

## EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE FUCOIDANAS DA ALGA *DURVILLAEA ANTARCTICA* DA REGIÃO DE MAGALHÃES - CHILE

GABRIELLY QUARTIERI SEJANES<sup>1</sup>; AMANDA FONSECA LEITZKE<sup>2</sup>; DANIELLE TAPIA BUENO<sup>2</sup>; RAYANE BRAGA MARTINS<sup>2</sup>; JULIANA PORCIUNCULA DA SILVA<sup>2</sup>; CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Universidade Federal de Pelotas – gabrielly.q.sejanas@gmail.com

<sup>2</sup>Universidade Federal de Pelotas – lahbbiufpel@gmail.com

<sup>3</sup>Universidade Federal de Pelotas – claudiochemistry@gmail.com

### 1. INTRODUÇÃO

As algas marinhas, ou macroalgas, são organismos eucarióticos, multicelulares e macroscópicos, capazes de realizar fotossíntese, amplamente encontrados em todos os tipos de costas, desde áreas tropicais até polares (KALASARIYA *et al*, 2021). As macroalgas são classificadas conforme a composição de seus pigmentos: algas verdes (Filo Chlorophyta), algas vermelhas (Filo Rhodophyta) e algas marrons (Filo Ochrophyta) (DO-AMARAL *et al*, 2020). Estas são formadas por 20 classes, sendo que a classe *Phaeophyceae*, por si só, corresponde a mais de 1800 espécies e representa 66% do consumo total de algas (LI *et al*, 2021). Dentre as espécies existentes de algas marrons, a macroalga *Durvillaea antarctica* se destaca por ser uma alga marinha presente nas costas do Chile, sul da Nova Zelândia e Ilha Macquarie. Amplamente utilizada na culinária e valorizada por suas propriedades medicinais, ela possui aproximadamente 11% de proteína, 65% de carboidratos e até 4,3% de lipídios. Apesar de seu potencial, há poucos estudos sobre as fucoidanas extraídas dessa alga (QIN *et al*, 2022).

Além disso, as algas marrons possuem polissacarídeos exclusivos, como alginato, laminarina e fucoidana, constituem mais de 50% do peso seco total das algas marrons, podendo alcançar até 70% em algumas espécies (LI *et al*, 2021). As fucoidanas estão presentes nas paredes celulares e nas matrizes extracelulares das algas marrons (ANISHA *et al*, 2022). Acredita-se que as fucoidanas funcionem como agentes de ligação cruzada entre os principais filamentos de celulose e hemicelulose, contribuindo para a integridade celular e a manutenção da hidratação das células, especialmente em períodos de seca (ZAYED; ULBER, 2020). Quimicamente, a fucoidana é um polissacarídeo com uma espinha dorsal composta por resíduos de L-fucose sulfatada, cuja estrutura principal contém pelo menos 10 monossacarídeos (LI *et al*, 2023).

Esse polissacarídeo tem sido associado a diversas aplicações por suas atividades antioxidante, antitumorais, anticoagulante, anti-inflamatórias, antivirais, antibactericida e antifúngica (MENSAH *et al*, 2023). Além disso, hidrogéis feitos de polissacarídeos de algas são amplamente utilizados na engenharia de tecidos e na medicina regenerativa, funcionando como matrizes de reparo que promovem a proliferação celular e a angiogênese, elementos essenciais para a regeneração de tecidos ósseos (ANISHA *et al*, 2022). Tendo isso em vista, esse trabalho tem como objetivo realizar a extração de fucoidanas da alga *Durvillaea antarctica* da região de Magalhães - Chile, e realizar sua caracterização através de espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (IR-TF), espectrofotômetro UV-Vis e analisar o perfil de ácidos graxos por cromatografia gasosa acoplado ao espectrômetro de massas (GC-EM).

## 2. METODOLOGIA

Para realizar a extração das fucoidanas, utilizou-se cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) e seguiu-se a metodologia descrita por YANG *et al.* (2021). Inicialmente, foram pesados 25 g de alga previamente limpa e seca. Em seguida, foi adicionada uma solução de cloreto de cálcio 0,1 mol/L (250 mL) à amostra. A mistura foi mantida sob agitação constante por 2 horas a uma temperatura de 65°C. Após esse período, o sobrenadante foi removido, e o processo de extração repetido. A solução obtida foi então centrifugada, e o sobrenadante resultante foi rotaevaporado até atingir 1/10 do volume inicial. Em seguida, a solução foi novamente centrifugada, e o sobrenadante coletado teve quatro vezes seu volume de etanol adicionado. Por fim, o precipitado foi transferido para uma placa de Petri e seco em estufa a 40°C.

Para determinar a composição dos ácidos graxos presentes no óleo, foi utilizado um cromatógrafo gasoso (Shimadzu, modelo GC-2010) acoplado a um espectrômetro de massas (GCMS-QP2020), equipado com uma coluna capilar de sílica fundida SP 2560 (100 m x 0,25 mm x 0,10 µm). A amostra injetada foi de 8 µL, na proporção de 1:50, no modo split. As temperaturas da interface e da fonte de íons foram ajustadas para 280 °C e 200 °C, respectivamente. A temperatura do injetor foi estabelecida em 200 °C, com gás de arraste Hélio a uma vazão de 3 mL/min. Para a coluna, a temperatura inicial foi de 100 °C, mantida por 5 minutos. Em seguida, a temperatura foi aumentada a uma taxa constante de 5 °C/min até atingir 250 °C, totalizando um tempo de análise de 55 minutos.

A análise de IR-TF foi realizada em um espectrômetro de infravermelho Shimadzu, modelo SPIRIT. Foram analisadas duas amostras: fucoidana comercial e extraída com  $\text{CaCl}_2$ . Todas as amostras foram maceradas com brometo de potássio (KBr) de grau espectroscópico e prensadas em pastilhas. Os espectros foram coletados na faixa de 400 a 4000  $\text{cm}^{-1}$ , com resolução de 4  $\text{cm}^{-1}$  e 45 varreduras (*scans*). Posteriormente, os espectros foram analisados para identificar possíveis tipos de ligações e grupos funcionais presentes.

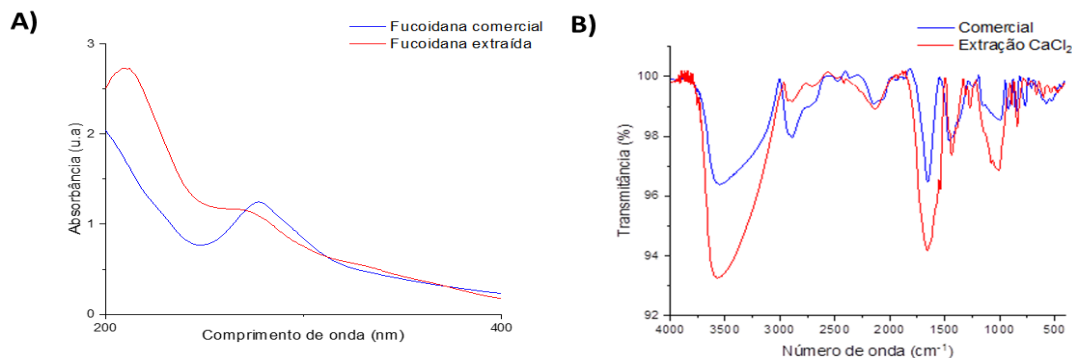
Para a análise de espectroscopia no ultravioleta visível (UV-Vis) foi utilizado um equipamento Bel (model LGS53). Foram preparadas duas amostras em balões volumétricos de 10 mL. Em cada balão, pesou-se 0,01 g de fucoidana comercial e extraída com  $\text{CaCl}_2$ , completando-se o volume até o menisco com água destilada. A análise foi realizada na faixa de comprimento de onda de 200 a 400 nm.

## 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para avaliar a eficácia da metodologia de extração de fucoidanas, foi realizado o cálculo do rendimento obtido. A extração realizada com cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) resultou em um rendimento de 5,08%, condizente com o relatado anteriormente por YANG *et al.* (2021), que obteve um rendimento de 5,9% utilizando a mesma alga. Na análise das fucoidanas por espectroscopia UV-Vis, o espectro de absorção do polissacarídeo comercial, em comparação com o obtido pela extração por cloreto de cálcio (**Figura 1A**), revela que ambos apresentam uma absorção próxima a 260 nm e uma absorção significativa ao redor de 200 nm. Essas características de absorção podem estar associadas a compostos aromáticos ligados covalentemente ao polissacarídeo, conforme relatado por SARAVANA (2016).

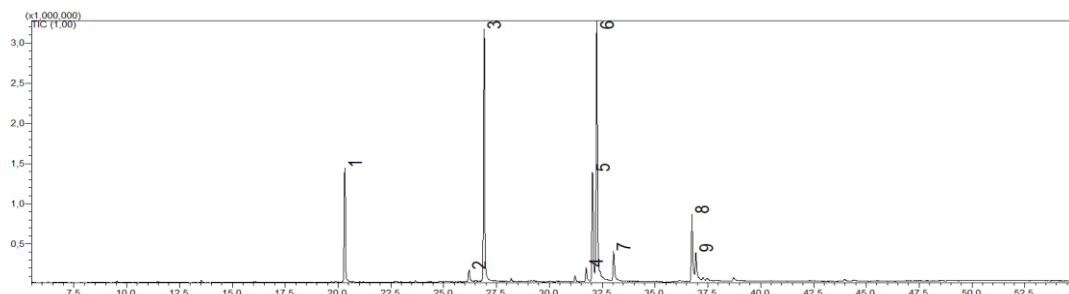
Além disso, ao analisar os espectros de IR-TF da fucoidana comercial e compará-los ao espectro da fucoidana extraída (**Figura 1B**), podemos identificar bandas nas regiões de 3500  $\text{cm}^{-1}$  e 2900  $\text{cm}^{-1}$ . A primeira banda está relacionada

a ligações O-H, enquanto a segunda refere-se a ligações C-H. Outra banda, localizada em cerca de  $1600\text{ cm}^{-1}$ , indica a presença de grupos carbonila associados ao ácido urônico. Também observa-se uma banda entre  $1220\text{-}1230\text{ cm}^{-1}$ , atribuída ao S=O, sugerindo a presença de sulfato. A banda entre  $1000\text{-}1100\text{ cm}^{-1}$  representa a ligação C-O dos polissacarídeos. Por fim, uma banda em torno de  $840\text{ cm}^{-1}$  é atribuída a grupos sulfato no C-4, e os grupos sulfato nas posições C-2 e C-3 geram bandas em torno de  $820\text{ cm}^{-1}$ , conforme descrito por YUAN; MACQUARRIE (2015) e RODRIGUEZ-JASSO *et al.* (2011).



**Figura 1. A)** Espectro de absorção da fucoidanas extraída e da fucoidana comercial. **B)** Espectro de infravermelho da fucoidanas extraída e da fucoidana comercial.

Por fim, ao analisar o cromatograma obtido por CG-EM (**Figura 2**) da alga *Durvillaea Antarctica*, foram identificados 9 picos de ácidos graxos diferentes, referentes aos ácidos mirístico (1); palmitoleico (2); palmítico (3); docosapentaenoico (4); linoleico (5); elaidico (6); esteárico (7); araquidônico (8) e eicosapentaenoico (9), respectivamente. Os ácidos graxos poli-insaturados, como o ácido eicosapentaenoico, são ácidos que possuem diversas propriedades, como anti-inflamatórias e antimicrobianas (PORCELLI *et al.*, 2020). Além disso, os ácidos graxos saturados, como o ácido mirístico, são atribuídos a composição química e às condições de crescimento da alga (VALÉRIO FILHO *et al.*, 2023). Por fim, ácidos graxos monoinsaturados, como o ácido palmitoleico, são conhecidos por suas propriedades cicatrizantes e anti-inflamatórias (WEIMANN *et al.*, 2018).



**Figura 2.** Cromatograma da Alga *Durvillaea Antarctica*.

#### 4. CONCLUSÕES

A partir dos resultados apresentados, é possível concluir que a extração de fucoidanas utilizando cloreto de cálcio ( $\text{CaCl}_2$ ) apresentou resultados promissores, com um rendimento de 5,08%, o que está de acordo com o relatado anteriormente

na literatura, e perfis espectroscópicos que corroboram sua pureza e composição química. A análise de UV-Vis indicou a presença de compostos aromáticos, enquanto os espectros de IR-TF confirmaram importantes grupos funcionais, como carbonilas e sulfatos, característicos das fucoidanas. A identificação de ácidos graxos como o ácido palmitoleico, mirístico e eicosapentaenoico por CG-EM reforça a riqueza química do material extraído, evidenciando a eficácia dessa metodologia de extração para futuras aplicações.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ANISHA, G. S. *et al.* Fucoidan from Marine Macroalgae: Biological Actions and Applications in Regenerative Medicine, Drug Delivery Systems and Food Industry. **Bioengineering**, v. 9, n. 472, 2022.
- DO-AMARAL, C. C. F. *et al.* Antitumoral effects of fucoidan on bladder cancer. **Algal Research**, Pelotas, v. 47, p. 101884, 2020.
- KALASARIYA, H. S. *et al.* Characterization of Fatty Acids, Polysaccharides, Amino Acids, and Minerals in Marine Macroalga *Chaetomorpha crassa* and Evaluation of Their Potentials in Skin Cosmetics. **Molecules**, Basel, v. 26, n. 24, p. 7515, 2021.
- LI, Y. *et al.* Brown Algae Carbohydrates: Structures, Pharmaceutical Properties, and Research Challenges. **Marine Drugs**, Basel, v. 19, n. 620, 2021.
- LI, Y. *et al.* Immunopotentiating Activity of Fucoidans and Relevance to Cancer Immunotherapy. **Marine Drugs**, Basel, v. 21, n. 128, 2023.
- MENSAH, E. O. *et al.* Marine fucoidans: Structural, extraction, biological activities and their applications in the food industry. **Food Hidrocolloids**, n. 142, 2023.
- PORCELLI, R. *et al.* Comparative life cycle assessment of microalgae cultivation for non-energy purposes using different carbon dioxide sources. **Science of the Total Environment**, v. 1, n. 721, 2020.
- QIN, L. *et al.* Purification, Chemical Characterization and Immunomodulatory Activity of a Sulfated Polysaccharide from Marine Brown Algae *Durvillaea antarctica*. **Marine Drugs**, v. 20, n. 223, 2022.
- RODRIGUEZ-JASSO, R. M. *et al.* Microwave-assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from brown seaweed. **Carbohydrate Polymers**, n. 86, p. 1137–1144, 2011.
- SARAVANA, P. S. *et al.* Structural, antioxidant, and emulsifying activities of fucoidan from *Saccharina japonica* using pressurized liquid extraction. **Carbohydrate Polymers**, n. 153, p. 518–525, 2016.
- VALÉRIO FILHO, A. *et al.* Extraction of fatty acids and cellulose from the biomass of algae *Durvillaea antarctica* and *Ulva lactuca*: An alternative for biorefineries. **Algal Research**, v. 1, n. 71, 2023.
- WEIMANN, E. *et al.* Topical anti-inflammatory activity of palmitoleic acid improves wound healing. **PLOS One**, v. 13, n. 10, 2018.
- YUAN, Y.; MACQUARRIE, D. Microwave assisted extraction of sulfated polysaccharides (fucoidan) from *Ascophyllum nodosum* and its antioxidant activity. **Carbohydrate Polymers**, n. 129, p. 101–107, 2015.
- YANG, Y. *et al.* Structural characterization and effect on leukopenia of fucoidan from *Durvillaea antarctica*. **Carbohydrate Polymers**, n. 256, 2021.
- ZAYED, A.; ULBER, R. Fucoidans: Downstream Processes and Recent Applications. **Marine Drugs**, v. 18, n. 170, 2020.