



## X Congresso Brasileiro de Engenharia Química Iniciação Científica

*“Influência da pesquisa em Engenharia Química no desenvolvimento tecnológico e industrial brasileiro”*

Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro  
Universidade Severino Sombra  
Vassouras – RJ – Brasil

### **CINÉTICA DE PURIFICAÇÃO DE BIOPOLÍMEROS EXTRAÍDOS DA MICROALGA *Spirulina* LEB 18**

I. S. Gonçalves<sup>1</sup>; R. G. Martins<sup>2</sup>; L. K. M. Quines<sup>3</sup>; G. M. F. Aragão<sup>4</sup>; J. A. V. Costa<sup>5</sup> M. G. Morais<sup>6</sup>

<sup>(1)</sup> *Bolsista de Iniciação Científica - CNPq;*

<sup>(2)</sup> *Doutoranda – LEB/EQA/FURG;*

<sup>(3)</sup> *Doutoranda – ENGEBIO/EQA/UFSC;*

<sup>(4)</sup> *Docente – ENGEBIO/EQA/UFSC;*

<sup>(5)</sup> *Docentes – LEB/EQA/FURG.*

Laboratório de Engenharia Bioquímica – Escola de Química e Alimentos – FURG, Rua Eng. Alfredo Huck, 475, Rio Grande, RS – CEP: 96203-900 – e-mail: [michele.morais@pq.cnpq.br](mailto:michele.morais@pq.cnpq.br)

**RESUMO** – As microalgas são micro-organismos fotossintéticos que utilizam nutrientes para converter em biomassa e bioprodutos. A partir da biomassa formada pode-se obter diversos biocompostos, como biopolímeros. Os biopolímeros possuem características de biodegradabilidade e termoplasticidade e são atóxicos. O objetivo deste trabalho foi estudar a cinética de purificação do biopolímero extraído da microalga *Spirulina* LEB 18. A partir da biomassa microalgal foi realizado pré-tratamento para obtenção do biopolímero, por digestão diferencial. O precipitado final (biopolímero – PHB) foi seco em estufa a 35 °C por 48 h. Após pré-tratamento as amostras foram desengorduradas com hexano a 60 °C por 2 h. O PHB foi purificado na temperatura de 150 °C nos tempos 5, 15 e 30 min utilizando carbonato de propileno para solubilização do biopolímero e precipitação foi realizada com acetona. A pureza do biopolímero foi determinada por cromatografia gasosa. Os resultados obtidos nas cinéticas de purificação foram 51,4, 54,1 e 56,3% nos tempos 5, 15 e 30 min, respectivamente. O tempo de maior contato com o solvente (carbonato de propileno), propiciou maior pureza do biopolímero. A purificação consiste em remover os interferentes da amostra pré-tratada e desengordurada, aumentando a aplicabilidade do biopolímero.

**Palavras chave:** cianobactéria, PHB, purificação.

## **INTRODUÇÃO**

Os plásticos convencionais produzidos a partir de combustíveis fósseis geram sérios problemas ambientais por apresentarem resistência a degradação. Isto levou a realizar estudos para produção de materiais plásticos

biodegradáveis, a partir de fontes renováveis de carbono (Piemolini, 2004).

Polímeros ambientalmente biodegradáveis são uma das soluções possíveis para substituir os polímeros petroquímicos. A redução do consumo de produtos plásticos é difícil devido as suas propriedades versáteis. A

substituição dos plásticos petroquímicos é possível com alternativa de materiais que tenham propriedades poliméricas semelhantes e que degradem após o descarte (Chanprateep, 2010).

As cianobactérias foram os primeiros organismos fototróficos capazes de produzir oxigênio. Foram responsáveis pela conversão da atmosfera terrestre anóxica em óxica (Madigan et al., 2010).

As microalgas são micro-organismos fotossintéticos que utilizam os nutrientes para converter em biomassa e bioprodutos. A partir da biomassa formada pode-se obter diversos biocompostos, como biopolímeros, proteínas, ácidos graxos e biocombustíveis (Andrade e Costa, 2008). Para a produção de biomassa com características específicas, a composição do meio de cultivo é um fator fundamental (Mata et al., 2010).

As bactérias e microalgas possuem a capacidade de produzir polihidroxialcanoatos (PHA) (Mohammadi et al., 2010; Bhati e Mallick, 2012). Os PHAs são poliésteres biodegradáveis que tem atraído recentemente muita atenção como alternativa de material polimérico que pode ser produzido por fontes renováveis e resíduos biológicos (Laycock et al., 2013).

Um tipo de PHA é o poli-β-hidroxibutirato (PHB), o qual apresenta características de biodegradabilidade, termoplasticidade e biocompatibilidade com células e tecidos humanos e pode ser aplicado nas áreas de alimentos, médica e farmacêutica (Sharma e Mallick, 2005).

O objetivo deste trabalho foi estudar a cinética de purificação do biopolímero extraído da microalga *Spirulina* LEB 18.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Micro-organismo e Cultivo microalgal

O micro-organismo utilizado para a extração do polihidroxibutirato (PHB) foi a microalga *Spirulina* sp. LEB 18, isolado da Lagoa Mangueira (Morais *et al.*, 2008). O cultivo foi realizado na planta piloto, localizada na cidade de Santa Vitória do Palmar-RS-Brasil e mantido em meio Zarrouk (Zarrouk, 1966), formulado de acordo com a Tabela 1.

**Tabela 1: Composição do meio Zarrouk.**

Reagentes	Concentração (g.L <sup>-1</sup> )
NaHCO <sub>3</sub>	16,80
K <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	0,50
NaNO <sub>3</sub>	2,50
K <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	1,00
NaCl	1,00
MgSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,20
CaCl <sub>2</sub>	0,04
FeSO <sub>4</sub> .7H <sub>2</sub> O	0,01
EDTA	0,08
Solução A5	1,00 mL
Solução B6	1,00 mL

**Solução A<sub>5</sub>:** (g.L<sup>-1</sup>): H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>: 2,86; MnCl<sub>2</sub>.4H<sub>2</sub>O: 1,81; ZnSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 0,22; CuSO<sub>4</sub>.5.H<sub>2</sub>O: 0,08; Na<sub>2</sub>MoO<sub>4</sub>: 0,02.

**Solução B<sub>6</sub>:** (mg.L<sup>-1</sup>): NH<sub>4</sub>VO<sub>3</sub>: 22,96; K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>(SO<sub>4</sub>)<sub>4</sub>.24H<sub>2</sub>O: 96,00; NiSO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O: 47,85; Na<sub>2</sub>WO<sub>4</sub>.2H<sub>2</sub>O: 17,94; TiOSO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>.8H<sub>2</sub>O: 61,10; Co(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>.6H<sub>2</sub>O: 43,98.

### Extração do biopolímero e pré-tratamento

A partir da obtenção da biomassa por filtração, foi realizado a extração do biopolímero através de digestão diferencial e sucessivas lavagens com água destilada e acetona. O precipitado final foi seco em estufa a 35 °C por 48 h. Após o pré-tratamento, as amostras foram desengorduradas utilizando como solvente hexano a 60 °C por 2 h, sob agitação contínua. A amostra foi filtrada e seca em estufa a 35 °C, por 24 h.

### Purificação do PHB

A purificação do PHB foi realizada utilizando carbonato de propileno como solvente a temperatura de 150 °C nos tempos 5, 15 e 30 min, sob agitação contínua. Para a precipitação do PHB utilizou-se 200 mL de acetona e deixou por 1,5 h sob agitação. Após a solução foi filtrada e levada a secagem em estufa a 30 °C por 24 h.

### Determinação de pureza

A pureza do biopolímero foi determinada por cromatografia gasosa (CG-90), conforme o método de metanólise (Brandl *et al.*, 1988). A coluna utilizada foi de sílica fundida e detector de ionização de chama. Nitrogênio foi utilizado como gás de arraste com fluxo constante de 20 mL.min<sup>-1</sup> e as temperaturas de injeção, detecção e coluna

foram respectivamente 200 °C, 230 °C e 120 °C.

Para determinação do PHB purificado, utilizou-se a Equação 1.

$$pureza = \frac{m_{PHB}}{m_{pó}} \quad \text{Equação (1)}$$

Onde:  $m_{PHB}$  é a massa de PHB detectada por cromatografia gasosa (g) e  $m_{pó}$  é a massa total de biopolímero em pó utilizado para a análise cromatográfica(g).

## RESULTADOS E DISCUSSÕES

A Tabela 2 apresenta os resultados obtidos nos diferentes tempos de purificação do PHB.

Tabela 2: Resultados da cinética de purificação do PHB a 150°C.

Tempo (min)	Pureza (%)
5	51,4
15	54,1
30	56,3

Analizando os resultados obtidos (Tabela 2) a partir da cinética de purificação de PHB extraído da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 observamos que ao aumentar o tempo de contato do carbonato de propileno com o PHB, a porcentagem de pureza aumentou de 51,4 para 56,3%. Segundo a patente US 4140741 tempos curtos de extração promovem uma recuperação incompleta de PHB (Lafferty e Heinsle, 1979).

Quines (2010) utilizou a bactéria *Cupriavidus necator* DSM 545 para produção de PHB e alcançou pureza de 86% e 75% para as temperaturas de 100°C e 130°C, respectivamente. Neste estudo, as purezas foram menores, porém microalgas produzem mais bioprodutos em relação as bactérias.

## CONCLUSÃO

A purificação para o biopolímero (PHB) da microalga *Spirulina* sp. LEB 18 alcançou maior pureza (56,3%) utilizando a temperatura de 150 °C, no tempo de 30 min.

A purificação consiste em remover os interferentes da amostra pré-tratada e

desengordurada, aumentando a aplicabilidade do biopolímero, podendo ser destinado ao uso na área médica e nos mais variados ramos.

## REFERÊNCIAS

- ANDRADE, M. R.; COSTA, J. A. V., Cultivo da microalga *spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Rio Grande, Rio Grande. 2008.
- BRANDL, H. et al. *Pseudomonas oleovorans* as a source of poly( $\beta$ -hydroxyalkanoates) for potential applications as biodegradable polyesters. *Applied Environmental Microbiology*, v. 54, p. 1977-1982, 1988.
- CHANPRATEEP, S. Current trends in biodegradable polyhydroxyalkanoates. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v. 110, n. 6, p. 621-632, 2010.
- LAFFERTY, R. M.; HEINSLE, E. Use of cyclic carbonic acid esters as solvents for poly-( $\beta$ -hydroxybutyric acid). US Patent 4,140,741, 1979.
- LAYCOCK, B.; HALLEY, P.; PRATT, S.; WERKER, A.; LANT, P. The chemomechanical properties of microbial polyhydroxyalkanoates. *Progress in Polymer Science*, v. 38, p. 536-583, 2013.
- MADIGAN, M. T.; MARTINKO, J. M.; DUNLAP, P. V.; CLARK, D. P. Microbiologia De Brock. 12ª edição, editora Artmed, Porto Alegre, 2010.
- MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production na other applications: a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v. 14, p. 217-232, 2010.
- MOHAMMADI, M.; HASSAN, M. A.; PHANG, L-Y.; SHIRAY, Y.; MAN, H. C.; ARIFFIN, H. Intracellular polyhydroxyalkanoates recovery by cleaner halogen-free methods towards zero emission in the palm oil mill. *Journal of Cleaner Production*, v. 37, p. 353-360, 2012.
- MORAIS, M. G.; C. C. Reichert; F. Dalcanton; A. J. Durante; L. F. Marins; J. A. V. Costa. Isolation and characterization of a new *Arthrospira* strain. *Z. Naturforsch.*, 2008, 63c, 144-150.
- PIEMOLINI, L. T. Modelagem Estrutural da PHA Sintase de *Chromobacterium violaceum* para Estudos de Manutenção Sítio-Dirigida. 2004. Xx f.

Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2004.

QUINES, L. K. M. Extração de poli(3-hidroxibutirato) produzido por *Cuproavidus necator* DSM 545 com 1,2-carbonato de propileno. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC – Florianópolis – SC, 2010.

SHARMA, L., MALLICK, N. Accumulation of poly-b-hydroxybutyrate in *Nostocmuscorum*: regulation by pH, light–dark cycles, N and P status and carbon sources. *Biores Technol.* 96: 1304–1310, 2005.

Zarrouk, C., Contribution à l'étude d'une cyanophycée. Influence de divers facteurs physiques et chimiques sur la croissance et photosynthese de *Spirulina maxima* Geitler. Ph.D. Thesis, University of Paris, 1966.