

**AVALIAÇÃO DA ESTRUTURA E PROPRIEDADES DO ALGINATO EXTRAÍDO  
DE *Laminaria hyperborea***

**EVALUACIÓN DE LA ESTRUCTURA Y PROPIEDADES DEL ALGINATO  
EXTRACTO DE *Laminaria hyperborea***

**EVALUATION OF STRUCTURE AND PROPERTIES OF EXTRACTED ALGINATE  
FROM *Laminaria hyperborea***

Meirielly Jesus<sup>1</sup>, Preciosa Pires<sup>1,3</sup>, Fernando Mata<sup>1</sup>, Aloia Romani<sup>1,2</sup>, Elia Fernandes<sup>1,3</sup>, Manuela Vaz-Velho<sup>1,3</sup>

<sup>1</sup>CISAS—Centro de Investigação e Desenvolvimento em Sistemas Agroalimentares e Sustentabilidade, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Rua da Escola Industrial e Comercial Nun'Álvares 34, 4900-347 Viana do Castelo, Portugal

<sup>2</sup>Departamento de Engenharia Química, Faculdade de Ciências, Universidade de Vigo, 32004 Ourense, Espanha

<sup>3</sup>ESTG-IPVC - Escola Superior de Tecnologia e Gestão, Instituto Politécnico de Viana do Castelo, Rua Escola Industrial e Comercial de Nun'Álvares, 4900-347 Viana do Castelo, Portugal

DOI: <https://doi.org/10.31692/IVCIAGRO.0207>

**RESUMO**

O alginato é um polissacarídeo presente na matriz celular das algas castanhas e é utilizado amplamente em vários setores industriais devido as suas características, como espessante, estabilizante, dentre outras. Este estudo buscou otimizar métodos alternativos de extração de alginato de algas marinhas castanhas, utilizando a alga *Laminaria hyperborean* coletadas em Viana do Castelo, Portugal. Diversos agentes de extração e purificação foram testados, avaliando rendimentos de extração e sua caracterização estrutural. Soluções de NaOH + NaCl e Ca(OH)<sub>2</sub> foram usadas como agentes de extração, enquanto isopropanol e etanol foram usados na precipitação. A combinação de NaOH + NaCl e etanol aumentou o rendimento de extração 7 vezes maior que o obtido pelo agente de extração Ca(OH)<sub>2</sub> e etanol como o precipitante. As análises espectroscópicas mostram que o alginato extraído de *L. hyperborea* é semelhante ao alginato comercial, com a presença dos ácidos manurônicos e urônicos característicos dessa substância. A evidência demonstra que *L. hyperborea* possui um potencial significativo como fonte comercialmente viável de alginato, especialmente quando se trata de sua aplicação em matrizes alimentares.

**Palavras-Chave:** alginato, *L. hyperborea*, processos de extração.

**RESUMEN**

El alginato es un polisacárido presente en la matriz celular de las algas pardas y es muy utilizado en varios sectores industriales por sus características, como espesante, estabilizante, entre otras. Este estudio buscó optimizar métodos alternativos de obtención de alginato a partir de algas pardas, utilizando el alga marina *Laminaria hyperborean* recolectada en Viana do Castelo, Portugal. Se

estudiaron varios agentes de extracción y purificación, evaluando los rendimientos de extracción y su caracterización estructural. Una combinación de NaOH + NaCl y etanol aumenta o rinde la extracción 7 veces más que se obtiene un pelo agente de extracción Ca(OH)<sub>2</sub> y etanol como precipitante. Los análisis espectroscópicos encontraron que el alginato extraído de *L. hyperborea* es similar al alginato comercial, con la presencia de ácidos manurónico y urónico característicos de esta sustancia. Los resultados obtenidos demuestran que *L. hyperborea* presenta un gran potencial como una fuente interesante para la obtención de alginato, especialmente cuando se trata de su aplicación en matrices alimentarias.

**Palabras Clave:** Alginato, *L. hyperborea*, procesos de extracción.

## ABSTRACT

Alginate is a polysaccharide present in the cellular matrix of brown algae and is widely used in several industrial sectors due to its characteristics, as thickener, stabilizer, among others. This study sought to optimize alternative methods of obtaining alginate from brown seaweed, using the seaweed *Laminaria hyperborean* collected in Viana do Castelo, Portugal. Several extraction solvents and precipitation agents were tested, evaluating extraction yields and their characterization structure. NaOH + NaCl and Ca(OH)<sub>2</sub> solutions were used as extraction agents, while isopropanol and ethanol were used for precipitation. The combination of NaOH + NaCl and ethanol increased the extraction yield 7 times higher than that obtained by the extraction agent Ca(OH)<sub>2</sub> and ethanol as precipitant. Spectroscopic analyzes found that alginate extracted from *L. hyperborea* is similar to commercial alginate, with the presence of mannuronic and uronic acids characteristic of this substance. Evidence demonstrates that *L. hyperborea* has significant potential as a commercially viable source of alginate, especially when it comes to its application in food matrices.

**Keywords:** Alginate, *L. hyperborean*, extraction method

## INTRODUÇÃO

As algas marinhas têm despertado interesse científico ao longo dos anos devido às suas biomoléculas valiosas, especialmente nos setores industriais, incluindo a indústria alimentar (Matos et al., 2021). A busca por alimentos saudáveis e sustentáveis tem impulsionado o uso de algas na alimentação humana, sendo as proteínas das algas consideradas mais adequadas ao consumo humano do que as dos vegetais devido à presença de aminoácidos essenciais (Fleurence 1999).

Existem cerca de 291 espécies de algas utilizadas pelo homem, com destaque para o setor alimentício e a produção de hidrocolóides, como carrageninas, alginatos e ágar. Além disso, as algas são empregadas na fabricação de produtos farmacêuticos, cosméticos, ração animal,

fertilizantes e papel, devido ao seu conteúdo rico em ingredientes eficazes (White & Wilson, 2015). Segundo Rodrigues et al. (2015), as algas marinhas são consideradas uma matéria-prima importante para a produção de bioprodutos, divididas em combustíveis e não combustíveis. Os produtos não incluem carboidratos, lipídios, minerais, pigmentos e outros compostos bioativos (Chandra et al., 2019). Nas comunidades do Sudeste Asiático, as algas marinhas são amplamente utilizadas na dieta humana e, cada vez mais, têm se tornado uma fonte alimentar relevante na sociedade ocidental devido às suas qualidades nutricionais e farmacêuticas (Rodrigues et al., 2015).

O objetivo deste estudo foi otimizar diferentes agentes de extração e precipitação de alginato em algas pardas (*L. hyperborean*) colhidas na costa de Viana do Castelo, Portugal. Além disso, avaliar o rendimento e qualidade físico-químico do alginato obtido. Para isso, foram utilizadas soluções de NaOH + NaCl e Ca(OH)<sub>2</sub> como agentes de extração, enquanto isopropanol e etanol foram empregados na etapa de precipitação.

## METODOLOGIA

### Matéria-prima e análise da composição química

Amostras de *L. hyperborean* foram coletadas na praia de Castelo de Neiva (41°37'09.9"N 8°48'46.7"W), Viana do Castelo, Portugal em abril de 2022. A alga foi obtida de águas costeiras para minimizar qualquer perda de umidade causada pela exposição solar. Após a coleta, as amostras foram armazenadas em baldes e transportadas para o laboratório. Ao chegar ao laboratório, a alga passou por uma série de preparações para análise. Primeiro foi enxaguado extensivamente com água corrente potável para eliminar sal, areia e outras plantas marinhas e microcristais. Posteriormente, a alga foi submetida a secagem ao ar e posteriormente seca em estufa a 45 °C durante a noite. Depois de completamente seca, a alga foi moída para obter um tamanho de partícula uniforme, passando-a por uma peneira de 8 mm. Este processo de moagem garantiu consistência na composição. As amostras moídas resultantes foram então homogeneizadas para criar um único lote, minimizando quaisquer variações. A análise das amostras de algas foi realizada seguindo as normas da NREL (National Renewable Energy Laboratory), que determinam diversos parâmetros. Extrativos, umidade, cinzas e hidrólise ácida quantitativa foram alguns dos aspectos avaliados. Os extrativos foram determinados pelo método de extração Soxhlet com solventes água e etanol, seguindo o procedimento descrito por Jesus et al. (2017). Para a hidrólise ácida quantitativa, a fase líquida obtida do processo foi analisada por cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC). Essa análise teve como objetivo

quantificar as concentrações de açúcares como glicose, xilana, galactana, manana, ramnose e fucoidanos. HPLC usou um detector de índice de refração e uma coluna Aminex (BioRad) 87H (300 × 7,8 mm). O processo de eluição envolveu o uso de H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> 0,005 M como fase móvel a uma vazão de 0,6 mL / min e temperatura de 60 °C. Com base nos dados obtidos de HPLC, foram calculadas as concentrações de polissacarídeos (glucana, xilana e arabinana) presentes na alga. Após a hidrólise ácida quantitativa, a fase sólida remanescente foi medida gravimetricamente, permitindo a determinação da quantidade de resíduo sólido insolúvel. Os resultados obtidos em todas as análises foram registrados como percentagens de matéria seca (g / 100 g de matéria-prima em estufa) para proteínas, polissacarídeos e cinzas. Essas medições forneceram informações valiosas sobre a composição das amostras de algas marinhas.

### **Quantificação de proteínas**

Para encontrar o teor de proteína, foi utilizado o método de Kjeldahl, descrito pela AOAC (920.11G) (AOAC International, 1995). Amostras da alga de 0,6 g foram pesadas e submetidas à digestão ácida (Buchi) da proteína, à temperatura de 420 °C, com dois pellets catalisadores, ácido sulfúrico concentrado (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) e peróxido de hidrogênio 30% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>). Após a digestão, destilação e alcalinização para pH > 10 (Tecator) procedeu-se, com adição de hidróxido de sódio (NaOH + NaCl), coletando-se o destilado em solução de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>) contendo os indicadores azul de metileno e vermelho de metila. Finalmente, o substrato aqui obtido foi titulado com uma solução padrão de ácido clorídrico (HCl), permitindo o cálculo da quantidade de nitrogênio na amostra. O teor de proteína foi calculado pela conversão do teor de nitrogênio total, multiplicado por um fator de conversão global (6,25 × N) (FAO, 2012).

### **Extração e quantificação de alginato**

Inicialmente, a alga foi submetida a dois tratamentos prévios (organo-solvente e ácido) para remoção de pigmentos, compostos fenólicos e proteínas. Para isso, foram utilizados 400 mL de etanol 96 % para 50 g de alga e mantido em agitação por 2 h a 30 °C. Após este tratamento, a mistura foi filtrada e o sólido foi seco a 45°C durante a noite. Em seguida, os sólidos secos foram submetidos à extração com 200 mL de HCl 0,2 M por 10 min sob agitação em banho-maria a 30 °C (Fertah et al., 2017). Após a extração, a mistura foi filtrada e os sólidos foram lavados com água destilada e secos a 45 °C até peso constante. Neste estudo, soluções de NaOH + NaCl (0,2 M e 0,1 M, respectivamente) e Ca(OH)<sub>2</sub> (0,1 M) foram utilizadas como agentes de extração e isopropanol e etanol 96 % para precipitação. Assim, 38 mL de NaOH 0,02 M + 30 mL NaCl 0,2 M ou 68 mL Ca(OH)<sub>2</sub> 0,1 M foram misturados com 7,5 g de algas

secas pré-tratadas e 50 mL de água destilada, e foram mantidos em agitação por 1 h a 35 °C. Em seguida, as amostras foram centrifugadas a 4.000 x g por 20 minutos e o sobrenadante foi submetido à precipitação com etanol ou isopropanol (1:1 v / v), o precipitado foi mantido em refrigeração (4 °C) durante a noite. Após este processo, o precipitado foi centrifugado e o pellet foi mantido a 45 °C até a evaporação do solvente. Em seguida, as amostras foram congeladas a -80 °C e submetidas à liofilização. O rendimento de alginato e resíduo foi calculado de acordo com a seguinte equação (1).

$$\% \text{ Rendimento (alginato)} = \frac{\text{Peso final de matéria seca final de alginato}}{\text{matéria seca de algas marinhas antes da extração}} \times 100 \quad (1)$$

### **Análise de microscopia eletrônica de varredura**

Micrografias da matéria-prima, alginatos e resíduo sólido após a extração do alginato foram obtidas usando um microscópio eletrônico de varredura de emissão de campo (FEG-SEM) (Jeol JSM-7001F). As imagens foram obtidas com tensão de 5 kV e aumento de 400x (Figura 1). As amostras para observação qualitativa foram previamente revestidas com uma camada de liga Au-Pd para evitar o acúmulo de carga elétrica durante a observação. A espectroscopia de energia dispersiva de raios X (EDS) também foi realizada em amostras não revestidas para permitir a análise elementar das fases presentes sem interferência da liga.

### **Infravermelho com Transformada de Fourier (FT-IR)**

Os grupos químicos e arranjos de ligação dos constituintes da alga, alginato e resíduos residuais obtidos após o teste de extração do alginato foram determinados por espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FT-IR) usando um espectrômetro de infravermelho Nicolet (iS20) equipado com uma reflectância total (ATR) composto de diamante atenuado. O espectro FT-IR foi obtido operando com uma resolução de 4 cm<sup>-1</sup>, 30 varreduras e uma faixa de frequência de 4000–400 cm<sup>-1</sup>.

### **Difração de raios X**

Um difratômetro de raios X convencional (Bruker D8 Advance DaVinci, Karlsruhe, Alemanha) foi usado com radiação Cu-K $\alpha$  filtrada por Ni ( $\lambda=0,15418$  nm) produzida a 40 kV e 30 mA, com um detector linear (Lynxeye 1-D), para realizar a análise XRD. Os conjuntos de dados foram registados na faixa de 5° e 60° (2 $\theta$ ) em passos de 0,02° (2 $\theta$ ), 0,5 s por passo e uma taxa de rotação de 15 rpm. O refinamento de Rietveld foi realizado usando TOPAS 5.0 (Bruker

AXS, Karlsruhe, Alemanha) com a abordagem de parâmetros fundamentais usada para quantificação de fase. O óxido de zinco foi utilizado como padrão interno para a quantificação da fase amorfa.

### Análise da Viscosidade Aparente em Soluções Aquosas de Alginato

Para a análise da viscosidade aparente, as amostras liofilizadas são diluídas em água destilada a 2 %, agitadas por 1 h e posteriormente deixadas em repouso para análise por 12 h, a 4 °C. A viscosidade aparente é avaliada em um viscosímetro de bancada (HAAKE modelo RheoWin 4.30.0011, Begin) usando um sistema de placas cônicas, sob uma taxa de cisalhamento entre 10 e 100 s<sup>-1</sup> a 25 °C. Os resultados são plotados em gráficos de viscosidade aparente (mPa s<sup>-1</sup>) em função da taxa de cisalhamento (s<sup>-1</sup>).

### RESULTADOS E DISCUSSÃO

A composição química (Tabela 1) das algas estudadas (expressa em g por 100 g de algas secas em estufa ± desvio padrão baseado em três determinações repetidas). As cinzas representam a maior proporção da matéria-prima da alga seca, representando 33,78 % da matéria seca. Esses resultados concordam com os encontrados por outros autores para *L. hyperborean* (Rajauria et al., 2021). As proteínas e extrativos em etanol compõem 11,55 e 10,97 % de algas secas, respectivamente. Os polissacarídeos (glicose, xilana, galactana, manana, ramnose e fuicoidanos) representam 18,55 % da matéria-prima. Segundo Bonfim-Mendonça et al. (2017), algas marrons do gênero laminaria, apresentam grande potencial como fonte de biomassa para obtenção de polissacarídeos como os β-glucanos, que são o segundo maior componente armazenador atrás apenas do carbono.

**Tabela 01:** Composição química e teor de minerais das algas marrons estudadas (g de componente por 100 g de matéria-prima base seca em estufa).

Composição de <i>Laminaria hyperborean</i>	
Composição	g / 100 g
Cinzas	33,78 ± 0,07
Proteína bruta	11,55 ± 0,03
% Extrativos em água	56,18 ± 0,77
Ramnose	9,35 ± 0,17
% Extivos em etanol	10,97 ± 1,00
Glucano	32,85 ± 0,87
Xilano/Galactano/Manano	6,11 ± 0,42
Fuicoidan	1,52 ± 0,14
Resíduos insolúveis em ácido	1,57 ± 0,19

### Extração e precipitação de alginato de *Laminaria hyperborean*

Os pré-tratamentos que empregaram solventes orgânicos e ácidos eliminam todos os componentes não estruturais das algas marinhas. A primeira etapa envolveu a remoção de pigmentos, proteínas e polifenóis das algas com etanol 95 % seguido de tratamento com ácido clorídrico (HCl), conforme descrito na metodologia. Em seguida, o resíduo livre destes compostos foi submetido a o estudo da extração de alginato, onde o rendimento de cada extração de alginato é apresentado na Tabela 2. Os alginatos obtidos foram caracterizados e comparados com o alginato comercial.

**Tabela 2.** Rendimento da extração de alginato de *Laminaria hyperborean* por NaOH + NaCl ou Ca(OH)<sub>2</sub> e precipitado por etanol ou isopropanol (% da matéria prima base seca em estufa).

Extração de alginato de <i>Laminaria hyperborean</i>		
Precipitation agent	NaOH + NaCl	Ca(OH) <sub>2</sub>
	Rendimento (g / 100g)	Rendimento (g / 100g)
Isopropanol	10,43 ± 0,4	1,54 ± 0,05
Etanol	12,08 ± 0,31	1,66 ± 0,11

Os maiores rendimentos de extração de alginato foram obtidos usando NaOH + NaCl como agente de extração. Além disso, o isopropanol apresentou uma pequena diferença no rendimento em relação ao alginato extraído com etanol. Esses rendimentos máximos de extração representaram 10,43 % (m / m) e 12,08 % (m / m) com isopropanol e etanol, respectivamente. Esses resultados estão de acordo com os obtidos por Fenoradosoa et al. (2010), com 10 % de extração de alginato a partir de *Sargassum turbinarioides* e superiores aos obtidos com *Sargassum angustifolium* por Borazjani et al., (2017) com 3,4 %.

### Caracterização da estrutura de alginatos extraídos de *Laminaria hyperborean*

#### Análise SEM e composição química de amostras de algas marinhas por EDS.

A composição elementar da *L. hyperborean*, alginatos e resíduo sólido após a extração foi determinada por EDS (Tabela 3). Os elementos predominantes nas amostras de algas foram S, K e C, enquanto para as amostras de alginato os principais átomos encontrados foram Na, S, Cl, K, C, por serem os elementos mais comuns na superfície dos materiais. A maior concentração de C em todas as amostras se deve à sua presença abundante na matéria orgânica.



A presença de Na, Mg, N e Ca no resíduo sólido e em alguns alginatos provavelmente está relacionada aos agentes extratores, pois como a alga foi lavada extensivamente antes da secagem, não é detectada a presença de sais alcalinos na superfície. Além disso, a presença de enxofre pode estar relacionada à presença de fucoïdanos. (Nøkling-Eide et al., 2023). Outros autores (Cardoso et al., 2017) notaram a presença principalmente de Ca, Na, Mg e K em algas *S. filipendula*, comumente encontradas em algas marinhas e derivados, estão ligadas a grupos funcionais cujas ligações podem levar à formação de algas algínicas sais ácidos (da Costa et al., 2022).

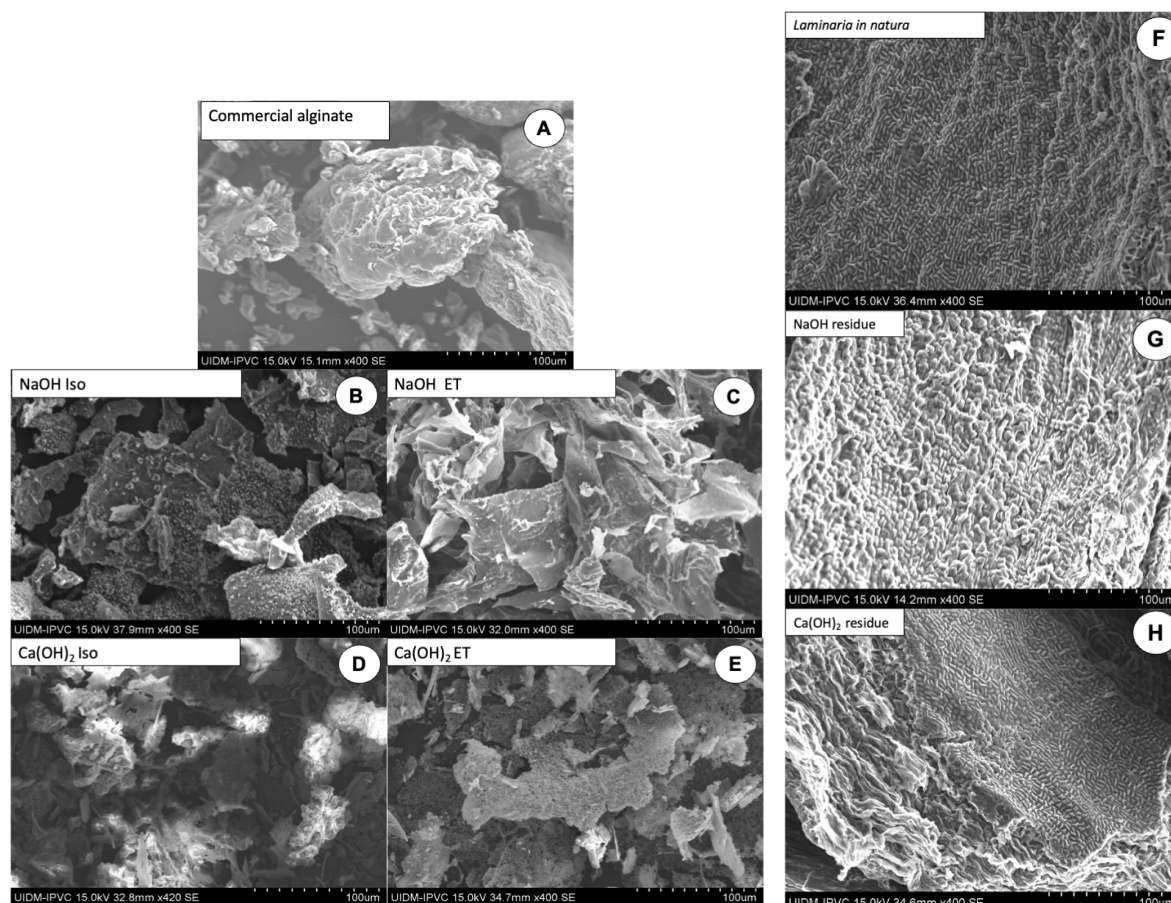
**Tabela 2.** Composição elementar por EDS da *L. hyperborean*, alginato e resíduo sólido obtido após processo de extração (% de matéria-prima e alginato base seca em estufa).

Elementos	Amostras							
	Alga	Alginato				Resíduo		
	<i>L. hyperborean</i>	Alginato comercial	NaOH Isopropanol	NaOH Ethanol	Ca(OH) <sub>2</sub> Isopropanol	Ca(OH) <sub>2</sub> Ethanol	NaOH	Ca(OH) <sub>2</sub>
Na	0	10,3 ± 2,8	7,4 ± 0,8	7,9 ± 0,2	0,2 ± 0,01	0,1 ± 0,1	1,6 ± 0,4	5,6 ± 0,1
S	2,3 ± 0,4	0,2 ± 0,07	0,8 ± 0,13	0,7 ± 0,03	1,7 ± 0,01	1,7 ± 0,3	1,3 ± 0,09	0,8 ± 0,1
Cl	0,3 ± 0,3	0,2 ± 0,7	7,6 ± 1,6	7,1 ± 0,6	2,1 ± 0,02	1,3 ± 0,3	0,8 ± 0,01	0,3 ± 0,1
K	1,7 ± 0,3	0,9 ± 0,2	4,0 ± 0,4	2,5 ± 0,1	2,3 ± 0,12	2,0 ± 0,3	0,6 ± 0,08	1,2 ± 0,07
C	46,1 ± 0,4	31,5 ± 3,4	36,3 ± 1,9	38,2 ± 0,2	37,3 ± 1,12	6,1 ± 0,2	42,7 ± 0,9	30,4 ± 0,3
Mg	0	0	0,02 ± 0,03	0,1 ± 0,01	0,1 ± 0,02	0	0,3 ± 0,4	2,4 ± 0,2
Ca	0	0	0	0	6,0 ± 0,2	6,1 ± 0,21	0	5,4 ± 0,9
N	0	0	0	0	0	0	7,3 ± 1,0	0

As imagens Microscópio Eletrônico de Varredura (MEV) de algas marinhas, alginatos obtidos da extração de algas marinhas e alginato comercial possuem barras de escala correspondentes a 100 µm e ampliação de 400x (Figura 1). As imagens mostram as estruturas dos alginatos extraídos pelos diferentes agentes em comparação com a amostra comercial padrão. As amostras de MEV mostram que o alginato de *L. hyperborean* obtido por NaOH + NaCl (Figura 1 B e C) apresentou uma estrutura mais densa em relação ao extrato com Ca(OH)<sub>2</sub> (Figura D e E) com tamanho de poro reduzido e mostrando ser mais denso e semelhante ao alginato comercial. Adicionalmente, na Figura 1 G e H apresentam uma estrutura irregular e porosa com rupturas após a extração do alginato, essa diferença em relação à figura F se deve ao fato do alginato ser o principal componente da parede celular do alginato.



**Figura 1:** Caracterização MEV das amostras de alginato extraídas e alginato comercial (A). Amostra de alginato extraída com NaOH + NaCl precipitada com Isopropanol (B); NaOH + NaCl precipitado com etanol (C), Ca(OH)<sub>2</sub> precipitado com isopropanol (D), Ca(OH)<sub>2</sub> precipitado com etanol (E). MEV de *L. hyperborean* (F) da alga in natura e dos resíduos sólidos obtidos após a extração dos alginatos com os agentes extratores NaOH + NaCl e (G) e Ca(OH)<sub>2</sub> (H).

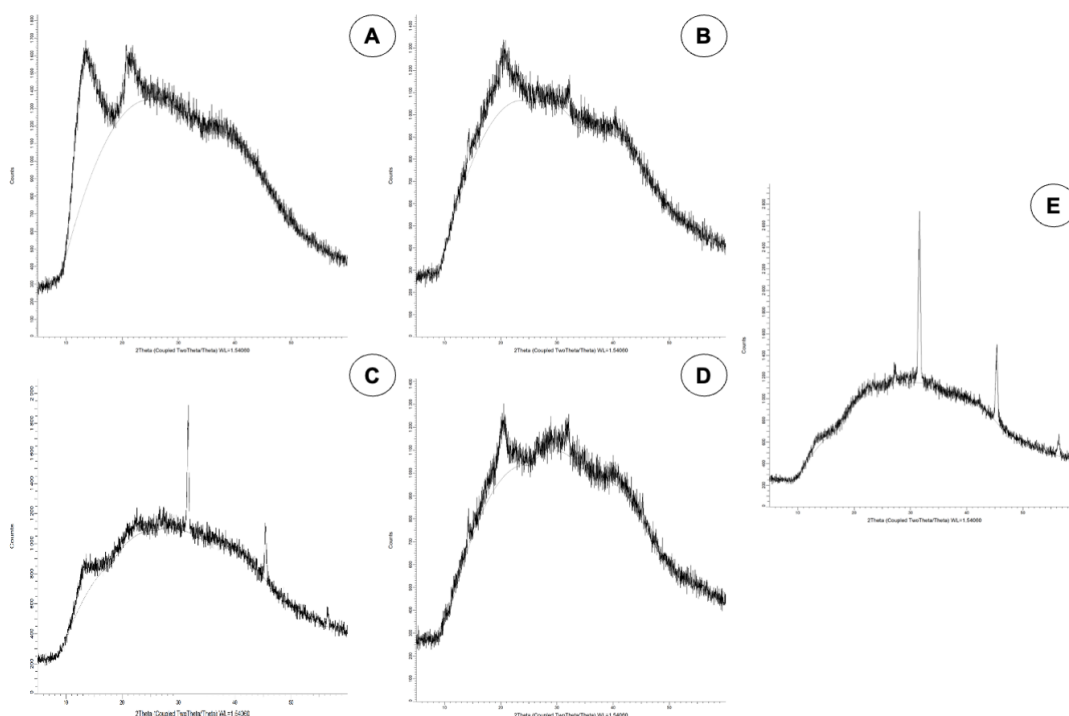


## Índice de cristalinidade de raios X

A cristalinidade de amostras de alginato extraídas de *L. hyperborean* com NaOH + NaCl e Ca(OH)<sub>2</sub> foi investigada por difração de raios-X. A cristalinidade desses polímeros é indicada pela nitidez dos picos; quanto menos cristalino o material, mais os picos degeneram em bandas amplas não identificáveis. Raios-X monocromáticos são refletidos da amostra e produzem linhas de difração produzidas a partir de dimensões repetitivas de planos cristalinos. Cada tipo de cristal dá um padrão característico, de modo que as posições e alturas das linhas formam uma pista para a presença de um determinado composto. A Figura 3 ilustra os perfis de raios-X do alginato comercial e dos extraídos das algas marrons estudadas neste trabalho. constatou-se que o índice cristalino das amostras extraídas com NaOH + NaCl e precipitadas com etanol ou isopropanol (Figura 3 D e E) foi maior que o do alginato comercial (Figura 3 A) ou aquelas

extraídas com  $\text{Ca}(\text{HO})_2$  com ambos os solventes precipitantes (Figura 3 B e C). A partir desses espectros pode-se observar que o agente extrator influencia na estrutura do alginato, e o agente precipitante não interfere nessa estrutura cristalina.

**Figura 3:** Caracterização por raios X de alginato comercial (A), amostras de alginato extraídas com (B)  $\text{Ca}(\text{HO})_2$  precipitado com etanol, (C)  $\text{Ca}(\text{HO})_2$  precipitado com isso propanol, (D)  $\text{NaOH}+\text{NaCl}$  precipitado com etanol (E)  $\text{NaOH}+\text{NaCl}$  precipitado com isso propanol de *L. hyperborean*.

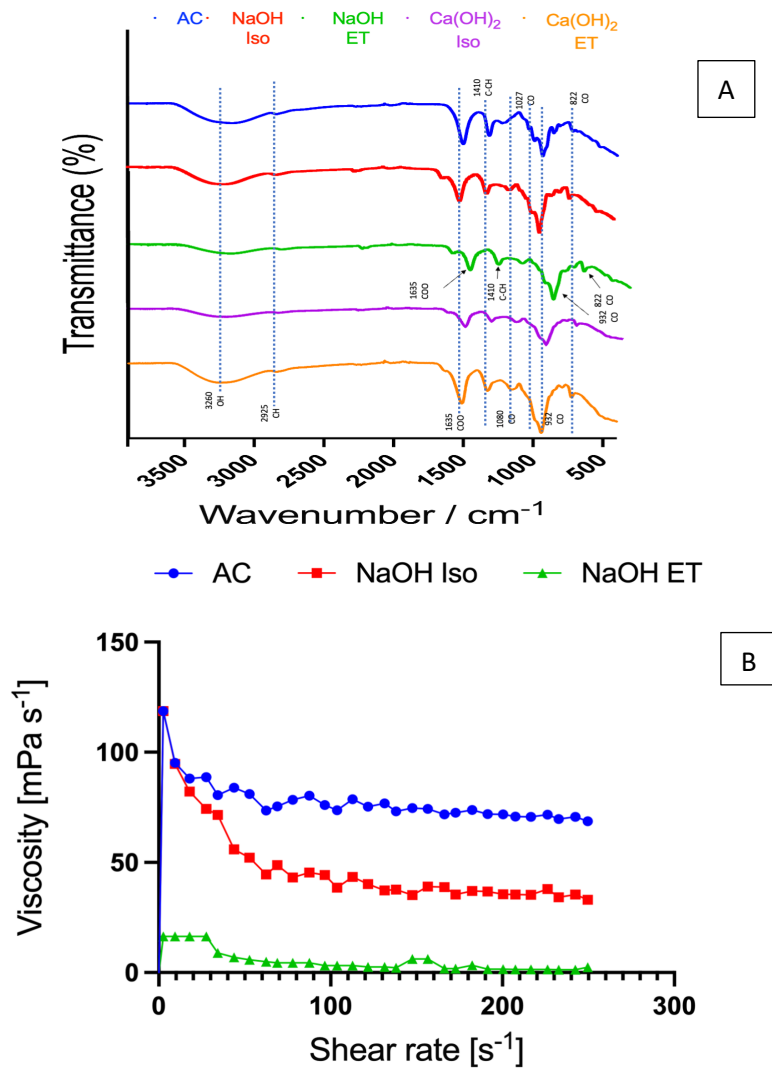


### Parâmetros de sequência determinados por espectroscopia FT-IR para amostras de alginato e viscosidade aparente

Os alginatos obtidos neste estudo também foram caracterizados qualitativamente por meio de FT-IR (Figura 4 A). As amostras de alginato extraídas pelos diferentes agentes de precipitação e extração concordaram com o controle (alginato comercial) onde os espectros não diferiram significativamente, confirmando a identidade e pureza das amostras. Além disso, picos espectrais na faixa de vibração de estiramento de  $848\text{--}949\text{ cm}^{-1}$  (CO) indicam a presença de ácidos manuônico e urônico, respectivamente, ambos típicos de alginatos. Além disso, alguns autores (Bojorges et al., 2023) apontam que a banda em torno de  $1635\text{ cm}^{-1}$ , corresponde ao estiramento assimétrico da carbonila no ânion carboxilato (COO), as bandas em 1100 e 1025

$\text{cm}^{-1}$ , correspondem às vibrações de estiramento da ligação simples C-C e da ligação C simples O do anel piranose (Montes et al., 2022) e as bandas de  $750\text{--}950\text{ cm}^{-1}$  correspondem à impressão digital ou região anomérica (Flórez-Fernández et al., 2019).

**Figura 4:** Caracterização de alginato comercial, amostras de alginato extraídas por com NaOH + NaCl precipitado com etanol ou isopropanol e  $\text{Ca}(\text{HO})_2$  precipitado com etanol ou isopropanol de *L. hyperborean* em FT-IR (A), e a viscosidade aparente (B) do alginato comercial como amostra controle, bem como dos alginatos obtidos na extração por NaOH + NaCl precipitado com isopropanol e etanol.



Para a análise da viscosidade aparente (Figura 4 B), os alginatos foram solubilizados em água destilada a 2 % e comparados com o alginato comercial. As amostras extraídas com o agente  $\text{Ca}(\text{HO})_2$  não apresentaram viscosidade, além disso as amostras extraídas com NaOH + NaCl apresentaram viscosidade inferior à amostra padrão (alginato comercial). A baixa viscosidade das amostras pode estar relacionada à fração homopolimérica de alto MM, que é

mais flexível que a fração GG. Além disso, essas características podem ser interessantes para obtenção de complexos polieletrólitos para produção de micro e nanopartículas para liberação de fármacos (Fertah et al., 2017b).

## CONCLUSÕES OU CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este estudo apresenta resultados destacáveis sobre o rendimento de extração de alginato usando uma combinação de NaOH + NaCl e etanol a partir de uma espécie de alga parda abundante na costa Portuguesa. A utilização deste método de extração resultou em um aumento destacável do 85 % no rendimento em comparação com o que está descrito na literatura. Além disso, os alginatos obtidos por esse processo apresentaram maior viscosidade quando comparados aos extraídos com Ca(OH)<sub>2</sub>. Este aumento na viscosidade indica o potencial para melhorar a funcionalidade em várias matrizes alimentares.

Além disso, o uso de NaOH + NaCl como agente de extração levou à produção de polímeros cristalinos, oferecendo um controle vantajoso sobre a pureza do composto. Essa característica é particularmente benéfica para indústrias que priorizam produtos de alta qualidade. Além disso, o resíduo sólido gerado nas etapas de pré-tratamento e extração do alginato pode ser efetivamente utilizado e direcionado para diferentes setores dentro do conceito de biorrefinaria. Essa integração contribui para a economia circular, maximizando a eficiência de recursos e minimizando a geração de resíduos.

No geral, essas descobertas fornecem informações valiosas sobre a otimização dos processos de extração de alginato, oferecendo um caminho promissor para a viabilidade comercial do alginato como um ingrediente valioso.

## REFERÊNCIAS

- AOAC 920.115G, 1995, AOAC Official Method Sweetened condensed milk: G-Protein. Official Methods of Analysis of AOAC International, 2, 48.
- Bojorges, H., Martínez-Abad, A., Martínez-Sanz, M., Rodrigo, M. D., Vilaplana, F., López-Rubio, A., & Fabra, M. J. (2023). Structural and functional properties of alginate obtained by means of high hydrostatic pressure-assisted extraction. *Carbohydrate Polymers*, 299.
- Bonfim-Mendonça, P. de S., Capoci, I. R. G., Tobaldini-Valerio, F. K., Negri, M., & Svidzinski, T. I. E. (2017). Overview of  $\beta$ -glucans from *Laminaria* spp.: Immunomodulation properties and applications on biologic models. *International Journal of Molecular Sciences*, 18(9).

- Borazjani, N. J., Tabarsa, M., You, S. G., & Rezaei, M. (2017). Effects of extraction methods on molecular characteristics, antioxidant properties and immunomodulation of alginates from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 703–711.
- Cardoso, S. L., Costa, C. S. D., Nishikawa, E., da Silva, M. G. C., & Vieira, M. G. A. (2017). Biosorption of toxic metals using the alginate extraction residue from the brown algae *Sargassum filipendula* as a natural ion-exchanger. *Journal of Cleaner Production*, 165, 491–499.
- da Costa, T. B., da Silva, T. L., Costa, C. S. D., da Silva, M. G. C., & Vieira, M. G. A. (2022). Chromium adsorption using *Sargassum filipendula* algae waste from alginate extraction: Batch and fixed-bed column studies. *Chemical Engineering Journal Advances*, 11, 100341
- Chandra R., Iqbal H.M.N., Vishal G., Lee H.S., Nagra S., 2019, Algal biorefinery: A sustainable approach to valorize algal-based biomass towards multiple product recovery. *Bioresource Technology*, 278, 346–359.
- FAO 2012, Food Energy – methods of analysis and conversion factors, Food and Agriculture Organization of the United Nations, Rome, Italy.
- Fleurence, J., 1999, Seaweed proteins: biochemical, nutritional aspects and potential uses. *Trends in Food Science & Technology*, 10(1), 25–28.
- Bojorges, H., Martínez-Abad, A., Martínez-Sanz, M., Rodrigo, M. D., Vilaplana, F., López-Rubio, A., & Fabra, M. J. (2023). Structural and functional properties of alginate obtained by means of high hydrostatic pressure-assisted extraction. *Carbohydrate Polymers*, 299.
- Borazjani, N. J., Tabarsa, M., You, S. G., & Rezaei, M. (2017). Effects of extraction methods on molecular characteristics, antioxidant properties and immunomodulation of alginates from *Sargassum angustifolium*. *International Journal of Biological Macromolecules*, 101, 703–711.
- Fenoradosoa, T. A., Ali, G., Delattre, C., Laroche, C., Petit, E., Wadouachi, A., & Michaud, P. (2010). Extraction and characterization of an alginate from the brown seaweed *Sargassum turbinarioides* Grunow. *Journal of Applied Phycology*, 22(2), 131–137.
- Fertah, M., Belfkira, A., Dahmane, E. montassir, Taourirte, M., & Brouillette, F. (2017). Extraction and characterization of sodium alginate from Moroccan *Laminaria digitata* brown seaweed. *Arabian Journal of Chemistry*, 10, S3707–S3714.
- Flórez-Fernández, N., Domínguez, H., & Torres, M. D. (2019). A green approach for alginate extraction from



- Sargassum muticum* brown seaweed using ultrasound-assisted technique. International Journal of Biological Macromolecules, 124, 451–459.
- Jesus, M. S., Romani, A., Genisheva, Z., Teixeira, J. A., & Domingues, L. (2017). Integral valorization of vine pruning residue by sequential autohydrolysis stages. Journal of Cleaner Production, 168, 74–86.
- Matos G.S., Pereira S.G., Genisheva Z.A., Gomes A.M., Teixeira J.A., Rocha C., 2021, Advances in extraction methods to recover added-value compounds from seaweeds: Sustainability and functionality. Foods, 10(3).
- Montes, L., Santamaria, M., Garzon, R., Rosell, C. M., & Moreira, R. (2022). Effect of the addition of different sodium alginates on viscoelastic, structural features and hydrolysis kinetics of corn starch gels. Food Bioscience, 47.
- Nøkling-Eide, K., Langeng, A. M., Åslund, A., Aachmann, F. L., Sletta, H., & Arlov, Ø. (2023). An assessment of physical and chemical conditions in alginate extraction from two cultivated brown algal species in Norway: *Alaria esculenta* and *Saccharina latissima*. Algal Research, 69, 102951.
- Rajauria, G., Ravindran, R., Garcia-Vaquero, M., Rai, D. K., Sweeney, T., & O'Doherty, J. (2021). Molecular characteristics and antioxidant activity of laminarin extracted from the seaweed species *Laminaria hyperborea*, using hydrothermal-assisted extraction and a multi-step purification procedure. Food Hydrocolloids, 112, 106332.
- Rodrigues D., Freitas A.C., Pereira L., Rocha-Santos T.A.P., Vasconcelos M.W., Roriz M., Rodríguez-Alcalá L.M., Gomes A.M.P., Duarte A.C., 2015, Chemical composition of red, brown and green macroalgae from Buarcos bay in Central West Coast of Portugal, Food Chemistry, 183, 197–207.
- White W.L., Wilson P., 2015, World seaweed utilization. Seaweed Sustainability: Food and Non-Food Applications, 7–25.