

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo deste trabalho será disponibilizado somente a partir de 09/03/2018.

**MARCELA TIEMI NOGUEIRA**

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ALGINATO DE SÓDIO DA  
MACROALGA *Sargassum cymosum* C. Agardh**

**ASSIS**

**2017**

**MARCELA TIEMI NOGUEIRA**

**EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ALGINATO DE SÓDIO DA  
MACROALGA *Sargassum cymosum* C. Agardh.**

Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras de Assis – UNESP – Universidade Estadual Paulista para a obtenção do título de mestrado em Biociências (Caracterização e Aplicação da diversidade biológica)

Orientadora: Ivanise Guilherme Branco

ASSIS

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CPI)

NOGUEIRA, Marcela Tiemi

N778e      Extração e caracterização de alginato de sódio da macroalga  
Sargassum cymosum C. Agadh /  
Marcela Tiemi Nogueira; orientador: Prof<sup>a</sup> Dra. Ivanise Guilherme  
Branco. Assis, SP: [s.n], 2017.  
58 f.

Dissertação de Mestrado – Faculdade de Ciências e Letras de Assis  
Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” UNESP.

1. Alginato de sódio 2. Sargassum sp 3. Otimização.  
I. Título.

CDU: 682.272

Bibliotecária responsável: Daniele Braga Paião CRB 8ª/6368

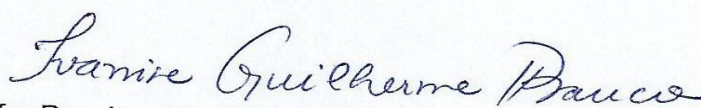
MARCELA TIEMI NOGUEIRA

Extração e caracterização de alginato de sódio proveniente da macroalga "Sargassum cymosum C. Agardh" visando aplicação na indústria de alimentos

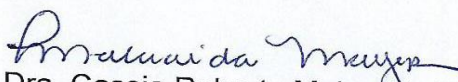
Dissertação apresentada à Faculdade de Ciências e Letras – UNESP/Assis para a obtenção do título de Mestrado Acadêmico em BIOCÊNCIAS (Área de Conhecimento: Caracterização e Aplicação da Diversidade Biológica)

Data da Aprovação: 09/03/2017

COMISSÃO EXAMINADORA



Presidente: Profa. Dra. Ivanise Guilherme Branco - UNESP/ASSIS



Membros: Profa. Dra. Cassia Roberta Malacrida Mayer - UNESP/ASSIS



Profa. Dra. Izabel Cristina Freitas Moraes - USP/PIRASSUNUNGA

Dedico essa dissertação a Deus, aos meus pais, Clóvis e Kiyoko, a minha irmã, Priscila, e ao meu namorado Júnior. Que sempre incentivaram meu crescimento pessoal e profissional.

## AGRADECIMENTOS

A Deus agradeço por ter me dado forças para superar cada dia da minha vida, por sempre me amparar nas dificuldades e por todas graças concedidas.

Aos meus pais, Clóvis e Kiyoko, a eles o meu amor eterno e minha gratidão pelo suporte que sempre me deram. Sendo alicerces, sempre me apoiando, aconselhando e guiando meus passos.

Ao meu namorado, Júnior, por sempre estar presente, mesmo estando longe. Pelos sacrifícios feitos, pelas noites de consolo e pela paciência nas horas mais difíceis, agindo sempre com carinho e compreensão.

Agradeço a minha irmã Priscila, pelo amor e paciência comigo em tantos momentos, pelos conselhos dados e pelas orações que sempre me ajudaram.

A Lorena, por trazer alegria nos momentos mais difíceis. Ao Ricardo, pela amizade e conselhos e orações dadas nos momentos em que mais precisava.

Aos meus amigos e familiares, que sempre compreenderam a minha ausência e me ampararam em todos os momentos, dando palavras de apoio: Elisa, Lizie, Larissa, Letícia, Amanda, Diego, Nathália, Jonas, Tia Silvia, Tata, Luiz, Wânia, Wellington, Tia Keiko, Tia Tieco, Tio Hideo, Tio Valmir, Marisa, Darci, Gislene, Luciana. Aos meus avôs, Hideko (in memoriam), Gumercindo (in memoriam) e Dulce, por me presentear com o bem mais precioso, meus pais, e por me apoiarem durante a minha vida e por deixarem bons exemplos e doces lembranças. À Nina e Maya, por sempre estarem ao meu lado me acompanhando nas horas de estudos.

Agradeço a minha orientadora Ivanise, pela oportunidade e pela paciência ao me conduzir nessa conquista, sempre com uma palavra amiga e protetora. Aos professores que me auxiliaram nesse projeto: Isabel, Ciro, Catarina, Eutímio Gustavo, Cássia, muito obrigada pela disposição e pelos ensinamentos valiosos. Aos funcionários da UNESP por sempre me socorrerem com um sorriso no rosto, meus sinceros agradecimentos: Giba, Allan e Amábile.

Aos amigos de laboratório: Rodolfo, Adriana, Karin, Gabriela, Camila, Letícia e Edson, meus agradecimentos por toda ajuda e pela amizade.

Minha gratidão a todos que passaram e fizeram parte de minha história, deixando palavras de carinho e força, contribuindo nessa conquista! Muito obrigada.

*“Todavia, esse tesouro nós o levamos em vasos de barro, para que todos reconheçam que esse incomparável poder pertence a Deus e não é propriedade nossa. Somos atribulados por todos os lados, mas não desanimados; somos expostos em extrema dificuldade, mas não somos vencidos por nenhum obstáculo; somos perseguidos, mas não abandonados; prostrados por terra, mas não aniquilados. É por isso que nós não perdemos a coragem. Pelo contrário: embora o nosso físico vá se desfazendo, o nosso interior vai se renovando a cada dia. Pois a nossa tribulação é momentânea e leve, em relação ao peso extraordinário da glória eterna.*

*(2 Coríntios 4, 7-9 16-17)*



NOGUEIRA, Marcela Tiemi. **Extração e caracterização de Alginato de sódio da macroalga *Sargassum cymosum* C. Agardh**. 2017. 58 f. Dissertação (Mestrado Acadêmico em Biociências). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2017.

## RESUMO

As algas marinhas pardas são as principais fontes de alginato de sódio utilizados na indústria alimentícia. O Brasil não possui o processamento de alginato, sendo assim dependente de produtos importados para suprir a demanda. A macroalga *Sargassum sp.* é comumente encontrada nas regiões costeiras do litoral de São Paulo, a extração de alginato dessa alga possibilitaria autonomia brasileira na produção de alginato de sódio. O meio ambiente e as condições climáticas em que as algas marinhas vivem influencia no rendimento de alginato, na massa molecular e na capacidade antioxidante. No primeiro capítulo foi realizado a otimização da extração de alginato de sódio por delineamento Box-Behnken e também o estudo da influência dos parâmetros de pH, temperatura e tempo de extração sobre o rendimento, viscosidade intrínseca e massa molecular. O pH influencia no rendimento, viscosidade intrínseca e massa molecular, enquanto que o tempo apresentou baixo efeito sobre o rendimento e a temperatura não influenciou nas respostas avaliadas. Os resultados da otimização mostraram que máximo rendimento (46,04%), viscosidade intrínseca (4,89 dL/g) e massa molecular (231,78 kDa) podem ser obtidos utilizando na extração a temperatura de 80°C, pH 10 por 90,08 minutos. No segundo capítulo foram estudados alginatos extraídos de *Sargassum cymosum* C. Agardh coletadas em duas localidades diferentes do litoral de São Paulo (Ubatuba-ASU e São Sebastião-ASS) com relação ao rendimento, massa molecular, comportamento reológico e atividade antioxidante, verificando a diferença entre os alginatos extraídos. O rendimento apresentou maior valor para os alginatos da alga coletada em ASS, porém as maiores massa moleculares foram observadas nas algas de Ubatuba (ASU). A maior atividade antioxidante foi verificada no alginato de ASU, que pode ser devido ao meio ambiente e condições climáticas em que a alga estava exposta durante seu crescimento. O estudo de comportamento reológico para as ASU apresentaram alginatos com características de fluido newtoniano, enquanto para ASS, fluido psedoplástico.

Palavras-chave: Alginato de sódio. *Sargassum cymosum* C. Agardh. Otimização. *Box Behnken*. Capacidade antioxidante. Comportamento reológico.

NOGUEIRA, Marcela Tiemi. **Extraction and characterization of sodium alginate from the *Sargassum cymosum* C. Agardh macroalgae.** 2017. 58 p. Dissertation (Master's degree in Biosciences). – Faculdade de Ciências e Letras, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, Assis, 2017.

## ABSTRACT

Brown seaweeds are the main sources of sodium alginate used in the food industry. Brazil doesn't have alginate processing, so it is dependent on imported products to supply the demand. The macroalgae *Sargassum* sp. is commonly found in the coastal regions of São Paulo, the extraction of alginate from this alga would allow Brazilian autonomy in the production of sodium alginate. The environment and climatic conditions in which marine algae live influence alginate yield, molecular weight and antioxidant capacity. In the first chapter, the optimization of the sodium alginate extraction by the Box-Behnken design was carried out, as well as the influence of pH, temperature and extraction time parameters on yield, intrinsic viscosity and viscosimetric molecular mass. pH influenced yield, intrinsic viscosity and molecular mass, while time had low effect and temperature did not influence the responses evaluated. The optimization results showed that maximum yield (46.04%), intrinsic viscosity (4.89 dL / g) and viscosimetric molecular weight (231.78 kDa) can be obtained using the extraction at temperature of 80 ° C, pH 10 and 90 minutes. In the second chapter, alginates extracted from *Sargassum cymosum* C. Agardh were studied in two different locations along the coast of São Paulo (Ubatuba-ASU and São Sebastião-SSA) and were studied the difference between them in the yield, molecular mass, rheological behavior and antioxidant activity. The yield presented higher values for the alginates of the algae collected in ASS, but the highest molecular weight were observed in the algae of Ubatuba (ASU). The highest antioxidant capacity was observed in ASU alginate, which may be due to the environmental and climatic conditions in which the algae were exposed during its growth. The study of rheological behavior for ASU presented alginates with characteristics of Newtonian fluid, while for ASS, pseudoplastic fluid.

Keywords: Sodium alginate. *Sargassum cymosum* C. Agardh. Optimization. Box Behnken. Antioxidant capacity. Rheological behavior.

## SUMÁRIO

INTRODUÇÃO .....	10
------------------	----

<b>Otimização do processo de extração de alginato de sódio da alga marrom <i>Sargassum cymosum</i> C. Agardh utilizando superfície de resposta.....</b>	<b>14</b>
---	-----------

RESUMO.....	14
-------------	----

INTRODUÇÃO.....	15
-----------------	----

MÉTODOLOGIA.....	20
------------------	----

Processamento e secagem das macroalgas.....	20
---	----

Delineamento experimental e análise dos dados.....	21
--	----

Extração de alginato de sódio.....	22
------------------------------------	----

Determinação da viscosidade intrínseca e Massa Molecular.....	24
---	----

Validação do delineamento.....	25
--------------------------------	----

RESULTADO E DISCUSSÃO.....	26
----------------------------	----

Delineamento experimental da extração de alginato.....	26
--	----

Efeito das variáveis de extração sobre o rendimento de alginato.....	29
--	----

Efeito das variáveis de extração sobre a viscosidade intrínseca e massa molecular.....	30
--	----

Desenvolvimento do modelo e otimização das variáveis experimentais.....	31
---	----

Validação do delineamento.....	34
--------------------------------	----

CONCLUSÃO.....	35
----------------	----

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
---------------------------------	----

<b>Influência da posição geográfica na qualidade do alginato de sódio extraído de <i>Sargassum cymosum</i> C. Agardh.....</b>	<b>40</b>
---	-----------

RESUMO.....	40
-------------	----

INTRODUÇÃO.....	40
MÉTODOLOGIA.....	43
Processamento e secagem das macroalgas.....	43
Extração de alginato de sódio.....	44
Determinação da massa molecular.....	45
Determinação atividade antioxidante.....	46
Caracterização reológica do polissacarídeo.....	46
Avaliação ressonância magnética (RMN).....	47
RESULTADO E DISCUSSÃO.....	47
Rendimento e massa molecular dos alginatos extraídos.....	47
Avaliação da atividade antioxidante dos alginatos extraídos .....	49
Estudo comportamento reológico dos alginatos extraídos.....;	50
Avaliação ressonância magnética (RMN).....	54
CONCLUSÃO.....	55
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	55



## INTRODUÇÃO

Polissacarídeos, também conhecidos como hidrocolóides, possuem características que contribuem na viscosidade e geleificação dos produtos (Barbosa-Cânovas et al., 1993), devido a propriedade de reter moléculas de água, e controlar, desse modo, a atividade de água de um sistema (Bobbio; Bobbio, 2003). Esses biopolímeros podem ser encontrados em várias fontes, tais como nas paredes celulares das plantas (celulose, pectina), das algas (carragena, alginato e agarose), em exudatos de plantas (goma arábica e tragacanta) e também podem ser excretados por microorganismos (curdulana, dextranas, xantanas) (Lapasin e Pricl, 1999).

Algas marinhas são umas das principais fontes de polissacarídeos utilizadas atualmente. São seres fotossintéticos no ecossistema, portanto produzem substâncias empregadas em diversos setores da atividade humana, como por exemplo, potentes antioxidantes que são produzidos devido a grande exposição à luz e concentrações consideráveis de oxigênio e CO<sub>2</sub> (Reviere, 2006; Raymundo et al, 2004). Devido ao ambiente em que vivem, as algas desenvolveram uma série de mecanismos fisiológicos e biomoleculares de defesa contra os efeitos das espécies reativas do oxigênio, representando uma importante fonte de substâncias antioxidantes naturais para a indústria alimentícia e farmacêutica (Rocha et al, 2007). Também são sintetizados por essas espécies compostos com propriedades funcionais, como por exemplo, ácidos graxos poliinsaturados (Cohen & Vonshak, 1991), pigmentos naturais, minerais essenciais, enzimas, e polissacarídeos (Shahidi e Janak Kamil, 2001; Gomez et al., 2009; Andriamanantoanina et al., 2010; Lorbeer et al., 2015). Esses e outros biocompostos e polissacarídeos vêm sendo pesquisados e processados para possibilitar sua aplicação industrial.

Alginatos são biopolímeros encontrados na parede celular de algas pardas, presentes em muitas regiões costeiras (Mafra Jr e Cunha, 2002). A capacidade de formar géis na presença de cátions bivalentes tais como cálcio, estrôncio, bário e magnésio conferem ao alginato ampla utilização na indústria

alimentícia e farmacêutica (Draget et al., 2005). Na indústria de alimentos são utilizados na produção de sorvetes, produtos lácteos, misturas para bolos, sucos de frutas, e entre outros e na indústria farmacêutica podem ser encontrados em cosméticos, nutracêuticos e medicamentos (Müller et al., 2011, Sellimi et al., 2015)

Para suprir a demanda de alginato, há a necessidade da otimização do processo de extração, minimizando custos e tempo, maximizando rendimento e preservando a qualidade dos produtos. Para tanto, há ferramentas experimentais que podem ser utilizadas com esta finalidade, tal como o delineamento tipo superfície de resposta Box Behnken (Ferreira et al., 2007; Rodrigues e lemma, 2005).

O ambiente e as condições climáticas em que as algas estão submetidas durante o seu crescimento influenciam no rendimento de extração do alginato (Bertagnolli et al., 2014) e nas propriedades reológicas (Rinaudo, 2008). O estudo da influencia ambiental sobre a atividade antioxidante do alginato de sódio são escassos.

O presente trabalho foi dividido em dois Capítulos. O primeiro consistiu na otimização do processo de extração de alginato de sódio, visando maior rendimento e a obtenção de um produto de elevada qualidade. No segundo foi avaliado a extração de alginato de sódio de algas *Sargassum cymosum* C. Agardh coletados em localidades diferentes, comparando o rendimento, e a viscosidade dos alginatos obtidos.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANDRIAMANANTOANINA, H., RINAUDO, M. **Characterization of the alginates from five madagascan brown algae**. Carbohydrate Polymers, n. 82, p. 555–560, 2010.

BARBOSA-CÁNOVAS, G. V.; KOKINI, J. L.; MA, L.; IBAZ, A. **The rheology of semi liquid food: Advances**. Food and Nutrition Research, n. 39, p. 61-69, 1993.

BERTAGNOLLI, C.; ESPÍNDOLA, A. P. D. M.; KLEINÜBING, S. J.; TASIC, L.; DA SILVA, M. G. C. (2014). **Sargassum filipendula alginate from Brazil: seasonal influence and characteristics**. Carbohydrate Polymers, n. 111, p. 619-623, 2014.

BOBBIO, P. A.; BOBIO, F. O. **Introdução à Química dos alimentos**, São Paulo, Varela, 2003.

COHEN, Z.; VONSHAK, A. **Fatty acid composition of Spirulina and Spirulina-like cyanobacteria in relation to their chemotaxonomy**. Phytochemistry, n. 30, p. 205–206, 1991.

DRAGET, K. I.; SMIDSROD, O.; SKJAK-BRAEK, G. **Alginates**. In: Steinbuchel A, Rhee SK (eds) **Polysaccharides and Polyamides in the Food Industry: Properties, Production, and Patents**. Wiley. Winheim, p. 1-30, 2005.

FERREIRA, S. L. C.; BRUNS, R. E.; FERREIRA, H. S.; MATOS, G. D.; DAVID, J. M.; BRANDÃO, G. C.; DA SILVA, E. G. P.; PORTUGAL, L. A.; DOS REIS, P. S.; SOUZA, A. S., DOS SANTOS, W. N. L. **Box-Behnken desing: Na alternative for the optimization of analytical methods**. Analytica chimica Acta, n. 597, p. 179-186, 2007.

GOMEZ, C. G., LAMBRECHT, M. V. P., LOZANO, J. E., RINAUDO, M., VILLAR, M. A. **Influence of the extraction-purification conditions on final properties of alginates obtained from brown algae (*Macrocystispyrifera*)**. International Journal Biological Macromolecules, n. 44, p. 365–371, 2009.

LAPASIN, R.; PRICL, S. (1999). **Rheology of industrial polysaccharides: theory and applications**. Blackie academic e professional, 1999.

LOBEER, A. J.; LAHNSTEIN, J.; BULONE, V.; NGUYEN, T., ZHANG, W. **Multiple-response optimization of the acidic treatment of the brown alga *Ecklonia radiata* for the sequential extraction of fucoïdan and alginate**. Bioresource technology. n. 197, p. 302-309, 2015.

MAFRA JR, L. L., CUNHA, S. R. (2002). **Bancos de *Sargassum cymosum* (Phaeophyceae) na enseada de armação do Itapocoroy, Penha, SC: Biomassa e rendimento em alginato**. Notas Técnicas Facimar, 6, p. 111-119, 2002.

MÜLLER, J. M., SANTOS, R. L., BRIGIDO, R. V. **Produção de alginato por microrganismos**. Polímeros, V. 21, n. 4, p. 305-310, 2011.

RAYMUNDO, M. S.; HORTA, P.; FETT, R. (2004). **Atividade antioxidante in vitro de extratos de algumas algas verdes (Chlorophyta) do litoral catarinense (Brasil)**. Brazilian Journal Pharmaceutical Sciences, n. 40, p. 4, 2004.



REVIERS, B. de. **Biologia e Filogenia das Algas**. 1ª ed. Artmed, Porto Alegre, 2006.

ROCHA, F. D., PEREIRA, R. C., KAPLAN, M. A. C., TEIXEIRA, V. L. **Produtos naturais de algas marinhas e seu potencial antioxidante**. Revista Brasileira de Farmagnosia, 17, 4, 631-639, 2007.

RODRIGUES, M. I.; IEMMA, A. F. **Planejamento de experimentos e otimização de processos: Uma estratégia sequencial de planejamentos**. Casa do Pão, 1ª edição, 2005.

SELLIMI, S.; YOUNES, I.; AYED, H. B.; MAALEJ, H.; MONTERO, V.; RINAUDO, M.; DAHIA, M.; MECHICHI, T.; HAJJI, M.; NASRI, M. **Structural, physicochemical and antioxidante properties of sodium alginate isolated from a Tunisian brown seaweed**. International Journal of Biological Macromolecules, n. 72, p. 1358-1367, 2015.

SHAHIDI, F., JANAK KAMIL, Y. (2001). **Enzymes from fish and aquatic invertebrates and their application in the food industry**. Trends in Food Science and Technology, n. 12, p. 435-464, 2001.