fitoquímica quantitativa e qualitativa.

5.2.5 Estimativa de massa molar

A figura 13 e a tabela 4 mostram os perfis de distribuição e os valores dos picos de massa molar dos EABs e FHSs obtidos por cromatografia de permeação em gel (CPG).



Figura 13. Cromatogramas de exclusão de tamanho, obtidos por cromatografia de permeação em gel (CPG), dos extratos aquosos brutos (EABs) e das frações hidrossolúveis (FHSs) isoladas das macroalgas marinhas vermelha *Gracilaria* sp. (a), parda *Padina* sp. (b) e verde *Ulva* sp. (c).

Amostra	MpK (g/mol)	Mn (g/mol)	Mw (g/mol)	PD
EAB-G	3,26 x 10 ⁵	4,94 x 10 ⁴	5,43 x 10 ⁵	1,1 x 10 ¹
EAB-P	6,45 x 10 ⁵	$1,74 \ge 10^3$	6,68 x 10 ⁴	$3,8 \ge 10^1$
	1,86 x 10 ³			
EAB-U	9,49 x 10 ⁵	3,58 x 10 ³	4,15 x 10 ⁵	1,1 x 10 ²
	1,86 x 10 ³			
FHS-G	2,01 x 10 ⁶	4,69 x 10 ³	1,21 x 10 ⁶	$2,5 \ge 10^2$
	$1,17 \ge 10^3$			
FHS-P	$7,35 \ge 10^5$	1,76 x 10 ⁶	$5,20 \ge 10^4$	2,95 x 10 ¹
	$1,96 \ge 10^3$			
FHS-U	1,77 x 10 ⁴	$4,85 \times 10^3$	$2,53 \ge 10^4$	5,21

Tabela 4. Valores de distribuição de massa dos extratos aquosos brutos (EABs) e das frações hidrossolúveis (FHSs)) isoladas das macroalgas marinhas vermelha *Gracilaria* sp., parda *Padina* sp. e verde *Ulva* sp.

Mpk (massa molar de pico), Mn (massa molar numérica média), Mw (massa molecular médio ponderada), PD (Polidispersão).

EAB-G e FHS-U apresentaram distribuição de massa unimodal com baixa polidispersão e massas molares de pico (MpK) de 3,26 x 10^5 e 1,77 x 10^4 g/mol, respectivamente. As demais amostras de EABs e FHSs apresentaram padrão bimodal de distribuição de massa molar e com

maior polidispersão (PD). FHS-G chamou atenção por ter apresentado os maiores valores de M_pK_1 (2,01 x 10⁶ g/mol), M_pK_2 (1,17 x 10³ g/mol) e PD (2,5 x 10²).

5.2.6 Análise elementar

Os dados de análise elementar das frações hidrossolúveis (FHSs) estão apresentados na tabela 5. Todas as frações analisadas apresentaram baixos teores de nitrogênio, que podem estar associados com a presença de resíduos de proteína. Com base no baixo teor de carbono da amostra FHS-P, pode-se inferir que esta fração possui valores significativos de metabólitos secundários sendo menos rica em polissacarídeo quando comparada ás demais macroalgas, resultados compatível com os dados de cromatografia e estimativa de distribuição de massa molar.

Tabela 5. Dados de análise elementar para as frações hidrossolúveis (FHSs) isoladas das macroalgas marinhas vermelha *Gracilaria* sp., parda *Padina* sp. e verde *Ulva* sp.

Amostra	Nitrogênio (%)	Carbono (%)	Enxofre (%)	Hidrogênio (%)
FHS-G	0,89	24,88	5,86	4,57
FHS-P	0,04	7,61	12,79	3,17
FHS-U	1,03	33,09	4,11	5,15

Em contrapartida, as frações FHS-G e FHS-U exibiram percentuais de carbono de 24.88 e 33.09, respectivamente, com valores de enxofre de 5,86% e 4,11%, tais características podem ser associadas a presença de grupos sulfatos comuns a polissacarídeos encontrados em macroalgas marinhas (VAZQUEZ-DELFIN, ROBLEDO e FREILE-PELEGRIN, 2014; RHEIN-KNUDSEN, ALE e MEYER, 2015; BERATTO-RAMOS et al., 2020).

5.2.7 Espectroscopia de absorção vibracional da radiação eletromagnética na região do infravermelho

Uma das técnicas mais úteis para a identificação de estruturas polissacarídicas é a espectroscopia de infravermelho (IV), que se baseia na análise de picos de absorção em determinados números de onda (expressos em cm⁻¹). Para a análise estrutural de carboidratos, cinco regiões de frequência podem ser distinguidas no espectro normal (4.000-650 cm⁻¹): região I - denotada por alongamento vibracional de OH e CH em 3.600-2.800 cm⁻¹; região II - região de simetria local a 1.500-1.200 cm⁻¹; região III - apresenta assinaturas de vibração de estiramento de CO em 1.200-950 cm⁻¹; região IV - conhecida como impressão digital ou região anomérica a 950-700 cm⁻¹; e região IV - caracterizada como região esquelética abaixo de 700 cm⁻¹ (GÓMEZ-ORDÓÑEZ e RUPÉREZ, 2011).

A figura 14 apresenta os espectros de absorção vibracional das amostras de EABs e FHSs obtidas pela análise de espectroscopia no infravermelho.



Figura 14. Espectros de transmissão FTIR – ATR das amostras de extratos aquosos brutos (EABs) e frações hidrossolúveis (FHS) das macroalgas marinhas vermelha *Gracilaria* sp. (a), parda *Padina* sp. (b) e verde *Ulva* sp. (c).

No espectro de FTIR do EAB-G (Figura 14.a), na região de identidade entre 700 e 950 cm⁻¹, ficaram evidenciadas as presenças de bandas de absorção em 875 cm⁻¹, atribuídas a possível presença de CO-S de D-galactose-4-sulfato (PEREIRA et al., 2003), e de bandas em 910 cm⁻¹, associadas à ocorrência de 3,6-anidro-D-galactose (PEREIRA et al., 2003; PEREIRA, GHEDA e RIBEIRO-CLARO, 2013). Ainda analisando o espectro do EAB-G, as bandas de absorção observadas nas frequências 1.035 e 1.080 cm⁻¹ foram relacionadas ao estiramento C-O-C das unidades glicosídicas (LEAL et al., 2008). Nas regiões 1.151, 1.193 e 1.222 cm⁻¹, as bandas foram associadas ao estiramento de C-O ou C-C, o qual pôde ser vinculado à possível presença de flavonoides, corroborando com o resultado obtido na análise fotoquímica. Outra evidência que permitiu a inferência sobre a ocorrência de flavonoides nessas

regiões, consistiu na perda de intensidade do sinal nas regiões supracitadas ao se analisar o espectro obtido para o polissacarídeo isolado (FHS-G). As bandas em 1.145 cm⁻¹ foram atribuídas à vibração C-O-C, enquanto àquelas entre 1.220 e 1.260 cm⁻¹, à presença grupos ésteres de sulfato (S=O). Continuando a análise do espectro do EAB-G, observaram-se bandas nas regiões 1.300, 1.377, 1.421, 1.463, 1.633 e 1.670 cm⁻¹, as quais foram atribuídas, respectivamente, a éster de sulfato, estiramento simétrico de C=O, estiramento simétrico de COO, estiramento simétrico de C-H, estiramento assimétrico de COO em ácido carboxílico e estiramento assimétrico de C=C. No espectro do polissacarídeo isolado (FHS-G), as bandas nas regiões 1.377, 1.421,1.463 e 1.668 cm⁻¹ perderam a intensidade e houve o surgimento de uma banda larga em 1.394 e 1.606 cm⁻¹, sugerindo, respectivamente, um deslocamento da banda de absorção das regiões de éster de sulfato e vibração de alongamento antissimétrico do COO do ácido glucurônico (CHAVES, 2008; MACIEL, 2008; PEREIRA et al., 2013, LAIA, 2015).

No espectro de FTIR do EAB-P (Figura 14.b), observou-se um único pico de absorção largo em 1.099 cm⁻¹ atribuído ao estiramento de C-O-C das unidades glicosídicas, provavelmente em decorrência da presença de saponinas, revelada na análise fotoquímica. Quanto ao espectro do polissacarídeo isolado (FHS-P), o aparecimento de bandas em 763 e 711 cm⁻¹ foi associado a C-O-C de ligação glicosídica, e em 819 cm⁻¹, referente a grupo sulfato em galactose (PEREIRA et al., 2009). Os sinais detectados em 1.087 cm⁻¹ foram devidos ao estiramento de C-O-C, relativo às unidades glicosídicas, e em 1.228 e 1.201 cm⁻¹ foram associados à vibração S=O dos ésteres de sulfato. A banda na região de 1.649 cm⁻¹ talvez esteja relacionada à presença de resíduos de amida de traços proteicos (DANTAS-SANTOS et al., 2012; FERNANDES-NEGREIROS et al., 2018; VASANTHARAJA et al., 2019).

No espectro de FTIR do EAB-U (Figura 14.c), observaram-se bandas de absorção em 758 cm⁻¹ referentes a C–O–C de ligação glicosídica; bandas de absorção entre as regiões 820 e 869 cm⁻¹ usadas para inferir a posição dos grupos sulfato em galactose; bandas em 931 cm⁻¹ atribuídas à vibração S=O dos grupos sulfato e C–O–C de 3,6-anidro- α -L-galactopiranose; bandas nas regiões 1.089 e 1.039 cm⁻¹ imputadas ao estiramento de C-O-C das unidades glicosídicas; bandas em 1.246 e 1.348 cm⁻¹ referentes à ocorrência de éster de sulfato; bandas em 1.421 e 1.490 cm⁻¹ atribuídas ao estiramento de COO-; e bandas em 1.583 e 1.681 cm⁻¹ associadas a aminas. Comparando-se os espectros de FTIR do EAB-U e da FHS-U (polissacarídeo isolado de *Ulva* sp.), houve uma redução de bandas na região entre 700 e 950 cm⁻¹. Nesse caso, foram constatadas bandas nas regiões de 715 cm⁻¹ correspondente a ligação glicosídica e de 846 cm⁻¹ referente ao estiramento simétrico de C-O-S. Apenas uma banda bem

definida a 1.039 cm⁻¹ foi detectada, sendo sua presença referente a esqueleto de galactanas (vibração de estiramento C- O-H). Outras bandas foram encontradas em 1.220 cm⁻¹ correspondendo a éster de sulfato, e em 1.643 cm⁻¹ atribuída a presença de amidas (FAN, 2012; BARROS, 2013; REIS, 2016). As regiões relacionadas com amidas dos espectros do EAB-U e do polissacarídeo isolado (FHS-U) foram associadas à ocorrência, mesmo que discreta, de alcaloides, cuja presença foi revelada pela análise fotoquímica.

5.2.8 Atividade antioxidante dos extratos aquosos brutos e frações hidrossolúveis isolados das macroalgas marinhas

Moléculas com potencial antioxidante são capazes de promover a redução do radical livre paramagnético estável 2,2-difenil-1-picril-hidrazil (DPPH), que apresenta em solução uma coloração violeta profunda, para o composto diamagnético estável 1,1-difenil-2-picril-hidrazil de coloração amarelo claro, após aceitar um radical de elétron ou hidrogênio (DE LEO et al., 2002; BOUAZIZ et al., 2016).

A figura 15 apresenta os resultados das atividades antioxidantes dos extratos e das frações isoladas das macroalgas marinhas pertencentes aos gêneros Gracilaria, Padina e Ulva. Pôde-se observar um padrão de inibição do radical DPPH para as amostras EAB-G e FHS-G (figura 15.a) e EAB-U e FHS-U (figura 15.c), que apresentaram um comportamento de regressão linear com coeficientes de determinação iguais a 0,968, 0,976, 0,976 e 0,997, respectivamente. Entretanto, o comportamento antioxidante das amostras EAB-P e FHS-P foi descrito pelo modelo de regressão exponencial com coeficientes de determinação iguais a 0,988, e 0,989, respectivamente (figura 15.b).



Figura 15. Atividade antioxidante das amostras provenientes de macroalgas marinhas. (a) perfil antioxidante dos extratos aquosos brutos (EAB) e das frações hidrossolúveis (FHS) oriundas do gênero *Gracilaria*. (b) perfil antioxidante dos EAB e das FHS oriundas do gênero *Padina*. (c) perfil antioxidante dos EAB e das FHS oriundas do gênero *Ulva*. (d) Diagrama de distribuição dos valores de IC₅₀ para a atividade antioxidante dos EAB e FHS obtidos após análise do teste de Tukey para comparação de médias (p < 0,05).

Todas as amostras (FHSs) apresentaram redução do potencial antioxidante após o processo de isolamento, correlacionada com a remoção dos metabólitos secundários existentes antes do isolamento dos extratos. Este fato foi evidenciado nos resultados das análises de espectroscopia de absorção UV-Vis e nas cromatografias que sugeriram a diminuição ou redução dos compostos pertencentes a classe de fenois e aminoácidos. Somados a esse fato, nos ensaios de prospecção fitoquímica, observaram-se teores significativos de saponina e flavonoides, respectivamente, nas amostras obtidas dos gêneros Padina e Gracilaria. O potencial antioxidante de compostos como fenólicos, flavonoides e saponinas está adequadamente relatado na literatura (ROCKENBACH et al., 2008), bem como os possíveis mecanismos de ação antioxidante relacionados à classe de polissacarídeos, ainda que esses compostos apresentem, de um modo geral, potencial antioxidante limitado se comparado ao encontrado para metabólitos secundários (SUGAWARA et al., 2002; KORBEE et al., 2006;

BOUAZIZ et al., 2016; SCHMITZ, BARUFI e MARASCHIN, 2017; LAULLOO et al., 2018; RAJIVGANDHI et al. 2020).

A análise estatística demonstrou que os valores de IC₅₀ (concentração efetiva da amostra necessária para eliminar o radical DPPH em 50%) das amostras variaram significativamente em função do gênero algal (*Gracilaria*, *Padina* e *Ulva*) e do processamento empregado (fracionamento), visto que valores de F_{calculado} foram maiores que F_{tabelado} (p < 0,05) (Tabela 11, Apêndice). Após a aplicação do teste de Tukey, diferenças significativas foram encontradas entre todos os valores de IC₅₀, com exceção das comparações entre FHS-P e EAB-G e entre FHS-P e EAB-U, que não apresentaram diferenças estatísticas significativas.

5.3 Síntese e caracterização das nanopartículas de prata

A formação das AgNPs ficou evidenciada pela redução do sal AgNO₃ pelo composto NaBH₄ na presença e na ausência de frações hidrossolúveis ricas em polissacarídeos provenientes de algas marinhas (Figuras 16, 17, 18 e 19). Essa redução pôde ser verificada pela alternância de coloração das misturas de incolor para amarelo claro com espectro de absorção máxima de luz sob o comprimento de onda entre 390 e 410 nm. Esse efeito foi descrito por Ferreira et al. (2016) e por Xia e Halas (2005) como o resultado da interação da luz com elétrons livres em uma nanoestrutura, que pode dar origem a excitações coletivas comumente conhecidas como plasmons de superfície, sendo este fenômeno diretamente dependente da concentração e tamanho das partículas presentes no meio.

5.3.1 Monitoramento da cinética de produção das nanopartículas de prata

A formação das AgNPs foi monitorada (figuras 16.a, 16.c e 16.e) com o intuito de se investigar o papel das frações hidrossolúveis de polissacarídeos como agentes da nucleação e estabilização de nanopartículas durante sua síntese de AgNPs. Os parâmetros comprimento de onda para absorção máxima (λ max) e largura da banda a meia altura (FWHM ou $\Delta \Lambda$ (H/2)) (figuras 16.b, 16.d e 16.f), produziram uma impressão espectral exclusiva para nanopartículas metálicas plasmônicas com um tamanho e forma específicos (PARK et al., 2008), tendo assim sido escolhidos para a avaliação.

Em todos os espectros das nanopartículas foram observadas alterações na intensidade da banda plasmônica com o curso da reação independente da presença ou não de agente estabilizante. A formação de AgNPs na ausência de derivados de macroalgas marinhas (figuras 16.b e 16.d), monitoradas até 30minutos, ocorreu com o aumento de FWHM e diminuição do valor de absorção máxima. Considerando que o tamanho dos núcleos pode ser associado a FWHM, foi observado um aumento do diâmetro estimado pela largura a meia altura da banda de ressonância plasmônica de superfície (RPS) da partícula. Nas amostras de AgNP A03 (Figura 16.f),por sua vez, ocorreu a diminuição gradual do diâmetro estimado com a intensificação da absorção da banda RPS, evidenciando o aumento da quantidade de partículas com redução do diâmetro estimado. Este comportamento pode estar correlacionado com o prolongamento da etapa de redução promovido pelo excesso do sal redutor, borohidreto de sódio, presente no sistema (KHATOON et al., 2011).

O comportamento da AgNP A02, apresentado na figura 16.d, apontou um retardo de 5 minutos para o início do processo de alargamento da RPS e uma redução da intensidade de

absorção com relação ao gráfico da Figura 16.b. Esse fenômeno evidenciou os processos de nucleação e crescimento das nanopartículas, nos casos em que a taxa de colisão entre as partículas foi menor devido à baixa energia de nucleação (AL-THABAITI, et al., 2008; LOKANATHA et al., 2013).



Figura 16. Monitoramento da cinética de formação de nanopartículas de prata sintetizadas na ausência de derivados de macroalgas marinhas. (a), (c) e (e) acompanhamento temporal do perfil de absorção espectral da luz na região do UV-Vis para as amostras de AgNP A01, A02 e A03, respectivamente. (b), (d) e (f) representação gráfica dos valores de absorção máxima e diâmetro estimado pela largura a meia altura em função do tempo para as AgNP A01, A02 e A03, respectivamente.

As AgNPs produzidas com as frações isoladas da macroalga vermelha *Gracilaria*, sob diferentes concentrações de NaBH₄ (AgNP G01, AgNP G02 e AgNP G03), apresentaram um

comportamento de síntese similar entre si. Uma reação de inversão para os valores de intensidade de absorção e largura da banda RPS foi observada nas figuras 17.b, 17.d e 17.f.

Com o decorrer do tempo de reação, observou-se um aumento da intensidade de absorção com uma diminuição da largura da banda de RPS para as AgNP G01 (figura 17.b) e AgNP G02, resultante do aumento da produção das AgNPs no sistema com redução do tamanho de partícula, indicando as fases de redução e coalescência, caracterizadas segundo Šileikaitė et al. (2009) pelo aumento da concentração de nanopartículas com diminuição do tamanho das partículas no meio.



Figura 17. Monitoramento da cinética de formação de nanopartículas de prata na presença de frações hidrossolúveis obtidas de algas marinhas pertencentes ao gênero *Gracilaria*. (a), (c) e (e) acompanhamento temporal do perfil de absorção espectral da luz na região do UV-Vis para as amostras de AgNP G01, G02 e G03, respectivamente. (b), (d) e (f) representação gráfica dos valores de absorção máxima e diâmetro estimado pela largura a meia altura em função do tempo para as AgNP G01, G02 e G03, respectivamente.

O padrão comportamental apresentado pelas amostras AgNP G01 e G02 não foi observado para a amostra AgNP G03 (figura 17.f), que exibiu um comportamento anômalo. Esse fenômeno pode indicar um prolongamento da etapa de coalescência, que é comumente caracterizada pela constante mudança do estado de agregação das partículas, podendo estar relacionado com o efeito do excesso de sal NaBH₄, responsável por um deslocamento da força iônica do meio reacional, minimizando as forças eletrostáticas repulsivas criadas pelas camadas de íons distribuídos pela superfície e, consequentemente, possibilitando a agregação das nanopartículas (LIU et al., 2007; MELO JR et al., 2012).

As AgNPs produzidas com as frações isoladas da macroalga *Padina*, sob diferentes concentrações de NaBH₄ (AgNP P01, AgNP P02 e AgNP P03), demonstraram que o aumento da concentração do sal redutor provocou alterações no comportamento de síntese do sistema (figura 18). Os espectros de absorção UV-Vis da amostra AgNP P01 expressaram uma diminuição da intensidade de absorção sob o comprimento máximo e paralelamente um alargamento progressivo das banda de RPS, diferindo do comportamento apresentado para as amostras AgNP P02 e AgNP P03, que expressaram, no decorrer do tempo, um aumento gradual na intensidade de absorção com uma redução pequena da largura a meia altura da banda RPS. Tal comportamento pode ser atrelado ao fato de que o aumento da concentração inicial do sal (NaBH₄) utilizada na síntese, promoveu um aumento da dispersão no sistema coloidal resultante da repulsão eletrostática gerada pelas cargas de borato que foram geradas após a hidrólise de borohidreto na superfície das AgNPs (LIU et al., 2007; SONG et al., 2009; SONG e KIM, 2009).



Figura 18. Monitoramento da cinética de formação de nanopartículas de prata na presença de frações hidrossolúveis obtidas de algas marinhas pertencentes ao gênero *Padina*. (a), (c) e (e) acompanhamento temporal do perfil de absorção espectral da luz na região do UV-Vis para as amostras de AgNP P01, P02 e P03, respectivamente. (b), (d) e (f) representação gráfica dos valores de absorção máxima e diâmetro estimado pela largura a meia altura em função do tempo para as AgNP P01, P02 e P03, respectivamente

Todas as amostras de AgNPs estabilizadas com frações extraídas de *Ulva* sp. apresentaram um aumento na intensidade de absorção com redução da largura a meia altura da banda de RPS (figura 19), indicando o aumento da produção nas AgNPs no meio reacional. Foi possível observar ainda que o aumento da concentração inicial do sal borohidreto no processo de síntese promoveu pequenas alterações quanto a velocidade de formação da banda de RPS, apresentando para a amostra de AgNP U03 um retardo de 5 minutos para o início do processo de intensificação da banda de RPS (figura 19.f).



Figura 19. Monitoramento da cinética de formação de nanopartículas de prata na presença de frações hidrossolúveis obtidas de algas marinhas pertencentes ao gênero *Ulva*. (a), (c) e (e) acompanhamento temporal do perfil de absorção espectral da luz na região do UV-Vis para as amostras de AgNP U01, U02 e U03, respectivamente. (b), (d) e (f) representação gráfica dos valores de absorção máxima e diâmetro estimado pela largura a meia altura em função do tempo para as AgNP U01, U02 e U03, respectivamente.

O fenômeno acima mencionado pode estar correlacionado com o prolongamento da etapa de redução promovido pelo excesso do sal redutor, borohidreto de sódio, e a presença de polissacarídeos adsorvidos na superfície das nanopartículas. Os polissacarídeos apresentam átomos de oxigênio em sua estrutura favorecendo a interação ácido-base entre os polímeros e as nanopartículas, criando um impedimento estérico entre estas, minimizando ou até mesmo evitando a agregação das nanopartículas (MELO JR et al., 2012). Contudo, foi possível observar que houve, em todas as amostras, uma diminuição gradual da largura a meia altura,

evidenciando as etapas de nucleação e crescimento das nanopartículas, em que a taxa de colisão entre as partículas foi menor devido à baixa energia de nucleação (AL-THABAITI et al., 2008; LOKANATHA et al., 2013).

5.3.2 Avaliação da estabilidade coloidal temporal

O monitoramento da estabilidade coloidal das nanopartículas é mostrado na figura 20. Neste estudo, foi possível observar, após um período de 30 dias, a redução da intensidade de absorção das bandas de RPS entre as amostras de AgNPs sintetizadas na ausência de derivados de macroalgas marinhas (AgNP A01, AgNP A02 e AgNP A03) e na presença de frações hidrossolúveis isoladas da macroalga Padina (AgNP P01, AgNP P02 e AgNP P03). Ainda foi possível observar o desaparecimento total da banda de RPS na amostras AgNP A03 após 60 dias de monitoramento (Figura 20.C). Este comportamento pode ser associado ao aumento no tamanho das nanopartículas (NPs), resultando em um deslocamento da banda plasmônica para regiões de maior comprimento de onda (SONG e KIM, 2009), o que significa que estas nanopartículas apresentaram, dentro do intervalo monitorado, reduzida estabilidade coloidal em solução. As amostras AgNP G01 (figura 20.D) e AgNP U01 (figura 20.J) não apresentaram alterações significativas na banda de RPS durante o período de 60 dias, resultando na manutenção da estabilidade coloidal neste período. De acordo com a teoria de Mie, apenas uma única banda plasmônica é esperada no espectro de absorção de NPs esféricas, enquanto NPs anisotrópicas podem dar origem a duas ou mais bandas, dependendo do formato das mesmas (KLABUNDE, 2001; KLABUNDE et al., 2010). A presença de um agente estabilizador que envolve a nanoestrutura pode evitar esses processos tanto por mecanismos eletrostáticos quanto estéricos (MASSIRONI et al., 2019).



Figura 20. Espectros de absorção UV-Vis das nanopartículas de prata (AgNPs) resultantes do monitoramento temporal da estabilidade coloidal.

5.3.3 Caracterização das nanopartículas de prata

A distribuição de tamanho das nanopartículas é mostrada na figura 21. Em geral as amostras apresentaram uma distribuição de tamanho bimodal com diâmetro hidrodinâmico variando de 54 a 76 nm, excetuando-se a amostra AgNP P02 que apresentou uma distribuição unimodal com tamanho de partícula de $86,72 \pm 29,12$ (figura 21.H).



Figura 21. Histogramas resultantes da análise de espalhamento de luz dinâmico obtidos para as amostras de nanopartículas de prata. (A), (B) e (C) distribuição de tamanho de partículas para as amostras de AgNP A01, A02 e A03, respectivamente. (D), (E) e (F) distribuição de tamanho de partículas para as amostras de AgNP G01, G02 e G03, respectivamente. (G), (H) e (I) distribuição de tamanho de partículas para as amostras de AgNP P01, P02 e P03, respectivamente. (J), (K) e (L) distribuição de tamanho de partículas para as amostras de AgNP P01, P02 e P03, respectivamente. (J), (K) e (L) distribuição de tamanho de partículas para as amostras de AgNP P01, P02 e P03, respectivamente.

Os valores de diâmetros hidrodinâmicos médios, índice de polidispersão e carga superficial das AgNPs são apresentados na tabela 6. Como pode ser observado, todas as amostras apresentaram carga superficial negativa abaixo de -18,7 mV. Esse resultado pode estar associado ás cargas geradas pelo sal borohidreto de sódio depositadas na superfície das AgNPs (SOLOMON et al., 2007), e a presença de grupos ácidos e sulfatos presentes nos polissacarídeos extraídos de macroalgas marinhas (CUSHING, KOLESNICHENKO e O'CONNOR, 2004; EVANOFF JR e CHUMANOV, 2005; BURDA et al., 2005).

Amostras	Espalhamento de luz dinâmico		
	Diâmetro hidrodinâmico (nm)	IP ¹	Carga superficial (mV)
AgNP A01	$56,80 \pm 12,92$	$0,328 \pm 0,030$	$-37,30 \pm 7,97$
AgNP A02	$54,70 \pm 23,88$	$0,\!896\pm0,\!006$	$-40,60 \pm 9,23$
AgNP A03	$60,43 \pm 20,80$	$0,\!274\pm0,\!026$	$-24,20 \pm 7,83$
AgNP G01	$67,35 \pm 24,31$	$0,\!188\pm0,\!013$	$-30,40 \pm 9,23$
AgNP G02	$49,37 \pm 10,60$	$0,\!281 \pm 0,\!016$	$-27,30 \pm 7,16$
AgNP G03	$59,04 \pm 18,04$	$0{,}239 \pm 0{,}022$	$-23,40 \pm 6,14$
AgNP P01	$54,09 \pm 22,06$	$1,\!000\pm0,\!000$	$-30,30 \pm 9,99$
AgNP P02	$86,72 \pm 29,12$	$0,\!337\pm0,\!027$	$-18,70 \pm 9,26$
AgNP P03	$72,51 \pm 29,43$	$0{,}536 \pm 0{,}046$	$-32,10 \pm 9,55$
AgNP U01	$55,60 \pm 12,52$	$0,291 \pm 0,033$	$-22,30 \pm 2,75$
AgNP U02	$53,87 \pm 11,39$	$0,\!281 \pm 0,\!047$	$-33,20 \pm 7,18$
AgNP U03	$76,35 \pm 27,21$	$0,225 \pm 0,007$	$-22,00 \pm 6,67$

Tabela 6. Valores de diâmetro hidrodinâmico, índice de polidispersão (IP) e carga superficial das nanopartículas de prata.

¹: Índice de polidispersão (IP)

Valores de IP iguais ou inferiores a 0,5 indicam a existência de sistemas hidrodinâmicos estáveis, com populações de distribuição de tamanho homogêneas. Os resultados demostraram que as AgNPs sintetizadas na presença das frações ricas em polissacarídeos isoladas das macroalgas *Gracilaria* e *Ulva* apresentaram tamanhos bem definidos em torno de 49 a 76 nm com populações homogêneas (IP: 0,188 a 0,311), demonstrando a formação de sistemas mais estáveis em comparação com as AgNPs sintetizadas na presença de frações isoladas da macroalga ocrófita *Padina* e na ausência de derivados de macroalgas marinhas, que apresentaram valores de diâmetros estimado por espalhamento de luz dinâmico (ELD) em torno de 54 a 86 nm, com distribuição de populações heterogêneas (IP: 0,274 a 1,000).

A morfologia das AgNPs sintetizadas sobre a concentração de 50 mM de NaBH₄ foram observada pela técnica de microscopia de força atômica. Todas as amostras apresentaram morfologia esférica (figura 22).



Figura 22. Micrografias de força atômica das amostras de nanopartículas de prata: (A) imagem 3D da amostras de AgNP A01. (B) imagem tridimensional da amostra de AgNP P01. (C) imagem tridimensional da amostra de AgNP G01. (D) imagem tridimensional da amostra de AgNP U01. Imagens com resolução de 512 pixels.

5.4 Avaliação do potencial antioxidante das nanopartículas de prata

A atividade de inibição de radicais livres DPPH das amostras de AgNPs pode ser vista na Figura 23. Pode-se notar um comportamento dependente da concentração existente para a atividade de inibição percentual. O desempenho antioxidante das amostras representadas nas figura 23.a, 23.b e 23.c, obedeceu a um comportamento linear (tabela 7), enquanto, as AgNPs representadas na figura 23.d expressaram um comportamento exponencial. A atividade do antirradical expressa pelo parâmetro IC₅₀ foi definida pela concentração necessária do antioxidante para reduzir em 50% o radical DPPH, logo quanto menor o IC₅₀, maior a atividade antioxidante do material.

Os resultados da análise de variância bifatorial, usada para comparar e avaliar o efeito dos fatores (concentrações iniciais do sal redutor e tipo de agente estabilizante) sobre os valores de IC₅₀, demonstraram que os potenciais antioxidantes das AgNPs variaram significativamente em função do tipo de agente estabilizante (NaBH₄, FHS-G, FHS-P e FHS-U) e da quantidade inicial de sal redutor utilizados. Após a aplicação do teste de Tukey (tabela 14 e 15, apêndice), verificou-se que a concentração inicial do sal redutor (50, 100 e 200 mM NaBH₄) empregada na síntese promoveu diferenças significativas nas propriedades antioxidantes das nanopartículas formadas; o aumento da concentração inicial do sal redutor no processo de

síntese resultou na diminuição do potencial antioxidante em todas as amostras. Diferenças também foram encontradas entre os valores de IC_{50} quando comparados os tipos de agentes estabilizantes, de modo que, a atividade antioxidante decresceu na seguinte ordem: AgNP U01 < AgNP G01 < (AgNP U02 e AgNP G02) < AgNP P01 < (AgNP U03 e AgNP G03) < AgNP P02 < AgNP A01 < AgNP A02 < AgNP P03 < AgNP A03.



Figura 23. Atividade antioxidante das nanopartículas de prata (AgNPs). (a) Perfil de inibição radicalar das AgNPs sintetizadas na ausência de derivados de algas marinhas. (b) Perfil de inibição radicalar das AgNPs G01, G02 e G03. (c) Perfil de inibição radicalar das AgNPs U01, U02 e U03.

	Equações	R ²	IC_{50} (µg de Ag/mL)
AgNP A01	y = 1,031x + 3,831	0,9966	$44,845 \pm 1,054$ ^a
AgNP A02	y = 0,478x + 0,965	0,9850	99,687 ± 11,259 ^b
AgNP A03	y = 0,261x + 1,214	0,9813	$190,552 \pm 8,050$ ^c
AgNP G01	y = 2,473x + 16,218	0,9699	$14,222 \pm 0,009 \ ^{\mathbf{d}}$
AgNP G02	y = 2,062x + 10,903	0,9953	$17,386 \pm 0,190$ ^e
AgNP G03	y = 1,666x + 13,767	0,9954	$19,430 \pm 0,958$ f
AgNP P01	y = 2,246x + 8,517	0,9970	18,350 ± 0,732 ^g
AgNP P02	y = 1,686x + 0,089	0,9964	$29,586 \pm 2,266$ ^h
AgNP P03	y = 0,400x + 4,480	0,9919	113,861 ± 16,119 ⁱ
AgNP U01	$y = 34,992x^{0,326} - 15,996$	0,9932	$7,826 \pm 0,218$ ^j
AgNP U02	$y = 12,310x^{0,500} + 0,301$	0,9972	$16,474 \pm 0,201$ ^e
AgNP U03	$y = 16,559x^{0,407} - 7,050$	0,9940	$19,794 \pm 1,198$ f

Tabela 7. Resultados da atividade antioxidante das nanopartículas de prata (AgNPs).

Letras diferentes indicam diferença significativa ente os resultados, a comparação foi realizada entre as amostras AgNP A (A01, A02 e A03); Entre AgNP G (G01, G02 e G03); entre AgNP P (P01, P02 e P03); entre AgNP U (U01, U02 e U03).
Com base nos resultados, foi possível concluir que, para todas as nanopartículas, a síntese realizada na concentração de 50 mM de NaBH4 (sal redutor) foi a condição que apresentou os melhores potenciais antioxidantes, com destaque para AgNP U01 e AgNP G01. Características como tamanho e natureza do estabilizante interferem na capacidade antioxidante de nanopartículas. Rajan, Vilas e Philip (2015) verificaram relação inversa entre o potencial antioxidante e o tamanho das partículas, ou seja, houve aumento do potencial antioxidante com a diminuição de tamanho para nanopartículas de prata, observação compatível com o resultado encontrado para AgNP U01 e AgNP G01. Desse modo, a utilização dos polissacarídeos extraídos das macroalgas marinhas verde Ulva sp. e vermelha Gracilairia sp. promoveram melhorias quanto ao potencial antioxidante. Contudo, notou-se que os valores de IC50 das amostras AgNP G02:AgNP U02 (17,386 \pm 0,190 e 16,474 \pm 0,201) e AgNP G03:AgNP U03 (19,430 \pm 0,958 e 19,794 \pm 1,198) não diferiram significativamente entre si.

A atividade antioxidante das AgNPs também foi comparada com a do padrão ácido ascórbico. Como resultado dessa atividade de inibição do radical DPPH, obteve-se um valor inferior ao do padrão ácido ascórbico (IC₅₀ = 6,109 μ g/mL). Resultado semelhante foi observado por Dipankar e Murugan (2012), ao compararem os valores de percentuais de inibição (radical DPPH) entre as amostras de AgNPs sintetizadas com extrato etanólico (IhAgNPs), extratos etanólicos (IHLE) e o padrão ácido ascórbico (As. Acid), tendo encontrado uma atividade antioxidante com valor inferior ao padrão ácido ascórbico, na seguinte sequência: As. Acid > IhAgNPs > IHLE. Dipankar e Murugan (2012) ainda relataram que a atividade antioxidante das AgNPs está associada à presença da prata elementar e não aos compostos fitoquímicos utilizados em seu revestimento. Assim, embora o mecanismo de ação das nanopartículas de prata ainda não esteja bem elucidado, o potencial antioxidante dessas estruturas pode ser associado à prata elementar, cuja atividade antioxidante ocorre através dos mecanismos de transferência de elétrons simples (KUMAR et al., 2012; ELEMIKE et al., 2017)

5.5 Avaliação do potencial catalítico das nanopartículas de prata

A atividade catalítica das AgNPs sintetizadas foi investigada utilizando-as na redução de dois corante: o azul de metileno (AM) e verde de bromocresol (VB). A redução dos corantes AM e VB pôde ser acompanhada pelo desaparecimento das bandas de absorção em 665 e 616 nm, respectivamente.

As taxas de redução relativa (TRR) dos corantes AM e VB com NaBH₄ foram examinadas na presença e na ausência de AgNPs por espectrofotometria UV-Vis. Na ausência de AgNPs (amostras controle) foram observadas pequenas mudanças nos valores de absorção

das bandas dos corantes em 665 nm para o AM (Figura 24.a) e 616 nm para o VB (Figura 24.c), que resultaram em reduções relativas de 29,09% (Figura 24.b) e 5,07% (Figura 24.d), para os corantes AM e VB, respectivamente.



Figura 24. Espectros de absorção UV-Vis e taxas de redução dos corantes AM (a, b) e VB (c, d) monitorados por 45 minutos sem nanopartículas.

As figuras 25 e 26 apresentam os resultados do processo de monitoramento temporal da redução química dos corantes AM e VB com NaBH₄ na presença de AgNPs (AgNP A01, A02 e A03). Foi possível observar uma pequena diminuição das bandas de absorção dos corantes na presença das amostras AgNPs. Essa pequena redução da banda de absorção dos corantes pode estar correlacionada com a possível interação do sal reativo NaBH₄ com as AgNPs. Segundo Melo Jr et al. (2012), o NaBH₄ provoca uma mudança do comportamento óptico das AgNPs resultante da interação iônica. Em todas as outras nanopartículas de prata estabilizadas com biomoléculas das macroalgas apresentaram uma redução expressiva das bandas de absorção dos corantes, situadas sobre os comprimentos de onda (λ) de 665 nm (AM) e 616 nm (VB).

O corante AM sofreu alteração de cor tornando-se incolor com a sua conversão a azul leucometileno na presença de um agente redutor como o NaBH₄, e uma diminuição contínua

nas bandas de absorção em 240 e em 665 nm pôde ser observada (RAJAN, VILAS e PHILIP, 2015).

Entretanto, para as amostras AgNP G02 (Figura 25.e), AgNP P02 (Figura 25.h) e AgNP U02 (Figura 25.k), observou-se inicialmente um decaimento da banda do corante AM seguida de seu incremento. As bandas de RPS das AgNPs estabilizadas na presença de polímeros extraídos de macroalgas apresentaram um leve deslocamento em função do excesso de sal NaBH₄ após a redução efetiva do corante.



Figura 25. Espectros de absorção UV-Vis resultantes do monitoramento da redução do corante azul de metileno (AM) pelo sal redutor borohidreto de sódio (NaBH4) na presença de nanopartículas de prata. (a) AgNP A01, (b) AgNP A02, (c) AgNP A03, (d) AgNP G01, (e) AgNP G02, (f) AgNP G03, (g) AgNP P01, (h) AgNP P02, (i) AgNP P03, (j) AgNP U01, (k) AgNP U02 e (l) AgNP U03.



Figura 26. Espectros de absorção UV-Vis resultantes do monitoramento da redução do corante verde de bromocresol (VB) pelo sal redutor borohidreto de sódio (NaBH4) na presença de nanopartículas de prata. (a) AgNP A01, (b) AgNP A02, (c) AgNP A03, (d) AgNP G01, (e) AgNP G02, (f) AgNP G03, (g) AgNP P01, (h) AgNP P02, (i) AgNP P03, (j) AgNP U01, (k) AgNP U02 e (l) AgNP U03.

Os valores das taxas de constante de velocidade (k) obtidos experimentalmente através da utilização de diferentes modelos de cinética química para a reação de redução dos corantes AM e VB na presença de AgNPs são apresentados nas tabelas 8 e 9. Foi possível observar uma redução superior a 80% para o corante AM empregando as amostras de AgNPs, na seguinte ordem: AgNP G01 > AgNP U01 > AgNP U03 > AgNP G03 > AgNP P03 > AgNP P01 > AgNP A01 > AgNP G02 > AgNP P02 > AgNP A03 > AgNP U02 > AgNP A02.

As taxas de redução relativa máxima (TRR_{max}) do corante VB atingiram quase 98% ao longo do tempo de 45 minutos, sugerindo uma eficiência na sua remoção. Notou-se que as

amostras de nanopartículas estabilizadas com polissacarídeos de macroalgas marinhas apresentaram os maiores valores de TRR quando comparadas com as amostras com ausência de polímeros. Esse fenômeno desempenhado pelas nanopartículas metálicas é resultante da capacidade de atuarem efetivamente no processo de transferência de elétrons de doador a aceptor, estando relacionando ainda com o tamanho das nanopartículas, onde o aumento de área superficial impacta diretamente na capacidade catalítica (RAJAN, VILAS e PHILIP, 2015; BARNABAS, THEERTHAGIRI e SANTHANAM, 2018) Ao serem confrontadas, as taxas de redução dos corantes AM e VB revelaram que os melhores resultados de degradação ocorreram com o corante AM.

Além disso, modelos cinéticos clássicos de ordem zero (equação 5), pseudo-primeira ordem (equação 6) e pseudo-segunda ordem (equação 7) foram empregados para descrever os dados de redução química dos corantes.

Equação 5. Modelo matemático de cinética de ordem zero $A_t = A_0 + k_0 t$ Equação 6. Modelo matemático de cinética de pseudo-primeira ordem $ln \frac{A_t}{A_0} = -k_1 t$ Equação 7. Modelo matemático de cinética de pseudo-segunda ordem

$$\frac{\mathbf{t}}{\mathbf{A}_{\mathrm{t}}} = \frac{1}{\mathbf{k}_2 \mathbf{A}_0^2} + \frac{\mathbf{t}}{\mathbf{A}_0}$$

Os dados cinéticos foram descritos com maior precisão pelo modelo de pseudo-segunda ordem com um alto coeficiente de determinação linear para os corantes AM e VM ($R^2 = 0.9657$ e $R^2 = 0.8246$, respectivamente).

As amostras de AgNPs G02, P02 e U02 para o corante AM não foram investigadas quanto ao potencial catalítico em virtude de não terem apresentado uma redução efetiva. Os resultados da investigação do potencial catalítico das AgNPs apresentaram taxa constante de velocidades (k₂), onde as nanopartículas AgNP G01 e U01 apresentaram maior potencial catalítico em relação as demais amostras testadas para ambos os corantes.

A eficácia da cinética de redução química dos corantes, expressa em k₂, podem ser classificadas pela seguinte ordem decrescente de potencial catalítico para AM (AgNP G01 > AgNP U01 > AgNP G03 > AgNP U03 > AgNP P03 > AgNP P01 > AgNP A01 > AgNP A03 > controle > AgNP P02) e para VB (AgNP G01 > AgNP U01 > AgNP U03 > AgNP G02 > AgNP G03 > AgNP U02 > AgNP P03 > AgNP P01 > AgNP A02 > AgNP A03 > AgNP P02 > AgNP A01 > controle.

Amostras	Parametros							
	Modelo de ordem zero)	Modelo de pseudo-prin	neira ordem	Modelo de pseudo-segu	Modelo de pseudo-segunda ordem		
	Ko [min -1]	R ²	K1 [min -1]	R ²	K ₂ [min ⁻¹]	R ²	%	
Controle	$(9,08\pm0,04) \ge 10^{-4}$	0,8925	$(2,07 \pm 0,05) \ge 10^{-3}$	0,8974	$(9,08\pm0,04) \ge 10^{-4}$	0,9997	$29,09 \pm 1,62$	
AgNP A01	$(2,96 \pm 0,06) \ge 10^{-3}$	0,9655	$(7,55 \pm 0,10) \ge 10^{-3}$	0,9725	$(2,96 \pm 0,06) \ge 10^{-3}$	0,9987	$31,40 \pm 1,22$	
AgNP A02	$(4,83 \pm 0,37) \ge 10^{-5}$	0,0077	$(8,71 \pm 0,22) \ge 10^{-5}$	0,0072	$(4,83 \pm 0,37) \ge 10^{-5}$	0,9996	$2{,}64 \pm 0{,}47$	
AgNP A03	$(1,33 \pm 0,04) \ge 10^{-3}$	0,9496	$(2,51 \pm 0,03) \ge 10^{-3}$	0,9504	$(1,33 \pm 0,04) \ge 10^{-3}$	0,9997	$11,07 \pm 0,48$	
AgNP G01	$(2,08 \pm 0,11) \ge 10^{-2}$	0,9334	$(1,93 \pm 0,03) \ge 10^{-1}$	0,9966	$(1,67 \pm 0,04) \ge 10^{2}$	0,9928	$98,67 \pm 1,43$	
AgNP G02	Não se aplica							
AgNP G03	$(2,65 \pm 0,06) \ge 10^{-2}$	0,9981	$(1,96 \pm 0,02) \ge 10^{-1}$	0,9636	$(1,23 \pm 0,03) \ge 10^{2}$	0,9886	$98,\!18\pm3,\!85$	
AgNP P01	$(1,14\pm0,14) \ge 10^{-2}$	0,9840	$(5,63 \pm 0,50) \ge 10^{-2}$	0,9911	$(1,92 \pm 0,06) \ge 10^{-1}$	0,9841	$84,62 \pm 3,63$	
AgNP P02	Não se aplica							
AgNP P03	$(1,30\pm0,09) \ge 10^{-2}$	0,9623	$(9,38 \pm 0,15) \ge 10^{-2}$	0,9180	$(6,63 \pm 0,26) \ge 10^{-1}$	0,9657	$94,87 \pm 1,90$	
AgNP U01	$(6,22\pm0,06) \ge 10^{-2}$	0,9593	$(6,76 \pm 0,20) \ge 10^{-1}$	0,9873	$(1,44 \pm 0,02) \ge 10^{2}$	0,9999	$98,84 \pm 1,96$	
AgNP U02	Não se aplica							
AgNP U03	$(4,16\pm0,07) \ge 10^{-2}$	0,7907	$(5,69 \pm 0,22) \ge 10^{-1}$	0,9706	$(9,30 \pm 0,05) \ge 10^{-1}$	0,9992	$98,19 \pm 0,85$	

 Tabela 8. Valores de taxa constante de velocidade e coeficiente de determinação linear obtidos experimentalmente para a reação de redução química do corante azul de metileno

 Amostras
 Parâmetros

Tabela 9. Valores de taxa constante de velocidade (k) e coeficiente de determinação linear (R²) obtidos experimentalmente para a reação de redução química do corante verde de bromocresol

Amostras	Parâmetros						
	Modelo de ordem zero		Modelo de pseudo-prim	eira ordem	Modelo de pseudo-segun	da ordem	TRR _{max}
	Ko [min -1]	R ²	K1 [min ⁻¹]	R ²	K ₂ [min ⁻¹]	R ²	%
Controle	$(3,88 \pm 0,09) \ge 10^{-4}$	0,7575	$(1,09 \pm 0,16) \ge 10^{-3}$	0,7604	$(2,47 \pm 0,23) \ge 10^{\circ}$	0,9996	$5{,}07 \pm 0{,}85$
AgNP A01	$(1,03 \pm 0,16) \ge 10^{-4}$	0,4896	$(4,53 \pm 0,07) \ge 10^{-4}$	0,4889	$(3,59 \pm 0,40) \ge 10^{\circ}$	0,9998	$32,56 \pm 0,85$
AgNP A02	$(2,76 \pm 0,21) \ge 10^{-3}$	0,8128	$(1,25 \pm 0,06) \ge 10^{-2}$	0,7935	$(5,79 \pm 0,17) \ge 10^{\circ}$	0,9586	$50,07 \pm 1,80$
AgNP A03	$(1,86 \pm 0,23) \ge 10^{-4}$	0,6709	$(7,52 \pm 0,36) \ge 10^{-4}$	0,6743	$(4,14 \pm 0,08) \ge 10^{\circ}$	0,9998	$39,45 \pm 1,79$
AgNP G01	$(9,35 \pm 1,52) \ge 10^{-3}$	0,9714	$(1,12\pm0,09) \ge 10^{-1}$	0,9551	$(1,45 \pm 0,03) \ge 10^{2}$	0,9614	$96,51 \pm 3,44$
AgNP G02	$(1,77 \pm 0,10) \ge 10^{-2}$	0,9456	$(2,14 \pm 0,05) \ge 10^{-1}$	0,9531	$(1,08 \pm 0,05) \ge 10^{2}$	0,9877	$97,31 \pm 1,41$
AgNP G03	$(5,78\pm0,10) \ge 10^{-2}$	0,9614	$(7,39 \pm 0,14) \ge 10^{-1}$	0,8975	$(9,20 \pm 0,02) \ge 10^{-1}$	0,9919	$97,03 \pm 1,72$
AgNP P01	$(1,92 \pm 0,23) \ge 10^{-2}$	0,9543	$(1,99 \pm 0,12) \ge 10^{-2}$	0,8467	$(2,02 \pm 0,16) \ge 10^{-1}$	0,9985	$87,\!48 \pm 0,\!56$
AgNP P02	$(2,56 \pm 0,05) \ge 10^{-5}$	0,0280	$(9,30 \pm 0,26) \ge 10^{-5}$	0,0265	$(3,70\pm0,16) \ge 10^{\circ}$	0,9999	$29,91 \pm 1,67$
AgNP P03	$(8,17\pm0,13) \ge 10^{-3}$	0,7074	$(8,87 \pm 0,34) \ge 10^{-2}$	0,8117	$(6,20\pm0,18) \ge 10^{-1}$	0,8246	$92,17 \pm 1,97$
AgNP U01	$(3,70\pm0,15) \ge 10^{-2}$	0,8980	$(5,69 \pm 0,14) \ge 10^{-1}$	0,9672	$(1,25 \pm 0,01) \ge 10^{2}$	0,9707	$97,71 \pm 1,05$
AgNP U02	$(1,34 \pm 0,13) \ge 10^{-2}$	0,9288	$(1,18\pm0,10) \ge 10^{-1}$	0,9444	$(7,03 \pm 0,21) \ge 10^{-1}$	0,9731	$94,36 \pm 2,18$
AgNP U03	$(3,32 \pm 0,09) \ge 10^{-2}$	0,6753	$(5,42\pm0,41) \ge 10^{-1}$	0,7972	$(1,13 \pm 0,03) \ge 10^{2}$	0,9983	$97,71 \pm 0,25$

5.6 Análise de ecotoxicidade para nanopartículas de prata

Os resultados relativos à exposição da espécie *Artemia salina* em diferentes concentrações das soluções de AgNPs testadas são apresentadas na figura 27. Os valores de EC₅₀ para os tempos de exposição de 24 e 48 horas não foram determinados, pois todas as concentrações testadas apresentaram 100% de sobrevivência. Deste modo, os resultados indicaram baixo grau de toxicidade no modelo testado para as concentrações de AgNPs testadas. Entretanto, a literatura reporta altas taxas de toxicidade para a prata em concentrações acima de 0,1 mg/L para o mesmo organismo-teste (WEBER et al., 1991; DE MERLIS et al., 2003; FALUGI et al., 2012; BECARO et al., 2015).



Figura 27. Representações gráficas das taxas de sobrevivência da espécie *Artemia salina* testadas para diferentes concentrações de nanopartículas de prata (AgNPs). (a) AgNPs na presença de agaranas. (b) AgNPs na presença de fucanas. (c) AgNPs na presença de ulvanas. (d) AgNPs na ausência de polissacarídeos.

Na literatura há poucos relatos sobre o grau de ecotoxicidade de nanopartículas de prata testadas em *A. salina*, mas de acordo com Arulvasu et al. (2014), a compreensão dos possíveis impactos dessas partículas pode ajudar a identificar a nanotecnologia mais apropriada que preservará o ambiente aquático marinho. Portanto, são necessários estudos sobre o destino e os efeitos das nanopartículas no meio ambiente e nos organismos vivos para definir mais claramente os benefícios e os riscos potenciais dessa promissora tecnologia.

CONCLUSÃO

Foi possível realizar a extração e caracterização de biomoléculas com alto teor de polissacarídeos sulfatados das macroalgas marinhas *Gracilaria* sp. (FHS-G) e *Ulva* sp. (FHS-U). A fração hidrossolúvel isolada da macroalga *Padina* sp. (FHS-P) apresentou um maior teor de compostos fitoquímicos comparada às demais espécies estudadas.

Os extratos aquosos brutos (EABs) demostraram potenciais antioxidantes superiores aos das frações hidrossolúveis (FHSs) isoladas para todas as macroalgas.

Nanopartículas de prata foram sintetizadas na presença de frações ricas em polissacarídeos extraídos de macroalgas marinhas pertencentes aos gêneros *Gracilaria*, *Padina* e *Ulva*. A presença das frações FHS-G e FHS-U promoveu uma melhor modulação no processo de síntese evitando os processos de aglomeração, de modo a possibilitar boa estabilidade coloidal para as nanopartículas de prata (AgNPs).

A característica antioxidante das AgNPs foi dependente da concentração inicial do sal redutor borohidreto de sódio. De modo que, o aumento da concentração do sal redutor promoveu a redução do potencial antioxidante.

Todas as AgNPs possibilitaram um aumento da taxa de redução do corante verde de bromocressol (VB). Apenas as amostras de AgNPs sintetizadas na presença de frações ricas em polissacarídeos nas concentrações de 50 mM e 200 mM de NaBH₄ apresentaram potencial catalítico no processo de redução do corante azul de metileno (AM).

Dentre as amostras estudadas, as AgNP G01 e AgNP U01 se destacaram, demonstraram uma boa estabilidade coloidal temporal, com maiores potenciais antioxidante e catalítico.

Nas concentrações testadas, nenhuma amostra de AgNPs demonstrou potencial ecotóxico para espécie *Artemia salina*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRAFICAS

AIHARA, N.; TORIGOE, K.; ESUMI, K. Preparation and characterization of gold and silver nanoparticles in layered laponite suspensions. **Langmuir**, v. 14, n. 17, p. 4945-4949, 1998.

ALENCAR, P. O. C.; LIMA, G. C.; BARROS, F. C. N.; COSTA, L. E. C.; RIBEIRO, C. V. P. E.; SOUSA, W. M.; SOMBRA, V. G.; ABREU, C. M. W. S.; ABREU, E. S.; PONTES, E. O. B.; OLIVEIRA, A. C.; PAULA, R. C.M.; FREITAS. A. L. P.; A novel antioxidant sulfated polysaccharide from the algae *Gracilaria caudata*: *In vitro* and *in vivo* activities. **Food Hydrocolloids**, v. 90, p. 28-34, 2019.

AL-THABAITI, S. A.; AL-NOWAISER, F. M.; OBAID, A. Y.; AL-YOUBI, A. O.; KHAN, Z. Formation and characterization of surfactant stabilized silver nanoparticles: a kinetic study. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 67, n. 2, p. 230-237, 2008.

AMETA, R.; BENJAMIN, S.; AMETA, A.; AMETA, S. C. Photocatalytic degradation of organic pollutants: a review. **Materials Science Forum**, v. 734, p. 247-272, 2012.

ANDRADE, F. V. **Tecnologias alternativas para remoção de contaminantes emergentes em meio aquoso**. 2015. Tese apresentada ao Departamento de Química do Instituto de Ciências Exatas da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor em Ciências-Química. 124 f. Belo Horizonte - MG.

ARULVASU, C.; JENNIFER, S. M.; PRABHU, D.; CHANDHIRASEKAR, D. Toxicity effect of silver nanoparticles in brine shrimp Artemia. **The Scientific World Journal**, v. 2014, 2014.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DA INDÚSTRIA QUÍMICA. **Corantes e pigmentos**. São Paulo, 2011. Disponível em: http://www.abiquim.org.br/corantes/cor_industria.asp>. Acesso em: 26 out. 2019.

AZIZUL-RAHMAN, M. F. H.; MOHD-SUHAIMI, A. A.; OTHMAN, N. Biosorption of Pb(II) and Zn(II) in synthetic waste Water by watermelon rind (*Citrullus lanatus*). Applied Mechanics and Materials, v. 465-466, p. 906-910, 2014.

BARBOSA, W. L. R.; QUIGNARD, E.; TAVARES, I. C. C.; PINTO, L. N.; OLIVEIRA, F. Q.; OLIVEIRA, R. M. Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais. **Revista Científica da UFPA**, v. 4, n. 5, p. 1-19, 2004.

BARROS, F. C., DA SILVA, D. C., SOMBRA, V. G., MACIEL, J. S., FEITOSA, J. P., FREITAS, A. L., DE PAULA, R. C. Structural characterization of polysaccharide obtained from red seaweed Gracilaria caudata (J Agardh). **Carbohydrate Polymers**, v. 92, n. 1, p. 598-603, 2013.

BATISTA, R. S.; SILVA, L. M.; SOUZA, R. R. M.; PRADO, H. J. P. SILVA, G. A.; ROÇAS, G.; OLIVEIRA, A. L.; HELAYEL-NETO, J. A. Nanociência e nanotecnologia como temáticas para discussão de ciência, tecnologia, sociedade e ambiente. **Ciência e Educação**, v. 16, n. 2, p. 479-490, 2010

BECARO, A. A.; JONSSON, C. M.; PUTI, F. C.; SIQUEIRA, M. C.; MATTOSO, L. H.; CORREA, D. S.; FERREIRA, M. D. Toxicity of PVA-stabilized silver nanoparticles to algae

and microcrustaceans. **Environmental Nanotechnology, Monitoring e Management**, v. 3, p. 22-29, 2015.

BENNETT, S. W.; ADELEYE, A.; JI, Z.; KELLER, A. A. Stability, metal leaching, photoactivity and toxicity in freshwater systems of commercial single wall carbon nanotubes. **Water Research**, v. 47, n. 12, p. 4074-4085, 2013.

BERATTO-RAMOS, A.; AGURTO-MUÑOZ, C.; VARGAS-MONTALBA, J. P.; CASTILLO, R. D. P. Fourier-transform infrared imaging and multivariate analysis for direct identification of principal polysaccharides in brown seaweeds. **Carbohydrate Polymers**, v. 230, p. 115561, 2020.

BHAT, I. U. H.; APPATURI, J. N.; ANWAR, M. N. K. Polymer Based Palladium Nanocatalyst for the Degradation of Nitrate and Congo Red. **Journal of Polymers and the Environment**, v. 27, p. 13, 2019.

BOUAZIZ, F.; KOUBAA, M.; BARBA, F. J.; ROOHINEJAD, S.; CHAABOUNI, S. E. Antioxidant properties of water-soluble gum from flaxseed hulls. **Antioxidants**, v. 5, n. 3, p. 26, 2016.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**, volume 2 / Agência Nacional de Vigilância Sanitária. Brasília: Anvisa, 2010.

BURDA, C.; CHEN, X.; NARAYANAN, R.; EL-SAYED, M. A., Chemistry and properties of nanocrystals of different shapes. **Chemical Reviews**, v. 105, n. 4, p. 1025-1102, 2005.

CARROLL, A. K.; SHICK, J. M. Dietary accumulation of UV-absorbing mycosporine-like amino acids (MAAs) by the green sea urchin (*Strongylocentrotus droebachiensis*). **Marine Biology**, v. 124, n. 4, p. 561-569, 1996.

CHAO, H. P.; CHANG, C. C.; NIEVA, A. Biosorption of heavy metals on *Citrus maxima* peel, passion fruit shell, and sugarcane bagasse in a fixed-bed column. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 20, n. 5, p. 3408-3414, 2014.

CHEN, J.; QIU, X.; FANG, Z.; YANG, M.; POKEUNG, T.; GU, F.; CHENG, W.; LAN, B. Removal Mechanism of Antibiotic Metronidazole from Aquatic Solutions by Using Nanoscale Zero-Valent Iron Particles. **Chemical Engineering Journal**, v. 181-182, p. 113-119, 2012.

CHEN, YEN-HUA. Synthesis, characterization and dye adsorption of ilmenite nanoparticles. **Journal of Non-Crystalline Solids**, v. 357, n. 1, p. 136-139, 2011.

CRANE, R. A.; SCOTT, T. B. Nanoscale zero-valent iron: future prospects for an emerging water treatment technology. **Journal of Hazardous Material**, v. 211-212, p. 112-25, 2012.

CRINI, G.; BADOT, P. M. Application of chitosan, a natural aminopolysaccharide, for dye removal from aqueous solutions by adsorption processes using batch studies: A review of recent literature. **Progress in Polymer Science**, v. 33, n. 4, p. 399-447, 2008.

CUNHA, L.; GRENHA, A. Sulfated seaweed polysaccharides as multifunctional materials in drug delivery applications. **Marine Drugs**, v. 14, n. 3, p. 42, 2016.

CUNHA, P. L. R.; PAULA, R. C. M.; FEITOSA, J. P. A. Polissacarídeos da biodiversidade brasileira: Uma oportunidade de transformar conhecimento em valor econômico. **Química Nova**, v. 32, n. 3, p. 649-660, 2009.

CUSHING, B. L.; KOLESNICHENKO, V. L.; O'CONNOR, C. J. Recent advances in the liquid-phase syntheses of inorganic nanoparticles. **Chemical Reviews**, v. 104, n. 9, p. 3893-3946, 2004.

DANTAS-SANTOS, N., ALMEIDA-LIMA, J., VIDAL, A. A. J., GOMES, D. L.; OLIVEIRA, R. M.; PEDROSA, S. S; PEREIRA, P.; GAMA, F. M.; ROCHA, H. A. O. Antiproliferative Activity of Fucan Nanogel. **Marine Drugs**, v. 10, n. 12, p. 2002–2022, 2012.

DE LEO; M. E.; TRANGHESE, A.; PASSANTINO, M.; MORDENTE, A.; LIZZIO, M. M.; GALEOTTI, T.; ZOLI, A. Manganese superoxide dismutase, glutathione peroxidase, and total radical trapping antioxidant capacity in active rheumatoid arthritis. **The Journal of Rheumatology**, v. 29, n. 10, p. 2245-2246, 2002.

DE MERLIS, C. C.; SCHONEKER, D. R. Review of the oral toxicity of polyvinyl alcohol (PVA). **Food and Chemical Toxicology**, v. 41, p. 319-326, 2003.

DE OLIVEIRA, E. C. Introdução à Biologia Vegetal, v. 7. Edusp, 1996.

DIPANKAR, C.; MURUGAN, S. The green synthesis, characterization and evaluation of the biological activities of silver nanoparticles synthesized from Iresine herbstii leaf aqueous extracts. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 98, p. 112-119, 2012.

DONG, P. V.; HA, C. H.; BINH, L. T.; KASBOHM, J. Síntese química e atividade antibacteriana de novas nanopartículas de prata. **International Nano Letters**, v. 2, n. 1, p. 9, 2012.

DOS SANTOS, F. M. Diversidade intraespecífica: modificações do talo em algas vermelhas (Rhodophyta). **Laboratório de Ensino de Botânica**. In book: VI Botânica no inverno 2016, p. 57-62. Chapter: 05. July 2016. ISBN 978-85-85658-61-8.

DURAN, N.; MORAIS, P. C.; MATTOSO, L. H. C. **Nanotecnologia – Introdução, preparação e caracterização de nano materiais e exemplos de aplicações**. São Paulo: livro Artliber, 208p. 2006.

EATON, P., QUARESMA, P.; SOARES, C.; NEVES, C.; DE ALMEIDA, M. P.; PEREIRA, E.; WEST, P. A direct comparison of experimental methods to measure dimensions of synthetic nanoparticles. **Ultramicroscopy**, v. 182, p. 179-190, 2017.

EJHIEH, A. N; MOAZZENI, N. Sunlight photodecolorization of a mixture of Methyl Orange and Bromocresol Green by CuS incorporated in a clinoptilolite zeolite as a heterogeneous catalyst. **Journal of Industrial and Engineering Chemistry**, v. 19, n. 5, p. 1433-1442, 2013.

ELEMIKE, E. E.; FAYEMI, O. E.; EKENNIA, A. C.; ONWUDIWE, D. C.; EBENSO, E. E. Silver nanoparticles mediated by *Costus afer* leaf extract: synthesis, antibacterial, antioxidant and electrochemical properties. **Molecules**, v. 22, n. 5, p. 701, 2017.

ELSABAHY, M.; WOOLEY, K. L. Design of polymeric nanoparticles for biomedical delivery applications. **Chemical Society Reviews**, v. 4b1, n. 7, p. 2545, 2012.

EUROPEAN COMMISSION. DIRECTORATE-GENERAL FOR RESEARCH. Innovation Union Competitiveness Report 2011. European Communities, 2011.

EVANOFF JR, D. D.; CHUMANOV, G. Synthesis and optical properties of silver nanoparticles and arrays. **ChemPhysChem**, v. 6, n. 7, p. 1221-1231, 2005.

FALUGI, C.; ALUIGI, M. G. A.; FAIMALI, M.; FERRANDO, S.; GAMBARDELLA, C., GATTI, A. M.; RAMOINO, P. Dose dependent effects of silver nanoparticles on reproduction and development of different biological models. **EQA-International Journal of Environmental Quality**, v. 8, n. 8, p. 61-65, 2012.

FAN, Y., WANG, W., SONG, W., CHEN, H., TENG, A., e LIU, A. Partial characterization and anti-tumor activity of an acidic polysaccharide from *Gracilaria lemaneiformis*. **Carbohydrate Polymers**, v. 88, n. 4, p. 1313–1318, 2012.

FAWCETT, D.; VERDUIN, J. J.; SHAH, M.; SHARMA, S. B.; POINERN, G. E. J. A Review of Current research into the biogenic synthesis of metal and metal oxide nanoparticles via marine algae and seagrasses. **Journal of Nanoscience**, v. 2017, p. 15, 2017.

FERNANDES-NEGREIROS, M. M.; MACHADO, R. I. A.; BEZERRA, F. L.; MELO, M. C. N.; ALVES, M.G. C. F.; FILGUEIRA, L. G. A.; MORGANO, M. A.; TRINDADE, E. S.; COSTA, L. S.; ROCHA, OLIVEIRA, H. A. Antibacterial, Antiproliferative, and Immunomodulatory Activity of Silver Nanoparticles Synthesized with Fucans from the Alga *Dictyota mertensii*. Nanomaterials, v. 8, n. 6, p. 15, 2018.

FERREIRA, E. A. C. **Obtenção de molibdatos de prata através do método sonoquímico para catálise do azul de metileno**. 2018. 90 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Ciências e Engenharia de Materiais - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal. 2018.

FERREIRA, H. S.; RANGEL, M. C. Nanotechnology: general aspects and potential applications in catalysis. **Química Nova**, v. 32, n. 7, p. 1860-1870, 2009.

FERREIRA, J.; SANTOS, M. J. L.; THESING, A.; TAVARES, F. C.; GRIEP, J. B.; RODRIGUES, M. R. F. Ressonância de plasmon de superfície localizado e aplicação em biossensores e células solares. **Química** Nova, v. 39, n. 9, p. 1098-1111, 2016.

FLORES, C. Y. et al. Spontaneous adsorption of silver nanoparticles on Ti/TiO2 surfaces. Antibacterial effect on Pseudomonas aeruginosa. **Journal of Colloid and Interface Science**, v. 350, n. 2, p. 402-408, 2010.

FORGACS, E.; CSERHATI, T.; OROS, G. Removal of synthetic dyes from wastewaters: a review. **Environment International**, v. 30, n. 7, p. 953-971, 2004.

GÓMEZ-ORDÓÑEZ, E.; RUPÉREZ, P. FTIR-ATR spectroscopy as a tool for polysaccharide identification in edible brown and red seaweeds. **Food Hydrocolloids**, v. 25, n. 6, p. 1514–1520, 2011.

GRINEVICIUS, V. M. A. S. **Avaliação da remediação de efluentes de uma indústria têxtil utilizando bioindicadores e biomarcadores**. 179 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-graduação em Biotecnologia - Universidade de Santa Catarina, Florianópolis, 2006.

GURUNATHAN, S.; KALISHWARALAL, K.; VAIDYANATHAN, R.; VENKATARAMAN, D.; PANDIAN, S. R. K.; MUNIYANDI, J.; HARIHARAN, N.; EOM, S. H. Biosynthesis, purification and characterization of silver nanoparticles using Escherichia coli. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 74, n. 1, p. 328-335, 2009.

HOUTMAN, C. J. Emerging contaminants in surface waters and their relevance for the production of drinking water in Europe. **Journal of Integrative Environmental Sciences**, v. 7, n. 4, p. 271-295, 2010.

HUSSEIN, Mohd Zobir; NASIR, Norashikin Mat; YAHAYA, Asmah Hj. Controlled release compound based on metanilate-layered double hydroxide nanohybrid. **Journal of Nanoscience and Nanotechnology**, v. 8, n. 11, p. 5921-5928, 2008

JIAO, T.; GUO, H.; ZHANG, Q.; PENG, Q.; TANG, Y.; YAN, X.; LI, B. Reduced graphene oxide-based silver nanoparticle-containing composite hydrogel as highly efficient dye catalysts for wastewater treatment. **Scientific Reports**, v. 5, p. 11873, 2015.

JORTNER, J.; RAO, C. N. R. Nanostructured advanced materials. Perspectives and directions. **Pure and Applied Chemistry**, v. 74, n. 9, p. 1491-1506, 2002.

KANTAMREDDI, V. S.; LAKSHMI, Y. N.; KASAPU, V. S. Preliminary phytochemical analysis of some important Indian plant species. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, v. 1, n. 4, p. B-358, 2010.

KARENTZ, Deneb. Ultraviolet tolerance mechanisms in Antarctic marine organisms. **Ultraviolet radiation in Antarctica: measurements and biological effects**, v. 62, p. 93-110, 1994.

KATO, K.; TERAO, S.; SHIMAMOTO, N.; HIRATA, M. Studies on scavengers of active oxygen species. 1. Synthesis and biological activity of 2-O-alkylascorbic acids. **Journal of Medicinal Chemistry**, v. 31, n. 4, p. 793-798, 1988.

KHAN, Tabrez A.; SHARMA, Sangeeta; ALI, Imran. Adsorption of Rhodamine B dye from aqueous solution onto acid activated mango (Magnifera indica) leaf powder: equilibrium, kinetic and thermodynamic studies. **Journal Toxicology and Environmental Health Science**, v. 3, n. 10, p. 286-297, 2011.

KHANDEGAR, V.; SAROHA, Anil K. Electrocoagulation for the treatment of textile

industry effluent–a review. **Journal of Environmental Management**, v. 128, p. 949-963, 2013.

KHATOON, U. T.; RAO, K. V.; RAO, J. R.; APARNA, Y. Synthesis and characterization of silver nanoparticles by chemical reduction method. In: **International Conference on Nanoscience, Engineering and Technology** (ICONSET 2011). IEEE, p. 97-99, 2011. KLABUNDE, K. J.; ERICKSON, L.; KOPER, O.; RICHARDS, R. Review of nanoscale materials in chemistry: environmental applications. In: Nanoscale Materials in Chemistry: Environmental Applications. **American Chemical Society**, p. 1-13. 2010.

KLABUNDE, K.J. **Nanoscale materials in Chemistry**. New York, John Wiley e Sons, 287 p. 2001.

KORBEE, N.; FIGUEROA, F. L.; AGUILERA, J. Acumulación de aminoácidos tipo micosporina (MAAs): biosíntesis, fotocontrol y funciones ecofisiológicas. **Revista Chilena de História Natural**, v. 79, n. 1, p. 119-132, 2006.

KUMAR, P.; SENTHAMIL SELVI, S.; LAKSHMI PRABHA, A.; PREM KUMAR, K.; GANESHKUMAR, R. S.; GOVINDARAJU, M. Synthesis of silver nanoparticles from Sargassum tenerrimum and screening phytochemicals for its antibacterial activity. **Nano Biomedicine end Engineering**, v. 4, n. 1, p. 12-16, 2012.

KUMARAN, P.; PARUCHURI, Y. L. Kinetics of phenol biotransformation. **Water Research**, v.31, n.1, p.11-22, 1997.

KUNZ, A.; ZAMORA, P.P.; MORAIS, S.G.; DURÁN, N. Novas tendências no tratamento de efluentes têxteis. **Química Nova**, v. 25, n. 1, p.78-82, 2002.

LAIA, A.G.S. **Estudo de filmes e hidrogéis a base de alginato e goma gelana visando aplicações na regeneração de discos intervertebrais**. 2015. 133 f. Dissertação (Mestrado), Programa de Pós-graduação em Engenharia de Materiais - Centro Federal de Educação Tecnológica de Minas Gerais, Belo Horizonte. 2015.

LAULLOO, S. J.; BHOWON, M. G.; CHUA, L. S.; GAUNGOO, H. Phytochemical screening and antioxidant properties of *Phyllanthus emblica* from Mauritius. **Chemistry of Natural Compounds**, v. 54, n. 1, p. 50-55, 2018.

LEAL, D.; MATSUHIRO, B.; ROSSI, M.; CARUSO, F. FT-IR spectra of alginic acid block fractions in three species of brown seaweeds. **Carbohydrate Research**, v. 343, n. 2, p. 308-316, 2008.

LEMARCHAND, C.; GREF, R.; COUVREUR, P. Polysaccharide – decorated nanoparticles. **European Journal of Phar maceutics and Biopharmaceutics**, v. 58, p. 327-341. 2004.

LEÓDIDO, A. C. M.; COSTA, L. E.; ARAÚJO, T. S.; COSTA, D. S.; SOUSA, N. A.; SOUZA, L. K.; SOUSA, F. B. M.; SOUSA FILHO, M. D.; VASCONCELOS, D. F. P.; SILVA, F. R. P.; NOGUEIRA, K. M.; ARAUJO, A. R.; BARROS, F. C. N.; PEREIRA, A. L.; FREITAS, J. V. R. Anti-diarrhoeal therapeutic potential and safety assessment of sulphated polysaccharide fraction from *Gracilaria intermedia* seaweed in mice. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 97, p. 34-45, 2017.

LI, B.; LU, F.; WEI, X.; ZHAO, R. Fucoidan: structure and bioactivity. **Molecules**, v. 13, n. 8, p. 1671-1695, 2008.

LI, S.; MA, X.; JIANG, Y.; CAO, X. Acetamiprid removal in wastewater by the low-temperature plasma using dielectric barrier discharge. **Ecotoxicology and Environmental Safety**, v. 106, p. 146-53, 2014.

LIU, J.; LEE, J. B.; KIM, D. H.; KIM, Y. Preparation of high concentration of silver colloidal nanoparticles in layered laponite sol. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 302, n. 1-3, p. 276-279, 2007.

LIU, T.; LI, Y.; DU, Q.; SUN, J.; JIAO, Y.; YANG, G.; ZHU, H. Adsorption of methylene blue from aqueous solution by graphene. **Colloids and Surfaces B: Biointerfaces**, v. 90, p. 197-203, 2012.

LUE, J. T. A review characterization and physical property studies of metallic nanoparticles. **Journal of Physics and Chemistry of Solids**, v. 62, n. 9-10, p. 1599–1612, 2001.

MA, Y.; ZHENG, Y. M.; CHEN, J. P. A zirconium-based nanoparticle for significantly enhanced adsorption of arsenate: synthesis, characterization and performance. **Journal of colloid and interface science**, v. 354, n. 2, p. 785-792, 2011.

MACIEL, J., CHAVES, L., SOUZA, B., TEIXEIRA, D., FREITAS, A., FEITOSA, J., e DEPAULA, R. Structural characterization of cold extracted fraction of soluble sulfated polysaccharide from red seaweed *Gracilaria birdiae*. **Carbohydrate Polymers**, v. 71, n. 4, p. 559–565, 2008.

MARINHO-SORIANO, E.; BOURRET, E. Effects of season on the yield and quality of agar from *Gracilaria* species (Gracilariaceae, Rhodophyta). **Bioresource Technology**, v. 90, n. 3, p. 329-333, 2003.

MARTÍNEZ-HUITLE, C. A.; BRILLAS, E. Descontaminação de águas residuárias contendo corantes orgânicos sintéticos por métodos eletroquímicos: uma revisão geral. **Catálise Aplicada B: Ambiental**, v. 87, n. 3-4, p. 105-145, 2009.

MASSIRONI, A.; MORELLI, A.; GRASSI, L.; PUPPI, D.; BRACCINI, S.; MAISETTA, G.; ESIN, S.; BATONI, G.; PINA, C. D.; CHIELLINI, F. Ulvan as novel reducing and stabilizing agent from renewable algal biomass: Application to green synthesis of silver nanoparticles. **Carbohydrate Polymers**, v. 203, p. 310-321, 2019

MASUKO, T.; MINAMI, A.; IWASAKI, N.; MAJIMA, T.; NISHIMURA, S. I.; LEE, Y. C. Carbohydrate analysis by a phenol–sulfuric acid method in microplate format. **Analytical biochemistry**, v. 339, n. 1, p. 69-72, 2005.

MEHR, F. P.; KHANJANI, M.; VATANI, P. Synthesis of nano-ag particles using sodium borohydride. **Oriental Journal of Chemistry**, v. 31, n. 3, p. 1831, 2015.

MELO JR, M. A.; SANTOS, L. S. S.; GONÇALVES, M. D. C.; NOGUEIRA, A. F. Preparação de nanopartículas de prata e ouro: um método simples para a introdução da nanociência em laboratório de ensino. **Química Nova, Sociedade Brasileira de Química**, v. 35, n. 9, p. 1872-1878, 2012.

MELO, C. P.; PIMENTA, M. Nanociências e Nanotecnologias. **Parcerias Estratégicas**, n. 18, p.9-22, 2004.

MILLER, R. J.; BENNETT, S.; KELLER, A. A.; PEASE, S.; LENIHAN, H. S. TiO2 nanoparticles are phototoxic to marine phytoplankton. **PlosOne**, v. 7, n. 1, 2012.

MOHAMMED, M. A.; SHITU, A.; IBRAHIM, A. Removal of methylene blue using low cost adsorbent: a review. **Research Journal of Chemical Sciences**, v. 2231, p. 606X, 2014.

MOHSEN, M. S. A.; MOHAMED, S. F.; ALI, F. M.; EL-SAYED, O. H. Chemical structure and antiviral activity of water-soluble sulfated polysaccharides from *Sargassum latifolium*. **Journal of Applied Sciences Research**, v. 3, p. 1178-1185, 2007.

MONTAGNER, C. C.; VIDAL, C.; ACAYABA, R. D. Contaminantes emergentes em matrizes aquáticas do Brasil: cenário atual e aspectos analíticos, ecotoxicológicos e regulatórios. **Química Nova**, v. 40, n. 9, p. 1094-1110, 2017.

MOREIRA, I.; SCHEEL, G. L.; HATUMURA, P. H.; SCARMINIO, I. S. Efeito do solvente na extração de ácidos clorogênicos, cafeína e trigonelina em *Coffea arabica*. **Química Nova**, v. 37, n. 1, p. 39-43, 2014.

MORETTO, E. **Tecnologia de óleos e gorduras vegetais na indústria de alimentos.** Livro Varela, 1998.

MOURA, R. E. **Síntese de nanopartículas à base de goma do cajueiro para aplicação em sistemas de liberação de fármacos.** 2009. 79 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, Ceará. 2009.

MOURÃO, H. A.; DE MENDONÇA, V. R.; MALAGUTTI, A. R.; RIBEIRO, C. Nanoestruturas em fotocatálise: uma revisão sobre estratégias de síntese de fotocatalisadores em escala nanométrica. **Química Nova**, v. 32, n. 8, p. 2181-2190, 2009.

MULFINGER, L.; SOLOMON, S. D.; BAHADORY, M.; JEYARAJASINGAM, A. V.; RUTKOWSKY, S. A.; BORITZ, C. Synthesis and study of silver nanoparticles. **Journal of Chemical Education**, v. 84, n. 2, p. 322, 2007.

NAHAR, S.; NAHAR, S.; HASAN, M. R.; KADHUM, A. A. H.; HASAN, H. A.; ZAIN, M. F. M. Photocatalytic degradation of organic pollutants over visible light active plasmonic Ag nanoparticle loaded Ag2SO3 photocatalysts. **Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry**, v. 375, p. 191-200, 2019.

NAMAZI, H.; FARZANEH FATHI, F.; HEYDARI, A. Nanoparticles based on modified polysaccharides. **The Delivery of Nanoparticles**, 2012.

NASCIMENTO, L. X.; ARAUJO R. T.; ALVAREZ, L. D. G. Contaminantes Organicos Emergentes: Impactos y Soluciones para la Salud Humana y el Medio Ambiente. **RECyT**, ano 17, n. 24, p. 28-34, 2015.

NAUMANN, A.; NAVARRO-GONZÁLEZ, M.; PEDDIREDDI, S.; KÜES, U.; POLLE, A. Fourier transform infrared microscopy and imaging: Detection of fungi in wood. **Fungal Genetics and Biology**, v. 42, n. 10, p. 829-835, 2005.

NETO, R.; MARÇAL, C.; QUEIRÓS, A.; ABREU, H.; SILVA, A.; CARDOSO, S. Screening of *Ulva rigida, Gracilaria* sp., *Fucus vesiculosus* and *Saccharina latissima* as Functional Ingredients. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 19, n. 10, p. 2987, 2018.

OGRETMEN, O. Y., DUYAR, H. A. The effect of different extraction methods and pretreatments on agar yield and physico-chemical properties of *Gelidium latifolium* (Gelidiaceae, Rhodophyta) from Sinop Peninsula Coast of Black Sea, Turkey. **Journal of Applied Phycology**, v. 30, n. 2, p. 1355-1360, 2018.

PARK, J. H.;, TADA, M.; KUZUM, D.; KAPUR, P.; YU, H. Y.; SARASWAT, K. C. Low temperature ($\leq 380^{\circ}$ C) and high performance Ge CMOS technology with novel source/drain by metal-induced dopants activation and high-k/metal gate stack for monolithic 3D integration. **IEEE International Electron Devices Meeting. IEEE**, p. 1-4. 2008.

PARVEEN, M.; AHMAD, F.; MALLA, A. M.; AZAZ, S. Microwave-assisted green synthesis of silver nanoparticles from *Fraxinus excelsior* leaf extract and its antioxidant assay. **Applied Nanoscience**, v. 6, n. 2, p. 267-276, 2016.

PATAKFALVI, R.; OSZKO, A.; DEKANY, I. Synthesis and characterization of silver nanoparticle/kaolinite composites. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, v. 220, n. 1-3, p. 45-54, 2003.

PEREIRA, L., AMADO, A. M., CRITCHLEY, A. T., VAN DE VELDE, F., RIBEIRO-CLARO, P. J. A. Identification of selected seaweed polysaccharides (phycocolloids) by vibrational spectroscopy (FTIR-ATR and FT-Raman). **Food Hydrocolloids**. v. 23, n. 7, p. 1903–1909, 2009.

PEREIRA, L.; GHEDA, S. F.; RIBEIRO-CLARO, P. J. Analysis by vibrational spectroscopy of seaweed polysaccharides with potential use in food, pharmaceutical, and cosmetic industries. **International Journal of Carbohydrate Chemistry**, v. 2013, p. 1-7, 2013.

PEREIRA, L.; SOUSA, A.; COELHO, H.; AMADO, A. M.; RIBEIRO-CLARO, P. J. Use of FTIR, FT-Raman and 13C-NMR spectroscopy for identification of some seaweed phycocolloids. **Biomolecular Engineering**, v. 20, n. 4-6, p. 223-228, 2003.

QUINA, F.H. Nanotecnologia e o meio ambiente: perspectivas e riscos. **Química Nova**, v. 27, n. 6, p. 1028-1029, 2004.

RAI, M.; YADAV, A.; GADE, A. Silver nanoparticles as a new generation of antimicrobials. **Biotechnology Advances**, v. 27, n. 1, p. 76–83, 2009.

RAJAN, A.; VILAS, V.; PHILIP, D. Catalytic and antioxidant properties of biogenic silver nanoparticles synthesized using *Areca catechu* nut. **Journal of Molecular Liquids**, v. 207, p. 231-236, 2015.

RAJIVGANDHI, G. N.; RAMACHANDRAN, G.; MARUTHUPANDY, M.; MANOHARAN, N.; ALHARBI, N. S.; KADAIKUNNAN, S.; KHALED, J. M.; ALMANA T. N.; LI, W. J. Anti-oxidant, anti-bacterial and anti-biofilm activity of biosynthesized silver nanoparticles using Gracilaria corticata against biofilm producing K. pneumoniae. **Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects**, p. 124830, 2020.

RATNAKAR A.; SHANKAR S.; SHIKHA. An overview of biodegradation of organic pollutants. **International Journal of Scientific and Innovative Research**. v.4, n. 1. 19 p. 2016.

REIS, S.E. **Polissacarídeos sulfatados da alga verde Ulva lactuca L: caracterização química parcial e análise das atividades anticoagulante, antitrombótica e anti-inflamatória.** 2016. 135 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas - Universidade Federal de Juiz de Fora, Faculdade de Farmácia e Bioquímica, Juiz de Fora. 2016.

RHEIN-KNUDSEN, N.; ALE, M. T.; MEYER, A. S. Seaweed hydrocolloid production: an update on enzyme assisted extraction and modification technologies. **Marine Drugs**, v. 13, n. 6, p. 3340-3359, 2015.

ROBINSON, T.; McMULLAN, G.; MARCHANT, R.; NIGAM, P. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Bioresource Technology**, v. 77, n. 3, p. 247-255, 2001.

ROCKENBACH, I. I.; SILVA, G. L. D.; RODRIGUES, E.; KUSKOSKI, E. M.; FETT, R. Influência do solvente no conteúdo total de polifenóis, antocianinas e atividade antioxidante de extratos de bagaço de uva (*Vitis vinifera*) variedades Tannat e Ancelota. **Food Science and Technology**, v. 28, p. 238-244, 2008.

RODRIGUES, J. A. G.; ARAÚJO, I. W. F.; PAULA, G. A.; BESSA, E. F.; LIMA, T. B.; BENEVIDES, N. M. B. Isolamento, fracionamento e atividade anticoagulante de iotacarragenanas da *Solieria filiformis*. **Ciência Rural**, v. 40, n. 11, 2010.

ROMERO, J. B.; VILLANUEVA, R. D.; MONTANO, M. N. E. Stability of agar in the seaweed *Gracilaria eucheumatoides* (Gracilariales, Rhodophyta) during postharvest storage. **Bioresource Technology**, v. 99, n. 17, p. 8151-8155, 2008.

SAHA, P.; DAS MISHRA, R. Adsorption of safranin onto chemically modified rice husk in a upward flow packed bed reactor: artificial neural network modeling. **Biotechnol. Adv**, v. 44, n. 1, p. 7579-7583, 2012.

SANTANA, J. S. **Determinação de contaminantes emergentes em mananciais de água bruta e na água para consumo humano do Distrito Federal**. 2013. 118 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Química - Universidade de Brasília, Brasília, 2013.

SANTOS, J. F. L.; SANTOS, M. J. L.; THESING, A.; TAVARES, F.; GRIEP, J.; RODRIGUES, M. R. F. Ressonância de plasmon de superfície localizado e aplicação em biossensores e células solares. **Química Nova**, v. 39, n. 9, p. 1098-1111, 2016.

SCHAFFAZICK, S. R.; GUTERRES, S. S.; FREITAS, L. L.; POHLMANN, A. R. S. R. Caracterização e estabilidade físico-química de sistemas poliméricos nanoparticulados para administração de fármacos. **Química Nova**, v. 26, n. 5, p. 726-737. 2003.

SCHMITZ, C.; BARUFI, J. F. MARASCHIN, M. **Compostos fotoprotetores que absorvem radiação uv-vis em algas pardas (phaeophyceae) da costa do brasil**. 2017. 94 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Biologia de Fungos, Algas e Plantas - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2017.

ŠILEIKAITĖ, A.; PUIŠO, J.; PROSYČEVAS, I.; TAMULEVIČIUS, S. Investigation of silver nanoparticles formation kinetics during reduction of silver nitrate with sodium citrate. **Materials Science (Medžiagotyra)**, v. 15, n. 1, p. 21-27, 2009.

SILVA, C. G. A. D.; COLLINS, C. H. Aplicações de cromatografia líquida de alta eficiência para o estudo de poluentes orgânicos emergentes. **Química Nova**, v. 34, n. 4, p. 665-676, 2011.

SINGH, P.; BORTHAKUR, A. A review on biodegradation and photocatalytic degradation of organic pollutants: A bibliometric and comparative analysis. **Journal of Cleaner Production**, v. 196, p. 12, 2018.

SOLTANI, N.; SAION, E.; HUSSEIN, M. Z.; ERFANI, M.; ABEDINI, A.; BAHMANROKH, G.; NAVASERY, M.; VAZIRI, P. Visible light-induced degradation of methylene blue in the presence of photocatalytic ZnS and CdS nanoparticles. **International Journal Molecular Sciences**, v. 13: p. 12242-58, 2012a.

_____. Visible light-induced degradation of methylene blue in the presence of photocatalytic ZnS and CdS nanoparticles. **International Journal Molecular Sciences**, v. 13, n. 10, p. 12242-58, 2012b.

SONG, H.; ELE, M.; GU, C.; WEI, D.; LIANG, Y.; YAN, J.; WANG, C. Otimização de Extração, Purificação, Atividade Antioxidante e Caracterização Estrutural Preliminar do Polissacarídeo Bruto de uma *Chlorella* sp. ártica. **Polímeros**, v. 10, n. 3, p. 292, 2018.

SONG, K. C.; LEE, S. M.; PARK, T. S.; LEE, B. S. Preparation of colloidal silver nanoparticles by chemical reduction method. **Korean Journal of Chemical Engineering**, v. 26, n. 1, p. 153-155, 2009.

SONG, Y. J.; KIM, S. B. Rapid biological synthesis of silver nanoparticles using plant leaf extracts. **Bioprocess and Biosystems Engineering**, v. 32, n. 1, p. 79, 2009.

SOUSA, C. L. **Polissacarídeos de Alga Marinha** *Gracilaria birdiae* (**Plastino e Oliveira**): **Estrutura e Avaliação Toxicológica**. 2008. 81 f. Dissertação (Mestrado). Programa de Pós-Graduação em Bioquímica - Universidade Federal do Ceará, Centro de Ciências, Fortaleza. 2008.

SRINIVASAN, A.; VIRARAGHAVAN, T. Decolorization of dye wastewaters by biosorbents: a review. **Journal of Environmental Management**, v. 91, n. 10, p. 1915-29, 2010.

SUGAWARA, T.; BASKARAN, V.; TSUZUKI, W.; NAGAO, A. Brown algae fucoxanthin is hydrolyzed to fucoxanthinol during absorption by Caco-2 human intestinal cells and mice. **The Journal of Nutrition**, v. 132, n. 5, p. 946-951, 2002.

TARGETT, N. M.; BOETTCHER, A. A.; TARGETT, T. E.; VROLIJK, N. H. Tropical marine herbivore assimilation of phenolic-rich plants. **Oecologia**, v. 103, n. 2, p. 170-179, 1995.

TKACZYK, A.; MITROWSKA, K.; POSYNIAK, A. Synthetic organic dyes as contaminants of the aquatic environment and their implications for ecosystems: A review. **Scicence of the Total Environmental**, v. 717, p. 137222, 2020.

TOLEDO, A. M. N.; SOARES, L. A. S. Bionanopartículas: Principais Aspectos E Aplicações da Matéria Orgânica em Escala Nanométrica. **Holos**, v. 1, p. 340-349, 2016.

TORRES, P.; SANTOS, J. P.; CHOW, F.; DOS SANTOS, D. Y. A comprehensive review of traditional uses, bioactivity potential, and chemical diversity of the genus *Gracilaria* (Gracilariales, Rhodophyta). **Algal Research**, v. 37, p. 288-306, 2019.

TUAN, Tran Quoc et al. Preparation and properties of silver nanoparticles loaded in activated carbon for biological and environmental applications. Journal of Hazardous Materials, v. 192, n. 3, p. 1321-1329, 2011.

USKOKOVIC, V. Nanotechnologies: What we do not know. **Technology in Society**, v. 29, n. 1, p. 43-61, 2007.

VANDERLEI, E. D. S. O.; DE ARAÚJO, I. W. F.; QUINDERÉ, A. L. G.; FONTES, B. P.; ELOY, Y. R. G.; RODRIGUES, J. A. G.; SILVA, A. A. R.; CHAVES, H. V.; JORGE, R. J. B.; MENEZES, D. B.; EVANGELISTA, J. S. A. M.; BEZERRA, M. M.; BENEVIDES, N. M. B. The involvement of the HO-1 pathway in the anti-inflammatory action of a sulfated polysaccharide isolated from the red seaweed *Gracilaria birdiae*. **Inflammation Research**, v. 60, n. 12, p. 1121-1130, 2011.

VASANTHARAJA, R.; STANLEY ABRAHAM, L.; GOPINATH, V.; HARIHARAN, D.; SMITA, K. M. Attenuation of oxidative stress induced mitochondrial dysfunction and cytotoxicity in fibroblast cells by sulfated polysaccharide from *Padina gymnospora*. **International Journal of Biological Macromolecules**.v.124, p. 50–59, 2019.

VASCONCELOS, A. G. **Avaliação da atividade anti-inflamatória de frações de licopeno da goiaba (Psidium guajava L.).** 2015. 69 f. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia - Universidade Federal do Piauí, Parnaíba, Piauí. 2015.

VAZQUEZ-DELFIN, E.; ROBLEDO, D.; FREILE-PELEGRIN, Y. Microwave-assisted extraction of the Carrageenan from *Hypnea musciformis* (Cystocloniaceae, Rhodophyta). **Journal of Applied Phycology**, v. 26, n. 2, p. 901-907, 2014.

VELEZ, C. R. P. Nanopartículas de prata na presença de ácido húmico em meio aquoso: caracterização físico-química e avaliação toxicológica em modelo zebrafish (Danio rerio). 2017. 175 f. Tese (Doutorado em BIOLOGIA Animal) – Universidade de Brasília, Brasília, 2017.

VU, X. H.; DUONG, T. T. T.; PHAM, T. T. H.; TRINH, D. K.; NGUYEN, X. H.; DANG, V. S. Synthesis and study of silver nanoparticles for antibacterial activity against *Escherichia coli* and *Staphylococcus aureus*. Advances in Natural Sciences: Nanoscience and Nanotechnology, v. 9, n. 2, p. 025019, 2018.

WEBER, Cornelius I. et al. (Ed.). **Methods for measuring the acute toxicity of effluents and receiving waters to freshwater and marine organisms**. Washington, DC: Environmental Monitoring Systems Laboratory, Office of Research and Development, US Environmental Protection Agency, 1991, p. 293. YU, C.; TANG, J.; LIU, X.; REN, X.; ZHEN, M.; WANG, L. Green Biosynthesis of Silver Nanoparticles Using *Eriobotrya japonica* (Thunb.) Leaf Extract for Reductive Catalysis. **Materials**, v. 12, n. 1, p. 189, 2019.

ZOLLINGER, H. Color chemistry, synthesis, properties and application of organic dyes and pigments. Weinheim, New York, p. 367, 1987.

•

APENDICE

Preparo de soluções e reagentes utilizados na prospecção fitoquímica qualitativa

Nota: Protocolo extraído do Manual para análise fitoquímica e cromatográfica de extratos vegetais indexado no periódico **Revista Científica da UFP** (BARBOSA et al., 2004).

I. <u>Reativo de Pascová para ácidos orgânicos:</u>

Soluções A: dissolver em 100 mL de Etanol 0,075 g de verde de bromocresol e 0,25 g de azul de bromofenol.

Solução B: dissolver em 100 mL de água destilada, 0,25 g permanganato de potássio (KMnO₄) e 0,25 g de carbonato de sódio (Na₂CO₃).10H₂O.

Misturar 9 partes de A para 1 parte de B, somente no momento de usar.

II. <u>Reativo de Fehling para açúcares redutores:</u>

Solução A: dissolver 34,65 g de sulfato de cobre (CuSO₄) em água destilada e completar o volume para 500 mL.

Solução B: dissolver 173 g de tartarato de sódio e potássio (KNaC₄H₄O₆.4H₂O) e 125 g de hidróxido de potássio (KOH) em água destilada e diluir para 500 mL.

Utilizar na proporção de 2 mL de A, para 2 mL de B.

III. <u>Reativo de BOUCHARDAT para Alcaloides:</u>

Dissolver 4 g de iodeto de potássio (KI) 2 g de iodo ressublimado em 100 mL de água destilada.

IV. <u>Reativo de DRAGENDORFF para Alcaloides:</u>

Solução A: dissolver 8 g de subnitrato de bismuto (Bi₅O₂₂H₄.N₄) em 20 mL de Ácido Acético.

Solução B: dissolver 27,2 g de iodeto de potássio (KI) em 50 mL de água destilada. Adicionar aos poucos a solução A sobre a solução B.

V. <u>Lugol:</u>

Dissolver 10 g de iodeto de potássio (KI) e 5 g de iodo em 50 mL de água destilada e completar o volume para 100 mL.

Resultados complementares da pesquisa



Figura 28. Curvas de calibração dos padrões D-glucose (a) e Quercetina (b).



Figura 29. Curva dose-resposta para atividade antioxidante do padrão L-ácido ascórbico.



Figura 30. Representação gráfica da distribuição dos valores do teor de açúcar redutor para as amostras de EABs e FHSs oriundas de algas marinhas. Letras distintas entre os valores indicam diferenças significativa (ANOVA unifatorial, teste Post Hoc de comparação de média de Tukey com p < 0.05).

Tabela 10.	Resultados	da análi	se da	variância	a realizada	para avalia	ar se há	dife	erenças	quar	nto a	o teor	de açúca	ares redutores	presentes of	em cada a	mostras.
	a		1 * 1		2	1	1	1		~	1		/ 11	Б		L	

	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F calculado	F crítico
Modelo	5	181,250444	36,250089	6,116834	4,04E-03
Erro	12	711,154	592,628		
Total	17	188,361983			

* p < 0.05

Tabela 11. Resultado de ANOVA unifatorial para a investigação das diferenças entre os valores de IC₅₀ (DPPH) das amostras de EABs e FHSs.

Tabela 11. Res	Tabela 11 . Resultado de ANOVA unifatorial para a investigação das diferenças entre os valores de IC ₅₀ (DPPH) das amostras de EABs e FHSs.										
	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F calculado	F crítico						
Modelo	5	16,547712	3,309542	25,478934	9,57E-07						
Erro	12	155,872	0,12989								
Total	17	16,703583									

* p < 0.05

Tabela 12. Resultado da análise de comparação de médias teste Post Hoc de Tukey para os valores de IC₅₀ (DPPH) dos EABs e FHSs.

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig*	LCL	UCL
EAB - P EAB - G	-1,293	0,29427	6,21392	0,00875	0,05	1	-2,28143	-0,30457
EAB - U EAB - G	1,186	0,29427	5,6997	0,01611	0,05	1	0,19757	2,17443
EAB - U EAB - P	2,479	0,29427	11,91362	2,5503E-5	0,05	1	1,49057	3,46743
FHS - G EAB - G	7,983	0,29427	38,36484	0	0,05	1	6,99457	8,97143
FHS - G EAB - P	9,276	0,29427	44,57876	0	0,05	1	8,28757	10,26443
FHS - G EAB - U	6,797	0,29427	32,66514	0	0,05	1	5,80857	7,78543
FHS - P EAB - G	0,513	0,29427	2,46538	0,53167	0,05	0	-0,47543	1,50143
FHS - P EAB - P	1,806	0,29427	8,67931	5,5551E-4	0,05	1	0,81757	2,79443
FHS - P EAB - U	-0,673	0,29427	3,23432	0,2703	0,05	0	-1,66143	0,31543
FHS - P FHS - G	-7,47	0,29427	35,89946	0	0,05	1	-8,45843	-6,48157
FHS - U EAB - G	3,28933	0,29427	15,80794	1,18369E-6	0,05	1	2,3009	4,27777
FHS - U EAB - P	4,58233	0,29427	22,02186	9,73818E-7	0,05	1	3,5939	5,57077
FHS - U EAB - U	2,10333	0,29427	10,10824	1,32195E-4	0,05	1	1,1149	3,09177
FHS - U FHS - G	-4,69367	0,29427	22,55691	9,92648E-7	0,05	1	-5,6821	-3,70523
FHS - U FHS - P	2,77633	0,29427	13,34255	7,77667E-6	0,05	1	1,7879	3,76477

* Sig igual a 1 indica que a diferença de médias é significativa no nível 0,05 Sig igual a 0 indica que a diferença de médias não é significativa no nível 0,05

Tabela 13. Resultados da análise da variância (ANOVA bifatorial) realizada para avaliar o efeito do tipo de estabilizante e da quantidade inicial de borohidreto de sódio sobre o valor de IC₅₀ das suspensões coloidais de prata.

Origem da variação	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F calculado	F crítico
Tipo de estabilizante	3	55388,82385	18462,94128	480,91441	0
Concentração do sal redutor	2	26353,9733	13176,98665	343,22824	0
Interação	6	22762,04867	3793,67478	98,81594	9,99201E-16
Modelo	11	104504,84581	9500,44053	247,46321	0
Erro	24	921,39179	38,39132		
Total	35	105426,2376			
* p < 0,05.					

Tabela 14. Resultado da análise de comparação de médias teste Post Hoc de Tukey para avaliar o efeito do fator A sobre os valores de IC₅₀.

Tipo de agente estabilizante	Dif. Média	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig*	LCL	UCL
Fração isolada de Gracilaria sp. vs Ausencia de derivados de alga marinha	-94,68229	2,92086	45,84305	4,44027E-7	0,05	1	-102,73979	-86,62479
Fração isolada de Padina sp. vs Ausencia de derivados de alga marinha	-57,76258	2,92086	27,96735	0	0,05	1	-65,82008	-49,70507
Fração isolada de Padina sp. vs Fração isolada de Gracilaria sp.	36,91971	2,92086	17,8757	0	0,05	1	28,86221	44,97722
Fração isolada de Ulva sp. vs Ausencia de derivados de alga marinha	-96,99636	2,92086	46,96347	4,54843E-7	0,05	1	-105,05386	-88,93886
Fração isolada de Ulva sp. vs Fração isolada de Gracilaria sp.	-2,31407	2,92086	1,12042	0,85724	0,05	0	-10,37157	5,74343
Fração isolada de Ulva sp. vs Fração isolada de Padina sp.	-39,23378	2,92086	18,99612	0	0,05	1	-47,29128	-31,17628

* Sig igual a 1 indica que a diferença de médias é significativa no nível 0,05 Sig igual a 0 indica que a diferença de médias não é significativa no nível 0,05

Concentração do sal redutor	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig*	LCL	UCL
100 50	19,47244	2,52954	10,88666	1,09883E-7	0,05	1	13,15547	25,78942
200 50	64,59845	2,52954	36,11571	0	0,05	1	58,28148	70,91543
200 100	45,12601	2,52954	25,22906	0	0,05	1	38,80904	51,44299

Tabela 15. Resultado da análise de comparação de média Post Hoc de Tukey para avaliar o efeito do fator B.

* Sig igual a 1 indica que a diferença de médias é significativa no nível 0,05

Sig igual a 0 indica que a diferença de médias não é significativa no nível 0,05

Tabela 16. Resultado da análise de variância (ANOVA unifatorial) para a investigação das diferenças entre os grupos de AgNPs sintetizas com polissacarídeos extraídos das espécies Gracilaia e Ulva.

	Graus de liberdade	Soma dos quadrados	Quadrado médio	F calculado	F crítico
Modelo	5	29,444102	588,882	14,241002	2,97E-05
Erro	12	496,214	0,41351		
Total	17	29,940315			
* 0.05					

* $\alpha = 0.05$.

Tabela 17. Resultado da análise de comparação de médias teste Post Hoc de Tukey para avaliar o efeito entre os grupos de AgNPs sintetizas com polissacarídeos extraídos das espécies Gracilaia e Ulva.sobre os valores de IC_{50.}

	MeanDiff	SEM	q Value	Prob	Alpha	Sig*	LCL	UCL
AgNP G02 AgNP G01	3,1641	0,52505	8,52251	6,55189E-4	0,05	1	1,40051	4,92769
AgNP G03 AgNP G01	5,20782	0,52505	14,02726	4,53585E-6	0,05	1	3,44423	6,97141
AgNP G03 AgNP G02	2,04372	0,52505	5,50475	0,02033	0,05	1	0,28013	3,80731
AgNP U01 AgNP G01	-6,39529	0,52505	17,2257	4,03744E-7	0,05	1	-8,15888	-4,6317
AgNP U01 AgNP G02	-9,55939	0,52505	25,7482	9,83843E-8	0,05	1	-11,32298	-7,7958
AgNP U01 AgNP G03	-11,60311	0,52505	31,25295	0	0,05	1	-13,3667	-9,83952
AgNP U02 AgNP G01	2,25253	0,52505	6,06718	0,01041	0,05	1	0,48894	4,01612
AgNP U02 AgNP G02	-0,91158	0,52505	2,45533	0,53567	0,05	0	-2,67517	0,85201
AgNP U02 AgNP G03	-2,95529	0,52505	7,96008	0,0012	0,05	1	-4,71888	-1,1917
AgNP U02 AgNP U01	8,64781	0,52505	23,29287	2,38305E-7	0,05	1	6,88422	10,4114
AgNP U03 AgNP G01	5,57248	0,52505	15,00947	2,14664E-6	0,05	1	3,80889	7,33607
AgNP U03 AgNP G02	2,40838	0,52505	6,48696	0,00635	0,05	1	0,64479	4,17197
AgNP U03 AgNP G03	0,36466	0,52505	0,98221	0,97911	0,05	0	-1,39893	2,12825
AgNP U03 AgNP U01	11,96777	0,52505	32,23516	0	0,05	1	10,20418	13,73136
AgNP U03 AgNP U02	3,31995	0,52505	8,94229	4,22552E-4	0,05	1	1,55636	5,08354

* Sig igual a 1 indica que a diferença de médias é significativa no nível 0,05 Sig igual a 0 indica que a diferença de médias não é significativa no nível 0,05



Figura 31. Curvas de cinética de redução química dos corantes AM (A, B, C e D) e VB (E, F, G e H) na ausência (A e E) e na presença de AgNPs ausentes de derivados de algas marinhas (B, C, D, F, G e H). Modelos de ordem zero, pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.



Figura 32. Curvas de cinética de redução química do corante AM na ausência de AgNPs. (A, B e C) AgNPs sintetizadas na presença de polissacarídeos isolados da macroalga *Gracilaria* sp.; (D, E e F) AgNPs sintetizadas na presença de polissacarídeos isolados da macroalga *Padina* sp., (G, H e I) AgNPs sintetizadas na presença de polissacarídeos isolados da macroalga *Ulva* sp. Modelos de ordem zero, pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.



Figura 33. Curvas de cinética de redução química do corante VB na ausência de AgNPs. (A, B e C) AgNPs sintetizadas na presença de polissacarídeos isolados da macroalga *Gracilaria* sp.; (D, E e F) AgNPs sintetizadas na presença de polissacarídeos isolados da macroalga *Padina* sp., (G, H e I) AgNPs sintetizadas na presença de polissacarídeos isolados da macroalga *Ulva* sp. Modelos de ordem zero, pseudo-primeira ordem e pseudo-segunda ordem.

ANEXOS

Anexos dos registros dos exemplares de algas no Sistema Nacional de Gestão do Patrimônio Genético e do Conhecimento Tradicional Associado - SisGen.