

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL
CURSO DE MESTRADO**

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE MACROALGAS NO
REVESTIMENTO DE FILÉS DE ROBALO CONGELADO E
RESFRIADO**

Antonia Vicentina Nunes Rodrigues

**CRUZ DAS ALMAS/BA
MAIO/2017**

UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE MACROALGAS NO REVESTIMENTO DE FILÉS DE ROBALO CONGELADO E RESFRIADO

Antonia Vicentina Nunes Rodrigues
Engenheira de Pesca
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2014

Dissertação apresentada ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Ciência Animal da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Ciência Animal.

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Norma Suely Evangelista Barreto
Coorientadora: Prof^a. Dr^a. Carla Fernandes Macedo

**CRUZ DAS ALMAS/BA
2017**

FICHA CATALOGRÁFICA

| | |
|-------|---|
| R886u | <p>Rodrigues, Antonia Vicentina Nunes. Utilização de extratos de macroalgas no revestimento de filés de robalo congelado e resfriado / Antonia Vicentina Nunes Rodrigues._ Cruz das Almas, BA, 2017. 89f.; il.</p> <p>Orientadora: Norma Suely Evangelista-Barreto. Coorientadora: Carla Fernandes Macedo.</p> <p>Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas.</p> <p>1.Alimentos – Pescado – Qualidade. 2.Pescado – Microbiologia. 3.Produutos de ação antimicrobiana – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.</p> <p>CDD: 664.94</p> |
|-------|---|

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

**UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS GRADUAÇÃO EM CIÊNCIA ANIMAL**

**UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE MACROALGAS NO
REVESTIMENTO DE FILÉS DE ROBALO CONGELADO E
RESFRIADO**

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Antonia Vicentina Nunes Rodrigues

Aprovada em: 19 de maio de 2017

Prof.^a Dr^a Norma Suely Evangelista-Barreto
Orientadora
UFRB

Dr^a Eliseth de Souza Viana
Examinador Externo
EMBRAPA

Prof.^a Dr^a Talita Lopes Honorato
Examinador Externo
UFRB

DEDICATÓRIA

A minha avó materna Francelina Machado (sempre presente) que nos deixou antes que este trabalho fosse finalizado, sua alegria, jovialidade e empoderamento serão meu alicerce. Saudades eternas!

AGRADECIMENTOS

A Deus pelo dom da vida, por guiar meus passos e intuir minhas decisões, por me dar força e sabedoria para concluir mais uma etapa.

Aos meus pais e toda minha família pelo amor e ensinamentos, em especial minha mãe Mércia Machado, por ser exemplo de fé, minha melhor amiga, por sempre me apoiar e não me deixar desanimar frente aos obstáculos.

Ao meu irmão Ivan Carlos, pelo apoio e confiança.

Ao meu namorado Adilon Santos, pelo carinho e incentivo.

A minha cunhada Tássia Amaral Rocha pelo companheirismo e conselhos.

A minha orientadora Prof.^a Dr.^a Norma Suely Evangelista-Barreto pela atenção, dedicação, confiança e pelos conhecimentos compartilhados ao longo desses dois anos.

A minha co-orientadora Prof.^a Dr.^a Carla Fernandes Macedo pelo incentivo e contribuição na orientação deste trabalho.

A Simone Teles pela amizade e por contribuir diretamente com as análises de oxidação in vitro e a Prof.^a Dr.^a Franceli pela disponibilidade de reagentes e do laboratório de Fitoquímica e, a todos os integrantes deste laboratório que me ajudaram de alguma forma.

Aos amigos que conquisei no Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental - LABMAA do Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura (NEPA): Vaneza, Noely, Elaine, Brenda, Jéssica, Iara, Aline e Manu. Muito obrigada pelos diversos momentos de alegria, companheirismo, amizade e ajuda durante todo o período de realização deste projeto.

A Stella Bispo pela ajuda com as coletas e identificação das espécies de algas.

Aos amigos Beatriz e Joeliton pela amizade e incentivo.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de auxílio.

A todos, muito obrigada!

EPÍGRAFE

“Mas aqueles que esperam no SENHOR renovam suas forças. Voam alto
como águias; correm e não se fatigam, caminham e não se cansam”
Isaías 40:31

UTILIZAÇÃO DE EXTRATOS DE MACROALGAS NO REVESTIMENTO DE FILÉS DE ROBALO CONGELADO E RESFRIADO

Antonia Vicentina Nunes Rodrigues, Carla Fernandes Macedo, Norma Suely Evangelista-Barreto

RESUMO: Este trabalho visou analisar o efeito antimicrobiano e antioxidante de extratos de macroalgas, para conservar filés de robalo como alternativa ao uso de aditivos sintéticos. Espécies de macroalgas foram coletadas no banco natural da praia de Manguinhos, Itaparica – BA e, encaminhadas sob refrigeração para a Universidade Federal do Recôncavo da Bahia para triagem, identificação e herborização, secagem em estufa (40°C), moagem e extração com etanol por meio da maceração a frio por 72 h. A atividade antimicrobiana foi determinada pela concentração inibitória mínima (CIM), frente a *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Salmonella enterica* sorotipo Enteritides ATCC13076, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* CERELA e *Enterococcus faecalis*. Para verificar a atividade antimicrobiana na matriz alimentar utilizou-se filés revestidos com alginato de sódio a 1% adicionado do extrato da macroalga, os tratamentos foram mantidos sob refrigeração por um período de 10 dias, sendo realizadas análises microbiológicas nos dias 1, 3, 5, 7 e 10 em triplicata. Foram analisadas a atividade antioxidante dos extratos usando os métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e ABTS [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], teor de flavonoides, tanino esteroides/triterpenoide, saponina e alcaloides. A solução de revestimento foi obtida usando alginato de sódio a 1% + 20 mg.mL⁻¹ do extrato de *P. gymnospora*. O monitoramento microbiológico e físico-químico foi realizado nos intervalos T0, T30, T60, T90 e T120 dias. Ao final foi realizada análise sensorial para verificar se o extrato da macroalga influenciava no grau de aceitação dos filés de peixe. Os peixes foram adquiridos no município de Canavieiras-BA e encaminhados em caixas isotérmicas para UFRB onde foram processados. Dentre os microrganismos testados na CIM *S. aureus* se mostrou o mais sensível ao ser inibido por quatro extratos, tendo *P. gymnospora* apresentado maior inibição. Todos os extratos testados apresentaram efeito bacteriostático. Na matriz alimentar, houve redução da população microbiana de 3 ciclos logarítmicos para *L.monocytoges* (24 h) e para *S. aureus* (72 h). Os ensaios químicos DPPH e ABTS mostraram que todos os extratos analisados apresentaram biocompostos com capacidade de sequestrar radicais livres, sendo que foi *P. gymnospora* que apresentou maior atividade antioxidante, conteúdo de compostos fenólicos e compostos fitoquímicos identificados. Durante 120 dias de armazenamento o extrato da *P. gymnospora* apresentou potencial semelhante ao aditivo químico BHT. Estes resultados evidenciam que o extrato etanólico de *P. gymnospora* pode ser utilizado como alternativa ao uso de aditivos sintéticos quanto a atividade antioxidante.

Palavras chave: Antimicrobiano; Antioxidante; Conservação; Pescado; Qualidade

UTILIZATION OF SEAWEED EXTRACTS IN THE COATING OF ROBALO FILLET FROZEN AND COOLED

Antonia Vicentina Nunes Rodrigues, Carla Fernandes Macedo, Norma Suely Evangelista-Barreto

ABSTRACT: This work aimed to analyze the antimicrobial and antioxidant effects of seaweed extracts to preserve fillet of robalo as an alternative to the use of synthetic additives. Species of seaweed were collected at the natural bank of the beach of Manguinhos, Itaparica, Bahia, and sent to the Federal University of the Recôncavo da Bahia for sorting, identification and herborization, drying in a greenhouse (40°C), grinding and ethanol extraction of cold maceration for 72 h. The antimicrobial activity was determined by the minimum inhibitory concentration (MIC) against *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Salmonella enterica* serotype Enteritidis ATCC13076, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* CERELA and *Enterococcus faecalis*. In order to verify the antimicrobial activity in the food matrix, fillets coated with 1% sodium alginate added to the seaweed extract were used, the treatments were kept under refrigeration for a period of 10 days, and microbiological tests were performed on days 1, 3, 5, 7 and 10 in triplicate. The antioxidant activity of the extracts was analyzed using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS [2,2'-azinobis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)], flavonoid content, tannin steroids / triterpenoid, saponin and alkaloids. The coating solution was obtained using 1% sodium alginate + 20 mg.mL⁻¹ extract of *P. gymnospora*. Microbiological and physicochemical monitoring was performed at intervals T0, T30, T60, T90 and T120 days. At the end, sensorial analysis was carried out to verify if the extract of the seaweed influenced the degree of acceptance of the fish fillets. The fish were purchased in the municipality of Canavieiras-BA and sent in isothermal boxes to UFRB where they were processed. Among the microorganisms tested in MIC *S. aureus* showed the most sensitive to be inhibited by four extracts, with *P. gymnospora* presented greater inhibition. All extracts tested had a bacteriostatic effect. In the food matrix, there was a reduction of the microbial population of 3 logarithmic cycles for *L. monocytogenes* (24 h) and for *S. aureus* (72 h). The chemical tests DPPH and ABTS showed that all the analyzed extracts presented biocomposites with capacity to sequester free radicals, being that *P. gymnospora* that presented greater antioxidant activity, content of phenolic compounds and identified phytochemical compounds. During 120 days of storage the extract of *P. gymnospora* showed similar potential to the chemical additive BHT. These results show that the ethanolic extract of *P. gymnospora* can be used as an alternative to the use of synthetic additives for antioxidant activity.

Keywords: Antimicrobial; Antioxidant; Conservation; Fish; Quality

LISTA DE ABREVIATURAS

ABTS - radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)

ANOVA – Análise de Variância

BHI – Brain Heart Infusion

BHT – Butil hidroxi tolueno

CBM – Concentração Bactericida Mínima

CIM – Concentração Inibitória Mínima

CLO - Cloranfenicol

CLSI – National Committee for Clinical Laboratory Standard

DIC – Delineamento Inteiramente Casualizado

DNA - Ácido desoxirribonucleico

DPPH - radical (2,2-Diphenyl-picrilhidrazil)

g – grama

h – horas

Log - Logarítimo

MDA - Malondialdeído

mg/kg – miligrama por quilo

min – minuto

mL – mililitro

mm – milímetro

NaCl - Cloreto de sódio

NEPA – Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura

°C - Grau Celsius

pH – Potencial hidrogeniônico

pH- Potencial hidrogeniônico

rpm – rotação por minuto

SRTAB – Substâncias Reativas ao Tiobarbitúrico

UFC – Unidade Formadora de Colônia

UFRB - Universidade Federal do Recôncavo da Bahia

µL – microlitro

µm – micrômetro

SUMÁRIO

| | |
|--|-----------|
| 1 INTRODUÇÃO | 1 |
| 1 REVISÃO DE LITERATURA..... | 3 |
| 2.1 Produção de pescado | 3 |
| 1.2 Composição química e consumo do pescado | 5 |
| 1.3 Robalo (Gênero <i>Centropomus</i>)..... | 6 |
| 1.4 Deterioração do pescado e oxidação lipídica | 7 |
| 1.5 Algas marinhas | 9 |
| 1.6 Composição química das algas..... | 12 |
| 1.7 Potencial bioativo das algas | 14 |
| 1.7.1 Atividade antioxidante | 16 |
| 1.7.2 Atividade antimicrobiana..... | 18 |
| 1.8 Revestimento edível | 19 |
| CAPÍTULO 1 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE MACROALGAS E SUA APLICAÇÃO NO REVESTIMENTO DE FILÉS DE PEIXE | |
| 21 | |
| 1 INTRODUÇÃO | 22 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 25 |
| 2.1 Coleta e triagem..... | 25 |
| 2.3 Herborização..... | 26 |
| 2.4 Preparação dos extratos..... | 26 |
| 2.5 Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos etanólicos das algas .. | 27 |
| 2.5.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) | 27 |
| 2.5.3 Concentração Bactericida Mínima (CBM)..... | 28 |
| 2.6 Solução de revestimento | 28 |
| 2.7 Atividade antimicrobiana do extrato etanólico da macroalga <i>Padina gymnospora</i> na matriz alimentar | 29 |
| 2.8 Análise estatística | 29 |
| 3 RESULTADOS E DISCUSSÃO | 30 |
| 3.1 Coleta, herborização e rendimento..... | 30 |
| 3.2 Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos etanólicos das algas .. | 31 |
| 3.2.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM) | 31 |
| 3.2.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM) | 34 |

| | |
|---|----|
| 3.3 Atividade antimicrobiana do extrato etanólico da macroalga <i>Padina gymnospora</i> na matriz alimentar | 35 |
| 4 CONCLUSÃO | 37 |
| 2 REFERÊNCIAS | 38 |
| CAPÍTULO 2 – USO DE EXTRATO DE MACROALGA NO REVESTIMENTO DE FILÉS DE PEIXE (<i>CENTROPOMUS SP.</i>) PARA MINIMIZAR A OXIDAÇÃO LIPÍDICA | |
| 42 | |
| 1 INTRODUÇÃO | 43 |
| 2 MATERIAL E MÉTODOS..... | 45 |
| 2.1 Coleta, triagem e herborização das macroalgas | 45 |
| 2.2. Preparação dos extratos..... | 46 |
| 2.3. Atividade antioxidante in vitro dos extratos etanólicos das algas | 47 |
| 2.3.1 Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH | 47 |
| 2.3.2 Atividade sequestradora do radical ABTS (ABTS+) | 47 |
| 2.4. Determinação dos diferentes grupos de compostos fenólicos | 48 |
| 2.5. Triagem fitoquímica..... | 49 |
| 2.6. Atividade antioxidante do extrato etanólico da macroalga <i>Padina gymnospora</i> na matriz alimentar | 50 |
| 2.6.1. Análises microbiológicas | 51 |
| 2.6.2. Análises físico-químicas | 51 |
| 2.8.3 Análise sensorial | 51 |
| 2.8. Análise estatística | 52 |
| 3 RESULTADOS..... | 53 |
| 3.1 Coleta, herborização e rendimento..... | 53 |
| 3.2 Atividade antioxidante in vitro dos extratos etanólicos das algas | 53 |
| 3.3 Determinação de diferentes grupos de compostos fenólicos..... | 55 |
| 3.4 Triagem fitoquímica..... | 56 |
| 3.5 Atividade antioxidante do extrato etanólico da macroalga <i>Padina gymnospora</i> na matriz alimentar | 57 |
| 3.5.1 Oxidação lipídica | 57 |
| 3.5.2 Análise microbiológica | 58 |
| 3.5.3 Análise sensorial | 59 |
| 3.5.4 Composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas e lipídios) | 60 |
| 4 DISCUSSÃO | 61 |

| | |
|-----------------------------------|-----------|
| 5 CONCLUSÃO | 66 |
| 6 REFERÊNCIAS..... | 67 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS | 71 |
| REFERÊNCIAS..... | 72 |

1 INTRODUÇÃO

Os alimentos de origem aquática contribuem para melhoria da qualidade de vida e da saúde da população devido ao seu elevado potencial nutricional. São ricos em proteínas, vitaminas, minerais, lipídios, ácidos graxos insaturados e apresentam baixo teor de colesterol, além de se destacarem como um dos alimentos de elevada digestibilidade.

Dentre os produtos da pesca, o peixe se destaca como um alimento altamente perecível devido a elevada atividade de água em seus tecidos e à sua constituição química, rica em proteínas, gorduras insaturadas facilmente oxidáveis e, principalmente, por seu pH próximo a 7, faixa ideal para a multiplicação da maioria das bactérias. Aliado a isso, tem-se ainda os fatores extrínsecos, como a temperatura, oxigênio, umidade relativa do ar, formas de armazenamento e exposição a contaminações nas diversas fases de produção, desde a captura até a comercialização.

O gênero *Centropomus*, conhecido comercialmente como robalo é um peixe muito apreciado na região nordeste, por sua carne branca, macia e com poucas espinhas. Comercialmente é muito valorizado chegando a custar, em alguns mercados, valor superior a espécies consideradas nobres, como por exemplo, o salmão. Apesar dessas características, no Brasil o cultivo do robalo é experimental sendo sua disponibilidade dependente do ambiente natural. Por ser considerada uma carne moderadamente gorda faz-se necessário o uso de antioxidantes de modo a impedir ou minimizar o processo de rancificação.

As macroalgas são organismos fotossintéticos, ricas em vitaminas, nutrientes, pigmentos, compostos biologicamente ativos resultantes do metabolismo secundário e com ação antimicrobiana e antioxidante conhecidas, e vêm ganhando destaque nas indústrias de alimentos, cosmética e farmacêutica. A utilização de extratos de macroalgas na conservação de alimentos promoveria o aproveitamento de algas arribadas, ou seja, as algas que se encontram as margens das praias que causam poluição visual. Na Bahia, a ficoflora é pouco estudada, quando comparada com outros estados, o que justifica a realização de estudos para possibilitar exploração de maneira

sustentável e consciente, promovendo melhores condições de alimentação, saúde, impacto social e econômico para a população.

A utilização de revestimentos em alimentos é uma técnica que tem o objetivo de melhorar a aparência e atuar como uma barreira semipermeável impedindo a dessecação. Ao adicionar extratos de macroalgas com propriedades antimicrobianas e antioxidantes aos revestimentos, esta barreira aumentará a vida útil do produto, uma vez que atuará inibindo as reações oxidativas e o crescimento microbiano.

Desta maneira, esta pesquisa vem ao encontro da necessidade de estudos com foco na bioconservação de filés de peixes, utilizando substâncias naturais encontradas nas macroalgas marinhas, para manter as características organolépticas do pescado e minimizar o uso de conservantes sintéticos, que podem prejudicar a saúde dos consumidores. Com isso, este trabalho objetivou analisar o efeito antimicrobiano e antioxidante de extratos etanólicos de macroalgas para conservar filés de robalo.

1 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Produção de pescado

A oferta de peixe para a alimentação vem crescendo consideravelmente nos últimos anos, com uma taxa de 3,2% ao ano no período 1961-2013, o que corresponde ao dobro do crescimento da população mundial (1,6% ao ano) (FAO, 2016). Em 2014, a produção de peixes totalizou 73,8 milhões de toneladas, estimando um valor de 160.200 milhões de dólares. Dos 25 maiores produtores, a China é o país que lidera o *ranking* de produção com 58.795,3 milhões de toneladas, representando mais de 60% da produção mundial, seguido pelo Indonésia (14.330,9), Índia (4.884,0), Vietnã (3.411,4), Filipinas (2.337,6) e Bangladesh (1.956,9). O Brasil se encontra na 14ª posição com uma produção de 562,5 milhões de toneladas (FAO, 2016).

O Brasil possui uma diversidade de espécies que apresentam interesse zootécnico e mercadológico, possui potencial hídrico, clima favorável, mão de obra relativamente barata e, crescente mercado interno, no entanto o cultivo ainda é incipiente devido à falta de informações e tecnificação dos produtores. Atividades como piscicultura continental, malacocultura e carcinicultura marinha, são os ramos mais desenvolvidos no país, baseado principalmente em espécies exóticas. Em número reduzido, tem-se a carcinicultura de água doce, a ranicultura e a algicultura (BRASIL, 2013).

Existe uma variação na produção de peixes entre as regiões do Brasil. No Sul e Centro-Oeste, a aquicultura se sobressai em relação a pesca, já nas regiões Norte e Nordeste a pesca tem maior destaque. No Nordeste em especial, o cultivo é realizado com espécies exóticas ou não nativas, como a tilápia e o camarão marinho; no Sudeste a tilápia também se destaca; no Sul tem-se carpa, tilápia mexilhão e ostra e, no Centro-oeste, tambaqui, pacu e pintado (VILA-NOVA et al., 2005; BRASIL, 2013).

No Brasil, em 2011 a pesca obteve um valor de 803.270,2 t, sendo que a pesca marinha representou mais de 50% com uma produção de 553.670,0 t, enquanto que a pesca continental foi 249.600,2 t (BRASIL, 2013).

Em 2014, houve um decréscimo na participação do Brasil na pesca continental, a produção foi de 235.527. Essa diminuição foi devido a fatores como a poluição, a sobre-exploração dos recursos e, falta de informações precisas sobre esta atividade (FAO, 2016).

Os estados brasileiros que lideraram a produção de pesca marinha em 2011 foram Santa Catarina, Paraná, Rio de Janeiro e Bahia em 4º lugar. A maior parcela dessa produção resultou da pesca de peixes como a sardinha verdadeira, a corvina, o bonito-listrado. Os crustáceos apresentam a segunda parcela com a captura dos camarões sete-barbas, branco e rosa e a lagosta e, entre os moluscos, destacaram-se o mexilhão, sururu, polvo, lulas e ostras (BRASIL, 2013).

Para a pesca continental as regiões com maior representatividade foram Norte, Nordeste, Sudeste, Centro-Oeste e Sul. Na região Nordeste a Bahia obteve o segundo lugar de produção (17.508,4) para o ano de 2011. Pode-se citar como as espécies mais capturadas o curimatã, a piramutaba, jaraqui, dourada, pescada e o pacu totalizando 44,5% da pesca continental no país (BRASIL, 2013).

Na Bahia, mais especificamente no Recôncavo Baiano, o pescado representa uma importante fonte de alimentação e renda para uma parcela considerável da população. Nessa região, encontram-se vários pescadores artesanais, devido a presença de manguezais, rios e mar, região caracterizada pelo elevado potencial aquícola (COSTA, 2012). Com isso, os municípios do entorno do Recôncavo Baiano destinam sua produção, a maior parte oriunda da pesca artesanal, para abastecer grande parte do estado (GONDIM et al., 2015).

1.2 Composição química e consumo do pescado

Com relação à composição química do pescado, a água equivale ao principal componente, correspondendo a 64% a 90%, seguido de proteínas de 8% a 23%, gorduras de 0,5% a 25%, cinzas de 1% a 2% e carboidratos com menos de 1%. Essa variação no conteúdo dos componentes nutricionais vai depender da espécie, idade, peso, habitat, época do ano, qualidade e quantidade de alimentos disponíveis (ANDRADE et al., 2009).

Ackman (1989) classifica os peixes em quatro categorias em relação ao teor de lipídios: magros (menor que 2% de gordura), baixo teor de gordura (2-4% de gordura), semi-gordo (4-8% de gordura) e altamente gordo (maior que 8% de gordura).

Os lipídios possuem papel fundamental em conceder ao pescado características que o tornam desejável pela aceitabilidade sensorial, cor e textura, assim como atribuem valor nutritivo como fonte de energia metabólica, de ácidos graxos essenciais (ácidos linoleico, linolênico e araquidônico) que atuam na prevenção de doenças coronárias, no combate da depressão, obesidade e diabetes e de vitaminas lipossolúveis (A, D, E e K) (OSAWA, 2005). Essas características fazem do pescado uma alternativa saudável e de elevado valor biológico, que contribuem para o bem-estar do ser humano.

O consumo de pescado mundialmente vem aumentando ao longo dos anos, passando de uma média de 9,9 kg na década de 1960 para 19,3 kg em 2013, com expectativas que exceda os 20 kg nos anos seguintes. Fatores como aumento de produção, redução de resíduos, construção de canais para escoar produção, aumento de renda e urbanização tem contribuído para o aumento desse consumo. Em 2013, o consumo de pescado representou 17% da proteína de origem animal presente na dieta alimentar dos consumidores e 6,7% em relação aos alimentos em geral (FAO, 2016).

A distribuição do consumo de pescado é desigual entre os países e dentro deles, como por exemplo, na Ásia oriental o consumo em 1961 foi de 10,8 kg e 39,2 kg em 2013, enquanto que na África septentrional o consumo passou de 2,8 kg (1961) para 16,4 kg (2013). Para os países em

desenvolvimento o consumo para 2013 foi de 18,8 kg, enquanto que em regiões menos desenvolvida foi de 7,6 kg para o mesmo período (FAO, 2016).

A procura por pescado fresco cresceu e representou 46% de toda produção, contudo o congelamento é a principal forma de comercialização o que em 2014 representou 55%, seguido por 13% do pescado em conserva e 12% para o pescado seco, salgado e curado (FAO, 2016).

No Brasil, o consumo de pescado por pessoa em 2011 foi em média de 11,1 kg, valor inferior ao consumo mundial e ao consumo de aves, bois e suínos. Neste mesmo ano, a balança comercial foi deficitária, o que motivou a importação de 349,5 mil toneladas de pescado da China, Argentina, Chile, Noruega e Portugal, sendo o filé congelado e o bacalhau os principais produtos importados (BRASIL, 2013).

1.3 Robalo (Gênero *Centropomus*)

Uma espécie de peixe muito consumida e valorizada pelos consumidores é o robalo pertencente ao gênero *Centropomus*, com espécies tropicais e subtropicais. O referido peixe é diádromo, ou seja, migra da água doce para salgada ou salobra em pelo menos uma fase do ciclo de vida, considerado eurihalino (tolera amplas concentrações de sais) e estenotérmico (tolera baixas variações de temperatura) (RIVAS, 1986). Desta maneira, vivem preferencialmente em águas costeiras estuarinas, próximo a mangues e baías podendo até ser encontrado em partes altas de rios (TAYLOR et al., 2000). São carnívoros, com dentes pequenos e serrados, estômago mais expansível e intestino mais curto, corpo alongado e comprido, com perfil dorsal curvo-acentuaado, de coloração prateada a cinza (BARNES et al., 2005)

No Brasil, as espécies de maior importância econômica são *Centropomus undecimalis* (BLOCH, 1792) e *Centropomus parallelus* (POEY, 1860), denominados popularmente no litoral sudeste-sul de robalo flecha e peva, respectivamente, e na região nordeste camurim (CORRÊA et al., 2013)

O robalo vem demonstrando potencial para aquicultura apesar da carência de informações zootécnicas para cultivo sendo bastante requisitado na pesca esportiva, artesanal e industrial. Contudo, a produção do robalo ainda é experimental sendo preciso a realização de mais estudos para conhecer todo ciclo produtivo (CORRÊA et al., 2013).

A carne do robalo tem excelente qualidade organoléptica, sendo bastante apreciada e em consequência, alcança elevado valor econômico nos mercados interno e externo (CERQUEIRA, 2005). Em São Paulo, o robalo possui elevado valor comercial, superior até a peixes nobres como o salmão e pintado (CEAGESP, 2016).

Poucos são os dados relacionados a produção do robalo no Brasil, o setor que define a produção no país é o da pesca artesanal, que em 2009 foi de 3.859,3 t; em 2010 3.644,9 e em 2011 3.680,3 (BRASIL, 2013).

1.4 Deterioração do pescado e oxidação lipídica

Dentre os alimentos de origem animal o pescado possui elevada capacidade de deterioração devido à sua composição química e pH neutro. Esse processo decorre pela união dos processos, microbiológicos, químicos e autolíticos em condições inadequadas de higiene, armazenamento e manipulação (OETTERER, 2005).

A contaminação do pescado pode ocorrer pela água, utensílios utilizados no abate, condições higiênicas da embarcação, gelo produzido com água não potável, condições de refrigeração e o manipulador. As doenças veiculadas por alimentos são caracterizadas como problema de saúde pública, e uma das causas das Doenças Veiculadas por Alimentos (DVA) são a presença de microrganismos ou de suas toxinas nos alimentos. Os microrganismos associados com esses tipos de doenças são *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica* (COSTA, 2011; SOARES e GONÇALVES, 2012).

Na maioria dos surtos os alimentos não demonstram nenhum sinal de deterioração, porque a concentração dos microrganismos não é necessária para o início desse processo. Poucas são as notificações relacionadas a contaminação por DVA, muitas vezes os sintomas são fracos e as pessoas não procuram o posto médico e quando o fazem o diagnóstico é sempre relacionado às viroses. Ao consumir um alimento contaminado os sintomas podem aparecer horas ou dias após e, a intensidade vai depender da reação de cada organismo. Os mais comuns podem ser náusea, diarreia, dor no estômago, febre, desidratação, diarreia sanguinolenta, ou até mesmo uma infecção generalizada ocasionando a morte. Consumir moluscos e peixes crus tem sido a principal forma de veiculação das DVA (OLIVEIRA et al., 2010).

O processo de autólise ocorre por meio de dois processos de deterioração: enzimático e bacteriológico. As enzimas proteolíticas estão presentes na carne e vísceras, contudo o peixe vivo é impermeável a ação de microrganismos presentes no ambiente e ação de enzimas. Com a morte do animal, inicia-se o processo de deterioração e, devido a ação das enzimas, são liberados açúcares simples, aminoácidos e outros compostos nitrogenados não protéicos (uréia, amônia, óxido de trimetilamina (TMAO), bases nitrogenadas voláteis (trimetilamina, amônia etc.) dentre outras substâncias, tornando o meio rico em nutrientes para o crescimento bacteriano (ALMEIDA et al., 2005).

Ao capturar o peixe e iniciar o abate deve-se ter o máximo de cuidado para minimizar o desgaste físico dos animais e, conseqüentemente consumo da reserva de glicogênio que influencia no período de “rigor mortis”. Ao terminar este período as bactérias presentes nas guelras, escama, pele e intestino passam para os demais tecidos e iniciam a deterioração, devido a redução da acidez (MAURO et al., 1997). As características do pescado deteriorado, são visivelmente perceptíveis, surgem maior produção de muco e de gás, olhos fundos e esbranquiçados, coloração, odores e sabores desagradáveis (OETTERER, 2005).

A oxidação lipídica é um processo que define a vida útil do pescado, uma vez que modifica as características sensoriais, pela produção de sabor e odor desagradáveis tornando-o impróprio para o consumo. A perda do valor nutricional tem implicação direta no valor comercial do pescado ou dos produtos que a partir dele são formulados (OSAWA, 2005). Além disso, pode

comprometer a integridade e segurança do pescado, através da formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO e JORGE, 2006).

O congelamento, quando conduzido corretamente é um método eficaz na conservação do peixe pois, inibe a deterioração microbiana, reduz a velocidade das reações químicas e ação de enzimas e conserva o sabor, aroma, cor e nutrientes dos alimentos, causando alteração mínima na textura quando descongelado (OETTERER, 2002). Contudo, reações oxidativas e protéicas ainda ocorrem em menor velocidade em baixas temperaturas (KUHN e SOARES, 2002).

Diferentes métodos são utilizados para analisar oxidação lipídica a partir da quantificação dos compostos resultantes no pescado, como a determinação dos valores de peróxido, dienos conjugados (produzidos nos primeiros estágios da autooxidação), substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS), teste de Kreis, HPLC (cromatografia de alta eficiência), entre outros. Os produtos mais frequentemente medidos são hidroperóxidos e dienos conjugados para a oxidação primária e substâncias voláteis (TBARS) para a secundária (MOURE et al., 2001).

Existem vantagens e desvantagens nos métodos acima, sendo os colorimétricos mais simples e rápidos e baseados na quantificação de pigmentos (GRAU et al., 2000). O teste de TBARS é simples e rápido, e quantifica o malonaldeído (MDA), principal produto da decomposição de hidroperóxidos de ácidos graxos poli-insaturados, que reage com o ácido 2-tiobarbitúrico, e produz um composto de coloração vermelha (OSAWA, 2005).

Tendo em vista o exposto, a deterioração do pescado tem sido estudada buscando-se tecnologias que prolonguem o tempo de validade das diferentes espécies de peixes, como por exemplo o robalo.

1.5 Algas marinhas

As algas são organismos fotossintetizantes com estruturas reprodutivas não envolvidas por camadas de células estéreis, consideradas plantas sem

flores, caule e raiz, compreendendo um dos organismos mais importantes de origem marinha (KAMALADHASAN e SUBRAMANIAN, 2009; DOMETTILA et al., 2013). Podem ser encontradas em ambientes marinhos, salobros, solos úmidos e até na neve (VIDOTTI e ROLLEMBERG, 2004). Existem 25000-30000 espécies, com uma grande diversidade de formas e tamanhos, podendo ser classificadas dependendo da quantidade de células como organismos unicelulares microscópicas (microalgas) ou multicelulares de maior tamanho (macroalgas) (PLAZA, 2008).

As algas proporcionam o equilíbrio dos ecossistemas aquáticos, por serem a base da cadeia alimentar atuando na captação de gás carbônico e liberação de oxigênio. Contribuem de forma significativa com a produção primária dos oceanos, além de aturem como habitat para diversas comunidades bentônicas. Cerca de 90% das espécies de plantas marinhas são algas, responsáveis por cerca de 50% da fotossíntese global. A cada segundo cada molécula de oxigênio que se respira é derivado das algas, enquanto que no mesmo período, cada molécula de dióxido de carbono que se expira, esta é utilizada pelas algas (RAMKUMAR et al., 2016).

De acordo com a composição de pigmentos as algas podem ser classificadas em três divisões: Chlorophyta (alga verde), Phaeophyta (algas castanhas) e Rhodophyta (algas vermelhas). Das três divisões de algas marinhas, o maior teor de fitoquímicos (tais como terpenos, carotenoides e compostos fenólicos) foram relatados em algas castanhas (GUPTA e ABU-GHANNAM, 2011). Os gêneros mais estudados de algas vermelhas são *Porphyra*, *Chondrus*, *Rhododymenia*, *Hypnea*, *Gracilaria*, *Laurencia*, *Iridae*; das pardas destacam-se *Undaria*, *Durvillaea*, *Ecklonia*, *Sargassum*, *Turbinaria* e, nas verdes *Ulva*, *Enteromorpha*, *Monostroma* e *Caulerpa* (DHARGALKAR e VERLENCAR, 2009).

As algas marinhas são bentônicas, ou seja, crescem fixas ao substrato que pode ser rochoso, arenoso e lodoso (TEIXEIRA, 2013). São também utilizadas como fonte de alimento pela humanidade (CABRAL, 2012). Em países que fazem fronteira com o Oceano Pacífico, como China, Japão, Coreia e Filipinas, há milhares de anos existe a cultura de utilizar as macroalgas como alimento (LIMA et al., 2016).

Nesses países as macroalgas marinhas possuem grande valor social e econômico, com uma produção que corresponde a 98% do total mundial. Isso se deve ao fato de que estas populações, utilizam as algas como parte importante da dieta (DHARGALKAR e VERLENCAR, 2009).

Ecologicamente as algas pardas possuem um papel bastante relevante, uma vez que podem contribuir com a diminuição da poluição produzida pelo descarte humano, acumulando metais pesados (MURUGADAS et al., 1995).

O Estado da Bahia, considerado o mais extenso do Brasil, com cerca de 1200 km possui elevada diversidade de macroalgas marinhas, sendo a região mais rica do Nordeste e a terceira do Brasil (NUNES, 2005).

Na presente revisão de literatura foram destacadas as algas agarófitas e as que produzem alginatos, vermelhas (Rodophytas) e pardas (Phaeophytas), em virtude dos relatos disponíveis sobre o potencial desses grupos e da biomassa encontrada no banco natural da região estudada.

O gênero *Gracilaria* pertence ao filo Rhodophyta (algas vermelhas), ordem Gracilariales e família Gracilariaceae, sendo bastante representativo e considerado o mais diversificado do litoral da Bahia, terceiro maior em número registrado para a costa brasileira com 241 espécies (NUNES, 2008). São denominadas de algas marinhas vermelhas, devido à presença em maior quantidade do pigmento ficoeritrina. São macroscópicas, multicelulares, bentônicas e muito comercializadas nos países asiáticos, para serem utilizadas na alimentação (CHAKRABORTY et al., 2015).

A *Gracilaria* é uma agarófita cultivada para extração de ficocolóides (TROELL et al., 2003), podendo alcançar grande impacto econômico devido à produção de ágar, cujas propriedades (capacidade gelificante, estabilizante e emulsificante) favorecem o uso como aditivo alimentar. No entanto, poucos são os relatos de estudos investigando o potencial dos compostos do metabolismo secundário (MCHUGH, 2003), podendo-se citar Cerqueira et al. (2009) que estudaram a aplicabilidade de um polissacarídeo sulfatado de *G. birdiae* no revestimento de queijo.

Sargassum é um gênero de alga parda pertencente ao filo Phaeophyta, ordem Fucales e família Sargassae, de aspecto flutuante, tendo extensa abrangência geográfica (DUARTE et al., 2001), podendo ser encontrada nos mais diversos oceanos das regiões tropicais e subtropicais (COIMBRA, 2006).

O *Sargassum* é um gênero bastante utilizado em indústrias alimentícias para fabricação de pães, biscoitos, sorvetes dentre outros (WANG, 2008). Pode-se destacar os seguintes metabólitos secundários: cumarina, cromonas do tipo meroterpenóides, quinonas, ácidos quinônicos e terpenóides. Os referidos metabólitos possuem atividades antioxidante, anticoagulante, anti-inflamatória, antitrombóticas e de proliferação celular, como o polissacarídeo sulfatado fucano, encontrado em *Sargassum vulgare* (DORE et al., 2013).

Padina é um gênero de alga parda pertencente ao filo Phaeophyta, Ordem Dyctyotales e família Dyctyotaceae, encontrada em regiões costeiras ao longo da plataforma continental. No Brasil não existem estudos taxonômicos que tratem exclusivamente deste gênero, o que dificulta a identificação e delimitação dos táxons (NUNES, 2000).

Esse gênero (*Padina*) é considerado rica fonte de metabólitos secundários de vários efeitos biológicos, podendo citar os polifenóis, alcaloides, flavonoides, terpenoides, etc (RAJAMANIKARTHIKEYAN et al., 2010). Na literatura, já foram citadas algumas espécies com substâncias que atuam como antibióticos (PALMA, 2011) e antivirais (ABRANTES, 2010).

A cor característica deste grupo de algas é devido a presença em grandes quantidades do carotenoide fucoxantina (o que produz uma cor castanha) contidos nos seus cloroplastos e pela presença de vários taninos (DAVIS et al., 2003).

1.6 Composição química das algas

As algas fornecem uma grande quantidade de fibras, vitaminas solúveis em água (complexo B e C) e em gordura, como a provitamina A, K, D e E (ROCHA, 2001). Além disso, as algas são fontes de proteínas, carboidratos e minerais como Ca, P, Na, Fe, Mg, I e K. São pouco calóricas e ricas em ácidos graxos poli-insaturados (DHARGALKAR e VERLENCAR, 2009).

As algas são constituídas de ácidos, aminas, lipídios, esteróis, esteroides, compostos fenólicos, fitocromos, pigmentos, açúcar e álcool. Estas

substâncias resultam do metabolismo secundário em resposta aos estímulos ambientais e têm despertado grande interesse pela ação farmacológica e uso nas indústrias alimentícia e cosmética (SIMÕES et al., 2007).

Simões et al. (2007) definem a origem desses metabólitos a partir do metabolismo da glicose por intermédio dos ácidos chiquímico e o acetato, sendo que o primeiro dá origem a compostos com um anel aromático (taninos hidrolisáveis, cumarinas, alcaloides derivados dos aminoácidos aromáticos e fenilpropanóides) e o acetato a aminoácidos alifáticos, alcalóides e seus derivados, terpenóides (mono e sesquiterpenos), xantofilas, polifenóis como catequinas, galocatequina, epicatequina e galato de catequina, compostos halogenados, micosporinas, glicosídeos, flavonoides que são integrantes do grupo dos polifenóis e, incluem flavonas e flavonóis, ficobilinas, ficocianinas, triglicerídeos, terpenoides.

Os carotenoides são bastante conhecidos pela relação com o estado oxidativo das membranas das algas. Atuam contra a dessecação ocasionada pelas variações ambientais, devido ao estress fotooxidativo, assim os níveis de carotenoides nos tecidos podem variar sazonalmente, ou seja, dependendo dos níveis de exposição à radiação (TEIXEIRA, 2013).

Os carotenoides são pigmentos coloridos sintetizados em plantas, algas e outros organismos como as bactérias, envolvidos na fotossíntese, síntese hormonal, fotoproteção e fotomorfogênese (BALBOA, 2013; SIES e STAHL, 2005; TAPIERO et al., 2004). São divididos basicamente em dois grupos: os carotenos que contém apenas átomos de carbono e oxigênio e as xantofilas que tem pelo menos um átomo de oxigênio (KRINSKY e JOHNSON, 2005; TAPIERO et al., 2004).

A fucoxantina é um carotenoide encontrado em micro e macroalgas marrons para proteção fotossintética (PENG et al., 2011) sendo o mais abundante, apesar do conteúdo variar muito durante o ciclo de vida das algas (BALBOA et al., 2013). A astaxantina é um pigmento avermelhado, responsável pela coloração rosada do salmão, truta, lagosta e outros, considerado um antioxidante muito potente. Estruturalmente é bem parecida com β -caroteno e vitamina E, no entanto, a cadeia de polieteno e os anéis terminais presentes na estrutura química permitem maior proteção tanto das superfícies interior quanto exterior das membranas celulares contra peroxidação lipídica. Outra

propriedade é anti-inflamatória (prevenção de doenças cardiovasculares e neurodegenerativas) (BARROW e SHARIDI, 2008).

1.7 Potencial bioativo das algas

Os primeiros estudos com compostos bioativos das algas se deu com os polissacarídeos sulfatados, que se destacam pela abundância e atividade biológica. São moléculas de carboidratos solúveis em água que desempenham papel importante como emulsificante, gelificante, espessante e hidratante (RINAUDO, 2008).

Estes polímeros em geral são seguros, inertes não-tóxicos, biocompatíveis, biodegradáveis, de baixo custo, não causam danos ao meio ambiente e são encontrados em abundância na natureza (GUO et al., 1998; PRAJAPATI et al., 2014), tendo excelente aplicação nas indústrias farmacêutica, de alimento, biotecnologia e biomédica. Podem ser encontrados também em animais, bactérias, fungos e plantas. Nas algas marinhas os principais polissacarídeos conhecidos são carragenanas, agaranas e alginatos, mas também são relatadas as galactanas híbridas, fucanas e laminarinas (PRAJAPATI et al., 2014, RINAUDO, 2008; ROCHA et al., 2004; DEVILLÉ et al., 2007). Fucoïdanos são polissacarídeos sulfatados, presente nas algas marrons, que vem sendo bastante estudados devido a ação antitrombótica (MOURÃO, 2004).

As algas marinhas estão sujeitas a várias interações biológicas e, por vezes, a condições abióticas extremas, uma vez que, vivem em habitats que podem variar drasticamente. Dessa forma, são capazes de desenvolver mecanismos/estratégias de defesa, como a capacidade de produzir substâncias biologicamente ativas, os metabólitos secundários. Assim, as algas são capazes de produzir compostos principalmente, terpenos e fenóis, com a função de protegê-las contra agentes estressores, como exemplo a poluição e radiação ultravioleta (PLAZA et al., 2008, GUPTA e ABU-GHANNAM, 2011).

Com cerca de 1.500 compostos secundários descritos na literatura, as algas vermelhas se destacam em relação aos outros grupos (algas verdes e pardas) diante da abundância e diversidade química produzida (MASCHECK e BAKER, 2008). Muitos destes compostos podem ser usados na suplementação de dietas de vários animais para incorporação de compostos bioativos nos músculos e tecidos, visando melhoria na produção animal (ZUBIA et al., 2009; O'DOHERTY et al., 2010; GUPTA e ABU-GHANNAM, 2011).

Entre as mais diversas atividades dos compostos bioativos pode-se citar as atividades antioxidantes, anti-inflamatórias, imunomodulatórias, antivirais e antimicrobianas, entre outras, evidenciando o potencial econômico das algas como insumos na produção de remédios e cosméticos (SMIT, 2004). A atividade antifúngica possui importância na saúde humana e animal, bem como na preservação de produtos agrícolas e como uso de biofertilizante para fortalecer o crescimento de culturas (VASCONCELOS e GONÇALVES, 2013).

Zubia et al. (2009) ao avaliarem a atividade antioxidante e antitumoral de algumas Phaeophytas da costa Britânica, identificaram que o extrato bruto das espécies das famílias Sargassaceae e Dictyoteae (*Dictyopteris dichotoma* e *D. ligulata*) apresentaram forte citotoxicidade contra células de cancro humano.

Alencar et al. (2016) analisaram o extrato das algas vermelhas *Pterocladia capillacea* e *Osmundaria obtusiloba* coletadas na costa do Ceará, quanto a atividade antioxidante e, antibacteriana frente aos microrganismos *E. coli* (ATCC 25922), *S. aureus* (ATCC 25923), *Salmonella* Infante e *Vibrio harveyi*.

Em alimentos, extratos de algas estão sendo utilizados para garantir a segurança alimentar, conservar e aumentar o tempo de prateleira do produto. Cabral (2012) utilizou extratos de algas marinhas como agente antioxidante e antimicrobiano em Minced de tilápia (*Oreochromis niloticus*). Já Rodrigues (2011), avaliou a capacidade antioxidante do gelo suplementado com extrato da alga *Fucus spiralis* para manter a qualidade no armazenamento de sardinhas.

1.7.1 Atividade antioxidante

Os compostos antioxidantes são substâncias que em baixas concentrações retardam ou impedem o dano oxidativo causado por radicais livres que agem acentuando o processo degenerativo celular (SIES e STHAL, 1995, OLSZEWER, 2005). Os radicais livres são denominados de Espécies Reativas ao Oxigênio (EROS), que os principais o radical hidroxila (OH), peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e o radical superóxido (O⁻²) (HALLIWELL e ARUOMA, 1991; HALLIWELL et al., 1996).

Os radicais livres são átomos, moléculas ou íons instáveis que possuem elétrons livres em sua órbita externa que estão sempre em busca da sua estabilidade, por isso são altamente reativos. Os radicais livres agem em qualquer composto que esteja próximo atacando moléculas biológicas como lipídios, proteínas, enzimas, DNA e NRA, e outros constituintes celulares que são locais alvo dos processos de degradação. Em consequência disso, tem-se induzindo diferentes tipos de doenças sérias em humanos incluindo aterosclerose, artrite, diabetes, inflamação, genotoxidade, distrofia muscular, cataratas, desordens neurológicas, doenças coronárias, câncer, bem como o envelhecimento celular (KOVATCHEVA et al., 2001; RUBERTO et al., 2001; VIJAYABASKAR e SHIYMALA, 2012).

Como substâncias antioxidantes tem-se as vitaminas C e E, pigmentos (carotenoides), compostos vegetais e enzimas que atuam bloqueando o efeito nocivo dos radicais livres (OU et al., 2002). Segundo Halliwell (1996) a atividade antioxidante de frutas e vegetais se deve a presença de três grandes grupos, o ácido ascórbico e compostos fenólicos (antioxidantes hidrofílicos) e os carotenoides (antioxidante lipolítico).

Os compostos fenólicos são considerados antioxidantes primários que promovem a inativação ou remoção da ação dos radicais livres por meio da doação de átomos de hidrogênio (RAMALHO e JORGE, 2006).

As algas pardas possuem uma quantidade maior de compostos antioxidantes do que as algas verdes e vermelhas (KINDLEYSIDES et al., 2012). A produção dos fitoantioxidantes depende de diversos fatores, como a sazonalidade e condições ambientais, podendo ainda ser induzidos ou

aumentados por condições de *stress*, como temperatura, radiação, desequilíbrio mineral ou por influência de patógenos, como instrumento de defesa (NEILL et al., 2002).

Para Raymundo et al. (2004) apesar das macroalgas possuírem quantidades significativas de ácidos graxos poli-insaturados apresentam estabilidade quando armazenadas, mesmo quando submetidas a variações intensas de luz, O₂ e CO₂, fatores estes que atuam formando radicais livres ou outros potentes oxidantes. Por esse motivo a indústria alimentícia tem considerado as algas como um bom antioxidante, uma vez que inibe eficientemente a peroxidação dos lipídios (CARDOZO et al., 2007).

Em alimentos, os radicais livres induzem à peroxidação de lipídios gerando oxidantes secundários, como heptanol e hexanal que contribuem para a rancidez oxidativa e, conseqüentemente, para a deterioração do sabor dos alimentos (*off-flavours*), toxicidade e destruição de biomoléculas importantes no metabolismo fisiológico. Para retardar o referido processo, uma ampla gama de antioxidantes sintéticos, como GP (gaiato de propilo), BHA (hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado) e TBHQ (terc-butil-hidroquinona) são habitualmente utilizados para prolongar o tempo de armazenagem do alimento, apesar da suspeita de toxicidade e mutagênese (SAFER et al., 1999; ROCHA, 2007). Em alguns países da Europa e no Canadá o uso desses antioxidantes sintéticos é proibido, enquanto que no Brasil, existe concentração estabelecida pelo Ministério da Saúde para o uso de 0,01% em relação ao peso do alimento (BRASIL, 1961).

Os métodos colorimétricos utilizados para avaliar a atividade antioxidante dos compostos em extratos vegetais são: 1. 1-DPPH, onde um radical (2,2-Diphenyl-picrilhidrazil) em contato com o composto antioxidante é neutralizado, ou seja, corresponde a quantidade de DPPH consumida pelo antioxidante (BRAND WILLIAMS e BERSET, 1995). Neste método é reduzida a absorbância do radical a um comprimento de onda característico durante a reação da amostra em solução metanólica com o radical DPPH e 2. 2-ABTS, através da captura do radical 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico) (ABTS⁺). Este método mede atividade antioxidante de compostos lipofílicos e hidrófilos (KUSKOSKI et al., 2005).

1.7.2 Atividade antimicrobiana

Com relação a atividade antimicrobiana das macroalgas pouco se tem relato na literatura quando comparado com os trabalhos relacionados a atividade antioxidante (CABRAL, 2012). Segundo Oh et al. (2008), a expressiva atividade antimicrobiana que as macroalgas têm demonstrado é devido a presença dos polifenóis halogenados, como os bromofenóis, além de metabolitos secundários como ácidos, alcaloides e aminas.

Alguns compostos bioativos agem isolados nos extratos algais, como florataninos, fenóis, galactana sulfatada, ácidos graxos, dentre outros. Além da forma isolada dos compostos bioativos, a ação antimicrobiana do extrato pode acontecer devido a ação sinérgica dos compostos, ou seja, o extrato pode apresentar inibição microbiana e essa ação desaparecer com o fracionamento da amostra (PIERRE et al., 2011, EOM et al., 2012).

Vairappan et al. (2004) demonstraram atividade antibacteriana em oito compostos halogenados de cinco espécies de algas vermelhas *Laurência*, com amplo espectro de ação contra bactérias Gram-positivas inclusive cepas resistentes aos antibióticos penicilina e vancomicina.

Ibrahim e Lim (2015), reportaram a inibição do crescimento da bactéria *Staphylococcus aureus* metilina resistente quando analisado com o extrato metanólico da alga verde *Enteromorpha intestinalis*.

Shafay et al. (2016) analisaram a atividade antimicrobiana de algumas espécies de algas (*Sargassum vulgare*, *Sargassum fusiforme*, *Padina pavonia*, *Ceramium rubro*) contra bactérias multirresistentes (*Pseudomonas* sp., *Staphylococcus* sp., *Shigella flexneri*, *Klebsiella pneumonia*, *Escherichia coli*, *Corynebacterium* sp.), e observaram que entre as quatro algas pesquisadas a alga marrom *S. Fusiforme* e *S. vulgare* mostraram atividade inibitória contra *S. aureus* e *K. pneumoniae*, respectivamente.

O uso de extratos de macroalgas pode ser utilizado também na aquicultura, uma vez que bactérias e fungos têm sido responsáveis por ocasionar doenças que comprometem o cultivo e o uso de antibióticos sintéticos resultarem em bactérias resistentes. Dessa forma, usar compostos naturais que possam promover a prevenção e o tratamento de doenças

infeciosas no cultivo é uma alternativa promissora que também contribuirá com a manutenção dos recursos naturais e o meio ambiente (PRIYADHARSHINI et al., 2012).

1.8 Revestimento edível

A utilização de coberturas e filmes comestíveis em alimentos é uma técnica utilizada desde os séculos XII e XIII na China para retardar a desidratação e melhorar a aparência. Uma das maiores contribuições da fabricação de biofilmes comestíveis ou degradáveis biologicamente além da conservação do alimento, tem sido a preocupação ambiental com o descarte de materiais não renováveis como plástico, metais, vidro, etc. e, a oportunidade de criar mercado de matérias primas formadoras de filme, a partir de hidrocolóides e lipídios (FAKHOURI et al., 2007).

Imergir alimentos como frutas, queijos, vegetais, peixes e carnes em formulação de revestimento é um método bastante utilizado. Após a imersão o excesso é removido e o revestimento é seco, formando-se uma cobertura sobre a superfície do produto (VALENCIA-CHAMORRO et al., 2011). Essa barreira comestível e semipermeável tem o objetivo de aumentar a vida útil do produto, uma vez que atua reduzindo a umidade, migração de solutos, troca de gases, taxas de respiração e reações oxidativas, além de atuar como barreira microbiológica (SANTOS, 2014).

Os polissacarídeos utilizados para formar revestimentos edíveis são amido, alginatos, carragenatos, quitosana e gomas. Como gomas naturais pode-se utilizar extratos de algas marinhas (alginatos e ágar), gomas de sementes (galactomananos) ou raízes (SANTOS, 2014).

Uma das vantagens em utilizar o revestimento comestível é que este pode ser aplicado em alimentos que não são comumente embalados em pequenas porções, como por exemplo, feijões e peras (BOURTOOM, 2008).

As coberturas contendo antioxidantes, antimicrobianos ou flavorizantes, estão dentro do grupo das embalagens ativas e podem ser mais eficazes do

que adicionar diretamente o composto bioativo no alimento. Isso se deve, porque permitem que a migração da substância seja de maneira lenta, não só permitindo a inibição/controlar o crescimento dos patógenos logo que adicionado, como também uma proteção residual até o consumo (CALO-MATA et al., 2008).

CAPÍTULO 1 – ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DE EXTRATOS DE MACROALGAS E SUA APLICAÇÃO NO REVESTIMENTO DE FILÉS DE PEIXE

Artigo a ser submetido ao periódico International Journal of Food Microbiology, Qualis A1 na Área Zootecnia/Recursos Pesqueiros.

Antonia Vicentina Nunes Rodrigues, Brenda Borges Vieira, Simone Teles, Franceli da Silva, Carla Fernandes Macedo, Norma Suely Evangelista-Barreto

RESUMO: O objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de macroalgas e estudar sua aplicação em revestimento comestível de filé de robalo para inibição de microrganismos patogênicos. As macroalgas foram coletadas em bancos naturais da praia de Manguinhos em Itaparica-BA e submetidas a triagem, identificação, herborização, secagem e moagem para extração com etanol por meio da maceração a frio por 72 h. A Concentração Inibitória Mínima (CIM) foi determinada pela diluição em caldo frente aos microrganismos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Salmonella enterica* sorotipo Enteritides ATCC13076, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* CERELA e *Enterococcus faecalis*, utilizando os extratos *Sargassum vulgare* e *Padina gymnospora* (Phaeophyta); *Gracilaria caudata*, *G. cervicornis*, *G. dominguisis*, *G. birdiae* e *Laurencia sp.* (Rhodophyta) e *Codium sp.* (Chlorophyta). Os peixes foram adquiridos no município de Canavieiras-BA e encaminhados em caixas isotérmicas para UFRB, onde foram processados. Para verificar a atividade antimicrobiana na matriz alimentar, utilizou-se filés revestidos com alginato de sódio a 1% adicionado do extrato da macroalga. Os tratamentos foram mantidos sob refrigeração por um período de 10 dias, sendo realizadas análises microbiológicas nos dias 1, 3, 5, 7 e 10 em triplicata. Dos microrganismos testados, *S. aureus* se mostrou mais sensível, sendo inibido por quatro macroalgas, principalmente *Padina gymnospora* com a menor CIM (8 mg.ml⁻¹). Todos os extratos avaliados apresentaram efeito bacteriostático frente aos microrganismos testes. O tratamento utilizando o extrato da alga *P. gymnospora* como agente antimicrobiano reduziu a população da bactéria *L. monocytogenes* em 3 log UFC.g⁻¹ com 1 dia de armazenamento sob refrigeração. Já para *S. aureus* essa redução (3 log UFC.g⁻¹) ocorreu com 3 dias após a inoculação, perdurando até 5 dias. O uso do extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* contribuiu para um menor crescimento dos microrganismos inoculados durante o armazenamento refrigerado em relação aos controles. Estes resultados evidenciam o potencial bioativo das espécies de macroalgas coletadas em Manguinhos, Itaparica - BA.

Palavras-chave: Algas marinhas; Conservante natural; Pescado; Qualidade

ANTIMICROBIAL ACTIVITY OF SEAWEED ETHANOLIC EXTRACTS AND THEIR APPLICATION IN THE FISH FILET COATING

ABSTRACT: The objective of this work was to evaluate the antimicrobial activity of ethanolic extracts of macroalgae and to study its application in edible coating of fillet of sea bass for inhibition of pathogenic microorganisms. The macroalgae were collected in natural banks of the beach of Manguinhos in Itaparica-BA and subjected to sorting, identification, herborization, drying and milling for ethanol extraction by cold maceration for 72 h. The minimum inhibitory concentration (MIC) was determined by the dilution in broth against the microorganisms *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Salmonella enterica* serotype Enteritides ATCC13076, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* CERELA and *Enterococcus faecalis*, using extracts *Sargassum vulgare* and *Padina gymnospora* (Phaeophyta); *Gracilaria caudata*, *G. cervicornis*, *G. domingensis*, *G. birdiae* and *Laurencia* sp. (Rhodophyta) and *Codium* sp. (Chlorophyta). The fish were purchased in the municipality of Canavieiras-BA and sent in isothermal boxes to UFRB, where they were processed. To verify the antimicrobial activity in the food matrix, fillets coated with 1% sodium alginate added to the macroalga extract were used. The treatments were kept under refrigeration for a period of 10 days, and microbiological tests were performed on days 1, 3, 5, 7 and 10 in triplicate. Of the microorganisms tested, *S. aureus* showed to be more sensitive, being inhibited by four macroalgae, mainly *Padina gymnospora* with the lowest MIC (8 mg.ml⁻¹). All extracts evaluated had a bacteriostatic effect against test microorganisms. Treatment using the extract of the algae *P. gymnospora* as an antimicrobial agent reduced the population of *L. monocytogenes* bacteria in 3 log CFU.g⁻¹ with 1 day storage under refrigeration. For *S. aureus*, this reduction (3 log CFU.g⁻¹) occurred 3 days after inoculation, lasting up to 5 days. The use of the ethanolic extract of the macroalga *P. gymnospora* contributed for a smaller growth of the microorganisms inoculated during the refrigerated storage in relation to the controls. These results show the bioactive potential of the macroalgae species collected in Manguinhos, Itaparica - Bahia.

Keywords: Seaweed; Natural preservative; Fish; Quality

1 INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a busca por alimentos que promovam a melhoria da saúde e da qualidade de vida do consumidor tem aumentado consideravelmente e, dentre os alimentos de origem animal o peixe se destaca devido ao seu elevado valor biológico. Destaca-se pela presença de minerais, vitaminas, uma composição lipídica que se sobrepõe aos mamíferos pela presença de ácidos graxos poli-insaturados e baixo teor de colesterol. É um alimento altamente proteico e possui todos os aminoácidos essenciais. Os

estudos que associam o valor nutricional ao bem-estar e saúde do ser humano têm proporcionado o aumento do consumo de peixe, em virtude da influência benéfica deste alimento para doenças cardiovasculares, depressão, acidente vascular cerebral e mal de alzheimer (OSAWA, 2005; SANTORI e AMANCIO, 2012).

As características intrínsecas dos peixes, como elevada atividade de água em seus tecidos e pH neutro, aliadas à composição química contribuem com o desencadeamento das alterações enzimáticas, oxidativas e/ou microbiológicas que são aceleradas em condições incorretas de captura e manipulação. Dessa forma, faz-se necessários cuidados higiênicos sanitários em toda a cadeia produtiva do pescado visando minimizar as referidas alterações (OETTERER, 2005).

As doenças veiculadas por alimentos (DVA) são caracterizadas como um problema de saúde pública devido à presença de microrganismos patogênicos ou toxinas. A maioria dos casos de DVA não são notificados porque os indivíduos não buscam auxílio médico em virtude de os sintomas serem brandos ou, quando o fazem, os sintomas são confundidos com virose (BATISTA e BEZERRA, 2015). Dentre os microrganismos associados às DVA podem ser citados *Campylobacter jejuni*, *Escherichia coli* 0157:H7, *Listeria monocytogenes*, *Salmonella enteritidis*, *Vibrio cholerae*, *Vibrio vulnificus*, *Yersinia enterocolitica* e *Staphylococcus aureus* (COSTA, 2011; SOARES e GONÇALVES, 2012).

O processamento da matéria prima, além de agregar valor, contribui para a oferta de um produto com maior vida útil para o consumo. Contudo, é preciso ter cuidado com a contaminação, que pode acontecer por diferentes vias, que são: a água, utensílios utilizados no abate, condições da embarcação, qualidade do gelo, condições de refrigeração e manipulação (BARTOLOMEU et al., 2011). Antimicrobianos sintéticos (ácido sórbico, benzoico, propiônico, acético, láctico, nitritos e nitratos) são usualmente utilizados na indústria alimentícia para preservar a segurança e qualidade dos alimentos (GUPTA e ABU-GHANNAM, 2011).

A busca por produtos naturais que atuem como alternativa na conservação de alimentos tem sido um dos maiores desafios nos dias atuais, já que aditivos sintéticos podem ser prejudiciais. Dentro deste contexto, as algas

marinhas ou macroalgas vêm sendo estudadas pelo potencial de seus metabólitos secundários, que são fitoquímicos biologicamente ativos com diversas atividades farmacológicas, incluindo a antimicrobiana, antioxidante e antifúngica (BARROW e SHAHIDI, 2008) principalmente propriedades antimicrobianas (DUSSALT et al., 2016).

As algas marinhas são representantes do primeiro elo da cadeia alimentar e possuem importante papel na manutenção da vida aquática. Algumas espécies são indicadoras de poluição ambiental e podem ser encontradas nos mais diversos ambientes, com uma grande variedade de formas e tamanhos. De acordo com a composição de pigmentos podem ser classificadas em três divisões: Chlorophyta (algas verdes), Phaeophyta (algas pardas) e Rhodophyta (algas vermelhas) (PÁDUA et al., 2004). Possuem estruturas reprodutivas não envolvidas por camadas de células estéreis, são consideradas plantas sem flores, caule e raiz, e compreendem um dos organismos mais importantes de origem marinha (KAMALADHASAN e SUBRAMANIAN, 2009; DOMETTILA et al., 2013).

As algas marinhas nutricionalmente são conhecidas há séculos, principalmente em países asiáticos devido a sua importância na alimentação, por serem ricas em fibras, vitaminas hidrossolúveis (complexo B e C) e lipossolúveis (A, K, D e E) (ROCHA, 2001). Também são fontes de proteínas, carboidratos e minerais como Ca, P, Na, Fe, Mg, I e K, pouco calóricas e ricas em ácidos graxos poli-insaturados (DHARGALKAR e VERLENCAR, 2009). São constituídas de ácidos, aminas, lipídios, esteróis, esteroides, compostos fenólicos, fitocromos, pigmentos, açúcar e álcool, sintetizados em resposta aos estímulos ambientais e, que despertam grande interesse devido sua ação farmacológica, e possível uso na indústria alimentícia e cosmética (SIMÕES et al., 2007).

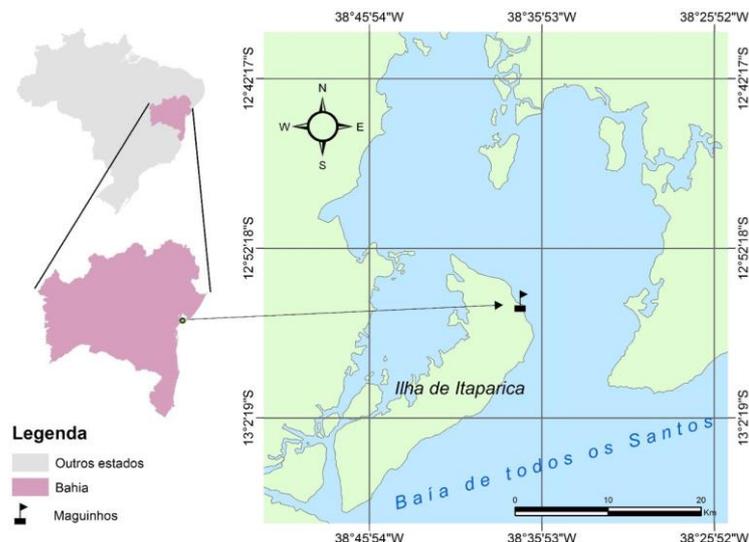
Com base nessas considerações, o objetivo deste trabalho foi avaliar a atividade antimicrobiana de extratos etanólicos de macroalgas e estudar sua aplicação em revestimento comestível de filé de robalo para inibição de microrganismos patogênicos.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta e triagem

As macroalgas foram coletadas em bancos naturais da praia de Manguinhos em Itaparica – BA ($12^{\circ} 54.279'S$ e $038^{\circ} 38.084' W$) (Figura 1). Foram selecionadas as espécies com maior abundância, sendo o material coletado na maré baixa, de acordo com a tábua de marés emitida pela Diretoria de Hidrografia e Navegação do Ministério da Marinha.

Figura 1. Mapa de localização da região de coleta, praia de Manguinhos em Itaparica – BA, Brasil.



As macroalgas foram coletadas manualmente, com auxílio de uma espátula, tendo-se o cuidado ao retirá-las, uma vez que parte da alga foi mantida para garantir a manutenção do banco natural. A coleta foi realizada de maneira que fosse obtido exemplares dos três grupos de algas, Rodophyta, Phaeophyta e Chlorophyta (vermelhas, pardas e verdes). Após a coleta, os exemplares foram transportados para a Universidade Federal do Recôncavo da Bahia (UFRB) em sacos de polietileno, acondicionados em caixas isotérmicas com gelo.

Amostras de macroalgas foram encaminhadas para o laboratório de Sistemática Vegetal do Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) – UFRB, para fixação, herborização e identificação.

No laboratório de Cultivo de Algas do Núcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura (NEPA) foi realizada a triagem das amostras restantes, com separação do material epifítico, areia e outros detritos. As macroalgas foram lavadas em água corrente e em seguida com água destilada, para remoção dos sais e em seguida pesadas e encaminhadas para o laboratório de Fitoquímica da UFRB para preparação dos extratos.

2.3 Herborização

A herborização foi realizada conforme descrito por Sant'anna et al. (1989), sendo as macroalgas colocadas cuidadosamente sobre uma folha de papel firme e o mesmo dentro de uma bandeja com água. Após o referido procedimento o material foi inserido entre folhas de jornal e papelão e colocadas entre duas prensas, amarradas firmemente com cordão resistente e, encaminhadas para estufa à temperatura de 40-50°C, sendo retiradas da estufa decorridos seis dias e obtidas as exsiccatas. Logo após, o material foi identificado e incorporado ao acervo do Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) da UFRB.

2.4 Preparação dos extratos

Foi realizada secagem das macroalgas em estufa a 40°C por até 72h, período que variou conforme a espécie e respectiva quantidade de água. Após a secagem, as macroalgas foram trituradas em moinho tipo Willey com peneira de 1mm para formação de um pó bem fino, para melhor contato célula/solvente e extração. Logo a seguir, as amostras foram pesadas em balança analítica para posterior preparação do extrato e determinação do rendimento (RAYMUNDO et al., 2004).

Foram preparados oito extratos etanólicos com as seguintes espécies de macroalgas: *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria cervicornis*, *Gracilaria caudata* e

Laurencia sp. (Rodophyta), *Sargassum vulgare* e *Padina gymnospora* (Phaeophyta) e *Codium* sp. (Chlorophyta).

A biomassa das macroalgas foi submetida à extração exaustiva por nove dias, utilizando o etanol (92,8° INPM) como solvente na proporção 1:10, sendo realizada filtragem a cada 72 h, à temperatura ambiente e ao abrigo da luz, como proposto por Cabral (2012). Posteriormente, os extratos foram filtrados e levado para evaporador rotativo (RE 52A) à temperatura de 40°C. O resíduo seco após a evaporação do solvente (extrato bruto) foi armazenado em frascos âmbar devidamente etiquetados à temperatura de 4-8°C até as análises seguintes.

2.5 Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos etanólicos das algas

2.5.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para determinação da CIM foram utilizados cinco extratos etanólicos de macroalgas (*Gracilaria birdiae*, *Gracilaria cervicornis*, *Gracilaria caudata* e *Laurencia* sp. (Rodophyta), *Sargassum vulgare* e *Padina gymnospora* (Phaeophyta)) frente aos microrganismos *Escherichia coli* ATCC 25922, *Staphylococcus aureus* ATCC 43300, *Salmonella enterica* sorotipo Enteritides ATCC13076, *Vibrio cholerae*, *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes* CERELA e *Enterococcus faecalis*.

Os microrganismos foram ativados em ágar TSA e inoculados em estufa bacteriológica do tipo BOD (SL 200/334) por 24 horas, a 37°C, para obtenção do crescimento bacteriano. Posteriormente, colônias foram inoculadas em 9 ml de solução salina a 0,85%, com auxílio de alça bacteriológica previamente flambada. A suspensão obtida foi lida em espectrofotômetro, conforme citado acima. Para avaliação da influência das concentrações dos extratos, utilizou-se a técnica de microdiluição em microplacas com tampas estéreis contendo 96 poços (SANTURIO et al., 2007). Para tanto, 1g dos extratos foram dissolvidos em metanol para concentração de 640 µg.ml⁻¹ com diluição 1:10 para obtenção da concentração de 64000 µg.ml⁻¹. Em seguida, foram adicionados 200 µl de caldo Muller-Hinton nas 3 primeiras colunas da placa e também 200

μl do extrato diluído para avaliação da concentração inibitória mínima, a partir de então realizada a diluição seriada de modo que a primeira linha apresentasse a maior concentração $32.000 \mu\text{g.ml}^{-1}$ e a última $250 \mu\text{g.ml}^{-1}$, seguindo da avaliação da influência do diluente, do antibiótico (clorafenicol) e dos controles, todos em triplicata. O sistema foi incubado a $35-37^{\circ}\text{C}$ por 24 horas.

Para a leitura do ensaio foi utilizado o método colorimétrico de oxido-redução com adição de $20 \mu\text{L}$ da solução aquosa do corante resazurina sódica (Sigma-Aldrich) na concentração de $0,01\%$ (p/v) em todos poços da placa. A mudança de coloração do corante de azul para rosa indica o crescimento microbiano, ou seja, ineficiência do extrato (COSTA, 2009).

2.5.3 Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Foram realizados ensaios em duplicata para verificação da CBM em função dos resultados obtidos com a CIM, utilizando-se as suspensões dos poços que não apresentaram coloração indicativa do crescimento bacteriano. Alíquotas de $10 \mu\text{L}$ dessas suspensões foram inoculadas em placas contendo ágar Müller-Hinton. Posteriormente, essas placas foram incubadas por 24 h a 37°C . A CBM correspondeu à menor concentração em que não houve crescimento bacteriano visível (SANTURIO et al., 2007).

2.6 Solução de revestimento

Para a obtenção da solução de revestimento foi utilizada a metodologia proposta por Oussalah (2006) e Lu et al. (2009) com modificações. O alginato de sódio a 1% foi solubilizado à temperatura ambiente em água destilada estéril sobre agitação de 1000 rpm , adicionado glicerina (1%) e a concentração ($0,25 \text{ mg.mL}^{-1}$ e 8 mg.mL^{-1}) do extrato da alga de acordo com o microrganismo teste, até completa solubilização.

2.7 Atividade antimicrobiana do extrato etanólico da macroalga *Padina gymnospora* na matriz alimentar

Os peixes foram adquiridos no município de Canavieiras-BA e encaminhados em caixas isotérmicas para o laboratório de Tecnologia do Pescado da UFRB onde foram processados.

No Laboratório de Microbiologia de Alimentos e Ambiental (LABMAA) amostras de filés de robalo foram submetidos à análise microbiológica para verificar a carga microbiana inicial. Os demais foram contaminados intencionalmente por imersão por 30 minutos em suspensão bacteriana dos microrganismos indicadores *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, na concentração de 10^6 UFC.mL⁻¹.

A partir de então, os filés de robalo foram separados em três tratamentos: C1 Filés contaminados com o microrganismo teste (controle negativo), C2 Filés contaminados com o microrganismo teste e revestidos com alginato de sódio 1% (controle negativo) e T1 Filés contaminados com o microrganismo teste e revestidos com alginato de sódio 1% contendo o extrato da macroalga com a concentração ($0,25$ mg.mL⁻¹ e 8 mg.mL⁻¹), determinada com a CIM de acordo ao microrganismo teste (*L. monocytogenes* e *S. aureus*).

Os peixes submetidos aos diferentes tratamentos foram mantidos em refrigeração a 4°C por um período de 10 dias, sendo realizadas as análises microbiológicas nos dias 1, 3, 5, 7 e 10 em triplicata, segundo Silva et al. (2010). Cada tratamento continha três filés com aproximadamente 100 g cada, os quais foram separados em bandejas de acordo o microrganismo e o dia de análise.

2.8 Análise estatística

A análise dos resultados foi realizada utilizando-se o Sistema para Análise de Variância - SISVAR (FERREIRA, 2000). As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância pelo teste de F e aplicado o teste de Tukey ($P < 0,05$). Todas as análises foram realizadas em triplicata e com duas repetições.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Coleta, herborização e rendimento

As espécies de algas coletadas na praia de Manguinhos em Itaparica - BA, e o rendimento dos extratos algais estão apresentadas na Tabela 1. Dos oito extratos etanólicos de macroalgas, o da *Codium* sp. apresentou o maior rendimento (3,60%) sugerindo que esta alga verde pode ter composição ou proporções diferentes que apresentam maior afinidade com o solvente de características polar usado (etanol).

Tabela 1. Tipos de macroalgas coletadas na Praia de Manguinhos em Itaparica - BA e o rendimento dos extratos etanólicos obtidos.

| | | Rendimento dos extratos | | | |
|-------------|--------------------------------|-------------------------|-------------------|-------------------|----------------|
| Filo | Algas | Exsicata | Biomassa seca (g) | Extrato bruto (g) | Rendimento (%) |
| Rhodophyta | <i>Gracilaria birdiae</i> | 12947 | 15 | 0,04 | 0,27 |
| | <i>Gracilaria cervicornis</i> | 12944 | 15 | 0,12 | 0,80 |
| | <i>Gracilaria caudata</i> | 9516 | 15 | 0,12 | 0,80 |
| | <i>Gracilaria dominguensis</i> | 12943 | 15 | 0,08 | 0,53 |
| | <i>Laurencia</i> sp. | 9515 | 15 | 0,03 | 0,20 |
| | <i>Sargassum vulgare</i> | 12941 | 15 | 0,35 | 2,33 |
| | <i>Padina gymnospora</i> | 9521 | 15 | 0,41 | 2,73 |
| Chlorophyta | <i>Codium</i> sp. | 12945 | 15 | 0,54 | 3,60 |

Em ordem decrescente de rendimento dos extratos se encontram os filios Chlorophyta, Phaeophyta e Rhodophyta. Rendimento semelhante do extrato de *Codium* sp. foi encontrado por Cho et al. (2011) para o extrato etanólico da alga verde *Enteromorpha prolifera* (3,54%). Segundo os autores a diferença nos rendimentos dos extratos de algas se deve à forma de extração, tipo de solvente, tempo, temperatura e a própria espécie da alga. A diferença no rendimento dos extratos de macroalgas também ocorre devido à polaridade do solvente uma vez que distintos compostos são extraídos em função da polaridade (PITTA, 2010).

De modo geral, os solventes utilizados na extração de substâncias ativas não são seletivos, ocasionando a extração de diversos grupos de compostos, como polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, peptídeos, vitaminas, pigmentos, terpenoides e esteróis. Esses grupos apresentam diferentes concentrações e potencial bioativo que podem variar conforme a época do ano, localização geográfica, espécie e alterações ambientais (BALBOA et al., 2013).

3.2 Atividade antimicrobiana in vitro dos extratos etanólicos das algas

3.2.1 Determinação da Concentração Inibitória Mínima (CIM)

Para determinação da CIM foram utilizadas as espécies de macroalgas que poderiam ser encontradas ao longo do ano *P. gymnospora*, *S. vulgare* (Phaeophyta) e *G. birdiae*, *G. cervicornis*, *G. caudata* (Rhodophyta).

Todas as espécies de macroalgas testadas apresentaram atividade antimicrobiana frente a pelo menos um microrganismo testado, sendo a maior atividade antimicrobiana verificada com o extrato de *G. caudata* ao inibir o crescimento de quatro microrganismos, seguida de *G. cervicornis*, *G. birdiae* e *P. gymnospora* para três microrganismos e *S. vulgare* para um microrganismo (Tabela 2).

As espécies de *Gracilaria* apresentaram atividade antimicrobiana tanto para as bactérias Gram positivas quanto Gram negativas na maior concentração, com exceção de *G. birdiae* que apresentou uma CIM de 0,25 mg.mL⁻¹ para *E. faecalis*. Uma CIM de 0,25 mg.mL⁻¹ também foi observada para *L. monocytogenes* usando *P. gymnospora* (Tabela 2). O extrato de *P. gymnospora* se mostrou o mais eficiente, pois além de inibir três microrganismos, ocorreu em baixas concentrações.

Tabela 2. Concentração Inibitória Mínima (CIM) dos extratos algais de cinco espécies de macroalgas frente a bactérias Gram positivas e Gram negativas.

| Micro-organismo | Extratos (mg.mL ⁻¹) | | | | | |
|---|---------------------------------|-------------------|-------------------|-----------------------|-------------------|------|
| | <i>P. gymnospora</i> | <i>S. vulgare</i> | <i>G. birdiae</i> | <i>G. cervicornis</i> | <i>G. caudata</i> | CLO |
| <i>Escherichia coli</i> | NI | NI | 32,0 | NI | NI | 0,24 |
| <i>Vibrio cholerae</i> | NI | NI | NI | NI | NI | 0,24 |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | NI | NI | 0,25 | NI | 32,0 | 0,12 |
| <i>Salmonella enterica</i> sorotipo Enteritidis | NI | NI | NI | 32,0 | 32,0 | 0,12 |
| <i>Staphylococcus aureus</i> | 8,0 | NI | 32,0 | 32,0 | 32,0 | 0,12 |
| <i>Listeria monocytogenes</i> | 0,25 | 0,5 | NI | 32,0 | NI | 0,24 |
| <i>Bacillus cereus</i> | 8,0 | NI | NI | NI | 32,0 | 0,24 |

CLO – Cloranfenicol; NI – Não houve inibição.

Dentre os microrganismos testados *S. aureus* se mostrou a mais sensível, sendo inibida por quatro extratos etanólicos de macroalgas, com *P. gymnospora* apresentando menor CIM (Tabela 2). *Padina gymnospora* apresentou atividade antimicrobiana apenas para as bactérias Gram positivas *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* e *Bacillus cereus*, exceto *Enterococcus faecalis*. Bactérias do gênero *Enterococcus* são resistentes as variações das condições ambientais e conseguem sobreviver a condições adversas de crescimento. Possuem mecanismos de virulência tais como, enzimas extracelulares, toxinas, flagelos, cápsulas e transferência de genes que as tornam resistentes a antimicrobianos sintéticos (SHEPARD e GILMORE, 2002; ARIAS et al., 2012). Acredita-se que estes mecanismos de defesa de *E. faecalis* tenham contribuído com a maior resistência aos compostos bioativos do extrato de *P. gymnospora*.

Exemplo disso foi o trabalho observado por Shafay et al. (2016) ao avaliarem a atividade antimicrobiana de algumas espécies de macroalgas do mar vermelho frente a bactérias multirresistentes. Os autores observaram que

todos os extratos de *Padina pavonia* apresentaram inibição para a maioria das bactérias testadas com uma CIM variando de 50 a 100 mg.mL⁻¹, valores estes bem superiores aos encontrados no presente trabalho.

Baliano et al. (2016) ao analisarem a atividade antimicrobiana de *P. gymnospora* provenientes do litoral do Espírito Santo, relataram uma CIM de 0,5 mg.mL⁻¹ para *S. aureus*, CIM esta inferior ao observado no presente estudo (8 mg.mL⁻¹). Provavelmente as variações ambientais, o estágio de crescimento da alga, o solvente e o método de extração empregados tenham contribuído para atividade em maior concentração.

De acordo com Fabry et al. (1998) e Adetutu et al. (2011) para que um extrato tenha ação bactericida este deve apresentar uma concentração de 100 a 1000 vezes superior aos antibióticos usuais. No entanto, a identificação da atividade antimicrobiana nos extratos avaliados, embora em diferentes graus, indica a presença de importantes compostos bioativos, o que representa significativa contribuição na investigação por substâncias que possam ser utilizadas na conservação de alimentos como alternativa aos agentes sintéticos convencionais.

Listeria monocytogenes foi a segunda bactéria mais suscetível à ação dos extratos de macroalgas, sendo inibida por três espécies e apresentado menor CIM para *P. gymnospora* (Tabela 2), enquanto os microrganismos *B. cereus*, *Salmonella enterica* sorotipo Enteritides e *E. faecalis* apresentaram suscetibilidade a duas macroalgas e *E. coli* a uma macroalga. Em bactérias Gram positivas, como a *L. monocytogenes*, a presença apenas da espessa parede de peptidoglicano as torna mais suscetíveis à ação dos compostos bioativos, uma vez que não possuem membranas adicionais para aumentar a proteção, como as Gram negativas (GUPTA e ABU-GHANNAM, 2011; RAMKUMAR et al., 2016).

Vários são os fatores de virulência dos microrganismos *E. coli*, *Salmonella enterica* sorotipo Enteritides e *Vibrio cholerae*, como a estrutura e composição do envelope celular que dificultam a ação dos compostos antimicrobianos. Além disso, ocorrem adaptações para a defesa da bactéria, como exotoxinas, multiplicação em meios com restrição de ferro e a multirresistência aos antimicrobianos ou a colonização celular (RIBEIRO,

2006), fatores determinantes para inibição do crescimento de *E. coli* por apenas uma espécie de macroalga e com a maior concentração testada.

Bacillus cereus apresentou uma CIM de 8 mg.mL⁻¹ para o extrato etanólico de *P. gymnospora* e 32 mg.mL⁻¹ para o extrato etanólico de *G. caudata*. Efeito inibitório com concentração inferior (63 µg.mL⁻¹) foi verificado por Dussalt et al. (2016) ao avaliarem atividade antimicrobiana do extrato etanólico de *Padina* sp. frente ao *B. cereus*. Acredita-se que a variação destas concentrações é devido a variações sazonais que interferem na produção dos compostos bioativos.

O extrato etanólico da alga *Sargassum vulgare* em concentração de 0,5 mg.mL⁻¹ foi eficiente na inibição da bactéria *L. monocytogenes*. Shafay et al. (2016) ao avaliarem a atividade antibacteriana do extrato de duas espécies de *Sargassum*, utilizando diferentes solventes, relataram que o extrato (éter) de *Sargassum fusiforme* apresentou atividade frente a *S. aureus* na concentração de 100 µl enquanto o extrato (etanol) do *S. vulgare* apresentou atividade frente a bactéria *Klebsiella pneumonia* na concentração de 50 µl. Estes autores afirmaram que essa variação da atividade antibacteriana para o mesmo gênero analisado é devido à polaridade dos solventes utilizados que permitiram a extração de diferentes compostos bioativos.

3.2.2 Determinação da Concentração Bactericida Mínima (CBM)

Todos os extratos de algas apresentaram efeito bacteriostático frente aos microrganismos. Esse resultado demonstra promissora atividade, por validar o potencial bioativo das macroalgas coletadas na praia de Manguinhos em Itaparica-BA, ao inibir o crescimento de bactérias patogênicas. Contudo, acredita-se que a ação sinérgica das concentrações de dois ou mais extratos possam aumentar a potencialidade dos mesmos.

3.3 Atividade antimicrobiana do extrato etanólico da macroalga *Padina gymnospora* na matriz alimentar

A atividade antimicrobiana do extrato da macroalga *Padina gymnospora* em filés de robalo foi avaliada frente as bactérias Gram positivas *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus* nas concentrações de 0,25 mg.mL⁻¹ e 8 mg.mL⁻¹, respectivamente (Tabelas 3 e 4).

Tabela 3. Atividade antimicrobiana do extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* (0,25 mg.mL⁻¹) frente a *L. monocytogenes* em filés de robalo armazenados a 4°C por 10 dias.

| Tratamentos | <i>Listeria monocytogenes</i> (log UFC.g ⁻¹) | | | | |
|-------------|--|----------|----------|----------|-----------|
| | 1 (dia) | 3 (dias) | 5 (dias) | 7 (dias) | 10 (dias) |
| C1 | 6,89 Ba | 7,54 Bb | 8,00 Bc | 10,81 Bd | 11,81 Be |
| C2 | 6,82 Ba | 7,41 Cb | 8,70 Cc | 10,81 Bd | 11,81 Be |
| T1 | 3,85 Aa | 4,87 Ab | 5,84 Ac | 7,45 Ad | 8,75 Ae |

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), letra maiúscula na coluna comparam os tratamentos dentro do tempo e a letra minúscula comparam os tratamentos ao longo do tempo. C1- filés contaminados com *L. monocytogenes* (controle negativo); C2 – filés contaminados com *L. monocytogenes* e revestidos com alginato de sódio 1% (controle negativo); T1 – filés contaminados com *L. monocytogenes* e revestidos com alginato de sódio 1% contendo extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* (0,25 mg.mL⁻¹).

Os filés de robalo utilizados não apresentaram contaminação inicial pelos microrganismos *Listeria monocytogenes* e *Staphylococcus aureus*, demonstrando que a densidade populacional mensurada ao longo do armazenamento foi proveniente do inóculo inicial.

Observou-se crescimento de *L. monocytogenes* nos filés de robalo submetidos aos tratamentos C1 e C2. O tratamento utilizando o extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* como agente antimicrobiano se mostrou eficaz ao reduzir o crescimento da bactéria *Listeria monocytogenes* em 3 ciclos logaritmos, o que correspondeu a mais de 50% de redução com 1 dia após a inoculação, quando comparado aos controles (C1 e C2).

Apesar da contagem microbiana ter aumentado ao longo do armazenamento dos filés de robalo submetidos ao tratamento com extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* (T1) observaram-se contagens inferiores aos controles (C1 e C2) diferindo estatisticamente entre si, o que

demonstra o potencial do extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* para aumentar o período de armazenamento do pescado refrigerado.

Com relação a população de *Staphylococcus aureus* em amostras de filés de robalo tratados com extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora*, os resultados encontram-se na Tabela 4.

Tabela 4. Atividade antimicrobiana do extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* (8 mg.mL⁻¹) frente a *S. aureus* em filés de robalo armazenados a 4°C por 10 dias.

| Tratamentos | <i>Staphylococcus aureus</i> (log UFC.g ⁻¹) | | | | |
|-------------|---|----------|----------|----------|-----------|
| | 1 (dia) | 3 (dias) | 5 (dias) | 7 (dias) | 10 (dias) |
| C1 | 6,26 Ba | 6,69 Cb | 7,36 Bc | 8,10 Bd | 10,29 Ce |
| C2 | 6,41 Cb | 6,02 Ba | 7,59 Cc | 8,46 Cd | 9,80 Be |
| T1 | 6,16 Ac | 3,24 Aa | 4,37 Ab | 7,93 Ad | 9,16 Ae |

Médias seguidas de letras iguais não diferem entre si pelo teste de Tukey ($p < 0,05$), letra maiúscula na coluna comparam os tratamentos dentro do tempo e a letra minúscula comparam os tratamentos ao longo do tempo. C1. Filés contaminados com *S. aureus* (controle negativo); C2. Filés contaminados com *S. aureus* e revestidos com alginato de sódio 1% (controle negativo); T1. Filés contaminados com *S. aureus* e revestidos com alginato de sódio 1% contendo extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* (8 mg.mL⁻¹).

As melhores respostas foram obtidas com três 3 dias de exposição da população de *Staphylococcus aureus* ao extrato, com uma redução de aproximadamente 3 ciclos logaritmos da população. Esta redução correspondeu a quase 54% ao comparar aos controles (C1 e C2) no mesmo período (3 dias). Com 5 dias de observação, a redução de 3 ciclos logaritmos se manteve, apesar de ter havido crescimento da população microbiana (Tabela 4).

Comparando-se as Tabelas 3 e 4 é possível observar os diferentes comportamentos dos microrganismos em relação a ação do extrato. Para *L. monocytogenes* observou-se redução da população microbiana (3 log UFC.g⁻¹) após 1 dia, ao comparar com os controles (C1 e C2), enquanto que para *S. aureus* a redução de 3 log UFC.g⁻¹ ocorreu com 3 dias, perdurando até 5 dias. Acredita-se que a concentração do extrato testada para ambos os microrganismos tenha interferido nos resultados encontrados, uma vez que, foi empregada a concentração inibitória mínima (CIM) determinada no ensaio antimicrobiano in vitro e ao avaliar a matriz alimenta, seria necessário o uso de uma maior concentração do extrato para alcançar o mesmo efeito, já que o alimento constitui um meio de cultura completo.

As propriedades intrínsecas dos alimentos (teores de lipídios, proteína, água, minerais, pH), aliados aos determinantes extrínsecos (temperatura, embalagem, luz, ar e características dos microrganismos) influenciam na sensibilidade bacteriana (BURT, 2004; CASTELLANO et al., 2008). No entanto, deve-se ter o cuidado ao utilizar compostos antimicrobianos em alimentos, em razão dos impactos sensoriais que estes podem ocasionar no sabor, odor e aparência dos mesmos.

Os compostos conhecidos como responsáveis pela ação antimicrobiana em algas marinhas são os fenólicos, os lipofílicos e os terpenos. O mecanismo de ação desses compostos bioativos ainda não é totalmente esclarecido e, acredita-se que a variação na concentração da CIM bem como a ação na matriz alimentar esteja relacionada à composição e à morfologia dos microrganismos. Um mecanismo utilizado por estes compostos é interferir na síntese do peptidoglicano, responsável pela integridade da parede bacteriana. Ao atacarem a parede e membranas celulares dos microrganismos causam liberação dos constituintes intracelulares ou atuam na função da membrana, interrompendo o transporte de elétrons, absorção de nutrientes, proteínas, síntese de ácidos nucleicos e a atividade enzimática (GUPTA e ABU-GHANNAM, 2011; RAMKUMAR et al., 2016).

Embora haja estudos das atividades antimicrobiana e antioxidante dos extratos de algas marinhas in vitro, pouco se sabe sobre a ação desses compostos efetivamente em alimentos, se realmente ao serem adicionados aos produtos alimentares atuam efetivamente para aumentar a segurança (SOLOMAKOS et al., 2008). Os relatos disponíveis são em relação à adição de extrato de algas marinhas no cultivo de animais marinhos utilizados para consumo humano e, conseqüente redução de doenças no cultivo ou, adição em alimentos para substituir ou suplementar minerais e /ou fibras (GOÑI et al., 2000; KUMARAN et al., 2010).

4 CONCLUSÃO

Os extratos de macroalgas marinhas coletadas na praia de Manguinhos em Itaparica-BA, possuem atividade antimicrobiana, portanto, são considerados potencial fonte de compostos biologicamente ativos. O uso do

extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* contribuiu para um menor crescimento dos microrganismos inoculados durante o armazenamento refrigerado em relação aos controles. No entanto, faz-se necessário realizar testes com concentrações maiores na matriz alimentar para que o revestimento adicionado do extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* seja indicado como alternativa ao uso de aditivos químicos na conservação de filés de robalo.

2 REFERÊNCIAS

- ADETUTU, A.; MORGAN, W.A.; CORCORAN, O.; 2011. Antibacterial, antioxidant and fibroblast growth stimulation activity of crude extracts of *Bridelia ferruginea* leaf, a wound-healing plant of Nigeria. **Journal Ethnopharmacol.** 133: 116–119.
- ANDREO, D., JORGE, N. 2006. Antioxidantes naturais: Técnicas de extração. **Boletim do Centro de Pesquisa de Processamento de Alimentos.** 24:319-336.
- ARIAS, C. A.; MURRAY, B. E. 2012. THE rise of the Enterococcus: beyond vancomycin resistance. **Nature Reviews Microbiology.** 10: 266 – 278.
- BALBOA, E.M.; CONDE, E.; MOURE, A.; FALQUÉ, E.; DOMINGUEZ, H. 2013. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. **Food Chemistry.** 138: 1764–1785.
- BALIANO, A.P.; PIMENTEL, E. F.; BUZINA, A.R.; VIEIRA, T.Z.; ROMÃO, W.; TOSE, L. V.; LENZ, D.; ANDRADE, T. U.; FRONZA, M.; KONDRATYUK, T. P.; ENDRIGER, D.C. 2016. Brown seaweed *Padina gymnospora* is a prominent natural wound-care product **Revista Brasileira de Farmacognosia.**26:714–719
- BARROW, C.; SHAHIDI, F. 2008. Maine nutraceuticals and function foods. **Neutraceutical Science and Techonology.** CRC Press
- BARTOLOMEU, D.A.F.S., DALLABONA, B.R., MACEDO, R. E. F., KIRSCHNIK, P. G. 2011. Contaminação microbiológica durante as etapas de processamento de filé de tilápia (*Oreochromis niloticus*). **Archives of Veterinary Science.**16: 21-30.
- BATISTA, F.V.B.; BEZERRA, V.M. 2015.Ocorrência de doenças transmitidas por alimentos no município de Vitória da Conquista, Bahia. **Cadernos ESP.** 9: 27-34.
- BURT, S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods-a review. **International Journal of Food Microbiology.** 94: 223 - 253.
- CABRAL, I.S.R. 2012. **Extratos de algas marinhas como agentes antioxidantes e antimicrobianos e seus efeitos na qualidade de Miced de tilápia (*Oreochromis niloticus*).** Tese. USP, São Paulo.
- CASTELLANO, P.; BELFIORE, C.; FADDA, G.; VIGNOLO, G. S. 2008. A review of bacteriocinogenic lactic acid bacteria used as bioprotective cultures in fresh meat produced in Argentina. **Meat Science.** 79: 483–499

CHO, M.L.; LEE, H.S.; KANG, I.J.; WON MHAND YOU G. 2011. Antioxidant properties of extract and fractions from *Enteromorpha prolifera*, a type of green seaweed. **Food Chemistry**. 127: 999-1006.

CLINICAL LABORATORY STANDARDS INSTITUTE (CLSI). 2010. Methods for Broth Dilution Susceptibility Testing of Bacteria Isolated from Aquatic Animals; approved Guideline. M49-A, 26, 50.

COSTA, A.C. 2009. **Atividade antibacteriana dos óleos essenciais de *Origanum vulgale* L. e *Cinnamomum zeylanicum* B. contra a bactérias multiressistentes**. Tese. UFPA, Paraíba.

COSTA, R.A.; MOREIRA, B.A.B.; CARVALHO, F.C.T.; MENEZES, F.G.R.; SILVA, C.M., VIEIRA, R.H.S.F. 2011. Staphylococcus coagulase positiva e enterobactérias em camarão *Litopenaeus vannamei* comercializado "in natura". **Instituto Adolfo Lutz**. 70:566-571.

DHARGALKAR, V.K; VERLECAR, X.C. 2009. Southern ocean seaweeds a resource for exploration in food and drugs. **Aquaculture**. 1: 229-242.

DOMETTILA, C.; BRINTHA, T.S.S.; SUKUMARAN, S.; JEEVA, S. 2013. Diversity and distribution of seaweeds in the Muttom coastal waters, south-west coast of India. **Biodiversity Journal**. 4: 105-110.

DUSSALT, D.; VU, DANG, K.; VANSACH, T.; HORGEN, F.D., LACROIX, M. 2016. Antimicrobial effects of marine algal extracts and cyanobacterial pure compounds against five foodborne pathogens. **Food Chemistry**. 199:114–118.

FABRY, W.; OKEMO, O. P.; ANSORG, R.1998. Antibacterial activity of East African medicinal plants. **Journal of Ethnopharmacology**, 60:79–84.

FERREIRA, D.F. 2000. Sistema de análises de variância para dados balan-ceados. Lavras: UFLA.(SISVAR 4. 1. pacote computacional).

GOÑI, I.; VALDIESO, L.; GARCIA-ALONSO, A. 2000. Nori seaweed consumption modifies glycemic response in healthy volunteers. **Nutrition Research**. 20: 1367–1375.

GUPTA, S.; ABU-GHANNAM, N. 2011.Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. **Innovative Food Science and Emerging Technologies**. 4: 600–609

HARTMANN, K.C.; ONOFRE, B.S. 2010. Atividade antimicrobiana de óleos essenciais da camomila (*Matricaria chamomilla* L.). **Revista Saúde e Pesquisa**. 3: 279-284.

IBRAHIM, D.; LIM, S-H. 2015. In vitro antimicrobial activities of methanolic extract from marine alga *Enteromorpha intestinalis*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** 5: 785–788

KAMALADASHAN, N.; SUBRAMANIAN, S.K. 2009. Influence of seaweed liquid fertilizers on legume crop, red gram. **Basic and applied ecology**. 3: 21-24.

KUMARAN, S.; DEIVASIGAMANI, B., ALAGAPPANI, K., SAKTHIVEL, M., KARTHIKEYAN, R. 2010. Antibiotic resistant *Escherichia coli* strains from seafood and its susceptibility to seaweed extracts. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. 3: 977–981.

LIMA-FILHO, J. V. M.; CARVALHO, A.F.F.U.; FREITAS, S.M.; MELO, V.M.M. 2002. Antibacterial activity of extracts of six macroalgae from the northeastern Brazilian coast. **Brazilian Journal of Microbiology**. 33:311-313.

LU, F; LIU, D.; YE, X.; WEI, Y.; LIU, F. 2009. Alginate–calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 ° C. **Journal Science Food Agriculture**. 89: 848–854

MACHADO, F. L. da S., KAISER, C.R., COSTA, S.S., GESTINARI, L. M., SOARES, A.R. 2010. Atividade biológica de metabólitos secundários de algas marinhas do gênero *Laurencia*. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.20: 441-452, Jun./Jul.

MANIVANNAN, K.; KARTHIKAI DEVI, G.; ANANTHARAMAN, P. 2011. Antimicrobial potential of selected brown seaweeds from Vedalai coastal waters, Gulf of Mannar. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. 1: 114–120.

MORALES, J.L.; CANTILLO-CIAU, Z.O.; SANCHEZ-MOLINA, I.; MENAREJON, G.J. 2006. Screening of antibacterial and antifungal activities of six marine macroalgae from coasts of Yucatan peninsula. **Pharmaceutical Biologcal**. 44: 632-635.

NASCIMENTO, P. F. C.; NASCIMENTO, A. C.; RODRIGUES, C. S.; ANTONIOLLI, A.R.; SANTOS, O.P.; BARBOSA-JUNIOR, A.M.; TRINDADE, R.C. 2007. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais: uma abordagem multifatorial dos métodos. **Revista Brasileira de Farmacognosia**.17:108-113.

OSAWA, C.; FELÍCIO, P.; GONÇALVES, L. 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**. 28: 655-663.

OUSSALAH, M., CAILLET, S., SAUCIER, L., LACROIX, M. 2006. Antimicrobial effects of alginate based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of Food Protection**. 69: 2364-2369.

PÁDUA, M.; FONTOURA, P.S.G.; MATHIAS, A.L. 2004. Chemical composition of *Ulvaria oxysperma* (Kützting) Bliding, *Ulva lactuca* (Linnaeus) and *Ulva fasciata* (Delile). **Brazilian Archives of Biology and Technology**.47:49-55.

PADMAKUMAR. K.; AYYAKKANNU, K. 1997. Seasonal variation of antibacterial and antifungal activities of the extracts of marine algae from southern coasts of India. **Botanica marina**. 40: 507-516.

RAMKUMAR, V.S.; PRAKASHB, S.; RAMASUBBURANYANC, R.; PUGAZHENDHI, A.; GOPALAKRISHNANE, K.; KANNAPIRANF, E.; RAJENDRANA, R. B. 2016. Seaweeds: A resourch for marine bionanotechnology. **Enzyme and Microbial Technology**. 95:45–57.

RAYMUNDO, M.S.; HORTA, P.; FETT, R. 2004. Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral Catarinense (Brasil). **Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas**. 40: 495-503.

RIBEIRO, M. G; COSTA, E. O.; LEITE, D. S.; LANGONI, H., GARINO-JÚNIOR, F., VITÓRIA, C., LISTONI, F. J. P. 2006. Fatores de virulência em linhagens de *Escherichia coli* isoladas de mastite bovina. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**.58:724-731.

ROCHA, I.P. 2001. Aquicultura: um excelente negócio. **Revista Brasileira de Agropecuária** 11: 6-12.

SANTURIO, J.M.; SANTURIO, D.F.; POZZATTI, P; MORAES, C.; FRANCHIN, P.R.; ALVES, S.H. 2007. Atividade antimicrobiana dos óleos essenciais de orégano, tomilho e canela frente a sorovares de *Salmonella* entérica de origem avícola. **Ciência Rural**. 37: 803-808.

SARTORI, A. G. de O.; AMANCIO, R.D. 2012. Pescado: Importancia Nutricional e Consumo no Brasil. **Segurança Alimentar e Nutricional**. 19: 83:93.

SHAFAY, S.M.; ALI, S.S.; EL-SHEEKH, M.M. 2016. Antimicrobial activity of some seaweeds species from Red sea, against multidrug resistant bactéria. **Egyptian Journal of Aquatic Research**. 42: 65–74.

SHANMUGHAPRIYA, S.; MANILAL, A.; SUJITH, S.; SELVIN, J.; KIRAN SEGHAL, G.; NATARAJASEENIVASAN, K. 2008. Antimicrobial activity of seaweeds extracts against multiresistant pathogens. **Annals of Microbiology**. 58: 535-541.

- SHEPARD, B. D.; GILMORE, M. S. 2002. Antibiotic-Resistant Enterococci: The Mechanisms and Dynamics of Drug Introduction and Resistance. **Microbes and Infection**. 4:215-224.
- SHOUBAKY, G. A.; SALEM, E. A. 2014. Active ingredients fatty acids as antibacterial agent from the brown algae *Padina pavonica* and *Hormophysa triquetra*. **Journal of Coastal Life Medicine**. 2: 535-542.
- SILVA, N da, JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. de A., TANIWAKI, M H., SANTOS, R. F. S., GOMES, R. A. R. 2010. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e água. São Paulo. Varela. 4ª ed. 624 p.
- SILVA, G.; ALBUQUERQUE-COSTA, R.; OLIVEIRA-PEIXOTO, J.; PESSOA-NASCIMENTO, F.; de MACEDO-CARNEIRO, P.; dos FERNANDES-VIEIRA, R. 2013. Tropical Atlantic marine macroalgae with bioactivity against virulent and antibiotic resistant *Vibrio*. **Latin American Journal of Aquatic Reserch**. 41:183–188.
- SIMÕES C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 2007. **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. UFRGS; Florianópolis: UFSC, 1102.
- SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A.A. 2012. Qualidade e segurança do pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. 71:1-10.
- SOLOMAKOS, N., GOVARIS, A., KOIDIS, P., BOTSOGLOU, N. 2008. The antimicrobial effect of thyme essential oil, nisin, and their combination against *Listeria monocytogenes* in minced beef during refrigerated storage. **Food Microbiology**. 25:120-127.
- VAIRAPPAN, C.S. 2003. Potent antibacterial activity of halogenated metabolites from Malaysian red algae *Laurencia majuscula* (Rhodomelaceae, Ceramiales). **Biomolecular Engineering**. 20: 255-259.
- WATSON, S.B.; CRUZ-RIVERA, E. 2003. Algal chemical ecology: na introduction to the special issue. **Phycologia**. 42: 319-323.

CAPÍTULO 2 – USO DE EXTRATO DE MACROALGA NO REVESTIMENTO DE FILÉS DE PEIXE (*Centropomus* sp.) PARA MINIMIZAR A OXIDAÇÃO LIPÍDICA

Artigo a ser submetido ao Periódico Food Control, Qualis A1, na Área Zootecnia/Recursos Pesqueiros.

Antonia Vicentina Nunes Rodrigues^a, Brenda Borges Vieira^a, Simone Teles^a, Franceli Silva^a, Carla Fernandes Macedo^a, Norma Suely Evangelista-Barreto^{a,b*}

^aCentro de Ciências agrárias, Ambientais e Biológicas, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, Brasil

^bNúcleo de Estudos em Pesca e Aquicultura, Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, BA, Brasil

Resumo

Este trabalho visou analisar a atividade antioxidante de extratos etanólicos de macroalgas (pardas e vermelhas) na conservação de filés de robalo congelados. Foram analisadas a atividade antioxidante dos extratos usando os métodos DPPH (2,2-difenil-1-picrilhidrazilo) e ABTS [2,2'-azinobis-(3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)], teor de flavonoides, tanino esteroides/triterpenoide, saponina e alcaloides. A solução de revestimento foi obtida usando alginato de sódio a 1% + 20 mg.mL⁻¹ do extrato de *P. gymnospora*. O monitoramento microbiológico e físico-químico foi realizado nos intervalos T0, T30, T60, T90 e T120 dias. Ao final foi realizada análise sensorial para verificar se o extrato da macroalga influenciava no grau de aceitação dos filés de peixe. Os extratos etanólicos das diferentes espécies de macroalgas analisadas apresentaram atividade antioxidante pelas metodologias de DPPH e ABTS, sendo que a maior atividade antioxidante foi observada para o extrato da *Padina gymnospora* e a menor atividade para o extrato da *Gracilaria birdiae*. Verificou-se a presença de esteroides e triterpenoides em 100% dos extratos, flavonoide apenas para *P. gymnospora* e glicosídeos para *P. gymnospora*, *S. vulgare* e *G. cervicornis*. Os filés tratados com o extrato da macroalga *P. gymnospora* (T1) apresentaram menor contagem de bactérias psicrótróficas ao longo do período de armazenamento. Na matriz alimentar, não houve variação nos conteúdos de umidade e cinzas. Para proteínas houve diferença apenas para o tratamento T1, A redução de lipídios foi menor nos tratamentos usando extrato de *P. gymnospora* e BHT. O tratamento T4 apresentou menor oxidação lipídica quando comparado aos controles. Na análise sensorial, não foi conservada diferença entre os filés revestidos e não revestidos, apenas maior coloração nos filés revestidos com o extrato de alga. Os filés de robalo revestidos com extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* podem ser congelados por até 120 dias sem apresentar altas taxas de oxidação lipídica.

Palavras-chave: Algas marinhas; Compostos bioativos; Conservação; Segurança alimentar

USE OF SEAWEED EXTRACT IN THE FISH FILLET (*Centropomus* sp.) TO MINIMIZE LIPIDIC OXIDATION

Abstract

This work aimed to analyze the antioxidant activity of seaweed (brown and red) ethanol extracts in the conservation of frozen robalo fillets. The antioxidant activity of the extracts was analyzed using DPPH (2,2-diphenyl-1-picrylhydrazyl) and ABTS [2,2'-azinobis- (3-ethylbenzothiazoline-6-sulfonic acid)], flavonoid content, tannin steroids / triterpenoid, saponin and alkaloids. The coating solution was obtained using 1% sodium alginate + 20 mg.mL⁻¹ extract of *P. gymnospora*. Microbiological and physicochemical monitoring was performed at intervals T0, T30, T60, T90 and T120 days. At the end, sensorial analysis was carried out to verify if the extract of the seaweed influenced the degree of acceptance of the fish fillets. The ethanolic extracts of the different species of seaweed analyzed showed antioxidant activity by the methodologies of DPPH and ABTS, and the highest antioxidant activity was observed for the extract of *Padina gymnospora* and the lowest activity for the *Gracilaria birdiae* extract. The presence of steroids and triterpenoids was verified in 100% of extracts, flavonoid only for *P. gymnospora* and glycosides for *P. gymnospora*, *S. vulgare* and *G. cervicornis*. The fillets treated with the seaweed extract *P. gymnospora* (T1) presented lower counts of psychrotrophic bacteria during the storage period. In the food matrix, there was no variation in moisture and ash contents. For proteins there was difference only for T1 treatment. Lipid reduction was lower in the treatments using extract of *P. gymnospora* and BHT. The T4 treatment presented lower lipid oxidation when compared to controls. In the sensorial analysis, no difference was observed between the coated and uncoated fillets, only greater coloration in the fillets coated with the kelp extract. The robalo fillets coated with ethanolic extract of *P. gymnospora* seaweed can be frozen for up to 120 days without high lipid oxidation rates.

Keywords: Seaweed; Bioactive compounds; Conservation; Food safety

1 INTRODUÇÃO

O robalo, pertencente ao gênero *Centropomus* é considerado uma espécie de peixe muito atrativa e de elevado valor comercial devido a sua composição química, carne branca e macia e, com poucas espinhas. O teor de lipídios presente no músculo confere maior palatabilidade e aceitação pelo consumidor. Apesar dessas qualidades e aceitação, no Brasil esta espécie não é cultivada devido a insipiência de estudos voltados ao setor, sendo sua aquisição dependente da pesca artesanal e sua principal forma de

comercialização é in natura ou congelado (CERQUEIRA, 2005; FERRAZ et al., 2013; CORRÊA et al., 2013).

O congelamento é um método de conservação que modifica o estado físico da água presente no alimento, diminuindo a atividade e, conseqüentemente aumentando a vida útil do produto. Contudo, durante o congelamento, reações oxidativas e protéicas continuam a ocorrer comprometendo a qualidade sensorial e funcional do pescado (KUHN e SOARES, 2002).

A oxidação lipídica é um processo que define a vida útil do pescado, uma vez que modifica as características sensoriais pela produção de sabor e odor desagradáveis, tornando-o rejeitado pelo consumidor. Dessa forma, a perda do valor nutricional do pescado tem implicação direta em sua comercialização e nos produtos que a partir dele são formulados (OSAWA, 2005; GONÇALVES e GINDRI JUNIOR, 2009). Além disso, compromete a integridade e a segurança do pescado, pela formação de compostos poliméricos potencialmente tóxicos (RAMALHO e JORGE, 2006).

A adição de conservantes tem sido uma forma eficaz de minimizar ou prevenir a oxidação de produtos alimentares, retardando a formação de compostos tóxicos e aumentando a vida de prateleira dos alimentos. Na indústria alimentícia são utilizados os antioxidantes sintéticos GP (gaiato de propilo), BHA (hidroxianisol butilado), BHT (hidroxitolueno butilado) e TBHQ (terc-butil-hidroquinona). No entanto, há relatos que estes conservantes sintéticos podem exercer efeito toxicológico e/ou patológico aos consumidores devido a presença ou a produção de substâncias com esse efeito (SAFER et al., 1999; ROCHA, 2007; ABREU et al., 2010).

Em alguns países da Europa e Canadá o uso de antioxidantes sintéticos tem sido proibido, enquanto no Brasil é permitido o uso de 0,01% de BHT em relação ao peso do alimento pelo Ministério da Saúde (BRASIL, 1961). Desse modo, pesquisas buscando métodos alternativos de conservação do pescado visando a redução dos danos oxidativos têm sido realizadas (ITURRIAGA et al., 2012; LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012). Para proporcionar aos consumidores um produto protegido e com suas características sensoriais mantidas (SOARES et al., 2013).

Dentre estas alternativas, o estudo das macroalgas tem se tornado promissor para a indústria alimentícia uma vez que, os compostos secundários produzidos em seu metabolismo têm sido eficientes contra a peroxidação dos lipídios (CARDOZO et al., 2007).

A imersão de alimentos em solução de revestimento é um método utilizado para atuar como barreira semipermeável e reduzir a umidade, as trocas gasosas e as reações oxidativas. Além de não tóxicos e não poluentes são comestíveis e biodegradáveis podendo ser utilizados em alimentos que não são embalados individualmente devido ao tamanho. Ao ser incorporadas com compostos bioativos, as coberturas podem aumentar a qualidade do produto, agregar cor, sabor e transportar aditivos com ação antimicrobiana e antioxidante aumentando a conservação de pescados (FAKHOURI et al., 2007; VALENCIA-CHAMORRO et al., 2011; LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012).

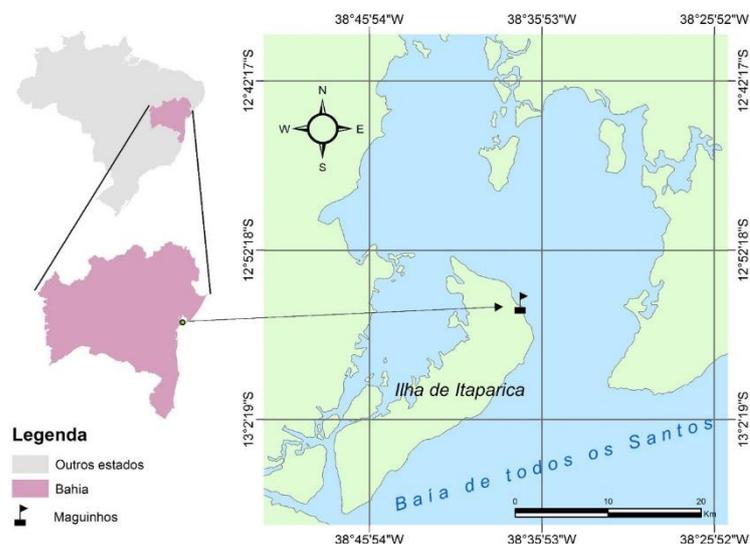
Dentro deste contexto, o objetivo deste trabalho foi analisar se os compostos bioativos presentes nos extratos etanólicos de macroalgas apresentam atividade antioxidante, bem como propor como método de conservação o uso de revestimento em filés de robalo mantidos sob temperaturas de congelamento.

2 MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Coleta, triagem e herborização das macroalgas

Algas pardas e vermelhas foram coletadas em bancos naturais da praia de Manguinhos em Itaparica, Bahia, Brasil (12° 54.279'S e 038° 38. 084' W) (Figura 1). O material foi coletado manualmente, com auxílio de espátula em maré baixa, transportados em sacos de polietileno e acondicionados em caixas isotérmicas contendo gelo. Uma parte das algas foi encaminhada para o laboratório de Sistemática Vegetal do Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB), UFRB, para fixação, herborização e identificação, e a outra metade foi lavada em água corrente para remoção de sujidades, pesadas e encaminhadas para o laboratório de Fitoquímica, UFRB, para preparação dos extratos.

Figura 1. Mapa de localização da região de coleta, praia de Manguinhos em Itaparica – BA, Brasil.



Para a herborização as algas foram colocadas cuidadosamente sobre uma folha de papel firme em uma bandeja contendo água. Em seguida, o material foi inserido entre folhas de jornal e papelão e prensadas. Após este processo, foram amarradas e secas a temperatura de 40-50°C por seis dias para obtenção das exsicatas (Sant'anna et al., 1989), que se encontram no acervo do Herbário do Recôncavo da Bahia (HURB) da UFRB.

2.2. Preparação dos extratos

As algas foram secas a 40°C por até 72 h, período que variou conforme a espécie. Após a secagem, as algas foram trituradas em moinho tipo Willey com peneira de 1 mm para obtenção de um pó fino, para melhor contato célula/solvente e extração. O rendimento do extrato foi determinado para cada grupo de algas (RAYMUNDO et al., 2004).

Para o extrato, a biomassa foi submetida à extração exaustiva com etanol (92,8° INPM) na proporção 1:10 três vezes a cada 72 h, a temperatura ambiente (24-25°C) e ao abrigo da luz (Cabral, 2012). Posteriormente, os extratos foram filtrados e submetidos a rotaevaporação (RE 52A) a 40°C. O resíduo seco foi armazenado em frascos âmbar, etiquetados e armazenados a 4-8°C até as análises.

2.3. Atividade antioxidante in vitro dos extratos etanólicos das algas

A atividade antioxidante dos extratos etanólicos das algas foi avaliada usando dois diferentes métodos: captura dos radicais 2,2-difenil-1-picrilhidrazil-DPPH (Duan et al., 2006) e 2,2'-azinobis (3-etilbenzotiazolina-6-ácido sulfônico)-ABTS (Re et al., 1999). O resultado foi expresso em CE_{50} ($mg.mL^{-1}$), ou seja, quantidade necessária do extrato que reduz 50% (CE_{50}) dos radicais livres presente nas amostras.

2.3.1 Efeito bloqueador dos radicais livres de DPPH

A atividade antioxidante das amostras foi obtida usando 300 μ L para cada concentração do extrato de alga (1; 2,5; 5; 12,5; 15; 20 $mg.mL^{-1}$) diluído em metanol e 2,7 mL de DPPH (0,0024%). Como controle foi usado a reação de 300 μ L de metanol com 2,7 mL de DPPH. O ácido gálico foi usado como controle positivo em substituição ao extrato. As análises foram realizadas em triplicata. A leitura da absorbância foi lida em espectrofotômetro UV/Visível, modelo Genesys™, no comprimento de onda de 517 nm. A leitura da absorbância dos tubos contendo DPPH ocorreu 120 minutos após o início da reação. As amostras foram colocadas em ambiente escuro a temperatura ambiente, para obtenção de valores estáveis de absorbância.

A habilidade das amostras em sequestrar radicais de DPPH foi calculada conforme a seguinte equação (1):

Equação 1:

$$\% \text{ de efeito de eliminação} = 1 - \left(\frac{A_{\text{amostra}} - A_{\text{branco}}}{A_{\text{controle}}} \right) \times 100, \text{ onde:}$$

A_{amostra} = absorbância da solução DPPH com a amostra;

A_{branco} = absorbância da amostra sem adição de DPPH;

A_{controle} = absorbância da solução referência de DPPH.

A concentração do extrato que inibe 50% (CE_{50}) dos radicais livres foi calculada a partir do gráfico correlacionando-se a % de DPPH sequestrado e as concentrações testadas de cada extrato.

2.3.2 Atividade sequestradora do radical ABTS (ABTS+)

O ABTS+ (7 mM) foi enriquecido com $K_2S_2O_8$ (140 mM), deixado em repouso no escuro à temperatura ambiente por 12 a 16 h. A solução de

trabalho foi solubilizada com etanol e lida a absorvância $\lambda = 734 \text{ nm}$ de $0,0 \pm 0,02$. A reação ocorreu com adição de 2 mL da solução etanólica de ABTS (branco). Após o preparo da ABTS, 2 mL da solução foi adicionada em tubos de ensaio contendo 100 μL de cada concentração (1; 2,5; 5,0; 12,5; 15; 20 $\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) do extrato. Como controle positivo foi usado trolox. As análises foram realizadas em triplicata.

As leituras de absorvância foram realizadas logo após a adição do ABTS em espectrofotômetro UV/Visível, modelo Genesys™, e comprimento de onda de 734 nm. A porcentagem de inibição do radical ABTS foi calculada conforme a seguinte equação (2):

Equação 2:

$$\% \text{ de efeito de eliminação} = \left[\left(\frac{A_{\text{amostra}} - ABTS}{ABTS} \right) \right] \times 100, \text{ onde:}$$

A_{amostra} = absorvância da solução ABTS com a amostra;

ABTS = absorvância da solução referência de ABTS.

A concentração do extrato que inibe 50% (CE_{50}) dos radicais livres foi calculada a partir do gráfico correlacionando a % de ABTS sequestrado e as concentrações testadas de cada extrato.

2.4. Determinação dos diferentes grupos de compostos fenólicos

A composição dos extratos etanólicos das diferentes algas foi avaliada com base em diferentes grupos de compostos fenólicos, derivados de ácidos hidroxinâmicos e flavonóis; e teor de fenóis totais (Boulanouar et al., 2013). Um mililitro do extrato ($1 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ de extrato) foi diluído em 1 mL de etanol aquoso (95% v/v) contendo 0,1% de ácido clorídrico e 8 mL de ácido clorídrico a 2%. Para quantificar o teor de fenóis foi usado solução de ácido gálico como padrão com leitura de absorvância no comprimento de onda de 280 nm. Para os derivados do ácido hidroxicinâmico usou-se uma solução de ácido cafeíco como padrão, com leitura a 320 nm, enquanto para o teor de flavonóis foi usado uma solução de quercetina como padrão (Genesys 10mV, Thermo Electron Corporation), com leitura a 360 nm. Os resultados foram expressos em mg de grupo fenólico por g de extrato.

2.5. Triagem fitoquímica

Os extratos foram analisados para a presença de flavonoides, tanino esteroides/triterpenoide (Joshi et al., 2013), saponina (Iqbal et al., 2015) e alcaloide (Azevedo et al., 2014). A concentração de flavonoides foi obtida usando 0,5 mL do extrato, 10 gotas de ácido clorídrico concentrado e 0,5 cm de fita de magnésio. O resultado foi observado pela reação de Shinoda ou cloreto de cianidina, onde a formação de cor rosa, parda a vermelha, ou marrom indicava a presença de flavonoides. Para os taninos foi usado 1,0 mL do extrato e três gotas de solução alcoólica de FeCl_3 . A cor verde indicava a presença de galotaninos e a cor marrom indicava a presença de pseudotaninos. Cor azul indicava a presença de taninos hidrolisáveis (Joshi et al., 2013).

O teor de saponina foi obtida adicionando 2 mg do extrato, 2 mL de clorofórmio e 5 mL de água destilada. Após forte agitação a formação de espuma persistente e abundante (colarinho), persistente após aquecimento em banho-maria por 5 minutos, indicava a presença de saponinas (Iqbal et al., 2015). A identificação de triterpenos e esteroides foi realizada usando dois métodos: 1. Lieberman-burchard: utilizado 2 mg das frações dos extratos, solubilizado em 2 mL de clorofórmio e adicionado 1 mL de anidrido acético. Após agitação suave foi adicionado 3 gotas de ácido sulfúrico concentrado pelas paredes dos tubos. Uma camada superior verde indicava a presença de esteroides e a formação de cor vermelha indicava a presença de triterpenoides. Uma coloração azul evanescente seguida de verde indicava a presença de esteroides e triterpenoides, respectivamente (Joshi et al., 2013). 2. Teste Salkowski: em tubos de ensaio foi adicionado 1,0 mL do extrato e três gotas de ácido sulfúrico. A cor vermelha indicava a presença de esteroides e formação de cor amarela indicava a presença de triterpenoides.

Para o teor de alcaloides, 2 mg do extrato em tubo de ensaio foram alcalinizados com 15 gotas de hidróxido de sódio a 1% e acrescidos 2 mL de água e 2 mL de clorofórmio. A fração aquosa foi desprezada e a fração clorofórmica acrescida de quinze gotas de ácido clorídrico a 1%, sendo posteriormente extraída com 2 mL de água. A fração clorofórmica foi desprezada e os testes realizados com a fração aquosa ácida foi acrescida de

três gotas do reagente de Drangendorff. A formação de precipitado laranja ou laranja avermelhado indicava a presença de alcaloide (Azevedo et al., 2014).

2.6. Atividade antioxidante do extrato etanólico da macroalga *Padina gymnospora* na matriz alimentar

Para a obtenção da solução de revestimento foi utilizada a metodologia proposta por Oussalah (2006) e Lu et al. (2009) com modificações. O alginato de sódio a 1% foi solubilizado à temperatura ambiente em água destilada estéril (500 mL) com agitação de 1000 rpm, adicionado glicerina (1%) e a concentração de 20 mg.mL⁻¹ do extrato da alga.

Os peixes foram adquiridos no município de Canavieiras, BA, armazenados em caixas isotérmicas e transportados para o laboratório de Tecnologia do Pescado da UFRB, onde foram processados. Filés de aproximadamente 300 g foram imersos em cada um dos tratamentos (Tabela 1) por 30 minutos. Após a retirada do excesso de água, os filés foram mantidos em bandejas de isopor para alimentos, embalados em filme de polietileno e armazenados a -18°C por 120 dias. Nos intervalos de 0, 30, 60, 90, 120 dias foram realizadas análises microbiológicas (bactérias heterotróficas psicotróficas) e físico-químicas (pH, umidade, cinzas, proteína, lipídio total e oxidação lipídica).

Tabela 1. Tratamentos para avaliar a atividade antioxidante em filés de robalo a -18°C por 120 dias.

| Tratamentos | Descrição |
|---------------|--|
| Tratamento T1 | Filés revestidos em solução de alginato de sódio 1% + extrato da alga <i>P. gymnospora</i> |
| Tratamento T2 | Filés revestidos em solução de alginato de sódio 1% + BHT (butilhidroxitolueno) |
| Tratamento T3 | Filés revestidos em solução de alginato de sódio 1% |
| Controle C1 | Filés sem revestimento (controle negativo) |

A concentração (20 mg.mL⁻¹) do extrato etanólico da alga *P. gymnospora* foi definida a partir dos resultados obtidos nos testes da atividade antioxidante in vitro (DPPH e ABTS).

2.6.1. Análises microbiológicas

A contagem de bactérias aeróbias psicrotróficas cultiváveis foi realizado de acordo com Silva et al. (2010).

2.6.2. Análises físico-químicas

As análises de umidade, cinzas, proteína total e lipídio total foram realizadas segundo as Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz (1985).

A análise da oxidação lipídica foi realizada pela medição de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico (TBARS) como descrito por Buege e Aust (1978), com modificações. Uma porção de 10 g do filé de robalo foi homogeneizado em 50 mL de uma solução do ácido tricloroacético (TCA) a 7,5%, filtrado em papel de filtro qualitativo. A solução filtrada foi colocada em balão de 50 mL e seu volume final completado com TCA a 7,5%. Em seguida, 5 mL da solução filtrada foi colocada em tubo de ensaio, em triplicata, e adicionado 5 mL de ácido tiobarbitúrico (TBA) 0,02M. A mistura foi aquecida em banho maria a 100 °C por 10 minutos para o desenvolvimento de uma coloração cor-de-rosa e depois resfriada em gelo. A solução branco foi obtida usando 5 mL de TBA + 5mL de TCA. A leitura da absorbância foi realizada em espectrofotômetro a 532 nm. Para quantificação dos níveis de TBARS nas amostras utilizou-se a equação obtida a partir da curva utilizando o padrão 1,1,3,3- tetraetoxipropano (TEP). Os resultados foram expressos em mg MDA.kg⁻¹ por amostra de filé de peixe.

2.8.3 Análise sensorial

O teste de aceitação foi realizado com 50 membros da comunidade acadêmica entre alunos, funcionários e professores da instituição não treinados, aprovado pelo Comitê de Ética da UFRB com no. de parecer 1.624.495. Os filés foram descongelados, adicionados de um pouco de sal e pimenta preta, agrupados de acordo com os tratamentos, grelhados e servidos. Adicionalmente os participantes receberam água com gás e biscoito de água e sal para limpeza das papilas gustativas. Para avaliar a aceitação por atributos sensoriais (cor, aspecto visual, aroma, textura e sabor) foi aplicada a escala

hedônica não estruturada de 9 cm entre as âncoras segundo Minim (2006), tendo como extremos “desgostei extremamente” e “gostei extremamente”.

2.8. Análise estatística

A análise dos resultados foi realizada utilizando o sistema para análise de variância - SISVAR (FERREIRA, 2000). As médias dos tratamentos foram submetidas à análise de variância pelo teste F e aplicado teste de Tukey ($p < 0,05$) e regressão para os dados da oxidação lipídica. Todas as análises foram realizadas em triplicata, com duas repetições.

3 RESULTADOS

3.1 Coleta, herborização e rendimento

As espécies de macroalgas coletadas na praia de Manguinhos em Itaparica-BA, e o rendimento dos extratos algais estão apresentadas na Tabela 2. Dos cinco extratos etanólicos de macroalgas, a alga parda *Padina gymnospora* apresentou maior rendimento (2,73%) sugerindo que esta pode ter constituintes e/ou proporções diferentes que apresentaram maior afinidade com o solvente polar usado (etanol).

Em ordem decrescente de rendimento dos extratos se encontram os filios Phaeophyta e Rhodophyta (Tabela 2).

Tabela 2. Tipos de macroalgas coletadas na Praia de Manguinhos - BA e o rendimento dos extratos etanólicos obtidos.

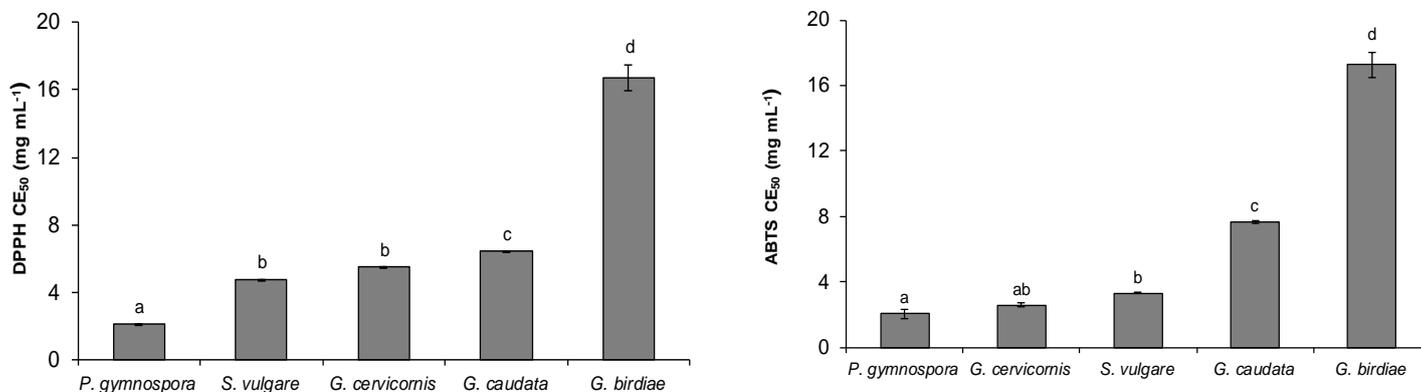
| Filo | Algas | Exsicata | Rendimento dos extratos | | |
|------------|-------------------------------|----------|-------------------------|-------------------|----------------|
| | | | Biomassa seca (g) | Extrato bruto (g) | Rendimento (%) |
| | <i>Gracilaria birdiae</i> | 12947 | 15 | 0,04 | 0,27 |
| Rhodophyta | <i>Gracilaria cervicornis</i> | 12944 | 15 | 0,12 | 0,8 |
| | <i>Gracilaria caudata</i> | 9516 | 15 | 0,12 | 0,8 |
| | <i>Sargassum vulgare</i> | 12941 | 15 | 0,35 | 2,33 |
| Phaeophyta | <i>Padina gymnospora</i> | 9521 | 15 | 0,41 | 2,73 |

3.2 Atividade antioxidante in vitro dos extratos etanólicos das algas

As avaliações da captura dos radicais DPPH e ABTS pelos extratos revelaram resultado positivo para a atividade antioxidante das diferentes espécies de macroalgas em que 100% dos extratos etanólicos das diferentes

espécies analisadas apresentaram biocompostos com capacidade de sequestrar radicais livres (Figuras 2 e 3).

Figuras 2 e 3. Valores médios da CE_{50} ($\text{mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) pelo método DPPH e ABTS, a partir dos extratos etanólicos de macroalgas.



Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey.

Na Figura 2 os valores da CE_{50} variaram de $2,10 \pm 0,03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$ a $16,75 \pm 0,8 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$, sendo que os extratos das macroalgas *S. vulgare* e *G. cervicornis* não apresentaram diferença estatística ($p \leq 0,05$). O menor valor obtido da CE_{50} ($2,10 \pm 0,03 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) e consequentemente maior atividade antioxidante foi para o extrato de *P. gymnospora*, enquanto o maior valor da CE_{50} ($16,75 \pm 0,8 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) foi para *G. birdiae* com menor atividade antioxidante.

Quando comparado a atividade antioxidante dos extratos com o padrão de ácido gálico ($CE_{50} 0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$) observou-se valores médios de CE_{50} mais elevados. O extrato da macroalga *P. gymnospora* apresentou uma CE_{50} cerca de 4,2 vezes maior do que o requerido pelo ácido gálico ($0,05 \text{ mg}\cdot\text{mL}^{-1}$), enquanto que *G. birdiae* foi 33,5 vezes. Isso justifica que o extrato da *P. gymnospora* possui maior atividade antioxidante por estar mais próximo do requerido pelo padrão para CE_{50} do que o extrato da *G. birdiae*.

No ensaio químico ABTS as maiores atividades antioxidantes foram obtidas para os extratos de *P. gymnospora*, *G. cervicornis* e *S. vulgare*, pois não houve diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre eles (Figura 3). A maior atividade antioxidante foi obtida para o extrato de *P. gymnospora* com a menor CE_{50}

($2,06 \pm 0,3 \text{ mg.mL}^{-1}$) enquanto o maior valor da CE_{50} ($17,28 \pm 0,8 \text{ mg.mL}^{-1}$) foi obtido para *G. birdiae* com menor atividade antioxidante.

Ao comparar a atividade antioxidante dos extratos com a solução padrão Trolox ($CE_{50} 0,08 \pm 0,002 \text{ mg.mL}^{-1}$) pelo método ABTS os resultados da CE_{50} dos extratos algais também se mostraram superiores, embora com atividade antioxidante menor quando comparada com o método DPPH. O CE_{50} do extrato de *P. gymnospora* foi cerca de 2,57 vezes maior do que o requerido pelo Trolox, enquanto para *G. birdiae* foi 21,58 vezes maior.

3.3 Determinação de diferentes grupos de compostos fenólicos

O teor de compostos fenólicos diferiu estatisticamente ($p \leq 0,001$) entre os extratos das diferentes espécies de macroalgas (Tabela 3).

Tabela 3. Diferentes grupos de compostos fenólicos obtidos dos extratos etanólicos de macroalgas coletadas no litoral da Bahia.

| Filo | Algas | Compostos fenólicos | | |
|-------------|-----------------------|------------------------|------------------------------------|----------------------------|
| | | Flavonóis ¹ | Ácidos hidroxinâmicos ² | Fenóis totais ³ |
| Phaeophytas | <i>P. gymnospora</i> | 101,56 ^a | 102,42 ^a | 206,68 ^a |
| | <i>S. vulgare</i> | 45,52 ^b | 47,56 ^b | 103,95 ^b |
| | <i>G. cervicornis</i> | 6,37 ^c | 7,95 ^c | 16,76 ^c |
| Rhodophytas | <i>G. caudata</i> | 6,09 ^c | 7,84 ^c | 16,74 ^c |
| | <i>G. birdiae</i> | 4,33 ^d | 5,88 ^d | 13,02 ^d |

Médias seguidas da mesma letra na coluna não diferem significativamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo Teste de Tukey. ¹ mg EQ g⁻¹ (mg de equivalente a quercetina por g de extrato); ² mg EAC g⁻¹ (mg de equivalente ao ácido cafeico por g de extrato); ³mg EAG g⁻¹ (mg de equivalente a ácido gálico por g de extrato).

Dos cinco extratos etanólicos analisados as Phaeophytas apresentaram em ordem decrescente maior teor de flavonóis, ácidos hidroxinâmicos e fenóis totais nas seguintes espécies *P. gymnospora* e *S. vulgare*. As Rhodophytas *G. caudata* e *G. cervicornis* não apresentaram diferença significativa entre si, enquanto *G. birdiae* foi o extrato com menor teor de flavonóis, ácidos hidroxinâmicos e fenóis totais.

Foi possível observar que os flavonóis, derivados de ácidos hidroxinâmicos, bem como fenóis totais estão correlacionados

significativamente ($p \leq 0.05$) com os dois métodos (DPPH e ABTS) usados (Tabela 4).

Tabela 4. Correlação de Pearson (r) entre os diferentes grupos de compostos fenólicos dos extratos etanólicos de macroalgas e a atividade antioxidante.

| Métodos antioxidante | Compostos fenólicos | | |
|----------------------|---------------------|-----------------------|---------------|
| | Flavonóis | Ácidos hidroxinâmicos | Fenóis Totais |
| DPPH CE_{50} | -0,617* | -0,618* | -0,621* |
| ABTS CE_{50} | -0,538* | -0,539* | -0,546* |

* $p \leq 0.05$; 0 - 0,5 correlação fraca; 0,51 – 0,7 correlação moderada; 0,71 – 0,9 correlação forte; 0,91 – 1,0 correlação muito forte.

Os valores de r em todas as correlações se apresentaram negativos, o que indica que quanto maior for o teor de um determinado composto fenólico, menor será a CE_{50} e, conseqüentemente maior atividade antioxidante. Os valores de r obtidos se enquadram na faixa de 0,51 a 0,7 o que representa correlação moderada (Tabela 4). Com isso pode-se inferir que os compostos fenólicos não são os principais responsáveis pela ação antioxidante tendo, provavelmente a presença de outros compostos contribuído para a atividade antioxidante dos extratos.

3.4 Triagem fitoquímica

Compostos importantes como flavonoides, tanino, esteroide, saponina e alcaloide foram analisados nos extratos etanólicos das macroalgas (Tabela 5).

Tabela 5. Triagem fitoquímica dos extratos etanólicos de macroalgas coletadas no litoral da Bahia.

| Alga | Metabólicos secundários | | | | | | |
|----------------------|-------------------------|--------|------------|---------------|----------|-----------|-------------|
| | Flavonoide | Tanino | Esteroides | Triterpenoide | Saponina | Alcaloide | Glicosídeos |
| <i>P.gymnospora</i> | + | - | + | + | - | - | + |
| <i>S. vulgare</i> | - | - | + | + | - | - | + |
| <i>G. caudata</i> | - | - | + | + | - | - | - |
| <i>G.cervicornis</i> | - | - | + | + | - | - | + |
| <i>G.birdiae</i> | - | - | + | + | - | - | - |

+ presença, - ausência

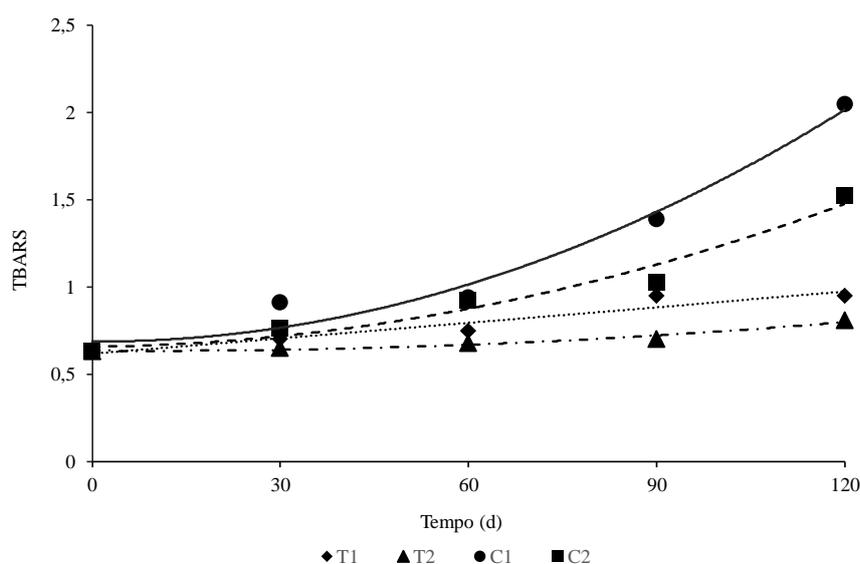
Foi observado a presença dos compostos esteroide e triterpenoide em 100% dos extratos analisados, flavonoide apenas para o extrato de *P. gymnospora* e glicosídeos para os extratos de *P. gymnospora*, *S. vulgare* e *G. cervicornis*.

3.5 Atividade antioxidante do extrato etanólico da macroalga *Padina gymnospora* na matriz alimentar

3.5.1 Oxidação lipídica

Considerando o tempo de armazenamento para a oxidação lipídica, o tratamento T2 se comportou como o melhor por todo o período, seguido pelo tratamento T1 e os controles C2 e C1. Os valores das Substâncias Reativas ao Tiobarbitúrico (TBARS) nos tratamentos T1 e T2 foram significativamente menores ($p \leq 0,05$) quando comparado aos controles (Figura 4). Além disso, esses tratamentos T1 e T2 não apresentaram diferença significativa ($p \geq 0,05$) na maioria dos dias analisados (Figura 4).

Figura 4. Valores de TBARS (mg de malonaldeído kg^{-1}) nas amostras de filés de robalo (*Centropomus* sp.) dos quatro tratamentos armazenados a -18°C por 120 dias.



C1: Filés sem revestimento; C2: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1%; T1: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1% + BHT; T2: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1% + extrato da macroalga *P. gymnospora*. Equações C1- $y = 8E-0,7x^2 + 0,0029x + 0,6194$ $R^2 = 0,9177$; C2- $y = 1E-0,5x^2 - 0,003x + 0,6363$ $R^2 = 0,9571$; T1- $y = 9E-05x^2 - 0,0002x + 0,6886$ $R^2 = 0,9739$; T2- $y = 5E-0,5x^2 + 0,0005x + 0,6577$ $R^2 = 0,9659$.

Inicialmente as amostras de filés de robalo apresentaram valor de 0,63 mg MDA.kg⁻¹. Com 120 dias de armazenamento, em ordem crescente, o tratamento T2 apresentou um valor de 0,80 mg MDA.kg⁻¹, o tratamento T1 0,94 mg MDA.kg⁻¹, enquanto que o controle C2 1,55 mg MDA.kg⁻¹ e o controle C1 com 2,1 mg MDA.kg⁻¹. Dessa forma, a amostra mais oxidada foi do controle C1 ao nível de 95% de confiança.

3.5.2 Análise microbiológica

Os microrganismos avaliados (psicrotróficos) tiveram sua população reduzida após a estocagem a -18°C, o que demonstra a ação da baixa temperatura (Tabela 6).

Tabela 6. Contagem de psicrotróficos em filés de robalo armazenados a -18°C por 120 dias.

| Período de Armazenamento (dias) | Psicrotróficos log UFC.g ⁻¹ | | | |
|---------------------------------|--|--------------------|--------------------|--------------------|
| | C1 | C2 | T1 | T2 |
| 0 | 4,33 ^{Ca} | 4,33 ^{Ca} | 4,33 ^{Ca} | 4,33 ^{Ca} |
| 30 | 4,30 ^{Ca} | 4,34 ^{Ca} | 4,15 ^{Ca} | 4,15 ^{Ca} |
| 60 | 3,48 ^{Bd} | 3,20 ^{Bc} | 2,86 ^{Bb} | 1,65 ^{Ba} |
| 90 | 3,13 ^{Ac} | 3,11 ^{Ac} | 2,74 ^{Bb} | 1,18 ^{Aa} |
| 120 | 3,07 ^{Ac} | 3,04 ^{Ac} | 2,09 ^{Ab} | 1,24 ^{Aa} |

C1: Filés sem revestimento; C2: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1%; T1: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1% + BHT; T2: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1% + extrato da macroalga *P. gymnospora*; letra minúscula compararam os tratamentos dentro do tempo e a letra maiúscula compararam os tratamentos ao longo do tempo, letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Nas amostras dos grupos controles (C1 e C2) ocorreu um decréscimo na população de bactérias psicrotróficas, sendo que a contagem de microrganismos do tratamento C1 passou de 4,33 log UFC.g⁻¹ no 1º dia de armazenamento para 3,07 log UFC.g⁻¹ no 120º dia de armazenamento congelado, enquanto que C2 passou de 4,33 para 3,04 log UFC.g⁻¹ (Tabela 6).

Os filés tratados com o extrato etanólico da macroalga *Padina gymnospora* (T2) apresentaram comportamento semelhante ou melhor ($p \leq 0,05$) que as amostras tratadas com BHT (T1) por todo período (Tabela 6).

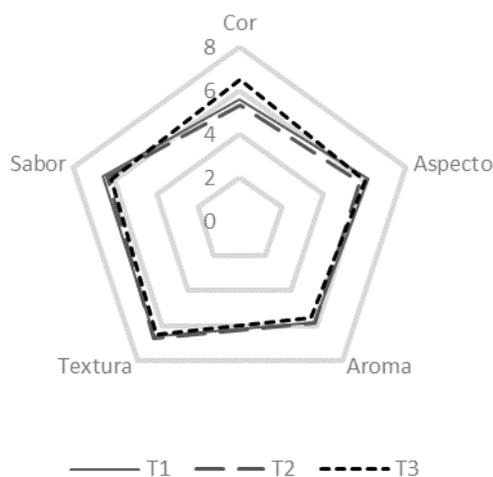
Com 90 dias de armazenamento o tratamento T2 apresentou redução microbiana de 3 ciclos logarítmicos, já o tratamento T1 apresentou redução de

aproximadamente 2 ciclos logarítmicos com 120 dias (Tabela 6). A legislação não determina o limite de contagem de bactérias psicrófilas, no entanto a International Commission on Microbiological Specifications for Foods (ICMSF, 2001) sugere uma detecção de até 7,0 log UFC g⁻¹, já que estes microrganismos são importantes atuantes no processo de deterioração. Desta maneira, os resultados encontrados para estas amostras estavam dentro do limite estabelecido por este grupo de pesquisadores.

3.5.3 Análise sensorial

Os resultados do teste de aceitação por atributos sensoriais dos filés de robalo estão apresentados na Figura 5.

Figura 5. Atributos sensoriais avaliados para filés de robalo tratados com extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora*.



C1. Filés sem revestimento (controle); C2. Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1% e T1. Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1% + extrato da macroalga *P. gymnospora* (20 mg.mL⁻¹).

Os atributos aspecto, aroma e sabor não apresentaram diferença significativa ($p \leq 0,05$) entre as amostras de filés. Apenas para o atributo cor foi observada diferença significativa entre as amostras, com médias de 5,6 para os filés sem revestimento (controle); 5,3 para os filés revestidos com alginato de sódio e 6,5 para os filés revestidos com alginato de sódio contendo o extrato etanólico da macroalga *Padina gymnospora*. A diferença atribuída as amostras contendo o extrato de *Padina gymnospora* para o atributo cor, dar-se-á

presença dos pigmentos característicos da referida espécie, contudo essa diferença não foi elevada o suficiente para interferir no consumo.

Em geral, os valores médios dos atributos mantiveram-se entre 5,3 e 6,7 situando-se intermediário aos extremos “desgostei extremamente” e “gostei extremamente”, o que demonstra que os julgadores não sentiram diferença no uso do revestimento associado ao extrato da alga. A ausência de diferença entre os tratamentos demonstra que o extrato da *P. gymnospora* pode ser utilizado para conservar filés de robalo sem que haja interferência nos atributos sensoriais para o consumidor.

3.5.4 Composição centesimal (umidade, cinzas, proteínas e lipídios)

Na Tabela 8 estão apresentados os resultados da composição centesimal do robalo (*Centropomus* sp.) no início e ao término do experimento (120 dias). A armazenagem sob congelamento não provocou alteração significativa ($p \geq 0,05$) para o teor de umidade e cinzas.

Tabela 8. Valores médios da composição centesimal de filés de robalo armazenados sob congelamento (-18°C) por 120 dias.

| Tempo de Armazenamento | Tratamentos | Composição centesimal (%) | | | |
|------------------------|-------------|---------------------------|-------------------|--------------------|-------------------|
| | | Umidade | Cinzas | Proteínas | Lipídios |
| Início | MP | 78,84 ^a | 0,99 ^a | 17,98 ^a | 2,4 ^a |
| | C1 | 79,99 ^a | 0,98 ^a | 16,83 ^c | 0,56 ^d |
| 120 dias | C2 | 80,55 ^a | 0,96 ^a | 17,43 ^b | 0,93 ^c |
| | T1 | 79,91 ^a | 0,94 ^a | 17,24 ^b | 1,6 ^b |
| | T2 | 79,74 ^a | 1,2 ^a | 17,51 ^b | 1,8 ^b |

C1: Filés sem revestimento; C2: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1%; T1: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1% + BHT; T2: Filés revestidos em solução de alginato de sódio a 1% + extrato da macroalga *P. gymnospora*. Letras diferentes diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Com relação aos valores de proteína, o tratamento utilizando o conservante sintético BHT (T1) não diferiu estatisticamente ($p \geq 0,05$) do tratamento com extrato de alga (T2) e do controle revestido apenas com alginato de sódio (C2). Enquanto o controle sem revestimento (C1) diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) de todos os outros tratamentos (Tabela 8).

De acordo com os resultados encontrados e considerando a classificação de Stansby e Olcott (1967), o robalo faz parte da categoria A, na qual os peixes possuem baixo teor de lipídios <5% e alto teor de proteína 15-

20%, o que caracteriza a espécie como sendo de excelente qualidade nutricional. Já para a classificação de Almás (1981) e Pigott e Tucker (1990) o peixe que se encontra com o teor de lipídios na faixa entre 2,0 a 5,7% é classificado semi-gordo, faixa em que se enquadra o gênero *Centropomus* sp.

Ao final do período de armazenamento o conteúdo de lipídios não apresentou diferença estatística ($p \geq 0,05$) entre os tratamentos T1 e T2, estes apresentaram maior conservação de lipídios quando comparado aos controles (C1 e C2), que diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) entre si (Tabela 8).

4 DISCUSSÃO

4.1 Atividade antioxidante in vitro dos extratos etanólicos das algas

Segundo Cho et al. (2011) a diferença nos rendimentos dos extratos de algas se deve à forma de extração, tipo de solvente, tempo, temperatura e a própria espécie da alga. A diferença no rendimento dos extratos de macroalgas também ocorre devido à polaridade do solvente uma vez que distintos compostos são extraídos em função da polaridade (PITTA, 2010).

Os solventes utilizados na extração de substâncias ativas não são seletivos, ocasionando a extração de diversos grupos de compostos, como polissacarídeos, compostos fenólicos, ácidos graxos poli-insaturados, proteínas, peptídeos, vitaminas, pigmentos, terpenoides e esteróis. Esses grupos apresentam diferentes concentrações e potencial bioativo que podem variar conforme a época do ano, localização geográfica, espécie e alterações ambientais (BALBOA et al., 2013).

Com isso a eficácia da atividade antioxidante dos extratos algais se deve a presença de diversos compostos e, dentre eles pode-se citar os compostos fenólicos, polissacarídeos sulfatados e os ácidos orgânicos. Estes compostos são responsáveis pela inibição de radicais livres, impedindo a oxidação (SOUSA et al., 2008; COSTA et al., 2010).

No presente estudo a menor atividade antioxidante foi para o gênero das Gracilarias (Rodophytas), com destaque para *Gracilaria birdiae*, que apresentou menor teor de compostos fenólicos no extrato. Assim sendo, o potencial antioxidante observado nas diferentes espécies de algas vermelhas

(*G. cervicornis*, *caudata* e *birdiae*) e pardas (*P. gymnospora* e *S. vulgare*), com destaque para as algas pardas se deve ao maior teor de compostos fenólicos e grupos fitoquímicos presentes.

Semelhante ao observado no presente estudo, Zubia et al. (2007) também relataram menor atividade antioxidante para as espécies de *Gracilaria* (*G. Bursa-pastoris*, *G. caudata*, *G. cornea*, *G. cylindrica*, *G. tikvahiae*) com evidência para *G. tikvahiae* (CE₅₀ de 28,94 mg.mL⁻¹) quando comparada as espécies dos demais grupos Phaeophyta e Rhodophyta.

Os compostos fenólicos são comumente encontrados em vegetais e, das atividades biológicas apresentadas por eles têm-se a relação com o potencial antioxidante (CHANDINI et al., 2008). Desta forma, o conteúdo dos compostos fenólicos determinados no presente estudo foi correlacionado moderadamente com a atividade antioxidante.

Acredita-se que a atividade antioxidante atribuída aos extratos das macroalgas neste estudo se deve também ao envolvimento de compostos antioxidantes, como pigmentos carotenoides e clorofilas que constituem as diferentes espécies, como relataram Raymundo et al. (2004) ao avaliarem a atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil) e Devi et al. (2011) ao afirmarem que os carotenoides possuem propriedades antioxidantes, já que reagem rapidamente com os radicais livres retardando ou amenizando a deterioração oxidativa.

Acredita-se que a presença do composto fenólico flavonoide encontrado apenas no extrato da alga *P. gymnospora* contribuiu com a maior atividade antioxidante encontrada para esta espécie. Flavonoide e ácidos hidroxinâmicos são compostos fenólicos com propriedades antioxidantes devido a atuação como agente doador de hidrogênio para estabilizar o radical livre e impedir a lesão da célula. Os compostos fenólicos podem ser encontrados também na forma livre ou ligados a proteínas e açúcares (glicosídeos), sendo que posição do açúcar na estrutura fenólica influi na solubilidade e propriedades físico-químicas (FURLONG et al., 2003).

Os flavonoides são conhecidos por possuírem numerosas atividades biológicas e farmacológicas, o que tem feito aumentar os estudos e a busca deste composto em vegetais. Antocianinas, flavonóis, flavonas, isoflavonas,

flavononas e flavanas correspondem às diferentes classes de flavonoides e, sua presença nos vegetais pode estar relacionado com a proteção a raios ultravioleta, ação antifúngica e antibacteriana (JIANG et al., 2008; SIMÕES et al., 2010).

Relacionando ao presente estudo, El-din e El-Ahwany (2015) ao avaliarem os compostos fitoquímicos de macroalgas vermelhas (*Jania rubens*, *Corallina mediterranea* e *Pterocladia capillacea*) relataram a presença do composto esteroide para 100% dos extratos analisados. Além da espécie, as condições ambientais e sazonais influenciam no conteúdo e teor dos compostos químicos encontrados nas algas.

Marimuthu et al. (2012) relataram a presença dos compostos químicos alcaloides, flavonoides, esteroides, saponinas e fenóis ao analisarem o extrato da alga parda *Sargassum wightii* o mesmo gênero analisado no presente estudo (*Sargassum vulgare*) foi relatado apenas a presença de esteroides, triterpenoides e glicosídeos. O esteroide predominante nas algas marrons é o fucosterol, que possui propriedades antioxidante, antibacteriana, antifúngica e anti-inflamatória (PLAZA et al., 2008).

4.2 Atividade antioxidante do extrato etanólico da macroalga *Padina gymnospora* na matriz alimentar

Ao avaliar a ação do extrato etanólico da *P. gymnospora* na matriz alimentar, a adição dos conservantes sintético (BHT) e natural (*P. gymnospora*) se mostraram eficazes no retardo da oxidação dos lipídios por todo período de armazenamento. Os grupos fitoquímicos identificados e maior teor de compostos fenólicos para o extrato da *P. gymnospora* contribuiu para que as amostras do tratamento T2 apresentasse menor grau de oxidação lipídica. Dessa forma, o uso do extrato da *P. gymnospora* é mais indicado para conservar filés de robalo sob congelamento devido à ausência de substâncias sintéticas, que podem originar compostos com efeitos tóxicos ao organismo e doenças como câncer.

A presença do revestimento de alginato de sódio para as amostras do controle C2 minimizou as reações oxidativas fazendo com que o referido grupo ocupasse o segundo lugar em nível de oxidação (1,55 mg MDA.kg⁻¹). Isso

porque o revestimento atua como uma barreira minimizando as trocas gasosas, fator que explica o teor de lipídios encontrado com 120 dias de armazenamento e o maior grau de oxidação para o controle C1, que diferiu estatisticamente ($p \leq 0,05$) do controle C2 na maioria dos dias analisados. Esse resultado confirma que o armazenamento em baixas temperaturas não é suficiente para impedir o processo de oxidação lipídica. Segundo Lu et al. (2009) o revestimento de alginato de cálcio é eficiente para preservar a qualidade de filés de peixes, porque reduz o grau de deterioração química.

As reações oxidativas reduzem o valor nutritivo dos alimentos e podem formar compostos potencialmente tóxicos como os hidroperóxidos e aldeídos (FERRARI, 1998). Todavia, a legislação brasileira não estabelece limite máximo para produção de substâncias reativas ao ácido tiobarbitúrico em pescados. Lu et al. (2009) consideraram que até 2 mg MDA.kg⁻¹ os filés de peixes se encontravam em bom estado para consumo. No presente trabalho, os valores de TBARS nos filés de robalo estiveram abaixo de 2 mg MDA.kg⁻¹, com exceção do controle C1 que estava acima (2,1 mg MDA.kg⁻¹) do valor preconizado pelos autores.

Vale ressaltar que a intensidade da reação de oxidação lipídica em peixes congelados depende do teor de lipídios da espécie, bem como do potencial das substâncias presentes nos antioxidantes utilizados. Ozogul et al. (2011) relataram um valor inicial de 0,79 mg MDA.kg⁻¹ para filés de sardinha tratados com extrato de alecrim mantidos sob congelamento. Ao final do período (seis meses) estes autores encontraram um teor de 9,23 mg MDA.kg⁻¹ para o controle, valor muito superior ao apresentado no presente estudo por se tratar de uma espécie classificada como gorda.

Monteiro et al. (2012) relataram um valor inicial de 0,47 mg MDA.kg⁻¹ em tilápias irradiadas e tratadas em atmosfera modificada por sete dias sob refrigeração e, para o final do período um valor de 2,69 mg MDA.kg⁻¹. Daniel et al. (2016) ao avaliarem a estabilidade lipídica de filés de jundiá transportados em água contendo o óleo essencial de *Aloysia triphylla* como anestésico natural e, mantidos sob congelamento, obtiveram um valor de 2 mg MDA.kg⁻¹ com seis meses de armazenamento.

É certo que a carga microbiana encontrada antes do congelamento, reflita a existência de contaminação devido as más condições

higienicossanitárias, o que inclui água contaminada, embarcação, manipuladores e/ou utensílios utilizados no processamento (FERREIRA et al., 2014; SOARES et al., 2014). As distintas características dos microrganismos pertencentes ao grupo dos psicrotróficos proporcionaram distintas respostas frente ao modo de ação dos conservantes na redução microbiana em número e em dias.

As baixas temperaturas também podem favorecer a morte de bactérias, devido a lise da membrana ou parede celular com a expansão dos cristais de gelo intracelular. Outro fator é que quando os microrganismos se encontram em condições extremas, como é o caso do uso de conservantes aliado a temperatura de congelamento, estes baixam o metabolismo ficando num estado não cultivável. Essa situação se mantém até que haja condições favoráveis para o desenvolvimento, como o descongelamento (COLLA e PRENTICE-HERNÁNDEZ, 2003). O uso de revestimentos adicionados a conservantes tem influência na redução microbiana por atuarem impedindo as trocas gasosas na superfície das amostras. Contudo, o extrato da macroalga *P. gymnospora* em revestimentos é indicado tanto para conservação do pescado quanto por ser um composto natural o que é uma vantagem frente ao BHT.

Acredita-se que o método de abate (hipotermia) tenha proporcionado menor desgaste físico e consumo das reservas de glicogênio, o que aliado ao manuseio e forma de armazenamento adequados proporcionaram um maior período de pré-rigor, já que a variação do pH ao longo do período de armazenamento depende da condição em que os peixes são capturados. O maior desgaste físico e consequente consumo da reserva de glicogênio, bem como temperatura de estocagem, ação enzimática, espécie, dieta, estação e tipo de músculo contribuem com o período de frescor (HE e XIAO, 2016).

Os resultados da composição centesimal do robalo no início do experimento estão próximos ao encontrado por Menezes et al. (2008) para *Centropomus undecimalis*, com valores de 79,62%, 18,29%, 2,5%, 1,09% para umidade, proteína, lipídios e cinzas, respectivamente. A composição química do tecido dos peixes é bastante variável inclusive interespecie, devido a interferência de diversos fatores como idade, sexo, dieta, estágio de maturação sexual, migração, estação do ano e disponibilidade de alimentos, bem como a parte do corpo analisada (HUSS, 1998; LIMA et al., 2012). A umidade é um dos

componentes químicos que mais tem influência no processo de estocagem e processamento do produto, uma vez que está diretamente relacionada a estabilidade, qualidade e composição do mesmo (IZIDORO et al., 2008).

Pressupõe-se que a presença do revestimento atuou como uma barreira impedindo as trocas gasosas e as reações oxidativas, fator que pode ter contribuído com a maior desnaturação de proteínas e perda de lipídios do controle sem revestimento (C1). Apesar da eficiência de preservação do congelamento, algumas alterações indesejáveis além da oxidação lipídica podem ocorrer, como a desidratação superficial e desnaturação proteica que comprometem a qualidade nutricional e sensorial do alimento (SOARES et al., 2013). A utilização de solução de revestimento comestível para proteger os alimentos cárneos contra a oxidação lipídica tem sido relatada na literatura (LU et al., 2009; LÓPEZ-DE-DICASTILLO et al., 2012).

5 CONCLUSÃO

Os extratos de macroalgas marinhas coletadas na praia de Manguinhos em Itaparica-Ba, são potencial fonte de compostos biologicamente ativos com atividade antioxidante.

Em virtude do maior conteúdo de compostos fenólicos e grupos fitoquímicos identificados neste trabalho no extrato, a macroalga *P. gymnospora* é considerada uma espécie promissora para utilização na indústria alimentícia como alternativa ao uso de conservantes sintéticos no revestimento.

Com relação a análise sensorial, a ausência de diferença entre os tratamentos demonstrou que o extrato da *P. gymnospora* pode ser utilizado para conservar filés de robalo sem que haja interferência nos atributos sensoriais para o consumidor.

Os resultados indicam que os filés de robalo revestidos com extrato etanólico da macroalga *P. gymnospora* até 120 dias de estocagem a -18 °C não apresentam altas taxas de oxidação lipídica.

6 REFERÊNCIAS

- AZEVEDO, L.F.P.1; FARIA, T.S.A.1; PESSANHA, F.F.1; ARAUJO, M.F.1; LEMOS, G.C.S. 2014. Triagem fitoquímica e atividade antioxidante de *Costus spicatus* (Jacq.) S.w. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**.16: 209-215.
- BOULANOUAR, B.; ABDELAZIZ, G.; AAZZA, S.; GAGO, C.; MIGUEL, M. G. 2013. Antioxidant activities of eight Algerian plant extracts and two essential oils. **Industrial Crops and Products** 46: 85–96
- BRASIL. Ministério da Agricultura e do Abastecimento. Secretaria Nacional de Defesa Agropecuária. Lei nº30691 de 29/03/52. Regulamento da Inspeção Industrial e Sanitária de Produtos de Origem Animal. Brasília – DF, 1997a.
- CABRAL, I.S.R. 2012. **Extratos de algas marinhas como agentes antioxidantes e antimicrobianos e seus efeitos na qualidade de Miced de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Tese. USP, São Paulo.
- CARDOZO, K.H.M.; GUARATINI, T.; BARROS, M.P.; FALCÃO, V.R.; TONON, A.P.; LOPES, N.P.; CAMPOS, S.; TORRES, M.A.; SOUZA, A.O.; COLEPICCOLO, P.; PINTO, E. 2007. Metabolites from algae with economical impact.**Comparative Biochemistry and physiology**.146: 50-78.
- CHANDINI, S.K.; GANESAN, P.; BHASKAR, N., 2008. In vitro antioxidant activities of three selected brown seaweeds of India. **Food Chemistry**. 107: 707–713
- COLLA, L. M., PRENTICE-HERNÁNDEZ, C. 2003. Congelamento e descongelamento – sua influência sobre os alimentos. **Vetor**. 13: 53-66.
- CORRÊA, C. F.; TACHIBANA, L.; LEONARDO, A.F.; BACCARIN, A. E. 2013. Rendimento de carcaça, composição do filé e análise sensorial do robalo-peva de rio e de mar. **Boletim do Instituto de Pesca**. 39: 401 – 410.
- COSTA, L.S.; FIDELIS, G.P.; CORDEIRO, S.L.; OLIVEIRA, R.M.; SABRY, D.A.; CÂMARA, R.B.G.; NOBRE, L.T.D.B. COSTA, M.S.S.P.; ALMEIDA-LIMA, J.; FARIAS, E.H.C.; LEITE, E.L.; ROCHA, H.A.O. 2010.Biological activities of sulfated polysaccharides from tropical seaweeds. **Biomedicine & Pharmacotherapy**. 64 :21–28.
- DANIEL, A.P.; FERREIRA, L.F.; KLEIN, B.; RUVIARO, A.R.; QUATRIN, A.; PARODI, T. V.; ZEPPENFELD, C.C.; HEINZMANN, B. M.; BALDISSEROTTO, B.; EMANUELLI, T. 2016. Oxidative stability during frozen storage of fillets from silver catfish (*Rhamdia quelen*) sedated with the essential oil of *Aloysia triphylla* during transport. **Ciência Rural**. 46:560-566.
- DEVI, G. K.; MANIVANNAN, K.; THIRUMARAN, G.; RAJATHI, A.A.; ANANTHARAMAN, P. 2011. In vitro antioxidant activities of selected seaweeds from Southeast coast of India. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine** 205-211
- DUAN, X-J., ZHANG, W-W., LI, X-M., WANG, B-G. Evaluation of antioxidante property of extract and fractions obtained from a red algae *Polysiphonia urceolata*. **Food Chemistry**. 95: 37-43.
- EL-DIN, S.S.M.; EL-AHWANY, A.M.D. 2016.Bioactivity and phytochemical constituents of marine red seaweeds (*Jania rubens*, *Corallina mediterranea* and *Pterocladia*). **Journal of Taibah University for Science**. 10: 471–484.
- FELIX, M.R. 2014.**Análise do perfil metabólico e de parâmetros fisiológicos e ultraestruturais de *Pterocladia capillacea* (Rhodophyta, gelidiales) sob condições de**

estresse por cádmio e gradientes de salinidade. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal de Santa Catarina.

FERRAZ, E. de M., PETERSEN, R. L., PASSINI, G., CERQUEIRA, V. R. 2013. Híbridos recíprocos obtidos por cruzamentos entre os robalos *Centropomus parallelus* e *Centropomus undecimalis*. **Boletim do Instituto de Pesca**.39: 53 – 61.

FERREIRA, D.F. 2000. Sistema de análises de variância para dados balanceados. Lavras: UFLA.(SISVAR 4. 1. pacote computacional).

FERREIRA, E.M., LOPES, I.da S., PEREIRA, D. de M., RODRIGUES, L. da C., COSTA, F.N. 2014. Avaliação da Qualidade de Filés de Pescada Gó. **Arquivo do Instituto Biológico**. 81:49-54.

FURLONG, E. B., COLLA, E., BORTOLATO, D.S., BAISCH, A. L. M., SOUZA-SOARES, L.A., 2003. Avaliação do potencial de compostos fenólicos em tecidos vegetais. **Vetor**. 13: 105-114.

GONÇALVES, A.A. e GINDRI JUNIOR, C.S.G. 2009 The effect of glaze uptake on storage quality of frozen shrimp. **Journal of Food Engineering**. 90: 285-290.

HE, Q., XIAO, K. 2016. The effects of tangerine peel (*Citri reticulatae pericarpium*) essential oils as glazing layer on freshness preservation of bream (*Megalobrama amblycephala*) during superchilling storage. **Food Control**.69:339-345

HUSS, H.H. 1998. El pescado fresco: su calidad y cambios de su calidad. FAO. Tecnologia de pesca. N. 348, Roma, 202p.

IQBAL, E.; SALIM, K. A. S.; LIM, L. B. L. 2015. Phytochemical screening, total phenolics and antioxidant activities of bark and leaf extracts of *Goniothalamus velutinus* (Airy Shaw) from Brunei Darussalam, **Journal of King Saud University Science**. 27: 224–232.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ.1985. Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz. v.1: Métodos químicos e físicos para análise de alimentos.3:14-15.

INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. Pescados y productos derivados. In: INTERNATIONAL COMMISSION ON MICROBIOLOGICAL SPECIFICATION FOR FOODS. 2001. Microorganismos de los alimentos: ecología microbiana de los productos alimentarios. Zaragoza: Acribia. p.121-166.

ITURRIAGA, L., OLABARRIETA, I., MARAÑÓN, I.M. DE.2012. Antimicrobial assays of natural extracts and their inhibitory effect against *Listeria innocua* and fish spoilage bacteria, after incorporation into biopolymer edible films. **International Journal of Food Microbiology**.158:58-64.

IZIDORO, D.R., SCHEER, A.P., NEGRE, M.F.O., HAMINIUK, I. & SIERAKOWSKI, M.R. 2008. Avaliação físico-química, colorimétrica e aceitação sensorial de emulsão estabilizada com polpa de banana verde. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. 67:167-176.

JIANG, H.; ZHAN, W.Q.; X, L.; SX, J. 2008. Antioxidant activities of extracts and flavonoid compounds from *Oxytropis falcate* Bunge. **Natural Product Reserch**. 22: 1650-1656.

JOSHI, A.; BHOBE, M.; SATTARKAR, M. 2013. A. Phytochemical investigation of the roots of *Grewia microcos* Linn. **Journal of Chemical and Pharmaceutical Research**.5: 80-87.

KUHN, C.; SOARES, G.J.D. 2002. Proteases e inibidores no processo de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**.8: 5-11.

LIMA, M de M.; MUJICA, P. I. C.; LIMA, A.M. 2012. Caracterização química e avaliação do rendimento em filés de caranha (*Piaractus mesopotamicus*). **Brazilian Journal of Food Technology**. 4:41-46.

LÓPEZ-DE-DICASTILLO, C., GÓMEZ-ESTACA, J., CATALÁ, R., GAVARA, R., HERNÁNDEZ-MUÑOZ, P. 2012. Active antioxidant packaging films: Development and effect on lipid stability of brined sardines. **Food Chemistry**. 131:1376-1384.

LU, F.; LIU, D.; YE, X.; WEI, Y.; LIU, F. 2009. Alginate–calcium coating incorporating nisin and EDTA maintains the quality of fresh northern snakehead (*Channa argus*) fillets stored at 4 ° C. **Journal Science Food Agriculture**. 89: 848–854

MARIMUTHU, J.; ESSAKIMUTHU, P.; NARAYANAN, J.; ANANTHAM, B.; JOY, R.; MENEZES, M. E. da S.; LIRA, G. M.; OMENA, C. M. B.; FREITAS de D, J.; SANT'ANA, A. E. G. Composição centesimal, colesterol e perfil de ácidos graxos dos peixes tainha (*Mugil cephalus*) e camurim (*Centropomus undecimalis*) da Lagoa Mundaú, AL/Brasil. **Revista Instituto Adolfo Lutz**. 67:89-95.

MINIM, V. P. R. 2006. **Análise Sensorial: estudo com consumidores**. Editora UFV, Viçosa, MG.

MONTEIRO, M. L. G.; MÁRSICO, E. T.; TEIXEIRA, C. E.; MANO, C. B.; JÚNIOR, C. A. C.; VITAL, H de C. 2012. Validade comercial de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) resfriados embalados em atmosfera modificada e irradiados. **Ciência Rural**. 42: 737-743.

OSAWA, C.; FELÍCIO, P.; GONÇALVES, L. 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova** 28: 655-663.

OUSSALAH, M., CAILLET, S., SAUCIER, L., LACROIX, M. 2006. Antimicrobial effects of alginate based film containing essential oils for the preservation of whole beef muscle. **Journal of Food Protection**. 69: 2364-2369.

OZOGUL, Y.; DURMUS, M.; BALICKI, E.; OZOGUL, F.; AYAS, D.; YAZGAN, H. 2011. The effects of the combination of freezing and the use of natural antioxidant technology on the quality of frozen sardine fillets (*Sardinella aurita*). **International Journal of Food Science and Technology**. 46:236–242.

PIGOTT, G; TUCKER, B. 1990. Sea food effects of technology on nutrition. 1. ed., **Edit Marcel Dekker**, INC, New York, USA.

PLAZA, M.; CIFUENTE, A.; IBÁÑEZ. 2008. In the search of new functional food ingredients from algae. **Trends in Food Science & Technology**. 19: 31-39.

RAMALHO, V.C.; JORGE, N. 2006. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**. 29: 755-760.

RAYMUNDO, M.S.; HORTA, P.; FETT, R. 2004. Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral Catarinense (Brasil). **Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas**. 40: 495-503.

RE, R.; PELLEGRINI, N.; PROTEGGENTE, A.; PANNALA, A.; YANG, M.; RICE-EVANS, C. 1999. Antioxidant activity applying an improved ABTS radical cation decolorization assay. **Free radical biology e medicine**. 26: 1231-1237.

RIVAS, L.R. Systematic review of the perciform fishes of the genus *Centropomus*. *Copeia*, p. 579-611, 1986.

ROCHA, F.D.; PEREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C.; TEIXEIRA V. L. 2007. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista Brasileira Farmacognosia** 17: 631-639.

SAFER, A.M., AL-NUGHAMISH. 1999. Hepatotoxicity induced by the antioxidant food additive butylated hydroxytoluene (BHT) in rats: an electron microscopical study. **Histology and Histopathology**. 14: 391–406.

SILVA, N da, JUNQUEIRA, V. C. A., SILVEIRA, N. F. de A., TANIWAKI, M H., SANTOS, R. F. S., GOMES, R. A. R. 2010. Manual de Métodos de Análise Microbiológica de Alimentos e água. São Paulo. Varela. 4ª ed. 624 p.

SIMÕES, C. M. O. 2010. Farmacognosia: da planta ao medicamento. UFRGS; Florianópolis: UFSC.

SOARES, N.M., MENDES, T.S., VICENTE, A.A. 2013. Effect of chitosan-based solutions applied as edible coatings and water glazing on frozen salmon preservation – A pilot-scale study. **Journal of Food Engineering**. 119:316 – 323.

SOARES, K. M. de P., GONÇALVES, A.S., SOUZA, L. B de. 2014. Qualidade microbiológica de filés de tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) durante o armazenamento em gelo. **Ciência Rural**. 44:2273-2278.

SOUSA, M. B.; PIRES, DOS SANTOS, K. M.; DE ALENCAR, D.B.; SAMPAIO, A.H.; SAKER-SAMPAIO, S. 2008. α - β - caroteno e α -tocoferol em algas marinhas in natura. **Ciência Tecnologia Alimentos**. 28: 953-958.

STANSBY, M. E.; OLCOTT, H. S. 1967. Composición del pescado. In: STANSBY, M. E.; DASSOW, J. A. **Tecnología de la Industria Pesquera**. Zaragoza: Acribia, p. 391 - 402.

TAYLOR, R.G.; WHITTINGTON J.A.; GRIER, H. J.; CRABTREE, R.E. 2000 Age, growth, maturation, and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coasts of south Florida. **Florida Marine Research Institute** 98: 612-624.

THAMARAJ, J.M.; ARUMUGAM, S. 2012. Phytochemical characterization of brown seaweed *Sargassum wightii*. **Asian Pacific Journal of Tropical Disease** 109-113

VIJAYABASKAR, P., SHIYAMALA, V. 2012. Antioxidant properties of seaweed polyphenol from *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh, 1848 **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. 90-98.

ZUBIA, M.; FABRE, M. S.; KERJEAN, V.; LANN, K. L.; STIGER-POUVREAU, V.; FAUCHON, M. 2009. Antioxidant and antitumoural activities of some *Phaeophyta* from Brittany coasts. **Food Chemistry**. 116: 693-701.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

No presente estudo, os extratos etanólicos das macroalgas coletadas na praia de Manguinhos em Itaparica-BA apresentaram compostos bioativos com potencial atividade antimicrobiana e antioxidante.

Devido ao baixo rendimento dos extratos não foi possível realizar todas as análises com as macroalgas coletadas no início do experimento, em decorrência da sazonalidade e variação na presença das espécies no local de coleta. A sazonalidade também pode ter contribuído com o baixo potencial antimicrobiano encontrado.

Os ensaios antioxidantes refletiram maior potencial bioativo para o extrato da macroalga *Padina gymnospora*. O revestimento de filés de robalo com extrato etanólico da macroalga *Padina gymnospora* se mostrou eficiente na inibição da oxidação lipídica. Dessa forma, indica-se a utilização desse revestimento no controle da qualidade química de filés de robalo em alternativa ao uso de conservantes sintéticos, por 120 dias sob congelamento.

Este estudo da atividade antimicrobiana e antioxidante *in vitro* e na matriz alimentar, utilizando macroalgas coletadas na praia de Manguinhos em Itaparica-BA é uma investigação inédita que poderá servir como base para estudos futuros.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ABRANTES, J.L.; BARBOSA, J.; CAVALCANTI, D.; PEREIRA, R.C.; FONTES, C.; TEIXEIRA, V.L. MORENO SOUZA, J.L.; PAIXÃO, I.C. 2010. The effects of the diterpenes isolated from the brazilian brown algae *Dictyota paffii* and *Dictyota menstrualis* against the herpes simplex type-1 replicative cycle. **Planta Medica**. 76: 339-344.
- ALENCAR, D.B.; CARVALHO, F. C. T.; REBOUÇAS, R. H.; SANTOS, D. R.; PIRES-CALVACANTE, K. M. DOS S.; LIMA, R.L.; BARACHO, B.M.; BEZERRA, R.M.; VIANA, F. A.; VIEIRA, R. H. S. F.; SAMPAIO, A. H.; SOUSA, O.V. 2016. Bioactive extracts of red seaweeds *Pterocladia capillacea* and *Osmundaria obtusiloba* (Floridophyceae: Rhodophyta) with antioxidant and bacterial agglutination potential. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. 9:372–379
- ALMEIDA, N.M.; BATISTA, G. M.; KODAIRA, M.; VAL, L. A.; LESSI, E. 2005. Determinação do índice de rigor-mortis e sua relação com a degradação dos nucleotídeos em tambaqui (*Colossoma macropomum*), de piscicultura e conservados em gelo. **Ciência Rural**.35: 698-704.
- ANDRADE, G. Q.; BISPO, E.S.; DRUZIAN, J.I.; 2009. Avaliação da qualidade nutricional em espécies de pescado mais produzidas no Estado da Bahia Quality evaluate nutritional the fishes more consumed in State of Bahia – Brazil. **Ciência Tecnologia Alimentos**. 29: 721-726.
- ACKMAN, R. G. 1989. **Nutritional composition of fats in seafood**. **Progress in Food and Nutrition Science**.13: 161-241.
- BALBOA, E.M.; CONDE, E.; MOURE, A.; FALQUÉ, E.; DOMINGUEZ, H. 2013. In vitro antioxidant properties of crude extracts and compounds from brown algae. **Food Chemistry**. 138: 1764–1785.
- BARNES, R. D.; RUPPERT, E. E.; FOX, R. S.; 2005. **Zoologia dos Invertebrados**. Editora: Roca. Ed 7ª. 1168 p. ISBN: 9788572415712
- BARROW, C.; SHAHIDI, F. 2008. **Maine neutraceuticals and function foods**. Neutraceutical Science and Techonology. CRC Press
- BOURTOOM, T. 2008. Edible films and coatings: characteristics and properties. **International Food Research Journal**.3:.237-248.
- BRAND-WILLIAMS, W.; CUVELIER, M.E.; BERSET, C.W. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity **Food Science and tecnologia**.28: 25-30
- BRASIL. Decreto nº 50040, de 24 de janeiro de 1961 ementa: Dispõe sobre Normas Técnicas Especiais Reguladoras do Emprego de Aditivos Químicos a Alimentos. D.O.U. - **Diário Oficial da União**; Poder Executivo, de 28 de janeiro de 1961.
- BRASIL. Ministério da Pesca e Aquicultura. 2013. Boletim estatístico de pesca e aquicultura do Brasil 2011. Brasília: República Federativa do Brasil.
- CABRAL, I.S.R. 2012. **Extratos de algas marinhas como agentes antioxidantes e antimicrobianos e seus efeitos na qualidade de Miced de tilápia (*Oreochromis niloticus*)**. Tese. USP, São Paulo.
- CALO-MATA, P.; ARLINDO, S.; BOEHME, K.; MIGUEL, T.; PASCOAL, A.; BARROS-VELAZQUEZ, J. 2008. Current applications and future trends of lactic acid bacteria and their

- bacteriocins for the biopreservation of aquatic food products. **Food and Bioprocess Technology**. 1: 43–63.
- CARDOZO, K.H.M.; GUARATINI, T.; BARROS, M.P.; FALCÃO, V.R.; TONON, A.P.; LOPES, N.P.; CAMPOS, S.; TORRES, M.A.; SOUZA, A.O.; COLEPICCOLO, P.; PINTO, E. 2007. Metabolites from algae with economical impact. **Science Direct, Comprative Biochemistry and physiology**, part C.
- CEAGESP - Companhia de Entrepósitos e Armazéns Gerais de São Paulo 2016 Cotações de Preços no Atacado. São Paulo, disponível em: Acesso em: 08 novembro 2016
- CERQUEIRA, M. A.; LIMA, A. M. P.; SOUZA, B. W. S.; TEIXEIRA, J. A.; MOREIRA, R. A.; VICENTE, A. A. 2009. Novel functional polysaccharides as edible coatings for cheese. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**.57:1456-1462.
- CERQUEIRA, V.R. 2005 Cultivo do robalo-peva, *Centropomus parallelus*. In: BALDISSEROTTO, B. e GOMES, L.C. (Org.). Espécies nativas para piscicultura no Brasil. Santa Maria: Ed. UFSM. p.403-431.
- CHAKRABORTY, K.; JOSEPH, D.; PRAVEEN, NK. 2015. Antioxidant activities and phenolic contents of three red seaweeds (Division: Rhodophyta) harvest from Gulf of Mannar of Peninsular India. **Journal Food Science**.52: 1924-1935.
- COIMBRA, C. S. 2006. **Inferências filogenéticas a ordem Fucales (Phaeophyceae), com ênfase no gênero Sargassum**. Tese (doutorado). Departamento de Botânica, Instituto de Biociências – Universidade de São Paulo, São Paulo, 75p
- CORREA, C.F.; TACHIBANA, L.; LEONARDO, A.F.; BACCARIN, A.E. 2013. Rendimento de carcaça, composição do filé e análise sensorial do robalo peva de rio e de mar. **Boletim Instituto Pesca**.39: 401 – 410.
- COSTA, C. S. 2012. **Comunidades ribeirinhas da Baía do Iguape: cultura, identidade e representação simbólica dos pescadores artesanais no contexto sócio-econômico do recôncavo baiano**. In: Jornadas de antropologia da UNICAMP: Campinas.
- COSTA, R.A.; MOREIRA, B.A.B.; CARVALHO, F.C.T.; MENEZES, F.G.R.; SILVA, C.M., VIEIRA, R.H.S.F. 2011. Staphylococcus coagulase positiva e enterobactérias em camarão *Litopenaeus vannamei* comercializado “in natura”. **Instituto Adolfo Lutz**. 70:566-571.
- DEVILLÉ, C.; GHARBI, M.; DANDRIFOSSE, G.; PEULEN, O. 2007. Study on the effects of laminarin, a polysaccharide from seaweed, on gut characteristics. **Journal of the Science of Food and Agriculture**.87:1717–1725.
- DHARGALKAR, V.K; VERLECAR, X.C. 2009. Southern ocean seaweeds a resource for exploration in food and drugs. **Aquaculture** 1: 229-242.
- DOMETTILA, C.; BRINTHA, T.S.S.; SUKUMARAN, S.; JEEVA, S. 2013. Diversity and distribution of seaweeds in the Muttom coastal waters, south-west coast of India. **Biodiversity Journal**, 4: 105-110.
- DORE, C. M. P. G.; ALVES, M. G das C. F.; WILL, L. S. E. P.; COSTA, T.G.; SABRY, D. A.; RÊGO, L. A. R. de S.; ACCARDO, C.M. 2013. A sulfated polysaccharide, fucans, isolated from brown algae *Sargassum vulgare* with anticoagulant, antithrombotic, antioxidant and anti-inflammatory effects. **Carbohydrate Polymers**. 91: 467-475.
- DUARTE, M. E.; CARDOSO, M.A.; NOSEDA, M.D.; CEREZO, A.S. 2001. Structural studies on fuicodans from the brown seaweed *Sargassum stenophyllum*. **Carboidrat Reserch**. 333: 281-293.
- EOM, S-H.; KIM, Y-M.; KIM, S-K. 2012. Antimicrobial effect of phlorotannins from marine brown algae. **Food and chemical toxicology**. 50: 3251-3255.

FAKHOURI F.M.; FONTES, L. C.B.; GONÇALVES, P. V. M.; MILANEZ, C.R.; STEEL, C. J.; COLLARES-QUEIROZ, F. P. 2007. Filmes e coberturas comestíveis compostas à base de amidos nativos e gelatina na conservação e aceitação sensorial de uvas Crimson. **Ciência Tecnologia Alimentos**. 2: 369-375.

FAO - Food and Agriculture Organization. 2016. **El estado mundial de la pesca Y la acuicultura**. CONTRIBUCIÓN A LA SEGURIDAD ALIMENTARIA Y LA NUTRICIÓN PARA TODOS, Roma. 224.

GODIM, N.; MIRANDA, M.S.; LEITE, C.C.; 2015. Avaliação da qualidade físico-química e microbiológica de peixes de pequeno porte salgados e secos de maior comercialização na região do recôncavo baiano. **Revista Brasileira Engenharia Pesca** 8: 72-83.

GRAU, A.; GUARDIOLA, F.; BOATELLA, J.; BARROETA, A.; CODONY, R. 2000. Measurement of 2-thiobarbituric acid values in dark chicken meat through derivated spectrophotometry: influence of various parameters. **Journal of Agriculture and Food Chemistry**.48: 1155-1159.

GUO, J. H.; SKINNER, G. W.; HARCUM; W. W.; BARNUM, P. E.1998. Pharmaceutical applications of naturally occurring water-soluble polymers. **Pharmaceutical science & technology today**. 1: 254-261.

GUPTA, S.; ABU-GHANNAM, N. 2011. Recent developments in the application of seaweeds or seaweed extracts as a means for enhancing the safety and quality attributes of foods. **Innovative Food Science and Emerging Technologies** 4: 600–609

HALLIWELL, B.; WISEMAN, H. 1996. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. **Biochemistry Journal**. 313: 17–29.

HALLIWELL, B.; AUROMA, O.I. 1991. DNA damage by oxygen-derived species: its mechanism and measurements in mammalian systems. **FEBS Letters**. 281: 9-19.

IBRAHIM, D.; LIM, S-H. 2015. In vitro antimicrobial activities of methanolic extract from marine alga *Enteromorpha intestinalis*. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** 5: 785–788

KAMALADASHAN, N.; SUBRAMANIAN, S.K. 2009. Influence of seaweed liquid fertilizers on legume crop, red gram. **Basic and applied ecology**. 3: 21-24.

KINDLEYSIDES, S.; QUEK, S-Y.; MILLER, M. R. 2012. Inhibition of fish oil oxidation and the radical scavenging activity of New Zealand seaweed extracts. **Food Chemistry**. 133:1624–1631.

KOVATCHEVA, E.G.; KOLEVA, I.I.; ILIEVA, M.; PAVLOV, A.; MINCHEVA, M.; KONUSHLIEVA, M. 2001. Antioxidant activity of extracts from *Lavandula vera* MM cell culture. **Food Chemistry**. 7: 1069–1077.

KRINSKY, N.I.; JOHNSON, E.J. 2005. Carotenoid actions and their relation to health and disease. **Molecular of Aspects Medicine**. 26: 459–516.

KUHN, C.; SOARES, G.J.D. 2002. Proteases e inibidores no processo de surimi. **Revista Brasileira de Agrociência**. 8: 5-11.

KUSKOSKI, E.M.; ASUERO, A.G.; TRONCOSO, A.M.; MANCINI_FILHO, J.; FETT, R. 2005. Aplicação de diversos métodos químicos para determinar atividade antioxidante em pulpa de frutos. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**.25: 726-732.

LIMA, R.L.; PIRES-CALVACANTE, K. M. dos S.; ALENCAR, D.B.; VIANA, F.A.; SAMPAIO, A.H.; SAKER-SAMPAIO, S. 2016. In vitro evaluation of antioxidant activity of methanolic extracts obtained from seaweeds endemic to the coast of Ceará, Brasil. **Acta scientiarum**. 38: 247-255.

MASCHEK, J.A.; BAKER, B.J. 2008. The chemistry of algal secondary metabolism. In: Amsler CD (ed.). **Algal chemical ecology**. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, p. 1-20

MCHUGH, D.J. 2003. A Guide to the Seaweed Industry. FAO Fisheries Technical Paper. 441:105.

MURUGADAS, T.L., PHANG, S.M., TONG, S.L., 1995. Heavy metal accumulation cytotoxic principle of the brown alga *Sargassum tortile*. **Chemical and Pharmaceutical Bulletin**. 39:2129–2131.

MOURAO, P. A. S. 2004. Use of sulfated fucans as anticoagulant and antithrombotic agents: Future perspectives. **Current Pharmaceutical Design**. 10: 967–981.

MOURE, A.; CRUZ, J.M.; FRANCO, D.; DOMÍNGUEZ, J.M.; SINEIRO, J.; NÚÑEZ, M.J.; PARAJÓ, J.C. 2001. Natural antioxidants from residual sources. **Food Chemistry**. 72: 145-171.

NEILL, S.O.; GOULD, K.S.; KILMARTIN, P.A.; MITCHELL, K.A.; MARKHAM, K.R. 2002. Antioxidant activities of red versus green leaves in *Elatostema rugosum*. **Plant Cell and Environment**. 25: 539-47.

NUNES, J. M. de C.; PAULA, E. J.2000. Estudos taxonômicos do gênero *Padina adanson* (Dictyotaceae-Phaeophyta) no litoral do estado da Bahia, Brasil. **Botânica Matacitana** 25: 21 - 43.

NUNES, J.M.C & GUIMARÃES, S.M.B. 2008. New references of rhodophytes from the Brazilian coast. **Biota Neotropica**. 8: 4.

NUNES, J.M.C. 2005. **Rodofíceas marinhas bentônicas do estado da Bahia, Brasil**. Tese. USP, São Paulo.

O'DOHERTY, J.V.; DILLON, S.; FIGAT, S.; CALLAN, J.J.; SWEENEY, T. 2010. The effects of lactose inclusion and seaweed extract derived from *Laminaria* spp. on performance, digestibility of diet components and microbial populations in newly weaned pigs. **Animal Feed Science and Technology**. 157: 173-180.

OETTERER, M. 2002. **Industrialização do pescado cultivado**. Editora Agropecuária, Guaíba, RS.

OETTERER, M. Pós-captura do pescado – comercialização e armazenamento. UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO. ESCOLA SUPERIOR DE AGRICULTURA “LUIZ DE QUEIROZ”. PIRACICABA-SP. < Disponível em <http://www.esalq.usp.br/departamentos/lan/pdf/Tecnologia%20do%20Pescado.pdf> Acesso em 09 de novembro de 2016.

OH, K.B; LEE, J.H; CHUNG, S.C; SHIN, H.J; KIN, H.K. 2008. Antimicrobial activities of the bromophenols from the red alga *Odonthalia corymbifera* and some synthetic derivatives. **Bioorganic and Medicinal Chemistry Letters**. 1: 104-110.

OLIVEIRA, A.B.A.; PAULA, C.M.D.; CAPALONGA, R.; CARDOSO, M.R.I. e TONDO, E.C. 2010. Doenças transmitidas por alimentos, principais agentes etiológicos e aspectos gerais: uma revisão. **Revista HCPA**.30:279-285.

OLSZEWER, E. 2005. **Como vencer a batalha contra o Envelhecimento**. São Paulo: Ícone Editora, 159p.

OSAWA, C.; FELÍCIO, P.; GONÇALVES, L. 2005. Teste de TBA aplicado a carnes e derivados: métodos tradicionais, modificados e alternativos. **Química Nova**. 28: 655-663.

- OU, B.; HUANG, D.; HAMPSCH-WOODILL, M.; FLANAGAN, J.A.; DEEMER, E.K. 2002. Analysis of antioxidant activities of common vegetables employing oxygen radical absorbance capacity (ORAC) and ferric reducing antioxidant power (FRAP) assays: a comparative study. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**. 50:3122-3128.
- PENG, J.; YUAN, J.-P.; WU, C.-F.; WANG, J.-H. 2011. Fucoxanthin, a marine carotenoid present in brown seaweeds and diatoms: metabolism and bioactivities relevant to human health. **Marine Drugs**. 9: 1806–1828.
- PLAZA, M.; CIFUENTE, A.; IBÁÑEZ. 2008. In the search of new functional food ingredients from algae. **Trends in Food Science & Technology**. 19: 31-39.
- PRAJAPATI, V. D.; MAHERIYA, P. M.; JANI, G. K.; SOLANKI, H. K. 2014. Carrageenan: A natural seaweed polysaccharide and its applications. **Carbohydrate polymers**. 105: 97-112.
- PRIYADHARSHINI, S.; BRAGADEESWARAN, S.; PRABHU, K.; RAN, S.S. 2012. Antimicrobial and hemolytic activity of seaweed extracts *Ulva fasciata* (Delile 1813) from Mandapam, Southeast coast of India. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine**. 38-39.
- RAJAMANIKARTHIKEYAN, ST.; SOMASUNDARAM, T.; MANIVASAGAM, T.; BALASUBRAMANIAN, T.; ANANTHARAMAN, P. 2010. Hepatoprotective activity of brown alga *Padina boergesenii* against CCl₄ induced oxidative damage in Wistar rats. **Asian Pacific Journal of Tropical Medicine**. 696- 701.
- RAMALHO, V.C.; JORGE, N. 2006. Antioxidantes utilizados em óleos, gorduras e alimentos gordurosos. **Química Nova**. 29: 755-760.
- RAMKUMAR, V.S.; PRAKASHB, S.; RAMASUBBURANYANC, R.; PUGAZHENDHI, A.; GOPALAKRISHNANE, K.; KANNAPIRANF, E.; RAJENDRANA, R. B. 2016. Seaweeds: A resource for marine bionanotechnology. **Enzyme and Microbial Technology**. 95:45–57.
- RAYMUNDO, M.S.; HORTA, P.; FETT, R. 2004. Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral Catarinense (Brasil). **Revista Brasileira Ciências Farmacêuticas**. 40: 495-503.
- RINAUDO, M. 2008. Main properties and current applications of some polysaccharides as biomaterials. **Polymer International**. 57:397-430.
- RIVAS, L.R. 1986. **Systematic review of the perciform fishes of the genus Centropomus**. Copeia.1:579-611.
- ROCHA, F.D.; PEREIRA, R. C.; KAPLAN, M. A. C.; TEIXEIRA V. L. 2007. Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante. **Revista Brasileira Farmacognosia** 17: 631-639.
- ROCHA, H. A. O.; FARIAS, E. H. C.; BEZERRA, L. C. L. M.; ALBUQUERQUE, I. R. L.; MEDEIROS, V. P.; QUEIROZ, K. C. S.; LEITE, E. L. 2004. Polissacarídeos sulfatados de algas marinhas com atividade anticoagulante. **Infarma**. 16: 82-87.
- ROCHA, I.P. 2001. Aquicultura: um excelente negócio. **Revista Brasileira de Agropecuária** 11: 6-12.
- RODRIGUES, A.I.C. 2011. **Produção e caracterização da capacidade antioxidante de gelo suplementado com extrato de *Fucus spiralis***. Dissertação. ESTM, Leiria, Portugal.
- RUBERTO, G.; BARATTA, M.T.; Biondi, D.M.; Amico, V. 2001. Antioxidant activity of extracts of the marine algal genus *Cystoseira* in a micellar model system. **Journal of Applied Phycology**. 13: 403–407.
- SAFER, A.M., AL-NUGHAMISH. 1999. Hepatotoxicity induced by the antioxidant food additive butylated hydroxytoluene (BHT) in rats: an electron microscopical study. **Histology and Histopathology**. 14: 391–406.

SANTOS, F.M.S. 2014. **Utilização de Quitosana no Revestimento de filés de Tilápia do Nilo (*Oreochromis niloticus*) e na Preparação de Filmes Incorporados com Óleos Essenciais.** Tese. UFPE, Recife.

SHAFAY, S.M.; ALI, S.S.; EL-SHEEKH, M.M. 2016. Antimicrobial activity of some seaweeds species from Red sea, against multidrug resistant bacteria. **Egyptian Journal of Aquatic Research.** 42: 65–74.

SIES, H.; STHAL, W. 2005. Bioactivity and protective effects of natural carotenoids. *Biochim. et Biophys.* **BBA Molecular Basis of disease.** 1740: 101–107.

SIMÕES C. M. O.; SCHENKEL, E. P.; GOSMAN, G.; MELLO, J. C. P.; MENTZ, L. A.; PETROVICK, P. R. 2007. **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** UFRGS; Florianópolis: UFSC, 1102.

SMIT, A.J. 2004. Medicinal and pharmaceutical uses of seaweeds natural products. A review. **Journal of Applied Phycology.** 16: 245-262.

SOARES, K. M. P.; GONÇALVES, A.A. 2012. Qualidade e segurança do pescado. **Revista Instituto Adolfo Lutz.** 71:1-10.

TAPIERO, H.; TOWNSEND, D.M.; TEW, K.D. 2004. The role of carotenoids in the prevention of human pathologies. **Biomedic Pharmacother.** 58: 100–110

TAYLOR, R.G.; WHITTINGTON J.A.; GRIER, H. J.; CRABTREE, R.E. 2000 Age, growth, maturation, and protandric sex reversal in common snook, *Centropomus undecimalis*, from the east and west coasts of south Florida. **Florida Marine Research Institute** 98: 612-624.

TROELL, M., HALLING, C., NEORI, A., CHOPIN, T., BUSCHMANN, A.H., KAUTSKY, N. 2003. Integrated mariculture: asking the right questions. **Aquaculture.** 226: 69-90.

VAIRAPPAN, C. S.; KAWAMOTO, T.; MIWA, H.; SUZUKI, M. 2004. Potent antibacterial activity halogenated compounds against antibiotic-resistant bacteria. **Planta Medica.** 70: 1087-1090.

VALENCIA-CHAMORRO S.A.; PALOU, L.; DEL RIO M.A.; PÉREZ-GAGO, M.B. 2011. Antimicrobial edible films and coatings for fresh and minimally processed fruits and vegetables: a review. **Critical Reviews in Food Science and Nutrition.** 51:872-900.

VASCONCELOS, B.M.F.; GONÇALVES, A.A. 2013. Macroalgas e seus usos – alternativas para as indústrias brasileiras. **Revista Verde** 8: 125-140.

VIDOTTI, E.C.; ROLLEMBERG, M.C.E. 2004. Algas: da economia nos ambientes aquáticos à biorremediação e à química analítica. **Química Nova.** 27: 139-145.

VIJAYABASKAR, P., SHIYAMALA, V. 2012. Antioxidant properties of seaweed polyphenol from *Turbinaria ornata* (Turner) J. Agardh, 1848 **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine.** 90-98.

VILA NOVA, C.M.V.M.; GODOY, H.T.; ALDRIGUE, M. L. 2005. Composição química, teor de colesterol e caracterização dos lipídios totais de tilápia (*Oreochromis niloticus*) e pargo (*Lutjanus purpureus*) **Ciência Tecnologia Alimentos.** 25: 430-436.

ZUBIA, M.; FABRE, M. S.; KERJEAN, V.; LANN, K. L.; STIGER-POUVREAU, V.; FAUCHON, M. 2009. Antioxidant and antitumoural activities of some *Phaeophyta* from Brittany coasts. **Food Chemistry.** 116: 693-701.