

ENERGIAS RENOVÁVEIS

EXTRAÇÃO E QUANTIFICAÇÃO DO TEOR DE LIPÍDIOS DE MICROALGAS AVALIANDO DIFERENTES SOLVENTES VISANDO A PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Jairo Pereira de Oliveira Junior – 21111996.jj@gmail.com
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul

Leila Cristina Konradt Moraes – leilackm@uems.br
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul

Cláudia Andréa Lima Cardoso – claudia@uems.br
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul

Luiz Eduardo Aparecido Grassi – grassi@uems.br
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul

Silvia Cristina Heredia Vieira – silviacristina_85@hotmail.com
Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul

Resumo: Nos últimos anos, a busca por biocombustíveis vem ganhando um grande impulso devido à necessidade mundial de utilização de energia mais limpa e renovável. Desse modo, a produção de biodiesel se intensificou pelo Brasil e, conseqüentemente, a constante busca por diferentes matérias-primas. Como alternativa surgiu a utilização de microalgas com esta finalidade, sendo que, estudos presentes na literatura afirmam que estes micro-organismos possuem um elevado teor lipídico, o que é fundamental para geração do produto em questão. Nesta perspectiva, este trabalho buscou avaliar a eficácia da extração de lipídios utilizando solventes orgânicos, analisando qual possibilitaria o melhor rendimento de extração. O método utilizado se baseou na extração por solvente, envolvendo o uso de ultrassom e agitação magnética na presença dos solventes clorofórmio:metanol 2:1 (v/v), metanol, etanol e hexano. Os resultados mais satisfatórios foram obtidos a partir da utilização da agitação magnética utilizando a mistura clorofórmio:metanol onde o percentual médio de extração foi de 18,67%. Os resultados menos satisfatórios foram obtidos utilizando o solvente hexano, um solvente apolar, indicando assim uma baixa quantidade de componentes lipídicos apolares. Os resultados obtidos indicam uma utilização promissora das microalgas para obtenção de biodiesel em função da considerável fração lipídica. Outro ponto muito positivo desta matéria-prima é não fazer parte da cadeia alimentar humana, ou seja, sua utilização não interferirá no ciclo de produção de alimentos.

Palavras-chave: Biodiesel, Piscicultura, Extração por solvente, Agitação magnética.

1. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Os crescentes problemas ambientais gerados pela emissão de gases poluentes, oriundos da utilização de combustíveis fósseis, sendo um dos principais o petróleo, trouxe a necessidade de investimentos em pesquisas no uso de fontes de energias mais limpa, como é o caso do biodiesel. Além disso, o biodiesel também é uma fonte de energia renovável, mostrando-se dessa forma, uma alternativa promissora.

A piscicultura é uma atividade que vem desenvolvendo-se no Brasil em um ritmo de aproximadamente 30% ao ano (AGOSTINHO, 2006). Esse índice é superior ao das atividades rurais mais tradicionais, como a agricultura e pecuária. De acordo com Ostrensky (1998), um motivo para tal crescimento é o resultado da elevada lucratividade que a prática pode proporcionar, bem como o retorno de capital investido em menor período de tempo para o produtor rural.

Em águas com muito fitoplâncton, é possível que ocorram problemas com o oxigênio dissolvido e pH da água. Os fitoplâncton são comumente encontrados em tanques de piscicultura e são os principais responsáveis pela produção de oxigênio na água, através da fotossíntese, porém eles também consomem oxigênio para sobreviver (BRANDINI, 1990).

As microalgas são os principais organismos que compõem o fitoplâncton. Estudos realizados identificam as microalgas como uma excelente alternativa para produção de biodiesel (CHISTI, 2007). O processo vem se mostrando promissor porque a microalga, além de ser oriunda de fontes renováveis, colabora com o meio ambiente por sua capacidade de captação de gás carbônico (CO₂). Além disso, diferente da maioria das matérias-primas do biodiesel, ela não faz parte da cadeia alimentar da população, logo, sua utilização não afeta o setor econômico alimentício e é produzida o ano todo (CARMO, 2012; OLIVEIRA, 2013).

Em seu estudo, Dantas e colaboradores (2010) constataram que o metanol e o tetrahidrofurano apresentaram-se como os melhores solventes para extração de componentes de microalgas com a utilização em associação a ondas ultrassônicas. Contudo, Silva (2013) utilizou para a extração do óleo de microalgas o n-hexano, etanol e etanol+água (adição de 4% e 10% de água (v/v) em etanol) como solventes, classificando então o etanol como o melhor solvente para extração de óleo de microalgas, também afirmando que ao reduzir o volume do etanol pela metade, o seu potencial de extração não é alterado, o que o torna econômica e ambientalmente mais viável.

A associação dos óleos vegetais com o álcool, em um processo químico conhecido como transesterificação, está viabilizando um novo combustível de origem renovável, o éster de óleo extraído de vegetais, oleaginosas e resíduos gordurosos, também conhecidos como biodiesel. Neste processo, também conhecido como alcoolize, ocorre a reação entre um éster e um álcool (metanol ou etanol), formando o biodiesel e outro álcool (glicerol) (MENEGETTI & BRITO, 2013).

Perante o exposto, o principal objetivo deste trabalho foi a determinação da eficiência de extração de lipídios de microalgas a partir dos solventes estudados visando, posteriormente, a produção de biodiesel. Avaliou-se ainda a eficácia do equipamento de ultrassom em substituição à agitação magnética buscando aumentar ainda mais a eficiência de extração.

2. METODOLOGIA

2.1. Coleta das microalgas

As microalgas foram coletadas em um tanque de piscicultura (Figura 1) situado na unidade sede da Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul (UEMS), localizada no município de Dourados – MS, com a ajuda de 6 garrafas plásticas com volume máximo de 5 litros, totalizando 30 litros de amostra.

Figura 1 – Tanque de piscicultura de onde foram retiradas as amostras



2.2. Recuperação da biomassa

Após a coleta das amostras, foram estudados diferentes métodos de separação da biomassa microalgal visando uma maior eficiência na recuperação da biomassa. Os métodos avaliados foram sedimentação, filtração e coagulação/floculação/sedimentação/filtração. Os procedimentos executados estão descritos a seguir.

No processo de sedimentação, a amostra foi acondicionada em uma bancada plana, onde foi mantida em repouso durante o período de 5 dias, objetivando a completa sedimentação das microalgas presentes no meio. A filtração foi realizada utilizando um papel de filtro acoplado a um funil de vidro. Para a realização da filtração a amostra foi introduzida ao filtro gradativamente, evitando o transbordamento e consequentemente a perda da biomassa.

O método de coagulação/floculação/sedimentação/filtração (Figura 2) utilizou como agente coagulante o cloreto férrico hexahidratado ($\text{FeCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$). A quantidade de cloreto férrico adicionada foi de 0,75 gramas por litro, ou seja, 3,75 gramas por garrafa. Para tais ensaios a agitação foi efetuada manualmente, dividindo-se entre agitação rápida e lenta, no período de 2 minutos cada. Ao término da agitação as amostras foram acondicionadas sobre a bancada, onde permaneceram no processo de sedimentação, durante 40 minutos.

Após o término da sedimentação, a biomassa concentrada foi submetida a filtração, em filtros nylon e em seguida transferida para capsulas de porcelana previamente preparadas e, por fim, encaminhada para a estufa, em temperatura de 60 °C até peso constante.

Figura 2 – Processo de floculação química



Ao fim do período de secagem, as capsulas foram retiradas da estufa e acondicionadas em dessecador durante 30 minutos e posteriormente pesadas em balança analítica.

2.3. Extração e quantificação de lipídios baseada na metodologia de Bligh & Dyer (1959) adaptada por D'Oca *et al.* (2011)

Com o auxílio de uma balança analítica foram pesadas três amostras de biomassa de aproximadamente 0,05 g em tubos de ensaio. Posteriormente foi adicionado 1,5 mL de uma mistura 2:1 (v/v) de clorofórmio:metanol em cada e em seguida a amostra foi encaminhada para agitação (Figura 3) em agitador magnético, utilizando como auxílio uma barra magnética e 10 micropérolas, durante 20 minutos.

Figura 3 – Amostras em processo de agitação magnética para extração de lipídios



Após agitadas, as amostras foram centrifugadas (Figura 4) por 5 minutos a 2000 rotações por minuto. Por fim, o sobrenadante foi retirado, utilizando uma pipeta de Pasteur, e acondicionado em tubos de ensaio previamente preparados (com peso conhecido), passando por funil com papel de filtro. A extração foi repetida por três vezes para cada tubo.

Figura 4 – Centrífuga utilizada nos ensaios



As amostras foram então levadas à estufa para completa evaporação do solvente à 60 °C até peso constante e após resfriadas, foram pesadas novamente, para então ser realizado os cálculos para determinação do rendimento.

Vale ressaltar que essa metodologia foi executada inicialmente com o agitador magnético e posteriormente com o ultrassom buscando avaliar qual dos dois equipamentos garante o melhor potencial de extração.

Salienta-se ainda que além da mistura clorofórmio:metanol (2:1 v/v), foram utilizados os solventes metanol, etanol e hexano, com a finalidade de avaliar qual seria mais indicado para extração de lipídios de microalgas em conjunto com os dois tipos de agitação.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Após testes preliminares, o método escolhido para separação da biomassa microalgal foi o que utilizava coagulação/floculação/sedimentação/filtração pois, a partir da análise visual foi possível identificar que esta metodologia foi a que garantiu maior eficiência de retirada das microalgas do meio líquido.

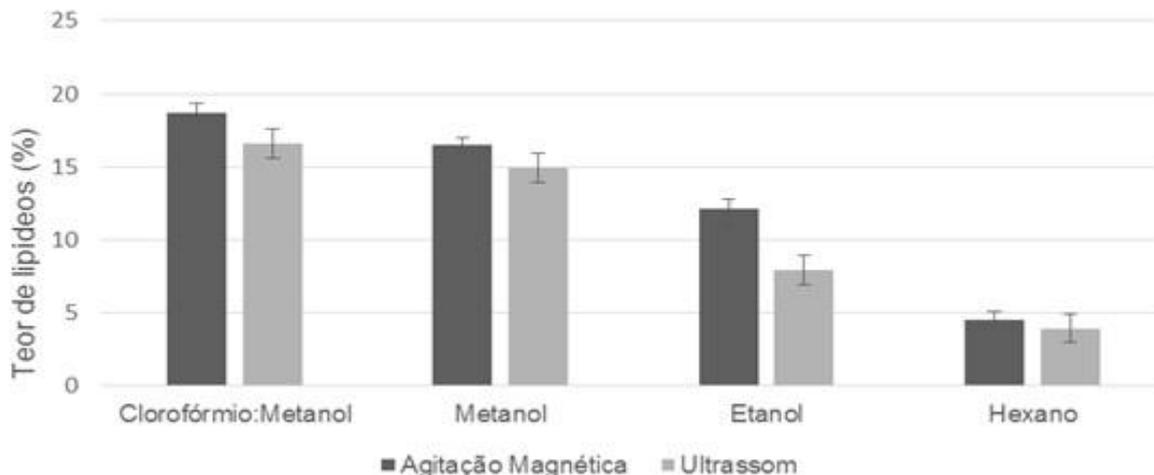
A extração de lipídios totais foi realizada utilizando solventes diversos, com diferentes polaridades, sendo eles a mistura clorofórmio:metanol (2:1 v/v), metanol, etanol e hexano, objetivando a determinação do solvente mais apropriado para a extração considerando-se o processo de agitação magnética (AM) e agitação por ultrassom (AU). Os resultados foram avaliados submetendo-se a mesma amostra a cada um destes solventes e avaliando o teor lipídico obtido.

Os resultados correspondentes ao teor de lipídios totais das microalgas para as condições estudadas estão apresentados na Tabela 1 e Figura 5.

Tabela 1 – Teor de lipídios obtidos após diferentes métodos de extração

Solventes Agitação	Teor de lipídios (%)			
	CHCl ₃ :CH ₃ OH 2:1 (v/v)	CH ₃ OH	C ₂ H ₅ OH	C ₆ H ₁₄
AM	(18,67 ± 0,71)	(16,53 ± 0,71)	(12,09 ± 0,67)	(4,53 ± 0,53)
AU	(13,60 ± 0,46)	(14,31 ± 0,67)	(7,73 ± 0,53)	(3,64 ± 0,94)

Figura 5 – Teor de lipídios obtidos após diferentes métodos de extração



Na literatura (BRUM, 2009; FOLCH et al., 1957; BLIGH, 1959; D'OCA et al., 2011), o solvente mais utilizado é a mistura clorofórmio:metanol (2:1 v/v), a mesma garante resultados mais satisfatórios devido a capacidade de extração de lipídios polares e apolares. De acordo com os resultados obtidos é possível afirmar que o método mais eficaz foi a agitação magnética utilizando a mistura clorofórmio:metanol (2:1 v/v) como solvente, garantindo dentre todas o maior percentual de teor lipídico, corroborando assim com o referencial teórico.

Ao analisar os teores lipídicos totais de todas as amostras nota-se que a agitação magnética se mostrou mais eficiente em todos os casos, tal fato também foi observado no trabalho de Brum (2009). Vale ressaltar ainda que a utilização do metanol em associação com a agitação magnética gerou melhores resultados do que a mistura de clorofórmio:metanol (2:1 v/v) com ultrassom, tal fato pode ser explicado devido a agitação magnética possuir um processo de homogeneização mais eficiente (BRUM, 2009).

Avaliando o percentual de extração utilizando o solvente metanol, observa-se que os valores de eficiência foram próximos para os dois métodos de agitação estudados. Fato este que não se repetiu quando se compara os valores obtidos quando se utilizou o etanol como solvente.

Ao comparar os resultados obtidos para os solventes metanol e etanol, percebe-se que os melhores rendimentos foram atingidos com o metanol. Assim, os resultados indicam que a maior parte da fração lipídica possui característica polar e tem maior afinidade com o solvente polar (metanol). Todavia, Silva (2013) afirma que a extração utilizando o solvente etanol é considerada mais conveniente, pois ele não é tóxico, possui um baixo custo comparado a outros solventes e é oriundo de fontes renováveis.

Os piores resultados foram obtidos utilizando o solvente hexano, um solvente apolar, indicando que a quantidade de componentes lipídicos apolares é baixa, confirmando assim que os lipídios das microalgas estão na forma de lipídios polares (CHISTI, 2007). Ademais, segundo Undeland (1998), lipídios polares possuem menor solubilidade em solventes com cadeias de hidrocarbonetos, consequentemente a eficiência da extração será menor.

A extração de lipídios é influenciada pelo solvente utilizado, conforme o solvente a qualidade da fração lipídica sofre modificações (GRIMA et al., 1994), por exemplo, ao utilizar solventes apolares como o clorofórmio e hexano, serão extraídos hidrocarbonetos,

ácidos graxos e triacilgliceróis. Por outro lado a fração lipídica polar será obtida utilizando o metanol, extraíndo os glicolípídios e fosfolípídios, como também o etanol extraíndo sulfolípídios.

Vale ressaltar ainda que todos os experimentos realizados foram executados em triplicata a fim de proporcionar maior confiabilidade e menor índice de erros aos resultados alcançados.

4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Ao analisar o teor de lipídios extraídos, conclui-se que a matéria-prima estudada é promissora, pois a mesma garantiu uma fração lipídica consideravelmente elevada, acima de 18% para o melhor resultado. Outro ponto de grande importância é que as microalgas não estão presentes na cadeia alimentar humana, ou seja, sua utilização não interferirá no ciclo de produção de alimentos.

Agradecimentos

À Fundect e ao CNPq pela concessão da bolsa de iniciação científica.

5. REFERÊNCIAS E CITAÇÕES

AGOSTINHO, Ângelo Antônio. Espécies Nativas para a Piscicultura no Brasil. **Neotrop. Ichthyol.** Porto Alegre, v. 4, n. 3, p. 375, Sept. 2006 . Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S167962252006000300010&lng=en&nrm=iso>. Acesso em 29 de Março 2016.

BLIGH, E.G.; DYER, W.J.; CAN. J. Biochem. Physiol. 1959, 37, 911.

BRANDINI, Frederico Pereira. Produção primária e características fotossintéticas do fitoplâncton na região sudeste do Brasil. **Bol. Inst. Oceanogr.**, São Paulo, v. 38, n. 2, p. 147-159, 1990.

BRUM, Aelson Aloir Santana; ARRUDA, Lia Ferraz de; REGITANO-D'ARCE, Marisa Aparecida Bismara. Métodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias-primas de origem vegetal e animal. **Quím. Nova**, São Paulo, v. 32, n. 4, p. 849-854, 2009.

CARMO, M. P. S. **Biodiesel de microalgas: balanço energético e económico**. 2012. 79 f. Dissertação (mestrado), Universidade de Aveiro. 2012.

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

DANTAS, D. M. M.; DRUMMOND, A. R. F.; SANTOS, L. B. G.; SANTOS, F. K.; BEZERRA, R. S.; GÁLVEZ, A. O. **Extração de óleo de microalga utilizando ultrassom com diferentes solventes visando a produção de biodiesel**. 2010. João Pessoa. In: IV Congresso Brasileiro de Mamona e I Simpósio Internacional de Oleaginosas Energéticas, 2010, João Pessoa. Inclusão Social e Energia: Anais... Campina grande: Embrapa Algodão, 2010. p. 1900-1904.

D'OCA M. G. M., VIÊGAS C. V., LEMÕES J. S., MIYASAKI E. K., MORÓN-VILLARREYES J. A., PRIMEL E. G. and ABREU P. C. Production of FAMES from several microalgal lipidic extracts and direct transesterification of the *Chlorella pyrenoidosa*. *Biomass Bioenergy* 35: 1533-1538. 2011.

FOLCH, J.; LEES, M.; STANLEY, G. H. S.; *J. Biol. Chem.* 1957, 226, 497.

GRIMA, M. E.; MEDINA, R. A.; GIMENEZ, G. A.; PEREZ, S. J. A.; CAMACHO, G. G.; SÁNCHEZ, G. J. L.; Comparasion between extraction of lipids and fatty acids from microalgal biomass. *Journal of American Oil Chemists' Society*, 71, 955, 1994.

MENEGHETTI, M. R.; BRITO Y. C. **A Reação de Transesterificação, Algumas Aplicações e Obtenção de Biodiesel.** 2013, *Rev. Virtual Química*. p. 63-73.

OLIVEIRA, A. C. de. **Produção de biomassa de microalgas *scenedesmus sp.* em efluente de bovinocultura biodigerido.** 2013. 82 f. Dissertação (mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2013.

OSTRENSKY, A.; BOEGER, W. *Piscicultura: fundamentos e técnicas de manejo.* Guaíba: Agropecuária, 1998. 211 p.

SILVA, G. de S. **Extração do óleo de microalgas para produção de biodiesel.** 2013. 89 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba. 2013.

UNDELAND, I.; HÄRRÖD, M.; LINGNERT, H.; *Food Chem.* 1998, 61, 355.