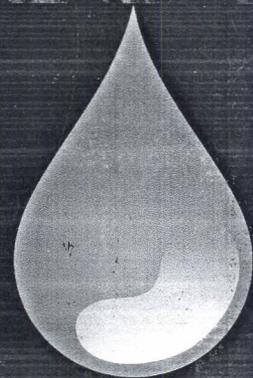


*Quilombo Secretaria*



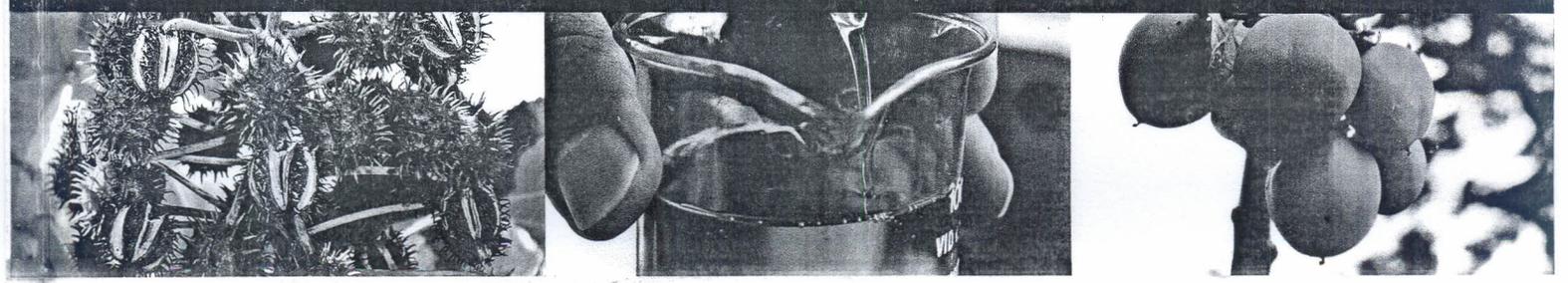
III Congresso da Rede  
Brasileira de Tecnologia de

# BioDiesel



ARTIGOS TÉCNICO-CIENTÍFICOS **VOLUME III**

- Armazenamento
- Caracterização e controle da qualidade
- Co-produtos
- Matéria-prima
- Produção
- Sustentabilidade
- Uso do biodiesel



# USO DE TÉCNICAS ESPECTROSCÓPICAS NA SELEÇÃO DE CEPAS DE MICROALGAS COM POTENCIAL PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Lucimar L. Fialho<sup>1,2\*</sup>, Armando A. H. Vieira<sup>1</sup>, Luiz A. Colnago<sup>2</sup>, Victor Bertucci-Neto<sup>2</sup>, Cristiane S. Farinas<sup>2</sup>  
\*lucimar@cnpdia.embrapa.br

<sup>1</sup> Laboratório de Ficologia, Universidade Federal de São Carlos – UFSCar, Rodovia Washington Luís, km 235, São Carlos – SP.

<sup>2</sup> Embrapa Instrumentação Agropecuária, Rua XV de Novembro, 1452, São Carlos – SP.

Palavras Chave: microalgas, RMN, FTIR, biodiesel.

## Introdução

As microalgas vêm sendo consideradas como potenciais matéria prima para a produção de biodiesel. No entanto, o alto custo na produção de óleo pelas algas tem sido o maior obstáculo que limita a sua produção comercial<sup>1</sup>.

É indiscutível que para o sucesso, em termos econômicos, da produção de biodiesel a partir de microalgas o primeiro e inevitável passo é a prévia seleção, a partir de diferentes espécies. Considerando-se que apenas uma ínfima porcentagem das quase 50.000 espécies foi testada para esse fim<sup>2</sup>, se faz necessária uma avaliação rápida do potencial de um grande número de espécies para esse fim.

Dentre as técnicas rápidas de análise do teor de óleo destacam as espectroscópicas como a de Ressonância Magnética Nuclear – RMN e Infravermelho com transformada de Fourier – FTIR. A vantagem da RMN é que já é amplamente usada na análise de óleo em sementes<sup>3</sup>, além de ser uma medida rápida, que permite analisar cerca de 1000 amostras de sementes por hora, não há necessidade de tratamentos químicos prévios como extrações com solventes. Já o FTIR tem como vantagem a pequena quantidade de amostra (cerca de 1 mg) necessária para a análise.

Assim, o objetivo desse trabalho é usar as técnicas espectroscópicas de RMN e FTIR para selecionar cepas de microalgas com grande potencial para produção de biodiesel.

## Materiais e Métodos

As espécies de microalgas analisadas foram provenientes do Banco de Culturas de Microalgas de Água Doce, do Laboratório de Ficologia, da UFSCar. As metodologias de isolamento e cultivo utilizadas foram aquelas descritas em Vieira<sup>4</sup>.

Foram analisadas as seguintes microalgas: *Nephrocytium lunatum*, *Chlorella vulgaris* e *Chlorella minutissima*. Para avaliação das metodologias foi analisado

também sementes de soja, que já tem o teor de óleo conhecido.

Inicialmente a caracterização do óleo nas algas foi feita pelas duas técnicas espectroscópicas: a ressonância magnética nuclear de baixo campo (9 MHz para o <sup>1</sup>H) com uma sequência baseada na técnica de eco denominada CPMG<sup>4</sup> (Carr-Purcell-Meiboom-Gill) e o infravermelho com transformada de Fourier.

## Resultados e Discussão

Na Figura 1 são apresentadas as curvas de decaimento do sinal CPMG das microalgas estudadas e de grãos de soja. Pela intensidade do sinal CPMG dividida pela massa da amostra, pode-se inferir sobre a concentração do óleo no material<sup>5</sup>. Como pode-se observar na Tabela 1 a soja, que tem cerca de 20% de óleo, tem um sinal 10 vezes mais intenso que o da *C. minutissima*, e cerca de 100 vezes o da *N. lunatum* e *C. vulgaris*.

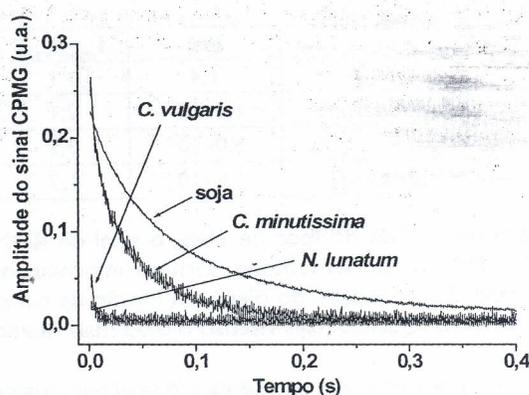


Figura 1. Sinal do decaimento CPMG das microalgas: *N. lunatum* ( $m = 2,32$  g); *C. vulgaris* ( $m = 1,80$  g); *C. minutissima* ( $m = 1,63$  g) e de grãos de soja ( $m = 1,65$  g). A intensidade do sinal da amostra de soja foi dividida por 10 para melhor visualização.

Na Figura 2 tem-se os espectros de FTIR das microalgas estudadas e de soja moída. Os espectros de infravermelho dão informação sobre grupos funcionais das moléculas presentes em uma amostra. Um sinal de FTIR

característico dos grupos éster (C=O) e das ligações CH dos lipídios é encontrado na região de 1740 e 2930  $\text{cm}^{-1}$ , respectivamente, e podem ser utilizados na identificação da presença de óleo nas amostras.

Para se obter um padrão interno da biomassa usa-se o sinal em 1540  $\text{cm}^{-1}$ , relativo ao teor de proteínas na amostra<sup>5</sup>. Assim, uma razão entre os sinais 1540 e 1740  $\text{cm}^{-1}$  fornece uma proporção do teor de óleo nessas amostras (Tabela 1).

A relação ( $I_{1540}/I_{1740}$ ) obtida dos espectros de FTIR mostrou que a *C. minutissima* apresentou maior teor de óleo (corroborando com o observado por RMN), pois esta relação ficou mais próxima da obtida para a soja (1,7 e 1,1, respectivamente), enquanto que as microalgas *N. lunatum* e *C. vulgaris* apresentaram altos valores de  $I_{1540}/I_{1740}$ , sugerindo baixo teor de óleo.

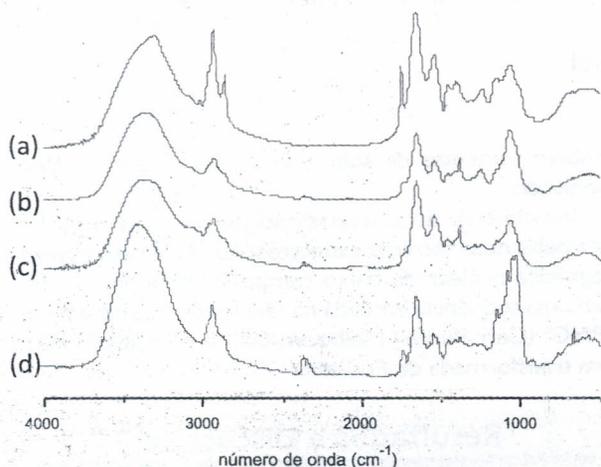


Figura 2. Espectro de infravermelho das amostras: (a) soja moída, (b) *Nephrocytium lunatum*; (c) *Chlorella vulgaris* e (d) *Chlorella minutissima* em 100 mg de KBr.

Tabela 1: Parâmetro estimado ( $I/m$ ) a partir das intensidades dos sinais ( $I$ ) de CPMG e as massas de amostras ( $m$ ) e razão das intensidades dos picos de FTIR em 1540 por 1740  $\text{cm}^{-1}$  ( $I_{1540}/I_{1740}$ ) de amostras de soja e das microalgas

Amostras	$I/m$	$I_{1540}/I_{1740}$
Soja	1,4	1,1
<i>Nephrocytium lunatum</i>	$1,1 \times 10^{-2}$	2,1
<i>Chlorella vulgaris</i>	$3,0 \times 10^{-2}$	3,5
<i>Chlorella minutissima</i>	$1,6 \times 10^{-1}$	1,7

Além da medida do teor de óleo, o sinal de RMN com a sequência CPMG também fornece informações relacionadas à viscosidade do óleo, em função da curva de decaimento. Quanto mais viscoso o óleo mais rápido o sinal decai.

Observa-se que a soja apresenta um sinal com maior tempo de decaimento e que a microalga *C. minutissima* apresenta um sinal com características de óleo mais viscoso ou com maior massa molecular (em comparação à soja), pois a curva apresenta um tempo de decaimento mais curto (soja em torno de 0,2 s e a *C. minutissima* próximo de 0,1 s). As microalgas *N. lunatum* e *C. vulgaris* apresentaram características de baixo teor de óleo ou de um material muito viscoso (decaimento muito rápido e sinal muito ruidoso).

As técnicas espectroscópicas (RMN e FTIR) mostraram-se promissoras para detectar a presença de óleo e quantificar os seus teores em microalgas. Para quantificação uma curva de calibração deverá ser construída e para caracterização análises cromatográficas serão feitas para correlacionar com estes resultados.

## Agradecimentos

Ao CNPq pelo financiamento do projeto nº 574725/2008-3 e Embrapa Macroprograma I Flores-tas Energéticas.

## Bibliografia

- Li, Y.; Horsman, M.; Wang, B.; Wu, N. *Appl. Microbiol Biotechnol*, **2008**, 81, 629-636.
- Widjaja, A.; Chien, C. C.; Ju, Y. H. *J. Taiwan Inst. Chem. Eng.*, **2009**, 40, 13-20.
- Prestes, R.A.; Colnago, L.A.; Forato, L.A.; Vizzoto, L.; Novotny, E.H.; Carrilho, E. *Anal. Chim. Acta*. **2007**, 596, 325-329.
- Vieira, A. A. H. *Bolm. Inst. Oceanogr* **1977**, 26: 303-338.
- Osiro, D.; Colnago, L. A.; Otoboni, A. M. M. B.; Lemos, E. G. M.; Souza, A. A.; Coletta Filho, H. D.; Machado, M. A. *FEMS Microb. Letters* **2004**, 236: 313-318.