

COMPARAÇÃO ENTRE MÉTODOS DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE MICROALGAS

Willian Acordi Cardoso¹

Willian Boneli de Almeida²

Reginaldo Geremias³

Amanda Gonçalves Puckoski⁴

Elidío Angioletto⁵

Resumo

Entre as diversas pesquisas que estão sendo realizadas com combustíveis alternativos se está testando o uso de microalgas para a obtenção de biodiesel. O uso das microalgas está ganhando destaque, devido a grande quantidade de óleo que ela pode produzir, chegando até 75% da biomassa seca, além da pequena área necessária para o cultivo. Entre os diversos problemas a serem superados no trabalho com microalgas, para produção de biodiesel está a eficiência na extração do óleo. Diversos métodos tem sido testados com essa finalidade, entre eles podem ser citados, extração por arraste de vapor, extração supercrítica, com o uso de diversos solventes orgânicos, entre outros. O objetivo deste trabalho foi verificar a eficiência da extração do óleo da biomassa de microalgas pelo solvente hexano com e sem uso de gerador de ultrassom. Os resultados mostraram que a extração utilizando ultrassom é mais eficiente quando comparada àquela utilizando soxhlet.

Palavras-chave: Microalgas. Biodiesel. Extração de óleo. Ultrassom.

INTRODUÇÃO

As microalgas estão sendo utilizada pelas indústrias durante muitos anos devido as suas inúmeras aplicações em produtos de extrema importância para sociedade, tais como alimentos para consumo humano, suplementos, fármacos, polímeros, lipídios, biofilmes, biomassa, biorremediação, na aquicultura. Ela captura CO₂ do ar, utilizando como fonte de carbono em seu metabolismo e as microalgas têm um grande potencial na geração de energia na forma de bicompostíveis (ARAÚJO et al., 2013).

¹ Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC). Laboratório de Desenvolvimento de Biomateriais e Materiais Antimicrobianos (LADEBIMA).

² Programa de Pós Graduação de Engenharia Química da Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC).

³ Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC). Campus Araranguá.

⁴ CEDUP – Centro de Educação Profissional – CEDUP "ABÍLIO PAULO".

⁵ Universidade do Extremo Sul Catarinense (UNESC). Laboratório de Desenvolvimento de Biomateriais e Materiais Antimicrobianos (LADEBIMA). E-mail para contato: ean@unesc.net.

Alguns autores (SCHNEIDER, 2006; CHISTI, 2007) afirmam que algumas espécies podem atingir grandes quantidades de óleo podendo alcançar até 75% de sua biomassa seca. As microalgas podem ter seu crescimento alterado de várias formas como, falta de nutrientes, intensidade luminosa, a quantidade de CO₂ como fonte de carbono em cultivo autotrófico, o pH e a temperatura são as principais variáveis no cultivo. A alteração destes elementos pode alterar a composição química da microalga.

A escolha das cepas é de extrema importância para se obter uma quantidade de óleo satisfatória na extração. A microalga deve conter características favoráveis às condições ambientais do local de cultivo, um bom crescimento em pouco tempo de cultivo, produzir em sua célula uma quantidade de lipídios grande (MATA et al., 2009).

O óleo pode ser extraído de formas diferentes e utilizando solventes diferentes, e com estas inúmeras possibilidades muitos estudos estão sendo realizados para aperfeiçoar o processo e obter uma quantidade de óleo maior e com um custo cada vez menor.

Os solventes orgânicos são muitos utilizados na extração do óleo das microalgas, mas devido ao potencial antioxidante e a polaridade dos compostos, o rendimento depende do tipo de solventes utilizados (MARINOVA; YANISHLIEVA, 1997).

A extração do óleo pode ser realizada com alguns solventes diferentes como água, metanol, etanol, tetrahidrofurano (THF), hexano e éter, onde cada um têm suas particularidades para extrair óleo (DANTAS et al., 2010). Obter informações sobre os solventes que serão utilizados é indispensável devido a diferença entre as espécies de microalgas. Há solventes que não conseguem romper totalmente a parede celular da microalga, e com isso obtêm-se um menor rendimento de óleo.

A extração do óleo das microalgas por ultrassom é utilizado para extrair compostos com peso molecular baixo aumentando assim o rendimento devido a sua eficiência e sua demanda energética menor, comparado com outras técnicas de extração utilizadas (MACÍAS-SÁNCHEZ et al., 2009).

Outra vantagem da extração utilizando ultrassom é a redução do tempo sendo uma grande vantagem além de reduzir o volume de solvente necessário. Esta técnica tem um ponto muito importante que unida à redução do tempo de extração e o baixo volume de solvente diminuirá possíveis danos ambientais (MATA et al., 2009).

A eficiência do equipamento de ultrassom nos testes realizados com microalgas *Scenedesmus subspicatus* evidenciaram que é um método possível e prático quando se utiliza o solvente hexano como extrator de óleo (DANTAS et al, 2010).

A procura por fontes alternativas de energia sustentável como os biocombustíveis, tem se intensificado muito nos últimos anos, neste contexto este trabalho se justifica estudando métodos mais eficientes de extração de óleo da biomassa de microalgas *S. subspicatus*.

Microalgas

As microalgas são microrganismos fotossintetizantes, são definidas como talófitos, e portanto não contém folhas, caule, embriões, sistema vascular e raízes. As suas células podem ser de 2 a 200µm e tem como pigmento a clorofila – a. Além destas particularidades elas podem ser tanto autotróficas quando sua fonte de carbonos é adquirida através de fontes de CO₂ e luminosidade para que ocorra a fotossíntese. Elas, entretanto, se reproduzem como heterotróficas desde que fontes de carbonos bem como fontes de nutrientes sejam incluídas ao meio de cultura (MUTANDA, 2011).

Uma das vantagens de cultivar microalgas é a facilidade de reprodução devido a este microrganismo ser encontrado tanto em lugares úmidos terrestres, ambientes aquáticos de água doce salgada e salobra. Com esta facilidade, as microalgas se tornam um potencial na produção do biodiesel minimizando vários impactos ambientais como poluição atmosférica, do solo e dos efluentes (FRANCO et al., 2013).

Scenedesmus subspicatus

A *Scenedesmus* é comum em qualquer coleta de água, além disso, são os primeiros microrganismos a colonizar o ambiente se reproduzindo facilmente sendo possível encontrar em tanques, jardins, chafarizes. Nesses ambientes é possível encontrar outras espécies deste gênero (BICUDO et al., 2006).

Na natureza a *S. subspicatus* é uma alga verde que forma agregados de 5 ou 6 células, ela é planctônica e encontrada nos ecossistemas de água doce (KNIE, 2004). Em laboratório, entretanto, é comum a forma unicelular, conforme mostrado na figura 1.

Figura 1: Micrografia da microalga *Scenedesmus subspicatus*.



Fonte: O autor.

Biodiesel

A produção de biocombustíveis através de microalgas está sendo muito estudado para que este combustível possa reduzir a emissão de CO₂ e outros gases causadores do efeito estufa. Além de emitir menos poluentes que os produtos derivados do petróleo, o biodiesel tem a vantagem de não envolver a entrada de mais carbono no ambiente, pois empregam apenas frações que já fazem parte da biosfera (LOURENÇO, 2006).

O processo utilizado para a transformação do óleo de microalgas em biodiesel é a transesterificação do óleo extraído via catálise ácida ou básica na presença de um álcool. Alguns processos de transformação de triacilglicerídeos em biocombustíveis são descritos por alguns autores (MENEZES et al., 2013).

Triacilglicerídeos

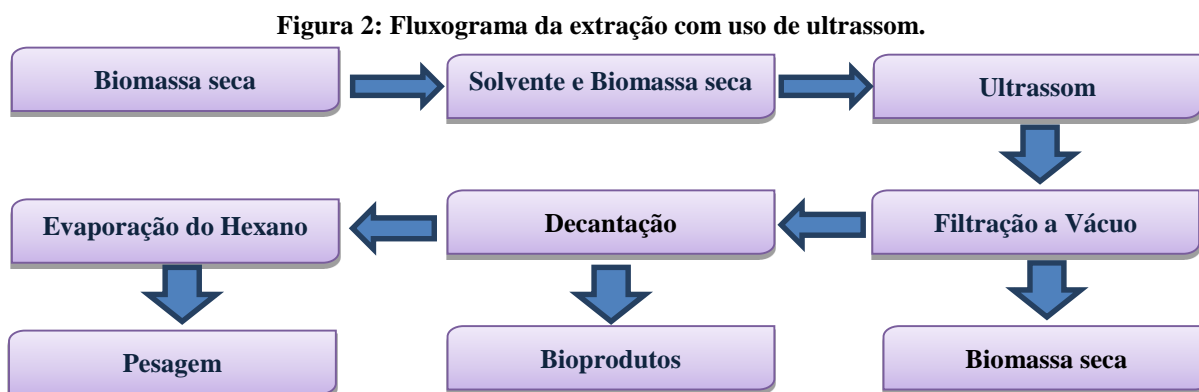
Segundo Pereira (2012), “as microalgas, e outros organismos, são capazes de sintetizar e estocar acil gliceróis como fonte de energia e carbonos. Geralmente, a síntese se dá a partir do L- α -fosfoglicerol, oriundo da via glicolítica, e acil CoA. A transferência de resíduos de acilas se dá a partir da acil CoA transferase que forma o ácido lisofosfatídico que, através da L-acilglicerol-3-fosfato-aciltransferase, transfere outra acila formando o ácido L- α -fosfatídico. Este composto é a origem dos fosfolipídios ou depois da ação de uma fosfatase e incorporação do terceiro resíduo de acila, através da diacilglicerol aciltransferase, se transforma em triacilglicerol”.

MATERIAIS E MÉTODOS

No desenvolvimento desse trabalho, utilizou-se biomassa seca obtido pelo autor utilizando cepas de *S. subspicatus*, cedidas pelo Laboratório de Ecotoxicologia do IPAT – Instituto de Pesquisas Ambientais e Tecnológicas, e o meio utilizado foi o meio CHU, descrito no protocolo de Knie, 2004. A biomassa foi separada do meio de cultivo por decantação e a seguir foi coletada e seca em estufa a 60°C, até peso constante. A seguir foi separada em duas porções para proceder a retirada do óleo: a) com o uso de ultrassom; b) com o uso de soxhlet.

Extração de óleo pelo método de Ultrassom

Para extrair o óleo uma amostra contendo 15,5 gramas de biomassa seca foi adicionado 70 mL de hexano e a amostra foi colocada em equipamento de ultrassom onde permaneceu por 30 minutos a 45 kHz. Na figura 2 se apresenta o fluxograma da sequência utilizada para a extração por ultrassom.

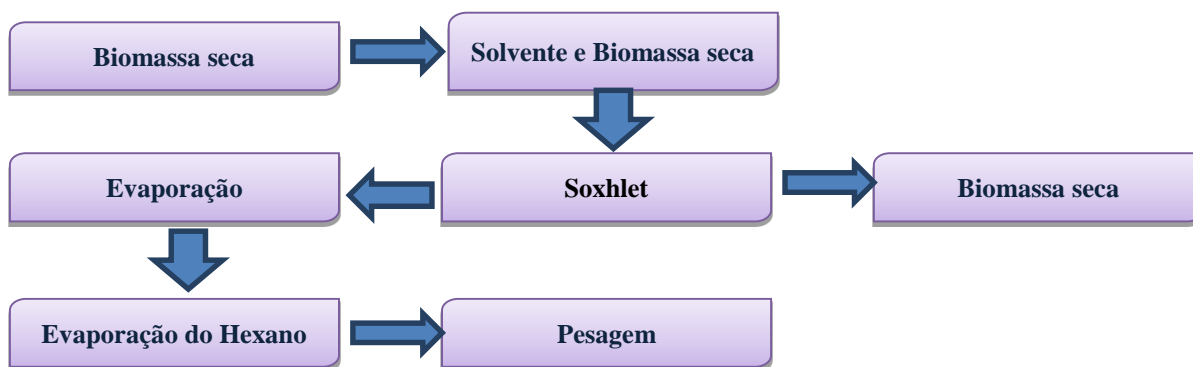


Após a extração utilizando ultrassom, o conteúdo do béquer foi filtrado a vácuo, e o líquido foi colocado em funil de decantação. Adicionalmente, para separar o Hexano do óleo utilizou-se um evaporador rotativo durante 6 horas a 50°C. Após o conteúdo foi pesado.

Extração de óleo pelo método de Soxhlet:

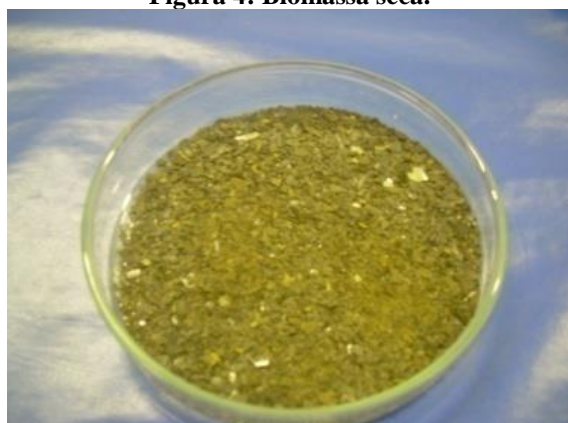
O experimento foi realizado como o equipamento soxhlet utilizando hexano como solvente. Na figura 3 se apresenta o fluxograma da sequência utilizada para a extração por soxhlet.

Figura 3: Fluxograma da extração com uso de soxhlet.



Esta técnica inicia-se colocando a biomassa seca (Figura 4) moída, acondicionada em cartucho de papel com sulfato de sódio, onde este tem a finalidade de remover a umidade residual da biomassa. Esse cartucho carregado de biomassa é inserido dentro do Soxhlet. Foram colocados 70 mL de hexano, foi aquecido num balão até aproximadamente 70°C. Esse procedimento foi realizado em um tempo de 6 horas, após o balão com o solvente e o conteúdo solúvel, foi levado para um evaporador rotativo, a fim de evaporar todo o solvente. Após o término da evaporação do solvente o balão com o óleo foi levando para uma estufa a 100°C por 24 horas para remover qualquer solvente residual e após essa etapa realizou-se a pesagem do óleo para determinar o rendimento.

Figura 4: Biomassa seca.



Fonte: O Autor.

Análise por infravermelho

Com objetivo de comprovar que não haveria contaminação residual do solvente no óleo foi realizada espectroscopia de infravermelho com transformada de fourier (FTIR). Utilizou-se equipamento Espectrofotometro de infravermelho, marca SHIMADZU, modelo IRPRESTIGE. O método utilizado foi o da pastilha de KBr, e o background ao ar.

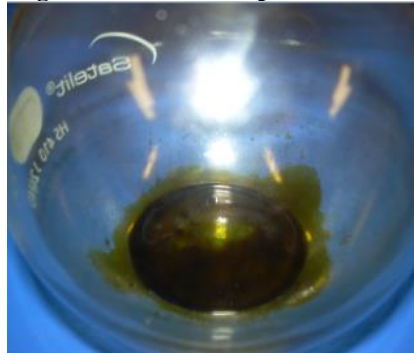
RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados mostraram diferenças significativas entre os métodos propostos para a extração da biomassa. No método que se utilizou o soxhlet, a extração rendeu 2,1 % de óleo (figura 5). No método que se utilizou o ultrassom a extração rendeu 32% de óleo (figura 6). Comparando-se os métodos pode-se observar que o método que utilizou o ultrassom apresenta um rendimento superior ao método do soxhlet em aproximadamente 15 vezes.

Figura 5: Óleo obtido por Soxhlet.



Figura 6: Óleo obtido por Ultrassom.



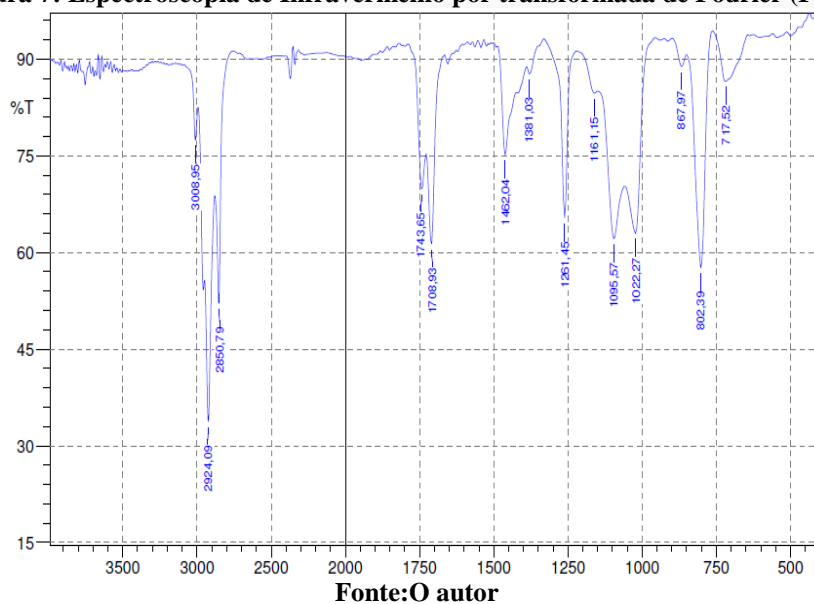
Fonte: O Autor

A diferença significativa apresentada entre os métodos está ligada à liberação de lipídeos intracelulares e percebe-se que os métodos diferem largamente em termos energéticos e econômicos. O mecanismo destas técnicas é diferente e envolvem a ruptura das células para libertar os lipídios presentes no citoplasma (ARAUJO, 2013). Neste aspecto, muitos trabalhos estão sendo desenvolvidos, e entre eles pode-se citar ultra-sons, microondas, enzimas, extração por solventes e fluidos pressurizados com abrasivos (LEE, 2010, RANJAN, 2010). O resultado obtido é corroborado por Ranjan (2010), que também concluiu que a extração utilizando o ultrassom é mais eficiente que àquela realizada por soxhlet.

Análise do óleo extraído

Um dos problemas mais comuns na extração de óleos é sua contaminação por solvente residual, ou ainda por DNA ou clorofila (ARAUJO, 2013). Para se obter uma avaliação preliminar da influência dos métodos de extração em relação a contaminação se realizou análise por espectroscopia de infravermelho. Quando comparados os resultados da espectroscopia de FTIR para os dois métodos de extração, os mesmos não apresentaram diferenças significativas. Na figura 7 se apresenta o resultado da espectroscopia de FTIR para o óleo extraído utilizando o ultrassom. A análise dos picos é apresentada na tabela 1, onde se pontua a possível identificação dos grupos presentes.

Figura 7: Espectroscopia de Infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).



O espectro de FT-IR de bio-óleos apresentam absorção característica pois os picos refletem os grupos funcionais especiais e a presença de compostos correspondentes a determinada categoria. Geralmente, os espectros de FTIR mostram importantes picos que explicam o alongamento, flexão e absorção devido as ligações em amostras de óleo. Outros autores observaram que os picos de absorção são os mesmos para óleos retirados de diversas espécies de microalgas. Na tabela 1, se faz a comparação entre a identificação realizada pelos autores deste trabalho com outros autores que também trabalharam com óleo de microalgas.

Tabela 1: Identificação por FTIR dos grupos funcionais do óleo extraído de microalgas.

Pico de Absorção (cm ⁻¹)	Identificação realizada pelos autores deste trabalho	Identificação realizada por Shuping, 2010	Identificação realizada por Baloyi, 2012
3008,95	Alongamento das ligações C-H	Os picos de absorção na faixa entre 2800 a 3050 correspondem ao alongamento das ligações C-H atribuídas ao grupo dos alcanos.	Os picos que aparecem na faixa de frequência de vibração entre 3500-3000 cm ⁻¹ correspondem ao alongamento O-H e pode ser causado pela presença de impurezas da água ou álcoois.
2924,09	Alongamento do grupo Alifático C-H.	Os picos de absorção na faixa entre 2800 a 3050 correspondem ao alongamento das ligações C-H atribuídas ao grupo dos alcanos.	Essa banda está relacionada com as vibrações de alongamento das ligações C-H.
2850,59	Alongamento assimétrico do grupo metila.	Os picos de absorção na faixa entre 2800 a 3050 correspondem ao alongamento das ligações C-H atribuídas ao grupo dos alcanos.	Essa banda está relacionada com as vibrações de alongamento das ligações C-H.
1743,65	Alongamento das ligações C=O.	As vibrações na faixa de 1650 a 1750 correspondem ao alongamento das ligações C=O, das cetonas, aldeídos e ácidos carboxílicos.	A vibração C = O na faixa 2000-1500 cm ⁻¹ indicam a presença de ácidos carboxílicos, cetonas ou aldeídos.
1708,93	Alongamento das ligações C=O	As vibrações na faixa de 1650 a 1750 correspondem ao alongamento das ligações C=O, das cetonas, aldeídos e ácidos carboxílicos.	A vibração C = O na faixa 2000-1500 cm ⁻¹ indicam a presença de ácidos carboxílicos, cetonas ou aldeídos.
1462,04	Alongamento das ligações C-H.	As vibrações na faixa de 1350 e 1470 correspondem ao estiramento das ligações C-H do grupo dos alcanos.	O pico 1462 cm ⁻¹ está relacionado ao grupo CH ₂ dos alcanos.
1381,03	Alongamento das ligações C-H.	As vibrações na faixa de 1350 e 1470 correspondem ao estiramento das ligações C-H do grupo dos alcanos.	O pico está relacionado as vibrações do grupo CH ₃ e indicam a presença de alcanos.

Pico de Absorção (cm⁻¹)	Identificação realizada pelos autores deste trabalho	Identificação realizada por Shuping, 2010	Identificação realizada por Baloyi, 2012
1261,45	Correspondem ao estiramento da ligação C-O.	As vibrações na faixa de 950 a 1300 correspondem ao estiramento da ligação C-O, correspondente aos alcoóis primários secundários e terciário.	A banda pode ser atribuída a uma vibração de alongamento da ligação C-O que indica a presença de álcoois, em que a bio-óleos.
1161,15	Correspondem ao estiramento da ligação C-O.	As vibrações na faixa de 950 a 1300 correspondem ao estiramento da ligação C-O, correspondente aos álcoois primários secundários e terciário.	Não mencionado
1095,57	Correspondem ao estiramento da ligação C-O.	As vibrações na faixa de 950 a 1300 correspondem ao estiramento da ligação C-O, correspondente aos álcoois primários secundários e terciário.	Não mencionado
1022,27	Correspondem ao estiramento da ligação C-O.	As vibrações na faixa de 950 a 1300 correspondem ao estiramento da ligação C-O, correspondente aos álcoois primários secundários e terciário.	Não mencionado
867,97	As vibrações correspondem a flexão das ligações O-H.	As vibrações na faixa de 650 a 915 correspondem a flexão das ligações O-H correspondentes aos compostos: fenol, ésteres, éteres e compostos aromáticos.	As vibrações das ligações neste pico pode ser decorrente da flexão do grupo O-H devido à presença de ésteres, fenóis ou éteres.
802,39	As vibrações correspondem a flexão das ligações O-H.	As vibrações na faixa de 650 a 915 correspondem a flexão das ligações O-H correspondentes aos compostos: fenol, ésteres, éteres e compostos aromáticos.	As vibrações das ligações neste pico pode ser decorrente da flexão do grupo O-H devido à presença de ésteres, fenóis ou éteres.
717,52	As vibrações correspondem a flexão das ligações O-H.	As vibrações na faixa de 650 a 915 correspondem a flexão das ligações O-H correspondentes aos compostos: fenol, ésteres, éteres e compostos aromáticos.	As vibrações das ligações neste pico pode ser decorrente da flexão do grupo O-H devido à presença de ésteres, fenóis ou éteres.

CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o método de extração utilizando ultrassom foi mais adequado a extração de óleo no cultivo de microalgas, pois se obteve aumento de rendimento substancialmente expressivo, de 15 vezes quando comparado à extração por soxhlet. Entretanto, comparando-se o rendimento obtido nas duas extrações, percebe-se que ficam muito aquém do rendimento relatado na literatura, que é de até 75%. Esse fato aponta que é necessário aprimorar mais o método de cultivo.

Quanto a indicação de compostos presentes no óleo realizado por FTIR, o mesmo apontou possível presença dos seguintes compostos: alcanos, aldeídos, ésteres, éteres. Entretanto, para se ter maior precisão na indicação dos compostos presentes, seria necessário uma técnica complementar de análise, como a cromatografia gasosa com detector de massa acoplado.

Agradecimentos

Ao Programa PIC 170.

REFERÊNCIAS

ARAUJO, G. S.; Matos, L. J. B. L.; FERNANDES, J. O.; CARTAXO S. J. M.; GONÇALVES, L. R. B.; FERNANDES, F. A. N.; FARIAS, W. R. L. Extraction of lipids from microalgae by ultrasound application: Prospection. **Ultrasonics Sonochemistry**, v. 20, p. 95-98, 2013.

BALOYI, H. Algae Liquefaction, North-West University, Potchefstroom Campus, p. 180, 2012.

BICUDO, C. E. M.; MENEZES, M. **Gêneros de algas de águas continentais do Brasil**: chave para identificação e descrições. 2. ed São Carlos, SP: RiMa, 2006.

CHISTI, Y. Biodiesel from Microalgae. *Biotechnol Adv.* 25, Pg.294–306, 2007.

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

FRANCO, C. L. A.; PINHEIRO, L. I.; CRUZ, S. R.; TEIXEIRA, L. L. M. C.; NETO, A. A. J.; MENEZES, S. R.; Biodiesel de microalgas: avanços e desafios. **Química Nova**, v. 36, n. 3, p. 437-448, 2013.

LEE, J. Y.; YOO, C.; JUN, S. Y.; AHN, C. Y.; OH, H. M.. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae, *Bioresour. Technol.*, v. 101, p. S75-S77, 2010.

KNIE, J. L. W.; LOPES, E. W. B. **Testes ecotoxicológicos**: métodos, técnicas e aplicações. Florianópolis: FATMA, 2004.

LOURENÇO, S. O. **Cultivo de microalgas marinhas**: Princípios e aplicações. 2. ed. São Carlos, SP: RiMa, 2006.

MACÍAS-SÁNCHEZ, M. D.; MANTELL, C.; RODRÍGUEZA, M.; LAOSSAA, E. M.; MONTEROB, L. O. Comparison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliella salina*. **Talanta**, v. 77, Issue 3, p. 948-952, 2009.

MARINOVA, E. M.; YANISHLIEVA, N. V. I. Antioxidant activity of extracts from selected species of the family Lamiaceae in sunflower oil. **Food Chemistry**, London, v. 58, n. 3, p. 245-248, 1997.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Portugal, v. 14, p. 217-232, 2009.

MENEZES, S. R.; LELES, G. I. M.; SOARES, T. A.; BRANDÃO, I. P.; FRANCO M.; FILHO A. R. N. Avaliação da potencialidade de microalgas dulcícolas como fonte de matéria-prima graxa para a produção de biodiesel. **Química Nova**, v. 36, n. 1, p. 10-15, 2013.

MUTANDA, T; RAMESH, D.; KARTHIKEYAN, S.; KUMARI, S.; ANANDRAJ, A.; BUX, A. Bioprospecting for hyper-lipid producing microalgal strains for sustainable biofuel production. **Bioresource Technology**, South Africa, v. 102, n. 1, p. 57-70, 2011.

PEREIRA, C. M. P.; HOBUSS, C. B.; MACIEL, J. V.; FERREIRA, L. R.; DEL PINO, F. B.; MESKO, M. F. Biodiesel renovável derivado de microalgas: avanços e perspectivas tecnológicas. **Química Nova**, v. XY, n. 00, p. 1-6, 2012.

RANJAN, A.; PATIL, C.; MOHOLKAR, S. V.; Mechanistic Assessment of Microalgal Lipid Extraction. **Ind. Eng. Chem. Res.**, v. 49, p. 2979-2985, 2010.

SCHNEIDER, D. Grow your own? Would the widespread adoption of biomass-derived transportation fuels really help the environment. **American Scientist**, v. 94, p. 408-409, 2006.

SHUPING, Z.; YULONG, W.; MINGDE, Y.; KALEEM, I.; CHUN, L.; TONG, J.; Production and characterization of bio-oil from hydrothermal liquefaction of microalgae *Dunaliella tertiolecta* cake. **Energy**, v. 35, p. 5406-5411, 2010.

ZENG, X.; DANQUAH, M. K.; CHEN, X.; LU, Y. Microalgae bioengineering: From CO₂ fixation to biofuel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, China, n. 15, p. 3252-3260, 2011.