

Otimização por um delineamento composto central da extração assistida por ultrassom na etapa alcalina para obtenção de alginato a partir da biomassa da alga marrom *Macrocystis pyrifera*

Gustavo R. Pacco^{1*}; Eder G. Cavalleiro²; Guillermo Copello³; Vitor D. Alves⁴; Evelyn G. Oppe⁵; Ana V. Negrón¹

¹ Grupo de Investigación LIBIPMET, Facultad de Ciencias, Universidad Nacional de Ingeniería, Tupac Amaru Av. 210, Rimac, Lima 15333, Peru

² Laboratório de Análise Térmica, Eletroanalítica e Química de Soluções, Instituto de Química de São Paulo, Universidade de São Paulo., Av. Trab. São Carlsense, 400 - Parque Arnold Schmidt, São Carlos - SP, Brasil

³ Grupo de Investigación GINAPs, Universidad de Buenos Aires (UBA), Facultad de Farmacia y Bioquímica, Departamento de Química Analítica y Fisicoquímica, UBA, Junín 956, C1113AAD Buenos Aires, Argentina

⁴ Linking Landscape, Environment, Agriculture and Food (LEAF) Research Centre, Instituto Superior de Agronomia (ISA), Universidade de Lisboa, Tapada da Ajuda, 1349-017 Lisboa, Portugal

⁵ Escuela Profesional de Ingeniería Química, Facultad de Ingeniería de Procesos, Universidad Nacional de San Agustín de Arequipa, 04001 Arequipa, 117, Peru

*gustavo.ruiz.p@uni.pe

Palavras-Chave: biopolímero, feófito, escavação ultrassônica

Introdução

As macroalgas marrons são comumente utilizadas como parte da forragem para o gado (Wanapat et al., 2024), como fertilizantes (Gandhi et al., 2024) ou suplementos nutricionais (Jang et al., 2024), como observado no Peru, onde ainda não há ampla tecnificação para a obtenção de alginato — um biopolímero com múltiplas propriedades físico-químicas (Q. Wang et al., 2024) — que pode ser extraído por diferentes metodologias, tanto tradicionais (M. P. Silva et al., 2023) quanto alternativas (verdes), geralmente em meio alcalino (Nøkling-Eide et al., 2023; Zhu et al., 2023). O alginato é amplamente empregado na indústria alimentícia como agente espessante, bem como na indústria farmacêutica para curativos em feridas e em sistemas inteligentes de revestimento e extensão da vida útil de alimentos, entre outras aplicações (Rahman et al., 2024).

A aplicação de metodologias verdes, como a extração assistida por ultrassom ou micro-ondas, pode otimizar a extração de alginato, reduzindo o tempo de operação e a concentração alcalina necessária (Nam et al., 2024a; van Sittert et al., 2024). Em um estudo que abordou a obtenção de alginato a partir de quatro espécies de macroalgas pardas, observou-se que a extração ácida foi realizada com ácido cítrico em substituição ao HCl comumente utilizado, e utilizando Na_2CO_3 a 20 g L^{-1} , alcançando rendimentos superiores a 30 % (M. P. Silva et al., 2023). Para a extração de alginato de *Undinaria pinnatifida*, utilizou-se Na_2CO_3 em diferentes concentrações (1, 5 e 10 %), obtendo-se o maior rendimento na menor concentração, com 33,6 % (Nam et al., 2024b). A escolha da solução extratora é um fator determinante, sendo o Na_2CO_3 um dos reagentes mais utilizados (de Oliveira Queiroz et al., 2024; James et al., 2024; Zhu et al., 2023), embora outros estudos empreguem NaHCO_3 (Nøkling-Eide et al., 2023; Ummat et al., 2024), glicolato de colina (Moradiya et al., 2024) ou CaCl_2 (Montes et al., 2021).

Outro aspecto importante no processo é o agente de precipitação utilizado após a extração alcalina. Dentre os mais citados estão o etanol absoluto (1:2 m/v) (M. P. Silva et al., 2023), etanol a 95 % (1:3 m/v) (Nam et al., 2024b), etanol a 50 % (1:1 m/v) (de Oliveira Queiroz et al., 2024) e isopropanol (1:3 m/v) (Ummat et al., 2024). A obtenção de alginato da alga *Ascophyllum nodosum* por extração assistida por ultrassom (UAE) com potência de 20 kHz e proporção massa/volume de 1:20 resultou em rendimento de 6,1 % (Ummat et al., 2024), enquanto, com 165 W e sonotrodo de 87 Hz, o rendimento alcançou 12,9 % (James et al., 2024). Em um estudo baseado em um delineamento Box-Behnken para otimização do rendimento de

alginato, o foco foi a etapa ácida, substituindo o ácido cítrico a 30 % por extração assistida por ultrassom com potências de 120, 150 e 180 W (Chica et al., 2024).

Entretanto, observa-se a necessidade de aprofundar o estudo do rendimento de extração de alginato na etapa alcalina por meio da assistência por ultrassom, utilizando biomassa de macroalgas pardas obtida sob um sistema de coleta que siga os princípios da economia circular. Para tanto, será necessário aplicar um delineamento experimental capaz de determinar as condições ótimas de operação, permitindo que os resultados sirvam de base para estudos futuros.

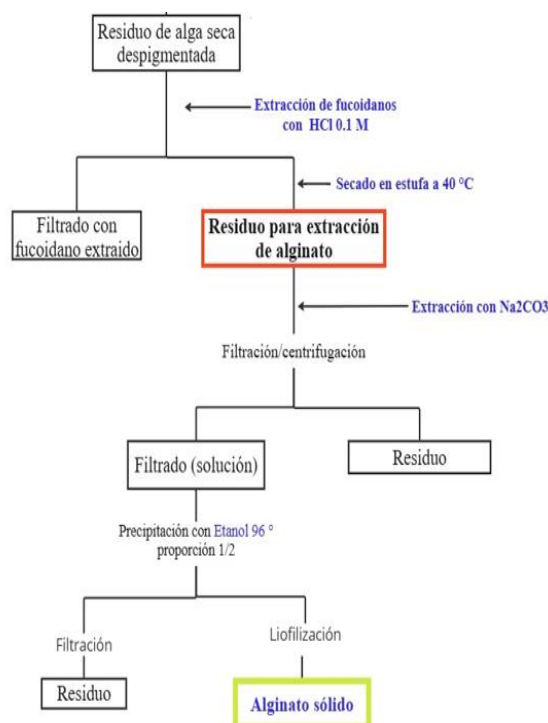
Material e Métodos

Delineamento experimental

Para a extração, utilizou-se amostra em pó de alga parda proveniente do litoral da província de Ica – Peru, fornecida pela empresa Algaex. Foi aplicado um delineamento composto central 2^2 com configuração em estrela e cinco pontos centrais, sendo todas as determinações realizadas em triplicata. Os fatores considerados foram: potência do ultrassom e concentração de Na_2CO_3 , cada um avaliado em três níveis, conforme apresentado a seguir:

EXP	Fator 1: Concentração Na_2CO_3 (g L^{-1})	Fator 2 Potencia de ultrassom(%)
A	10	50
B	30	50
C	10	100
D	30	100
E	5.9	75
F	34.1	75
G	20	39.7
H	20	110
I*	20	75
J*	20	75
K*	20	75
L*	20	75
M*	20	75

*Ponto central



Para a execução experimental, considerou-se a proporção de 1 g de amostra para 50 mL de solução alcalina (Na_2CO_3). O equipamento de ultrassom utilizado foi o modelo da marca SONICS, pertencente ao Laboratório de Produtos Naturais da UFSCar, operando a uma potência máxima de 250 W, frequência de 20 kHz e tempo de irradiação de 30 minutos, com aplicação de banho refrigerado. O processo extrativo seguiu o esquema apresentado anteriormente. O rendimento em massa do alginato liofilizado foi adotado como variável de resposta.

Caracterização do alginato por FTIR

A análise de FTIR foi realizada no laboratório LATEQS do Instituto de Química da USP. As amostras de alginato liofilizadas foram avaliadas em um espectrofotômetro FTIR-ATR da marca ThermoScientific, modelo Nicolet iS10, equipado com cristal de germânio. Foram obtidos um total de 32 varreduras (scans) na faixa espectral de 600 a 4000 cm^{-1} .

Análise estatística e processamento de dados

O processamento geral dos dados foi realizado no software Minitab versão 19, enquanto a análise estatística da otimização foi conduzida no software Stat Ease 360, considerando um nível de confiança de 95 % para os testes de hipótese.

Resultados e Discussão

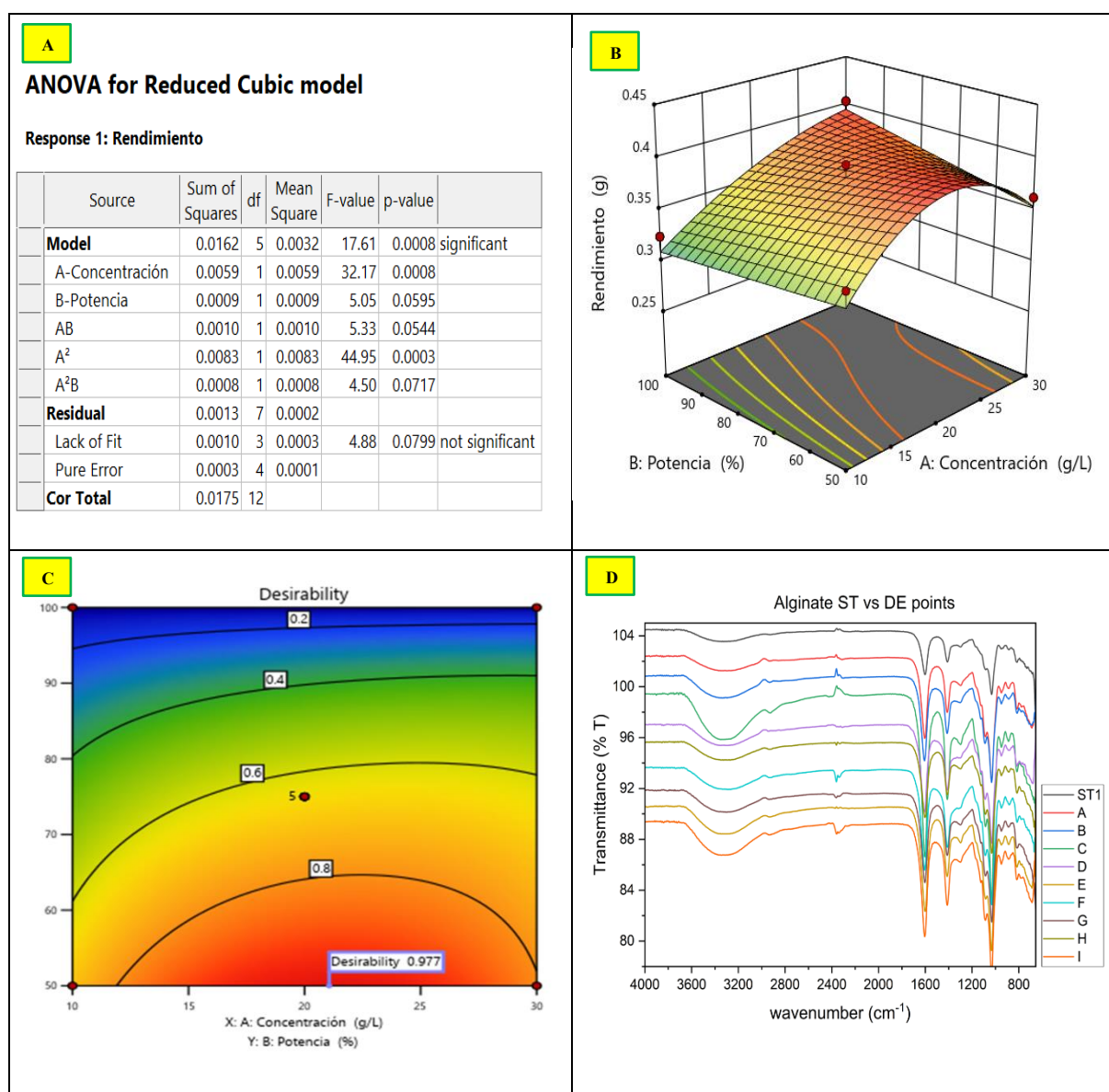


Figura 1. a) Teste de ANOVA aplicado ao delineamento experimental de extração de alginato (nível de confiança de 95 %); b) diagrama de superfície de resposta para a otimização da extração de alginato; c) gráfico de desejabilidade da resposta; d) sobreposição dos espectros FTIR dos alginatos obtidos no delineamento experimental.

A tabela de ANOVA para o modelo cúbico reduzido mostra que o modelo é altamente significativo ($p = 0,0008$), o que confirma a existência de uma relação estatisticamente válida entre as variáveis independentes (concentração e potência) e a variável de resposta (rendimento). O fator concentração ($p = 0,0008$) revelou-se altamente significativo, evidenciando sua influência direta sobre o rendimento em massa do alginato. Em contrapartida, a potência ($p = 0,0595$) e a interação AB ($p = 0,0544$) apresentaram significância marginal, sugerindo que podem contribuir para o modelo de forma moderada ou leve. Em relação aos termos quadráticos (A^2 e A^2B), estes também se mostraram relevantes, especialmente A^2 ($p = 0,0003$), o que confirma a presença de curvatura na superfície de resposta. O teste de falta de ajuste ($p = 0,0799$) não foi significativo, indicando que o modelo se ajusta adequadamente aos dados experimentais e que as possíveis variações residuais podem ser atribuídas ao erro puro, e não a deficiências do próprio delineamento.

A equação final do modelo, expressa em termos dos fatores reais, é a seguinte:

$$\text{Rendimento} = 0.085701 + 0.036104xC + 0.001393xP - 0.000263x(CxP) - 0.000952x(C)^2 + 8.13526x10^{-6}x(C^2xP)$$

Donde: C = Concentração; P = Potencia

O modelo apresentou um bom ajuste global ($R^2 = 0,9264$ e R^2 ajustado = $0,8738$), indicando que explica aproximadamente 92,6 % da variabilidade do rendimento experimental. O efeito positivo da concentração e da potência nos coeficientes lineares sugere que ambos os fatores contribuem para o aumento do rendimento dentro da faixa avaliada. No entanto, os termos quadráticos e de interação negativos evidenciam a presença de curvatura na superfície de resposta, indicando que o excesso de concentração ou potência pode reduzir o rendimento.

O gráfico de desejabilidade mostra o comportamento combinado dos fatores concentração (g L^{-1}) e potência (%) sobre a otimização global do processo. As cores representam diferentes níveis de desejabilidade, sendo as regiões vermelhas e alaranjadas indicativas de condições favoráveis (maior desejabilidade) e as regiões verdes e azuis associadas a condições menos adequadas.

Observa-se que a região ótima se localiza em torno de uma concentração de 20 g L^{-1} e uma potência entre 55 e 60 %, onde se obtém uma desejabilidade global de 0,977, valor muito próximo do ideal (1,000). Isso sugere que tais condições oferecem o melhor equilíbrio entre as respostas experimentais consideradas, permitindo maximizar a eficiência do processo. De acordo com o modelo, o rendimento é melhor explicado em função da concentração de Na_2CO_3 , assumindo condições ótimas de $21,06 \text{ g L}^{-1}$ de Na_2CO_3 e potência de 50 %, com rendimento previsto entre 0,2582 e 0,4038. O resultado experimental obtido ($0,3996 \pm 0,0039$) confirma a validade do método otimizado.

Finalmente, na seção 1.d, os espectros de FTIR apresentam sinais característicos de polissacarídeos ácidos. De acordo com o relatado por Belattmania et al. (2020), o alginato exhibe uma banda fraca entre $1710\text{--}1730 \text{ cm}^{-1}$, atribuída ao estiramento do grupo C=O dos ácidos carboxílicos, e bandas largas em $1600\text{--}1610 \text{ cm}^{-1}$, associadas ao estiramento assimétrico O-C-O do grupo carboxilato. Em $1400\text{--}1428 \text{ cm}^{-1}$ observam-se vibrações do grupo C-OH também relacionadas ao O-C-O , enquanto a banda em $1025\text{--}1030 \text{ cm}^{-1}$ corresponde ao estiramento C-O típico de ligações glicosídicas. Na região anomérica ($950\text{--}750 \text{ cm}^{-1}$), destacam-se bandas diferenciais: uma em $930\text{--}950 \text{ cm}^{-1}$ atribuída ao estiramento C-O dos ácidos urônicos, outra em $871\text{--}883 \text{ cm}^{-1}$ relacionada à deformação C1-H de resíduos β -manurônicos, e uma última em $815\text{--}833 \text{ cm}^{-1}$ correspondente à deformação C1-H de resíduos α -gulurônicos, confirmando

a presença das unidades M e G típicas do alginato. Para assegurar a ausência de resíduos de fucoidana nas amostras, foi avaliada a presença da banda característica do grupo sulfato ($\text{S}=\text{O}$), usualmente observada entre 1210 e 1260 cm^{-1} , a qual não foi detectada em nenhuma das amostras (Amin et al., 2024).

Conclusões

A concentração de Na_2CO_3 foi o fator mais relevante na extração alcalina assistida por ultrassom, apresentando efeito claro e significativo sobre o rendimento. Em contrapartida, a potência do ultrassom exerceu influência secundária, atuando principalmente como fator modulador do processo, e não como variável determinante. O delineamento composto central descreveu com precisão o comportamento do sistema, com R^2 de 0,9264 e desejabilidade global de 0,977, validando as condições ótimas de $21,06\text{ g L}^{-1}$ de Na_2CO_3 e 50 % de potência, que proporcionaram um rendimento experimental de $0,3996 \pm 0,0039\text{ g}$. Em conjunto, o estudo demonstrou que a assistência ultrassônica, aliada a um delineamento estatístico de superfície de resposta, constitui uma estratégia eficiente e sustentável para otimizar a obtenção de alginato a partir de biomassa marinha. As análises de FTIR confirmaram a presença das unidades M e G características do alginato e a ausência de grupos sulfatados, o que evidencia a pureza do biopolímero obtido.

Agradecimentos

Agradece-se à professora Maria Fátima das Graças Fernandes da Silva e à sua destacada equipe de pesquisadores do Laboratório de Produtos Naturais do Departamento de Química da Universidade Federal de São Carlos pelo apoio prestado nas etapas iniciais do estudo.

Este trabalho foi financiado pelo Conselho Nacional de Ciência, Tecnologia e Inovação Tecnológica (CONCYTEC) e pelo Programa Nacional de Investigação Científica e Estudos Avançados (PROCIENCIA), no âmbito do Concurso E077-2023-01-BM “Bolsas em Programas de Doutorado em Alianças Interinstitucionais”, sob o número de subvenção PE501089375-2024, e do Concurso E033-2023-01-BM “Alianças Interinstitucionais para Programas de Doutorado”, sob o número de subvenção (PE501084300-2023).

Referências

- Amin, M. N. G., Rosenau, T., & Böhmendorfer, S. (2024). The structure of fucoidan by linkage analysis tailored for fucose in four algae species: *Fucus serratus*, *Fucus evanescens*, *Fucus vesiculosus* and *Laminaria hyperborea*. **Carbohydrate Polymer Technologies and Applications**, 7(100455), 100455. <https://doi.org/10.1016/j.carpta.2024.100455>
- Belattmania, Z., Kaidi, S., El Atouani, S., Katif, C., Bentiss, F., Jama, C., Reani, A., Sabour, B., & Vasconcelos, V. (2020). Isolation and FTIR-ATR and ^1H NMR characterization of alginates from the main alginophyte species of the Atlantic coast of Morocco. **Molecules** (Basel, Switzerland), 25(18), 4335. <https://doi.org/10.3390/molecules25184335>
- Chica, L. R., Yamashita, C., Nunes, N. S. S., Negreiros, A. T., Moraes, I. C. F., Ferreira, A. G., Mayer, C. R. M., Haminiuk, C. W. I., Branco, C. C. Z., & Branco, I. G. (2024). Optimizing alginate extraction using Box–Behnken design: Improving yield and antioxidant properties through ultrasound-assisted citric acid extraction. **Food Chemistry Advances**, 5(100813), 100813. <https://doi.org/10.1016/j.focha.2024.100813>

de Oliveira Queiroz, L. P., Aroucha, E. M. M., dos Santos, F. K. G., & de Lima Leite, R. H. (2024). Optimization of alginate extraction conditions from the brown seaweed *Dictyota mertensii* using a central composite design. **Algal Research**, 79, 103482. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2024.103482>

Gandhi, G., Gopalakrishnan, V. A. K., Veeragurunathan, V., & Ghosh, A. (2024). Unlocking the potential of tropical red and brown seaweed-based biostimulants—a comparative assessment for sustainable maize (*Zea mays*) production. **Journal of Applied Phycology**, 36(3), 1513–1531. <https://doi.org/10.1007/S10811-023-03155-0/METRICS>

James, K., Ramirez, J., Barner, L., & Moghaddam, L. (2024). Technology comparison for sequential extraction of fucoidan and sodium alginate from *Ascophyllum nodosum* using a glycerol and choline chloride solvent. **Cleaner Engineering and Technology**, 18, 100707. <https://doi.org/10.1016/J.CLET.2023.100707>

Jang, H., Lee, J., Park, Y.-K., & Lee, J.-Y. (2024). Exploring the health benefits and concerns of brown seaweed consumption: A comprehensive review of bioactive compounds in brown seaweed and its potential therapeutic effects. **Journal of Agriculture and Food Research**, 17, 101215. <https://doi.org/10.1016/J.JAFR.2024.101215>

Nam, H. Bin, Lee, K. H., Yoo, H. Y., Park, C., Lim, J. M., & Lee, J. H. (2024b). Rapid and High-Yield Recovery of Sodium Alginate from *Undaria pinnatifida* via Microwave-Assisted Extraction. **Processes** 2024, Vol. 12, Page 208, 12(1), 208. <https://doi.org/10.3390/PR12010208>

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. <https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2022.102951>

Rahman, M. M., Shahid, M. A., Hossain, M. T., Sheikh, M. S., Rahman, M. S., Uddin, N., Rahim, A., Khan, R. A., & Hossain, I. (2024). Sources, extractions, and applications of alginate: a review. **Discover Applied Sciences**, 6(8). <https://doi.org/10.1007/s42452-024-06151-2>

Silva, M. P., Badruddin, I. J., Tonon, T., Rahatekar, S., & Gomez, L. D. (2023). Environmentally benign alginate extraction and fibres spinning from different European Brown algae species. **International Journal of Biological Macromolecules**, 226, 434–442. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2022.11.306>

Ummat, V., Sivagnanam, S. P., Rameshkumar, S., Pednekar, M., Fitzpatrick, S., Rai, D. K., Padamati, R. B., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2024). Sequential extraction of fucoidan, laminarin, mannitol, alginate and protein from brown macroalgae *Ascophyllum nodosum* and *Fucus vesiculosus*. **International Journal of Biological Macromolecules**, 256, 128195. <https://doi.org/10.1016/J.IJBIOMAC.2023.128195>

Wang, Q., Yan, S., Ning, Y., Zhu, Y., Sergeeva, I., Li, Y., & Qi, B. (2024). Effect of sodium alginate block type on the physicochemical properties and curcumin release behavior of quaternized chitosan-oxidized sodium alginate Schiff base hydrogels. **Food Chemistry**, 444, 138688. <https://doi.org/10.1016/J.FOODCHEM.2024.138688>

Wanapat, M., Prachumchai, R., Dagaew, G., Matra, M., Phupaboon, S., Sommai, S., & Suriyapha, C. (2024). Potential use of seaweed as a dietary supplement to mitigate enteric



64º Congresso Brasileiro de Química
04 a 07 de novembro de 2025
Belo Horizonte - MG

methane emission in ruminants. **Science of The Total Environment**, 931, 173015.
<https://doi.org/10.1016/J.SCITOTENV.2024.173015>

Zhu, X., Healy, L., Das, R. S., Bhavya, M. L., Karuppusamy, S., Sun, D. W., O'Donnell, C., & Tiwari, B. K. (2023). Novel biorefinery process for extraction of laminarin, alginate and protein from brown seaweed using hydrodynamic cavitation. **Algal Research**, 74, 103243.
<https://doi.org/10.1016/J.ALGAL.2023.103243>