

EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE CHLORELLA PYRENOIDOSA ASSISTIDA EM ULTRASSOM

M. V. BRANDALIZE¹, J. L. P. SANTOS Jr.², M. L. CORAZZA³, L. P. RAMOS⁴

¹ Universidade Federal do Paraná, Programa de pós-graduação em Engenharia Química

² Universidade Federal do Paraná, Curso de Engenharia Química

³ Universidade Federal do Paraná, Departamento de Engenharia Química

⁴ Universidade Federal do Paraná, Departamento de Química

E-mail para contato: marcusbrandalize@gmail.com

RESUMO – Microalgas destacam-se na busca por novos processos para obtenção de óleos para produção de biodiesel, por seu potencial produtor, cultivada em pequenas áreas, e alta taxa de crescimento. O presente trabalho teve como objetivo a extração de óleo de microalga, *Chlorella pyrenoidosa*, assistida em ultrassom. Os experimentos foram conduzidos em banho de ultrassom ECO-SONICS Q 59/31A, com potência de 165W. A avaliação do método foi feita por planejamento fatorial 2^3 com ponto central, cujas variáveis foram: volume de solvente (etanol e hexano), potência do banho e temperatura. Os melhores resultados, expressos em porcentagem de massa de extraíveis em relação a massa inicial de microalga, foram obtidos utilizando etanol (200ml, 100% Pot, 30°C) 14,65%, enquanto para hexano (100ml, 20%, 60°C) foi de 2,41%. Em shoxlet, para etanol e hexano rendimentos foram de 13,08% e 1,71%, respectivamente. Etanol foi o melhor solvente para operação, tendo potência do ultrassom como variável significativa do processo.

1. INTRODUÇÃO

Mesmo com o avanço da produção e exploração de petróleo da camada do pré-sal, a dependência deste recurso não se restringe apenas a indústria de combustíveis, outro fato relevante é a quantia de investimentos voltados a este segmento da indústria. Porém a expectativa da extinção próxima das reservas deste mineral leva a necessidade de pesquisa e desenvolvimento envolvendo fontes alternativas para o abastecimento deste mercado.

O grande destaque na última década foi à exploração de recursos para a produção de biocombustíveis, tal como biodiesel, utilizando como matéria-prima óleo de soja via reações de saponificação/esterificação e/ou transesterificação, o qual tem como desvantagens o incentivo ao monocultivo, ameaça à segurança alimentar e preço de mercado dominado por direitos comerciais. (Demirbas, et al, 2011)

Microalgas destacam-se como promissoras fontes para a produção de biodiesel, além disto, são utilizadas para a produção suplementos alimentares, tratamentos de efluentes, fertilização de solos entre outros. (Araujo, et. al., 2013). São microrganismos, unicelulares, compostos majoritariamente

por lipídeos, carboidrato e proteínas, dulcícolas ou marinhas, cuja porção lipídica é muito semelhante aos lipídeos de origem vegetal, diferindo por conter componentes de alto grau de insaturação (Demirbas, et al, 2011; Foley, et al., 2011).

A busca de um processo ideal para extração do óleo de microalga envolve desafios tais como a aplicação de metodologias que empreguem quantidades menores de solventes orgânicas e que sejam capazes de atingir o maior rendimento possível, quando comparamos as mais triviais e comuns técnicas de extração, mecânica e com solventes. Tais alternativas são a aplicação de fluídos super ou subcríticos, microondas, assistida em ultrassom e enzimático (Araujo, et. al., 2013; Chisti, 2008).

Metodologias empregando o ultrassom para extração lipídica de microalgas são classificadas como pré-tratamento, no intuito de sensibilizar e romper a parede celular e posterior extração, ou a utilização deste recurso como alternativa aos processos convencionais, na presença ou não de um solvente orgânico. O efeito do ultrassom dá-se pela cavitação provocada por ondas sônicas, em ciclos rápidos de compressões e descompressões, e altas temperaturas, tornando o interior da microalga acessível (Adam et. al., 2012; Lee, et. al., 2012).

Com isso, o presente trabalho tem como objetivo a avaliação do processo de obtenção de extrato de microalga utilizando banho de ultrassom, na presença de um solvente, no intuito de facilitar a remoção da fração lipídica, e redução do tempo necessário se comparada com outras metodologias.

2. METODOLOGIA

2.1 Materiais

A microalga da espécie utilizada neste trabalho foi *Chlorella pyrenoidosa* adquirida junto a Florien Insumos Farmacêuticos, em unidade de 1kg, lote nº 049277. Os solventes utilizados foram Etanol absoluto 99,5% (Neon), Hexano HPLC (Panreac), e Heptano P.A (Neon). Conduzidos em banho de ultrassom ECO-SONICS Q 59/31A, com potência de 165W, frequência de 37 KHz e com capacidade de 5,7 L, além de sistema soxhlet de extração (em série), e banho ultratermostático QUIMIS® Q214S2.

2.2 Extração em soxhlet

Aproximadamente 15 g de amostra de microalga foram transferidas para um pacote feito em papel filtro, e alocados no extrator tipo Soxhlet. Os experimentos foram realizados em triplicata, onde os condensadores utilizados foram ligados em série, e em circuito fechado, utilizando água refrigerada a 12 °C como fluido de troca térmica, mantida por um banho ultratermostático com circulação. Para cada extrator foi acoplado um condensador e um balão de fundo redondo contendo 200 ml do solvente de interesse.

A extração foi conduzida por 12 (doze) horas, a fim de garantir extração total do soluto pelo

solvente aplicado. Após extração, a amostra foi rota evaporada, transferida para um tubo de ensaio com tampa, e mantida em estufa a 60°C para termino da remoção de solvente da amostra (extrato). Então resfriada até temperatura ambiente e pesada para determinação de rendimento mássico do processo.

O rendimento da extração (teor de extraíveis) foi calculado com a Equação 1, relação mássica da massa de extrato obtido em relação a massa de microalga inicialmente utilizada.

$$\text{Rendimento da Extração (\%)} = \frac{\text{Massa de extrato (g)}}{\text{Massa inicial da amostra (g)}} \cdot 100 \quad (1)$$

2.3 Extração assistida em ultrassom

As extrações com solvenete acelerados por ultrassom foram conduzidas em banho de ultrassom. Foram pesadas amostras com massa aproximadamente de 15 g, colocadas em erlenmeyer de boca larga, juntamente com o solvente de interesse, previamente homogeneizadas, tampados com rolha de silicone, fixados com garras para manutenção de sua posição no banho, e submetidas a extração pelo tempo de 60 minutos.

Após a extração, as amostras foram filtradas em funil e papel filtro, e a mistura extrato solvente foi rota-evaporada, transferida a um tubo de ensaio com tampa, e mantida em estufa sob temperatura de 60 °C para completa evaporação de solvente. Então pesada para determinação de rendimento mássico do processo, e armazenado sob refrigeração. O cálculo do rendimento mássico da extração por ultrassom foi o mesmo utilizado para o rendimento mássico para extração em Soxhlet, Equação 1.

3 RESULTADOS

As extrações realizadas em soxhlet, técnica difundida e dada como padrão para determinação de extraíveis, foram feitas a fim de se ter um referencial para comparação com a proposta alternativa ao processo convencional avaliada no presente trabalho. Para isso utilizou-se como solvente etanol e hexano. Hexano, utilizado com padrão para determinação de extraíveis, e etanol pelo interesse em dar continuidade ao processo, tendo extraível (óleo) de microalga na presença de etanol, a solução torna-se passível de ser submetida a um processo de produção de ésteres etílicos. Para ambos os solventes foram feitos ensaios em triplicata para determinação do teor de extraíveis em função do solvente utilizada, os resultados obtidos para etanol e hexano foram de $11,98 \pm 1,92 \%$ e $1,78 \pm 0,41 \%$ respectivamente. Revelando a superioridade do etanol quando utilizada como solvente para tal processo de extração, 6,73 vezes maior em comparação ao hexano.

Etanol e hexano também foram os solventes escolhidos para realização de extrações assistidas em ultrassom. A cuba do banho foi dividida em duas partes iguais, e os experimentos foram conduzidos

em uma mesma posição para garantia de exposição uniforme das ondas de choque.

Os experimentos foram realizados utilizando metodologia de planejamento fatorial 2^3 com triplicata no ponto central, a fim de avaliar a influência de forma independente e combinada das variáveis: temperatura do banho, potência do banho e volume de solvente (ou concentração massa microalga/ volume de solvente), nos limites indicados pela Tabela 1.

Os onze experimentos realizados para cada um dos solventes, tem suas combinações de variáveis e ordem de realização mostrados na Tabela 2. Para distinção entre o solvente utilizado, ao número do experimento foram adotados prefixos, “Et” quando utilizado etanol, e “He” quando utilizado hexano

Tabela 1 – Variáveis e níveis utilizados para planejamento fatorial 2^3

Variáveis	Níveis		
	-1	0	1
Volume solvente (ml)	100	150	200
Potência (%)	20	60	100
Temperatura (°C)	30	45	60

Tabela 2 – Parâmetros para cada um dos ensaios realizados, e ordem de realização

Experimento	Volume solvente (ml)	Potência (%)	Temperatura (°C)	Ordem de realização	
				Etanol	Hexano
1	100	20	30	7°	4°
2	200	20	30	4°	2°
3	100	100	30	2°	8°
4	200	100	30	9°	11°
5	100	20	60	3°	5°
6	200	20	60	11°	9°
7	100	100	60	8°	3°
8	200	100	60	6°	7°
9	150	60	45	10°	10°
10	150	60	45	1°	6°
11	150	60	45	5°	1°

Para os dois solventes utilizados obteve-se condições em que o resultado foi superior ao obtido quando utilizada a metodologia Soxhlet, evidenciando satisfação do método assistido em ultrassom. A avaliação estatística do planejamento fatorial realizado revela que para as extrações que utilizaram etanol, a única variável significativa foi à potência do banho. A avaliação estatística dos dados foi feita com auxílio do software *Statistica*. As superfícies de resposta obtidas em função da potência são mostradas na Figura 1.

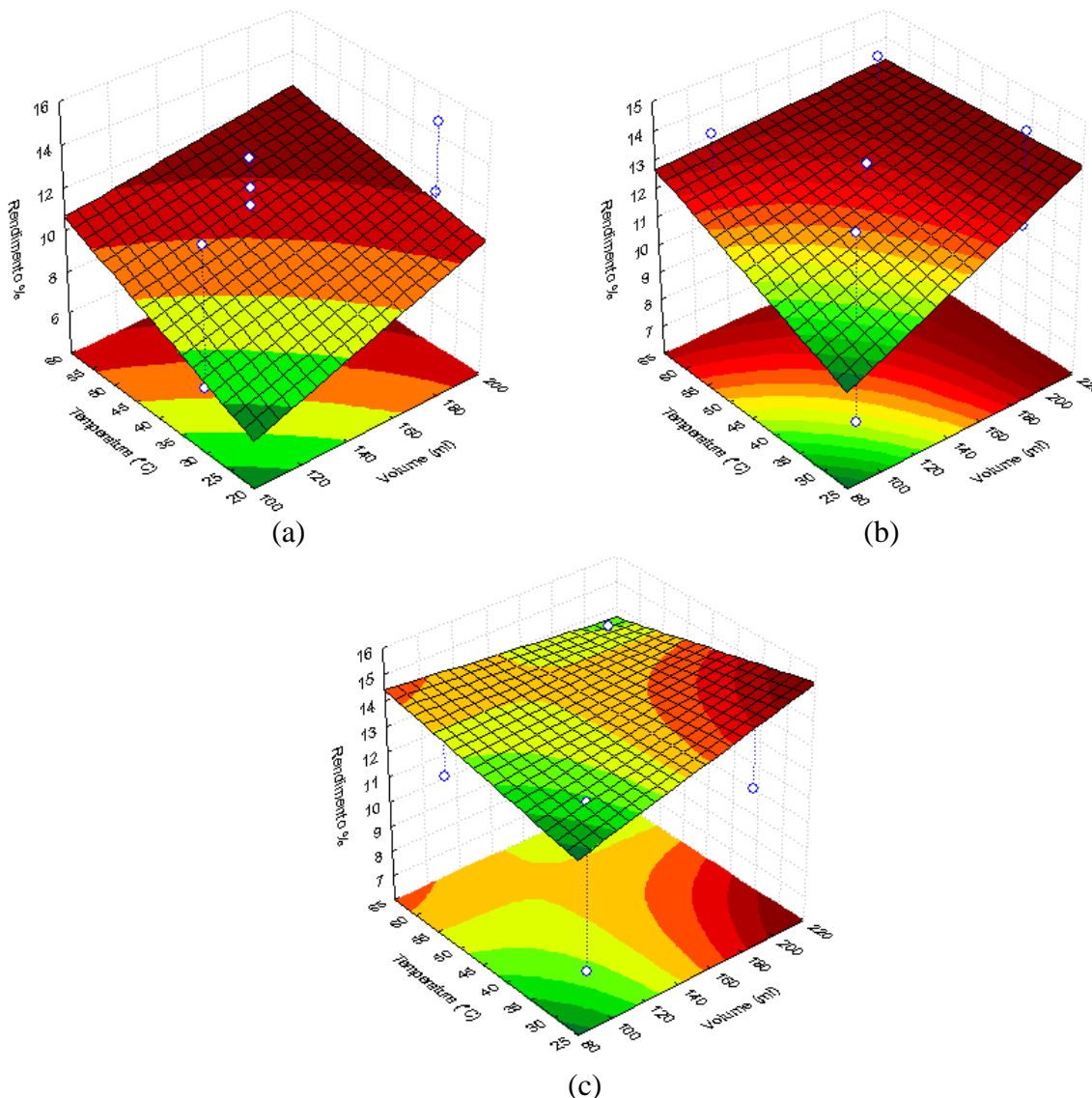


Figura 1 – Superfícies de resposta em função de temperatura e volume de solvente para as potências de 20% (a), 60% (b) e 100% (c).

A avaliação revela um fator R^2 igual à 0,92141 para o melhor ajuste dos dados, linear, em um intervalo de confiança de 95%, e desvio padrão médio de 0,948202.

Por sua vez, a avaliação do planejamento experimental das extrações realizadas com hexano, utilizando como intervalo de confiança de 95% o valor de R^2 foi de 0,6927 sem nenhuma das variáveis dada como representativa, mesmo com ajuste linear. E desvio padrão de 0,430224.

Em comparação dos dois solventes em seus melhores rendimento e comparação de metodologias, soxhlet e assistida em ultrassom, são apresentados os dados na Tabela 3 abaixo.

Tabela 3 – Comparação entre as melhores condições obtidas pelas duas metodologias testadas, para os solventes etanol e hexano.

	Teor de extrato (%)	
	Soxhlet	Assistida em Ultrassom
Etanol	13,08	14,65
Hexano	1,71	2,41
Razão Etanol/Hexano	6,07	7,65

4. CONCLUSÕES

A extração por solventes assistida em ultrassom para obtenção de extrato de microalgas se mostrou eficiente quando comparada a metodologia tradicional, feita única e exclusivamente com solventes orgânicos em extrato do tipo soxhlet. O processo aqui proposto também foi capaz de reduzir em 11 horas o tempo necessário para a obtenção do extrato, o que contribui para redução de gasto energético do método.

A comparação entre efetividade dos dois solventes avaliados, etanol e hexano, mostra etanol como solvente muito mais compatível para o fim desejado independente da metodologia. Tal fato tem como grande vantagem a possibilidade de submeter a solução extrato/etanol junto a um catalisador apropriado a reação, afim de produzir ésteres etílicos oriundos de microalgas. Ainda a avaliação estatística revela um ajuste satisfatório para os dados obtidos quando utilizado etanol, e a não possibilidade de um ajuste para os dados obtidos para o solvente hexano.

5. AGRADECIMENTOS

Ao apoio financeiro da Agência Nacional do Petróleo -ANP e da Financiadora de Estudos e Projetos - FINEP, através do Programa de Recursos Humanos da ANP para o Setor Petróleo e Gás Natural - PRH-ANP/MME/MCT, em especial ao PRH24, e aos grupos de pesquisa LACTA e CEPESQ da Universidade Federal do Paraná (UFPR).

6. REFERÊNCIAS

- ARAÚJO 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 of the optimal extraction method, *Ultrason. Sonochem.*, 20 (2013), pp. 95–98.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. *Trends in Biotechnology*, p.126 - 131, 2008
- DEMIRBAS, A.; DEMIRBAS, M. F. Importance of algae oil as a source of biodiesel, *Energy Conversion and Management*, Volume 52, Issue 1, January 2011, Pages, 163-170.
- DEMIRBAS, A.; Importance of biomass energy sources for Turkey. *Journal Energy Policy*, 2008, p.834-842.
- F. ADAM; M. ABERT-VIAN; G. PELTIER; F. CHEMAT. “Solvent-free” ultrasound-assisted extraction of lipids from fresh microalgae cells: a green, clean and scalable process. *Bioresour. Technol.*, 114 (2012), pp. 457–465.
- FOLEY, P. M.; BEACH. E. S.; ZIMMERMAN, J. B. Algae as a source of renewable chemicals: opportunities and challenges, *Green Chemistry*, 2011, 13, 1399-1405.
- LEE, A.K.; LEWIS, D.M.; ASHMAN P.J. Disruption of microalgal cells for the extraction of lipids for biofuels: processes and specific energy requirements *Biomass Bioenergy*, 46 (2012), pp. 89–101