

EXPLORANDO A MACROALGA SUBANTÁRTICA *Durvillaea antarctica*: EXTRAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DE ALGINATO E FUNCOIDANAIgor Franz Santa-Barbara^a, Amanda Fonseca Leitzke^b, Lucas Moraes Berneira^b, Danielle Tapia Bueno^b, Daisa Hakbart Bonemann^b, Caroline Tapia Bueno^b, Evandro Piva^a, Andres Mansilla^c, Claudio Martin Pereira de Pereira^b e Rafael Guerra Lund^{a,*}^aPrograma de Pós-Graduação em Bioquímica e Bioprospecção, Faculdade de Odontologia, Universidade Federal de Pelotas, 96015-560 Pelotas – RS, Brasil^bLaboratório de Inovação em Química (InnovasChem), Centro de Ciências Químicas, Farmacêuticas e de Alimentos (CCQFA), Universidade Federal de Pelotas, 96010-900 Pelotas – RS, Brasil^cLaboratório de Macroalgas Antárticas e Subantárticas, Universidad de Magallanes, 6210427 Punta Arenas, Chile

Recebido: 01/09/2025; aceito: 11/02/2026; publicado online: 17/04/2026

EXPLORING THE SUBANTARCTIC BROWN MACROALGA *Durvillaea antarctica*: EXTRACTION AND CHARACTERIZATION OF ALGINATES AND FUCOIDANS. *Durvillaea antarctica* is a brown macroalga of significant economic and biotechnological importance in Chile, notable for its composition of valuable biopolymers such as alginate and fucoidan, in addition to essential minerals and unsaturated fatty acids. This study aimed to optimize the alginate extraction method using a full-factorial design to maximize polysaccharide yield. The macroalgae and its extracts were characterized using established analytical techniques, including Kjeldahl (protein), Bligh and Dyer (lipids), gravimetry (ash and moisture), Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR), and chromatography. The results demonstrated an alginate extraction yield of 40.9% with a mannuronic-to-guluronic acid ratio (M/G) of 4.57 under optimized conditions, highlighting the efficiency of the established protocol. The presence of omega-3 and omega-6 fatty acids, as well as Fe, Na, and K, was confirmed, together with a low lipid content (0.74%). FTIR and NMR (nuclear magnetic resonance) analyses indicated the successful extraction of alginate and fucoidan, with spectral features consistent with those reported in the literature for these biopolymers, confirming their spectroscopic compatibility rather than strict analytical identity. Overall, this work reinforces the potential of *D. antarctica* as a sustainable source of high-value compounds and provides a reproducible approach for efficient alginate extraction.

Keywords: alginate; fucoidan; subantarctic algae; extraction; characterization.

INTRODUÇÃO

As macroalgas marinhas são organismos que podem ser encontrados em todos os habitats aquáticos, incluindo oceanos, rios, lagoas e águas residuais.¹ Além disso, estas são conhecidas há séculos por sua relevância na dieta de países do extremo oriente como Japão e Coreia,² pois são ricas em nutrientes e fontes importantes de polissacarídeos complexos, minerais, proteínas e vitaminas, além de diversos fitoquímicos. Seu consumo está alinhado à crescente demanda por produtos orgânicos e ambientalmente sustentáveis.² As macroalgas, também conhecidas como algas marinhas, habitam as zonas costeiras e incluem variedades (algas verdes, marrons e vermelhas).³ Dentre estas, as algas marrons são as mais consumidas (66,5%), seguidas pelas vermelhas (33%) e verdes (5%).⁴

Dentre as algas marrons, as Phaeophyceae destacam-se pelo alto teor de fitoquímicos e pelas propriedades terapêuticas, o que as torna candidatas promissoras como agentes bioativos em setores como o de alimentos funcionais, saúde, indústria, produtos farmacêuticos, cosmeceuticos, dentre outros.⁵ As algas marrons, ricas em polissacarídeos com diversas atividades biológicas, têm recebido crescente atenção, destacando-se especialmente a fucoidana, um composto de grande interesse proveniente desses organismos marinhos. As fucoidanas são polissacarídeos sulfatados extraídos de algas marrons, compostas principalmente de fucose.⁶ Pesquisas

recentes investigam suas aplicações biotecnológicas, incluindo efeitos antitumorais,⁷ anticoagulantes,⁸ antivirais,⁹ antimicrobianos,¹⁰ antibacterianos,¹¹ antidiabéticos,¹² nefroprotetores,¹³ antioxidantes,¹⁴ anti-inflamatórios e imunomoduladores.¹⁵

O alginato como polissacarídeo, se encontra preso a parede celular da alga e é formado por monômeros de ácido β -D manurônico (M) e α -L gulurônico (G), conformados em estruturas homogêneas MM e GG ou heterogêneas MG e GM conectados por ligação glicosídica $\beta(1\rightarrow4)$ ou $\alpha(1\rightarrow4)$.¹⁶ Por ser o principal subproduto da *D. antarctica*, este atua comercialmente como: emulsificante, texturizante, amaciante de carnes, filmes biodegradáveis, substituto de gorduras, revestimento comestível natural, matriz de encapsulamento e nanofibra para áreas como a de alimentos, cosméticos, farmacêuticos e biotecnologia. Suas principais características que veiculam essas utilizações incluem atoxicidade, biodegradabilidade, biocompatibilidade e alta viscosidade.¹⁷ Dessa forma, o objetivo deste trabalho foi de extrair a fucoidana, aprimorar a extração de alginato e caracterizar a alga chilena *Durvillaea antarctica* e seus polímeros.

PARTE EXPERIMENTAL

Aquisição da alga

A macroalga *Durvillaea antarctica* foi coletada em janeiro de 2020 em águas com temperatura média de 11 °C na região subantártica de Punta Arenas (53°38'24.5" S, 70°56'47.2" W) e áreas adjacentes, na Patagônia Chilena (Figura 1). Após a coleta, as amostras de

*e-mail: rafael.lund@gmail.com

Editor Associado responsável pelo artigo: Eduardo M. Richter



algas foram preparadas conforme descrito por dos Santos *et al.*¹⁸ O material foi mantido sob refrigeração nas mesmas condições do momento da coleta, a 11,3 °C por 24 h. Em seguida, as algas foram lavadas e desidratadas em estufa a 35 °C por, no mínimo, 120 h. Após a desidratação completa, a alga foi moída em um moinho de facas por aproximadamente 10 min e armazenada em sacos plásticos hermeticamente fechados, contendo sílica gel no interior para garantir a manutenção da ausência de umidade.

Caracterização da macroalga

Proteína bruta

O teor de proteína foi determinado com microssistema de bloco digestor digital (Kjeldahl). A biomassa liofilizada (cerca de 300 mg) foi transferida para o tubo de digestão Kjeldahl e adicionados 2 g de mistura catalítica e 10 mL de ácido sulfúrico concentrado. As amostras sofreram digestão por cerca de 4 h a temperatura de 350 °C, e foram removidas do bloco digestor após apresentarem uma cor verde clara. Após o resfriamento, o conteúdo da biomassa digerida foi transferido com auxílio de 50 mL de água destilada e acoplados ao destilador de proteínas. Para a destilação foram utilizados 40 mL de hidróxido de sódio a 50% (m/v), deixando o terminal do condensador completamente imerso em um Erlenmeyer de 250 mL contendo 30 mL de solução de ácido bórico a 4% e 3 gotas de indicador misto. Foram coletados cerca de 70 mL do destilado, que posteriormente foi titulado com ácido clorídrico até o indicador passar de verde para rosa. Foi realizado um branco apenas com os solventes e sem a amostra e a proteína foi calculada como nitrogênio $\times 6,25$ de acordo com *Official Methods of Analysis*, 18ª ed., (AOAC)¹⁹ seguindo a Equação 1.

Lipídios

Para a determinação dos lipídios foi realizado o método adaptado de Bligh e Dyer.²⁰ Inicialmente foi pesado cerca de 1 g da amostra liofilizada e em seguida foram adicionados 6 mL de uma

mistura de clorofórmio:metanol (2:1). Os frascos fechados foram homogeneizados por 1 h. Após centrifugados por 20 min a 3.000 rpm, sendo a parte intermediária que contém os lipídeos, recuperada com auxílio de uma pipeta. A fração lipídica foi seca com nitrogênio e o teor lipídico determinado por gravimetria.

$$\text{Proteína (\%)} = \frac{100 \times 0,014 \times 6,25 \times (V_a - V_b) \times f \times N}{P} \quad (1)$$

onde: V_a corresponde ao volume da solução de ácido sulfúrico para titulação do material em mL; V_b é o volume da solução de ácido sulfúrico para titulação do branco em mL; N é a normalidade da solução de ácido sulfúrico; f é o fator de correção da solução de ácido sulfúrico, e P é o peso do material em g.

Determinação de carboidratos

O conteúdo total de carboidratos foi determinado por diferença conforme Equação 2:

$$\text{Total de carboidratos (\%)} = 100 - [\% \text{umidade} + \% \text{cinzas} + \% \text{gordura} + \% \text{proteínas} + \% \text{fibras}] \quad (2)$$

Cinzas

Para as cinzas, a amostra de alga foi incinerada em forno a 550 °C por 6 h e pesadas (AOAC).¹⁹

Fibra bruta

A análise da fibra bruta foi realizada submetendo a biomassa da macroalga liofilizada à digestão ácida, com solução de ácido sulfúrico a 1,25% por 30 min, seguida de digestão alcalina com hidróxido de sódio a 1,25% por mais 30 min, com posterior filtração a vácuo, e lavagem do cadinho com acetona e álcool etílico. O cadinho foi seco em estufa por 1 h e depois mantido em mufla por 3 h.²⁰ O teor de fibra bruta foi calculado por gravimetria.

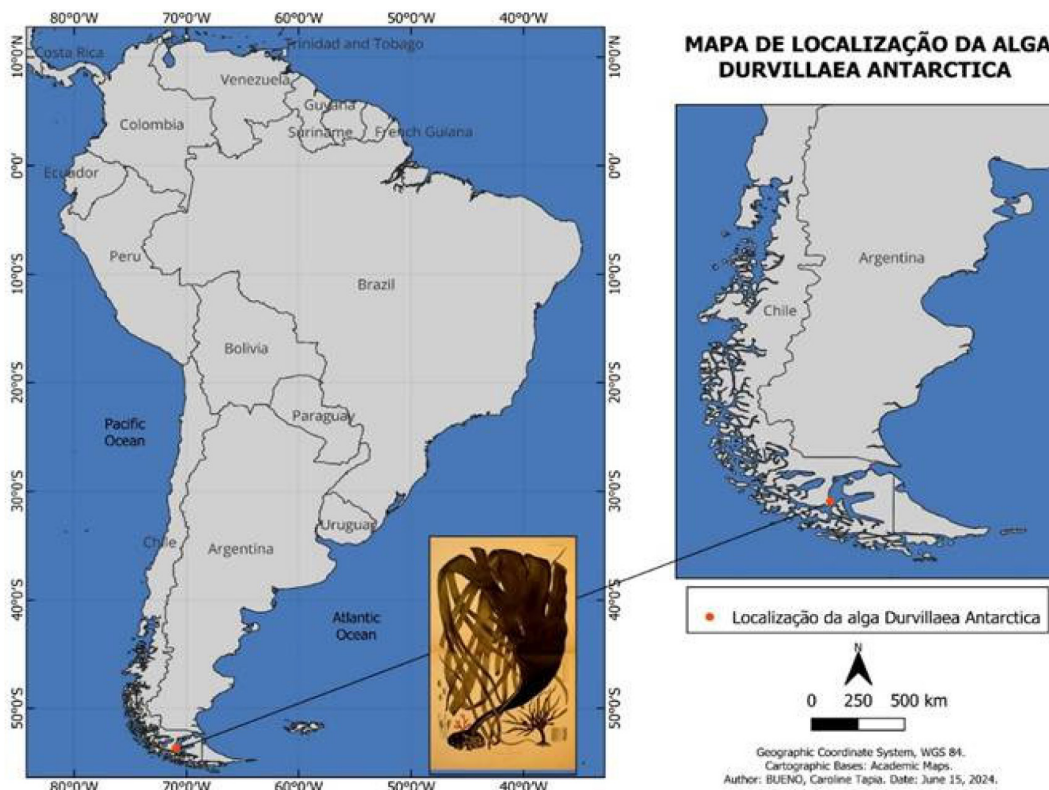


Figura 1. Localização da coleta da alga *Durvillaea antarctica*

Espectrometria de absorção e emissão atômica

Para a determinação dos elementos cromo (Cr), cobre (Cu), ferro (Fe), níquel (Ni) e zinco (Zn) foi utilizado um espectrômetro de absorção atômica em chama (FAAS), enquanto que para potássio (K) e sódio (Na) um espectrômetro de emissão atômica em chama (FAES) modelo AAnalyst 200 (PerkinElmer, Singapura), equipado com uma lâmpada de cátodo oco para cada analito a ser determinado (Lumina, PerkinElmer) e uma lâmpada de arco de deutério como corretor de fundo, exceto para o Na e K que tiveram as suas determinações realizadas no modo de emissão atômica. Além disto, foi utilizado como gás combustível o acetileno (Linde, Barueri, SP, Brasil) e como gás oxidante o ar comprimido. A altura do atomizador utilizada foi de 0,5 cm e a vazão do gás acetileno foi de 2,5 L min⁻¹ para todos os analitos.

A decomposição ácida seguiu o método descrito por Antunes *et al.*,²¹ o qual consiste em pesar aproximadamente 250 mg de amostra, diretamente nos tubos de borossilicato. Posteriormente, foram adicionados 5,0 mL de ácido nítrico (HNO₃), acoplado o sistema de refluxo e colocado no bloco digestor a 150 °C por 2 h. Após este período, foi adicionado 1,0 mL de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) e a solução retornou ao bloco por mais 30 min a 150 °C. Ao final, as amostras foram retiradas do bloco, deixadas esfriar, transferidas para frascos de polipropileno e aferidas a 20 mL com água destilada.

Extração dos ácidos graxos

A extração dos ácidos graxos da biomassa algal foi realizada pelo método adaptado de Bligh e Dyer.²⁰ Inicialmente, em um balão de 100 mL foi adicionado 1 g da amostra, 10 mL de clorofórmio, 20 mL de metanol e 10 mL de uma solução de sulfato de sódio 1,5%. Em seguida, foi deixado sob agitação a temperatura ambiente por 30 min. Após, foi adicionado mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5% e deixado sob agitação por mais 1 min. Ao fim deste processo, a solução foi transferida para Falcons de 15 mL e deixado na centrífuga durante 10 min. Após a centrifugação, a parte inferior foi retirada, transferida para um balão de fundo redondo e levada ao evaporador rotativo para evaporação do clorofórmio. Após a secagem, o extrato foi rediluído com 2 mL de hexano e levado ao evaporador rotativo novamente. Por fim, o balão foi pesado e foi submetido a derivatização por BF₃.

Derivatização com BF₃

Após a extração, foi realizada a derivatização utilizando trifluoreto de boro (BF₃). O extrato foi inicialmente lavado com hexano, e 250 mg foram pesados em um balão de fundo redondo. Em seguida, foram adicionados 6 mL de uma solução metanólica de hidróxido de sódio a 2% m/v, agitando-se o balão. O sistema foi submetido a refluxo por 5 min. Após esse período, foram adicionados 5 mL do derivatizante BF₃/MeOH, mantendo-se o refluxo por mais 5 min. Posteriormente, a solução foi transferida para um funil de separação, onde foram adicionados 20 mL de hexano para promover a separação das fases. A fase aquosa inferior foi descartada, enquanto a fase orgânica superior foi filtrada com sulfato de sódio anidro e coletada em um balão. A solução foi então concentrada em rotaevaporador até a completa evaporação do solvente. Por fim, o resíduo foi lavado com 1 mL de hexano grau HPLC (cromatografia líquida de alta performance) e transferido para um vial para análise posterior em cromatografia gasosa.

Cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM)

Para obtenção da composição dos ácidos graxos 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 × 0,25 mm × 0,10 µm). O método utilizado foi adaptado de dos Santos *et al.*²² O volume de amostra injetado foi de 8 µL na proporção de 1:50 no modo *split*. As condições de temperaturas de interface e da fonte de íons foram de 280 e 200 °C, respectivamente. Para o injetor, foi estabelecida a temperatura de 200 °C utilizando o gás de arraste hélio com vazão de 3 mL min⁻¹. Enquanto para a coluna, a temperatura inicial foi de 100 °C permanecendo por 5 min nesta condição. Posteriormente, a temperatura foi aumentada a uma taxa constante de aquecimento de 5 °C min⁻¹ até 250 °C, totalizando o tempo de análise em 55 min.

Design da extração de alginato

O planejamento fatorial escolhido foi um planejamento de experimento de superfície de resposta executado utilizando-se do Minitab® Statistical Software 22 (Minitab, LLC., State College, PA, 2024), gerando um experimento bloqueado, rotacional, aleatorizado, com três variáveis: temperatura, tempo e concentração de base; e em dois níveis diferentes e seis replicações do ponto central (Tabela 1S, Material Suplementar). Para fins de validação, os testes foram submetidos ao teste de normalidade Ryan-Joiner e de homocedacidade, para então realização do teste de análise de variância (ANOVA).

Extração de alginato

A extração se deu utilizando uma metodologia adaptada de Lorbeer *et al.*,²³ onde se utilizou 20 mL de álcool 96% para cada grama de alga, mantendo a proporção de 1:20 (m/v), para o processo de pré-tratamento, sendo colocado em temperatura ambiente sob agitação por 3 h, para então a solução ser filtrada e o sólido recaptado, este processo foi repetido mais uma vez. Por fim, para eliminação do etanol o sólido é deixado secando a 40 °C durante a noite em estufa. Então o resíduo sólido sem o etanol foi submetido a uma acidificação, utilizando-se 20 mL de ácido clorídrico 0,1 M por grama inicial da alga, mantendo a proporção de 1:20 (m/v), por 3 h a 45 °C, sob agitação. Após, a reação foi interrompida, sendo colocada em banho de gelo e neutralizada gota a gota com hidróxido de sódio (NaOH) 2 M, filtrado para retirar o excesso de líquido e o sólido foi congelado a -20 °C até ser submetido à reação.

Por fim, o último resíduo sólido foi submetido a um processo de basificação utilizando-se de 20 mL de carbonato de sódio (Na₂CO₃) por grama inicial de alga, mantendo a proporção de 1:20 (m/v), demais condições como temperatura, tempo e concentração de base foram utilizadas conforme descrito no planejamento composto central, demonstrado na Tabela 1. Após esse processo e as condições pré-estabelecidas, a solução resultante foi centrifugada a 4000 rpm e a fase líquida foi captada e o mesmo volume de etanol 96% foi adicionado para precipitar o alginato, deixando a solução em processo de precipitação por 24 h, de 2-8 °C. Por fim o alginato foi captado por filtração a vácuo e ressuscitado em solução de etanol 50% para ser purificado. Após esse processo de lavagem, o alginato foi filtrado, sendo esse processo repetido mais uma vez, e o mesmo foi seco a 50 °C até atingir o peso constante.

Extração de fucoidana

Inicialmente, 50 g da macroalga *Durvillaea antarctica* foram lavadas com 500 mL de álcool etílico absoluto sob agitação mecânica à temperatura ambiente por 24 h, visando a remoção de pigmentos, proteínas,²⁴ manitol e alguns sais.²⁵ A alga resultante foi separada por centrifugação e, em seguida, seca em estufa a 40 °C por 2 h e a 50 °C por mais 1 h. Para a extração de fucoidana, seguiu-se o protocolo

Tabela 1. Design do processo de extração de superfície de resposta

Ordem	Valor codificado			Valor real			Resposta
	A (Base)	B (Temperatura)	C (Tempo)	Base / %	Temperatura / °C	Tempo / h	Rendimento / %
01	-1	-1	-1	1,3	30,0	2,00	29,10 ± 0,77
02	1	-1	-1	3,7	30,0	2,00	32,64 ± 0,70
03	-1	1	-1	1,3	60,0	2,00	31,44 ± 0,67
04	1	1	-1	3,7	60,0	2,00	36,51 ± 0,80
05	-1	-1	1	1,3	30,0	3,00	30,43 ± 0,92
06	1	-1	1	3,7	30,0	3,00	35,14 ± 1,04
07	-1	1	1	1,3	60,0	3,00	32,59 ± 0,72
08	1	1	1	3,7	60,0	3,00	39,35 ± 1,26
09	-1,68	0	0	0,5	45,0	2,50	27,27 ± 1,28
10	+1,68	0	0	4,5	45,0	2,50	35,48 ± 0,85
11	0	-1,68	0	2,5	19,8	2,50	30,61 ± 0,70
12	0	+1,68	0	2,5	70,2	2,50	36,40 ± 0,61
13	0	0	-1,68	2,5	45,0	1,65	34,82 ± 0,74
14	0	0	+1,68	2,5	45,0	3,34	38,38 ± 1,15
15	0	0	0	2,5	45,0	2,50	40,24 ± 1,05
16	0	0	0	2,5	45,0	2,50	40,27 ± 1,77
17	0	0	0	2,5	45,0	2,50	40,24 ± 1,64
18	0	0	0	2,5	45,0	2,50	39,94 ± 1,03
19	0	0	0	2,5	45,0	2,50	40,83 ± 1,00
20	0	0	0	2,5	45,0	2,50	39,67 ± 1,01

Os valores foram expressos em média ± desvio padrão (n = 3).

descrito por Yang *et al.*²⁶ Foram pesadas 25 g da alga previamente limpa e seca, e 250 mL de solução de cloreto de cálcio 0,1 mol L⁻¹ foram adicionados à amostra. A mistura foi mantida sob agitação constante a 65 °C por 2 h. Após esse período, o sobrenadante foi removido e o processo de extração repetido. Em seguida, a solução foi centrifugada e o sobrenadante rotavaporado até atingir 1/10 do volume inicial. Posteriormente, a solução foi centrifugada novamente, e o sobrenadante obtido foi precipitado pela adição de etanol em um volume quatro vezes superior. O precipitado foi então seco em estufa a 40 °C em placas de Petri.

Caracterização das extrações

Diluiu-se a fucoidana extraída em DMSO-*d*₆ (dimetilsulfóxido hexadeuterado) e o alginato em D₂O para realização da análise de ressonância magnética nuclear (RMN). Para isso, foi utilizado um espectrômetro Bruker Avance III HD a 400 MHz, para o alginato ainda foi utilizado pressurização em 4.698 ppm. O espectro foi obtido com 150.000 varreduras para análise de ¹³C, para a fucoidana e para o alginato foi utilizado um espectro de 64 varreduras para análise de ¹H. Assim como no trabalho realizado por Zank *et al.*²⁷ para comparar as estruturas da carragenana comercial e extraída, para identificar os grupos funcionais da fucoidana e do alginato, foi realizada espectroscopia de infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Para esta análise, foi utilizado um espectrômetro de infravermelho Shimadzu, modelo SPIRIT, combinado com refletância total atenuada (ATR). As varreduras foram realizadas na faixa espectral de 400 a 4000 cm⁻¹ com uma resolução de 4 cm⁻¹ e 45 scans. Para a análise da proporção M/G do alginato utilizou-se a metodologia aplicada em Belattmanian *et al.*,²⁸ onde se aplica a integração dos picos do espectro de NMR ¹H entre as zonas de 4,2 a 5,4 ppm de modo a poder expressar as quantidades dos monômeros que compõem o alginato. Dessa forma é possível calcular suas frações de M (FM) e de G (FG)

e assim chegar à proporção M/G.

Foram utilizadas as seguintes equações:

$$FG = AI / (AII + AIII) \quad (3)$$

$$FGG = AIII / (AII + AIII) \quad (4)$$

$$FGM = FMG = FG - FGG \quad (5)$$

$$FMM = FM - FMG \quad (6)$$

$$M/G = (1 - FG) / FG \quad (7)$$

$$\eta = FGM / (FM \times FG) \quad (8)$$

onde AI: área do pico referente ao próton anomérico dos resíduos de ácido gulurônico (G); AII: área do pico referente aos prótons anoméricos sobrepostos dos resíduos de ácido manurônico (M) e gulurônico (G); AIII: área do pico referente aos prótons anoméricos dos blocos GG (resíduos de ácido gulurônico adjacentes); FG: fração de resíduos de ácido gulurônico (G); FM: fração de resíduos de ácido manurônico (M), sendo FM = 1 – FG; FGG: fração de díades GG (blocos de gulurônico); FGM: fração de díades GM; FMG: fração de díades MG (igual a FGM); FMM: fração de díades MM (blocos de manurônico); η: parâmetro de homogeneidade (ou distribuição de blocos), relacionado ao grau de alternância entre resíduos M e G.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Caracterização da macroalga

A Tabela 2 apresenta a composição nutricional da alga marinha em estudo. A umidade foi determinada após os processos de lavagem, trituração e secagem em estufa. O teor de umidade encontrado, de 14,22%, é superior ao reportado por Caballero *et al.*²⁹ para *Durvillaea antarctica*, que foi de 8,15%. O teor de lipídeos, determinado após a extração, foi de 0,74% em peso seco, conforme

Tabela 2. Composição físico-química da macroalga *Durvillaea antarctica*

Nutriente	Percentual / %
Umidade	14,22 ± 0,17
Lipídeos	0,74 ± 0,11
Proteína	6,80 ± 1,35
Carboidratos	57,00 ± 0,20
Cinzas	20,09 ± 0,10
Fibras	1,16 ± 0,15

Os valores foram expressos em média ± desvio padrão (n = 3).

apresentado na Tabela 2. Esse valor está em concordância com outros estudos reportados na literatura.^{29,30} O teor de proteína determinado no presente estudo foi de 6,8% em peso seco, um valor inferior ao reportado anteriormente na literatura,^{29,30} que encontraram valores entre 10,4 e 11,6% em peso seco para a fração proteica de *Durvillaea antarctica*. No entanto, é sabido que o teor de proteína em algas marrons geralmente varia entre 5 e 15%. Além disso, fatores como o grau de maturidade, a localização e a época de coleta influenciam diretamente esses valores.³¹

Os carboidratos foram os nutrientes mais abundantes em *Durvillaea antarctica*, representando 57% do peso seco (Tabela 2). Segundo Caballero *et al.*,²⁹ o teor de polissacarídeos em macroalgas pode variar de 4 a 76% em peso seco, dependendo da estação do ano e da espécie. Polissacarídeos como ágar, alginato e carragenana, extraídos de macroalgas, correspondem a mais de 50% do mercado global de hidrocolóides.²⁹ Entre os carboidratos, as fucoidanas destacam-se como polissacarídeos sulfatados presentes na parede celular de algas marrons, compostas por L-fucose e grupos sulfato.³¹ A busca por biomassas ricas em hidrocolóides como a fucoidana deve-se às suas propriedades tecnológicas, como a formação de hidrogéis, que podem ser utilizadas como agentes espessantes, gelificantes ou formadores de filme em revestimentos farmacêuticos e embalagens.²⁹ O teor de cinzas encontrado foi de 20,09% em base seca, valor semelhante ao reportado em outros estudos.^{29,30} Por outro lado, o teor de fibra bruta foi inferior aos valores previamente reportados,³² que variam de 3,11 a 4,22%. Sabe-se que a composição nutricional das algas varia significativamente conforme a época de colheita. Por exemplo, macroalgas coletadas na primavera apresentam maior teor de proteínas e cinzas, enquanto as coletadas no verão apresentam níveis mais altos de lipídeos e fibras. No inverno, observa-se maior proporção de carboidratos.³³

Os resultados dos elementos encontrados na alga podem ser observados na Tabela 3. Em ordem decrescente as concentrações obtidas na alga *Durvillaea antarctica* foram Na > K > Fe > Zn > Ni > Cr. O Cu apresentou concentração abaixo do limite de detecção do método (< 2,8 mg kg⁻¹). O Cr é um elemento necessário para organismos em pequenas quantidades. Sua alta concentração em água e no solo pode provocar inúmeros efeitos tóxicos fisiológicos,

Tabela 3. Concentrações dos elementos presentes na alga *Durvillaea antarctica*

Metal	<i>Durvillaea antarctica</i> / (mg kg ⁻¹)
Cr	4,18 ± 0,27
Cu	< LD
Fe	20,5 ± 1,1
K	23,836 ± 1,408
Na	42,664 ± 2,568
Ni	6,11 ± 0,31
Zn	9,81 ± 0,85

< LD é equivalente à abaixo do limite de detecção. Média ± desvio padrão (n = 3).

morfológicos e bioquímicos nas plantas e representar sérios riscos à saúde humana por meio das cadeias alimentares.³⁴ Enquanto o Cr^{III} é a espécie mais estável e menos tóxica, o Cr^{VI} altamente solúvel em água é considerado altamente tóxico e mutagênico, atravessando prontamente a membrana das células eucarióticas e procarióticas e gerando radicais livres com estresse oxidativo.³⁵

O Ni apresentou baixa concentração e em pequenas quantidades é essencial para algumas enzimas, mas em concentrações maiores pode ser tóxico, afetando a saúde humana, causando distúrbios renais e pulmonares, dermatites e danos gastrointestinais.³⁶ O Zn e o Fe apresentaram-se em pequenas concentrações na alga. São micronutrientes essenciais em muitos organismos vivos, incluindo algas, uma vez que participam da atividade enzimática e de outras funções biológicas como regulação do crescimento, fotossíntese e reprodução.³⁷ As algas marrons são as mais eficientes na bioadsorção de metais, uma vez que suas paredes celulares são ricas em alginatos, os quais têm alta afinidade por cátions divalentes e os polissacarídeos sulfatados explicam a absorção de cátions trivalente.³⁸

Já Na e K foram os elementos que apresentaram as maiores concentrações nessa alga. Estudos mostram que essas algas podem conter concentrações muito altas de K em suas células, frequentemente superiores a 20.000 mg kg⁻¹ de peso seco. Isso reflete a necessidade desse elemento para a manutenção da atividade fisiológica em ambientes marinhos. Em comparação com algas verdes e vermelhas, as algas marrons costumam ter uma maior capacidade de acumular K, o que está relacionado ao seu ambiente natural, uma vez que a regulação osmótica é crítica para a sobrevivência.^{39,40} O Na é outro elemento importante nas algas, pois participa do transporte ativo de nutrientes e outros íons através das membranas celulares. Muitas proteínas de membrana, como bombas de Na, ajudam a manter os gradientes eletroquímicos que são necessários para o transporte de outros nutrientes, como nitrato e fosfato, para dentro das células. Em sinergia com o K, o Na ajuda a manter o equilíbrio iônico interno das células, essencial para a sobrevivência das algas em ambientes de alta salinidade.³⁷

O cromatograma dos ácidos graxos pode ser observado na Figura 2, com os componentes descritos na Tabela 4. A análise por CG-EM revelou uma predominância de ácidos graxos poli-insaturados na composição da *Durvillaea antarctica*. As condições ambientais extremas da região subantártica, como baixa temperatura da água, disponibilidade limitada de nutrientes, alta exposição à radiação ultravioleta, variações no fotoperíodo e elevada salinidade, promovem o desenvolvimento de estratégias de adaptação, alterando a composição bioquímica da alga.⁴¹ A ativação de metabólitos secundários nessas macroalgas resulta em um aumento na produção de lipídios, esteróis, polissacarídeos, aminoácidos, flavonoides e terpenoides.⁴¹

Os ácidos graxos saturados identificados foram mirístico, palmítico e esteárico, corroborando estudos anteriores realizados com algas coletadas na região do Chile.^{18,42} Entre os ácidos graxos poli-insaturados encontrados estão os ácidos docosapentaenoico, linoleico, araquidônico e eicosapentaenoico, em concordância com relatos prévios.²² A alta concentração de ácidos graxos poli-insaturados contribui para a estabilidade das membranas celulares em baixas temperaturas.^{41,43} Além disso, fatores como a exposição à radiação solar e o estresse hiperosmótico podem influenciar a variação na concentração desses ácidos graxos.⁴⁴

A classe de ácidos graxos poli-insaturados (PUFA) de grande interesse para a saúde humana é a de ômega-3 e 6 essenciais, que não são sintetizados pelos organismos humanos.⁴⁵ Além disso, estudos sobre essa classe de PUFA mostram que eles podem estar relacionados com a redução do risco de doenças cardíacas⁴⁶ e câncer.⁴⁷ Por fim, o ácido graxo monoinsaturado encontrado foi o ácido palmitoleico e ácido graxo *trans* encontrado foi o elaidico, isômero do ácido graxo oleico.

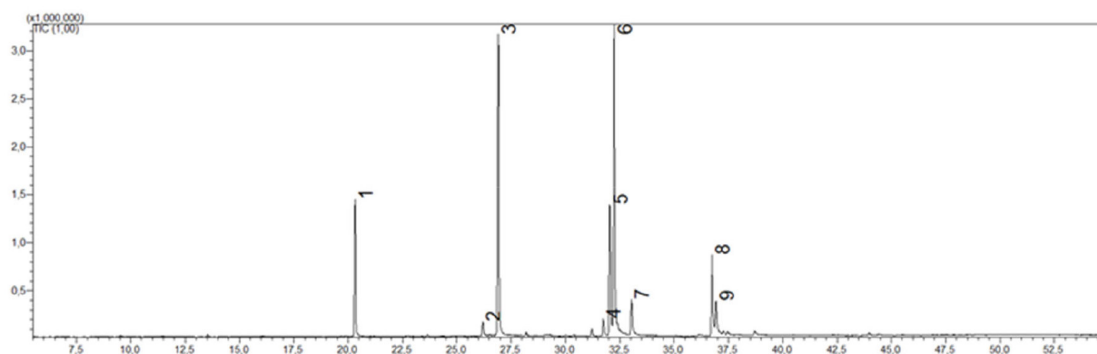


Figura 2. Cromatograma dos ácidos graxos da alga *Durvillaea antarctica*

Tabela 4. Ácidos graxos encontrados na alga *Durvillaea antarctica*

Pico	Composto	Tempo de retenção / min	Classificação
1	ácido mirístico	20,319	saturado
2	ácido palmitoleico	26,197	monoinsaturado
3	ácido palmítico	26,915	saturado
4	ácido docosapentaenoico (omega-3)	31,743	poli-insaturado
5	ácido linoleico (omega-6)	32,045	poli-insaturado
6	ácido elaidico	32,245	monoinsaturado
7	ácido esteárico	33,043	saturado
8	ácido araquidônico (omega-6)	36,749	poli-insaturado
9	ácido eicosapentaenoico (omega-3)	36,935	poli-insaturado

Todos os ácidos graxos encontrados na *Durvillaea antarctica* são de extrema relevância. Dentre suas principais propriedades é possível citar que o ácido mirístico, o qual é utilizado na síntese de compostos lipídicos e é importante na modificação de proteínas para ancorá-las na membrana celular.⁴⁸ O ácido palmitoleico tem sido reconhecido por seu papel potencial na regulação de doenças metabólicas, como diabetes e doenças cardiovasculares. Além disso, ele atua como uma lipocina, regulando processos metabólicos como a sensibilidade à insulina.⁴⁹

O ácido palmítico é o ácido graxo saturado mais comum no corpo humano e está envolvido em funções fisiológicas cruciais, incluindo a manutenção das propriedades físicas das membranas celulares.⁵⁰ O ácido linoleico desempenha um papel essencial na saúde cardiovascular. Estudos mostram que dietas ricas em ácidos graxos poli-insaturados, como o linoleico, podem reduzir o conteúdo de ácidos graxos saturados no soro, contribuindo para uma melhor saúde metabólica.⁵¹ O ácido docosapentaenoico é um ácido graxo ômega-3 que tem sido estudado por suas propriedades anti-inflamatórias e sua contribuição para a saúde cardiovascular.⁵²

O ácido elaidico é um ácido graxo *trans*, cuja presença no soro tende a diminuir com a perda de peso significativa, como observado após cirurgias bariátricas.⁵³ O ácido esteárico é um ácido graxo saturado que, diferentemente de outros ácidos graxos saturados, pode ter menos impacto negativo na saúde cardiovascular. Estudos sugerem que ele pode ser convertido em ácido oleico no organismo, o que pode mitigar potenciais efeitos adversos.⁵⁴ O ácido araquidônico é um precursor importante de eicosanoides, que são mediadores inflamatórios no corpo. Ele desempenha um papel essencial na resposta inflamatória e em várias funções fisiológicas, mas seu excesso pode estar associado a processos inflamatórios exacerbados.⁵⁵ O ácido eicosapentaenoico (EPA) é um

ácido graxo ômega-3 amplamente estudado por suas propriedades anti-inflamatórias e seu papel na prevenção de doenças cardiovasculares. O EPA é essencial na produção de resolvinas, compostos que possuem atividade anti-inflamatória.⁵²

Caracterização de fucoidana

Na Figura 3 é possível observar o espectro de infravermelho da fucoidana extraída comparado com a fucoidana comercial. O mesmo apresentou bandas na região de 3500 a 2900 cm^{-1} , sendo a primeira indicativa de uma ligação O–H e a segunda de uma ligação C–H. Outra banda foi observada em torno de 1600 cm^{-1} , relacionada a grupos carbonila presentes no ácido urônico. A banda entre 1220–1230 cm^{-1} é atribuída à ligação S=O, sugerindo a presença de sulfato. A região de 1000–1100 cm^{-1} representa a ligação C–O dos polissacarídeos,⁶ enquanto uma banda em torno de 840 cm^{-1} indica a flexão C–O–S.¹⁴ As mesmas bandas foram observadas tanto na fucoidana extraída quanto na fucoidana comercial, indicando assim a extração bem sucedida da mesma.

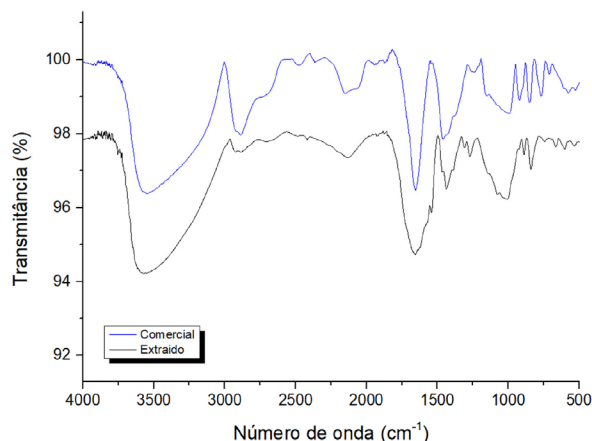


Figura 3. Espectro de infra-vermelho com transformada de Fourier das fucoidanas

A espectroscopia de RMN de ^{13}C foi realizada para elucidar a estrutura química do extrato e da fucoidana comercial, conforme Figura 4. O espectro de ^{13}C da fucoidana comercial apresenta sinais correspondentes a ligações glicosídicas em 60 a 85 ppm na posição C-2 a C-5. Em 82–80 ppm e corresponde a um carbono ligado a hidroxilas ou sulfatos.⁵⁶ O deslocamento químico em 96–105 ppm é característico de C-1 de diferentes carboidratos. O aparecimento de picos em 70–80 ppm indica próton ligado ao carbono contendo um grupo sulfato.⁵⁷ Sinais similares foram observados no extrato. Assim como outras fucoidanas de algas marrons relatadas na literatura, a mesma apresentou um espectro de RMN de ^{13}C complexo. Além

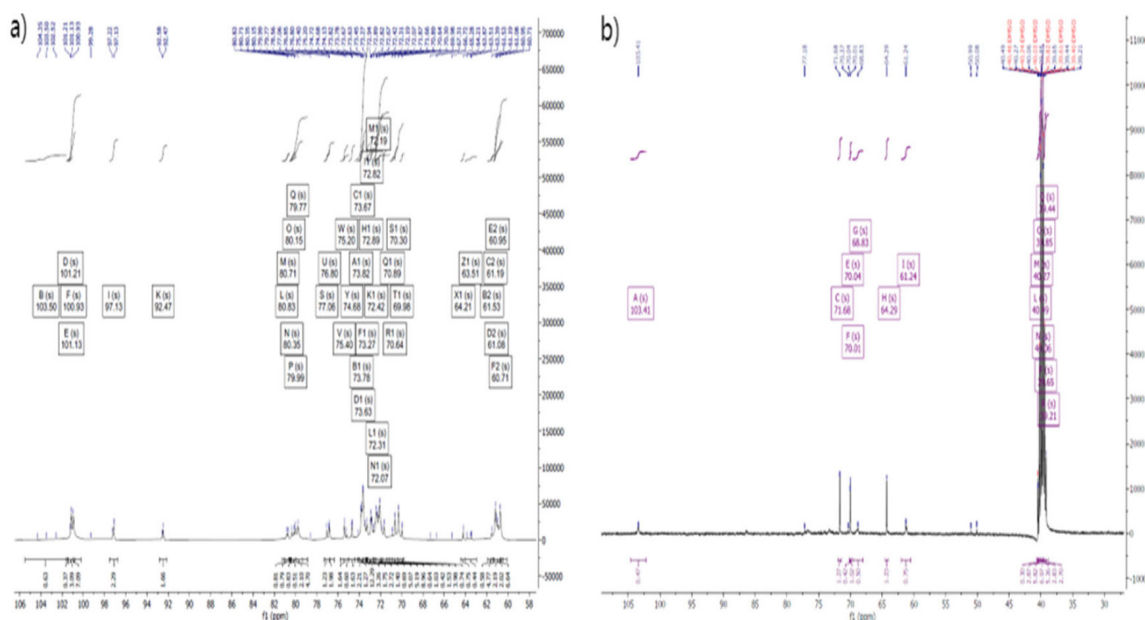


Figura 4. Espectro de RMN ¹³C da fucoidana comercial (a) e do extrato (b)

disso, a mesma continha vários sinais intensos nas regiões anômicas (100-105 ppm), que são típicos dos a-fucopiranosídeos.⁵⁸ Resultados semelhantes foram relatados por Leitzke *et al.*⁵⁹

Extração de alginato

O modelo de regressão obtido para o rendimento da metodologia de extração de alginato apresentou um coeficiente de determinação (R^2) de 0,96, indicando que 96% da variabilidade dos dados é explicada pelo modelo. O modelo segue distribuição normal, sem evidência de homocedasticidade. A análise de variância (ANOVA), demonstrado na Tabela 5, revelou que o modelo foi estatisticamente significativo ($p < 0,000$), com um valor- p para *lack-of-fit* não significativo ($p > 0,994$), validando a adequação do modelo aos dados experimentais (Montgomery)⁶⁰ e a equação de regressão final para o rendimento de alginato (%) (Equação 9) em termos de fatores não codificados foi:

$$\text{Rendimento} = 40,200 + 2,481A + 1,634B + 1,011C - 3,128A^2 - 2,375B^2 - 1,280C^2 + 0,448AB + 0,358AC + 0,018BC \quad (9)$$

onde A (concentração de base), B (temperatura) e C (tempo) são as variáveis independentes.

Todas as variáveis de primeira ordem e segunda ordem apresentaram valor de significância ($p < 0,000$), enquanto a interação entre os fatores teve resultados distintos, concentração de base e temperatura ($p = 0,025$) foi significativa e concentração de base e tempo ($p = 0,071$) com significância marginal também foi relevante para o rendimento, entretanto tempo e temperatura foram insignificantes.

A interação dos efeitos quadráticos no rendimento aponta a uma curvatura acentuada na função e alto efeito sobre o gráfico (F -valor). Já a equação de regressão, demonstrando um ponto de máximo, dessa forma, o gráfico forma uma concavidade para baixo. Dos fatores lineares a concentração de base e a temperatura são os que desempenharam papel significativo no aumento do rendimento no processo, ademais a base foi fator quadrático de maior influência no processo, esses dados corroboram com os achados de Mohammed *et al.*,⁶¹ sendo visível nos gráficos de contorno e de superfície de resposta (Figuras 5 e 1S, Material Suplementar).

Tabela 5. Análise das variâncias do modelo de superfície

Fonte	SQ	QM	GL	F-valor	p-valor
Modelo	1047,3	116,366	9	128,22	< 0,000
Linear	403,45	134,482	3	148,18	< 0,000
A	252,25	252,245	1	277,95	< 0,000
B	109,36	109,357	1	120,5	< 0,000
C	41,84	41,843	1	46,11	< 0,000
Quadrado	635,94	211,979	3	233,58	< 0,000
A ²	344,53	422,913	1	466	< 0,000
B ²	220,54	243,773	1	268,61	< 0,000
C ²	70,87	70,867	1	78,09	< 0,000
Interação	7,91	2,638	3	2,91	0,044
AB	4,82	4,824	1	5,32	0,025
AC	3,08	3,082	1	3,4	0,071
BC	0,01	0,008	1	0,01	0,925
Resíduos	45,38	0,908			
Erro puro	0,44	0,088	45	0,09	
Falta de ajuste	44,94	0,999	5	128,22	0,994
SQTotal	1092,67	116,366	59		
Precisão adequada	44,14				
R ²	95,85				
R ² _{pre}	94,29				
R ² _{adj}	95,10				

SQ: soma dos quadrados; QM: quadrado médio; GL: graus de liberdade; A: concentração de base; B: temperatura; C: tempo; R²: coeficiente de determinação.

As melhores condições de extração (Figura 2S, Material Suplementar) foram identificadas como tempo de 2,73 h, temperatura de 51 °C e concentração de Na₂CO₃ 3,1%, resultando em um rendimento previsto de 41,3%. A validação experimental sob essas condições confirmou um rendimento médio de 40,9 ± 0,5%, concordando com o valor previsto e comprovando a eficácia do modelo de superfície de resposta na otimização do processo. O rendimento encontra-se dentro de valores reconhecidos na literatura, de 37-51%.²⁸ Condições como

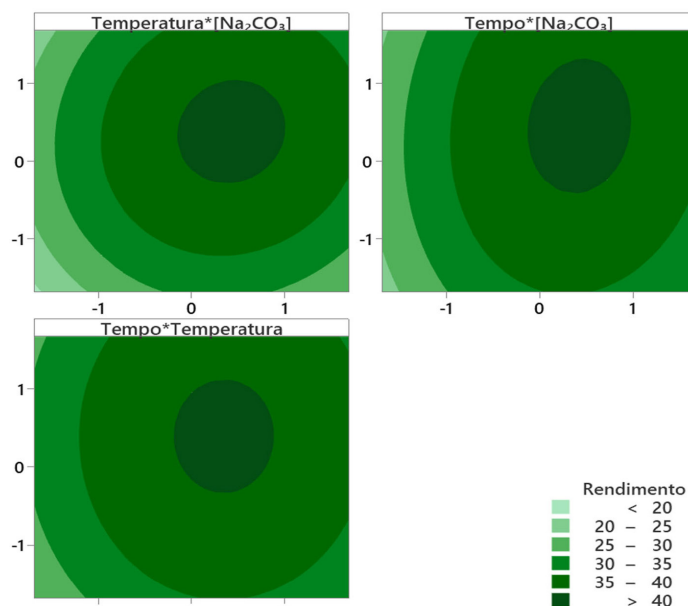


Figura 5. Gráfico de contorno da intersecção das variáveis independentes codificado

etapa de desenvolvimento, mês de coleta, e moagem da alga também podem afetar o rendimento da extração.

O impacto das variáveis operacionais na extração de alginato é amplamente discutido na literatura, onde um rendimento satisfatório, alcançado em temperaturas moderadas próximas a 51 °C, demonstra potencial para preservar a razão M/G, o peso molecular e a viscosidade do polímero, enquanto uma concentração de base inferior a 5% previne a hidrólise alcalina degradativa, e um tempo de extração em torno de três horas minimiza os efeitos sinérgicos de degradação por temperatura e pH, conforme evidenciado por Saji *et al.*⁶² e Bojorges *et al.*¹⁷ Nesse contexto, o ponto identificado otimiza rendimento e qualidade, embora testes complementares, como viscosidade intrínseca e análise de peso molecular, sejam necessários para validar a integridade estrutural e funcional do alginato obtido.

Caracterização do alginato

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (Figura 6) demonstrou a presença de bandas características dos grupamentos de polissacarídeos típicos do alginato. O espectro característico exibiu uma banda larga em 3280 cm⁻¹, atribuída aos modos de estiramento vibracional de grupos hidroxila (O–H). A banda proeminente em 1598 cm⁻¹ foi associada ao estiramento

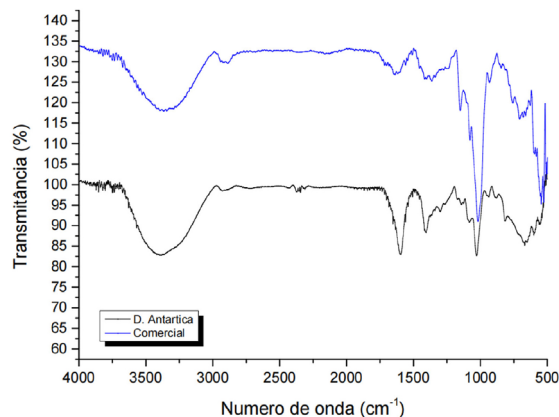


Figura 6. Espectro de infravermelho com transformada de Fourier do extrato e do alginato de sódio comercial

assimétrico dos grupos carboxilato (COO⁻), uma marca registrada dos resíduos de ácido gulurônico e manurônico que constituem a estrutura do alginato. A presença de uma absorção em 1255 cm⁻¹ está relacionada a vibrações de éster sulfato (S=O) residuais, um indicativo de que o biopolímero é extraído, reteve traços de polissacarídeos sulfatados nativos da matriz algal, conforme observado no estudo de referência.⁶³ O intenso pico em 1027 cm⁻¹ é característico de estiramentos de ligações C–O–C de anéis de piranose, enquanto a banda em 818 cm⁻¹ é sugestiva de deformações angulares típicas de resíduos de manuronato. A assinatura espectral obtida demonstra notável similaridade com o perfil reportado por Queiroz *et al.*,⁶⁴ que identifica alginato com pureza semelhante à metodologia empregada.

Na análise de RMN ¹H (Figura 7), os picos apresentam grande similaridade aos identificados como monômeros que compõem o alginato, responsável assim por alterar todas as características do polímero. Sendo assim foram associados os pontos: 5.132 ppm a todos os G (0,15), 4.805 ppm M e água (0,11), 4.766 ppm os blocos GG (0,05), 4.715 ppm é um sinal claro de contaminação por água (0,29), 4.582, 4.545, 4.513 e 4.487 ppm a diáde MM (0,32). Assim sendo, a composição do extrato demonstrou uma alta complexidade e um fator de mistura que torna as regiões de 4,40–4,750 e 4,78–4,90 meramente qualitativas. Assim sendo ficamos com uma maior proporção de FM com 85%, enriquecida em blocos de ácido manurônico (MM) com 75%, seguida pela proporção de blocos FG com 15%, e com 0,05% de blocos homopoliméricos e uma menor fração restante de FMG com 10%, logo, este alginato se caracteriza como um alginato com proporção M/G com 5,67 e com η = 0,78 apresenta grandes tendências a formação de blocos MM e baixa tendência de formação de blocos GG ao longo do polímero.⁶⁵

Com base nos dados de RMN apresentados, a estrutura em blocos do alginato extraído possui implicações significativas em suas propriedades funcionais. A elevada predominância de sequências homopoliméricas de ácido manurônico (FMM = 75%) confere ao polímero uma maior flexibilidade conformacional e capacidade de retenção hídrica, resultando em géis menos rígidos e mais elásticos quando comparados a alginatos ricos em G. Além disso, a presença expressiva de blocos heteropoliméricos (FMG/FMG = 19,59%) introduz sítios de transição que podem modular a cinética de formação do gel e sua interação com íons divalentes,

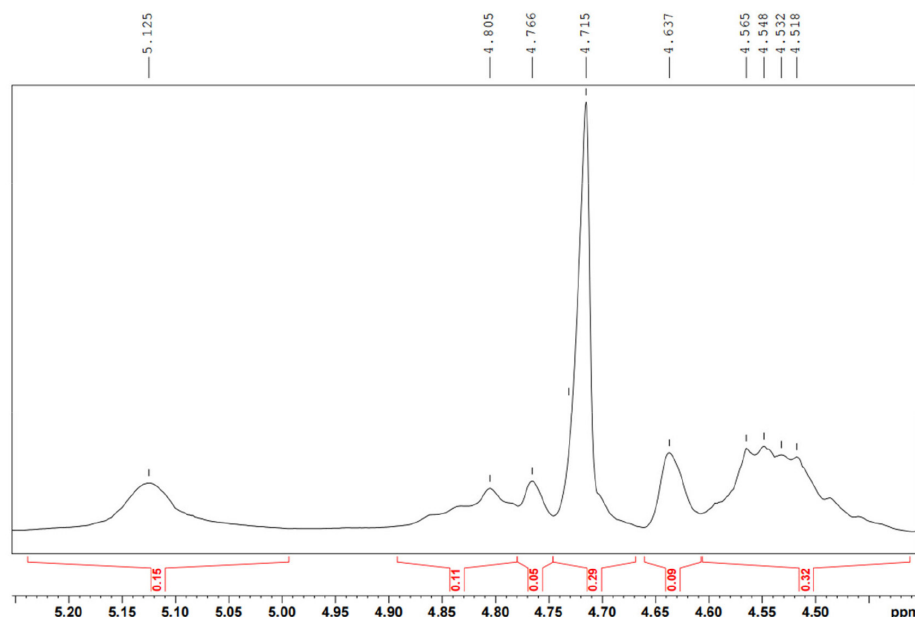


Figura 7. Espectro de RMN de ^1H de alginato de sódio extraído de *Durvillaea antarctica*

como o cálcio.⁶⁶ O parâmetro de aleatoriedade (η) corrobora a forte tendência de organização em blocos homopoliméricos (MM e GG), indicando uma distribuição não aleatória dos monômeros ao longo da cadeia polimérica. Este perfil sequencial é característico de alginatos derivados de macroalgas do gênero *Durvillaea*.⁶⁶ A razão M/G de 4,57 confirma a natureza predominantemente rica em manuronato, resultando em géis menos rígidos e mais flexíveis, com maior capacidade de retenção de água e viscosidade elevada, direcionando suas aplicações para sistemas onde a estabilidade coloidal é mais crítica do que a força gelificante.⁶⁷ Consequentemente, este alginato é promissor para aplicações em espessamento, estabilização, formação de filmes flexíveis e biomedicina, onde sua menor susceptibilidade à hidrólise ácido catalisada favorece uma degradação mais lenta *in vivo*.

CONCLUSÕES

A macroalga *Durvillaea antarctica* demonstra notável potencial biotecnológico e nutricional, constituindo uma fonte valiosa de minerais, ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) como os ácidos docosapentaenoico, linoleico, araquidônico e eicosapentaenoico e seus polissacarídeos estruturais funcionais: o alginato e fucoidana. Apresentou uma série de compostos bioativos que confere a esta espécie um perfil diferenciado para aplicações na indústria de alimentos saudáveis e suplementos nutricionais. A extração pela metodologia de fucoidana e caracterização com propriedades bioativas acrescentam valor farmacológico ao extrato, enquanto a otimização do processo de extração de alginato via planejamento fatorial permitiu obter um polímero com predominância de blocos M, característica que confere maior flexibilidade e capacidade de formação de géis menos rígidos, porém mais elásticos, adequados para aplicações biomédicas que requerem adaptabilidade mecânica. Estes resultados demonstram o potencial da *Durvillaea antarctica* como recurso sustentável e multifuncional, com possibilidades de aproveitamento integral em setores que demandam matérias-primas renováveis, biocompatíveis e de baixo impacto ambiental.

MATERIAL SUPLEMENTAR

A tabela de valores individuais de cada experimento aleatorizado e os

gráficos de superfície estão disponíveis em <https://quimicanova.s bq.org.br>, de acesso livre, no formato PDF.

DECLARAÇÃO DE DISPONIBILIDADE DE DADOS

Todos os dados que sustentam os resultados deste estudo estão integralmente disponíveis no próprio texto do manuscrito.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Centro Internacional do Cabo Horn para Estudos de Mudança Global e Conservação Biocultural (CHIC) do Chile pelo fornecimento da biomassa da alga *Durvillaea antarctica*. Os autores agradecem também à FAPERGS (22/2551-0000840-2) e à CAPES (Código Financeiro 001) pela assistência técnica e recursos.

CONTRIBUIÇÕES DO AUTOR

I. F. S. B. e A. F. L.: redação de rascunho original, investigação; L. M. B.: aquisição de financiamento, conceituação; D. T. B. e D. H. B.: validação, investigação; C. T. B.: análise formal, visualização; E. P.: aquisição de financiamento, redação-revisão e edição; A. M. e C. M. P. P.: conceituação, aquisição de financiamento; R. G. L.: conceituação, redação-revisão e edição.

REFERÊNCIAS

- da Rosa, M. D. H.; Alves, C. J.; dos Santos, F. N.; de Souza, A. O.; Zavareze, E. R.; Pinto, E.; Nosedá, M. D.; Ramos, D.; de Pereira, C. M. P.; *Energies* **2023**, *16*, 1820. [Crossref]
- Peñalver, R.; Lorenzo, J. M.; Ros, G.; Amarowicz, R.; Pateiro, M.; Nieto, G.; *Mar. Drugs* **2020**, *18*, 301. [Crossref]
- do Amaral, D. S.; Tholozan, L. V.; Bonemann, D. H.; Jansen-Alves, C.; Boschetti, W.; Novo, D. L. R.; Carreño, N. L. V.; de Pereira, C. M. P.; *Chemosensors* **2024**, *12*, 235. [Crossref]
- Lorenzo, J. M.; Agregán, R.; Munekata, P. E. S.; Franco, D.; Carballo, J.; Şahin, S.; Lacombe, R.; Barba, F. J.; *Mar. Drugs* **2017**, *15*, 360. [Crossref]
- Catarino, M. D.; Silva, A. M. S.; Cardoso, S. M.; *Mar. Drugs* **2018**, *16*, 249. [Crossref]

6. Mensah, E. O.; Kanwugu, O. N.; Panda, P. K.; Adadi, P.; *Food Hydrocolloids* **2023**, *142*, 108784. [Crossref]
7. Wu, L.; Sun, J.; Su, X.; Yu, Q.; Yu, Q.; Zhang, P.; *Carbohydr. Polym.* **2016**, *154*, 96. [Crossref]
8. Jin, W.; Zhang, Q.; Wang, J.; Zhang, W.; *Carbohydr. Polym.* **2013**, *91*, 1. [Crossref]
9. Pradhan, B.; Nayak, R.; Patra, S.; Bhuyan, P. P.; Behera, P. K.; Mandal, A. K.; Behera, C.; Ki, J.-S.; Adhikary, S. P.; Ali, D. M.; Jena, M.; *Carbohydr. Polym.* **2022**, *291*, 119551. [Crossref]
10. Poveda-Castillo, G. D. C.; Rodrigo, D.; Martínez, A.; Pina-Pérez, M. C.; *Beverages* **2018**, *4*, 64. [Crossref]
11. Zhao, Y.; Zheng, Y.; Wang, J.; Ma, S.; Yu, Y.; White, W. L.; Yang, S.; Yang, F.; Lu, J.; *Mar. Drugs* **2018**, *16*, 321. [Crossref]
12. Wen, Y.; Gao, L.; Zhou, H.; Ai, C.; Huang, X.; Wang, M.; Zhang, Y.; Zhao, C.; *Trends Food Sci. Technol.* **2021**, *111*, 628. [Crossref]
13. Xue, M.; Liang, H.; Zhou, Z.; Liu, Y.; He, X.; Zhang, Z.; Sun, T.; Yang, J.; Qin, Y.; Qin, K.; *Food Nutr. Res.* **2021**, *65*, 5384. [Crossref]
14. Chen, C.-Y.; Wang, S.-H.; Huang, C.-Y.; Dong, C.-D.; Huang, C.-Y.; Chang, C.-C.; Chang, J.-S.; *J. Biosci. Bioeng.* **2021**, *132*, 359. [Crossref]
15. Apostolova, E.; Lukova, P.; Baldzhieva, A.; Katsarov, P.; Nikolova, M.; Iliev, I.; Peychev, L.; Trica, B.; Oancea, F.; Delattre, C.; Kokova, V.; *Polymers* **2020**, *12*, 2338. [Crossref]
16. Yao, W.; Kong, Q.; You, L.; Zhong, S.; Hileuskaya, K.; *Food Front.* **2023**, *4*, 1547. [Crossref]
17. Bojorges, H.; López-Rubio, A.; Martínez-Abad, A.; Fabra, M. J.; *Trends Food Sci. Technol.* **2023**, *140*, 104142. [Crossref]
18. dos Santos, M. A. Z.; de Freitas, S. C.; Berneira, L. M.; Mansilla, A.; Astorga-España, M. S.; Colepicolo, P.; de Pereira, C. M. P.; *J. Appl. Phycol.* **2019**, *31*, 2629. [Crossref]
19. AOAC; *Official Methods of Analysis*, 20th ed.; AOAC International: Gaithersburg, MD, 2016.
20. Bligh, E. G.; Dyer, W. J.; *Can. J. Biochem. Physiol.* **1959**, *37*, 911. [Crossref]
21. Antunes, B. F.; Otero, D. M.; Bonemann, D. H.; Ribeiro, A. S.; Jacques, A. C.; Zambiasi, R. C.; *Rev. Ceres* **2021**, *68*, 511. [Crossref]
22. dos Santos, M. A. Z.; Berneira, L. M.; Goulart, N. L.; Mansilla, A.; Astorga-España, M. S.; de Pereira, C. M. P.; *Braz. J. Bot.* **2021**, *44*, 429. [Crossref]
23. Lorbeer, A. J.; Lahnstein, J.; Bulone, V.; Nguyen, T.; Zhang, W.; *Bioresour. Technol.* **2015**, *197*, 302. [Crossref]
24. Rioux, L.-E.; Turgeon, S. L.; Beaulieu, M.; *Carbohydr. Polym.* **2007**, *69*, 530. [Crossref]
25. Foley, S. A.; Szegezdi, E.; Mulloy, B.; Samali, A.; Tuohy, M. G.; *J. Nat. Prod.* **2011**, *74*, 1851. [Crossref]
26. Yang, Y.; Hu, T.; Li, J.; Xin, M.; Zhao, X.; *Carbohydr. Polym.* **2021**, *256*, 117529. [Crossref]
27. Zank, P. D.; Cerveira, M. M.; dos Santos, V. B.; Klein, V. P.; de Souza, T. T.; Bueno, D. T.; Poletti, T.; Leitzke, A. F.; Giongo, J. L.; Carreño, N. L. V.; Mansilla, A.; Astorga-España, M. S.; de Pereira, C. M. P.; Vaucher, R. A.; *Biosensors* **2023**, *13*, 378. [Crossref]
28. Belattmania, Z.; Kaidi, S.; El Atouani, S.; Katif, C.; Bentiss, F.; Jama, C.; Reani, A.; Sabour, B.; Vasconcelos, V.; *Molecules* **2020**, *25*, 4335. [Crossref]
29. Caballero, E.; Flores, A.; Olivares, A.; *Algal Res.* **2021**, *57*, 102349. [Crossref]
30. Ortiz, J.; Romero, N.; Robert, P.; Araya, J.; Lopez-Hernández, J.; Bozzo, C.; Navarrete, E.; Osorio, A.; Rios, A.; *Food Chem.* **2006**, *99*, 98. [Crossref]
31. Mateluna, C.; Figueroa, V.; Ortiz, J.; Aguilera, J. M.; *J. Appl. Phycol.* **2020**, *32*, 4211. [Crossref]
32. Uribe, E.; Pardo-Orellana, C. M.; Vega-Gálvez, A.; Ah-Hen, K. S.; Pastén, A.; García, V.; Aubourg, S. P.; *Drying Technol.* **2020**, *38*, 1915. [Crossref]
33. Mansilla, A.; Ávila, M.; *Rev. Bras. Farmacogn.* **2011**, *21*, 262. [Crossref]
34. Shahid, M.; Shamshad, S.; Rafiq, M.; Khalid, S.; Bibi, I.; Niazi, N. K.; Dumat, C.; Rashid, M. I.; *Chemosphere* **2017**, *178*, 513. [Crossref]
35. Zou, H.; Huang, J.-C.; Zhou, C.; He, S.; Zhou, W.; *Sci. Total Environ.* **2020**, *724*, 138219. [Crossref]
36. Guarrín-Romero, J. R.; Rodríguez-Estupiñán, P.; Giraldo, L.; Moreno-Piraján, J. C.; *ACS Omega* **2019**, *4*, 18147. [Crossref]
37. Chugh, M.; Kumar, L.; Shah, M. P.; Bharadvaja, N.; *Energy Nexus* **2022**, *7*, 100129. [Crossref]
38. Cid, H.; Ortiz, C.; Pizarro, J.; Barros, D.; Castillo, X.; Giraldo, L.; Moreno-Piraján, J. C.; *Adsorption* **2015**, *21*, 645. [Crossref]
39. Chi, Y.; Zhao, S.; Li, F.; Zuo, S.; Du, C.; Qiao, L.; Wang, P.; *J. Plant Growth Regul.* **2022**, *41*, 3208. [Crossref]
40. Meng, W.; Mu, T.; Marco, G.-V. In *Future Foods*; Bhat, R., ed.; Academic Press: London, 2022, p. 183-201. [Crossref]
41. Berneira, L. M.; de Santi, I. I.; da Silva, C. C.; Venzke, D.; Colepicolo, P.; Vaucher, R. A.; dos Santos, M. A. Z.; de Pereira, C. M. P.; *Braz. J. Microbiol.* **2021**, *52*, 1275. [Crossref]
42. Valério Filho, A.; Santana, L. R.; Motta, N. G.; Passos, L. F.; Wolke, S. I.; Mansilla, A.; Astorga-España, M. S.; Becker, E. M.; de Pereira, C. M. P.; Carreno, N. L. V.; *Algal Res.* **2023**, *71*, 103084. [Crossref]
43. de Carvalho, C. C. C. R.; Caramujo, M. J.; *Molecules* **2018**, *23*, 2583. [Crossref]
44. Kumar, A.; Sengar, R. S.; Sahi, S. V. In *Climate Change Effect on Crop Productivity*; Sengar, R. S.; Sengar, K., eds.; Academic Press: London, 2014, p. 329-353.
45. Santos, M. A. Z.; Colepicolo, P.; Pupo, D.; Fujii, M. T.; de Pereira, C. M. P.; Mesko, M. F.; *J. Appl. Phycol.* **2017**, *29*, 759. [Crossref]
46. Hammad, S.; Pu, S.; Jones, P. J.; *Lipids* **2016**, *51*, 507. [Crossref]
47. Haycock, P. C.; Borges, M. C.; Burrows, K.; Lemaitre, R. N.; Burgess, S.; Khankari, N. K.; Tsidilis, K. K.; Gaunt, T. R.; Hermani, G.; Zheng, J.; Truong, T.; Birmann, B. M.; Omara, T.; Spurdle, A. B.; Iles, M. K.; Law, M. H.; Slager, S. L.; Hosnijeh, F. S.; Mariosa, D.; Cotterchio, M.; Cerhan, J. R.; Peters, U.; Enroth, S.; Gharankhani, P.; Marchand, L. L.; Williams, A. C.; Block, R. C.; ACCC; CCFR-CORECT-GECCO; EPITHYR; InterLymph; MMAC; ECAC; ILCCO; The PRACTICAL Consortium; PanScan; PanC4; Amos, C. I.; Hung, R. J.; Zheng, W.; Gunter, M. J.; Smith, G. D.; Relton, C.; Martin, R. M.; *EBioMedicine* **2023**, *91*, 104510. [Crossref]
48. Javid, S.; Purohit, M. N.; Kumar, H. Y.; Ramya, K.; Mithuna, N. F. A.; Salahuddin, M. D.; Kumar, B. R. P.; *J. Biol. Act. Prod. Nat.* **2020**, *10*, 455. [Crossref]
49. Bermúdez, M. A.; Pereira, L.; Fraile, C.; Valerio, L.; Balboa, M. A.; Balsinde, J.; *Cells* **2022**, *11*, 2146. [Crossref]
50. Carta, G.; Murru, E.; Banni, S.; Manca, C.; *Front. Physiol.* **2017**, *8*, 902. [Crossref]
51. Naughton, S. S.; Mathai, M. L.; Hryciw, D. H.; McAinch, A. J.; *Prostaglandins Other Lipid Mediators* **2016**, *125*, 90. [Crossref]
52. Watanabe, Y.; Tatsuno, I.; *Expert Rev. Clin. Pharmacol.* **2021**, *14*, 79. [Crossref]
53. Wrzosek, M.; Zawadzka, Z.; Sawicka, A.; Bobrowska-Korczak, B.; Bialek, A.; *Obesity Surgery* **2022**, *32*, 428. [Crossref]
54. van Rooijen, M. A.; Mensink, R. P.; *Nutrients* **2020**, *12*, 615. [Crossref]
55. Denisenko, Y. K.; Lobanova, E. G.; Novgorodtseva, T. P.; Gvozdenko, T. A.; Nazarenko, A. V.; *Int. J. Chem. Biomed. Sci.* **2015**, *1*, 70. [Link] acessado em fevereiro 2026
56. Kołodziejczak-Radzimska, A.; Bielejewski, M.; Biadasz, A.; Jesionowski, T.; *Sci. Rep.* **2022**, *12*, 7218. [Crossref]
57. Sinurat, E.; Saepudin, E.; Peranginangin, R.; Hudiyo, S.; *J. Appl. Pharm. Sci.* **2016**, *6*, 82. [Crossref]
58. Bilan, M. I.; Grachev, A. A.; Ustuzhanina, N. E.; Shashkov, A. S.; Nifantiev, N. E.; Usov, A. I.; *Carbohydr. Res.* **2004**, *339*, 511. [Crossref]

59. Leitzke, A. F.; Bueno, D. T.; Jansen-Alves, C.; Trindade, T. M. L. S.; Pedra, N. S.; Santana, L. R.; Stefanello, F. M.; Zavareze, E. R.; Borsuk, S.; Carreno, N. L. V.; de Pereira, C. M. P.; *Int. J. Biol. Macromol.* **2025**, *306*, 141788. [Crossref]
60. Montgomery, D. C.; *Response Surface Methodology: Process and Product Optimization Using Designed Experiments*, 4th ed.; John Wiley & Sons: Hoboken, 2017.
61. Mohammed, A.; Rivers, A.; Stuckey, D. C.; Ward, K.; *Carbohydr. Polym.* **2020**, *245*, 116419. [Crossref]
62. Saji, S.; Hebden, A.; Goswami, P.; Du, C.; *Sustainability* **2022**, *14*, 5181. [Crossref]
63. Al-Hasani, F. J.; Hamad, Q. A.; Faheed, N. K.; *Discover Appl. Sci.* **2024**, *6*, 70. [Crossref]
64. Queiroz, L. P. O.; Aroucha, E. M. M.; dos Santos, F. K. G.; Leite, R. H. L.; *Algal Res.* **2024**, *79*, 103482. [Crossref]
65. Panikkar, R.; Brasch, D. J.; *Carbohydr. Res.* **1996**, *293*, 119. [Crossref]
66. Hurtado, A.; Aljabali, A. A. A.; Mishra, V.; Tambuwala, M. M.; Serrano-Aroca, Á.; *Int. J. Mol. Sci.* **2022**, *23*, 4486. [Crossref]
67. Adamiak, K.; Sionkowska, A.; *Mar. Drugs* **2023**, *21*, 353. [Crossref]