

Absorção de CO₂ por extratos de clorofila: perspectiva de aplicações tecnológicas

CO₂ absorption by chlorophyll extracts: a perspective of technological applications

Absorción de CO₂ por extractos de clorofila: perspectiva de aplicaciones tecnológicas

João Carlos Alves Macedo

Mestre, UNESP, Brasil.
joaocarlosalvesmacedo@hotmail.com

Luciana Camargo de Oliveira

Professora Doutora, UFSCar, Brasil.
lcamargo3@yahoo.com.br

Wander Gustavo Botero

Professor Doutor, UFAL, Brasil.
wanderbotero@gmail.com

Janaina Braga do Carmo

Professora Doutora, UFSCar, Brasil.
jbcarmo@ufscar.br

RESUMO

Para a comunidade científica, a busca por materiais ou solventes que reduzam a concentração de CO₂ no meio ambiente é de suma importância, uma vez que isso em altas concentrações gera diversos problemas ambientais. Assim, o objetivo deste estudo foi promover a absorção de CO₂ por moléculas de clorofila. A clorofila α e β , das amostras de alface e repolho, extraídas utilizando metanol e acetona como solventes. As bandas obtidas nos comprimentos de onda de 200 a 800 nm indicam a presença de bandas de clorofila α e β e de carotenóides, respectivamente, corroborando dados da literatura. As três "equações tricromáticas" de Lichtentaler e Wellburn que determinam a concentração de substâncias em $\mu\text{g mL}^{-1}$ a partir dos valores de absorbância da clorofila α e β dos espectros UV / Visível indicaram uma faixa de concentração de 1,47 a 17,76 $\mu\text{g mL}^{-1}$. Ao avaliar os testes de absorção de CO₂ das amostras de clorofila, a porcentagem de absorção foi de 8,27 a 20,12%, e a concentração de clorofila e solvente de solubilidade tiveram relação direta com a absorção de CO₂.

PALAVRAS-CHAVE: Clorofila. Absorção de CO₂. Efeito estufa

ABSTRACT

For the scientific community, the search for materials or solvents that reduce the concentration of CO₂ in the environment is of paramount importance, since this in high concentrations generates several environmental problems. Thus, the objective of this study was to promote the absorption of CO₂ by chlorophyll molecules. Chlorophyll α and β , from samples of lettuce and cabbage, extracted using methanol and acetone as solvents. The bands obtained at wavelengths from 200 to 800 nm indicate the presence of bands of chlorophyll α and β and carotenoids, respectively, corroborating data from the literature. The three "trichromatic equations" by Lichtentaler and Wellburn that determine the concentration of substances in $\mu\text{g mL}^{-1}$ from the absorbance values of chlorophyll α and β of the UV / Visible spectra indicated a concentration range of 1.47 to 17.76 $\mu\text{g mL}^{-1}$. When evaluating the CO₂ absorption tests of the chlorophyll samples, the percentage of absorption was 8.27 to 20.12%, and the concentration of chlorophyll and solubility solvent was directly related to the CO₂ absorption.

KEYWORDS: Chlorophyll. CO₂ absorption. Greenhouse effect

RESUMEN

Para la comunidad científica, la búsqueda de materiales o disolventes que reduzcan la concentración de CO₂ en el medio ambiente es de suma importancia, ya que este en altas concentraciones genera varios problemas ambientales. Así, el objetivo de este estudio fue promover la absorción de CO₂ por moléculas de clorofila. Clorofila α y β , de muestras de lechuga y repollo, extraídas utilizando metanol y acetona como solventes. Las bandas obtenidas en longitudes de onda de 200 a 800 nm indican la presencia de bandas de clorofila α y β y carotenoides, respectivamente, corroborando datos de la literatura. Las tres "ecuaciones tricromáticas" de Lichtentaler y Wellburn que determinan la concentración de sustancias en $\mu\text{g mL}^{-1}$ a partir de los valores de absorbancia de la clorofila α y β de los espectros UV / Visible indicaron un rango de concentración de 1,47 a 17,76. $\mu\text{g mL}^{-1}$. Al evaluar las pruebas de absorción de CO₂ de muestras de clorofila, el porcentaje de absorción fue de 8.27 a 20.12%, y la concentración de clorofila y solvente de solubilidad estuvo directamente relacionada con la absorción de CO₂.

PALABRAS CLAVE: Clorofila. Absorción de CO₂. Efecto invernadero

1. INTRODUÇÃO

O dióxido de carbono (CO_2) é uma molécula linear e apolar descoberta em 1754 pelo escocês Joseph Black. A reatividade do dióxido do carbono é quase nula, sendo assim um grande desafio para a comunidade científica modular sua reatividade e realizar sua captura (MOTA-MARTINEZ; HALLETT; MAC DOWELL, 2017)

O CO_2 é o gás mais importante para controlar a temperatura do Planeta, uma vez que absorve uma ampla quantidade de energia, principalmente na região do infravermelho térmico (calor) e após adsorção reemite para a atmosfera (ANDERSON; HAWKINS; JONES, 2016). A energia reemitida viaja em todas as direções, mas parte dela retorna à superfície da crosta aquecendo-a. Sem o efeito estufa, a temperatura média da superfície seria entre -20 e -4 $^{\circ}\text{C}$, impossibilitando a vida na Terra (ANDERSON; HAWKINS; JONES, 2016).

O efeito estufa, apesar de necessário para manter temperaturas favoráveis ao planeta tem aumentado devido às emissões excessivas principalmente de um conjunto de gases, entre eles os compostos de carbono como o metano (CH_4), o monóxido de carbono (CO) e o dióxido de carbono (CO_2) (FRIEDLINGSTEIN et al., 2019). O potencial de aquecimento global (PAG) foi estabelecido em 1 para o CO_2 e em comparação com gases como os CFC-12 que possui PAG de 11000, o CO_2 apresenta baixa potencialidade para o aquecimento global (MAKHNATCH; KHODABANDEH, 2014). Entretanto, o CO_2 apresenta uma concentração elevada na atmosfera de 400 ppm enquanto o CFC -12 exibe uma concentração de 516 ppt, percebendo assim que devido ao elevado teor de CO_2 na atmosfera, este possui uma maior contribuição para o aumento do efeito estufa em relação a outros gases (MAKHNATCH; KHODABANDEH, 2014).

A concentração de CO_2 na atmosfera aumenta ano a ano, devido principalmente a queima de combustíveis fósseis, sendo que um relatório divulgado pelo Global Carbon Project (GCP) concluiu que aumentou em 2.7% as emissões de CO_2 por combustíveis fósseis em 2018, sendo que em 2017 este aumento foi de 1.6% (FRIEDLINGSTEIN et al., 2019).

Para a remoção do CO_2 pode ser aplicado diversos métodos, como o uso de membranas para separação, absorção com solvente e adsorção usando peneiras moleculares e carvões ativados (ZHANG; LU; JI, 2019). A adsorção química do CO_2 está relacionada com a interação do CO_2 com um adsorvente para formar um composto intermediário com fracas ligações que pode ser regenerado com a aplicação de técnicas como: (1) adsorção por oscilação de pressão, (2) adsorção por oscilação a vácuo, (3) oscilação de temperatura adsorção, (4) adsorção por oscilação elétrica, aumento de temperatura pela condução de eletricidade por meio dos adsorventes condutivos; (5) pressão e temperatura e (6) lavagem (YU; HUANG; TAN, 2012).

A absorção química do CO_2 ocorre entre a reação do CO_2 com um solvente químico para formar um composto intermediário com fracas ligações que pode ser regenerado com a aplicação da produção de calor do solvente original e de uma corrente de CO_2 (MOTA-MARTINEZ; HALLETT; MAC DOWELL, 2017). A seletividade dessa forma de separação é relativamente elevada. Estes fatores tornam a absorção química adequada para a captura de CO_2 dos gases de combustão industrial (MOTA-MARTINEZ; HALLETT; MAC DOWELL, 2017).

A clorofila é uma substância conhecida principalmente por sua atividade fotossintética na maioria das plantas, algas e cianobactéria (CHEN et al., 2017). Bevilaqua et al.(2010) demonstraram em estudos teóricos a interação da clorofila α e a feofitina α com o CO_2 ,

Assim, as buscas por metodologias alternativas para quantificação do CO₂ também são de elevado interesse, desde que esses métodos, apresente sensibilidade adequada, medidas de concentração de CO₂ em curto intervalo de tempo e de baixo custo, características estas apresentadas nos analisadores de gás de espectroscopia de infravermelho não dispersivo estudados neste trabalho.

Neste contexto, o objetivo deste trabalho foi extrair clorofilas α e β de amostras vegetais, bem como, avaliar a influência do solvente e da concentração de clorofila na absorção de CO₂, utilizando para sua quantificação o analisador de gás de espectroscopia de infravermelho não dispersivo (NDIR). Espera-se que os resultados obtidos neste trabalho possa contribuir para elaboração de materiais absorvente ou sensores constituídos de camadas de clorofila.

2. MATERIAIS E METODOS

2.1. Método de extração da clorofila por lixiviação

Em almofariz foi colocado 2g da matriz (alface - *Lactuca sativa* ou couve - *Brassica oleracea*), adicionando 1 g de sulfato de sódio (Na₂SO₄), 200 mg de óxido de magnésio (MgO) e 4 mL de acetona 80% e trituradas até um aspecto homogêneo (HALIM et al., 2010).

A amostra foi centrifugada por 10 minutos a 800 rpm com 4,0 mL de hexano e 2,0 mL de água destilada. A separação da fase orgânica da fase aquosa foi realizada adicionando Na₂SO₄ a solução, onde a fase orgânica é filtrada e o pigmento é mantido estável protegido da luz e sob refrigeração a 4°C.

2.2. Purificação da amostra

A separação dos pigmentos foi realizada por meio de uma cromatografia de coluna. A coluna foi preenchida com amido (JOHNSTON et al., 2013). Para a fase móvel, preparou-se três soluções: éter petróleo, 7:3 éter de petróleo: acetona, 8:2 éter de petróleo: acetona.

Quando finalizado o empacotamento, 20mL de extrato foi adicionado à coluna cromatográfica e a partir daí, foram aplicadas adições constantes da fase móvel, para que o carreamento dos pigmentos ocorresse.

2.3. Caracterização e quantificação da amostra

Os espectros de absorção das alíquotas foram registrados ao longo do intervalo entre 200 e 800 nm, utilizando uma célula de quartzo e sendo o solvente a acetona e metanol. Para a quantificação do teor de caroteno e clorofila α e β presente em cada amostra, foi utilizada a técnica das "equações tricromáticas" proposta por Lichtentaler e Wellburn (INSKEEP; BLOOM, 1985).

2.4. Captura de CO₂

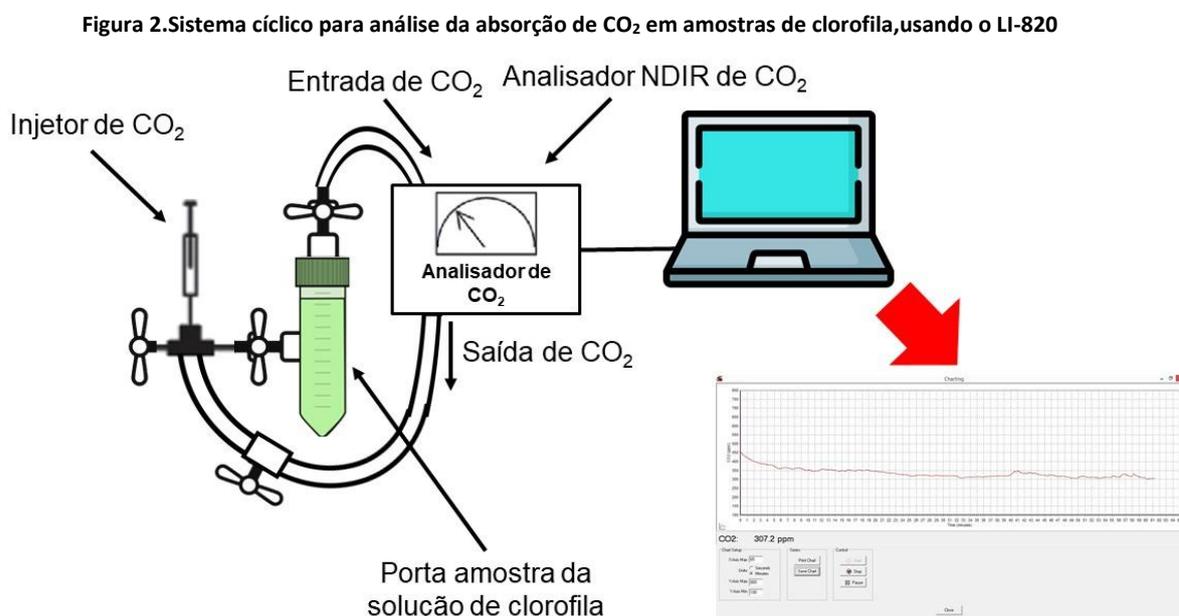
Em um tubo de 50 mL, com 2 orifícios para entrada e saída do ar analisado, foi adicionado 30 mL de cada amostra.

Para o teste de CO₂ foi utilizado as alíquotas de cada extrato que apresentavam quantidade significativa de clorofila α e β, sendo elas:

- Amostra A: Extrato de alface em acetona
- Amostra B: Extrato de couve em acetona
- Amostra C: Extrato de alface em metanol
- Amostra D: Extrato de couve em metanol
- Amostra E: Diluição 1:3 da amostra D
- Amostra F: Diluição 0,5:3 da amostra D

Com um dos orifícios fechados e com um auxílio de uma seringa, era retirado o ar presente dentro do tubo, e adicionado uma amostra de ar conhecida.

Para a análise da absorção de CO₂ nas amostras de clorofilas, extraídas da alface e couve, foi montado um sistema cíclico fechado no analisador de gás LI-820, como demonstrado na Figura 2.



Fonte: AUTORES, 2020.

O LI – 820 é um analisador de CO₂ por infravermelho não dispersivo (NDIR), que se baseia na espectroscopia de absorção molecular, onde o sensor NDIR consiste em uma fonte de luz, uma cavidade de amostra e um detector. O detector é equipado com um filtro óptico, de tal forma que ele só pode monitorar a intensidade de um determinado intervalo de frequência selecionado para corresponder ao espectro de absorção do gás analito e a saída do detector é, portanto, afetada pela concentração do gás estudado (HUMMELGARD et al., 2015).

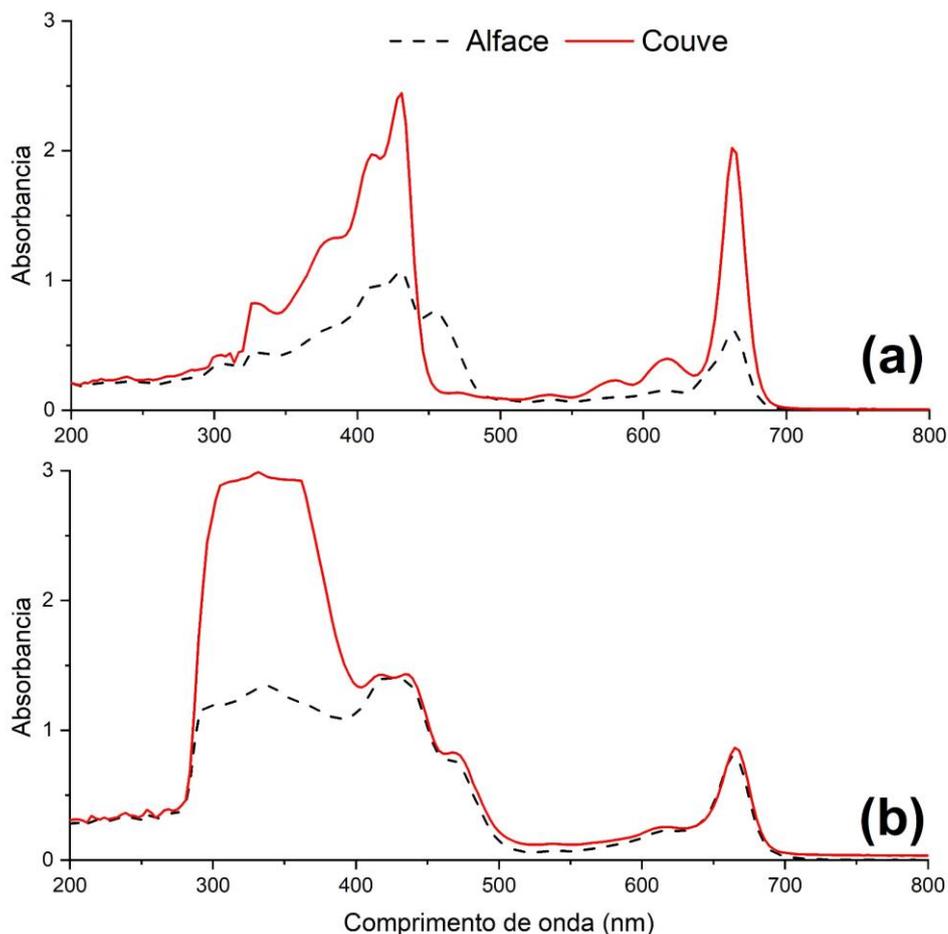
O sistema cíclico tinha como objetivo manter o fluxo inicial de ar presente no tubo constante, assim o ar que entrava no aparelho para a medida de CO₂, após a análise no LI-820, retornava ao tubo, assim era possível analisar o quanto de CO₂ foi absorvido pela amostra da solução de clorofila, da atmosfera inicial presente no tubo. Este sistema cíclico se mantinha em operação por 1 hora, com uma pressão de 101,4 kPa (1 atm) e temperatura de 25°C para cada amostra de clorofila analisada e a leitura era feita pelo software “LI-820 CO₂ Gas Analyzer”.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Caracterização e quantificação da amostra

A estrutura da clorofila ter uma cadeia cíclica de ligações duplas conjugadas, o que favorece que os pigmentos possam ser caracterizados por espectrometria na região do UV/Visível. A clorofila apresenta bandas características no intervalo de 400-475 nm e 600-675 nm, enquanto o caroteno apresenta uma absorção característica no intervalo de 400-500 nm (LICHTENTHALER; BUSCHMANN, 2005). Os espectros de absorção dos extratos vegetais eluidos em acetona e metanol, apresentaram bandas caracterisitcas de clorofila e caroteno (Figuras 3 e 4).As amostras solubilizadas em acetona (Figura 3) apresentaram absorção máxima em 431 nm e 662 nm, enquanto que as amostras solubilizadas em metanol (Figura 4) apresentaram absorção máxima em 437 e 668 nm.

Figura 3. Espectro no UV/Vis das alíquotas do extrato de alface e couve solubilizados em acetona (a) e metanol (b).



Fonte: AUTORES, 2020.

Para a quantificação do teor de caroteno e clorofila α e β presente nas amostras vegetais foi utilizada "equações tricromáticas" de Lichtentaler e Wellburn que determinam a concentração das substâncias em $\mu\text{g mL}^{-1}$. As equações 1 e 2 foram obtidas para as amostras solubilizadas em acetona e as equações 3 e 4 foram obtidas para as amostras solubilizadas em etanol.

$$\text{Clorofila } \alpha = 11,75 \cdot A_{662} - 2,350 \cdot A_{645} \quad (1)$$

$$\text{Clorofila } \beta = 18,61 \cdot A_{645} - 3,960 \cdot A_{662} \quad (2)$$

$$\text{Clorofila } \alpha = 15,65 \cdot A_{666} - 7,340 \cdot A_{653} \quad (3)$$

$$\text{Clorofila } \beta = 27,05 \cdot A_{653} - 11,21 \cdot A_{666} \quad (4)$$

A partir das equações 1 - 4, obteve-se os teores ($\mu\text{g mL}^{-1}$) para os extratos de clorofila tanto em acetona como em metanol estando apresentados na Tabela 1.

Tabela 1. Teor de clorofila α e β no extrato de alface e couve solubilizados em acetona e metanol

	Abs. 645nm	Abs. 662nm	Clorofila α ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Clorofila β ($\mu\text{g mL}^{-1}$)
Amostra A	0.286	0.612	6.52	2.90
Amostra B	0.287	1.569	17.76	0
	Abs. 653nm	Abs. 666nm		
Amostra C	0.265	0.473	5.46	1.87
Amostra D	0.29	0.517	5.96	2.05

Fonte: AUTORES, 2020

3.2. Avaliação da absorção de CO₂ por diferentes extratos de clorofila

Os resultados dos experimentos de absorção de CO₂ pelas moléculas de clorofila α , clorofila β e clorofila $\alpha+\beta$ evidenciaram influência do solvente e da concentração de clorofila no processo de absorção do CO₂ (Tabela 2).

Tabela 2. Captura de CO₂ no extrato de alface e couve solubilizados em acetona e metanol

Solvente: Acetona					
	Clorofila α ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Clorofila β ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Clor. α + Clor. β ($\mu\text{g mL}^{-1}$)	Absorção CO ₂ (ppm)	% de absorção
Sample A	6.52	2.9	9.42	50.33 \pm 6.40	13.39
Sample B	17.76	0	17.76	78.4 \pm 0.79	20.12
Solvente: Metanol					
Sample E	1.10	0.37	1.47	41.63 \pm 1.12	8.27
Sample F	2.83	0.92	3.74	50.63 \pm 13.71	12.18
Sample C	5.46	1.87	7.33	63.50 \pm 1.73	12.90
Sample D	5.96	2.05	8.01	100.06 \pm 17.20	18.25

Fonte: AUTORES, 2020

Como no estudos teóricos de Bevilauqa et al. (2010) os extratos de clorofila evidenciam as interações com o CO₂ indicando que este a solução do pigmento pode absorver gases de CO₂ de forma eficiente.

Observa-se pela Tabela 2 que a concentração de clorofila está diretamente relacionada com o aumento da porcentagem de captura de CO₂ pela amostra, como visto pela relação entre os resultados da amostra A e B, e das relações existente entre as amostras C, D, E e F. Isto indica que a maior presença de moléculas de clorofila nas amostras, tanto as solubilizadas em acetona, quanto as solubilizadas em metanol, conseguem interagir com uma maior quantidade de moléculas de CO₂. Entretanto, percebe-se que as amostras solubilizadas em metanol apresentam uma maior absorção de CO₂ do que as amostras solubilizadas em acetona. Ao comparar a amostra F com a amostra A ambas apresenta um mesmo valor para absorção de CO₂, mas verifica-se que a amostra D apresenta uma concentração 2,5 vezes menor que a amostra A. Este fato se deve a clorofila apresentar dois centros de solvatação predominantes: um ocorre no Mg central (centro eletrofílico) e outro no oxigênio carboxílico do anel isocíclico (centro nucleofílico), assim tanto a acetona quanto o metanol apresentam solvatação nestes centros da molécula de clorofila. A diferença entre as solvatações está no impedimento estérico, a molécula de acetona provoca um maior impedimento estérico na molécula de clorofila em comparação ao metanol (RENGE; AVARMAA, 1985). Por provocar um maior efeito estérico, a molécula de acetona apenas consegue formar um complexo monodentado (Mg-C₂H₆O), enquanto a molécula de metanol, por possuir um impedimento estérico menor, consegue formar um complexo bidentado (Mg-(CH₃OH)₂), ligações de hidrogênio e uma possível interação com o oxigênio carboxílico do anel isocíclico. Devido a molécula de metanol apresentar um menor impedimento estérico sobre a molécula de clorofila, está a torna mais disponível para uma possível interação com a molécula de CO₂ (RENGE; AVARMAA, 1985). Desta forma, a solvatação na molécula de clorofila está diferentemente relacionada a absorção de CO₂, sendo que quanto maior o impedimento estérico ocorrido pelo solvente menor a absorção de CO₂.

4. CONCLUSÃO

O uso das três "equações tricromáticas" de Lichtentaler e Wellburn foram eficazes na determinação das concentrações pigmentos, para posteriormente estes valores serem utilizados para o estudo de absorção de CO₂. A caracterização dos extratos de clorofila extraída de alface e couve por espectroscopia na região UV/Visível evidenciou a presença dos pigmentos com ligações π conjugadas. O método de NDIR possibilitou a determinação dos valores de absorção de CO₂ pelas moléculas de clorofila, sendo um método simples e de fácil manuseio, onde foi possível perceber que a molécula de clorofila possui uma potencialidade para a absorção de CO₂, como já esperado devido a sua estrutura se assemelha com a estrutura da hemoglobina e por esta possui grupos amino em sua constituição. Pode se afirmar com o trabalho que a clorofila pode ser considerada como um absorvente de CO₂ em uma pressão de 1 atm, assim com tendência de absorção capaz de aprisionar as moléculas de CO₂ com interações intermoleculares ser favorável. Então, esses resultados podem ser promissores para desenvolvimento de materiais a partir de biomassas, usando a clorofila como absorvente ou sensor de CO₂.

REFERENCIAS

- ANDERSON, Thomas R.; HAWKINS, Ed; JONES, Philip D. CO₂, the greenhouse effect and global warming: from the pioneering work of Arrhenius and Callendar to today's Earth System Models. **Endeavour**, 2016.
- BEVILAQUA, Rochele C.A.; ZANELLA, Ivana; FAGAN, Solange B. Chlorophyll a and pheophytin a as gas sensors of CO₂ and O₂ molecules. **Chemical Physics Letters**, 2010.
- CHEN, Kewei et al. Comprehensive chlorophyll composition in the main edible seaweeds. **Food Chemistry**, 2017.
- FRIEDLINGSTEIN, Pierre et al. Global carbon budget 2019. **Earth System Science Data**, 2019.
- HALIM, Ronald et al. **Chlorophyll extraction from microalgae: A review on the process engineering aspects. International Journal of Chemical Engineering**. [S.l: s.n.], 2010
- HUMMELGARD, Christine et al. Low-cost NDIR based sensor platform for sub-ppm gas detection. **Urban Climate**, 2015.
- INSKEEP, William P.; BLOOM, Paul R. Extinction Coefficients of Chlorophyll a and b in N,N -Dimethylformamide and 80% Acetone . **Plant Physiology**, 1985.
- JOHNSTON, Aubrey et al. A green approach to separate spinach pigments by column chromatography. **Journal of Chemical Education**, 2013.
- LICHTENTHALER, Hartmut K.; BUSCHMANN, Claus. Extraction of Photosynthetic Tissues: Chlorophylls And Carotenoids. **Handb. Food Anal. Chem.** [S.l: s.n.], 2005. .
- LIU, Zhen Shu et al. Application of thermogravimetry and differential scanning calorimetry for the evaluation of CO₂ adsorption on chemically modified adsorbents. **Thermochimica Acta**, 2015.
- MAKHNATCH, Pavel; KHODABANDEH, Rahmatollah. The role of environmental metrics (GWP, TEWI, LCCP) in the selection of low GWP refrigerant. 2014, [S.l: s.n.], 2014.
- MOTA-MARTINEZ, Maria T.; HALLETT, Jason P.; MAC DOWELL, Niall. Solvent selection and design for CO₂ capture-how we might have been missing the point. **Sustainable Energy and Fuels**, 2017.
- RENGE, I.; AVARMAA, R. Specific solvation of chlorophyll a: solvent nucleophilicity, hydrogen bonding and steric effects on absorption spectra. **Photochemistry and Photobiology**, 1985.
- ROLLE, Francesca; SEGA, Michela. Carbon dioxide determination in atmosphere by non dispersive infrared spectroscopy: A possible approach towards the comparability with seawater CO₂ measurement results. **Measurement: Journal of the International Measurement Confederation**, 2018.
- YU, Cheng Hsiu; HUANG, Chih Hung; TAN, Chung Sung. **A review of CO₂ capture by absorption and adsorption. Aerosol and Air Quality Research**. [S.l: s.n.], 2012
- ZHANG, Yingying; LU, Xiaohua; JI, Xiaoyan. Carbon Dioxide Capture. **Deep Eutectic Solvents**. [S.l: s.n.], 2019. .