Leila Hayashi

**Extração, teor e propriedades de carragenana de
Kappaphycus alvarezii (Doty) Doty ex P. Silva, em
cultivo experimental em Ubatuba, SP.**

**São Paulo
2001**

Leila Hayashi

**Extração, teor e propriedades de carragenana de
Kappaphycus alvarezii (Doty) Doty ex P. Silva, em
cultivo experimental em Ubatuba, SP.**

**Dissertação apresentada ao Instituto
de Biociências da Universidade de
São Paulo, para a obtenção do Título
de Mestre em Ciências, na Área de
Botânica.**

**Orientador: Prof. Dr. Edison José de
Paula**

**São Paulo
2001**

Hayashi, Leila

Extração, teor e propriedades de
carragenana de *Kappaphycus alvarezii*
(Doty) Doty ex P. Silva, em cultivo
experimental em Ubatuba, SP.
83 páginas.

Dissertação (Mestrado) – Instituto de Biociências
da Universidade de São Paulo. Departamento de
Botânica.

1. *Kappaphycus* 2. Carragenana 3. Ficocolóide
I. Universidade de São Paulo. Instituto de
Biociências. Departamento de Botânica.

Comissão Julgadora:

Prof(a). Dr(a).

Prof(a). Dr(a).

Prof. Dr. Edison José de Paula
Orientador

“Não importa que as flores murchem,
Importa que depois delas
Outras virão de suas sementes;
Importa regar as últimas esperanças,
Importa adubar os sonhos.
Não se sonha por sonhar;
Sonha-se por crer que um dia
O sonho se fará sonhar.
Vale sonhar
Principalmente quando sonhamos
Em realizar os sonhos dos outros.”

Chico Poeta

À minha família, com muito amor e carinho.

Agradecimentos:

É impossível agradecer apenas com palavras todas as pessoas que participaram, direta ou indiretamente, da elaboração desse trabalho. Pessoas que colocaram a amizade acima de tudo e ajudaram de todas as maneira possíveis. É uma honra ter amigos como vocês!!!!

Ao meu orientador, Prof. Dr. Edison José de Paula, por ter confiado em mim e por ter me ensinado tão pacientemente, tudo que aprendi nesses dois anos de trabalho. É uma grande honra ser sua aluna.

Aos professores do LAM: Prof. Dr. Eurico Cabral de Oliveira, Profa. Dra. Estela Maria Plastino, Profa. Dra. Mariana Cabral de Oliveira e Prof. Dr. Flavio de Souza Berchez, pela convivência, pela amizade, pela alegria e pelos conselhos.

À FAPESP, pelo apoio financeiro, sem o qual não seria possível a realização desse trabalho.

Ao Núcleo de Pesquisa do Litoral Norte, em especial ao Ricardo Toledo de Lima Pereira, por ter fornecido todos os dados sobre o cultivo de *Kappaphycus*.

À Griffith do Brasil S/A, especialmente ao Sr. Airton Almeida e a Jenny Ratsnari Halim Darsono, por ter nos recebido tão bem e pela troca de informações.

Ao Prof. Felipe Amendola, do Senac, pela identificação do tecido usado para a filtração de carragenanas.

À Tami Gotoda, Lia Valente Eva e Silvana Valente Eva Padilha, pela grande ajuda e preocupação, para a identificação do tecido.

Ao meu pai, Shintaro Hayashi e ao meu professor de inglês Ken, pela grande ajuda nos Abstracts.

Ao Rosário Petti, por ter me socorrido nos momentos de stress, e pela sua alegria e amizade.

Aos LAMigos: Fungyi, Suzana, Rose, Vivi, Cíntia, Cristian, Cristalina, José, Lú, Aléxis, Melina, Paulinho, Jonathan e Dani, pela amizade e todos os momentos de descontração.

À Fungyi Chow Ho, por ter me ajudado nos experimentos de sulfato e 3,6-anidrogactose, e em muitos momentos, por ter deixado suas coisas de lado só para me ajudar, mesmo de longe.

À Roselene Donato, por ter passado todos os momentos difíceis do meu lado, incentivando e ajudando nas correções.

À Suzana Ursi, pelos conselhos sempre muito bem vindos e pela torcida, longe ou perto.

À Viviane Costa, pelos incentivos quando estava super cansada, pela revisão divertida da dissertação e pela grande ajuda na análise dos resultados.

À Cíntia Erbert, pela paciência nas correções.

Ao Cristian Ruben, pela torcida e pela força, e por todas as dicas durante esses 2 anos de convivência.

À Glaucia Morelli Alves, Érika Ushinohama, Fabiana Gaspar Gonzalez e Lina Aragon, pela amizade sempre presente.

Aos amigos chilenos, Prof. Dr. Andrés Mansilla, Nina Astorga, Nelso Navarro e Mauricio Palacios, pela força e incentivo.

Aos amigos do nordeste, Darlio Teixeira e Miguel Accioly, pelos momentos divertidos e pelos conselhos.

Ao Fran, Rafaela, Erbert e Claudia, pela constante alegria e pela preocupação.

Ao Paulo Augusto Yoshiga, por ter percorrido comigo toda essa jornada, e por me amar....

Ao meu pai, Shintaro Hayashi, minha mãe, Teruyo Nishimura Hayashi e minha irmã, Luciana Kaori Hayashi, por apesar de não entenderem muito o que faço, estarem sempre na torcida.

A todos vocês, muito obrigada por tudo!!!!

ÍNDICE

Capítulo 1 – Introdução geral

Introdução	01
Objetivos	06
Amostragem e preparação das amostras	07
Referências Bibliográficas	09
Figuras	12

Capítulo 2 – Padronização da metodologia de extração de carragenana de *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P. Silva cultivado em Ubatuba, SP

Resumo/ Abstract.....	14
Introdução.....	15
Material e Métodos.....	17
Tratamento alcalino a frio.....	17
Tratamento alcalino a quente.....	18
Extração aquosa.....	18
Experimentos Preliminares.....	19
Relação massa de ATF: volume de água para extração....	19
Filtros.....	20
Tratamento Alcalino.....	20
Tempo e concentração de KOH.....	20
Temperatura e tempo.....	20
Tratamento a frio e a quente.....	21
Resultados.....	21
Experimentos preliminares.....	21
Relação massa de ATF: volume de água para extração....	21
Filtros.....	21
Tratamento alcalino.....	22
Tempo e concentrações.....	22
Temperaturas e tempos.....	22
Tratamento a frio e a quente.....	22
Discussão.....	23
Considerações Finais.....	25
Referências Bibliográficas.....	26
Tabelas.....	27
Figuras.....	29

Capítulo 3 - Teor de carragenana de *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P. Silva, cultivado em Ubatuba, SP

Resumo/ Abstract.....	32
Introdução.....	33
Material e Métodos.....	35
Resultados.....	36
Amostras de 1999.....	36
Amostras de 2000.....	37
Correlação de <i>Spearman</i>	38
Discussão.....	39
Considerações Finais.....	40
Referências Bibliográficas.....	41
Tabelas.....	43
Figuras.....	52
Capítulo 4 - Qualidade do gel de carragenana de <i>Kappaphycus alvarezii</i> cultivado em Ubatuba, SP	
Resumo/ Abstract.....	54
Introdução.....	55
Material e Métodos.....	58
Determinação do conteúdo de sulfato.....	58
Reagentes.....	58
Soluções para a determinação da curva padrão.....	59
Hidrólise da carragenana.....	59
Quantificação de sulfato.....	60
Determinação da quantidade de 3,6 anidrogactose.....	60
Reagentes.....	60
Curva padrão.....	60
Preparo da amostra para análise.....	61
Quantificação de 3,6 anidrogactose.....	61
Determinação da força do gel.....	61
Resultados.....	62
Conteúdo de sulfato.....	62
Conteúdo de 3,6 anidrogactose.....	63
Determinação da força do gel.....	63
Discussão.....	64
Considerações Finais.....	67
Referências Bibliográficas.....	69
Tabelas.....	72
Figuras.....	79
Capítulo 5 – Considerações Finais.....	82

CAPÍTULO 1 – INTRODUÇÃO GERAL

I. INTRODUÇÃO

***Kappaphycus alvarezii* Doty (Doty) ex P. Silva**

Kappaphycus alvarezii (Rhodophyta, Florideophyceae, Gigartinales, Solieriaceae) juntamente com *K. striatum* (Schmitz) Doty, entre outras espécies distintas, é conhecida pelo nome comercial "cotonii". Foi descrita originalmente como *Eucheuma alvarezii* Doty, sendo transferida para o gênero *Kappaphycus* (Doty) considerando-se características morfológicas e anatômicas, além da presença de carragenana *kappa*, hidrocolóide comercialmente importante (Doty 1988). A espécie pode ser ainda utilizada diretamente como alimento em alguns países, principalmente em saladas, e no controle de poluição por metais pesados (Trono 1998).

Os cultivos de *K. alvarezii* juntamente com os de *Eucheuma denticulatum* (Burman) Collins & Hervey, foram estabelecidos no início da década de 70 nas Filipinas, modificando em 10 anos a fisionomia mundial da indústria de carragenanas (Areces 1995). Anteriormente, o uso de carragenana era restrito pela disponibilidade de fontes naturais de *Chondrus crispus* Stackhouse no Canadá e na França e de espécies de *Gigartina* Stackhouse na América do Sul, México e Sul da Europa. Atualmente, essas fontes contribuem apenas com 20% do total de material processado (Critchley 1997).

Em 1975, 95% das algas secas exportadas das Filipinas, originava-se dos cultivos de *K. alvarezii*, *K. striatum* e *E. denticulatum*. Atualmente, são produzidos mais de 100.000 toneladas de matéria seca por ano, sendo que a primeira espécie, fonte de carragenana *kappa*, responde por cerca de 85% dessa produção e a terceira, fonte de carragenana *iota*, por cerca de 15% (Stanley 1987, Santos 1989, Areces 1995, Ask 1998). Os cultivos comerciais em larga escala são realizados principalmente nas Filipinas, Indonésia e Tanzânia (Areces 1995).

A importância econômica das espécies de *Kappaphycus* justifica os numerosos esforços que têm sido direcionados para a determinação de áreas alternativas de cultivo e produção em várias partes do mundo. Algumas instituições brasileiras de pesquisa, incluindo o Laboratório de Algas Marinhas (LAM) do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo, têm participado desses esforços (Paula *et al.* 1998a).

Dentre os estudos realizados com *K. alvarezii* no Brasil, citam-se os relacionados com a sua introdução e maricultura (Paula & Pereira 1998, Paula *et al.* 1998a), seleção de linhagens (Paula *et al.* 1999), crescimento e taxas fotossintéticas (Erbert 2001, Paula *et al.* 2001) e aspectos reprodutivos e biológicos (Contador 2001).

Carragenanas

Carragenanas são colóides hidrofílicos extraídos de diversas espécies de algas vermelhas, principalmente daquelas pertencentes aos gêneros *Eucheuma* (Agardh) e *Kappaphycus* (Stanley 1987, Trono 1997). São empregadas principalmente nas indústrias alimentícia (em leite e derivados, sobremesas semi-prontas, embutidos e produtos enlatados), farmacêutica, têxtil e de cosméticos, devido às suas propriedades como agente gelificante, espessante, estabilizante e emulsificante (Glicksman 1987). Na alga, as carragenanas são um dos principais componentes da parede celular, possuindo função estrutural, análoga à celulose em plantas terrestres (Stanley 1987).

Na década de 30, as carragenanas foram produzidas comercialmente pela primeira vez a partir de *C. crispus*, encontrado ao longo da costa do nordeste dos Estados Unidos e Canadá, e referidas como extratos de "Irish Moss". Em 1953, a partir do extrato original de *C. crispus*, foi possível determinar duas frações: uma gelificante, denominada de carragenana *kappa*, e outra não-gelificante, denominada de carragenana *lambda*. Estudos posteriores permitiram a identificação de um terceiro tipo, *iota*, e frações menos importantes

comercialmente: *mu* (precursor da *kappa*), *nu* (precursor da *iota*), *théta* (precursor da *lambda*) e *xi* (Glicksman 1983). Atualmente, são conhecidas pelo menos 15 frações diferentes de carragenanas, além de frações híbridas, levando alguns pesquisadores a propor um sistema de nomenclatura diferente do alfabeto grego, baseado na estrutura química dos polissacarídeos (Knutsen *et al.* 1994).

A estrutura química da carragenana é baseada em unidades repetidas de D-galactose e resíduos de 3,6-anidro-D-galactose ligados em α -(1 $\rightarrow$ 3) (Figura 1), sendo as mais utilizadas os tipos *kappa* e o *iota*, onde os géis formados pelo primeiro são duros e quebradiços, e os formados pelo segundo, macios e elásticos (Parker 1993). A diferença entre ambas é a presença de um éster sulfato no C₂ das unidades de 3,6-anidrogallactose em carragenana do tipo *iota*, ausente nas unidades do tipo *kappa* (Santos 1989).

A carragenana *kappa* é definida como a fração que é precipitada por cloreto de potássio, da qual aproximadamente metade das unidades de açúcar presentes são 3,6-anidro-D-galactose (Stanley 1987). As modificações alcalinas dessa carragenana, que envolvem a remoção de 6-sulfato primário nos resíduos de galactopirranose ligados em 1,4 produzem 3,6-anidro-D-galactose, aumentando a força do gel resultante e a reatividade com o leite, propriedade de grande relevância para a indústria de laticínios (Stanley 1987, Santos 1989).

A funcionalidade das carragenanas em várias aplicações depende de suas propriedades físicas. Como são polímeros lineares e solúveis em água, formam soluções tipicamente viscosas. A dureza e a viscosidade do gel estão entre as propriedades mais visadas na aplicação comercial dos ficocolóides. A quantificação do conteúdo de sulfato na molécula da carragenana fornece um parâmetro para verificar sua qualidade, uma vez que a remoção de sulfato e a transformação de 3,6-anidro-D-galactose, promovida pelo tratamento alcalino, aumentam a qualidade do gel (Morris 1998).

MERCADO

As carragenanas possuem mercado anual superior a US\$200 milhões, sendo que aproximadamente 15% do uso mundial de hidrocolóides (colóides solúveis em água) é aplicado na indústria alimentícia; esse mercado tem crescido 5% ao ano nas últimas 3 décadas (Bixler 1996).

Para o Brasil, Furtado (1999) refere à importação aproximada de 1000 ton./ano de carragenanas, a um preço médio de US\$8/kg. De acordo com Oliveira (1997), a produção nacional desses ficocolóides é da ordem de 10-20 ton./ano, a partir de bancos naturais de *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux no nordeste do país.

Nos últimos anos, a produção nacional de carragenanas manteve-se praticamente inalterada (Raposo 1998), sugerindo a limitação da produtividade dos bancos naturais de *H. musciformis*. O quadro da importação e processamento, entretanto, sofreu grandes alterações. Com o aumento do consumo nos últimos 5 anos (atualmente por volta de 1200 ton. anuais, segundo Raposo 1998), foi instalada uma nova indústria, Griffith do Brasil S/A, em Mogi das Cruzes, São Paulo. Esta indústria baseia sua produção (cerca de 500 a 600 ton./ano de carragenanas semi-refinadas) em alga seca importada das Filipinas (cerca de 2.000 a 3.000 ton./ano de *K. alvarezii*) (A. Almeida, comunicação pessoal).

O incremento do consumo nacional e mundial de carragenanas particularmente do tipo *kappa*, estimulou a introdução de *K. alvarezii*, originária das Filipinas, em Ubatuba, SP, em caráter experimental (Paula *et al.* 1998a), com a aprovação do IBAMA (Instituto Brasileiro do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis). Os experimentos desenvolvidos continuamente na região, desde seu início, em outubro de 1995, têm por objetivo avaliar a viabilidade dos cultivos comerciais da espécie exótica do ponto de vista sócio – econômico – ambiental.

Os componentes importantes dessa análise são o teor e as propriedades das carragenanas (Paula & Pereira 1998).

A introdução experimental de *K. alvarezii* no litoral paulista tem por finalidade o desenvolvimento de estudos básicos da espécie na região visando avaliar a viabilidade de cultivos comerciais. As análises quantitativas (teor) e qualitativas (força do gel e conteúdo de sulfato e de 3,6-anidro-D-galactose), propostas neste trabalho, constituem parâmetros fundamentais para avaliar essa viabilidade. Esses dados, bem como de possíveis variações sazonais e de diferentes linhagens, fornecerão subsídios valiosos para a maricultura da espécie em questão.

II. OBJETIVOS

1. Padronizar metodologia para extração e análise das carragenanas de *Kappaphycus alvarezii* cultivado em Ubatuba, SP.
2. Comparar o teor de carragenanas e possíveis variações sazonais entre os tetrásporos marrom, verde e vermelho, e uma linhagem derivada de tetrásporos.
3. Analisar algumas propriedades físicas e químicas das carragenanas extraídas (força do gel, conteúdo de 6-sulfato e 3,6-anidro-D-galactose).

Esses objetivos serão tratados nos 3 capítulos apresentados a seguir. O último capítulo destina-se a considerações finais.

III. AMOSTRAGEM E PREPARAÇÃO DAS AMOSTRAS

As amostras de *K. alvarezii* foram provenientes do cultivo experimental desenvolvido no Núcleo de Pesquisa do Litoral Norte, localizado em Ubatuba, SP (23°26,9'S, 045°0,3'W), desde 1995 (Paula & Pereira, 1998, Paula *et al.*, 1998a). Os cultivos foram iniciados a partir de um tetrásporófito marrom, cedido pelo Dr. Masao Ohno, originário das Filipinas, e pertencente aos cultivos experimentais localizados no sul do Japão (USA Marine Institute, University of Kochi, Kochi, Japan) (Paula *et al.* 2001). Dessa planta, foram obtidos espontaneamente, tetrásporófitos variantes de cor verde e vermelho; dispôs-se ainda de uma linhagem obtida a partir da germinação de tetrásporos, denominada G11 (Paula *et al.* 1998b, Paula *et al.* 1999). Essas linhagens foram propagadas e cultivadas simultaneamente no mar, em balsa flutuante (Paula *et al.* 1998a) (Figura 2 e 3).

O material foi coletado em intervalos aproximados de um mês. Para todo material disponível, foram obtidas informações sobre a taxa de crescimento, tempo de crescimento no mar, bem como de algumas variáveis ambientais (particularmente temperatura e salinidade) (E.J. Paula & R.T.L. Pereira, comunicação pessoal).

Após a coleta, as algas (4 amostras para cada linhagem e período), ainda vivas, foram deixadas à sombra, sobre bancada, por cerca de 30 minutos antes da pesagem. O procedimento foi empregado para remoção do excesso da água superficial. Após a pesagem (cerca de 500g de peso úmido), as amostras (referidas como alga úmida) foram acondicionadas em sacos de malha de tela de 1mm, fechados com velcro, e transportadas até o laboratório, onde foram secas, inicialmente em estufa a 35°C, e depois a 60°C, até a obtenção de massa constante.

Depois de secas, as algas foram fragmentadas manualmente, pesadas (alga seca) (Balança Semi-Analítica Marte Modelo AS 2000C),

colocadas em sacos plásticos vedados e armazenadas em freezer (-20°C). Essas amostras serão referidas como alga seca.

Das 4 amostras coletadas, duas foram mantidas como reserva e as outras duas foram submetidas a tratamento alcalino a frio para a extração das carragenanas, processo descrito no capítulo seguinte.

IV. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Areces A.J. 1995. Cultivo comercial de carragenófitas del genero *Kappaphycus* Doty. In: Alveal K., Ferrario M.E., Oliveira E.C., Sar E. (eds). *Manual de Metodos Ficológicos*. Universidad de Concepción, Concepción, Chile. 529-549.
- Ask E.I. 1998. Advances in *Eucheuma* cultivation technology: a review with suggestions for future research. *XVIth International Seaweed Symposium*, Cebu, Philippines. Abstract, Programs & Directory, 8: 31.
- Bixler H.J. 1996. Recent developments in manufacturing and marketing carrageenan. *Hydrobiologia* 326/327: 35-57.
- Contador C.R.B. 2001. Aspectos reprodutivos e biológicos de *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex Silva e *Kappaphycus striatum* (Shmitz) Doty (Gigartinales, Rhodophyta). Bases para introdução e cultivo de espécies exóticas no litoral brasileiro. Universidade de São Paulo, São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). 84p.
- Critchley A.T. 1997. Introduction – seaweed resources. In: Ohno M. & Critchley A.T. (eds). *Seaweed Cultivation and Marine Ranching*. Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan. 1-6.
- Doty M.S. 1988. Prodromus ad systematica *Eucheumatoideorum*: a tribe of commercial seaweeds related to *Eucheuma* (Solieriaceae, Gigartinales). In: Abbot A. I. (ed.). *Taxonomy of Economic Seaweeds with References to some Pacific and Caribbean Species*. La Jola, California Sea Grant College Program. USA. 12: 159-207.
- Erbert C. 2001. Crescimento e taxas fotossintéticas da espécie de alga exótica produtora de carragenanas *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex Silva (Rhodophyta, Gigartinales). Universidade de São Paulo, São Paulo. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas). 79p.
- Furtado M.R. 1999. Alta lucratividade atrai investimentos em hidrocolóides. *Química e Derivados*: 20-29.

- Glicksman M. 1983. Carrageenan and fucellaran. *In*: Glicksman M. (ed.). *Food Hydrocolloids. Vol III*. CRC PRESS, USA. 83-107.
- Glicksman M. 1987. Utilization of seaweed hydrocolloids in the food industry. *Hydrobiologia* 151/152: 31-47.
- Knutsen S.H., Myslabodski D.E., Larsen B., Usov, I. 1994. A modified system of nomenclature for red algal galactans. *Botanica Marina* 37: 163-169.
- Morris V.J. 1998. Gelation of polysaccharides. *In*: Hill S.E., Edward D.A., Mitchell J.R. (eds). *Functional Properties of Food Molecules* (2nd edition). Aspen Publishers, England. 143-168.
- Oliveira E.C. 1997. Algas marinhas: um recurso ainda pouco explotado pelo Brasil. *Panorama da Aqüicultura* 7: 24-26.
- Parker A. 1993. Using elasticity/temperature relationships to characterise gelling carrageenans. *Hydrobiologia* 260/261: 583-588.
- Paula E.J. & Pereira R.T.L. 1998. Da "marinomia" a maricultura da alga exótica, *Kappaphycus alvarezii* para produção de carragenanas no Brasil. *Panorama da Aqüicultura* 8: 10-15.
- Paula E.J., Pereira R.T.L. & Ostini, S. 1998a. Introdução de espécies exóticas de *Eucheuma* e *Kappaphycus* (Gigartinales, Rhodophyta) para fins de maricultura no litoral brasileiro: abordagem teórica e experimental. *In*: Paula E.J., Cordeiro-Marinho M., Santos D.P., Fujii M., Plastino E.M. & Yokoya N. (eds). *Anais do IV Congresso Latino-Americano de Ficologia, II Reunião Ibero-Americana de Ficologia e VII Reunião Brasileira de Ficologia*. Caxambú, MG. 340-357.
- Paula E.J., Plastino E.M. & Guimarães M. 1998b. Pigment characterization of tetrasporophyte phase and tetraspore progeny of *Kappaphycus alvarezii* var. *alvarezii* (Doty) ex. P. Silva (Rhodophyta, Solieriaceae). *XVIIth International Seaweed Symposium*, Cebu, Philippines. Abstract, programs & directory. 85.
- Paula E.J., Pereira R.T.L., Ohno M. 1999. Strain selection in *Kappaphycus alvarezii* var. *alvarezii* (Solieriaceae, Rhodophyta) using tetraspore progeny. *Journal of Applied Phycology* 11: 111-121.

- Paula E.J., Erbert C., Pereira R.T.L. 2001. Growth rate of the carragenophyte *Kappaphycus alvarezii* (Rhodophyta, Gigartinales) *in vitro*. *Phycological Research* 49: 155-161.
- Raposo P. 1998. Exportação de alga tem queda de 50%. *Finanças & Mercado. Gazeta Mercantil*. 17 de Dezembro.
- Santos G.A. 1989. Carrageenans of species of *Eucheuma* J. Agardh and *Kappaphycus* Doty (Solieriaceae, Rhodophyta). *Aquatic Botany* 36: 55-67.
- Stanley N. 1987. Production, properties and uses of carrageenan. *In*: McHugh (ed). *Production and utilization of products from commercial seaweeds*. FAO Fisheries Technical Paper 288:116-146.
- Trono G.C. 1997. *Eucheuma* and *Kappaphycus*: taxonomy and cultivation. *In*: Ohno M. & Critchley A.T. (eds). *Seaweed Cultivation and Marine Ranching*. Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan. 75-88.
- Trono G.C. 1998. The seaweed resources of the Philippines. *In*: Ohno M. & Critchley A.T.(eds). *Seaweed Cultivation and Marine Ranching*. Japan International Cooperation Agency, Yokosuka, Japan. 47-60.

Figura 1 – Unidades repetidas de dissacarídeos de carragenanas (adaptado de Glicksman 1983).

Figura 2 – (A) Cultivo em balsa de *Kappaphycus alvarezii*, localizado em Ubatuba, SP. (B) Detalhe do cultivo com as algas amarradas (tetrásporófito marrom, verde e vermelho nas 2 cordas a direita e linhagem derivada de tetrásporos (G11) na corda a esquerda).

Figura 3 - Aspecto geral de ramos de *Kappaphycus alvarezii* cultivados em Ubatuba. A) tetrasporófito marrom (linhagem original), b) tetrasporófito verde (variante de cor), c) tetrasporófito vermelho (variante de cor), d) linhagem derivada de tetrásporos (G11). Escala = 10 cm.

CAPÍTULO 2 – PADRONIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE EXTRAÇÃO DE CARRAGENANA DE *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P. Silva CULTIVADO EM UBATUBA, SP.

RESUMO

Os procedimentos para a quantificação de carragenanas envolvem geralmente secagens da alga, seguida de lavagens, tratamento alcalino, extrações aquosas ou em soluções levemente alcalinas, e separação da carragenana dos resíduos. Os resultados obtidos são muito influenciados pelos diferentes métodos envolvidos e equipamentos utilizados. Esse trabalho tem como objetivo padronizar a técnica de extração de *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty, cultivado em Ubatuba, SP, visando maximizar o teor final da carragenana obtida. Os melhores teores foram obtidos em algas com tratamento alcalino (hidróxido de potássio) a frio, seguido de tratamento a quente, na concentração de 6%, à temperatura de 80°C, durante 2 horas, que facilitaram a filtração posterior. A proporção 5g de alga tratada em solução alcalina a frio, em 400 mL de água para extração foi estabelecida e um filtro de nylon foi escolhido como o mais eficiente para a separação de carragenana.

ABSTRACT

Procedures for the quantification of carrageenans generally involve drying of seaweed, followed by washing, alkali treatment, extraction in water or in lightly alkaline solutions, and separation of the carrageenan from the residues. Obtained results depend mostly on the various methods involved and equipment utilized. This paper was designated with the purpose of standardizing the extraction process of the *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty, farmed in Ubatuba, SP, so as to maximize the final yield of the extracted carrageenan. Best results were obtained with algae under cold alkali treatment (potassium hydroxide), followed by hot treatment in 6% concentration at a temperature of 80°C for two hours, which made the later filtering easier. A proportion of 5g of the seaweed, treated in cold alkaline solution in 400mL of water, was established for the extration. A nylon filter was selected as the most efficient for the carrageenan's separation.

I. INTRODUÇÃO

Os métodos de extração de carragenana descritos na literatura empregam diversos procedimentos para análise de seus teores e propriedades. Basicamente, envolvem lavagens da alga seca para remoção de sais, areia, resíduos e microorganismos, seguidas de digestão em água quente ou em soluções levemente alcalinas. Um tratamento alcalino a quente, anterior à extração, promove a maceração da alga e quando empregado em concentrações suficientemente altas, aumenta o conteúdo de resíduos de 3,6-anidro-D-galactose na cadeia de polissacarídeos, melhorando a força, a qualidade e a reatividade com o leite do gel resultante (Stanley 1987, Santos 1989).

Alguns métodos de extração comercial empregam, anteriormente ao tratamento alcalino a quente, um tratamento alcalino a frio nas algas úmidas ou secas, seguido de exposição ao sol (Sijan & Ping 1984, Doty 1987). No caso de furcelaranas (ficocolóides quimicamente semelhantes a carragenana *kappa*), a alga pode ser tratada com uma solução alcalina a frio por uma ou mais semanas, o que remove pigmentos e algumas proteínas e facilita a extração do ficocolóide (Stanley 1987).

Distinguem-se dois tipos de carragenanas: refinadas e semi-refinadas. As carragenanas refinadas são extraídas por aquecimento em solução aquosa e posterior separação deste ficocolóide dos resíduos, por filtração ou centrifugação. Existem 2 métodos principais para remoção da água da carragenana: por precipitação da carragenana com álcool e a partir da gelificação com cloreto de potássio (KCl) a 0,2%, seguida de congelamento e descongelamento. As carragenanas semi-refinadas são obtidas através da extração em solução aquosa quente de hidróxido de potássio e lavagens posteriores para a remoção do álcali. Esse tipo de carragenana possui maior conteúdo de celulose, entre outras impurezas (Stanley 1987). Seu teor, embora de grande interesse comercial, raramente tem sido referido. O

único trabalho (Trono & Lluisma 1992) que o menciona, afirma que o método empregado foi industrial, sem fornecer maiores detalhes.

Este estudo tem como objetivo padronizar metodologia para extração e análise das carragenanas de *Kappaphycus alvarezii* cultivado em Ubatuba, SP.

II. MATERIAL E MÉTODOS

As principais etapas utilizadas na metodologia de extração podem ser reconhecidas na Figura 1 (adaptada de Sijan & Ping, 1984). Foram estabelecidas visando maximizar os teores finais de carragenanas de boa qualidade, compatíveis com extrações industriais.

Em uma primeira fase, foram realizadas diversas extrações para avaliações qualitativas, com o objetivo de se conhecer os principais problemas e adaptar todo o sistema de extração às condições e equipamentos disponíveis no Laboratório de Algas Marinhas (LAM) do Departamento de Botânica da Universidade de São Paulo (USP). Foram realizados experimentos para avaliar o tempo necessário para embeber as algas secas, a relação entre a alga seca e o volume de solução aquosa nas diversas etapas e o sistema de filtragem (dados não apresentados).

Na segunda fase, alguns dos experimentos anteriores foram repetidos (experimentos preliminares) e outros, com tratamento alcalino, foram realizados, sendo o teor de carragenanas quantificado, como segue.

Tratamento alcalino a frio

Duas amostras de algas secas de cada linhagem, pesando entre 20 e 50g, foram embebidas em água de torneira durante uma hora, colocadas em peneira com malha de aproximadamente 1mm e lavadas em água corrente. Após remoção do excesso de água, foram colocadas em recipientes de plástico (3,6L), contendo 1L de solução aquosa de hidróxido de potássio (KOH 6%). Os recipientes foram fechados e mantidos a temperatura ambiente (25°C) entre 24 e 48 horas. Após esse período, a solução alcalina foi removida por meio de uma peneira com malha de 1mm e os mesmos recipientes, contendo os fragmentos de algas ainda embebidos em álcali, foram fechados e expostos ao sol por um ou dois dias para branqueamento.

Os fragmentos foram, então, transferidos para sacos de musseline (26cm de comprimento x 20cm de largura) vedados com velcro. O conjunto de todas as amostras coletadas mensalmente, em geral totalizando 10 a 12 sacos, foi colocado em recipiente plástico de 20L e os sacos foram lavados durante 12 horas em água corrente. Esses foram pendurados em varal para remoção da água e congelados em freezer (-20°C). Em seguida, foram descongelados para redução do teor de água, sendo o processo repetido por mais duas vezes.

Após a eliminação do excesso de água, os fragmentos foram secos em estufa a 35°C por 12 horas e em seguida transferidos para estufa a 60°C (por aproximadamente mais 12 horas) até a obtenção de massa constante (Balança Semi-Analítica Marte Modelo AS 2000C). Esses fragmentos foram denominados de alga tratada em solução alcalina a frio (ATF) (Figura 2).

Tratamento alcalino a quente

ATF (5g) previamente processadas foram embebidas por 1 hora em água destilada, seguida de 1 hora em solução alcalina de KOH 6%, a temperatura ambiente. Posteriormente, foram aquecidas em banho termostático com agitação (Blue M modelo MW1130 A-1) a 80°C por 2 horas e lavadas em água corrente durante 20 horas. Após as lavagens, as algas foram novamente embebidas em água por 1 hora e o pH medido (peagâmetro Denver Instruments modelo Basic), estando na faixa de 8,3-8,9. Posteriormente, as amostras foram submetidas ao processo de extração aquosa.

Extração aquosa

O processo de extração aquosa envolveu:

a) trituração das algas, previamente embebidas em água, com processador de alimentos Braun Multiquick MR400, até a obtenção de uma pasta;

b) extração aquosa a quente (80°C) por 2 horas;

c) filtração para separação das carragenanas (filtrado) do resíduo (basicamente celulose), realizada em um sistema a vácuo, composto por Kitassato de 1000mL, funil de Büchner com diâmetro de 13 cm e aspirador de aro portátil (Luferco 39191). Foi utilizado como filtro um tecido de nylon (tecido plano, 100% poliamida, estrutura: ligamento sarja 2/1, tipo de fio: multifilamento, gramatura: 440g/m² – F. Amendola, comunicação pessoal);

d) remoção do excesso de água e secagem. Optou-se pelo processo de gelificação, com KCl 0,2%, por ser mais econômico e por evitar perdas no processo de filtração. Os géis resultantes foram cortados em tiras e congelados, sendo posteriormente descongelados em água corrente, com fluxo moderado, processo repetido por mais duas vezes. Retirado o excesso de água, as tiras foram secas em estufa a 60°C por 12 horas, até obtenção de massa constante (Balança Semi-Analítica Marte Modelo AS 2000C). Essas tiras secas foram denominadas carragenana.

Experimentos Preliminares

Relação massa de ATF/volume de água para extração

Foram utilizadas amostras do tetrasporófito MR, cuja extração foi feita comparativamente, empregando-se um único lote de algas tratadas em solução alcalina fria (ATF), cultivadas e processadas em janeiro de 1999. Duas amostras de 5g, e duas de 10g foram extraídas em 400mL de água, sendo que uma amostra de 10g não foi tratada com solução alcalina a quente.

As soluções resultantes foram filtradas em tecido de nylon e as diferentes extrações foram comparadas quanto ao teor de carragenana (% em relação a ATF).

Filtros

O mesmo lote de amostras de ATF do experimento anterior foi utilizado para a escolha do filtro mais eficiente no processo de filtração a vácuo. Amostras de 5g de ATF foram processadas com tratamento alcalino a quente e extraídas em 400mL de água. Foram testados:

- a) filtro de nylon
- b) filtro de nylon e pré-camada de celite (terra de diatomácea),
- c) filtro de nylon e pré-camada de feltro,
- d) filtro de nylon, pré-camada de feltro e de celite.

A filtragem em diferentes filtros foi comparada quanto ao teor de carragenana (% em relação a ATF).

Tratamento Alcalino

Tempo e concentração de KOH

Nesse experimento, amostras de ATF do tetrasporófito MR, coletadas em janeiro de 1999, foram submetidas, em duplicata, a tratamentos alcalinos a quente (80°C), em diferentes concentrações (2, 4, 6 e 8%) de hidróxido de potássio (KOH) e tempos (30, 60, 90 e 120 min). Os resultados foram analisados quanto ao teor (% carragenana/ATF).

Temperatura e tempo

Nesse experimento, amostras de ATF do tetrasporófito MR, coletadas em janeiro de 1999, em duplicata, foram submetidas a tratamento alcalino a quente (KOH 6%), em diferentes temperaturas (70, 80 e 90°C) e tempos de tratamento (30, 60, 90 e 120 min). Os dados foram analisados quanto ao teor de carragenana (%carragenana/ATF).

Tratamento a frio e a quente

Para verificar a necessidade e a eficiência do tratamento alcalino, amostras do tetrasporófito MR coletadas no mês de dezembro de 2000, foram submetidas aos seguintes tratamentos:

- alga seca sem nenhum tratamento alcalino (20g);
- ATF (5g, que correspondem a 10g de alga seca, aproximadamente);
- alga seca seguida de tratamento alcalino a quente (80°C por 2 horas) (20g);
- ATF (5g), seguida de tratamento alcalino a quente (80°C por 2 horas).

Para cada tratamento, foram utilizadas duas amostras, e os resultados foram apresentados quanto ao teor de carragenana das amostras (%carragenana/ alga seca).

III. RESULTADOS

Experimentos preliminares

Relação da massa de ATF/volume de água para extração

Verificou-se que amostras de 5 e 10g (ATF) extraídas em 400mL de água resultaram em teores de carragenanas semelhantes, exceto para a amostra sem tratamento alcalino a quente, que apresentou valores mais baixos (Tabela 1).

Filtros

Observou-se que a amostra filtrada em tecido de nylon apresentou maior teor quando comparado com as demais (Tabela 2). O filtrado resultante foi visualmente mais límpido, sugerindo o maior grau de pureza da carragenana. A amostra filtrada em tecido de nylon e celite apresentou teor semelhante à primeira amostra, entretanto, foi observado que parte do celite passava para o filtrado, esbranquiçando a carragenana. Já o uso de feltro foi totalmente descartado, mesmo

quando usado em combinação, pois o tecido pode se romper, perdendo a função de filtro e contaminando a carragenana.

Tratamento alcalino

Tempo e concentrações

As amostras tratadas em solução alcalina de KOH a 2% apresentaram menores teores, independente do tempo de tratamento (Tabela 3). A baixa concentração de solução alcalina favoreceu a extração e conseqüentemente a perda de carragenana. Os maiores teores foram observados para amostras tratadas em solução a 6% e a 8% por 2 e 3 horas, respectivamente.

Temperaturas e tempos

Não foi observada grande variação nos teores entre os diferentes tratamentos (Tabela 4). Nota-se, entretanto, que há uma ligeira queda de teor quando as amostras são tratadas a 90°C, independente do tempo. Os maiores teores foram obtidos na amostra tratada a 80°C por 120 minutos.

Tratamento a frio e a quente

Amostras extraídas sem nenhum tipo de tratamento alcalino resultaram em teores de carragenana mais baixos (entre 7,56% e 11,03%) que as amostras com algum tipo de tratamento (Tabela 5, Fig. 3), pois no processo de extração, a solução tornou-se extremamente viscosa, dificultando a filtração posterior. Os maiores teores foram obtidos para amostras com tratamento alcalino a frio e com ambos tratamentos (entre 16,10% e 17,37%). Aquelas submetidas a tratamento alcalino a quente apresentaram teores intermediários. Nesse último processo, a solução apresentou ligeiramente viscosa, dificultando a filtração e conseqüentemente influenciando o teor final da carragenana.

IV. DISCUSSÃO

A determinação da proporção de alga seca de ATF por volume de água para extração foi importante, pois a quantidade de carragenanas em solução aquosa influencia na viscosidade e, portanto, no processo posterior de filtração. Dificuldades neste processo são críticas, pois podem levar a perdas no teor final de carragenanas. Amostras de 5g foram mais fáceis de manipular do que amostras de 10g, tanto no processo de filtração quanto no de secagem. Portanto, para os demais experimentos, optou-se por obedecer à proporção de 5g de alga/400 mL de água para extração.

Para o processo de filtração, a escolha de um filtro adequado é de grande relevância, visto que afetará diretamente o teor e a qualidade final do gel. Optou-se pelo filtro de nylon, por ter resultado em maior teor e carragenana mais límpida. Os outros dois filtros (celite e feltro), não se apresentaram tão eficientes, pois ambos contaminavam a carragenana filtrada.

Nos experimentos com diferentes tempos e concentrações de KOH no tratamento alcalino, observou-se que amostras tratadas em soluções a 6 e 8%, por 2 ou 3 horas, apresentaram teores muito próximos. Sendo assim, optou-se, por uma questão de praticidade, pela concentração de 6% por 2 horas.

Nos experimentos com diferentes temperaturas e tempos, foi obtido maior teor na amostra de ATF tratada a 80°C por 2 horas (61,7%), corroborando o tempo e temperatura citados por Ohno *et al.* (1994), sendo este tratamento utilizado nos experimentos posteriores.

Quanto ao tipo de tratamento alcalino, observou-se que amostras de ATF e aquelas com ambos os tratamentos apresentaram teores semelhantes, resultando em carragenanas esbranquiçadas e sem pigmentos. Já amostras sem nenhum tratamento alcalino ou apenas com tratamento alcalino a quente, além de teores mais baixos, consequência de perdas no processo de filtração, resultaram em carragenana com coloração escura, provavelmente devido à

presença de pigmentos. Nessas últimas, a solução extraída se tornou extremamente viscosa, dificultando a filtração. Provavelmente, o tratamento alcalino a frio estaria removendo impurezas que poderiam prejudicar o teor final de carragenana. Stanley (1987) observou que em furcelaranas, géis muito semelhantes à carragenana *kappa*, esse tratamento remove pigmentos e algumas proteínas, facilitando a extração. O mesmo poderia estar ocorrendo com a carragenana, já que essa apresenta reatividade com proteínas (principalmente com a caseína, presente no leite) (Glicksman 1983).

O tratamento alcalino a quente é igualmente importante ao frio, pois em temperaturas altas, promove a remoção de 6-sulfato das unidades de açúcar, produzindo 3,6-anidrogactose, e conseqüentemente aumentando a força do gel (Stanley 1987; Santos 1989).

Portanto, para os experimentos posteriores, optou-se pela combinação dos dois tratamentos, que além de aumentar o teor de carragenana, possivelmente estaria melhorando a qualidade do gel resultante.

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O método de extração (adaptado de Sijan & Ping 1984) foi desenvolvido considerando-se, particularmente, os equipamentos disponíveis no Laboratório de Algas Marinhas. Tal metodologia fornece estimativas dos teores de carragenanas mais compatíveis com as extrações industriais.

A filtração a vácuo foi um dos passos mais críticos do método, podendo resultar em erros nas estimativas do teor. Valores subestimados podem ocorrer devido à retenção das carragenanas no filtro, juntamente com outros resíduos (predominantemente celulose). Por outro lado, valores superestimados podem ocorrer pela passagem dos resíduos junto ao filtrado. Isto pode ser verificado visualmente pela aparência e coloração do mesmo. Filtrados incolores e translúcidos sugerem maior grau de pureza da solução de carragenanas, enquanto coloração mais escura sugere a presença de pigmentos e a opacidade (aspecto leitoso), a presença de celulose.

Verificou-se que o emprego adicional de tratamento alcalino a frio, previamente ao tratamento alcalino a quente, é muito importante para facilitar o processo de filtração a vácuo, resultando em carragenanas incolores e translúcidas, quando em solução aquosa (filtrado) e esbranquiçadas, quando secas. Além disso, não foram verificadas perdas acentuadas no decorrer do processo. A ausência do tratamento a frio, como descrito na literatura, resultou em soluções viscosas, difíceis de serem filtradas, e filtrado de coloração escura.

Portanto, a partir dos experimentos descritos acima, foi possível estabelecer uma metodologia padrão para a extração de carragenana de *K. alvarezii*, que envolve uma proporção de ATF por volume de água para extração de 5g/400mL e tratamento alcalino (com solução de KOH a 6%) a frio seguido de quente (80°C por 2 horas) anterior ao processo de extração aquosa.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Doty M.S. 1987. The production and use of *Eucheuma*. In: Doty M.S., Caddy J.F., Santelices B. (eds). *Case Studies of Seven Commercial Seaweed Resources*. FAO Fisheries Technical Paper 281:123-161.
- Glicksman M. 1983. Carrageenan and fucellaran. In: Glicksman M. (ed.). *Food Hydrocolloids*. Vol III. CRC PRESS, USA. 83-107.
- Ohno M., Largo D.B., Ikumoto T. 1994. Growth rate, carrageenan yield and gel properties on cultured *kappa*-carrageenan producing red alga *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty in the subtropical waters of Shikoku, Japan. *Journal of Applied Phycology* 6: 1-5.
- Santos G.A. 1989. Carrageenans of species of *Eucheuma* J. Agardh and *Kappaphycus* Doty (Solieriaceae, Rhodophyta). *Aquatic Botany* 36: 55-67.
- Sijan L. & Ping Z. 1984. The commercial cultivation of *Eucheuma* in China. *Hydrobiologia* 116-117: 243-245.
- Stanley N. 1987. Production, properties and uses of carrageenan. In: McHugh (ed.). *Production and utilization of products from commercial seaweeds*. FAO Fisheries Technical Paper 288:116-146.
- Trono G.C. & Lluisma A.O. 1992. Differences in biomass production and carrageenan yields among four strains of farmed carragenophytes in Northern Bohol, Phillippines. *Hydrobiologia* 247: 223-227.

Tabela 1 – Teor de carragenanas (% carragenana/ATF) em amostras de diferentes massas de ATF, com (+) e sem (-) tratamento alcalino a quente (80°C por 2 horas), extraídas em 400mL de água destilada (tetrasporófito MR cultivado em jan/1999).

Massa seca (gramas)	Tratamento alcalino A quente	Teor (% carragenana/ATF)
5,0	+	67,8
5,0	+	65,4
10,0	+	63,2
10,0	-	54,7

Tabela 2 - Teor de carragenanas (% carragenana /ATF) de amostras filtradas com diferentes tipos de filtros (tetrasporófito MR cultivado em jan/1999).

Tipo de Filtros	Teor (%carragenana/ATF)
Filtro de nylon	65,0
Filtro de nylon e celite	64,8
Filtro de nylon e feltro	61,2
Filtro de nylon, celite e feltro	63,2

Tabela 3 – Teor de carragenana (% carragenana/ATF) em amostras de ATF submetidas, em duplicata, ao tratamento alcalino à quente (80°C), em diferentes concentrações e em diferentes tempos (tetrasporófito MR cultivado em jan/2000).

	Tempo (horas)		
	1	2	3
[] KOH (%)	Teor (%carragenana/ATF)		
2	49,2	50,4	49,4
	45,4	49,6	46,4
4	55,6	49,2	47,0
	58,4	51,4	50,2
6	55,8	63,6	61,2
	55,6	63,2	63,6
8	54,2	62,2	63,8
	61,4	63,0	64,5

Tabela 4 – Teor de carragenana (% carragenana/ATF) em amostras de ATF submetidas ao tratamento alcalino à quente (KOH 6%), em diferentes temperaturas e em diferentes tempos (tetrasporófito MR cultivado em jan/1999).

	Temperatura (°C)		
	70	80	90
Tempo (min)	Teor (% carragenana/massa seca)		
30	59,6	59,2	53,8
	56,2	56,8	54,4
60	60,6	56,6	56,0
	59,6	56,8	55,6
90	58,6	58,0	54,8
	56,0	58,6	52,4
120	57,4	61,2	51,6
	57,6	62,2	50,8

Tabela 5 – Teor de carragenana (% carragenana/alga seca) em amostras submetidas, em duplicata, a tratamento alcalino (KOH 6%) a frio e a quente (80°C por 2 horas). (-) sem tratamento; (+) com tratamento (tetrasporófito MR, cultivado em dez/2000).

Tratamento alcalino		Teor (%carragenana refinada/ massa seca)
a frio	a quente	
-	-	11,03
		7,56
+	-	17,20
		16,10
-	+	12,98
		15,53
+	+	17,12
		17,37

Figura 1 – Métodos e etapas de extração de carragenana (adaptado de Sijan & Ping 1984).

Figura 2 – *Kappaphycus alvarezii*:
aparência da alga seca tratada em
solução alcalina a frio (ATF).

Figura 3 - Teor de carragenana (%carragenana/alga seca) de amostras do tetrasporófito MR, submetidas, em duplicatas, a diferentes tratamentos alcalinos: A) sem nenhum tratamento alcalino, B) com tratamento alcalino a frio, C) com tratamento alcalino a quente, D) com tratamento alcalino a frio seguido de quente.

CAPÍTULO 3 - TEOR DE CARRAGENANA DE *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty ex P. Silva, CULTIVADO EM UBATUBA, SP .

RESUMO

Carragenanas são hidrocolóides comercialmente importantes por suas características como agentes gelificante e estabilizante. Apesar do seu teor ser de grande interesse, os estudos publicados apresentam amplas variações. Esse trabalho tem como objetivo analisar o teor de carragenanas e possíveis variações sazonais em *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty, cultivado em Ubatuba, SP, entre 1999 e 2000. Foram estudados os tetrásporófitos marrom, verde e vermelho e uma linhagem derivada de tetrásporos. Os resultados foram comparados com *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux, proveniente de Ubatuba, e amostras comerciais de *Kappaphycus* spp. Os maiores teores foram obtidos para linhagem derivada de tetrásporos e amostras comerciais, que apresentaram valores muito próximos. Os tetrásporófitos marrom, verde e vermelho apresentaram teores mais baixos e semelhantes entre si. Observou-se sazonalidade entre os teores das 4 linhagens de *K. alvarezii*, que se correlacionaram negativamente com as taxas de crescimento. Carragenanas de *H. musciformis* apresentaram os menores teores quando comparadas com as outras amostras analisadas.

ABSTRACT

Carrageenans are commercially important hydrocolloids, because of their characteristics as gelling and stabilizing agents. Their yield is regarded with great interest, but nevertheless, published studies show wide variations. The purpose of this paper is to analyze and compare carrageenan yields and their possible seasonal variations in *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty farmed in Ubatuba, SP, between 1999 and 2000. Brown, green and red tetrasporophytes were studied, as was also, a strain derived from tetraspores. Results were compared with *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux from Ubatuba and with commercial samples of *Kappaphycus* spp. Highest yields were obtained from the strain derived from tetraspores and from the commercial samples, which produced very similar values. Brown, green and red tetrasporophytes produced lower yields, with similar values among themselves. Seasonality was observed among the yields of the 4 strains of *K. alvarezii*, which showed negative correlation with the growth rates. Carrageenans of *H. musciformis* showed lowest yields as compared with other analyzed samples.

I. INTRODUÇÃO

As carragenanas são colóides hidrofílicos comercialmente importantes por suas características como agente espessante, estabilizante, gelificante e emulsificante. São extraídos de várias espécies de algas vermelhas, entre elas, *Chondrus crispus* Stackhouse, *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux, *Eucheuma denticulatum* (Burman) Collins & Hervey e *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty (Stanley 1987, Reis 1998).

O teor das carragenanas de *K. alvarezii* apresenta grande interesse comercial, entretanto, existem relativamente poucos dados publicados que possam ser criticamente comparados. Os dados da literatura mostram amplas variações relacionadas a diversos fatores: a) métodos empregados na extração, b) origem das algas, se nativas ou cultivadas, c) linhagem, d) localidade, e) época do ano, f) tempo de coleta pós-plantio, g) crescimento e h) condições ambientais (qualidade da água, nutrientes, temperatura).

Vários estudos com a espécie cultivada nas Filipinas foram realizados. Azanza-Corrales & Sa-a (1990) referem teores de 18% a 56,65% em amostras das linhagens verde e marrom. Nesses estudos, não foram observados diferenças significativas entre as linhagens. Trono & Lluisma (1992) apresentaram teores de carragenana refinada e semi-refinada variando de 18,0% a 56,65%, e de 47,5% a 58,0%, respectivamente, para amostras de linhagens verde e marrom cultivadas nas Filipinas. Valores muito distintos (entre 4,7% e 11,6%) foram referidos por Hurtado-Ponce (1995), que comparou 3 linhagens (verde, vermelha e marrom) cultivadas em diferentes profundidades.

Para amostras provenientes da China e cultivadas no mar com e sem adição prévia de amônia, Rui *et al.* (1990) referem teores variáveis entre 47,5% a 58,0%. No Japão e Vietnã, os teores das carragenanas obtidos variaram, respectivamente, de 27,6 a 58,8% e de 39,1 a 51,9% (Ohno *et al.* 1994, 1996).

Alguns estudos relacionam a sazonalidade com o conteúdo de carragenanas, entretanto, esses não foram realizados para *K. alvarezii*. Zertuche-González *et al.* (1993) observaram teores mais altos de carragenanas (48%) no verão em amostras de *Eucheuma uncinatum* (Setchell & Gardner) Daw. cultivadas sob condições naturais, enquanto no inverno, os teores alcançavam no máximo 43,4%. Dawes *et al.* (1977), verificou aumento do conteúdo de carragenanas na primavera e diminuição no outono, nas cinco populações de *Eucheuma* estudadas na costa da Flórida. Em cultivos de *C. crispus*, observou-se aumento na acumulação de carragenana *kappa* em altas temperaturas, com adição semanal de nitrogênio e fósforo (Simpson & Shacklock 1979).

Esse trabalho tem como objetivo comparar o teor de carragenanas entre tetrasporófitos marrom (MR), verde (VD) e vermelho (VM) e a linhagem derivada de tetrásporos (G11) de *K. alvarezii*, provenientes do cultivo experimental de Ubatuba, SP e suas possíveis variações sazonais.

II. MATERIAL E MÉTODOS

O protocolo de extração descrito no Capítulo 2 foi utilizado para analisar e comparar o teor de carragenanas do tetrásporófito marrom (MR) e da linhagem derivada de tetrásporos (G11), coletados em 1999 e de 2000, e dos tetrásporófitos verde (VD) e vermelho (VM) coletados em 2000.

Para cada análise, foram utilizadas duas amostras de cada linhagem e determinados os teores de: alga seca (% alga seca/alga úmida), ATF (% ATF/alga seca) e carragenana (% carragenana/alga seca). Os teores obtidos foram correlacionados com taxas de crescimento, temperatura, salinidade e tempo de crescimento no mar (E. J. Paula & Pereira R. T. L., comunicação pessoal), a partir da Correlação de Spearman obtida pelo programa *Statistica* (versão 5.0). Os teores das amostras das diferentes linhagens também foram correlacionados entre si.

Os teores das 4 linhagens foram ainda comparados com *H. musciformis*, provenientes de Ubatuba, SP e amostras comerciais de *Kappaphycus* spp.

III. RESULTADOS

Amostras de 1999

O teor de alga seca por alga úmida variou pouco no decorrer do ano, permanecendo entre 6,12% (março) e 8,67% (dezembro) para o tetrasporófito marrom (MR) e entre 8,06% (maio) e 10,68% (dezembro) para a linhagem G11 (Fig. 1, Tabelas 1 e 2).

Os menores teores de ATF por alga seca foram obtidos no mês de maio (25,26%) para o tetrasporófito MR e no mês de março (32,85%) para a linhagem G11, enquanto os maiores teores (36,82% e 47,27%, respectivamente) foram obtidos em amostras do mês de dezembro (Fig. 2, Tabelas 1 e 2).

Os menores teores de carragenana por alga seca foram de 11,28% (maio) para o tetrasporófito MR e 12,40% (março) para a linhagem G11, enquanto os maiores foram de 19,97% (dezembro) e 29,33% (setembro), respectivamente (Fig. 3, Tabelas 2 e 3).

Entre as repetições, não foram observadas grandes variações, e quando essas ocorreram (em amostras G11 do mês de novembro), foram associadas a problemas de filtração (Figs. 3, Tabela 2).

Ao longo do ano, os teores de ATF por alga seca e carragenana por alga seca apresentaram menores teores entre janeiro e junho e maiores de agosto a dezembro, tanto para o tetrasporófito marrom (MR) quanto para a linhagem derivada de tetrásporos (G11) (Figs. 2 e 3).

Em geral, os teores de alga seca (%alga seca/alga úmida), ATF (% ATF/alga seca) e carragenana (%carragenana/alga seca) da linhagem G11 foram mais altos que as do tetrasporófito MR no decorrer do ano (Figs. 1 – 3, Tabelas 1 e 2).

Amostras de 2000

Semelhante ao ano anterior, o teor de alga seca por alga úmida variou pouco entre as amostras no decorrer do ano, permanecendo entre 7,26% (maio) e 8,07% (agosto) para o tetrasporófito MR, 6,79% (fevereiro) e 8,02% (agosto) para o tetrasporófito VD, 7,25% (fevereiro) e 8,24% (dezembro) para o tetrasporófito VM e entre 8,40% (abril) e 9,92% (agosto) para a linhagem G11 (Fig. 4, Tabelas 3 - 6). Uma amostra do tetrasporófito MR do mês de maio foi perdida no processo de extração.

Os menores teores de ATF por alga seca foram obtidos em maio para todas as linhagens (23,77% para o tetrasporófito MR, 23,03% para o tetrasporófito VD, 18,65% para o tetrasporófito VM e 31,19% para a linhagem G11), enquanto os maiores teores foram de 33,89% (dezembro), 33,25% (outubro), 32,18% (outubro) e 43,28% (agosto), respectivamente (Fig. 5, Tabelas 3 - 6).

Os menores teores de carragenana refinada por alga seca para o tetrasporófito MR foram de 12,14% (julho), 12,83% (maio) para o tetrasporófito VD, 10,38% (maio) para o tetrasporófito VM e 15,02% (maio) para a linhagem G11, e os maiores teores foram de 19,89% (dezembro), 18,85% (agosto), 19,14% (agosto) e 28,36% (agosto), respectivamente (Fig. 6, Tabelas 3 - 6).

Entre as repetições das 4 linhagens, não foram observadas grandes diferenças (Figuras 4 - 6, Tabelas 3 - 6).

Os teores de ATF por alga seca e carragenana por alga seca apresentaram menores valores entre fevereiro e maio e maiores, de julho a outubro nas 4 linhagens (Figs. 5 e 6, Tabelas 3 - 6).

Em geral, os teores de alga seca (%alga seca/alga úmida), ATF (% ATF por alga seca) e carragenana (%carragenana/alga seca) da linhagem G11 foram mais altos que às demais, no decorrer do ano (Figs. 4 - 6, Tabelas 3 - 6).

O teor de alga seca por alga úmida e ATF por alga seca de carragenanas extraídas de amostras de *H. musciformis*, foram mais altas que aqueles obtidos para as 4 linhagens, entretanto o teor de

carragenana por alga seca permaneceu na mesma faixa (Tabelas 3 – 7). Os teores de ATF por alga seca de carragenanas extraídas de amostras comerciais de *Kappaphycus* spp., foram superiores aos obtidos para as 4 linhagens, entretanto os teores de carragenana por alga seca permaneceram na mesma faixa dos teores obtidos para a linhagem G11 (Tabelas 3 – 7).

Correlação de Spearman

As principais correlações positivas observadas (Tabelas 8 e 9) foram:

- Teor de alga seca por alga úmida e de ATF por alga seca tanto dos tetrasporófitos MR e VD quanto da linhagem G11;
- Teor de alga seca por massa úmida e de carragenana por alga seca tanto do tetrasporófito MR quanto da linhagem G11;
- Teor de ATF por alga seca e de carragenana por alga seca tanto do tetrasporófito MR quanto da linhagem G11;
- Taxas de crescimento do tetrasporófito MR e da linhagem G11, e dos tetrasporófitos VD e VM.

As principais correlações negativas observadas (Tabelas 8 e 9) foram:

- Taxas de crescimento e todos os teores obtidos para o tetrasporófito MR e linhagem G11;
- Taxas de crescimento e teor de alga seca por massa úmida tanto para o tetrasporófito VD quanto para o VM;
- Taxas de crescimento e teor de ATF por alga seca, tanto para o tetrasporófito VD quanto para o VM;
- Taxas de crescimento e teor de carragenana por alga seca do tetrasporófito VD.

Entre os teores das 4 linhagens, as principais correlações positivas observadas (Tabela 10) foram as seguintes:

- Teor de massa úmida por alga seca das 4 linhagens;
- Teor de ATF por alga seca das 4 linhagens.

IV. DISCUSSÃO

Comparar os teores obtidos com dados da literatura é extremamente difícil, uma vez que esses são muito variáveis, de acordo com a metodologia empregada na extração, tipo de carragenana e linhagem de *K. alvarezii* (Tabela 11). Serão realizadas apenas comparações entre os dados obtidos no presente estudo.

Os teores de ATF por alga seca e carragenana refinada por alga seca apresentaram comportamento semelhante ao longo dos dois anos para o tetrasporófito MR e linhagem G11, e ao longo do ano 2000 para os tetrasporófitos de cor VD e VM, sugerindo sazonalidade, com teores mais baixos no primeiro semestre e teores mais altos no segundo.

H. musciformis apresentou teores mais altos de ATF por alga seca que aqueles obtidos para as 4 linhagens, enquanto o teor de carragenana refinada por alga seca, permaneceu na mesma faixa. Apesar disso, a carragenana obtida pode ser considerada de menor qualidade quando comparada com a de *K. alvarezii*, pois fragmentos extremamente finos da alga, não ficaram retidos no filtro, contaminando a solução resultante.

Os teores de carragenana por alga seca obtidos de amostras comerciais de *Kappaphycus* spp. foram muito próximos aos obtidos para a linhagem G11, sugerindo que essa linhagem poderia ser a mais indicada para cultivos comerciais.

Alguns teores obtidos para os tetrasporófitos VD e VM, não se correlacionaram de maneira lógica, provavelmente devido ao menor número de amostras, restritos apenas a um ano.

As correlações mais importantes obtidas foram entre as taxas de crescimento e os teores de alga seca por alga úmida, de ATF por alga seca e carragenana por alga seca. Variações no teor de carragenana por alga seca são mais aparentes, por essas serem mais manipuladas, aumentando a probabilidade de erro.

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi observado um padrão de sazonalidade entre os teores de alga seca por massa úmida, ATF por alga seca e carragenana por alga seca das 4 linhagens estudadas (tetrasporófitos MR, VD e VM e linhagem G11), com menores teores no primeiro semestre e maiores no segundo. As taxas de crescimento apresentaram relação inversa com esses teores, fato verificado em outros trabalhos (como Ohno *et al.* 1996).

Carragenanas de *H. musciformis*, apesar de apresentarem teores semelhantes às linhagens de *K. alvarezii*, são de menor qualidade, pois fragmentos da alga não ficam retidos no filtro, contaminando-as.

Não foram observadas grandes variações entre os teores do tetrasporófitos MR, VD e VM, entretanto, a linhagem G11, por apresentar os teores mais altos, e semelhantes às amostras comerciais, provavelmente seria a mais indicada para os cultivos.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azanza-Corrales R. & Sa-a P. 1990. The farmed *Eucheuma* species (Gigartinales, Rhodophyta) in Danajon Reef, Phillippines: carrageenan properties. *Hydrobiologia* 204/205: 521-525.
- Dawes C.J., Stanley N.F. & Stancioff D.J. 1977. Seasonal and reproductive aspects of plant chemistry, and *i*-carrageenan from Floridian *Eucheuma* (Rhodophyta, Gigartinales). *Botanica Marina* 20:137-147.
- Hurtado-Ponce, A.Q. 1995. Carrageenan properties and proximate composition of three Morphotypes of *Kappaphycus alvarezii* Doty (Gigartinales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 38: 215-219.
- Ohno M., Largo D.B., Ikumoto T. 1994. Growth rate, carrageenan yield and gel properties on cultured *kappa*-carrageenan producing red alga *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty in the subtropical waters of Shikoku, Japan. *Journal of Applied Phycology* 6: 1-5.
- Ohno M., Nang H.Q. & Hirase S.T. 1996. Cultivation and carageenan yield and quality of *Kappaphycus alvarezii* in the waters of Vietnam. *Journal of Applied Phycology* 8: 431-437.
- Reis R.P. 1998. Variação espaço-temporal de carragenana em *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux (Rhodophyta-Gigartinales) em bancos naturais do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Rio de Janeiro:UFRJ/CCS/PBV. Tese (Doutorado em Ciências Biológicas). 135p.
- Rui L., Jiajun L. & Wu C.Y. 1990. Effect of ammonium on growth and carrageenan content in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). *Hydrobiologia* 204/205: 499-503.
- Simpson F.J. & Shacklock P.F. 1979. The cultivation of *Chondrus crispus*. Effect of temperature on growth and carrageenan production. *Botanica Marina* 21: 295-298.
- Stanley N. 1987. Production, properties and uses of carrageenan. FAO Fisheries Technical Paper 288:116-146.

- Trono G.C. & Lluisma A.O. 1992. Differences in biomass production and carrageenan yields among four strains of farmed carragenophytes in Northern Bohol, Phillippines. *Hidrobiologia* 247: 223-227.
- Zertuche-González J.A., Pacheco-Ruíz I. & Soria-Mercado I.E. 1993. Carrageenan yield and properties of *Eucheuma uncinatum* (Seth & Gard.) Daw., cultured under natural conditions. *Hydrobiologia* 260/261: 601-605.

Tabela 1 - Teor (2 repetições) de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (%ATF/seca), carragenana por alga seca (%carrag./seca) e taxas de crescimento (T.C.), do tetrasporófito MR, cultivado em 1999. T.M. - temperatura média, Sal. M. - salinidade média da água e Tempo - tempo de crescimento no mar.

Mês	%seca/ úmida	% ATF/ seca	% carrag./ seca	T.C. (%dia-1)	Sal. M. (ppm)	T. M. (°C)	Tempo (dias)
Janeiro	6,51	31,19	16,68	7,5	31,3	27,5	41
	6,69	29,82	16,81	-	-	-	-
Março	6,12	30,68	15,77	8,4	33,1	29,0	34
	6,90	26,26	15,15	-	-	-	-
Abril	7,14	30,67	13,85	7,9	31,0	28,3	36
	7,16	29,09	12,94	-	-	-	-
Maio	7,35	25,29	12,80	7,0	31,2	25,1	35
	7,30	25,26	11,28	-	-	-	-
Junho	7,73	27,52	16,06	5,5	31,4	22,0	40
	7,60	27,25	16,82	-	-	-	-
Agosto	7,70	29,83	17,47	4,7	31,6	21,2	43
	7,70	30,15	17,56	-	-	-	-
Setembro	7,71	29,80	17,09	5,5	31,2	21,1	37
	7,79	29,50	16,59	-	-	-	-
Outubro	6,89	28,72	15,78	5,2	30,4	21,5	39
	7,15	30,86	15,71	-	-	-	-
Novembro	8,37	32,28	14,97	3,6	-	20,6	37
	7,81	35,11	15,81	-	-	-	-
Dezembro	8,67	36,82	18,10	5,1	29,6	23,4	34
	8,60	36,74	19,97	-	-	-	-

Tabela 2 - Teor (2 repetições) de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (%ATF/seca), carragenana por alga seca (%carrag./seca), e taxas de crescimento (T.C.), da linhagem G11, cultivada em 1999. T.M. - temperatura média, Sal. M. - salinidade média da água e Tempo - tempo de crescimento no mar.

Mês	%seca/ úmida	% ATF/ seca	%carrag./ seca	T.C. (%dia-1)	Sal. M. (ppm)	T. M. (°C)	Tempo (dias)
Janeiro	8,51	36,55	20,15	4,26	31,3	27,5	41
	8,59	36,95	18,28	-	-	-	-
Março	8,15	33,86	12,40	5,63	33,1	29,0	34
	8,53	32,85	10,90	-	-	-	-
Abril	8,59	37,26	14,87	5,65	31,0	28,3	36
	9,05	36,93	16,75	-	-	-	-
Maio	8,34	33,81	22,65	4,95	31,2	25,1	35
	8,06	34,09	18,37	-	-	-	-
Junho	9,01	35,09	21,56	3,70	31,4	22,0	40
	8,88	34,35	18,80	-	-	-	-
Agosto	9,46	40,54	23,39	2,21	31,6	21,2	43
	9,36	40,98	22,42	-	-	-	-
Setembro	9,49	42,69	29,33	3,37	31,2	21,1	37
	9,43	41,81	27,37	-	-	-	-
Outubro	9,08	39,78	27,33	3,53	30,4	21,5	39
	8,95	39,25	25,02	-	-	-	-
Novembro	10,43	44,80	27,51	2,37	-	20,6	37
	10,34	45,83	16,80	-	-	-	-
Dezembro	10,68	47,27	25,32	3,22	29,6	23,4	34
	10,52	46,35	25,01	-	-	-	-

Tabela 3 - Teor (2 repetições) de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (%ATF/seca), carragenana por alga seca (%carrag./seca), e taxas de crescimento (T.C.) do tetrasporófito MR, cultivado em 2000. T.M. - temperatura média, Sal. M. - salinidade média e Tempo - tempo de crescimento no mar.

Mês	%seca/ úmida	% ATF/ seca	% carrag./ seca	T.C. (%dia ⁻¹)	Sal. M. (ppm)	T. M. (°C)	Tempo (dias)
Fevereiro	7,46	29,41	14,66	5,87	32,4	27,3	35
	7,37	27,27	13,97	-	-	-	-
Março	7,59	27,48	15,71	6,00	32,2	26,6	28
	7,64	27,27	15,97	-	-	-	-
Abril	7,37	27,09	14,93	6,61	32,1	24,5	40
	7,42	27,71	15,10	-	-	-	-
Maio	7,26	23,77	13,13	5,97	33,2	24,7	44
	-	-	-	-	-	-	-
Julho	7,66	28,32	12,14	4,91	34,4	21,9	48
	7,71	28,67	13,63	-	-	-	-
Agosto	8,07	32,05	17,24	2,77	33,4	20,1	47
	8,07	32,57	18,46	-	-	-	-
Outubro	7,75	32,07	15,30	2,47	30,1	22,2	64
	7,73	33,22	15,18	-	-	-	-
Dezembro	7,75	33,60	19,89	3,22	31,4	24,2	42
	7,50	33,89	19,45	-	-	-	-

Tabela 4 - Teor (2 repetições) de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (%ATF/seca), carragenana por massa seca (%carrag./seca), e taxas de crescimento (T.C.) do tetrasporófito VD, cultivado em 2000. T.M. - temperatura média, Sal. M. - salinidade média e Tempo - tempo de crescimento no mar.

Mês	%seca/ úmida	% ATF/ seca	% carrag./ seca	T.C. (%dia ⁻¹)	Sal. M. (ppm)	T. M. (°C)	Tempo (dias)
Fevereiro	7,13	28,39	18,74	5,41	32,4	27,3	35
	6,79	28,10	16,81	-	-	-	-
Março	7,55	27,34	15,71	5,80	32,2	26,6	28
	7,45	27,08	15,65	-	-	-	-
Abril	7,35	27,00	14,38	6,27	32,1	24,5	40
	7,36	27,26	14,66	-	-	-	-
Maio	7,42	25,63	13,45	5,85	33,2	24,7	44
	7,24	23,03	12,83	-	-	-	-
Julho	7,79	27,69	14,47	4,61	34,4	21,9	48
	7,94	28,51	16,21	-	-	-	-
Agosto	8,02	30,46	17,52	2,61	33,4	20,1	47
	8,02	30,89	18,85	-	-	-	-
Outubro	7,66	33,25	16,06	2,46	30,1	22,2	64
	7,63	32,68	16,48	-	-	-	-
Dezembro	7,94	32,31	13,39	3,08	31,4	24,2	42
	7,65	31,22	15,16	-	-	-	-

Tabela 5 - Teor (2 repetições) de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (%ATF/seca), carragenana por alga seca (%carrag./seca), e taxas de crescimento (T.C.) do tetrasporófito VM, cultivado em 2000. T.M. - temperatura média, Sal. M. - salinidade média e Tempo - tempo de crescimento no mar.

Mês	%seca/ úmida	% ATF/ seca	% carrag./ seca	T.C. (%dia ⁻¹)	Sal. M. (ppm)	T. M. (°C)	Tempo (dias)
Fevereiro	7,25	27,39	16,25	5,72	32,4	27,3	35
	7,28	27,93	16,34	-	-	-	-
Março	7,68	27,40	14,76	5,98	32,2	26,6	28
	7,58	26,77	15,14	-	-	-	-
Abril	7,43	27,26	16,29	6,70	32,1	24,5	40
	7,33	27,71	15,91	-	-	-	-
Maio	7,51	28,18	17,62	5,91	33,2	24,7	44
	7,42	18,65	10,38	-	-	-	-
Julho	8,05	27,75	15,44	4,92	34,4	21,9	48
	7,92	28,35	14,13	-	-	-	-
Agosto	7,93	30,64	17,55	2,67	33,4	20,1	47
	8,16	30,89	19,17	-	-	-	-
Outubro	7,55	32,18	16,04	2,72	30,1	22,2	64
	7,49	32,49	15,73	-	-	-	-
Dezembro	8,24	31,71	13,49	2,92	31,4	24,2	42
	8,11	30,52	13,51	-	-	-	-

Tabela 6 - Teor (2 repetições) de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (%ATF/seca), carragenana por alga seca (%carrag./seca), e taxas de crescimento (T.C.) da linhagem G11, cultivada em 2000. T.M. - temperatura média, Sal. M. - salinidade média e Tempo - tempo de crescimento no mar.

Mês	%seca/ úmida	% ATF/ seca	% carrag./ seca	T.C. (%dia ⁻¹)	Sal. M. (ppm)	T. M. (°C)	Tempo (dias)
Fevereiro	9,26	37,79	20,29	3,94	32,4	27,3	35
	8,93	37,25	19,80	-	-	-	-
Março	9,11	36,68	20,74	4,27	32,2	26,6	28
	9,31	38,13	19,79	-	-	-	-
Abril	8,45	35,18	20,19	4,71	32,1	24,5	40
	8,40	34,67	20,26	-	-	-	-
Maio	8,56	31,19	18,20	3,81	33,2	24,7	44
	8,47	31,28	15,02	-	-	-	-
Julho	9,02	39,89	23,22	2,72	34,4	21,9	49
	8,96	39,22	21,99	-	-	-	-
Agosto	9,72	43,28	28,36	1,81	33,4	20,1	47
	9,92	43,04	26,26	-	-	-	-
Outubro	9,25	42,36	23,64	1,28	30,1	22,2	64
	8,96	41,60	23,05	-	-	-	-

Tabela 7 - Teor de alga seca por massa úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (%ATF/seca) e carragenana por massa seca (%carrag./seca) de 2 amostras de *Hypnea musciformis*, coletadas em Ubatuba, SP, e 2 amostras comerciais de *Kappaphycus* spp.

Amostra	%seca/ úmida	%ATF seca	%carrag./ seca
<i>Hypnea</i> 1	12,32	38,96	17,82
<i>Hypnea</i> 2	11,68	44,04	20,99
Comercial 1	-	47,94	25,63
Comercial 2	-	50,96	29,46

Tabela 8 - Coeficientes de correlação entre teor de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (ATF/seca), carragenana por alga seca (%car./seca), taxa de crescimento (T.C./ %dia⁻¹), temperatura média (T.M. /°C) salinidade média (Sal. M./ppm) e tempo de crescimento no mar (Tempo/dias), do tetrasporófito MR e linhagem G11 cultivados em 1999 e 2000. Correlações em vermelho são significativas com p<0,05.

	Marrom				G11				T. M.	Sal. M.	Tempo
	%seca/úmida	%ATF/seca	%car./seca	TC	%seca/úmida	%ATF/seca	%car./seca	TC			
Marrom	%seca/úmida	-									
	%ATF/seca	0,3838	-								
	%car./seca	0,4559	0,5709	-							
	TC	-0,7784	-0,4902	-0,4060	-						
G11	%seca/úmida	0,7609	0,5327	0,6395	-0,6719	-					
	%ATF/seca	0,7259	0,7290	0,5400	-0,7869	0,8693	-				
	%car./seca	0,6699	0,4634	0,4554	-0,7744	0,7011	0,7909	-			
	TC	-0,7514	-0,5705	-0,4983	0,9687	-0,6762	-0,8111	-0,7710	-		
T.M.		-0,0383	-0,3387	-0,1248	0,0536	-0,0896	-0,2273	-0,2077	0,0321	-	
Sal. M.		-0,6632	-0,2745	-0,4587	0,8186	-0,5879	-0,6525	-0,8530	0,7964	-0,0107	-
Tempo		0,2762	0,3092	0,0840	-0,6066	0,0764	0,3213	0,3352	-0,6500	0,1092	-0,5479 -

Tabela 9 - Coeficientes de correlação entre teor de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (ATF/seca), carragenana por alga seca (%car./seca), taxas de crescimento (T.C./%dia⁻¹), temperatura média (T.M./°C) salinidade média (Sal. M./ppm) e tempo de crescimento no mar (Tempo/dias), dos tetrásporos VD e VM cultivados em 2000. Correlações em vermelho são significativas com p<0,05.

	Verde				Vermelha				T. M.	Sal. M.	Tempo
	%seca/úmida	%ATF/seca	%car./seca	TC	%seca/úmida	%ATF/seca	%car./seca	TC			
Verde	%seca/úmida	-									
	%ATF/seca	0,6059	-								
	%car./seca	0,1971	0,4941	-							
	TC	-0,6982	-0,9231	-0,5266	-						
Vermelha	%seca/úmida	0,8971	0,4412	-0,0412	-0,5207	-					
	%ATF/seca	0,6765	0,8706	0,3324	-0,8521	0,4882	-				
	%car./seca	-0,0324	-0,0147	0,5029	-0,0533	-0,2176	0,1735	-			
	TC	-0,7278	-0,8343	-0,4971	0,9524	-0,5503	-0,8343	-0,1538	-		
T.M.		0,1716	-0,3728	0,1657	0,1429	0,1420	-0,2663	0,2189	-0,0476	-	
Sal. M.		-0,8698	-0,5326	-0,1834	0,6429	-0,6627	-0,6509	-0,0947	0,7143	-0,2143	-
Tempo		0,5799	0,4971	0,0888	-0,6429	0,3195	0,6687	0,0651	-0,6905	0,1190	-0,8095

Tabela 10 - Coeficientes de correlação entre teor de alga seca por alga úmida (%seca/úmida), ATF por alga seca (ATF/alga seca) e carragenana por alga seca (%car.) dos tetrasporófitos MR, VD e VM e linhagem G11, cultivados em 2000. Correlações em vermelho são significativas com $p < 0,05$.

		Marrom			Verde			Vermelha			G11		
		%seca	%ATF	%car.	%seca	%ATF	%car.	%seca	%ATF	%car.	%seca	%ATF	%car.
Marrom	%seca	-											
	%ATF	0,8322	-										
	%car.	0,5315	0,3287	-									
Verde	%seca	0,9161	0,6434	0,3776	-								
	%ATF	0,7483	0,8951	0,2168	0,5524	-							
	%car.	0,4336	0,6014	0,3217	0,2448	0,6853	-						
Vermelha	%seca	0,7413	0,3357	0,3427	0,9091	0,2448	0,0559	-					
	%ATF	0,6993	0,7972	0,1748	0,6014	0,9091	0,4895	0,3217	-				
	%car.	0,1049	0,1748	0,3217	-0,0070	0,2517	0,4965	-0,0979	0,2378	-			
G11	%seca	0,6853	0,4965	0,6643	0,5175	0,4126	0,5664	0,5175	0,1608	0,2587	-		
	%ATF	0,9231	0,7832	0,3986	0,7972	0,7972	0,5385	0,6364	0,7203	0,2727	0,7063	-	
	%car.	0,8671	0,8042	0,3147	0,8531	0,7552	0,4056	0,6643	0,7483	0,2517	0,5035	0,8252	-

Tabela 11 – Teor (% por alga seca) de carragenanas extraídas de *Kappaphycus alvarezii* de diferentes linhagens, segundo diferentes autores.

Autor	Linhagem	Carragenana	Teor (%)
Azanza-Corrales & Sa-a 1990	Verde	Refinada	19,35 – 56,65
	Marrom		18,0 – 47,50
Rui <i>et al.</i> 1990	-	Refinada	47,5 – 58,0
Trono <i>et al.</i> 1992	Verde	Refinada	33,18 - 51,30
	Marrom		26,51 – 49,74
	Verde	Semi-refinada	33,68 – 54,86
	Vermelha		31,40 – 41,48
Ohno <i>et al.</i> 1994	-	Refinada	27,6 – 58,8
Hurtado-Ponce 1995	Marrom	Refinada	7,5 – 8,5
	Verde		4,7-4,8
	Vermelha		10,8-11,6
Ohno <i>et al.</i> 1996	-	Refinada	39,1 – 51,9
Esse trabalho	Marrom	Refinada	11,28 – 19,97
	Verde		12,83 – 18,85
	Vermelha		10,38 – 19,17
	G11		10,90 – 29,33

Figura 1 - Teor de alga seca (% alga seca/alga úmida) de amostras (2 repetições) do tetrasporófito MR e linhagem G11, cultivados no ano de 1999.

Figura 2 - Teor de ATF (% ATF/alga seca) em amostras (2 repetições) do tetrasporófito MR e linhagem G11, cultivados no ano de 1999.

Figura 3 - Teor de carragenna (% carragenana/alga seca) de amostras do tetrasporófito MR e linhagem G11 com tratamento alcalino a frio (KOH 6%), seguido de tratamento a quente (80°C por 2 horas), cultivados no ano de 1999.

Figura 4 - Teor de alga seca (% alga seca/alga úmida) de amostras (2 repetições) dos tetrasporófitos MR, VD e VM, e linhagem G11, cultivados em 2000.

Figura 5 - Teor de ATF (%ATF/alga seca) de amostras (2 repetições) dos tetrasporófitos MR, VD e VM e linhagem G11, cultivados em 2000.

Figura 6 - Teor de carragenana (%carragenana/alga seca) de amostras (2 repetições) dos tetrasporófitos MR, VD e VM e linhagem G11, com tratamento alcalino a frio (KOH 6%) seguido de quente (80°C por 2 horas), cultivados em 2000.

CAPÍTULO 4 - QUALIDADE DO GEL DE CARRAGENANA DE *Kappaphycus alvarezii* CULTIVADO EM UBATUBA, SP.

RESUMO

A força do gel e a caracterização química (conteúdo de sulfato e 3,6 anidro-D-galactose) são parâmetros de grande interesse para avaliar a qualidade da carragenana. Esse trabalho tem como objetivo analisar e comparar a força do gel e o conteúdo de 6-sulfato e de 3,6-anidro-D-galactose das carragenanas extraídas de *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty, cultivados em Ubatuba, SP, no ano de 2000. Esses parâmetros foram avaliados para amostras de carragenanas com diferentes tratamentos anteriores à extração (sem nenhum tratamento alcalino, com tratamento alcalino a frio, com tratamento alcalino a quente e com tratamento alcalino a frio seguido de quente). As carragenanas extraídas de algas com tratamento alcalino a frio seguido de quente apresentaram géis de melhor qualidade, com maior conteúdo de 3,6 anidro-D-galactose e força do gel. Foram analisadas também carragenanas dos tetrásporófitos marrom, verde e vermelho e uma linhagem derivada de tetrásporos. Essa última apresentou os melhores resultados, quando comparada às demais. Para as análises de força do gel foram utilizadas ainda amostras de *Hypnea musciformes* (Wulfen) Lamouroux e amostras comerciais de carragenana semi-refinada, que apresentaram valores menores quando comparadas àquelas de *K. alvarezii*. Observaram-se, em amostras comerciais de *Kappaphycus* spp. e da linhagem derivada de tetrásporos, valores de força do gel aproximados.

ABSTRACT

Gel strength and chemical characteristics (sulphate and 3,6 anhydro-D-galactose contents) are outstanding parameters for the evaluation of the carrageenan quality. The purpose of this paper is to analyze and compare gel strength and 6-sulphate and 3,6 anhydro-D-galactose contents of the carrageenan extracted from *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty farmed in Ubatuba, SP, in 2000. Those parameters were evaluated for carrageenan samples submitted to different treatment carried out previously to the extraction (no alkali treatment, cold alkali treatment, hot alkali treatment and cold alkali treatment followed by hot). The carrageenan extracted from seaweed submitted to cold alkali treatment followed by hot produced the best quality gels, with the highest 3,6 anhydro-D-galactose content and gel strength. Carrageenans of brown, green and red tetrasporophytes as well as of a strain derived from tetraspores, were also analysed. Best results were obtained from the strain derived from tetraspores as compared with the others. Samples of *Hypnea musciformes* (Wulfen) Lamouroux were also utilized for the gel strength analysis, as well as commercial samples of semi-refined carrageenan, which presented lower values as compared to those of the *K. alvarezii*. Similar values of gel strength were observed in the commercial samples of *Kappaphycus* spp. and in the strain derived from tetraspores.

I. INTRODUÇÃO

As carragenanas são definidas no "Food Chemicals Codex III", como o produto obtido pela extração aquosa ou álcali aquoso de certos membros da Classe Rhodophyceae. Consistem principalmente de potássio, sódio, magnésio, cálcio, e sulfato de éster amônio de copolímeros de galactose e 3,6 anidrogactose (Glicksman 1983).

Quase todas as carragenanas são estruturalmente heterogêneas com variações ocorrendo dentro e entre os polissacarídeos. Uma variedade de diferentes tipos de irregularidades, influenciando suas propriedades funcionais, pode ocorrer nas amostras. A alga e a metodologia favorecerão estruturas particulares e aumentarão a regularidade da amostra (Morris 1998).

A extração de carragenanas envolve um tratamento alcalino a quente, que resulta na conversão de resíduos de galactose-6-sulfato para a forma de anidrido, sendo utilizado para aumentar a sua habilidade gelificante (Morris 1998). Alguns métodos comerciais referem, anteriormente ao tratamento alcalino a quente, um tratamento alcalino a frio seguido de exposição ao sol (Sijan & Ping 1984, Doty 1987).

A força do gel e a caracterização química da carragenana (conteúdo de sulfato e 3,6 anidro-D-galactose) são de grande interesse comercial. As carragenanas *kappa* utilizadas em alimentos possuem conteúdo de sulfato de aproximadamente 25%, e conteúdo de 3,6 anidro-D-galactose próximo ao máximo teórico de 35% (Glicksman 1983). Entretanto, em dados apresentados na literatura, esses conteúdos podem variar de acordo com espécies e metodologias utilizadas. Para carragenanas extraídas de espécies nativas de *Eucheuma* (Agardh) da Flórida, foi observado conteúdo de 3,6 anidro-D-galactose variando de 16,9% a 20,8% (Dawes 1977), enquanto espécies do mesmo gênero, cultivados na China, em diferentes épocas do ano, apresentaram teores de 26,46% a 33,27%, e conteúdo de sulfato de 15,18% a 27,39% (Maoxin & Zongcun 1988). Para *Eucheuma uncinatum* (Setchell & Gardner) Daw.,

foram observados teores de 14,8% a 23,9% e 15,5% a 32,8%, respectivamente (Zertuche-González *et al.* 1993).

Para *K. alvarezii*, Santos (1989) apresentou teor de sulfato de 24% e de 29% para 3,6 anidrogactose, enquanto Azanza-Corrales & Sa-a (1990) apresentaram conteúdos de sulfato que variaram de 27,71% a 36,52% para a linhagem verde e de 28,99% a 36,52% para a linhagem marrom. Hurtado-Ponce (1995), em seus estudos com 3 linhagens de *K. alvarezii*, cultivados em diferentes profundidades (50cm e 100cm), refere teores de sulfato de 20,6% a 22,2% para a linhagem marrom, 15,2% a 15,7% para a linhagem verde e 15,7% a 15,9% para a linhagem vermelha.

Saito e Oliveira (1990) referem teores de 3,6 anidro-D-galactose de 25,2% a 31,4%, e teores de sulfato de 17,6% a 20,1% para *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux. Para *Agardhiella subulata*, Chopin *et al.* (1990) observaram teores de 15,7% e 37,7%, respectivamente.

Dawes (1977) não verificou diferenças entre o conteúdo de sulfato e de 3,6 anidro-D-galactose nas carragenanas do tipo *iota* ao longo do ano. O mesmo não foi observado por Maoxin & Zongcun (1988) que verificaram maior teor de 3,6 anidro-D-galactose e sulfato no inverno e menores no verão. Esses autores sugerem que a formação de 3,6 anidro-D-galactose e o processo simultâneo de dessulfatação ocorre continuamente na carragenana do tecido da alga, resultando em alto teor e menor conteúdo de sulfato em tecidos velhos.

Os dados de força de gel são ainda mais variáveis, entre 1 a 1158 g/cm² (Dawes *et al.* 1977, Santos 1989, Rui *et al.* 1990, Azanza-Corrales & Sa-a 1990, Hurtado-Ponce 1995, Ohno 1994, 1996). Essa variação decorre principalmente do tipo de equipamento utilizado nas medições, do modo de preparo do gel para as análises (que pode ser na concentração de 1,5% ou 2,0%), pelo acréscimo ou não de KCl 0,2% para a gelificação da carragenana, e pelo emprego ou não de tratamento alcalino previamente à extração. Rui *et al.* 1990, observaram variação de 70 a 165g/cm² na força de gel de amostras cultivadas em tanque com ou sem fertilização por nitrogênio. Ohno *et al.* (1994, 1996) observaram valores de

força do gel menores (em torno de 500g/cm²) em amostras sem acréscimo de KCl 0,2% e valores expressivamente maiores naquelas analisadas com acréscimo do sal (em torno de 1500g/cm²). Hurtado-Ponce (1995), observou que a linhagem marrom sempre apresentou menores valores de força do gel (entre 1 e 3g/cm²), quando comparado às outras linhagens.

Esse trabalho tem como objetivo analisar algumas propriedades físicas e químicas das carragenanas extraídas (força do gel, conteúdo de 6-sulfato e 3,6-anidro-D-galactose), em *Kappaphycus alvarezii*, cultivados em Ubatuba no ano de 2000.

II. MATERIAL E MÉTODOS

As análises foram feitas com amostras de carragenanas extraídas do tetrásporófito marrom (MR), verde (VD) e vermelho (VM) e linhagem derivada de tetrásporos (G11), cultivadas em 2000, e aquelas com diferentes tratamentos alcalinos (sem nenhum tratamento, com tratamento alcalino a frio, com tratamento alcalino a quente, e com tratamento alcalino a frio seguido de quente) (Capítulo 3). Para as análises de força do gel, foram utilizadas ainda carragenanas de *Hypnea musciformes*, e de amostras comerciais de *Kappaphycus* spp. (Capítulo 3), além de amostras comerciais de carragenana semi-refinada.

Determinação do conteúdo de sulfato – Método turbidimétrico (adaptado de Saito 1997)

Reagentes

- Solução padrão de sulfato:

Foi dissolvido 0,5434g (3,12 μmol) de Na_2SO_4 seco, grau analítico, em 100 mL de água destilada.

- HCl 0,5M:

Foi adicionado 4,2 mL de HCl concentrado em 30 mL de água destilada e, posteriormente, o volume foi completado para 100 mL.

- Reagente de Cloreto de Bário e gelatina:

Foi dissolvida 0,6 g de gelatina (Dfico-Bacto gelatin) em 200 mL de água quente (60-70°C) e guardada em refrigerador (5°C) por uma noite. Depois de cerca de 16 horas, o fluido semigelatinoso foi deixado à temperatura ambiente (25°C). Posteriormente, foi adicionado 2,0 g de $\text{BaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ grau analítico e a solução foi agitada com o auxílio de barras magnéticas, até a dissolução do BaCl_2 . O reagente foi armazenado em refrigerador (5°C). Antes das análises, o reagente foi mantido em temperatura ambiente (25°C) por 2 horas em constante agitação, com auxílio de barra magnética, para garantir homogeneidade.

- Vidraria:

Toda a vidraria, incluindo as cubetas do espectrofotômetro, foi lavada com HCl 2% e enxaguada com água destilada, tomando cuidado para evitar contaminação por sulfato.

Soluções para a determinação da curva padrão

Foi pipetado 100 μ L, 250 μ L, 500 μ L, 750 μ L, 1 mL, 1,3 mL, 1,6 mL, 2,0 mL, 3,2 mL e 4 mL da solução padrão de sulfato em tubos de 50 mL. O volume foi completado para 20 mL com água destilada e as soluções misturadas.

Hidrólise da carragenana

Os métodos para a determinação de sulfato em polissacarídeos dependem da realização da hidrólise completa dos esteres, seguido da precipitação quantitativa do sulfato liberado (Craigie & Leigh 1978).

Tubos cônicos para centrífuga (Tubos Falcon) de 15 mL foram secos em estufa a 60°C por um dia e esfriados em dessecador. Foram depositadas no fundo de cada tubo 30-50mg de amostras de carragenana de cada linhagem, secas em estufa a 60°C por uma noite. Foram adicionados 100 μ L de etanol 95% para umedecer a amostra, e 0,5mL de HCl 0,5N. Os tubos foram fechados e as amostras hidrolisadas em água fervente por 2 horas. Após esse período, as amostras foram retiradas da água e o exterior dos tubos enxaguado com água destilada. O volume foi completado para 10mL e as soluções transferidas para tubos de centrífuga de 14mL (Sorvall). As amostras foram centrifugadas em Centrífuga Sorvall RC 5C Plus, a 12000rpm por 15min, para remover materiais em suspensão. Foram pipetados 2,0mL do líquido sobrenadante (solução-estoque) em tubos cônicos (Tubos Falcon) de 50 mL.

Quantificação de sulfato:

Em tubos cônicos para centrífuga de 50mL (Tubos Falcon) foram colocados: 2,0mL de água destilada (branco) ou solução padrão de sulfato ou solução-estoque de amostra; 18,0mL de água destilada e 2,0mL de HCl 0,5N, sendo agitados por alguns segundos. Foi adicionado 1,0mL do reagente gelatina-BaCl₂ e a solução agitada novamente. Os tubos foram deixados à temperatura ambiente por 30 minutos. Quando o conteúdo de sulfato era muito alto, as subamostras eram diluídas em água destilada, de maneira que o volume alterado resultasse em um total de 20mL (por exemplo, quando o volume da amostra fosse de 3mL, o volume da água destilada seria de 17mL). A absorbância foi lida em espectrofotômetro Hewlett Packard 8452A, a 550nm, usando cubetas de quartzo de 1,0cm. A curva padrão foi plotada em um gráfico, apresentando-se linear. As leituras foram feitas em triplicatas e os resultados apresentados quanto a quantidade de sulfato presente nas amostras pela quantidade total de carragenana.

Determinação da quantidade de 3,6 anidro-D-galactose – Método Colorimétrico (adaptado de Matsuhira 1995).**Reagentes**

- Solução de timol (Thymol /5-methyl-2-isopropylphenol) Sigma p.a. a 5% em etanol a 98%.
- Solução de cloreto férrico p. a. a 0.5% em ácido clorídrico concentrado p.a.

Curva padrão

A curva-padrão foi construída com soluções de α -metil-3,6-anidro-D-galactopiranosose (Methyl 3,6-anhydro- α -D-galactopyranoside) Sigma (12-120 μ g), aplicando o método de regressão linear. Foi utilizado um fator de correção de 0,92 para calcular a concentração de 3,6 anidrogallactose.

Preparo da amostra para análise

Aproximadamente 10mg de carragenana de cada linhagem, foram secos em estufa a 60°C por uma noite e depositados no fundo de tubos cônicos para centrífuga (Tubos Falcon) de 50mL. Foram adicionados 40mL de água destilada e os tubos foram mantidos em banho-maria (Blue M modelo MW1130 A-1) a 95-100°C até a dissolução completa da carragenana. Posteriormente, o volume foi completado para 50mL. A solução obtida foi a solução estoque das amostras.

Quantificação de 3,6 anidro-D-galactose:

Em tubos cônicos para centrífuga (Tubos Falcon) de 15mL, foram colocados 2mL de água destilada; 0,5mL de solução de timol; 5mL de solução de cloreto férrico e 2mL da solução estoque das amostras. Os tubos foram agitados em Vortex e fechados. As amostras foram aquecidas 13 minutos em banho de água (Blue M modelo MW1130 A-1) a 80°C e esfriadas rapidamente em banho de gelo-água. Foram acrescentados 10mL de etanol 98% nas soluções e as amostras foram lidas, em triplicatas, a 635nm.

Os resultados foram apresentados quanto a quantidade de 3,6 anidro-D-galactose presente nas amostras pela quantidade total de carragenana.

Determinação da força do gel (adaptado de Ohno *et al.* 1994)

Os géis feitos com uma concentração de 1,5% de carragenana, foram gelificados com o acréscimo de KCl a 0,2% um dia antes das análises. Foram utilizadas amostras das 4 linhagens cultivadas em abril e julho. Esses meses foram escolhidos por apresentarem os maiores e menores conteúdos de sulfato e 3,6 anidro-D-galactose, respectivamente.

As amostras de carragenana foram mantidas em estufa a 60°C por uma noite, para secagem. Foram pesadas 2,4g de carragenana, embebidas em 140mL de água destilada fria por 1 hora e levadas ao banho termostático com agitação (Blue M modelo MW1130 A-1), até a

dissolução completa da carragenana (a 80°C). A solução foi agitada com auxílio de barras magnéticas, em agitador magnético com aquecimento (Fisatom Modelo 753T), e 3,2mL de KCl 10% foi acrescentado vagarosamente. Na solução total, a concentração KCl foi 0,2%. O volume foi completado para 160mL e a solução transferida para recipientes de vidro cilíndricos com 7cm de diâmetro e 5cm de altura. Depois de uma hora em temperatura ambiente (25°C), as amostras foram cobertas com um filme plástico, para evitar irregularidades na superfície. O gel foi gelificado a temperatura ambiente (25°C), e mantido nessas condições por 24 horas antes das análises (Figura 1).

A determinação foi feita através do medidor de textura (Stevens – LFRA Texture Analyser), pertencente à indústria Griffith do Brasil S/A (Figura 2).

III. RESULTADOS

Conteúdo de sulfato

O conteúdo de sulfato apresentou pequenas flutuações ao longo do ano para as 4 linhagens. A maior quantidade de sulfato para o tetrasporófito MR foi obtida em maio (32,86%) e a menor foi em outubro (27,24%) (Tabela 1). O tetrasporófito VD apresentou quantidades variando de 26,33% (julho) a 32,41% (abril) (Tabela 2), enquanto o tetrasporófito VM, de 23,08% (agosto) a 29,14% (abril) (Tabela 3). Na linhagem G11, foram observadas quantidades entre 27,44% (julho) e 30,06% (agosto) (Tabela 4). Entre as linhagens, não foram observadas diferenças de quantidades e padrões de sazonalidade (Fig. 3, Tabelas 1- 4).

Amostras apenas com tratamento alcalino a quente apresentaram a maior quantidade de sulfato (42,52%), enquanto que aquelas apenas com tratamento alcalino a frio apresentaram as menores quantidades (28,61%). As amostras sem nenhum tratamento alcalino apresentaram conteúdo de sulfato de 34,04%, enquanto amostras com ambos os tratamentos apresentaram 39,97% (Fig. 5, Tabela 5).

Conteúdo de 3,6 anidro-D-galactose

O conteúdo de 3,6 anidro-D-galactose apresentou pequenas flutuações ao longo do ano para as amostras do tetrasporófito MR e VM, enquanto para o tetrasporófito VD e a linhagem G11, foi observado maior conteúdo de fevereiro a maio, e uma diminuição de julho a dezembro (Fig. 4, Tabelas 1 - 4). O menor conteúdo obtido para o tetrasporófito MR foi 7,26% (julho) e o maior foi 9,12% (abril) (Tabela 1). O tetrasporófito VD apresentou conteúdo variando de 20,12% (julho) a 25,00% (fevereiro) (Tabela 2), enquanto a variante VM, de 10,79% (julho) a 13,36% (fevereiro) (Tabela 3). Para linhagem G11, foram observados conteúdos entre 23,80% (julho) e 34,87% (fevereiro) (Tabela 4). O tetrasporófito MR e VM apresentaram conteúdos semelhantes, o mesmo acontecendo para o tetrasporófito VD e a linhagem G11 (Fig. 4, Tabelas 1 - 4).

Não foram observadas grandes diferenças para as amostras com diferentes tratamentos alcalino (Fig. 6, Tabela 5). A amostra sem nenhum tratamento alcalino apresentou um conteúdo de 3,6 anidrogalactose ligeiramente menor (21,97%) que as outras, sendo o maior observado na amostra com tratamento alcalino a frio seguido de quente (26,54%). Amostras com apenas o tratamento alcalino a quente e aquelas apenas com tratamento alcalino a frio apresentaram conteúdos próximos (24,20% e 25,57%, respectivamente) (Fig. 6, Tabela 5).

Determinação da força do gel

A Tabela 6 ilustra os dados obtidos para a força do gel, junto aos resultados obtidos nos experimentos anteriores para conteúdo de sulfato e 3,6 anidro-D-galactose.

O tetrasporófito MR apresentou menor força de gel em relação às outras linhagens do mês de abril (515g/cm²), enquanto a linhagem G11 apresentou a maior força (712g/cm²). Para as amostras de julho, a maior força foi observada para o tetrasporófito VD (709g/cm²), e a menor no tetrasporófito MR (255g/cm²) (Tabela 6).

Amostras sem nenhum tratamento alcalino apresentaram a menor força quando comparadas com amostras com algum tratamento alcalino (389g/cm²). Amostras apenas com tratamento alcalino a quente apresentaram gel extremamente elástico, impossibilitando a medição (Tabela 6).

Amostras comerciais de carragenana semi-refinada e de *H. musciformis* apresentaram força menor que as obtidas para as carragenanas extraídas das linhagens de *K. alvarezii*. Amostras comerciais de *Kappaphycus* spp. apresentaram maior força, quando comparadas com as das linhagens (Tabela 6).

IV. DISCUSSÃO

Os dados de conteúdo de sulfato e de 3,6-anidro-D-galactose variam muito, principalmente pelas metodologias utilizadas, locais de cultivo, origens e linhagens das algas (Tabela 7), tornando comparações extremamente difíceis. Segundo Morris (1998), a escolha da alga e da metodologia favorecerá estruturas particulares e aumentará a regularidade da amostra. A amostra sem nenhum tratamento alcalino apresentou menor conteúdo de 3,6 anidro-D-galactose (21,97%), enquanto aquelas amostras com ambos tratamentos (frio e quente), consideradas mais purificadas, apresentaram conteúdos maiores (26,54%). Como esperado, foi observado que o tratamento alcalino, tanto a frio quanto a quente, ou a frio seguido de quente, aumentou a quantidade de 3,6 anidro-D-galactose. Entretanto, essa tendência não foi observada nas análises de conteúdo de sulfato, provavelmente, decorrente da metodologia utilizada. Ao contrário da metodologia colorimétrica de quantificação de 3,6-anidrogalactose, a metodologia do sulfato foi turbidimétrica. O sulfato foi analisado pela quantidade de precipitados presentes em suspensão em um reagente gelatinoso (Dfico-Bacter) (Craigie & Leigh 1978), aumentando a possibilidade de erro.

As carragenanas extraídas das amostras do tetrasporófito VD e da linhagem G11, apresentaram sazonalidade aparente, em relação ao

conteúdo de 3,6 anidro-D-galactose, com maior teor no verão e menor no inverno, diferente dos dados obtidos por Maoxin & Zongcun (1988) para espécies de *Eucheuma*, onde os maiores teores foram obtidos no inverno e os maiores no verão. Para os tetrasporófitos MR e VM, o teor obtido foi inferior as outras linhagens, e não variou muito ao longo do ano, corroborando os dados obtidos por Dawes (1977), para carragenanas extraídas de *Eucheuma*. Em relação ao conteúdo de sulfato, as carragenanas das 4 linhagens apresentaram pequenas flutuações ao longo do ano.

O maior valor de força do gel foi obtido para a linhagem G11 nas amostras do mês de abril e para o tetrasporófito VD no mês de julho. O tetrasporófito MR apresentou géis mais fracos, provavelmente pelo menor conteúdo de 3,6 anidro-D-galactose.

Geralmente, o maior teor de 3,6 anidro-D-galactose e menor teor de sulfato resulta em géis mais rígidos. Entretanto, essa tendência não foi observada nas amostras analisadas, Não sendo possível observar relação entre os conteúdos obtidos e a força do gel. A amostra com ambos tratamentos alcalinos apresentou maior força do gel e conteúdo de sulfato mais alto do que amostras sem nenhum tipo de tratamento alcalino.

As amostras com o tratamento alcalino a quente apresentaram problemas na análise de força do gel. Essas resultaram gel impuro visualmente, provavelmente pela presença de pigmentos, e extremamente elástico, impossibilitando a medição. Segundo Piculell (1995), dependendo do método de extração e da fonte de alga, carragenanas gelificantes ou não-gelificantes podem ser obtidas. A sensibilidade dessas ao meio aquoso, especialmente ao seu conteúdo iônico, juntamente à sua estrutura primária, tornam as carragenanas gelificantes substâncias extremamente plásticas. É possível que esse tipo de tratamento favoreceu outro tipo de carragenana, como por exemplo, a carragenana *iota*, caracteristicamente elástica (Stanley 1987).

A amostra de carragenana semi-refinada comercial apresentou valor mais baixo de força do gel quando comparada com a carragenana extraída de amostras comerciais de *Kappaphycus* spp. A carragenana extraída de *Hypnea*, também apresentou força do gel inferior às linhagens de *Kappaphycus*.

V. CONSIDERAÇÕES FINAIS

O tratamento alcalino a frio, seguido de quente, adotado na extração de carragenanas foi eficiente. Esse tratamento melhorou a aparência do gel, purificando a carragenana e conferindo-lhe um aspecto translúcido. Além disso, aumentou a quantidade de 3,6 anidrogactose, promovendo géis mais rígidos. É provável que apenas o tratamento alcalino a quente não era eficiente, pois resultou em géis extremamente elásticos, podendo favorecer outro tipo de carragenana, que não a *kappa*. O tratamento alcalino a frio apresentou resultados muito semelhantes aos obtidos nas amostras com ambos tratamentos, com valores de sulfato e 3,6 anidrogactose muito próximos e valores de força do gel ligeiramente menores. Entretanto, esses dados não são conclusivos. Estudos posteriores poderiam analisar a necessidade do tratamento alcalino a quente.

Em relação às linhagens estudadas, em geral, o tetrasporófito MR apresentou gel de qualidade mais baixa, enquanto que aqueles resultantes da linhagem G11, apresentaram melhor gel, com maior conteúdo de 3,6 anidrogactose e maior força. Esse fato corrobora aos dados obtidos por Maoxin & Zongcun (1988), que sugerem que a formação de 3,6 anidrogactose e o processo simultâneo de dessulfatação acontece continuamente na carragenana do tecido das plantas, resultando em alto conteúdo de 3,6 anidrogactose e baixo conteúdo de sulfato em tecidos mais velhos. A linhagem G11 possui taxas de crescimento muito baixas, e conseqüentemente, seus tecidos são mais velhos em relação às outras linhagens.

A carragenana semi-refinada comercial analisada apresentou qualidade menor em relação a carragenana extraída de amostras de Ubatuba. Porém, a obtida de amostras comerciais de *Kappaphycus* spp. apresentou qualidades semelhantes às obtidas para aquelas extraídas da linhagem G11.

A partir dos resultados obtidos é possível afirmar que a carragenana da linhagem G11 teria melhor qualidade se comparada com as das outras linhagens.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Azanza-Corrales R. & Sa-a P. 1990. The farmed *Eucheuma* species (Gigartinales, Rhodophyta) in Danajon Reef, Phillippines: carrageenan properties. *Hydrobiologia* 204/205: 521-525.
- Craigie J.S. & Leigh C. 1978. Carrageenans and agars. In: Hellebust J.A., Craigie J.S. (eds). *Handbook of phycological methods*. Cambrige University Press, Cambrige. 109-131.
- Chopin T., Hanisak M.D., Koehn F.E., Mollion J., Moreau S. 1990. Studies on carrageenans and effects of seawater phosphorus concentration on carrageenan content and growth of *Agardhiella subulata* (C. Agardh) Kraft and Wynne (Rhodophyceae, Solieriaceae). *Journal of Applied Phycology*. 2: 3-16.
- Dawes C.J., Stanley N.F., Stancioff D.J. 1977. Seasonal and reproductive aspects of plant chemistry, and *i*-carrageenan from Floridian *Eucheuma* (Rhodophyta, Gigartinales). *Botanica Marina* 20:137-147.
- Doty M.S. 1987. The production and use of *Eucheuma*. In: Doty M.S., Caddy J.F., Santelices B. (eds). *Case Studies of Seven Commercial Seaweed Resources*. FAO Fisheries Technical Paper. 281:123-161.
- Glicksman M. 1983. Carrageenan and fucellaran. In: Glicksman M. (ed). *Food Hydrocolloids. Vol III*. CRC PRESS, USA. 83-107.
- Hurtado-Ponce, A.Q. 1995. Carrageenan properties and proximate composition of three morphotypes of *Kappaphycus alvarezii* Doty (Gigartinales, Rhodophyta). *Botanica Marina* 38: 215-219.
- Maoxin T. & Zongcun, W. 1988. Effects of tissue age and season on the content and composition of carrageenan in *Eucheuma* species. In: Stadler T., Mollion J., Verdus M-C., Karamanus Y., Movan H. A. (eds). *Algal Biotechnology. Elsevier Applied Science*. London and New York. 383-393.
- Matsuhiro B. 1995. Aislamento y caracterización de ficocolóides. In: Alveal K., Ferrario M.E., Oliveira E.C., Sar E. (eds). *Manual de Métodos Ficológicos*. Universidad de Concepcion, Concepcion, Chile. 658-674.

- Morris V. J. 1998. Gelation of polysaccharides. *In*: Hill S.E., Edward D.A., Mitchell J.R. (eds). *Functional Properties of Food Molecules* (2nd edition). Aspen Publishers, England. 143-168.
- Ohno M., Largo D.B., Ikumoto T. 1994. Growth rate, carrageenan yield and gel properties on cultured *kappa*-carrageenan producing red alga *Kappaphycus alvarezii* (Doty) Doty in the subtropical waters of Shikoku, Japan. *Journal of Applied Phycology*. 6: 1-5.
- Ohno M., Nang H.Q. & Hirase S. T. 1996. Cultivation and carrageenan yield and quality of *Kappaphycus alvarezii* in the waters of Vietnam. *Journal of Applied Phycology*. 8: 431-437.
- Piculell L. 1995. Gelling Carrageenans. *In*: Stephen A.M. (ed). *Food Polysaccharides and Their Applications*. Marcel Dekker, New York. 205-243.
- Rui L., Jiajun L. & Wu C.Y. 1990. Effect of ammonium on growth and carrageenan content in *Kappaphycus alvarezii* (Gigartinales, Rhodophyta). *Hydrobiologia*. 204/205: 499-503.
- Saito R.M.M. 1997. Extração e propriedades físico-químicas do colóide de uma alga brasileira (*Gracilariopsis tenuifrons* – Rhodophyta). Dissertação (Mestrado em Farmácia). São Paulo, Universidade de São Paulo. Faculdade de Ciências Farmacêuticas. 80 p.
- Saito R.M. & Oliveira E.C. 1990. Chemical screening of brazilian marine algae producing carrageenans. *Hydrobiologia*. 204/205: 585-588.
- Santos G.A. 1989. Carrageenans of species of *Eucheuma* J. Agardh and *Kappaphycus* Doty (Solieriaceae, Rhodophyta). *Aquatic Botany* 36: 55-67.
- Sijan L. & Ping Z. 1984. The commercial cultivation of *Eucheuma* in China. *Hydrobiologia*. 116/117: 243-245.
- Stanley N. 1987. Production, properties and uses of carrageenan. *In*: McHugh (ed.). *Production and utilization of products from commercial seaweeds*. FAO Fisheries Technical Paper. 288:116-146.

Zertuche-González J.A., Pacheco-Ruíz I. & Soria-Mercado I.E. 1993. Carrageenan yield and properties of *Eucheuma uncinatum* (Seth & Gard.)Daw., cultured under natural conditions. *Hydrobiologia*. 260/261: 601-605.

Tabela 1 - Teor de sulfato (SO_4) e 3,6-anidro-D-galactose (3,6-AG) em carragenanas extraídas do tetrasporófito MR, cultivadas em 2000.

Mês	SO_4 (%)	Média (%)	Desvio	3,6-AG (%)	Média (%)	Desvio
Fevereiro	25,97	26,28	0,98	8,39	8,68	1,08
	25,49			9,88		
	27,38			7,78		
Abril	30,50	26,99	3,33	9,42	9,12	0,32
	23,87			8,79		
	26,60			9,15		
Maio	36,19	32,86	3,00	7,85	8,69	0,75
	30,37			9,32		
	32,01			8,89		
Julho	31,01	29,02	2,52	7,44	7,26	0,46
	29,86			6,73		
	26,19			7,60		
Agosto	31,29	28,54	2,39	6,41	7,45	0,92
	27,35			8,18		
	26,98			7,76		
Outubro	24,42	27,24	2,82	7,37	7,48	0,16
	30,05			7,67		
	27,24			7,40		
Dezembro	31,82	27,59	3,68	8,87	8,34	0,46
	25,13			8,09		
	25,83			8,05		

Tabela 2 - Teor de sulfato (SO_4) e 3,6-anidro-D-galactose (3,6-AG) em carragenanas extraídas do tetrasporófito VD, cultivados em 2000.

Mês	SO_4 (%)	Média (%)	Desvio	3,6-AG (%)	Média (%)	Desvio
Fevereiro	32,30	28,31	3,52	26,22	25,00	1,06
	27,03			24,54		
	25,61			24,25		
Abril	31,85	32,41	1,49	31,53	27,62	3,43
	31,28			25,18		
	34,10			26,13		
Maio	31,78	33,48	3,19	22,91	24,51	1,41
	37,16			25,57		
	31,49			25,03		
Julho	29,89	26,33	4,14	19,66	20,12	1,23
	21,78			21,51		
	27,31			19,19		
Agosto	33,11	27,35	5,05	22,52	22,42	1,39
	25,23			23,75		
	23,71			20,98		
Outubro	30,58	30,59	6,87	23,81	21,84	1,84
	23,72			21,53		
	37,46			20,17		
Dezembro	24,66	26,81	2,43	22,17	21,88	1,75
	29,45			20,00		
	26,33			23,46		

Tabela 3 - Teor de sulfato (SO_4) e 3,6-anidro-D-galactose (3,6-AG) em carragenanas extraídas do tetrasporófito VM, cultivado em 2000.

Mês	SO_4 (%)	Média (%)	Desvio	3,6-AG (%)	Média (%)	Desvio
Fevereiro	35,84	28,52	6,41	12,96	13,36	0,61
	23,94			14,07		
	25,79			13,06		
Abril	24,06	29,14	5,66	11,15	11,63	0,55
	28,11			12,23		
	35,24			11,50		
Maio	22,54	25,63	2,97	13,03	12,80	0,93
	25,87			13,60		
	28,47			11,78		
Julho	28,61	31,15	6,97	12,29	10,79	1,64
	39,04			11,04		
	25,81			9,03		
Agosto	20,16	23,08	4,43	13,68	12,72	1,22
	20,90			13,13		
	28,18			11,35		
Outubro	18,53	24,86	5,49	10,60	11,81	1,06
	27,65			12,28		
	28,39			12,55		
Dezembro	23,83	25,46	2,31	11,25	10,85	0,62
	27,10			10,14		
				11,17		

Tabela 4 - Teor de sulfato (SO_4) e 3,6-anidro-D-galactose (3,6-AG) em carragenanas extraídas da linhagem G11, cultivadas em 2000.

Mês	SO_4 (%)	Média (%)	Desvio	3,6-AG (%)	Média (%)	Desvio
Fevereiro	30,97	28,89	1,81	34,17	34,87	2,52
	27,68			37,67		
	28,02			32,78		
Abril	27,86	27,71	1,29	32,76	34,42	1,63
	26,35			36,02		
	28,91			34,49		
Maio	29,25	27,93	2,11	30,22	30,62	0,85
	25,50			31,60		
	29,05			30,05		
Julho	29,03	27,44	1,42	25,16	23,80	1,85
	26,96			21,68		
	26,32			24,55		
Agosto	27,58	30,06	2,30	26,61	26,06	0,68
	32,12			25,29		
	30,47			26,28		
Outubro	27,49	28,37	0,77	26,98	26,87	0,39
	28,88			27,18		
	28,74			26,43		

Tabela 5 - Teor de sulfato (SO_4) e 3,6-anidro-D-galactose (3,6-AG) em carragenanas extraídas de amostras do tetrasporófito MR: (A) sem nenhum tratamento alcalino, (B) apenas com tratamento alcalino a frio, (C) apenas com tratamento alcalino a quente e (D) com tratamento a frio seguido de quente, cultivadas em dezembro de 2000.

Amostra	SO_4 (%)	Média (%)	Desvio	3,6-AG (%)	Média (%)	Desvio
A	40,71	34,04	5,79	21,58	21,97	2,90
	30,93			19,28		
	30,46			25,04		
B	31,11	28,61	2,59	21,19	24,20	2,74
	28,78			26,55		
	25,94			24,88		
C	40,06	42,52	6,45	25,69	25,57	0,53
	49,83			25,00		
	37,66			26,03		
D	45,60	39,97	7,96	24,84	26,54	1,57
	34,34			27,94		
	-			26,83		

Tabela 6 - Teor de sulfato (SO_4), 3,6-anidro-D-galactose (3,6-AG) e força do gel de carragenanas dos tetrasporófitos MR, VD, VM e linhagem G11, cultivados em abril e junho de 2000, (A) amostras sem nenhum tratamento alcalino, (B) apenas com tratamento alcalino a frio, (C) apenas com tratamento alcalino a quente e (D) com tratamento alcalino a frio seguido de quente, *H. musciformis*, amostras comerciais de *Kappaphycus* spp. e carragenana semi-refinada.

Amostra	Tratamento	[] SO_4 (%)	[] 3,6-AG (%)	Força do Gel (g/cm ²)
MR	Abril	26,99	9,12	515
VD		32,41	27,62	518
VM		29,14	11,63	697
G11		27,71	34,42	712
MR	Julho	29,02	7,26	255
VD		26,33	20,12	709
VM		31,15	10,79	630
G11		27,44	23,80	536
A	Sem alcalino	34,04	21,97	389
B	Alcalino frio	28,61	24,20	574
C	Alcalino quente	42,52	25,57	elástico
D	Alcalino frio + quente	39,97	26,54	742
G1	Semi-refinada	-	-	387
G2	Amostra comercial	-	-	842
<i>Hypnea</i>		-	-	472

Tabela 7 - Teor de sulfato e 3,6 anidro-D-galactose (3,6-AG), e força do gel de carragenanas extraídos de diferentes espécies, segundo diferentes autores.

Autor	Espécie	Sulfato (%)	3,6-AG (%)	Força do gel (g/cm ²)
Dawes <i>et al.</i> 1977	<i>Eucheuma</i> sp.	-	16,9 - 20,8	253
Maoxin & Zongcun 1988	<i>Eucheuma gelatinae</i>	15,1 - 27,3	26,4 - 33,2	-
Santos 1989	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	24	29	1158
Rui <i>et al.</i> 1990	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	-	-	25 - 165
Azanza-Corrales & Sa-a 1990	<i>Kappaphycus alvarezii</i> (<i>Eucheuma alvarezii</i>)	28,7 - 38,6	-	90 - 320
Saito & Oliveira 1990	<i>Hypnea musciformis</i>	17,6 - 20,1	25,2 - 31,4	-
Chopin <i>et al.</i> 1990	<i>Agardhiella subulata</i>	37,7	15,7	-
Zertuche-González <i>et al.</i> 1993	<i>Eucheuma uncinatum</i>	15,5 - 32,8	14,8 - 23,9	-
Ohno <i>et al.</i> 1994	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	-	-	480 - 1960
Hurtado-Ponce 1995	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	15,2 - 22,2	-	1 - 131
Ohno <i>et al.</i> 1996	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	-	-	245 - 1712
Esse trabalho	<i>Kappaphycus alvarezii</i>	23,08 - 33,48	7,26 - 34,42	255-712

Figura 1 – Gel de carragenana extraída de *Kappaphycus alvarezii*, preparado a 1,5% e gelificado com KCl 0,2%, para análise de força do gel.

Figura 2 – Medidor de textura Stevens – LFRA texture analyser, utilizado para a análise de força do gel.

Figura 3 - Conteúdo de sulfato de carragenanas extraídas de amostras do tetrasporófito MR (marrom), VD (verde) e VM (vermelho) e linhagem G11 (azul), cultivados em 2000.

Figura 4 - Conteúdo de 3,6-anidro-D-galactose de carragenanas extraídas de amostras do tetrasporófito MR (marrom), variante VD (verde) e VM (vermelho) e linhagem G11 (azul), cultivados em 2000.

Figura 5 - Conteúdo de sulfato de carragenanas extraídas de amostras (A) sem nenhum tratamento alcalino, (B) com tratamento alcalino a frio, (C) com tratamento alcalino a quente e (D) com tratamento alcalino a frio seguido de quente.

Figura 6 - Conteúdo de 3,6-anidro-D-galactose de carragenanas extraídas de amostras (A) sem nenhum tratamento alcalino, (B) com tratamento alcalino a frio, (C) com tratamento alcalino a quente e (D) com tratamento alcalino a frio seguido de quente.

CAPÍTULO 5 – CONSIDERAÇÕES FINAIS

O conjunto de resultados obtidos nesse trabalho teve como objetivos: estudar a metodologia de extração, a quantidade e a qualidade da carragenana obtida a partir de 4 diferentes linhagens de *Kappaphycus alvarezii*, cultivadas experimentalmente em Ubatuba, SP. Esses resultados são relevantes, uma vez que deverão fornecer subsídios para a maricultura da espécie no litoral brasileiro.

A metodologia padronizada no Capítulo 2 foi desenvolvida visando maximizar os teores finais de carragenanas de boa qualidade, direcionadas para aplicação comercial. Foi determinada a relação 5g de ATF em 400mL de volume de água para extração, e o filtro de nylon foi considerado o mais eficiente para o processo. Observou-se que o tratamento alcalino a frio (KOH 6%) além de eliminar impurezas das algas, provavelmente removeria algumas proteínas, facilitando a extração da carragenana, como sugerido em fucelaranas. Em amostras sem esse tipo de tratamento, a solução extraída se apresentou extremamente viscosa, sendo difícil de ser filtrada. O tratamento alcalino a quente (KOH 6%, por 2 horas, a 80°C), removeria o sulfato, aumentando a quantidade de 3,6-anidro-D-galactose, e melhorando a qualidade do gel. Foi verificado que a combinação desses dois tratamentos, resultou em uma carragenana visualmente límpida, sem pigmentos.

No capítulo 3, os teores das 4 linhagens cultivadas em Ubatuba foram comparadas (tetrásporos marrom, verde, vermelho e linhagem derivada de tetrásporos). Para todas, foi observado uma tendência de sazonalidade nos teores de ATF por alga seca e carragenana por alga seca, com maiores teores no primeiro semestre e menores no segundo, inversamente às taxas de crescimento, concordando com a tendência geral apresentada por vários autores.

Os teores obtidos para o tetrasporófitos MR, VD e VM, se apresentaram semelhantes, entretanto, aqueles obtidos para linhagem G11 foram superiores, aproximando-se dos valores obtidos para amostras comerciais.

Em relação à qualidade do gel (Capítulo 4), aqueles resultantes da linhagem G11 apresentaram maior conteúdo de 3,6-D-anidrogactose e maior força do gel. Verificou-se ainda nesses experimentos a eficácia do tratamento alcalino. Amostras sem nenhum tipo de tratamento alcalino apresentaram géis menos rígidos, enquanto que aquelas com tratamento alcalino a quente resultaram em géis extremamente elásticos. A combinação do tratamento a frio e quente resultou em géis de alta qualidade: límpidos, duros e com alto teor de 3,6 anidro-D-galactose.

Entretanto, todos os resultados obtidos nesses experimentos não podem ser criticamente comparados com aqueles publicados na literatura, uma vez que as condições de cultivo, a espécie de alga, equipamentos e metodologia utilizados, influenciam em todos os dados. Esse fato pode ser observado pela grande variedade de teores, força do gel, conteúdos de sulfato e 3,6 anidro-D-galactose referidos.

Os resultados obtidos destacaram o tratamento alcalino a frio (KOH 6%) e posteriormente o quente (80°C por 2 horas), previamente a extração da carragenana *kappa*, importante para a qualidade do gel. Ainda, indicaram a carragenana da linhagem G11, como a melhor entre as linhagens, uma vez que apresenta um alto teor de carragenanas e qualidade de gel superior às demais linhagens.