

OTIMIZAÇÃO DO CULTIVO E DA EXTRAÇÃO DE ÓLEOS DE MICROALGAS COM POTENCIAL PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL

Lorrany Cruz de Araújo¹, Marcos Gabriel Martins da Rocha Silva¹, Alena Torres Netto¹, Glaucio Gualtieri Honório¹

¹Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, Brasil
(loloh.23.araujo@gmail.com)

Resumo: Este estudo busca otimizar uma metodologia para a produção de biodiesel a partir de microalgas, e definir indicadores de sustentabilidade no cultivo das espécies *Raphidocelis sp.* e *Chlorella sp.*, com posterior extração lipídica utilizando etanol e hexano como solventes. O uso de etanol associado à agitação por ultrassom atingiu rendimento superior ao uso do hexano, demonstrando ser uma abordagem viável para a produção de biodiesel, embora ainda apresente espaço para melhorias.

Palavras-chave: Biodiesel; Microalgas; Sustentabilidade; Extração Lipídica

INTRODUÇÃO

O cenário global contemporâneo é marcado por uma crescente degradação ambiental e pela iminente escassez de recursos naturais, fatores que têm impulsionado a transição para modelos de desenvolvimento mais resilientes. Nesse contexto, a busca por um crescimento econômico pautado na baixa emissão de carbono e na restauração da saúde dos ecossistemas deixou de ser uma alternativa para se tornar uma necessidade estratégica essencial (BELL et al., 2018). Como resposta a esses desafios, a bioeconomia surge como um pilar fundamental, propondo uma mudança de paradigma: a substituição de recursos fósseis por recursos biológicos renováveis, convertendo biomassas e resíduos em produtos de alto valor agregado e bioenergia (MARTINHO e AVILLEZ, 2019).

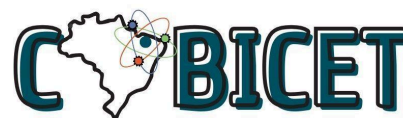
Diante disso, fontes alternativas como o biodiesel vêm ganhando espaço na matriz energética mundial, por ser alternativa menos poluente que os combustíveis à base de petróleo. Ele pode ser produzido a partir de óleo vegetal (1G) como colza, soja e palma, além do óleo de cozinha residual (2G), todos produtos virtualmente inesgotáveis. Essa sustentabilidade caracterizou o biodiesel para entrar em políticas ecológicas do mundo todo. [Brasil, 2020a, Brasil 2020b, Brasil 2022]

Segundo a Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), o Brasil é o 4º maior produtor de biodiesel do mundo. O biodiesel passou a integrar a matriz energética brasileira em 2005, e a partir de 2008 seu uso passou a ser obrigatório em uma mistura de 2% no diesel mineral (B2). A partir daí houve um aumento progressivo nas

porcentagem da mistura biodiesel/diesel mineral, sendo instituído em 15% (B15) no ano de 2025. (BRASIL,2024).

Estima-se que a produção de biodiesel no Brasil, deve alcançar 13,9 bilhões de litros em 2035, com o óleo de soja se mantendo como principal matéria-prima. A capacidade instalada prevista para o horizonte é suficiente para atender às metas legais de mistura obrigatória, com excedentes que podem ser direcionados para transporte marítimo e outros usos. O Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB) segue desempenhando papel estratégico ao apoiar a agricultura familiar, estimulando inclusão social e geração de renda no meio rural. (BRASIL,2025).

Apesar de sustentável, a produção de biodiesel ainda enfrenta alguns problemas, como, por exemplo, a competição com a produção de alimentos. Para superar essas barreiras, novas fontes de matérias primas vêm sendo estudadas. Dentre as fontes de matéria-prima mais promissoras, as microalgas se destacam por uma série de fatores. Diferente das culturas agrícolas tradicionais, elas possuem uma elevada taxa de crescimento e capacidade de sequestro de CO₂, podendo ser cultivadas em áreas não agricultáveis, o que elimina a competição direta com a produção de alimentos (RAMALHO e PRADO, 2019; VALENTE et al., 2019). No entanto, a consolidação dessa rota produtiva ainda enfrenta desafios técnicos, especialmente na otimização dos processos de cultivo e na garantia da pureza dos lipídios extraídos. Portanto, a análise criteriosa do ciclo de vida e a validação de indicadores ambientais tornam-se etapas cruciais para assegurar a viabilidade técnica e a sustentabilidade real desses



biocombustíveis no mercado brasileiro (de SOUSA et al., 2021).

Desta forma, o presente trabalho tem como objetivo principal otimizar o processo de produção de biodiesel a partir de biomassas de microalgas em escala laboratorial, avaliando parâmetros de crescimento celular e definindo métodos mais eficazes de extração lipídica e caracterização química para assegurar a sustentabilidade do processo.

MATERIAL E MÉTODOS

Cultivo, Monitoramento e Preservação das microalgas

O cultivo das microalgas *Raphidocellis* sp. e *Chlorella* sp. foi conduzido em frascos de Erlenmeyer de 4L, sob condições controladas de temperatura, luminosidade artificial e aeração constante (suprimento de O₂ e CO₂). Foram empregados os meios de cultura Chu e Oligo, preparados segundo a norma ABNT NBR 12648.

O monitoramento do crescimento ocorreu entre o 3º e o 21º dias de cultivo, mediante contagem celular em câmara de Neubauer. Para o cálculo da concentração de microalgas, utilizou-se a média das contagens dos quadrantes aplicada à seguinte equação:

$$\text{Ncélulas/mL} = N \times 1.600.000 \quad (1)$$

A determinação da biomassa foi realizada via peso seco após filtração em fibra de vidro. Para a etapa de preservação, a biomassa foi retirada do fermentador e submetida à sedimentação, resultando em um concentrado de 300 a 350 mL (8,8 g de massa total), o qual foi armazenado em congelador para garantir a estabilidade das propriedades biológicas e lipídicas.

Métodos de Extração de Lipídios

Previamente à extração, a biomassa foi submetida à secagem em estufa a 35°C, etapa fundamental para remover água que interfere no processo de extração. Os testes foram realizados em tubos Falcon, utilizando 0,05 g de biomassa seca e 4 mL de solvente. Os solventes avaliados foram clorofórmio, etanol e hexano. Após a exclusão do clorofórmio em testes preliminares, o estudo prosseguiu com hexano e etanol. Foram testados dois métodos de extração, baseados na agitação da matéria prima na presença de solvente: agitação magnética (A) e agitação por ultrassom (U). Ambos os métodos foram avaliados nos intervalos de tempo de 1h, 2h e 4h.

Procedimento de Quantificação Gravimétrica

A quantificação do óleo extraído foi executada pelo método de gravimetria. Os tubos de vidro foram previamente pesados (massa inicial) e, após o

processo de extração, houve a evaporação completa do solvente, isolando o analito (óleo) ao fundo do recipiente.

Uma pesagem final foi realizada para calcular o rendimento da extração através da relação entre a massa do analito e a biomassa utilizada, seguindo a fórmula:

$$\text{Teor de óleo (\%)} = \left(\frac{\text{massa do analito (g)}}{\text{massa de biomassa (g)}} \right) \times 100 \quad (2)$$

- Para maximizar a recuperação lipídica, procedeu-se a uma reextração em cada amostra.

Caracterização Química por FTIR e Procedimento Laboratorial

Para a caracterização química e prospecção do potencial energético, utilizou-se a Espectroscopia de Infravermelho por Transformada de Fourier (FTIR). Devido à consistência líquida do óleo, a leitura foi viabilizada pela técnica de pastilhagem: o óleo foi redissolvido em solvente específico, misturado ao Brometo de Potássio (KBr) e submetido a uma prensa hidráulica para a formação de uma pastilha translúcida. A análise visa identificar qualitativamente a presença de acilglicéris, fundamentais para a transesterificação em biodiesel.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Crescimento do cultivo de microalgas

Os dados relacionados ao crescimento das espécies estudadas encontram-se na tabela 1. Foram analisadas as linhagens *Raphidocellis* sp. e *Chlorella* sp. em ambos os meios (Oligo e Chu). A figura 1 apresenta gráficos evidenciando o crescimento das espécies estudadas nos meios analisados.

Tabela 1: Crescimento Celular de microalgas do gênero *Raphidocellis* sp. (RAPH) e *Chlorella* sp. a (CHLO) os 21 dias de cultivo em meio de cultura OLIGO e CHU

AMOSTRA	MÉDIA DE CONTAGEM	CÉLULAS/mL
CLHO OLIGO	5	800.000
RAPH OLIGO	125	20.000.000
CLHO CHU	58	9.280.000
RAPH CHU	31,5	5.040.000

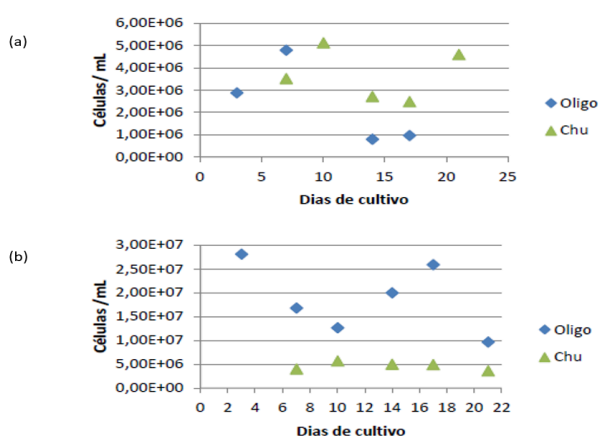


Figura 1. Crescimento da biomassa das espécies *Chlorella sp.* (a) e *Raphidocelis sp.* (b) nos meios CHU e Oligo

Com base nos dados observados, a espécie *Raphidocelis sp.* apresentou seu melhor desempenho no meio Oligo, alcançando uma densidade celular expressiva de 2×10^7 células/mL. A escolha dessa cepa como o destaque do experimento não se deu apenas pela produtividade, mas também pela qualidade visual da cultura, que manteve uma coloração verde intensa e não apresentou sinais de floculação, indicando que as células estavam saudáveis e estáveis no meio. Além disso, essa espécie se mostrou bastante resiliente, com perdas por evaporação menores que as outras amostras, o que facilitou o manejo com os equipamentos padronizados.

Por outro lado, enquanto a *Chlorella sp.* teve um desenvolvimento mais promissor no meio Chu, o crescimento não foi uniforme e apresentou oscilações nos gráficos. Já a *Raphidocelis sp.*, embora tenha começado com uma leve queda inicial, mostrou uma recuperação consistente e uma evolução positiva após o décimo dia no meio Oligo. Essa diferença de comportamento sugere que o meio Chu pode não ter atendido às necessidades nutricionais da *Raphidocelis sp.*, ao passo que o meio Oligo se confirmou como a opção mais equilibrada para o seu cultivo.

Quantificação do óleo extraído

Foram avaliados 3 solventes: hexano, clorofórmio e etanol. Estudos preliminares mostraram que o clorofórmio não apresentou um bom resultado, além de ser o menos sustentável, experimentalmente apresentou dificuldade pois formou três fases após a extração dos óleos, não sendo possível realizar a separação, o que impossibilitou a extração do sobrenadante. Desta forma o estudo prosseguiu com o hexano (H) e etanol (E) como solventes e dois métodos de agitação: a agitação magnética (A) e ultrassom (U). Além disso, a extração foi testada em

diferentes intervalos de tempo (1h, 2h e 4h), observando-se que os melhores resultados de rendimento foram obtidos nos testes com tempos de exposição mais longos.

Tabela 2: Comparativo de Eficiência por Método e Solvente

AMOSTRA	MÉTODO	EXTRAÇÃO INICIAL (%)	REEXTRAÇÃO	SOMA TOTAL (%)
HA	Hexano + agitação magnética	15,69%	1,9%	17,59%
HU	Hexano + ultrassom	20,00%	5,4%	25,40%
EA	Etanol + agitação magnética	32,07%	5,6%	37,67%
EU	Etanol + ultrassom	35,86%	11,3%	47,16%

Os resultados demonstram que o etanol apresentou uma capacidade de extração superior em ambas as metodologias testadas, atingindo um teor expressivo de 47,16% na amostra submetida ao ultrassom (EU). Esse desempenho superior pode ser atribuído ao efeito de cavitação, que promove a ruptura das paredes celulares e facilita a liberação dos lipídios, destacando o potencial desta configuração para a produção de biocombustíveis. Contudo, é importante ressaltar que o hexano também apresentou rendimentos bastante significativos. Por ser um solvente apolar, ele é altamente eficiente na extração de lipídios purificados, e os valores obtidos confirmam sua relevância para o processo, sendo essencial para garantir a qualidade da biomassa final. Além disso, o uso do ultrassom se mostrou a alternativa mais eficiente para o fluxo de trabalho laboratorial. Diferente da agitação magnética, que apresentou rendimentos inferiores e limitações devido ao processamento sequencial das amostras, o método ultrassônico permitiu o tratamento simultâneo de diversos frascos. Essa mudança metodológica não apenas elevou a produtividade, mas também otimizou o tempo de pesquisa, garantindo uma coleta de dados mais ágil.

Dada a polaridade do etanol, que pode extrair outros componentes além dos lipídios, os próximos passos da pesquisa serão focados na otimização do processo através de sistemas binários. A proposta é realizar extrações mistas, combinando etanol e hexano em diferentes tempos e proporções, buscando unir a alta capacidade de permeação do etanol com a seletividade característica do hexano. Dessa forma, espera-se encontrar o melhor equilíbrio entre o rendimento bruto e a pureza dos lipídios extraídos,

consolidando uma metodologia de extração robusta e produtiva.

Caracterização Química e Prospecção de Potencial Energético por Espectroscopia de Infravermelho (FTIR)

A análise por FTIR identificou o diacilglicerol como um dos principais componentes extraídos, apresentando correlação estatística significativa. Esse resultado é consistente com o objetivo do estudo, uma vez que diacilglicerol, triacilglicerol e monoacilglicerol constituem a fração lipídica de interesse. Contudo, a morfologia dos espectros experimentais não corresponde àquela esperada para amostras compostas predominantemente por lipídios neutros.

No espectro de referência do diacilglicerol, observa-se um pico intenso, agudo e bem definido na região de aproximadamente 1740 cm^{-1} , atribuído ao estiramento da ligação carbonila ($\text{C}=\text{O}$) de ésteres. Em contraste, os espectros das amostras extraídas apresentaram uma deformação nesta região, caracterizada pelo surgimento de um pico duplo ou de um ombro espectral, especialmente pronunciado na extração com etanol. Esse desdobramento da banda de carbonila sugere a sobreposição de sinais provenientes de diferentes grupos funcionais que absorvem em frequências próximas, indicando que os extratos não são compostos exclusivamente por lipídios. A persistência do comportamento espectral observado, mesmo nas amostras obtidas via hexano, reforça a hipótese de que impurezas intrínsecas à biomassa ou resíduos do processamento estão sendo co-extraídas.

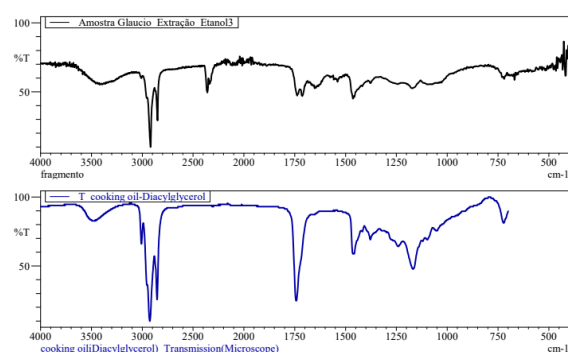


Figura 2. Espectros de FTIR dos lipídios extraídos de microalgas via Hexano.

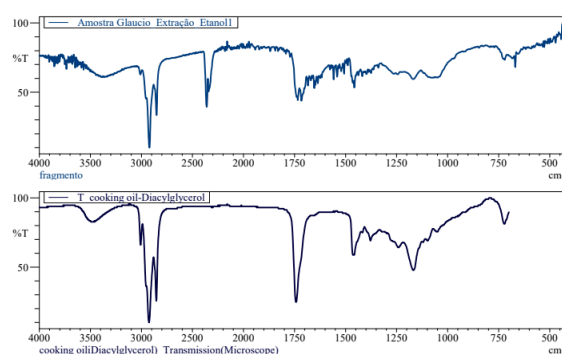


Figura 3. Espectros de FTIR dos lipídios extraídos de microalgas via Etanol.

Possivelmente, a clorofila pode ser uma das principais causas dessa interferência. Por possuir grupos carbonila em sua estrutura capazes de absorver na faixa de 1700 e 1740 cm^{-1} , ela apresenta um pico de leitura em uma região muito próxima à dos lipídios alvo como os triacilgliceróis, diacilgliceróis e monoacilgliceróis, sobrepondo-se a eles e prejudicando a resolução quantitativa e qualitativa da análise. Além disso, a baixa intensidade observada nas bandas de estiramento C-H (entre 2800 e 3000 cm^{-1}), pode estar relacionada ao uso do etanol como solvente. Por ser um solvente de maior polaridade, o etanol favorece a extração de pigmentos como a clorofila, resultando em uma amostra com alta concentração de contaminantes.

Diante desse cenário, a continuidade da pesquisa será focada na otimização do processo extrativo. O próximo passo consistirá em um método de extração sequencial: uma etapa inicial com etanol seguida de uma re-extração com hexano. A estratégia fundamenta-se na seletividade distinta dos solventes, enquanto o etanol possui uma capacidade de extração ampla, que acaba arrastando diversas substâncias além dos lipídios, o hexano atua de forma mais específica.

CONCLUSÃO

A partir dos resultados obtidos, conclui-se que a pesquisa é altamente promissora, demonstrando a viabilidade técnica da produção de biodiesel através da biomassa de microalgas. O estudo reafirma seu compromisso com a sustentabilidade ao validar métodos que conciliam produtividade e eficiência operacional. Um ponto fundamental identificado para o sucesso do processo foi a necessidade da secagem prévia da biomassa, etapa crucial para garantir uma extração de qualidade significativa. Além disso, observou-se que o rendimento está diretamente relacionado ao tempo de exposição, onde períodos mais longos de extração resultaram em maiores taxas de recuperação lipídica.



Embora a análise por FTIR tenha apresentado desafios na leitura clara devido à interferência de outras substâncias como a clorofila, foi possível detectar a presença de diacilglicerol, confirmando a extração da fração lipídica de interesse. Diante desse cenário, para otimizar os resultados e atingir plenamente os objetivos propostos, as etapas posteriores serão focadas na implementação de um sistema de extração bifásica sequencial, utilizando etanol e hexano sob a ação do ultrassom. Esta estratégia visa unir o alto rendimento do etanol com a seletividade do hexano, permitindo a obtenção de um extrato mais puro e uma caracterização química mais precisa, consolidando o potencial energético das linhagens estudadas.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ) pela infraestrutura disponibilizada e a Fundação Carlos Chagas Filho de Amparo à Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) pela concessão da bolsa de pesquisa.

REFERÊNCIAS

- ABNT NBR 12648:2018 (atualizada em 02 de ago. de 2023)
- Bell, J., Paula, L., Dodd, T., Németh, S., Nanou, C., Mega, V., & Campos, P. (2018). EU ambition to build the world's leading bioeconomy—Uncertain times demand innovative and sustainable solutions. *New Biotechnology*, 40, 25–30.
- BRASIL. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Biodiesel**. [s.i]: Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, 13 de set. de 2020. Atualizado em 03 de jul. de 2025. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/producao-e-fornecimento-de-biocombustiveis/biodiesel>
- BRASIL.Ministério de Minas e Energia.**Brasil amplia renovabilidade da matriz energética e aumenta uso de biodiesel no transporte em 2023**:A edição da Resenha Energética Brasileira 2024 apresenta um panorama consolidado do país em 2023. Um dos principais destaques é o aumento da participação das fontes renováveis na matriz energética do Brasil. [s.i]: Ministério de Minas e Energia, 01 de out. 2024. Atualizado em 01 de out. 2024. Disponível em: <https://www.gov.br/mme/pt-br/assuntos/noticias/brasil-amplia-renovabilidade-da-matriz-energetica-e-aumenta-uso-de-biodiesel-no-transporte-em-2023>
- Brasil (2020a). Biodiesel - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).
- Brasil (2020b). Painel dinâmico de produtores de biodiesel.
- Brasil (2022). Anuário Estatístico 2022 - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP).
- de Sousa, R.N., Rocha, M.B., Honório, G.G. 2021. Produção de biodiesel a partir de microalgas no Brasil: Uma revisão sistemática. *Anais do II CoBICET - Trabalho completo Congresso Brasileiro Interdisciplinar em Ciência e Tecnologia Evento online – 30 de agosto a 03 de setembro de 2021*.
- Martinho S & Avillez F (2019) O Acordo de Paris, a neutralidade carbônica e a bioeconomia. *CULTIVAR Cadernos de Análise e Prospetiva e Prospetiva* n.15, p.23-29. Gabinete de Planeamento, Políticas e Administração Geral (GPP).
- Ramalho, A.M.; Prado, M.R. 2019. Avaliação do ciclo de vida da produção de ésteres etílicos utilizando mix algal com predominância da alga *Chlorella sp.* em escala laboratorial. *FÓRUM AMBIENTAL DA ALTA PAULISTA*. v.15, n.3., p.55-70
- Valente, A.; Iribarren, D.; Dufour, J. 2019. How do methodological choices affect the carbon footprint of microalgal biodiesel? A harmonised life cycle assessment. *Journal of Cleaner production*, v. 207, p. 560– 568. Elsevier B.V. <https://doi.org/10.1016/j.nbt.2017.06.010>