

Aluno: Christian Leonard Kramer - chriskram@hotmail.com
David da Silva Santos - davids0303@gmail.com
Fernanda Marcílio Guerrero - femguerrero13@gmail.com
Gabriel Andriano de Oliveira Varela - gvarela.cont@gmail.com

Orientador: João Guilherme Rocha Poço - jgrpoco@fei.edu.br



Introdução

Na última década, a preocupação com a emissão de gases do efeito estufa, maior demanda energética e futura escassez de combustíveis fósseis, levantou o alerta pela busca por fontes de energia limpas e renováveis. Diversas soluções vêm sendo estudadas, sendo uma das que se destacam o uso de biocombustíveis¹, que atualmente consistem em etanol e biodiesel produzidos majoritariamente a partir de matérias-primas como cana de açúcar e soja.

A produção de biocombustíveis a partir de microalgas é uma alternativa até então pouco explorada, pois apesar de não disputarem espaço com a produção de alimentos ou consumo de água doce e produzir uma maior quantidade de biocombustíveis quando comparada às produções de biocombustíveis oriundos de matérias-primas tradicionais, ainda apresentam barreiras como a dura concorrência com a produção atual de combustíveis fósseis, além de um alto custo energético devido a gargalos encontrados no processo, como a extração e conversão do lipídeo em biodiesel, resultando em um processo economicamente desfavorável.

O estudo tem como finalidade a melhoria da extração do óleo das microalgas para futura produção de biocombustíveis, em especial, o biodiesel.

Metodologia

O processo de extração aplicado para o óleo de microalgas pode resultar em diferentes teores lipídicos em decorrência da espécie utilizada de microalga, o que pode tornar o processo mais complexo devido à quantidade de impurezas. Dessa forma, é requerido um processo de tratamento anterior à extração, a fim de quebrar as paredes celulares e obter mais fácil acesso ao conteúdo lipídico da microalga. A maioria das técnicas de extração a partir de solventes utilizadas para a extração de lipídeos em microalgas são baseadas nos métodos tradicionais já aplicados para extração de óleos vegetais em plantas. Sendo assim, para a realização dos testes, foram empregados os métodos de Soxhlet, Folch e extração padrão com etanol para extração do óleo da microalga da espécie *Nannochloropsis oculata*.

Pré-tratamento para Extração Lipídica:

O método aplicado se trata do uso de micro-ondas, que atua como um ótimo pré-tratamento térmico ao aplicar frequências com alcance de 0.3 a 300 GHz, sendo as ondas mais usualmente aplicadas às microalgas, aquelas em torno 2450 MHz.

Caracterização do Teor Lipídico Total:

A determinação do teor lipídico total é obtida através de um método modificado como descrito por ZUORRO et al. (2016). Primeiramente 0,2 g de biomassa seca das microalgas são misturadas a 18 mL de clorofórmio/ metanol na proporção 2:1 respectivamente, e em seguida agitada a 37 ° C durante 1 hora.

A mistura foi centrifugada por 10 min a 2500 rpm e o sobrenadante coletado. A biomassa residual foi re-extraída mais duas vezes nas mesmas condições. Os três sobrenadantes são combinados com 20% do volume total de solução de cloreto de sódio 1% em massa, e após 10 minutos de agitação a 37 ° C a mistura é centrifugada e a fase orgânica é recuperada e evaporada sob vácuo a 40 ° C. O teor de lipídeos é calculado a partir da razão entre a massa de lipídio extraída e a massa total de microalga.

Processo de Transesterificação do Óleo Extraído:

Para a realização da reação de transesterificação, a fim de obter o biodiesel, foi adicionado ao lipídeo extraído, metanol 99,5%, em uma proporção de 40 vezes em excesso em relação a massa de óleo, preparado em um balão de fundo redondo, juntamente a 1% de catalisador metilato de sódio, em relação ao óleo, levado à agitação e aquecimento de 60° C durante um período de 2 horas. Após a reação de transesterificação, o catalisador foi neutralizado adicionando ácido clorídrico em proporção estequiométrica para evitar reações paralelas, e então o biodiesel foi separado da glicerina e outros resíduos, lavado e secado.

Planejamento Experimental:

A modelagem experimental foi feita com dois parâmetros de entrada com três níveis: o tempo de pré-tratamento de 30 a 90 s e o tempo de extração de 2 a 3 h (ONUMAEGBU et al., 2019). Já a resposta de saída consistiu na porcentagem de rendimento de lipídio extraído. Os valores podem ser observados na tabela a seguir:

Tabela 1 – Variáveis de entrada, seus níveis, intervalos de avaliação e unidades usadas no planejamento experimental.

Variável	Unidade	Níveis		
		-1	0	1
Tempo de pré-tratamento	s	30	60	90
Tempo de extração	h	2	2,5	3

Fonte: adaptado pelos autores, 2022

Um planejamento experimental RCCD (*Rotative Central Composite Design*) com os dois fatores foi selecionado para o estudo da extração. Um software de planejamento experimental e análise estatística, neste caso o Minitab, foi utilizado para verificar o efeito que os fatores têm sobre a extração e ter o entendimento sobre o que realmente afeta o processo (WU et al., 2009; RODRIGUEZ et al., 2017).

Resultados e Discussões

Na figura 1 é possível observar que o método pelo qual é obtido o maior rendimento lipídico foi o Soxhlet utilizando hexano como solvente, sendo este resultado possível devido ao pré-tratamento com micro-ondas, as quais causam a ruptura das paredes celulares da microalga, além de evaporar grande parte da água presente, já que em sua presença o lipídeo tende a não ser extraído pelo hexano que é imiscível em água. Isso pode ser observado na extração Soxhlet/ hexano sem pré-tratamento onde mal houve extração.

Figura 1 - Comparação entre o rendimento obtido em diferentes métodos antes e após aplicação de micro-ondas.

Método	%Y _i	%Y _f
Clássico	2,61%	8,2%
Folch	5,06%	15,9%
Soxhlet / hexano	0,80%	25,0%
Soxhlet/ etanol	14,36%	22,1%

Na análise de Variância (ANOVA) obtida do planejamento experimental feito no Minitab, representado na figura 2, é possível observar que somente o tempo de pré-tratamento e a interação com ele mesmo foram os fatores estudados estatisticamente significativos dentro de um intervalo de confiança de 95%, ou seja, valor-p ≤ 0,05.

Figura 2 - Análise de variância do modelo obtido no RCCD

Analysis of Variance

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Model	5	0,346917	0,069383	13,53	0,006
Linear	2	0,238099	0,119050	23,22	0,003
TEXT	1	0,016351	0,016351	3,19	0,134
TPRETRAT	1	0,221748	0,221748	43,24	0,001
Square	2	0,100516	0,050258	9,80	0,019
TEXT*TEXT	1	0,019742	0,019742	3,85	0,107
TPRETRAT*TPRETRAT	1	0,097945	0,097945	19,10	0,007
2-Way Interaction	1	0,008301	0,008301	1,62	0,259
TEXT*TPRETRAT	1	0,008301	0,008301	1,62	0,259
Error	5	0,025639	0,005128		
Lack-of-Fit	3	0,025271	0,008424	45,71	0,021
Pure Error	2	0,000369	0,000184		
Total	10	0,372556			

Figura 3 - Modelo quadrático do processo de extração e sumário do modelo (R²)

Regression Equation in Uncoded Units

$$\text{rendimento} = -1,564 + 1,091 \text{TEXT} + 0,01552 \text{TPRETRAT} - 0,237 \text{TEXT*TEXT} - 0,000146 \text{TPRETRAT*TPRETRAT} + 0,00304 \text{TEXT*TPRETRAT}$$

Model Summary

S	R-sq	R-sq(adj)	R-sq(pred)
0,0716093	93,12%	86,24%	51,54%

Logo, são obtidos os tempos ótimos de pré-tratamento e extração iguais a 82,6 s e 2,83 h, respectivamente. E sendo uma variação menor que 0,2 entre o R² = 0,9312 e R²(adj) = 0,8624 indica que o método obtido é adequado (BENYOUNIS et al., 2008). Ainda foi feita a análise qualitativa do biodiesel obtido a partir da transesterificação do lipídeo para garantir a sua qualidade, como mostrado na figura 5, onde podemos ver ácidos graxos característicos do biodiesel comercial.

Também foi feita uma extração utilizando uma mistura de etanol e querosene, porém a mesma não se mostrou efetiva na extração do lipídeo presente na microalga.

Logo, tendo determinado o melhor método de extração do lipídeo, foi aplicado o planejamento experimental *Rotative Central Composite Design* (RCCD) com três pontos centrais, totalizando 11 pontos (4 pontos fatoriais e 4 pontos axiais).

Além disso, foi obtido o modelo quadrático que descreve o processo de extração, representado na figura 3 juntamente com sumário do modelo. A partir deste foram feitas duas derivadas parciais, sendo uma em tempo de extração e outra em tempo de pré-tratamento. Obtendo duas equações e igualando-as a zero, ponto de máximo, é formado um conjunto de equações lineares e definido os melhores pontos de operação para obter o maior rendimento de lipídeo extraído possível, figura 4.

Figura 4 - Determinação do tempo de extração e tempo de pré-tratamento ótimos a partir do modelo quadrático.

$$Y = -1,564 + 1,081T_{ext} + 0,01552T_{pretrat} - 0,237T_{ext}^2 - 0,000146.T_{pretrat}^2 + 0,00304.T_{ext}.T_{pretrat}$$

$$\frac{\partial Y}{\partial T_{ext}} = 1,091 - 0,237.2.T_{ext} + 0,00304T_{pretrat}$$

$$\frac{\partial Y}{\partial T_{pretrat}} = 0,01552 - 0,000146.2.T_{pretrat} + 0,00304T_{ext}$$

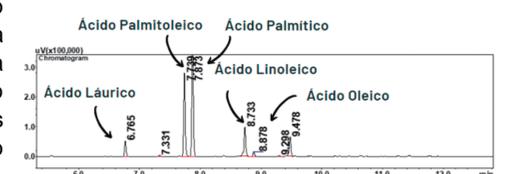
$$1,091 - 0,237.2.T_{ext} + 0,00304T_{pretrat} = 0$$

$$0,01552 - 0,000146.2.T_{pretrat} + 0,00304T_{ext} = 0$$

$$\therefore T_{ext} = 2,83 \text{ h}$$

$$\therefore T_{pretrat} = 82,62 \text{ s}$$

Figura 5 - Análise qualitativa do biodiesel obtido a partir do lipídeo da microalga via cromatografia gasosa.



Conclusões

O método de extração de lipídeos mais adequado para a *Nannochloropsis Oculata* em pasta foi utilizando o extrator Soxhlet e hexano como solvente. Isso após aplicação do pré-tratamento com micro-ondas, já que este causa a ruptura das paredes celulares da microalga, facilitando o contato entre o lipídeo e o solvente, além de secar a pasta, diminuindo o teor de umidade.

Vale salientar que o pré-tratamento com micro-ondas se mostrou uma prática simples e eficiente na extração dos lipídios, possibilitando a extração com hexano e aumentando o percentual de rendimento lipídico nos outros métodos estudados de forma robusta.

Além disso, foi determinado estatisticamente utilizando um planejamento experimental CCD rotacional os melhores pontos de operação para a extração, sendo o tempo de pré-tratamento e o tempo de extração para obter a maior porcentagem de rendimento lipídico igual a 82,6 s e 2,83 h, respectivamente.

Referências

(1) SCOTT, S. DAVEY, M.; DENNIS, J.; HORST, I.; HOWE, C.; SMITH, D.; SMITH, A. Biodiesel from algae: challenges and prospects. *Current Opinion in Biotechnology*, v. 21, 2010, p. 277-286. Disponível em: <https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0958166910000443>. Acesso em: 28 nov. 2021.