

EXTRAÇÃO DE ÓLEOS BIOATIVOS A PARTIR DE BIOMASSA MICROALGAL USANDO FLUIDO SUPERCRÍTICO

A. L. SOUZA¹, M. B. P. SILVA¹, R. B. DERNER² e M. F. MENDES¹

¹Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Departamento de Engenharia Química, Laboratório de Termodinâmica Aplicada e B combustíveis

²Universidade Federal de Santa Catarina, Departamento de Aquicultura – CCA
E-mail para contato: marisamf@ufrj.br

RESUMO – A utilização de fluidos supercríticos na extração de produtos naturais tem se mostrado uma alternativa viável e promissora em relação aos processos convencionais. A extração supercrítica possui características nas quais permitem a obtenção de produtos de alto valor agregado e sem resíduos químicos. Esta técnica de extração vem sendo utilizada na obtenção de compostos bioativos a partir da biomassa microalgal, que se destaca por apresentar em sua composição, proteína, ésteres, carotenoides, clorofila, enzimas, antibióticos, hidrocarbonetos e vitaminas. Diante disso, o presente trabalho tem como objetivo estudar a viabilidade técnica da extração de óleos bioativos da microalga *Desmodesmus sp.* com CO₂ supercrítico, avaliando o rendimento a partir de diferentes condições operacionais. A unidade experimental consiste, basicamente, de um extrator de 42 mL, uma bomba de alta pressão e uma válvula micrométrica para a amostragem do extrato. As condições de operação utilizadas foram de 250 bar e 60° C e 450 bar e 40° C, para vazões de CO₂ de, aproximadamente, 6,04 mL/min. Observou-se que a temperatura de 40 °C a pressão de 450 bar foi obtido o melhor rendimento em massa.

1. INTRODUÇÃO

Os processos biológicos se tornaram ultimamente uma alternativa viável no combate a alguns dos problemas inerentes ao meio ambiente, uma vez que esses processos utilizam do metabolismo do micro-organismo para degradar, remover poluentes e gerar produtos (Gadd, 2008).

As microalgas são micro-organismos fotossintéticos que são conhecidos como os principais produtores primários dos ecossistemas aquáticos (Brennan & Owende, 2010; Hoek *et al.*, 1995). Sendo um grupo e possuir variedades, elas podem lidar com altas e baixas temperaturas, intensidades de luz abaixo do ideal, baixa disponibilidade de nutrientes essenciais e outros recursos. Uma variedade de estratégias fisiológicas e bioquímicas proporciona às microalgas uma riqueza de moléculas orgânicas complexas que pertencem à categoria de produtos químicos bioativos, dependendo das vias biossintéticas (Skulberg, 2004).

Microalgas possuem também outras diversas vantagens sobre muitos outros organismos visto que elas podem ser cultivadas para a produção e o processamento de compostos com alto valor agregado. Sendo assim, a busca por substâncias químicas bioativas a partir de microalgas está se tornando cada vez mais promissora. A manutenção controlada de microalgas é um fator chave na utilização como uma fonte de produtos de importância econômica (Skulberg, 2004).

Uma das características mais relevantes às microalgas é a capacidade de conversão do dióxido de carbono e da energia luminosa através do processo de fotossíntese, que permite a produção de proteína, ésteres, carotenoides, clorofila, enzimas, antibióticos, hidrocarbonetos e vitaminas ao micro-organismo, com isso, a biomassa e os extratos da biomassa de microalgas vêm ganhando destaque no mercado mundial (Chisti, 2007; Richmond, 2004).

O aumento da demanda de produtos obtidos a partir das microalgas se deve, principalmente, ao fato de apresentarem substâncias com efeitos antioxidantes e ainda ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs) e proteínas imunologicamente efetivas. Recentemente, empresas de produtos provindos de microalgas vêm desenvolvendo novos sistemas de produção de biomassa e utilização desta em produtos diferenciados (Pulz & Gross, 2004). Esses microrganismos estão sob investigação para comercialização de numerosos alimentos, aplicações farmacêuticas, cosméticas e em bioenergia (Stengel *et al.*, 2011).

Quaisquer que sejam os campos de aplicação, a extração de compostos de interesse a partir da biomassa seca de microalgas é geralmente realizada usando solventes orgânicos tais como n-hexano (Xu *et al.*, 2006), mas estes solventes amplamente utilizados possuem grandes desvantagens: são tóxicos, geralmente inflamáveis e de baixa seletividade. Uma alternativa para evitar o uso de tais solventes para extrair moléculas de interesse, como óleos com propriedades bioativas, é realizar a extração com dióxido de carbono (CO₂) supercrítico como solvente.

A extração com fluido supercrítico é uma operação unitária, onde são empregados solventes acima de seus pontos críticos para extraírem componentes solúveis de uma mistura (Williams, 1981). Tem sido amplamente estudada em diversas áreas do conhecimento, tendo como destaque a sua utilização na extração de compostos de fontes naturais. Pode ser definida como a solubilização de determinados compostos de uma matriz sólida ou líquida em um solvente em condições supercríticas. O solvente mais utilizado, o CO₂, pode ser descrito como um solvente "verde", devido a sua não toxicidade, não inflamabilidade, baixa temperatura crítica (31,04 °C) e pressão crítica (73,8 bar), o que traz vantagens tanto na energia requerida, como na conservação de substâncias termolábeis. Além disso, o dióxido de carbono é um produto de baixo custo, disponível em alta pureza, altamente seletivo e facilmente removido do produto extraído por ser um gás a temperatura ambiente. Outra vantagem de sua utilização é a possibilidade de recuperação e reciclo após cada extração (Beckman, 2004).

Com isso, a utilização de CO₂ supercrítico como substituto para solventes orgânicos tradicionais, contribui para eliminar ou reduzir a utilização de compostos que possuem como matéria prima recursos não renováveis e/ou que possuem alto potencial de contaminação, seja ele ao ambiente ou à saúde humana.

Diante de tudo o que foi exposto com relação a aplicabilidade das microalgas e vantagens do uso da tecnologia supercrítico, o presente trabalho tem como objetivo estudar a viabilidade técnica da extração de óleos bioativos da microalga *Desmodesmus sp.* com CO₂ supercrítico, avaliando o rendimento a partir de diferentes condições operacionais.

2. MATERIAIS E METÓDOS

2.1 Materiais

A microalga utilizada nesta pesquisa, *Desmodesmus sp.*, foi obtida e cultivada pelo Departamento de Aquicultura (CCA) da Universidade Federal de Santa Catarina. A biomassa foi centrifugada, seca em estufa e mantida sob refrigeração e ao abrigo da luz até sua utilização.

A Figura 1 ilustra a microalga utilizada nesse trabalho, doada pelo Departamento de Aquicultura (UFSC). Conforme mostrado na Figura 1, a *Desmodesmus sp.* é uma microalga dulcícola, com uma parede celular rígida e dimensões típicas de cerca de 6-8 µm comprimento e 3 µm de largura (Garcia-Alba *et al.*, 2012)

Os solventes utilizados para os experimentos foram hexano P.A. (misturas de isômeros, Isofar, Rio de Janeiro, Brasil) e dióxido de carbono (mínimo de pureza de 99,998%, White Martins, Rio de Janeiro, Brasil).



Figura 1 – *Desmodesmus sp.* (UNIFI).

2.2 Metodologia Experimental

Extração com Soxhlet

Cerca de 5 gramas de biomassa microalgal foram colocadas em um cartucho de celulose e alimentados em um extrator. Em um balão de 500 mL foram colocados 100 mL de solvente, que foi aquecido em chapa aquecedora (Biomixer DB-IVAC), permanecendo sob refluxo contínuo.

O solvente evapora e se condensa sobre o material sólido. Neste processo, os solutos são concentrados no balão. Após a destilação, os produtos foram direcionados para um rotaevaporador (Fisatom 803), acoplado a uma bomba de vácuo (New Pump) para evaporação do solvente a temperatura abaixo do seu ponto de ebulição. A Figura 2 mostra três aparelhos de Soxhlet funcionando continuamente na extração do óleo da *Desmodesmus sp.*. O solvente hexano foi utilizado com uma relação de 1:20 e o tempo de extração foi de 5 horas.



Figura 2 – Montagem experimental da extração com aparelho de Soxhlet.

Extração com CO₂ supercrítico

O aparato experimental, como mostrado na Figura 3, para a extração dos óleos bioativos das microalgas com dióxido de carbono supercrítico se encontra no Laboratório de Termodinâmica Aplicada e Biocombustíveis (DEQ/UFRRJ) e é composto por um extrator de aço inoxidável 316S de 42 mL de volume, com telas de 260 mesh no topo e no fundo para evitar a passagem de qualquer material, evitando o entupimento da linha. O extrator foi acoplado a um banho termostático (Tecnal) para controle da temperatura na extração.

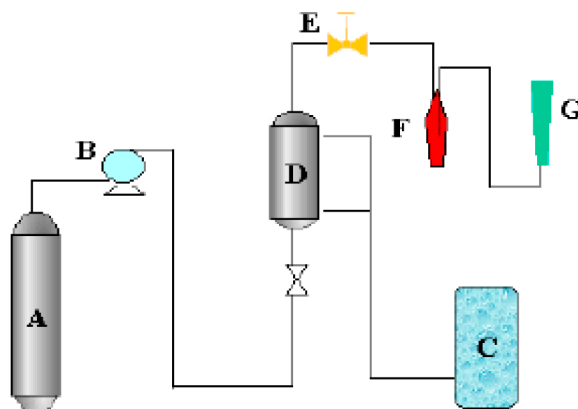


Figura 3 – Fluxograma do aparato experimental, sendo A: Cilindro de CO₂; B: Bomba de alta pressão; C: Banho térmico; D: Extrator; E: Válvula micrométrica; F: Amostra; G: Medidor de vazão (Adaptado de Mendes *et al.*, 2002).

Uma bomba de alta pressão (Palm modelo G100), específica para bombeamento de CO₂, foi responsável pela alimentação do solvente. A vazão de CO₂ foi de, aproximadamente, de 6,04 mL/min.

O extrator foi alimentado com cerca de 10 g da biomassa microalgal e, após sua alimentação, foi adicionado à linha da bomba de alta pressão. Ao extrator foi acoplado o banho térmico para circulação da água em sua camisa para atingir e manter a temperatura desejada.

Os ensaios foram realizados em triplicata nas condições operacionais de 250 bar e 60 °C e 450 bar e 40 °C com o tempo máximo de extração de 170 minutos, onde foi observada a saturação da curva de extração. Foi utilizada a técnica de despressurização através de uma válvula micrométrica que controla o fluxo e recolhe as amostras em tempos determinados. A amostragem variou de acordo com a condição experimental, visto que a extração pode ser mais lenta ou mais rápida. Para a condição de 250 bar, a mesma foi realizada a cada 20 minutos até que houvesse o início da extração do óleo e depois a cada 10 minutos até o esgotamento da extração. Para a condição de 450 bar, observou-se a extração já em 10 minutos e a amostragem, então, foi realizada considerando esse intervalo. Com a redução da pressão, a amostra é recuperada em um tubo de polipropileno, previamente pesado. Após cada coleta, o tubo foi mantido imerso em um banho com gelo para que não houvesse degradação do extrato.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A extração de óleo da *Desmodemus sp.* com dióxido de carbono supercrítico foi realizada nas condições de 250 bar e 60° C e 450 bar e 40° C. O rendimento experimental (*e*) foi calculado de acordo com a Equação 1.

$$e = \frac{\text{massa extraída}}{\text{massa decargalivredesoluto}} \quad (1)$$

sendo, massa extraída a massa de óleo extraído e massa de carga livre de soluto, a massa da semente sem a presença do óleo.

Para o cálculo da massa de carga livre de soluto, é necessária a porcentagem padrão de óleo extraído no método convencional. A partir da realização deste experimento, obteve-se o valor de 11,18 % de óleo extraído, através da extração usando Soxhlet e hexano como solvente. Na Tabela 1 podem-se observar os rendimentos encontrados para todas as condições experimentais estudadas.

Tabela 1 – Resultados experimentais de rendimento de extração com CO₂ supercrítico

	60 °C
Pressão (bar)	250
Rendimento (%)	0,145
	40 °C
Pressão (bar)	450
Rendimento (%)	0,234

A Figura 4 corrobora com o resultado apresentado na tabela acima, onde se pode observar que com o aumento da pressão, há uma quantidade maior de massa extraída.

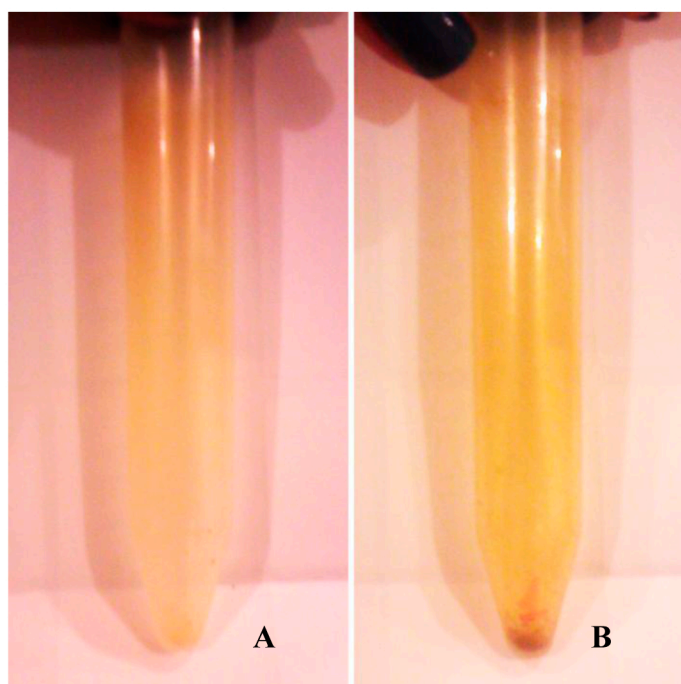


Figura 4 – A. Óleo extraído a 250 bar a 60 °C e B. Óleo extraído a 450 bar a 40 °C.

Isto também é relatado em alguns trabalhos da literatura como o de Mendes *et al.* (1995), que extraíram lipídios da microalga *Chlorella vulgaris* com CO₂ supercrítico e observaram o mesmo comportamento nas temperaturas de 40 e 55 °C e nas pressões de 200 e 350 bar.

Mendes *et al.* (2003) descreveram que, a temperatura constante, a microalga *Dunaliella salina* apresenta um maior rendimento com o aumento da pressão. No entanto, o efeito da temperatura não é muito significativo para certos intervalos de pressões, exceto a 200 bar, em que um aumento na

temperatura leva a uma diminuição no rendimento de carotenoides extraídos.

Segundo Palavra *et al.* (2011), em extrações supercríticas usando CO₂ com algumas microalgas realizadas a 39 °C e pressões de 125, 200 e 300 bar, foi observado que o conteúdo extracelular, como exemplo, hidrocarbonetos foram rapidamente extraído, ao contrário do intracelular, como exemplo, lipídios.

Cada microalga contém um óleo com uma dada composição em ácidos graxos, mas tal óleo, em geral, é composto de ácidos graxos 14:0-20:0 com elevadas frações de 16:0, 18:1 (ômega-9), 20:4 (ômega-6), e 20:5 (ômega-3). No entanto, graças à seletividade do CO₂ supercrítico, é possível modificar ligeiramente a composição do óleo extraído.

Cheung *et al.* (1998) mostraram que os melhores rendimentos de ácidos graxos ômega-3, ocorreu a baixas temperaturas e altas pressões. Já, Cheung (1999) mostrou que, sob baixas pressões, mais ácidos graxos saturados são extraídos. Em contraste, quando a pressão é aumentada, a percentagem de ácidos graxos insaturados aumenta na fase de extração.

Na Figura 5 pode-se observar as curvas de extração do óleo da *Desmodesmus sp.*, para cada condição de pressão (250 e 450 bar) e temperatura (60 e 40 °C), mostrando que o maior rendimento de extração foi favorável na condição de 450 bar e 40 °C.

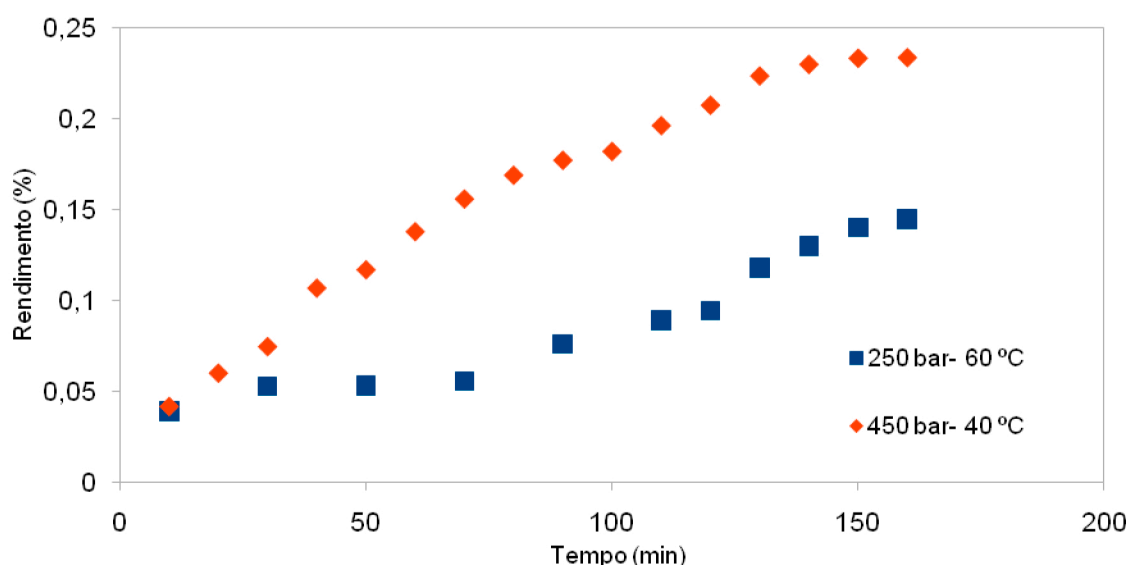


Figura 5 – Curvas de extração do óleo da *Desmodesmus sp.*.

Diante do exposto, pode-se concluir que, com o aumento da pressão há um maior rendimento em massa. Esse comportamento já era esperado visto, pois em geral, um aumento na pressão a temperatura constante causa um aumento na densidade do fluido supercrítico, elevando assim o seu poder de solvência, apesar da temperatura ser mais baixa. Para esse caso, acredita-se que a influência da pressão é muito maior que a da temperatura.

4. CONCLUSÃO

Neste trabalho é investigada a aplicação de extração com fluido supercrítico para obtenção de óleo na microalga *Desmodesmus sp.*. A extração com fluido supercrítico se mostrou eficiente, sendo o melhor resultado obtido na condição de operação de 40 °C e 450 bar com o rendimento de 0,234%.

A *Desmodemus sp.* está sob investigação para avaliar a caracterização do extrato obtido em diferentes condições de operação através de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas, permitindo a identificação dos componentes.

5. REFERÊNCIAS

BECKMAN, E. J. Supercritical and near-critical CO₂ in green chemical synthesis and processing. *J. Supercritical Fluids*, v.28, p.121-191, 2004.

BRENNAN, L. & OWENDE, P. Biofuels from microalgae-A review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. v, 14 (2), p. 557-577, 2010.

CHEUNG, P.C.K. Temperature and Pressure Effects on Supercritical Carbon Dioxide Extraction of n-3 Fatty Acids from Red Seaweed. *Food Chemistry*, v. 65, p. 399-403, 1999.

CHEUNG, P. C. K.; LEUNG, A. Y. H.; ANG, P. O., JR. Comparison of Supercritical Carbon Dioxide and Soxhlet Extraction of Lipids from a Brown Seaweed, *Sargassum hemiphyllum* (Turn.) C. Ag. *J. Agric. Food Chem.* v. 46, 4228, 1998.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. *Biotechnology Advances*. v.25, p. 294-306, 2007.

GADD, G.M. Biosorption: critical review of scientific rationale, environmental importance and significance for pollution treatment. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, v. 84, p. 13-28, 2008.

GARCIA ALBA, C.; TORRI, C.; SAMORÌ, J.; VAN DER SPEK, D.; FABBRI, S.R.A.; KERSTEN, D.W.F. Hydrothermal treatment (HTT) of microalgae: evaluation of the process as conversion method in an algae biorefinery concept. *Energy Fuels*, v. 26 (1), p. 642-657, 2012.

HOEK, C. Algae: an introduction to phycology. London: Cambridge University, p. 623, 1995.

MENDES, M.; PESSOA, F.; ULLER, A. An economic evaluation based on an experimental study of the vitamin E concentration present in deodorizer distillate of soybean oil using supercritical CO₂. *The Journal of Supercritical Fluids*, v. 23, p. 257-265, 2002.

MENDES, R. L.; COELHO, J. P.; FERNANDES, H. L.; MARRUCHO, I. J.; CABRAL, J.M. S.; NOVAIS, J. M.; PALAVRA, A. F. Applications of supercritical CO₂ extraction to microalgae and plants. *J. Chemical Technology and Biotechnology*. v. 62, p.53-59, 1995.

MENDES, R. L.; NOBRE, B. P.; CARDOSO, M. T.; PEREIRA A. P.; PALAVRA A. F. Supercritical carbon dioxide extraction of compounds with pharmaceutical importance from microalgae. *Inorganica Chimica Acta*, v. 356, p. 328-334, 2003.

PALAVRA, A. M. F.; COELHO, J. P.; BARROSO, J. G.; RAUTER A. P.; FARELEIRA J. M. N. A.; MAINARD, A.; URIETAD, J. S.; NOBRE, B. P.; GOUVEIA L.; MENDES R. L.; CABRAL J. M. S.; NOVAIS, J. M. Supercritical carbon dioxide extraction of bioactive compounds from microalgae and volatile oils from aromatic plants. *J. of Supercritical Fluids*, v. 60, p. 21-27, 2011.

PULZ, O & GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. *Appl. Microbiol. Biotechnol.*, v. 65, p. 635-648, 2004.

RICHMOND, A. (Ed). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied

phycology. Oxford: Blackwell Science, p. 566, 2004.

SKULBERG, O.M. Bioactive chemicals in microalgae. In: RICHMOND, A. (Ed). Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology. Oxford: Blackwell Science, p. 485-512, 2004.

STENGEL, D. B.; CONNAN, S.; POPPER Z. A. Algal chemodiversity and bioactivity: Sources of natural variability and implications for commercial application. *Biotechnology Advances*. v. 29 (5), p. 483-501, 2011.

WILLIAMS, D. F. Extraction of triglycerides and phospholipids from canola with supercritical carbon dioxide and ethanol. *J. Am. Oil Chem. Soc.*, U.S.A., v. 36 (11), p. 1769-1788, 1981.

XU, H.; MIAO, X.; WU, Q. High quality biodiesel production from a microalga *Chlorella protothecoides* by heterotrophic growth in fermenters. *J Biotechnol*. v. 126 (4), p. 499-507, 2006.