

EXTRAÇÃO DE CELULOSE DAS ALGAS *DURVILLAEA ANTARCTICA* E *ULVA LACTUCA*

ALAOR VALÉRIO FILHO¹, LUIZA RIBEIRO SANTANA², NAIANE GARCIA MOTTA³, VICTORIA PORTO MONKS⁴, CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA⁵, NEFTALÍ LENIN VILLARREAL CARREÑO⁶

¹ Universidade Federal de Pelotas - alaorvf@msn.com

² Universidade Federal de Pelotas - luizasantanari@gmail.com

³ Universidade Federal de Pelotas - naiane.motta@gmail.com

⁴ Universidade Federal de Pelotas - vi.monks@gmail.com

⁵ Universidade Federal de Pelotas - claudiochemistry@gmail.com

⁶ Universidade Federal de Pelotas - neftali@ufpel.edu.br

1. INTRODUÇÃO

O cultivo de macroalgas tem se destacado entre os setores aquícolas mundiais devido à demanda por biotecnologia azul e à transição para uma economia de baixo carbono. Este crescimento exponencial alcançou o marco de quase 10% ao ano (CALMES *et al.*, 2020). O termo “algas”, etimologicamente, é usado para um grupo de organismos taxonomicamente não relacionados, incluindo cianobactérias, microalgas eucarióticas e macroalgas (FUNK; JENSEN; SKJERMO, 2021). As macroalgas são divididas de acordo com suas características fisiológicas e bioquímicas, que podem ser: algas vermelhas (Rhodophyta), algas verdes (Chlorophyta) e algas marrons (Phaeophyceae) (DO-AMARAL *et al.*, 2020). Suas paredes celulares são compostas por redes complexas de biopolímeros, celulose como esqueleto, partes fibrosas e uma matriz de polissacarídeos específicos, além de proteínas, lipídios, vitaminas e minerais. Esses componentes são o que determinam seu valor como matéria-prima para diferentes aplicações de sua biomassa (KUMAR *et al.*, 2020).

As macroalgas estão ganhando cada vez mais espaço na indústria. No entanto, apenas 50% das 72.500 espécies de algas identificadas foram estudadas (LUTZU *et al.*, 2021). Assim, o potencial das tecnologias de algas para uma gama diversificada de aplicações é indiscutível (LUTZU *et al.*, 2021; MARTINY *et al.*, 2020).

A celulose pode ser encontrada em plantas, animais marinhos, biomassa marinha, fungos, bactérias e invertebrados, entre outros. Sendo um dos biopolímeros mais abundantes, a extração desses materiais ocorre em diferentes formas, incluindo fibras, microfibras, microfibrilas, nanofibras e nanocristais (EL ACHABY *et al.*, 2018; JANG *et al.*, 2021). A celulose de algas foi descrita pela primeira vez em 1885. Desde então, tem recebido grande atenção principalmente por sua vantagem econômica. A extração de fibras de algas tem sido considerada uma ótima opção no contexto da manutenção ambiental, com suporte para a crescente demanda do mercado nas mais variadas áreas (PRAKASH MENON *et al.*, 2017). Assim, este estudo visa colaborar com estudos de extração de celulose de macroalgas, utilizando *Durvillaea antarctica* e *Ulva lactuca* do Chile na região subantártica.

2. METODOLOGIA

Amostras de *Durvillaea antarctica* e *Ulva lactuca* foram coletadas no Chile, região subantártica em agosto de 2018. Em seguida, as amostras foram lavadas com água do mar, secas em estufa a 35°C por 24 h, moídas em moinho de facas e armazenadas a 20°C sem a presença de umidade e luz. Todos os reagentes foram adquiridos da Sigma-Aldrich.

O material celulósico foi obtido seguindo a metodologia desenvolvida em nosso laboratório (PANIZ et al., 2020). A primeira etapa foi a dessalinização, 5 g de alga foram adicionadas a 200 mL de água deionizada por 3 h a 105°C. Em seguida, a amostra foi filtrada e lavada para remover o sal remanescente. Após a dessalinização, foi aplicado um sistema Soxhlet por 7 h, utilizando 250 mL de solução de tolueno/etanol na proporção de 2:1 (v/v), respectivamente. Após o sistema Soxhlet, a biomassa foi submetida a tratamento alcalino com solução de NaOH e branqueada com solução de NaClO₂ ajustada em pH 4 com ácido acético. Ambos os métodos foram realizados a 80° C por 2 h. A neutralização do material branqueado foi realizada por filtração e lavagem com água destilada em funil de Büchner com placa porosa (tipo 1) e bomba de vácuo. Os materiais celulósicos obtidos de *U. lactuca* e *D. antarctica* foram nomeados como U-celulose e D-celulose, respectivamente.

A cristalinidade das amostras foi analisada por difração de raios X (DRX; Rigaku ULTIMA IV, Japão) aplicando uma radiação Cu Ka a 40 kV, por etapa de varredura na faixa de 5-70°. O índice de cristalinidade foi determinado utilizando a metodologia de Segal et al. (1959). Microscopia Eletrônica de Varredura (SEM; JEOL JSM 6610, EUA) e Microscopia Eletrônica de Transmissão (TEM; CM200 Philips, EUA) foram realizadas para promover a análise da morfologia da superfície das amostras.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Nos difratogramas referentes à biomassa de algas, foi observado picos correspondentes às impurezas e algas marinhas brutas não tratadas, aproximadamente a 32°, 45° e 56° (PANIZ et al., 2020; WAHLSTRÖM et al., 2020). Os picos de difração nas amostras de celulose são equivalentes aos picos de difração da celulose cristalina, demonstrando que o tratamento utilizado foi eficiente. As celulosas derivadas de *U. Lactuca* e *D. Antarctica* apresentaram o pico principal entre 23° referente ao plano, sustentando a presença de regiões cristalinas (WAHLSTRÖM et al., 2020). O pico é mostrado na amostra de U-Celulose, a 46°, o que provavelmente se refere a impurezas na amostra correspondentes ao cloreto de sódio (PANIZ et al., 2020). Os índices de cristalinidade para U-celulose e D-celulose obtidos foram 68% e 62%, respectivamente. Esses resultados indicam como possível a metodologia para obtenção de extração de celulose após tratamentos de alcalinização e branqueamento, removendo componentes polissacarídeos não celulósicos. O índice de cristalinidade mais baixo para a amostra de D-celulose pode indicar a presença de compostos não celulósicos.

Nas imagens de MEV das algas verificou-se que a distribuição das partículas não é homogênea e apresenta rugosidade. Além disso, amostras apresentam a presença de cristais de sal em sua superfície, o que já foi relatado em outros trabalhos (ALLOUCHE, 2021; PANIZ et al., 2020). Para as amostras de celulose verificou-se a presença de fibras agrupadas em uma estrutura semelhante a uma teia (PANIZ et al., 2020). A presença de cristais de sal na superfície das amostras não foi verificada, indicando que a etapa de dessalinização foi eficiente. Além disso, nas imagens de MET dos materiais celulósicos, foi possível constatar que a amostra de

D-celulose apresenta fibras com diâmetro superior a 200 nm, sendo classificadas como fibras ultrafinas e para a U-celulose a estrutura das fibras tipo teia são muito mais finas, indicando a presença de nanofibras e fibras ultrafinas. Os resultados morfológicos da U-Celulose e D-Celulose estão de acordo com os resultados obtidos para o material celulósico de *Cystosphaera jacquinottii* utilizando metodologia semelhante (PANIZ *et al.*, 2020).

4. CONCLUSÕES

Este trabalho demonstrou a possibilidade de extração da celulose utilizando sistema Soxhlet e tratamento com NaOH. Além disso, através do DRX, foi possível perceber que amostra de U-celulose não apresentou vestígios de impurezas. No entanto, para a amostra de D-Celulose, foram encontrados vestígios que podem ser lipídios, polissacarídeos e proteínas.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALLOUCHE, Fella-Naouel. A user-friendly *Ulva lactuca*/chitosan composite bead for mercury removal. **Inorganic Chemistry Communications**, [S. l.], v. 130, n. March, p. 108747, 2021. DOI: 10.1016/j.inoche.2021.108747. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.inoche.2021.108747>.

CALMES, Benoît *et al.* Parallelisable non-invasive biomass, fitness and growth measurement of macroalgae and other protists with nephelometry. **Algal Research**, [S. l.], v. 46, n. December 2019, p. 101762, 2020. DOI: 10.1016/j.algal.2019.101762. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.algal.2019.101762>.

DO-AMARAL, C. C. F.; PACHECO, B. S.; SEIXAS, F. K.; PEREIRA, C. M. P.; COLLARES, T. Antitumoral effects of fucoidan on bladder cancer. **Algal Research**, [S. l.], v. 47, n. April, p. 101884, 2020. DOI: 10.1016/j.algal.2020.101884. Disponível em: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S2211926419309488>.

EL ACHABY, Mounir; KASSAB, Zineb; ABOULKAS, Adil; GAILLARD, Cédric; BARAKAT, Abdellatif. Reuse of red algae waste for the production of cellulose nanocrystals and its application in polymer nanocomposites. **International Journal of Biological Macromolecules**, [S. l.], v. 106, p. 681–691, 2018. DOI: 10.1016/j.ijbiomac.2017.08.067. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2017.08.067>.

FUNK, Christiane; JENSEN, Poul Erik; SKJERMO, Jorunn. Blue economy in the North: Scandinavian algal biotechnology to the rescue. **Physiologia Plantarum**, [S. l.], v. 173, n. 2, p. 479–482, 2021. DOI: 10.1111/ppl.13534. Disponível em: <https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/ppl.13534>.

JANG, Jeong Hwa; SO, Bo Ram; YEO, Hyeon Jin; KANG, Hye Jee; KIM, Min Jeong; LEE, Jeong Jae; JUNG, Sung Keun; JUNG, Young Hoon. Preparation of cellulose microfibril (CMF) from *Gelidium amansii* and feasibility of CMF as a cosmetic ingredient. **Carbohydrate Polymers**, [S. l.], v. 257, n. January, p. 117569, 2021. DOI: 10.1016/j.carbpol.2020.117569. Disponível em: <https://doi.org/10.1016/j.carbpol.2020.117569>.

KUMAR, Manish; SUN, Yuqing; RATHOUR, Rashmi; PANDEY, Ashok; THAKUR, Indu Shekhar; TSANG, Daniel C. W. Algae as potential feedstock for the production of biofuels and value-added products: Opportunities and challenges. **Science of The Total Environment**, [S. l.], v. 716, p. 137116, 2020. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2020.137116. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.137116>.

LUTZU, Giovanni Antonio; CIURLI, Adriana; CHIELLINI, Carolina; DI CAPRIO, Fabrizio; CONCAS, Alessandro; DUNFORD, Nurhan Turgut. Latest developments in wastewater treatment and biopolymer production by microalgae. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, [S. l.], v. 9, n. 1, p. 104926, 2021. DOI: 10.1016/j.jece.2020.104926. Disponível em:

<https://doi.org/10.1016/j.jece.2020.104926>.

MARTINY, Thamiris R.; PACHECO, Bruna S.; PEREIRA, Claudio M. P.; MANSILLA, Andrés; ASTORGA–ESPAÑA, Maria S.; DOTTO, Guilherme L.; MORAES, Caroline C.; ROSA, Gabriela S. A novel biodegradable film based on κ-carrageenan activated with olive leaves extract. **Food Science and Nutrition**, [S. l.], v. 8, n. 7, p. 3147–3156, 2020. DOI: 10.1002/fsn3.1554.

PANIZ, Oscar G. et al. Cellulosic material obtained from Antarctic algae biomass. **Cellulose**, [S. l.], v. 27, n. 1, p. 113–126, 2020. DOI: 10.1007/s10570-019-02794-2. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-019-02794-2>.

PRAKASH MENON, Mridula; SELVAKUMAR, R.; SURESH KUMAR, Palaniswamy; RAMAKRISHNA, Seeram. Extraction and modification of cellulose nanofibers derived from biomass for environmental application. **RSC Advances**, [S. l.], v. 7, n. 68, p. 42750–42773, 2017. DOI: 10.1039/C7RA06713E. Disponível em: <http://xlink.rsc.org/?DOI=C7RA06713E>.

SEGAL, L.; CREELY, J. J.; MARTIN, A. E.; CONRAD, C. M. An Empirical Method for Estimating the Degree of Crystallinity of Native Cellulose Using the X-Ray Diffractometer. **Textile Research Journal**, [S. l.], v. 29, n. 10, p. 786–794, 1959. DOI: 10.1177/004051755902901003. Disponível em:

<http://journals.sagepub.com/doi/10.1177/004051755902901003>.

WAHLSTRÖM, Niklas et al. Cellulose from the green macroalgae *Ulva lactuca*: isolation, characterization, optotracing, and production of cellulose nanofibrils. **Cellulose**, [S. l.], v. 27, n. 7, p. 3707–3725, 2020. DOI: 10.1007/s10570-020-03029-5. Disponível em: <http://link.springer.com/10.1007/s10570-020-03029-5>.