

Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia na Engenharia Química

Érica de Melo Azevedo
(Organizadora)

Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia na Engenharia Química

Érica de Melo Azevedo
(Organizadora)

Atena
Editora
Ano 2020

Editora Chefe

Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira

Assistentes Editoriais

Natalia Oliveira

Bruno Oliveira

Flávia Roberta Barão

Bibliotecária

Janaina Ramos

Projeto Gráfico e Diagramação

Natália Sandrini de Azevedo

Camila Alves de Cremo

Luiza Alves Batista

Maria Alice Pinheiro

Imagens da Capa

Shutterstock

Edição de Arte

Luiza Alves Batista

Revisão

Os Autores

2020 by Atena Editora

Copyright © Atena Editora

Copyright do Texto © 2020 Os autores

Copyright da Edição © 2020 Atena Editora

Direitos para esta edição cedidos à Atena Editora pelos autores.



Todo o conteúdo deste livro está licenciado sob uma Licença de Atribuição *Creative Commons*. Atribuição-Não-Comercial-NãoDerivativos 4.0 Internacional (CC BY-NC-ND 4.0).

O conteúdo dos artigos e seus dados em sua forma, correção e confiabilidade são de responsabilidade exclusiva dos autores, inclusive não representam necessariamente a posição oficial da Atena Editora. Permitido o *download* da obra e o compartilhamento desde que sejam atribuídos créditos aos autores, mas sem a possibilidade de alterá-la de nenhuma forma ou utilizá-la para fins comerciais.

Todos os manuscritos foram previamente submetidos à avaliação cega pelos pares, membros do Conselho Editorial desta Editora, tendo sido aprovados para a publicação.

A Atena Editora é comprometida em garantir a integridade editorial em todas as etapas do processo de publicação. Situações suspeitas de má conduta científica serão investigadas sob o mais alto padrão de rigor acadêmico e ético.

Conselho Editorial

Ciências Humanas e Sociais Aplicadas

Prof. Dr. Alexandre Jose Schumacher – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná

Prof. Dr. Américo Junior Nunes da Silva – Universidade do Estado da Bahia

Prof. Dr. Antonio Carlos Frasson – Universidade Tecnológica Federal do Paraná

Prof. Dr. Antonio Gasparetto Júnior – Instituto Federal do Sudeste de Minas Gerais

Prof. Dr. Antonio Isidro-Filho – Universidade de Brasília

Prof. Dr. Carlos Antonio de Souza Moraes – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Cristina Gaio – Universidade de Lisboa
Prof. Dr. Daniel Richard Sant’Ana – Universidade de Brasília
Prof. Dr. Deyvison de Lima Oliveira – Universidade Federal de Rondônia
Profª Drª Dilma Antunes Silva – Universidade Federal de São Paulo
Prof. Dr. Edvaldo Antunes de Farias – Universidade Estácio de Sá
Prof. Dr. Elson Ferreira Costa – Universidade do Estado do Pará
Prof. Dr. Eloi Martins Senhora – Universidade Federal de Roraima
Prof. Dr. Gustavo Henrique Cepolini Ferreira – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Ivone Goulart Lopes – Istituto Internazionele delle Figlie de Maria Ausiliatrice
Prof. Dr. Jadson Correia de Oliveira – Universidade Católica do Salvador
Prof. Dr. Julio Candido de Meirelles Junior – Universidade Federal Fluminense
Profª Drª Lina Maria Gonçalves – Universidade Federal do Tocantins
Prof. Dr. Luis Ricardo Fernandes da Costa – Universidade Estadual de Montes Claros
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Marcelo Pereira da Silva – Pontifícia Universidade Católica de Campinas
Profª Drª Maria Luzia da Silva Santana – Universidade Federal de Mato Grosso do Sul
Profª Drª Paola Andressa Scortegagna – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Rita de Cássia da Silva Oliveira – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof. Dr. Rui Maia Diamantino – Universidade Salvador
Prof. Dr. Urandi João Rodrigues Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Profª Drª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. William Cleber Domingues Silva – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Willian Douglas Guilherme – Universidade Federal do Tocantins

Ciências Agrárias e Multidisciplinar

Prof. Dr. Alexandre Igor Azevedo Pereira – Instituto Federal Goiano
Profª Drª Carla Cristina Bauermann Brasil – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Antonio Pasqualetto – Pontifícia Universidade Católica de Goiás
Prof. Dr. Cleberton Correia Santos – Universidade Federal da Grande Dourados
Profª Drª Daiane Garabeli Trojan – Universidade Norte do Paraná
Profª Drª Diocléa Almeida Seabra Silva – Universidade Federal Rural da Amazônia
Prof. Dr. Écio Souza Diniz – Universidade Federal de Viçosa
Prof. Dr. Fábio Steiner – Universidade Estadual de Mato Grosso do Sul
Prof. Dr. Fágner Cavalcante Patrocínio dos Santos – Universidade Federal do Ceará
Profª Drª Girlene Santos de Souza – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof. Dr. Jael Soares Batista – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Júlio César Ribeiro – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Profª Drª Lina Raquel Santos Araújo – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Pedro Manuel Villa – Universidade Federal de Viçosa
Profª Drª Raissa Rachel Salustriano da Silva Matos – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Ronilson Freitas de Souza – Universidade do Estado do Pará
Profª Drª Talita de Santos Matos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Tiago da Silva Teófilo – Universidade Federal Rural do Semi-Árido
Prof. Dr. Valdemar Antonio Paffaro Junior – Universidade Federal de Alfenas

Ciências Biológicas e da Saúde

Prof. Dr. André Ribeiro da Silva – Universidade de Brasília
Prof^ª Dr^ª Anelise Levay Murari – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Benedito Rodrigues da Silva Neto – Universidade Federal de Goiás
Prof^ª Dr^ª Débora Luana Ribeiro Pessoa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Douglas Siqueira de Almeida Chaves -Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Edson da Silva – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri
Prof^ª Dr^ª Eleuza Rodrigues Machado – Faculdade Anhanguera de Brasília
Prof^ª Dr^ª Elane Schwinden Prudêncio – Universidade Federal de Santa Catarina
Prof^ª Dr^ª Eysler Gonçalves Maia Brasil – Universidade da Integração Internacional da Lusofonia Afro-Brasileira
Prof. Dr. Ferlando Lima Santos – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^ª Dr^ª Gabriela Vieira do Amaral – Universidade de Vassouras
Prof. Dr. Gianfábio Pimentel Franco – Universidade Federal de Santa Maria
Prof. Dr. Helio Franklin Rodrigues de Almeida – Universidade Federal de Rondônia
Prof^ª Dr^ª Iara Lúcia Tescarollo – Universidade São Francisco
Prof. Dr. Igor Luiz Vieira de Lima Santos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Jefferson Thiago Souza – Universidade Estadual do Ceará
Prof. Dr. Jesus Rodrigues Lemos – Universidade Federal do Piauí
Prof. Dr. Jônatas de França Barros – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. José Max Barbosa de Oliveira Junior – Universidade Federal do Oeste do Pará
Prof. Dr. Luís Paulo Souza e Souza – Universidade Federal do Amazonas
Prof^ª Dr^ª Magnólia de Araújo Campos – Universidade Federal de Campina Grande
Prof. Dr. Marcus Fernando da Silva Praxedes – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia
Prof^ª Dr^ª Maria Tatiane Gonçalves Sá – Universidade do Estado do Pará
Prof^ª Dr^ª Mylena Andréa Oliveira Torres – Universidade Ceuma
Prof^ª Dr^ª Natiéli Piovesan – Instituto Federaci do Rio Grande do Norte
Prof. Dr. Paulo Inada – Universidade Estadual de Maringá
Prof. Dr. Rafael Henrique Silva – Hospital Universitário da Universidade Federal da Grande Dourados
Prof^ª Dr^ª Regiane Luz Carvalho – Centro Universitário das Faculdades Associadas de Ensino
Prof^ª Dr^ª Renata Mendes de Freitas – Universidade Federal de Juiz de Fora
Prof^ª Dr^ª Vanessa Lima Gonçalves – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Prof^ª Dr^ª Vanessa Bordin Viera – Universidade Federal de Campina Grande

Ciências Exatas e da Terra e Engenharias

Prof. Dr. Adélio Alcino Sampaio Castro Machado – Universidade do Porto
Prof. Dr. Carlos Eduardo Sanches de Andrade – Universidade Federal de Goiás
Prof^ª Dr^ª Carmen Lúcia Voigt – Universidade Norte do Paraná
Prof. Dr. Douglas Gonçalves da Silva – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia
Prof. Dr. Eloi Rufato Junior – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Prof^ª Dr^ª Érica de Melo Azevedo – Instituto Federal do Rio de Janeiro
Prof. Dr. Fabrício Menezes Ramos – Instituto Federal do Pará
Prof^ª Dr. Jéssica Verger Nardeli – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho
Prof. Dr. Juliano Carlo Rufino de Freitas – Universidade Federal de Campina Grande
Prof^ª Dr^ª Luciana do Nascimento Mendes – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio Grande do Norte

Prof. Dr. Marcelo Marques – Universidade Estadual de Maringá
Profª Drª Neiva Maria de Almeida – Universidade Federal da Paraíba
Profª Drª Natiéli Piovesan – Instituto Federal do Rio Grande do Norte
Profª Drª Priscila Tessmer Scaglioni – Universidade Federal de Pelotas
Prof. Dr. Takeshy Tachizawa – Faculdade de Campo Limpo Paulista

Linguística, Letras e Artes

Profª Drª Adriana Demite Stephani – Universidade Federal do Tocantins
Profª Drª Angeli Rose do Nascimento – Universidade Federal do Estado do Rio de Janeiro
Profª Drª Carolina Fernandes da Silva Mandaji – Universidade Tecnológica Federal do Paraná
Profª Drª Denise Rocha – Universidade Federal do Ceará
Prof. Dr. Fabiano Tadeu Grazioli – Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões
Prof. Dr. Gilmei Fleck – Universidade Estadual do Oeste do Paraná
Profª Drª Keyla Christina Almeida Portela – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Paraná
Profª Drª Miranilde Oliveira Neves – Instituto de Educação, Ciência e Tecnologia do Pará
Profª Drª Sandra Regina Gardacho Pietrobon – Universidade Estadual do Centro-Oeste
Profª Drª Sheila Marta Carregosa Rocha – Universidade do Estado da Bahia

Conselho Técnico Científico

Prof. Me. Abrãao Carvalho Nogueira – Universidade Federal do Espírito Santo
Prof. Me. Adalberto Zorzo – Centro Estadual de Educação Tecnológica Paula Souza
Prof. Dr. Adailson Wagner Sousa de Vasconcelos – Ordem dos Advogados do Brasil/Seccional Paraíba
Prof. Dr. Adilson Tadeu Basquerote Silva – Universidade para o Desenvolvimento do Alto Vale do Itajaí
Prof. Me. Alexsandro Teixeira Ribeiro – Centro Universitário Internacional
Prof. Me. André Flávio Gonçalves Silva – Universidade Federal do Maranhão
Profª Ma. Andréa Cristina Marques de Araújo – Universidade Fernando Pessoa
Profª Drª Andreza Lopes – Instituto de Pesquisa e Desenvolvimento Acadêmico
Profª Drª Andrezza Miguel da Silva – Faculdade da Amazônia
Profª Ma. Anelisa Mota Gregoleti – Universidade Estadual de Maringá
Profª Ma. Anne Karynne da Silva Barbosa – Universidade Federal do Maranhão
Prof. Dr. Antonio Hot Pereira de Faria – Polícia Militar de Minas Gerais
Prof. Me. Armando Dias Duarte – Universidade Federal de Pernambuco
Profª Ma. Bianca Camargo Martins – UniCesumar
Profª Ma. Carolina Shimomura Nanya – Universidade Federal de São Carlos
Prof. Me. Carlos Antônio dos Santos – Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro
Prof. Ma. Cláudia de Araújo Marques – Faculdade de Música do Espírito Santo
Profª Drª Cláudia Taís Siqueira Cagliariari – Centro Universitário Dinâmica das Cataratas
Prof. Me. Clécio Danilo Dias da Silva – Universidade Federal do Rio Grande do Norte
Prof. Me. Daniel da Silva Miranda – Universidade Federal do Pará
Profª Ma. Daniela da Silva Rodrigues – Universidade de Brasília
Profª Ma. Daniela Remião de Macedo – Universidade de Lisboa
Profª Ma. Dayane de Melo Barros – Universidade Federal de Pernambuco
Prof. Me. Douglas Santos Mezacas – Universidade Estadual de Goiás

Prof. Me. Edevaldo de Castro Monteiro – Embrapa Agrobiologia
Prof. Me. Eduardo Gomes de Oliveira – Faculdades Unificadas Doctum de Cataguases
Prof. Me. Eduardo Henrique Ferreira – Faculdade Pitágoras de Londrina
Prof. Dr. Edwaldo Costa – Marinha do Brasil
Prof. Me. Eliel Constantino da Silva – Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Prof. Me. Ernane Rosa Martins – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de Goiás
Prof. Me. Euvaldo de Sousa Costa Junior – Prefeitura Municipal de São João do Piauí
Profª Ma. Fabiana Coelho Couto Rocha Corrêa – Centro Universitário Estácio Juiz de Fora
Prof. Me. Felipe da Costa Negrão – Universidade Federal do Amazonas
Profª Drª Germana Ponce de Leon Ramírez – Centro Universitário Adventista de São Paulo
Prof. Me. Gevair Campos – Instituto Mineiro de Agropecuária
Prof. Me. Givanildo de Oliveira Santos – Secretaria da Educação de Goiás
Prof. Dr. Guilherme Renato Gomes – Universidade Norte do Paraná
Prof. Me. Gustavo Krahl – Universidade do Oeste de Santa Catarina
Prof. Me. Helton Rangel Coutinho Junior – Tribunal de Justiça do Estado do Rio de Janeiro
Profª Ma. Isabelle Cerqueira Sousa – Universidade de Fortaleza
Profª Ma. Jaqueline Oliveira Rezende – Universidade Federal de Uberlândia
Prof. Me. Javier Antonio Alborno – University of Miami and Miami Dade College
Prof. Me. Jhonatan da Silva Lima – Universidade Federal do Pará
Prof. Dr. José Carlos da Silva Mendes – Instituto de Psicologia Cognitiva, Desenvolvimento Humano e Social
Prof. Me. Jose Elyton Batista dos Santos – Universidade Federal de Sergipe
Prof. Me. José Luiz Leonardo de Araujo Pimenta – Instituto Nacional de Investigación Agropecuaria Uruguay
Prof. Me. José Messias Ribeiro Júnior – Instituto Federal de Educação Tecnológica de Pernambuco
Profª Drª Juliana Santana de Curcio – Universidade Federal de Goiás
Profª Ma. Juliana Thaisa Rodrigues Pacheco – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Drª Kamilly Souza do Vale – Núcleo de Pesquisas Fenomenológicas/UFPA
Prof. Dr. Kárpio Márcio de Siqueira – Universidade do Estado da Bahia
Profª Drª Karina de Araújo Dias – Prefeitura Municipal de Florianópolis
Prof. Dr. Lázaro Castro Silva Nascimento – Laboratório de Fenomenologia & Subjetividade/UFPR
Prof. Me. Leonardo Tullio – Universidade Estadual de Ponta Grossa
Profª Ma. Lillian Coelho de Freitas – Instituto Federal do Pará
Profª Ma. Liliani Aparecida Sereno Fontes de Medeiros – Consórcio CEDERJ
Profª Drª Lívia do Carmo Silva – Universidade Federal de Goiás
Prof. Dr. Lucio Marques Vieira Souza – Secretaria de Estado da Educação, do Esporte e da Cultura de Sergipe
Prof. Me. Luis Henrique Almeida Castro – Universidade Federal da Grande Dourados
Prof. Dr. Luan Vinicius Bernardelli – Universidade Estadual do Paraná
Prof. Dr. Michel da Costa – Universidade Metropolitana de Santos
Prof. Dr. Marcelo Máximo Purificação – Fundação Integrada Municipal de Ensino Superior

Prof. Me. Marcos Aurelio Alves e Silva – Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia de São Paulo

Profª Ma. Maria Elanny Damasceno Silva – Universidade Federal do Ceará

Profª Ma. Marileila Marques Toledo – Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri

Prof. Me. Ricardo Sérgio da Silva – Universidade Federal de Pernambuco

Profª Ma. Renata Luciane Polsaque Young Blood – UniSecal

Prof. Me. Robson Lucas Soares da Silva – Universidade Federal da Paraíba

Prof. Me. Sebastião André Barbosa Junior – Universidade Federal Rural de Pernambuco

Profª Ma. Silene Ribeiro Miranda Barbosa – Consultoria Brasileira de Ensino, Pesquisa e Extensão

Profª Ma. Solange Aparecida de Souza Monteiro – Instituto Federal de São Paulo

Prof. Me. Tallys Newton Fernandes de Matos – Faculdade Regional Jaguaribana

Profª Ma. Thatianny Jasmine Castro Martins de Carvalho – Universidade Federal do Piauí

Prof. Me. Tiago Silvio Dedoné – Colégio ECEL Positivo

Prof. Dr. Welleson Feitosa Gazel – Universidade Paulista

Desenvolvimento e transferência de tecnologia na engenharia química

Editora Chefe: Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Bibliotecária: Janaina Ramos
Diagramação: Luiza Alves Batista
Correção: Giovanna Sandrini de Azevedo
Edição de Arte: Luiza Alves Batista
Revisão: Os Autores
Organizadora: Érica de Melo Azevedo

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

D451 Desenvolvimento e transferência de tecnologia na engenharia química / Organizadora Érica de Melo Azevedo. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2020.

Formato: PDF

Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader

Modo de acesso: World Wide Web

Inclui bibliografia

ISBN 978-65-5706-606-5

DOI 10.22533/at.ed.065200912

1. Engenharia química. I. Azevedo, Érica de Melo (Organizadora). II. Título.

CDD 660

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora

Ponta Grossa – Paraná – Brasil

Telefone: +55 (42) 3323-5493

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DOS AUTORES

Os autores desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao artigo científico publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que os artigos científicos publicados estão completamente isentos de dados e/ou resultados fraudulentos.

APRESENTAÇÃO

A publicação de e-books no Brasil é uma importante ferramenta para a divulgação científica e a valorização das pesquisas e pode ajudar a desenvolver uma relação mais próxima entre a Academia e a Indústria. O presente livro mostra aspectos da pesquisa e transferência de tecnologia na engenharia química e suas áreas correlatas. Diversas patentes, materiais e equipamentos vêm sendo desenvolvidos buscando a melhora na qualidade de vida humana, na qualidade dos produtos consumidos e melhora ambiental e queremos mostrar estes trabalhos. O livro “Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia na Engenharia Química” apresenta artigos na área de processos químicos, tecnologia química e ensino de química.

O e-book contém 8 capítulos, que abordam temas como biotecnologia; hidrólise enzimática; extração de lipídeos a partir de microalgas; síntese de materiais adsorventes a partir de resíduos; preparação de materiais para a remoção de contaminantes; formulações de combustíveis; formulação alimentar com adição de resíduo agroindustrial e produção de anti-incrustantes a partir de surfactantes naturais.

Os objetivos principais do presente livro são apresentar aos leitores diferentes aspectos do conhecimento científico na área de Engenharia Química, abordando conceitos de desenvolvimento e transferência de Tecnologia. Os artigos da coleção podem ser utilizados para o desenvolvimento de projetos de pesquisa, para o ensino dos temas abordados e até mesmo para a atualização do estado da arte nas áreas de tecnologia química, engenharia química e engenharia de bioprocessos.

Após esta apresentação, convido os leitores a apreciarem e consultarem, sempre que necessário, a obra “Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia na Engenharia Química”. Desejo uma excelente leitura!

Érica de Melo Azevedo

SUMÁRIO

CAPÍTULO 1..... 1

POTENCIAL APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DO SORO DO QUEIJO NA PRODUÇÃO DE PRODUTOS DE VALOR AGREGADO

Paula Valéria Viotti
Wardleison Martins Moreira
Mara Heloisa Neves Olsen Scaliante
Marcelo Fernandes Vieira

DOI 10.22533/at.ed.0652009121

CAPÍTULO 2..... 10

MODELAGEM DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOETANOL EM DYNETICA UTILIZANDO ROTA METABÓLICA SIMPLIFICADA

Matheus Yuri Gritzenco de Giovanni
Renam Luis Acorsi
Cid Marcos Gonçalves Andrade
José Eduardo Olivo

DOI 10.22533/at.ed.0652009122

CAPÍTULO 3..... 20

ESTUDO DE TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS DE ALGAS

Carla Veronica Rodarte de Moura
Daiane Fossatti Dall'Oglio
Edmilson Miranda de Moura

DOI 10.22533/at.ed.0652009123

CAPÍTULO 4..... 42

ALTERNATIVE ROUTE TO SYNTHESIZE A BIOPHENOLIC RESIN FROM TANNIN AND KRAFT BLACK LIQUOR AND ITS APPLICATION AS AN ADSORBENT MATERIAL

Wardleison Martins Moreira
Paula Valéria Viotti
Marcelo Fernandes Vieira
Cristina Maria dos Santos Gaudêncio Baptista
Mara Heloisa Neves Olsen Scaliante
Marcelino Luiz Gimenes

DOI 10.22533/at.ed.0652009124

CAPÍTULO 5..... 53

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO EMPREGO DE ÁLCOOIS COMO AGENTE ESTABILIZANTE EM MISTURAS BIO-ÓLEO PIROLÍTICO/DIESEL

Wendell Ferreira de La Salles
Kátia Simone Teixeira da Silva de La Salles
Larissa Machado de Assis
Jullyane Cunha Moreira

DOI 10.22533/at.ed.0652009125

| | |
|---|------------|
| CAPÍTULO 6 | 61 |
| PREPARAÇÃO DE HIDROGÉIS A BASE DE GLICEROL PARA REMOÇÃO DE CONTAMINANTES DE ÁGUAS RESIDUAIS | |
| Bárbara Brígida Pinho de Lima | |
| Wesley Renato Viali | |
| Eloiza da Silva Nunes Viali | |
| DOI 10.22533/at.ed.0652009126 | |
| CAPÍTULO 7 | 67 |
| ELABORAÇÃO E ANÁLISE DE CHOCOLATE ENRIQUECIDO COM FARINHA DE CAROÇO DE JACA | |
| Matheus Henrique Nascimento Goes | |
| Janclei Pereira Coutinho | |
| Fábio Alan Carqueija Amorim | |
| Julia Carneiro Romero | |
| DOI 10.22533/at.ed.0652009127 | |
| CAPÍTULO 8 | 87 |
| FORMULAÇÃO DE MATRIZES ANTI-INCRUSTANTES UTILIZANDO SURFACTANTES NATURAIS | |
| Anderson Oliveira de Medeiros | |
| Maria da Gloria Conceição da Silva | |
| Leonie Asfora Sarubbo | |
| DOI 10.22533/at.ed.0652009128 | |
| SOBRE A ORGANIZADORA | 100 |
| ÍNDICE REMISSIVO | 101 |

CAPÍTULO 1

POTENCIAL APLICAÇÃO BIOTECNOLÓGICA DO SORO DO QUEIJO NA PRODUÇÃO DE PRODUTOS DE VALOR AGREGADO

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 20/10/2020

Paula Valéria Viotti

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Engenharia Química
Maringá – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/7992797102020500>

Wardleison Martins Moreira

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Tecnologia
Umuarama – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/6242841033608759>

Mara Heloisa Neves Olsen Scaliante

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Engenharia Química
Maringá – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/1552509852504841>

Marcelo Fernandes Vieira

Universidade Estadual de Maringá,
Departamento de Engenharia Química
Maringá – Paraná
<http://lattes.cnpq.br/5654735215017528>

RESUMO: As indústrias de processamento de alimentos, como laticínios e fábricas de processamento de queijo, geram grandes volumes de resíduos líquidos. O soro do queijo compõe a maior parte desse volume, sendo descartado, em sua maioria, diretamente nos corpos hídricos sem nenhum tipo de tratamento. Uma vez que o soro apresenta

elevada disponibilidade e qualidades nutricionais interessantes, é possível, por meio de processos biotecnológicos, transformá-lo em produtos de maior valor agregado e com características específicas. Este trabalho apresenta um breve referencial teórico sobre o soro do queijo e sua potencial aplicação para fins alimentícios. A hidrólise enzimática das proteínas do soro do queijo se mostra como um processo de fácil operação, de elevada especificidade e que atua sob condições menos agressivas quando comparada a hidrólise química.

PALAVRAS-CHAVE: Proteólise, Soro do queijo, Hidrólise enzimática, Processos biotecnológicos.

POTENTIAL BIOTECHNOLOGICAL APPLICATION OF CHEESE WHEY IN THE PRODUCTION OF VALUE-ADDED PRODUCTS

ABSTRACT: Food industries, such as dairy and cheese processing mills, generate large volumes of liquid waste. Cheese whey makes up most of the generated liquid waste, being mostly discarded directly into water bodies without any treatment. Since the whey has high availability and interesting nutritional qualities, it is possible to use the biotechnological processes to transform it into products with specific characteristics and add value to the waste. Therefore, this work presents a brief bibliographic review about cheese whey and its potential application for food purposes. The enzymatic hydrolysis of the whey protein from cheese is shown as an easy operation and highly specific process, which acts under less aggressive conditions when compared to chemical hydrolysis.

KEYWORDS: Proteolysis, Cheese whey, Enzymatic hydrolysis, Biotechnological processes.

1 | INTRODUÇÃO

O soro de queijo é um subproduto produzido em grande quantidade pela indústria de laticínios, sendo considerado um grande poluente ambiental devido à sua elevada carga orgânica. Apesar de o soro ser considerado um subproduto, ele possui características interessantes inerentes à sua composição. Muitas pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de explorar essas características e transformar o soro em produtos de valor agregado, como soro de leite em pó, proteína de soro de leite, bioetanol e probióticos. Contudo, dos 180 milhões de toneladas produzidas ao ano, apenas cerca de 50% do volume de soro é convertido nessa biotransformação (YADAV et al., 2015; PANGHAL et al., 2018).

Com o intuito de agregar valor ao soro, as proteínas que constituem esse subproduto, tem chamado a atenção devido às suas diversas propriedades de interesse. As proteínas do soro são altamente digeríveis e contém elevado teor de aminoácidos essenciais (não produzidos pelo organismo). Ademais, possuem peptídeos com propriedades bioativas capazes de modular efeitos fisiológicos no corpo humano, como modulação imunológica, propriedades antioxidantes, antivirais, antibacteriana e antifúngica. Logo, a hidrólise das proteínas do soro pode e deve ser utilizada para fins terapêuticos (ALMEIDA et al., 2013; CARVALHO et al., 2013).

Em relação à hidrólise química, a hidrólise enzimática se destaca pelo elevado controle reacional e produção de hidrolisados específicos. Pequenos peptídeos, tais como di e tri-peptídeos são mais bem absorvidos pelo organismo quando comparados com as proteínas intactas e aminoácidos livres, constituindo em um maior valor nutricional.

2 | SORO DO QUEIJO

O soro é o líquido remanescente da coagulação da caseína presente no leite durante a produção do queijo (PRAZERES et al., 2012; YADAV et al., 2015). É um subproduto de cor amarelo-esverdeado que retém aproximadamente 55% dos nutrientes presentes no leite e corresponde a 85 – 95% do volume de leite utilizado no processo de fabricação do queijo, de forma a ser o principal resíduo do processo (SISO, 1996).

O queijo é um dos principais produtos agrícolas do mundo, sendo a União Europeia e os Estados Unidos os principais produtores. A cada 1 kg de queijo produzido, cerca de 9 kg de soro de queijo são gerados. Dessa forma, estima-se que a produção de soro gire em torno de 180 a 190 milhões de toneladas por ano, seguindo uma perspectiva de aumento de 2% ao ano (YADAV et al., 2015; PANGHAL et al., 2018).

Nos países ocidentais, o soro é produzido principalmente a partir do leite bovino. Contudo, o leite de cabra, ovelha e búfalo também são bastante utilizados. As características

do soro gerado são bastante dependentes do tipo de leite empregado no processo, e ainda podem variar de acordo com raça, saúde, alimentação e estágio de lactação animal (PRAZERES et al., 2012).

Duas principais variedades de soro podem ser obtidas de acordo com o método de precipitação da caseína utilizado. O soro ácido ($\text{pH} < 5$) resulta da precipitação ácida no pH isoeletrico da caseína (4,6), e o soro doce ($\text{pH} 6 - 7$) é obtido pela precipitação por meio de enzimas proteolíticas (quimosina) (AQUARONE et al., 2001). De maneira geral, o soro ácido apresenta maior teor de cinzas e menor teor de proteínas, de modo que seu uso na alimentação é mais limitado devido ao sabor ácido e conteúdo salino (SISO, 1996).

Sendo um efluente rico em nutrientes, o soro é composto por cerca de 93% de água. Em base seca, é formado por 70% de lactose, 9% de proteínas, 8-20% de sais minerais e demais componentes como lipídeos, ácido láctico e bactérias, ácido láctico, ácido cítrico e vitaminas do grupo B (GUIMARAES et al., 2010; CARVALHO et al., 2013).

O soro é o principal subproduto da indústria de laticínios (KOUTINAS et al., 2009). A grande quantidade de carga orgânica presente, aliado ao seu grande volume gerado, representa um grande problema ambiental. Diante do exposto, fica claro que o soro de queijo não pode ser lançado em corpos receptores sem um tratamento adequado. Diante das propriedades nutritivas desse subproduto, a busca por tecnologias de transformação em produtos valorizados tem se intensificado. Contudo, apenas 50% do volume gerado é convertido em produtos de valor agregado (DIMITRELLOU *et al.*, 2017), como soro de leite em pó, proteína do soro do leite (*whey protein*), bioetanol (GUIMARAES et al., 2010; YOU et al., 2017), probióticos (PANESAR et al., 2013) e substâncias bioativas (LIU et al., 2018), de forma que uma grande quantidade ainda permanece inutilizada.

Nesse processo de valorização, o soro passa por dois procedimentos: um tratamento físico ou térmico, no qual é obtido o soro em pó, proteína do soro, proteína isolada do soro, lactose e outras frações, e um posterior tratamento biotecnológico, por meio de enzimas ou microorganismos, obtendo um produto de valor agregado (YADAV et al., 2015).

De acordo com Panghal et al. (2018), a valorização do soro por meio de diferentes tecnologias em variados produtos é um aspecto importante no desenvolvimento da sustentabilidade em suas múltiplas dimensões (ambiental, econômica e social). Estes produtos e métodos utilizados demonstraram ser tecnicamente alcançáveis. Contudo, há uma busca por tornar o processo mais economicamente viável.

2.1 Proteínas do Soro

O soro é atualmente um popular suplemento dietético de proteínas, pois, de um modo geral, possuem elevado valor funcional e nutricional. As proteínas do soro são altamente digeríveis, sendo rapidamente absorvidas pelo organismo, além de conter alto teor de aminoácidos essenciais, os quais necessitam ser obtidos exclusivamente pela alimentação, pois não são produzidos pelo organismo (SGARBIERI, 2004; ALMEIDA, et al.,

2013). Por possuírem peptídeos com propriedades bioativas capazes de modular efeitos fisiológicos no corpo humano, o processamento das proteínas do soro também pode ser usado para fins terapêuticos (CARVALHO et al., 2013).

As proteínas do soro apresentam estrutura globular contendo algumas pontes dissulfeto que lhes conferem estabilidade estrutural. São compostas de 70 a 80% por β -lactoglobulina e α -lactalbumina, e o restante por soro albumina bovino, imunoglobulina, lactoferrina, lactoperoxidase e glicomacropéptídeos. A Tabela 1 ilustra a composição das proteínas do soro de leite bovino e seus principais benefícios.

| Componentes do soro | Composição (%) | Benefícios |
|--|-----------------------|---|
| β-lactoglobulina | 50 - 55 | Fonte de aminoácidos essenciais |
| α-lactalbumina | 20 - 25 | Proteína primária encontrada no leite materno; Fonte de aminoácidos essenciais |
| Imunoglobulina | 10 - 15 | Proteína primária encontrada no colostro; Modulação imunológica |
| Soro albumina bovino | 5 - 10 | Fonte de aminoácidos essenciais |
| Glicomacropéptídeos | 10 - 15 | Não possui aminoácidos aromáticos |
| Lactoferrina | 1 - 2 | Propriedades antioxidante, antiviral, antibacteriana e antifúngica; Promove crescimento de bactérias benéficas |
| Lactoperoxidase | 0,5 | Propriedade antibacteriana |

Tabela 1 – Componentes do soro de leite bovino e principais benefícios.

Fonte: Adaptado de Marshall (2004).

Apesar do grande número de pesquisas relacionadas aos efeitos fisiológicos benéficos das proteínas do soro, o conhecimento sobre esses mecanismos é muito limitado. Ainda há um longo caminho a percorrer no que tange à ação dessas proteínas e das quantidades a serem ingeridas para promover tais benefícios (SGARBIERI, 2004).

2.2 Hidrolisado proteico para fenilcetonúricos

A fenilcetonúria (PKU) caracteriza-se pela mutação genética no cromossomo 12q22-q24, herdado de forma autossômica recessiva (VALLIAN et al., 2003). Essa mutação consiste na ausência ou redução da atividade da enzima hepática fenilalanina hidroxilase, levando a inibição da conversão do aminoácido fenilalanina (Phe) em tirosina (Tyr), acarretando em níveis perigosos de Phe no sangue (VALLIAN et al., 2003; CAMP et al., 2014).

Atualmente, pacientes com PKU, também chamados de fenilcetonúricos, precisam de uma dieta rigorosa ao longo da vida, de modo a necessitarem de suplementação

adicional e restringir a Phe da proteína natural (produtos lácteos, ovos, carne e peixe) à quantidade necessária para manter as concentrações sanguíneas de Phe na faixa de tratamento desejada, fornecendo a quantidade necessária para o crescimento corporal e desenvolvimento e manutenção das funções biológicas (CAMP et al., 2014; SIRIN et al., 2016).

A suplementação, geralmente, são misturas de aminoácidos ou hidrolisados que são advindos de fórmulas industrializadas de acordo com a faixa etária do paciente (seguindo as recomendações vigentes da ANVISA para pessoas normais) ou do próprio leite materno, que possui menor nível de Phe que as fórmulas e benefícios imunológicos. As fórmulas encontradas são misturas de aminoácidos sintéticos e podem ser acrescidos de carboidratos, gorduras, vitaminas e minerais (MIRA e MARQUEZ, 2000).

As misturas de aminoácidos livres podem ser um problema na terapia dietética de fenilcetonúricos. Além de possuírem odor e paladar desagradáveis, devem ser consumidas em grandes quantidades (DOS SANTOS et al., 2006), e a ingestão, se feita em dose única diária, pode resultar em náuseas, vômitos, tonturas, diarreia e também causam hiperosmolaridade no trato gastrointestinal, resultando em absorção ineficiente pelo organismo (MIRA e MARQUEZ, 2000).

Os hidrolisados proteicos podem ser uma saída frente às opções tão limitadas, pois melhoram as características nutricionais das proteínas e dos aminoácidos livres, além de melhorar suas propriedades organolépticas. Eles podem ser obtidos por meio da hidrólise química (ácida ou alcalina) ou enzimática. Contudo, a hidrólise química ocorre em condições químicas drásticas e hidrolisam ligações peptídicas em locais inespecíficos, resultando em um perfil variável de peptídeos e aminoácidos. A hidrólise enzimática ocorre em condições brandas de operação e resulta em perfil peptídico de composição bem definida (MIRA e MARQUEZ, 2000; TAVANO, 2013).

2.3 Hidrólise enzimática das proteínas do soro

O uso de hidrolisados proteicos, devido às suas propriedades na nutrição humana, tem chamado cada vez mais atenção das indústrias. A hidrólise enzimática é uma abordagem capaz de produzir modificações específicas e seletivas da proteína, produzindo hidrolisados com diversas propriedades funcionais (AGUILAR e SATO, 2018).

Na hidrólise enzimática, as proteínas são quebradas em peptídeos de diferentes tamanhos e aminoácidos livres. De um modo geral, a reação ocorre sob condições brandas de operação, pH entre 6 e 8 e temperaturas entre 40 e 60 °C (CLEMENTE, 2000).

A hidrólise de proteínas alimentares, principalmente a formação de oligopeptídeos (di e tri-peptídeos), pode melhorar as características nutricionais, pois são mais bem absorvidos pelo organismo, evitando diarreia osmótica causada pela ingestão de aminoácidos livres (CLEMENTE, 2000). Ademais, hidrolisados proteicos podem melhorar as características sensoriais, devido à posterior remoção de aminoácidos aromáticos que conferem sabor

amargo (PINTO et al., 2008), além de serem economicamente mais viáveis que misturas de aminoácidos sintéticos usadas no Brasil. As propriedades físicas dos produtos podem ser de grande utilidade para a indústria no preparo de alimentos para a indústria, visto que, além de serem nutritivos, são praticamente inodoros e fornecem uma base adequada para adição de sabores e aromas, agregando valor no produto final (MIRA e MARQUEZ, 2000).

A hidrólise enzimática do soro é comum para reduzir a alergenicidade de proteínas por clivagem das regiões antigênicas (ROCHA et al., 2011; PESSATO et al., 2016; MAO e KULOZIK, 2018), produzir peptídeos bioativos (ROCHA et al., 2011), bem como hidrolisados específicos para dietas terapêuticas. Um hidrolisado protéico com teor mínimo ou reduzido de Phe pode ser uma opção de menor custo, mais palatável e de melhor valor nutricional aos fenilcetonúricos, cuja dieta é extremamente restrita quanto à ingestão de proteínas.

Dessa forma, fica clara a importância do desenvolvimento tecnológico quanto à produção de hidrolisados com as características acima mencionadas, pois as especificidades do produto dependem da proteína do substrato, das enzimas utilizadas na reação, do grau de hidrólise e das condições de reação. Diversos pesquisadores têm utilizado a hidrólise enzimática das proteínas do soro (SILVA et al., 2007; ROCHA et al., 2011; SILVESTRE et al., 2013; SILVA et al., 2015; BASSAN et al., 2016; PESSATO et al., 2016) a fim de produzir hidrolisados proteicos com diversas especificidades, inclusive para fenilcetonúricos (TARDIOLI et al., 2003; CABRERA-PADILLA et al., 2009; GALVÃO et al., 2009).

3 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A hidrólise do soro do queijo tem crescido nos últimos anos na tentativa de não só dar um destino adequado ao efluente, mas também agregar valor a esse subproduto. Muitos estudos sobre a hidrólise das proteínas do soro têm sido realizados em diversos âmbitos e áreas do conhecimento, de forma a explorar cada vez mais as suas propriedades.

A hidrólise enzimática das proteínas do soro tem se mostrado uma alternativa viável industrialmente, visto que é possível a obtenção de produtos de valor agregado e com características nutricionais específicas, sob condições brandas de operação, a partir de um resíduo industrial de elevada disponibilidade.

REFERÊNCIAS

AGUILAR, J. G. D.; SATO, H. H. Microbial proteases: Production and application in obtaining protein hydrolysates. **Food Research International**, v. 103, p. 253-262, 2018.

AQUARONE, E. et al. **Biociencia Industrial**. v. 4. São Paulo: Blucher, 2001.

ALMEIDA, C. C. et al. Proteína do soro do leite: composição e suas propriedades funcionais / Whey protein: composition and functional properties. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 16, p. 1840-1854, 2013.

BASSAN, J. C. et al. Immobilization of Trypsin in Lignocellulosic Waste Material to Produce Peptides with Bioactive Potential from Whey Protein. **Materials**, v. 9, n. 5, 2016.

CABRERA-PADILLA, R. Y. et al. A new conception of enzymatic membrane reactor for the production of whey hydrolysates with low contents of phenylalanine. **Process Biochemistry**, v. 44, n. 3, p. 269-276, 2009.

CAMP, K. M. et al. Phenylketonuria Scientific Review Conference: State of the science and future research needs. **Molecular Genetics and Metabolism**, v. 112, n. 2, p. 87-122, 2014.

CARVALHO, F.; PRAZERES, A. R.; RIVAS, J. Cheese whey wastewater: Characterization and treatment. **Science of the Total Environment**, v. 445, p. 385-396, 2013.

CLEMENTE, A. Enzymatic protein hydrolysates in human nutrition. **Trends in Food Science & Technology**, v. 11, n. 7, p. 254-262, 2000.

DIMITRELLOU, D. et al. Novel probiotic whey cheese with immobilized lactobacilli on casein. **Lwt-Food Science and Technology**, v. 86, p. 627-634, 2017.

DOS SANTOS, L. L. et al. The time has come: a new scene for PKU treatment. **Genetics and Molecular Research**, v. 5, n. 1, p. 33-44, 2006.

GALVAO, C. M. A. et al. Producing a phenylalanine-free pool of peptides after tailored enzymatic hydrolysis of cheese whey. **Journal of Food Engineering**, v. 91, n. 1, p. 109-117, 2009.

GUIMARAES, P. M. R.; TEIXEIRA, J. A.; DOMINGUES, L. Fermentation of lactose to bio ethanol by yeasts as part of integrated solutions for the valorisation of cheese whey. **Biotechnology Advances**, v. 28, n. 3, p. 375-384, 2010.

KOUTINAS, A. A. et al. Whey valorisation: A complete and novel technology development for dairy industry starter culture production. **Bioresource Technology**, v. 100, n. 15, p. 3734-3739, 2009.

LIU, H. Y. et al. Effect of polyethyleneimine modified graphene on the mechanical and water vapor barrier properties of methyl cellulose composite films. **Carbohydrate Polymers**, v. 182, p. 52-60, 2018.

MAO, Y. H.; KULOZIK, U. Selective hydrolysis of whey proteins using a flow-through monolithic reactor with large pore size and immobilised trypsin. **International Dairy Journal**, v. 85, p. 96-104, 2018.

MARSHALL, K. Therapeutic applications of whey protein. **Alternative Medicine Review**, v. 9, n. 2, p. 136-156, 2004.

MIRA, N. V. M. de; MARQUEZ, U. M. L. Importância do diagnóstico e tratamento da fenilcetonúria. **Rev. Saúde Pública**, v. 34, n. 1, p. 86-96, 2000.

PANESAR, P. S.; KUMARI, S.; PANESAR, R. Biotechnological approaches for the production of prebiotics and their potential applications. **Critical Reviews in Biotechnology**, v. 33, n. 4, p. 345-364, 2013.

PANGHAL, A. et al. Whey valorization: current options and future scenario - a critical review. **Nutrition & Food Science**, v. 48, n. 3, p. 520-535, 2018.

PESSATO, T. B. et al. Whey protein isolate hydrolysates obtained with free and immobilized Alcalase: Characterization and detection of residual allergens. **Food Research International**, v. 83, p. 112-120, 2016.

PINTO, G. A. et al. Amino acids yields during proteolysis catalyzed by carboxypeptidase A are strongly dependent on substrate pre-hydrolysis. **Biochemical Engineering Journal**, v. 39, n. 2, p. 328-337, 2008.

PRAZERES, A. R.; CARVALHO, F.; RIVAS, J. Cheese whey management: A review. **Journal of Environmental Management**, v. 110, p. 48-68, 2012.

ROCHA, C.; GONCALVES, M. P.; TEIXEIRA, J. A. Immobilization of trypsin on spent grains for whey protein hydrolysis. **Process Biochemistry**, v. 46, n. 2, p. 505-511, 2011.

SGARBIERI, V. C. Propriedades fisiológicas-funcionais das proteínas do soro de leite. **Revista de Nutrição**, v. 17, n. 4, p. 397-404, 2004.

SILVA, V. D. M. et al. Preparation of low-phenylalanine whey hydrolysates, using Papain and Pancreatin Immobilized on Activated Carbon and Alumina. **American Journal of Food Technology**, v. 2, n. 5, p.327-341, 2007.

SILVA, T. R. et al. Immobilization of trypsin onto poly(ethylene terephthalate)/poly(lactic acid) nonwoven nanofiber mats. **Biochemical Engineering Journal**, v. 104, p. 48-56, 2015.

SILVESTRE, M. P. C. et al. Hydrolysis degree, peptide profile and phenylalanine removal from whey protein concentrate hydrolysates obtained by various proteases. **International Journal of Food Science and Technology**, v. 48, p. 588-595, 2013.

SIRIN, S.; AYDAS, S. B.; ASLIM, B. Biochemical Evaluation of Phenylalanine Ammonia Lyase from Endemic Plant *Cyathobasis fruticulosa* (Bunge) Aellen. for the Dietary Treatment of Phenylketonuria. **Food Technology and Biotechnology**, v. 54, n. 3, p. 296-303, 2016.

SISO, M. I. G. The biotechnological utilization of cheese whey: A review. **Bioresource Technology**, v. 57, n. 1, p. 1-11, 1996.

TARDIOLI, P. W. et al. Design of new immobilized-stabilized carboxypeptidase A derivative for production of aromatic free hydrolysates of proteins. **Biotechnology Progress**, v. 19, n. 2, p. 565-574, 2003.

TAVANO, O. L. Protein hydrolysis using proteases: An important tool for food biotechnology. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, v. 90, p. 1-11, 2013.

VALLIAN, S.; BARAHIMI, E.; MOEINI, H. Phenylketonuria in Iranian population: a study in institutions for mentally retarded in Isfahan. **Mutation Research-Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis**, v. 526, n. 1-2, p. 45-52, 2003.

YADAV, J. S. S. et al. Cheese whey: A potential resource to transform into bioprotein, functional/nutritional proteins and bioactive peptides. **Biotechnology Advances**, v. 33, n. 6, p. 756-774, 2015.

YOU, S. P. et al. Utilization of whey powder as substrate for low-cost preparation of beta galactosidase as main product, and ethanol as by-product, by a litre-scale integrated process. **Bioresource Technology**, v. 245, p. 1271-1276, 2017.

CAPÍTULO 2

MODELAGEM DO PROCESSO DE PRODUÇÃO DE BIOETANOL EM DYNETICA UTILIZANDO ROTA METABÓLICA SIMPLIFICADA

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 05/11/2020

Matheus Yuri Gritzenco de Giovanni

Departamento de Engenharia Química,
Universidade Estadual de Maringá
Maringá - Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/0078887179102848>

Renam Luis Acorsi

Departamento de Engenharia Química,
Universidade Estadual de Maringá
Maringá - Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/5114568187161657>

Cid Marcos Gonçalves Andrade

Departamento de Engenharia Química,
Universidade Estadual de Maringá
Maringá - Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/6013790055300526>

José Eduardo Olivo

Departamento de Engenharia Química,
Universidade Estadual de Maringá
Maringá - Paraná, Brasil
<http://lattes.cnpq.br/3799477144188495>

RESUMO: Fontes alternativas de energia renovável para substituir o uso de combustível fóssil vêm sendo estudadas. Entre eles, a produção de etanol a partir de processos fermentativos de matérias-primas renováveis baseadas em carbono é atrativa por ser uma opção mais limpa e viável. Estes processos fermentativos podem e devem ser aperfeiçoados de maneira contínua e existem diversas formas de modelá-los. Uma

das maneiras mais úteis de analisar processos é o desenvolvimento de modelos matemáticos do processo. Visto isso, este trabalho o desenvolvimento e simulação do processo de fermentação da produção do etanol do caldo da cana-de-açúcar a partir as rotas metabólicas, sendo implementado usando-se o software livre Dynetica.

PALAVRAS-CHAVE: DYNETICA, software livre, energia renovável, bioetanol, rota metabólica.

MODELING THE PRODUCTION PROCESS OF BIOETHANOL IN DYNETICA USING SIMPLIFIED METABOLIC PATHWAYS

ABSTRACT: Alternative sources of renewable energy to replace the use of fossil fuels have been studied. Among them, the production of ethanol from fermentative processes of carbon-based renewable raw materials has attracted attention because it is a clean and more viable option. These fermentative processes can and should be continuously optimized and there are several forms of modeling them. One of the most useful ways to analyze processes is the development of mathematical models of processes. In view of this, the present work seeks to development and simulation of fermentation of bioethanol production process from sugar cane through metabolic pathways, using the software Dynetica.

KEYWORDS: DYNETICA, free software, renewable energy, ethanol, metabolic pathway.

1 | INTRODUÇÃO

Problemas causados pelo uso de combustíveis de fonte fósseis induzem ao desenvolvimento de bioprocessos sustentáveis [1]. O uso de combustíveis derivados do petróleo resulta em uma grande emissão de CO₂, o que representa uma grande contribuição para a emissão total de gases do efeito estufa (GEE) [2]. Atualmente, o bioetanol é o biocombustível dominante, com sua maioria sendo produzida nos Estados Unidos e no Brasil, utilizando milho e cana-de-açúcar como matéria-prima, respectivamente [2,3]. Os custos de matéria-prima, especialmente do milho, a produção e a redução de emissão de gases GEE leva a um debate contínuo sobre a utilização de biocombustíveis [4]. No Brasil, não há dúvida de que a dependência de combustíveis derivados de petróleo tem diminuído devido ao contínuo desenvolvimento e aperfeiçoamento da indústria de álcool e açúcar, que além do etanol produz bioeletricidade, polímeros e até mesmo alimentos para consumo humano e animal [5,6].

Uma maneira de aperfeiçoar o bioprocessos é estudar o agente de transformação utilizado, como os micro-organismos utilizados na fermentação [1]. Micro-organismos podem ser considerados como pequenas indústrias, controladas pelo seu metabolismo através de uma rede de reações bem reguladas, que quase nunca produz uma substância a mais do que o necessário [7]. Então, a melhoria do desempenho de um micro-organismo pode ser alcançada através da otimização e maior entendimento de sua rede metabólica ou a introdução de uma nova rota metabólica através de modificações genéticas, um método que precisa de grande conhecimento de genética e metabolismo [1,2]

A cinética de fermentação pode ser analisada de duas maneiras: pelo consumo de substrato ao longo do tempo ou pela formação de produto ao longo do tempo. Assim:

$$\left. \frac{dS}{dt} \right|_t = \text{velocidade de consumo do substrato} \quad (1)$$

$$\left. \frac{dP}{dt} \right|_t = \text{velocidade de produção de produto} \quad (2)$$

Em um gráfico de Substrato (S) ou Produto (P) pelo tempo, tais velocidades são dadas pela inclinação da reta tangente a curva no instante t, como mostra a Figura 1.

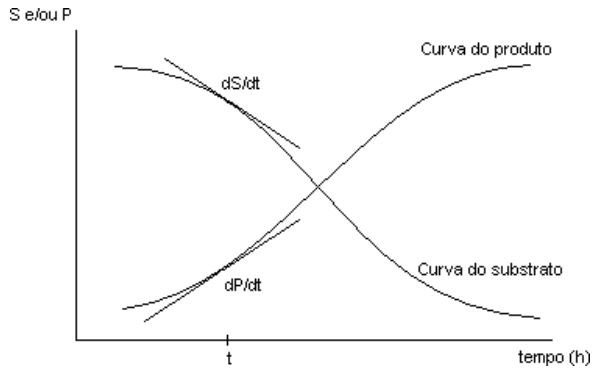


Figura 1 – Comportamento das concentrações de substrato e produto em função do tempo.

Como a concentração de microorganismos não é constante com o tempo e baseando-se na hipótese da existência de uma proporcionalidade entre a concentração de complexo enzimático que realiza a transformação e a concentração de microorganismo que contem este complexo, surge o conceito de velocidade específica, que pode ser aplicado tanto ao substrato quanto ao produto ou microorganismo.

$$\mu_x = \frac{1}{x} \frac{dX}{dt} \quad (3)$$

$$\mu_s = \frac{1}{x} \frac{dS}{dt} \quad (4)$$

$$\mu_p = \frac{1}{x} \frac{dP}{dt} \quad (5)$$

Da mesma forma, pode-se fazer um gráfico da velocidade específica contra o tempo e determinar os períodos de tempo em que a velocidade é máxima, seja para crescimento de célula, seja para produção de produto.

Uma das formas de se aumentar a produção do etanol é aumentar a eficiência do processo de fermentação. Para tal, faz-se necessário ter-se o modelo do processo. A modelagem pode ser empírica (caixa preta) ou fenomenológica. Em processos bioquímicos, normalmente temos a mistura das duas abordagens, a chamada modelagem mista. Uma vez que geralmente temos a forma das equações, derivadas de conhecimentos teóricos, e constantes a determinar, que podem ser obtidas a partir de dados experimentais. Pode-se chamar de “macro” a forma de se modelar os processos bioquímicos com equações diferenciais que envolvem o produto (P), o substrato (S) e o microrganismo (X), estes modelos servem e serviram para avanços nestes estudos.

Modelos matemáticos podem simular o comportamento dinâmico e complexo do metabolismo celular. Modelos de rotas metabólicas consistem em reações enzimáticas descritas através de sua estequiometria, fluxo de reação e constantes cinéticas (algumas

constantes cinéticas precisam de um modelo adquirido em literaturas, mas normalmente elas estão incompletas, incompatíveis ou simplesmente inexistentes) [14]. Sendo assim, a maioria dos modelos matemáticos de rotas bioquímicas foi desenvolvida baseada em dados coletados de diferentes fontes [10,14].

Hoje, com o avanço do conhecimento das rotas metabólicas e no processamento dos computadores um tipo de modelagem “micro” tem sido largamente investigado, aquele que usa o equacionamento das rotas metabólicas. Neste trabalho estabeleceu-se a condição de modelar o processo de produção do etanol usando rotas metabólicas e para auxiliar esse controle fez-se o uso do software Dynetica, que é um software livre.

2 | PARTE EXPERIMENTAL

Uma rota metabólica é uma rede complexa de reações ocorrendo simultaneamente. Para exemplificar, um esquema de modelo ramificado da glicólise que será utilizado consiste de três reações, conforme figura 2. O software utilizado para esta etapa foi o Dynetica e as etapas seguem de acordo com as descrições abaixo.

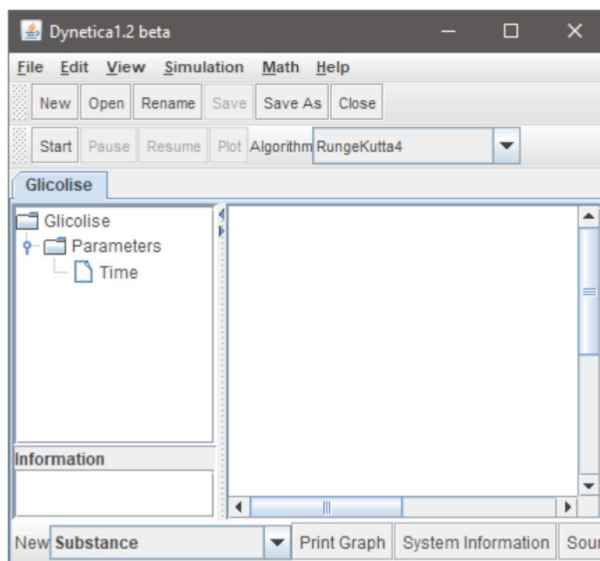


Figura 3 – Imagem inicial do Dynetica

De início, criou-se um modelo de reação, no menu New e foi definido um nome para o sistema. Um sistema em branco apareceu, nesta janela o painel esquerdo mostrava a exibição de árvore-estrutura da rede e no painel da direita exibia-se uma representação gráfica. Havia uma lista de parâmetros no painel à esquerda; o parâmetro “Time” já vem

com o programa e este parâmetro não deve ser modificado ou excluído, pois isso pode corromper o arquivo de entrada.

Na linguagem do programa, cada substância representa um componente da reação: reagente, produto, catalisador, etc. Para criar uma substância, clicou-se na flecha para baixo ao lado do “New” inferior, em “Substance” e adicionou-se um nome, por exemplo A. Depois disso um nó azul, correspondente a este “A” criado, apareceu no console principal. Aprendeu-se a fechar a janela do editor clicando no canto superior direito da caixa e reabrindo com um duplo clique no nó correspondente

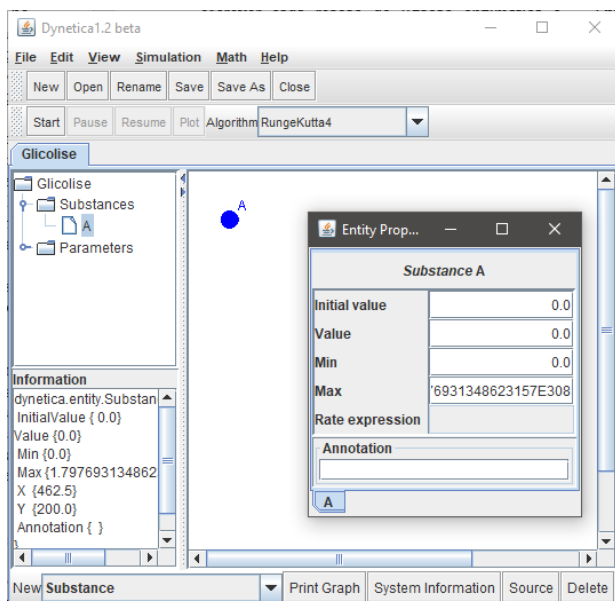


Figura 4 – Nodo da Substância

Estudo e aprendizado da opção Progressive Reaction do programa Dynetica, que serve para modelar uma reação simples que converta uma substância em outra; em seguida, clicou-se no mesmo botão de combinação usado para criar a substância, mas selecionou-se a opção Progressive Reaction. Inseriu-se o parâmetro k , que representa a velocidade específica da reação ou constante de velocidade. Há uma lista de parâmetros no lado esquerdo da janela principal. A reação na interface gráfica aparece como uma seta encaixotada. A linha verde indica que a produção da substância, a linha vermelha representa o consumo da substância, e uma linha tracejada indica que a substância cinza afeta a cinética da reação. Os parâmetros podem ser definidos antes do tempo desde que eles são gerados automaticamente quando a reação é formada. As substâncias também podem ser omitidas antes de criar a reação, e o programa irá adicioná-los automaticamente.

No entanto, reconheceu-se que o layout gráfico de nós e reações em algumas plataformas fica de forma mais confusa, portanto o recomendado é que as substâncias sejam criadas antes das reações que participam.

Verificou-se que as reações são classificadas em dois tipos nesse programa: reações progressivas ou reações equilibradas e algumas opções são fornecidas, como Progressive Reaction, Mass Action, Decay e Michaelis-Menten, cada uma delas requisitando os parâmetros respectivos. Também há possibilidade de formular as expressões cinéticas. Para criar uma nova expressão, utilizou-se o botão de combinação na parte inferior da página e selecionar Expression Variable. A seção Expressões do apêndice fornece uma lista das operações e funções compreendidas pelo Dynetica dentro dessa estrutura. Para executar o modelo, clicou-se no botão Iniciar na barra de Simulação na parte superior da tela e, em seguida, no botão Plot ao lado dele. Estas opções, juntamente com a maioria dos outros mencionados abaixo estão disponíveis no Menu Simulação da barra de menus. Uma janela de simulação contendo o comportamento dependente do tempo de substâncias no sistema aparece na tela. Por padrão, o Dynetica usa uma variável de tempo etapa 4ª ordem algoritmo de Runge-Kutta (identificado como “RungeKuttaFehlberg”), que é implementado com base na descrição de numéricos. Para acessá-lo, clicou-se no botão de cima na barra de Simulação ao lado do rótulo “Algoritmo” e selecione a opção RungeKutta4.

Na parte de simulação, o Dynetica pode também modelar a dinâmica do sistema, considerando-se cada reação como uma etapa individual que tem uma certa probabilidade de que ocorra durante um intervalo de tempo amostrados. Este tipo de análise é relevante para os sistemas que envolvem um baixo número de moléculas de reagentes e produtos. Matematicamente se manifesta através do algoritmo denominado Gillespie e estocástica, porque a presença de uma probabilidade igual qualquer reação disparando em qualquer momento no tempo introduz uma aleatoriedade para a simulação não é possível dentro de simulações deterministas. Três métodos particulares de realização do algoritmo de Gillespie estão disponíveis em Dynetica para modelagem estocástica. No mesmo botão de combinação, onde as opções de modelagem determinísticos foram localizados, tendo-se as seguintes opções: Direct Method, Optimized Direct Method ou First Reaction Method. O Direct Method, o método mais comum para implementar o algoritmo Gillespie, opera com base em uma escolha aleatória de reações com probabilidades de reação que redefinem a cada iteração da etapa de tempo.

3 | RESULTADOS E DISCUSSÕES

Fez-se então a inserção das substâncias que participam do processo de fermentação no Dynetica, gerando um nodo para cada substância. Por conveniência, os nodos foram nomeados da seguinte forma: glicose = S; ácido pirúvico = Pir; acetaldeído = A; etanol = EtOH. Para os valores iniciais de tais substâncias, tem-se que apenas o valor inicial da

glicose difere de 0, pois apenas ela se encontra presente inicialmente no meio. Para fins deste trabalho, considerou-se uma fermentação cuja concentração inicial de substrato é 30 g/L de glicose, ou 0,1665 mol/L de glicose.

Tendo as substâncias em mãos, adicionaram-se as reações. Todas as reações serão consideradas como progressivas. No caso de reações metabólicas, tal como no caso da cinética enzimática, consideraremos que as reações são de primeira ordem. Assim, para a primeira reação, R1, que transforma um mol de glicose em dois mols de ácido pirúvico, para uma cinética tipo $k_1 * [S]$, consideremos uma constante cinética baixa, visto que uma elevada constante dessa reação, causaria uma conversão imediata de toda glicose no meio, o que não se verifica experimentalmente. Partindo dos dados de Acorsi (2012), temos que essa quantidade de glicose deve ser consumida em aproximadamente 75 minutos. Isso levou ao uso de $k_1 = 0.07$. A reação do ácido pirúvico em acetaldeído e a reação do acetaldeído em etanol não devem ser lentas, pois, nesse caso haveria acúmulo dessas substâncias no interior da célula. Para as reações R2 e R3 então, propôs-se $k_2 = k_3 = 1.0$.

Entende-se por resultados a informação pertinente aos dados coletados e analisados, abrangendo estudos de caso.

| Progressive Reaction R1 | |
|--|-------------|
| Stoichiometry | S -> 2.0Pir |
| Kinetics | $k_1 * [S]$ |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> Variables Annotation </div> | |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>Substances</p> <p>S</p> <p>Pir</p> </div> <div style="width: 50%;"> <p>Substance S</p> <p>Initial value: 0.1665</p> <p>Value: 1.5182918500687234E-4</p> <p>Min: 0.0</p> <p>Max: 1.7976931348623157E308</p> <p>Rate expression: $-1.0 * (k_1 * [S])$</p> <p>Annotation:</p> </div> </div> | |
| <div style="display: flex; justify-content: space-between;"> <div style="width: 45%;"> <p>Parameters</p> <p>k1</p> </div> <div style="width: 50%;"> <p>Parameter k1</p> <p>Value: 0.07</p> <p>Minimum value: 0.0</p> <p>Maximum value: 1.7976931348623157E308</p> <p>Annotation:</p> </div> </div> | |

Figura 5 - Configuração da reação 1.

| Progressive Reaction R3 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|------|----|---|---|---------------|---------------|-------|---------------|------------------------|------------|-----|------------------------|-----------------|---------------------------------------|------------|--|
| Stoichiometry | 2.0A -> 2.0EtOH | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kinetics | $k_1 * [S] - (k_2 * [Pir] + k_3 * [A])$ | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <div style="display: flex; border-bottom: 1px solid black;"> Variables Annotation </div> | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Substances | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Substance A | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1"> <tr><td>A</td></tr> <tr><td>EtOH</td></tr> <tr><td>S</td></tr> <tr><td>Pir</td></tr> </table> | A | EtOH | S | Pir | <table border="1"> <tr><td>Initial value</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>Value</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>Min</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>Max</td><td>1.7976931348623157E308</td></tr> <tr><td>Rate expression</td><td>$1 * [S] - (k_2 * [Pir] + k_3 * [A])$</td></tr> <tr><td>Annotation</td><td></td></tr> </table> | Initial value | 0.0 | Value | 0.0 | Min | 0.0 | Max | 1.7976931348623157E308 | Rate expression | $1 * [S] - (k_2 * [Pir] + k_3 * [A])$ | Annotation | |
| A | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| EtOH | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pir | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Initial value | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Value | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Min | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Max | 1.7976931348623157E308 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Rate expression | $1 * [S] - (k_2 * [Pir] + k_3 * [A])$ | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Annotation | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Parameters | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Parameter k1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1"> <tr><td>k1</td></tr> <tr><td>k2</td></tr> <tr><td>k3</td></tr> </table> | k1 | k2 | k3 | <table border="1"> <tr><td>Value</td><td>0.07</td></tr> <tr><td>Minimum value</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>Maximum value</td><td>1.7976931348623157E308</td></tr> <tr><td>Annotation</td><td></td></tr> </table> | Value | 0.07 | Minimum value | 0.0 | Maximum value | 1.7976931348623157E308 | Annotation | | | | | | |
| k1 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| k2 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| k3 | | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Value | 0.07 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Minimum value | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Maximum value | 1.7976931348623157E308 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Annotation | | | | | | | | | | | | | | | | | |

Figura 6 - Configuração da reação 2

| Progressive Reaction R2 | | | | | | | | | | | | | | | | |
|---|---|----|---|---|---------------|---------------|-------|---------------|------------------------|------------|-----|------------------------|-----------------|---|------------|--|
| Stoichiometry | 2.0Pir -> 2.0A | | | | | | | | | | | | | | | |
| Kinetics | $k_1 * [S] - k_2 * [Pir]$ | | | | | | | | | | | | | | | |
| <div style="display: flex; border-bottom: 1px solid black;"> Variables Annotation </div> | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Substances | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Substance A | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1"> <tr><td>A</td></tr> <tr><td>S</td></tr> <tr><td>Pir</td></tr> </table> | A | S | Pir | <table border="1"> <tr><td>Initial value</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>Value</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>Min</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>Max</td><td>1.7976931348623157E308</td></tr> <tr><td>Rate expression</td><td>$k_1 * [S] - (k_2 * [Pir] - k_3 * [A])$</td></tr> <tr><td>Annotation</td><td></td></tr> </table> | Initial value | 0.0 | Value | 0.0 | Min | 0.0 | Max | 1.7976931348623157E308 | Rate expression | $k_1 * [S] - (k_2 * [Pir] - k_3 * [A])$ | Annotation | |
| A | | | | | | | | | | | | | | | | |
| S | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Pir | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Initial value | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Value | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Min | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Max | 1.7976931348623157E308 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Rate expression | $k_1 * [S] - (k_2 * [Pir] - k_3 * [A])$ | | | | | | | | | | | | | | | |
| Annotation | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Parameters | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Parameter k1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| <table border="1"> <tr><td>k1</td></tr> <tr><td>k2</td></tr> </table> | k1 | k2 | <table border="1"> <tr><td>Value</td><td>0.07</td></tr> <tr><td>Minimum value</td><td>0.0</td></tr> <tr><td>Maximum value</td><td>1.7976931348623157E308</td></tr> <tr><td>Annotation</td><td></td></tr> </table> | Value | 0.07 | Minimum value | 0.0 | Maximum value | 1.7976931348623157E308 | Annotation | | | | | | |
| k1 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| k2 | | | | | | | | | | | | | | | | |
| Value | 0.07 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Minimum value | 0.0 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Maximum value | 1.7976931348623157E308 | | | | | | | | | | | | | | | |
| Annotation | | | | | | | | | | | | | | | | |

Figura 7 - Configuração da reação 3.

Após definidas as substâncias e reações, o seguinte nodo aparece na área de trabalho do Dynetica:



Figura 7 - Nodos reacionais.

Ao clicar em “Plot” e definir os parâmetros gráficos de acordo com o preferido, o programa simula a reação e, neste caso, forneceu o seguinte resultado:

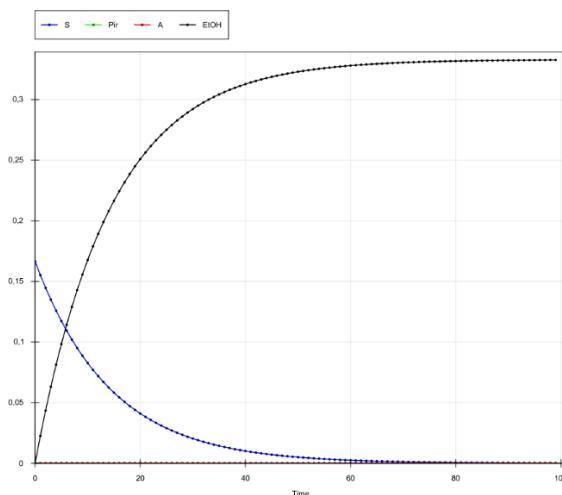


Figura 8 - Produção de etanol por via metabólica.

4 | CONCLUSÃO

O processo pôde ser modelado e simulado com o uso do software Dynetica. Dentro da proposta de auxiliar na modelagem de uma rota metabólica para o processo de fermentação, o programa correspondeu às expectativas e o rendimento atingido foi o esperado para casos de fermentação sem inibição.

REFERÊNCIAS

1. Dai, Z. and Nielsen, J. (2015) Advancing metabolic engineering through systems biology of industrial microorganisms. *Current Opinion in Biotechnology*. 36, 8-15.
2. Nielsen, J., Larsson, C., Van Maris, A. and Pronk, J. (2013) Metabolic engineering of yeast for production of fuels and chemicals. *Current Opinion in Biotechnology*. 24, 398- 404.

3. Chen, B. and Saghsian, S. (2015) The relationship among ethanol, sugar and oil prices in Brazil: cointegration analysis with structural breaks. Selected Paper prepared for presentation at the Southern Agricultural Economics Association's 2015.
4. Caspeta, L., Buijs, N.A.A., Nielsen, J. (2013) The role of biofuels in the future energy supply. *Energy & Environmental Science*. 6, 1077-1082.
5. Filoso, S., do Carmo, J.B., Mardegan, S.F., Lins, S.R.M., Gomes, T.F. and Martinelli, L.A. (2015) Reassessing the environmental impacts of sugarcane ethanol production in Brazil to help meet sustainability goals. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 52, 1847-1856.
6. Lapola, D.M., Schaldach, R., Alcamo, J., Bondeau, A., Koch, J., Koelking, C., et al. (2010) Indirect land-use changes can overcome carbon savings from biofuels in Brazil. *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 107, 3388–3393.
7. Demain, A.L. (2000) Microbial technology. *Trends in Biotechnology*. 18, 26-31.
8. Nielsen, J., Jewett, M.C. (2008) Impact of systems biology on metabolic engineering of *Saccharomyces cerevisiae*. *FEMS Yeast Res.* 8, 122-131.

ESTUDO DE TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO DE LIPÍDEOS DE ALGAS

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 06/11/2020

Carla Veronica Rodarte de Moura

Universidade Federal do Piauí, Departamento
de Química
Teresina - Piauí
<http://lattes.cnpq.br/8314351279360798>

Daiane Fossatti Dall'Oglio

Universidade Federal do Piauí, Departamento
de Química
Teresina - Piauí
<http://lattes.cnpq.br/6916024411250155>

Edmilson Miranda de Moura

Universidade Federal do Piauí, Departamento
de Química
Teresina - Piauí
<http://lattes.cnpq.br/0624348825872858>

RESUMO: Biocombustíveis derivados de óleos extraídos de microalgas são considerados promissores na substituição de fontes de energia à base de petróleo. No entanto, a extração de lipídios dessa fonte é um desafio devido ao seu baixo rendimento e a necessidade de procedimentos de alto custo no rompimento da parede celular. Neste estudo, será descrito alguns métodos físicos e químicos usados para ruptura celular e extração dos lipídeos de algas. Além disso, apresentaremos um estudo da multivariada das condições de extração, visando maximizar a extração lipídica da microalga *Scenedesmus sp*, cultivada em águas residuais.

O método de extração, o tempo de extração, a mistura de solventes e o pré-tratamento foram considerados entre os níveis superior e inferior para avaliar sua significância, incluindo suas interações na resposta experimental, utilizando um número reduzido de experimentos. Os estudos foram realizados utilizando métodos de extração de baixo custo, como agitação magnética e ultrassom. A condição ótima de extração foi obtida utilizando uma mistura de solventes, clorofórmio:metanol (2:1), em um período de extração de 2 horas no ultrassom.

PALAVRAS-CHAVE: Algas, extração de lipídeos, técnicas físicas e químicas.

STUDY OF ALGAE LIPID EXTRACTION TECHNIQUES

ABSTRACT: Biofuels derived from oils extracted from microalgae are considered promising in the replacement of petroleum-based energy sources. However, extracting lipids from this source is a challenge due to its low yield and the need for high-cost procedures to break the cell wall. In this study, some physical and chemical methods used for cell disruption and lipid extraction from algae were described. Also, we present a study of the multivariate of the extraction conditions, aiming to maximize the lipid extraction of the *Scenedesmus sp* microalgae grown in wastewater. The extraction method, extraction time, solvent mixture, and pretreatment were considered between the upper and lower levels to assess their significance, including their interactions in the experimental response, using a reduced number of experiments. The studies were carried out using low-cost extraction methods, such

as magnetic stirring and ultrasound. The optimal extraction condition was obtained using a solvent mixture, chloroform: methanol (2: 1), in an extraction period of 2 hours on ultrasound. **KEYWORDS:** Algae, lipid extraction, physical and chemical techniques.

1 | INTRODUÇÃO

Grande parte da energia utilizada pelas nações é derivada de combustíveis fósseis. Entretanto, alguns problemas enfrentados pelo uso desses combustíveis são a questão ambiental e o esgotamento de tais fontes. A incerteza em sua disponibilidade é considerada um importante gatilho para os pesquisadores procurarem por fontes alternativas de energia, que podem complementar ou substituir combustíveis fósseis (HARUN *et al.*, 2010; MATA *et al.*, 2010). Considerando tais condições, a busca por energias renováveis e por combustíveis sustentáveis têm se intensificado (CHEN *et al.*, 2018; OUANJI *et al.*, 2016; MOAZAMI *et al.*, 2012). Nesse contexto, a síntese de biodiesel em larga escala tem se tornado mais atraente nos últimos anos devido à sua renovabilidade, menor toxicidade quando comparado ao diesel de petróleo e apelo ambiental uma vez que é livre de enxofre, aromáticos e produz menos fuligem, óxido de carbono e dióxido de carbono (MISHRA e GOSWAMI, 2018). Atualmente, o biodiesel é produzido a partir de diferentes safras, como soja, colza, girassol, palma, coco, jatropha, karanja, usou óleo frito e gorduras animais (SPOLARE *et al.*, 2006; KHAN *et al.*, 2009). Haverá certas limitações no uso desses óleos como combustíveis alternativos por causa de sua demanda de alimentos, expectativa de vida, menor rendimento /ha, maior uso da terra e preço mais alto, entre outros (MATA *et al.*, 2010). É necessário pesquisar matérias-primas alternativas não alimentares para produção de biodiesel. Seleção de matéria-prima de biodiesel é baseada em maiores rendimentos, curta duração, menor custo de produção e menos terras uso. Entre as várias matérias-primas do biodiesel, o óleo de microalgas tem potencial para substituir o óleo diesel convencional.

No entanto, em relação aos substratos tradicionalmente usados para biocombustíveis, a produção comercial de FAME a partir de óleos vegetais e gordura animal podem gerar problemas de sustentabilidade, pois afetam a produção de alimentos (BALAT, 2011), e a produção de óleos não comestíveis está associada à disponibilidade de terras aráveis para seu cultivo (ULLAH *et al.*, 2014). Assim, a exploração de combustíveis alternativos tem se voltado para os chamados biocombustíveis de terceira geração (BHARGAVI *et al.*, 2018), ou seja, produzir óleos de baixo custo e biomassa renovável com alto potencial de produção de energia.

Do ponto de vista ambiental, as microalgas apresentam várias vantagens sobre as oleaginosas que são amplamente utilizada para extração do óleo (RANDRIANARISON e ASHRAF, 2017), pois não precisam de campos cultiváveis, podem ser cultivadas em águas residuais, apresentando taxas de crescimento mais elevada do que as plantas terrestres e

têm uma densidade de energia maior do que as matérias-primas vegetais (BAICHA *et al.*, 2016).

Contudo, a extração de lipídios da biomassa de microalgas consiste em romper as paredes celulares das algas (GHASEMI NAGHDI *et al.*, 2016) usando abordagens mecânicas e/ou químicas (HALIM *et al.*, 2012). Como a quantidade de lipídeos nas microalgas é relativamente pequena (15 a 30%), é crucial que o procedimento de extração selecionado seja eficiente para extrair o máximo de lipídeos possível (RAMLUKAN *et al.*, 2014). A extração de lipídeos de microalgas passa por problemas causados pela presença de água, além da ruptura das paredes celulares que formam uma barreira para a penetração do solvente. (YAP *et al.*, 2014). Lipídios são constituídos por um grupo diverso de substâncias biológicas, algumas das quais polares, enquanto outras não polares (SCOTT *et al.*, 2010). A extração de lipídios da biomassa de microalgas são, portanto, uma tarefa desafiadora que é fundamental na determinação da economia geral do biodiesel produção (BARCLAY *et al.*, 1994). Embora a extração de lipídios em escala de laboratório seja bastante rotineira, as variáveis que afetam a extração de lipídios de microalgas não é bem compreendido e aumenta a escala para produção comercial um desafio maior (WIJFFLES *et al.*, 2010). Um processo de extração de lipídios ideal para biodiesel de microalga a produção precisa ser específica para lipídios (a fim de minimizar a co-extração de contaminantes não lipídicos) e seletiva para as frações lipídicas necessárias. Uma vez liberado das célula de algas, os lipídios são capazes de passar para a fase de solvente a partir da qual eles podem ser coletados após a evaporação do solvente. Ruptura celular é então considerado um método para quebrar a parede celular das algas. Uma vez que as microalgas são caracterizadas por uma parede celular, que é uma espessa e camada rígida composta de carboidratos complexos e glicoproteínas com alta resistência mecânica e resistência química, esta etapa operacional pode exigir grandes quantidades de energia. As principais técnicas de rupturas das células podem ser conceitualmente categorizadas em métodos físicos e químicos. Apesar de alguns métodos físicos e químicos isoladamente serem capazes de romper a membrana celular de certas algas, muitas vezes é necessário o uso da combinação de dois ou mais métodos para esse fim.

Sendo assim nesse capítulo iremos tratar de algumas técnicas químicas, físicas e a conjugação das duas para extração de lipídeos de algas. Além disso, apresentaremos um estudo multivariado das condições de extração, visando maximizar a extração lipídica da microalga *Scenedesmus sp.*, cultivada em águas residuais.

2 | TÉCNICAS DE RUPTURA CELULAR DAS ALGAS

Na prática, os métodos utilizados para ruptura celular de microalgas são divididos em: Ruptura Celular por processos Físicos, Ruptura Celular por Métodos Químicos.

2.1 Ruptura Celular de microalgas por processos Físicos

Dependendo do tipo de biomassa, é recomendado um pré-tratamento antes da extração lipídica. O pré-tratamento ajuda a promover a ruptura celular das microalgas induzindo a extração de lipídios, ou seja, liberando-os das estruturas celulares com maior facilidade (MUBARAK et al., 2015). Os métodos de ruptura podem ser classificados de acordo com a forma de desintegração celular em físicos ou químicos, sendo que os físicos são utilizados por manterem a integridade química das substâncias contidas inicialmente nas células (GREENWELL et al., 2010).

Os métodos físicos mais estudados são a autoclavagem, homogeneização em alta pressão, ultrassonicação, moagem, liofilização, micro-ondas, prensagem e método *bead beating*. Enquanto os químicos incluem geralmente a lise celular com uso de ácidos, bases, enzimas ou choques osmóticos (HALIM; DANQUAH; WEBLEY, 2012). (HALIM et al., 2012b).

2.1.1 Autoclavagem

A autoclavagem é um processo também conhecido como termólise e consiste no aquecimento da biomassa em banho maria com controle de temperatura e injeção de vapor. O calor será difundido do ambiente para o interior das células, passando pela membrana celular (LEE; LEWIS; ASHMAN, 2012).

2.1.2 Homogeneização sob alta pressão

A homogeneização sob alta pressão consiste é um processo em que suspensões da biomassa é passada através de um pequeno orifício, à alta pressões, ligado a uma câmara com pressão atmosférica. Com a descompressão as células se rompem, e uma grande quantidade de calor é gerada, sendo assim o processo é realizado sob refrigeração. (TREVAN et al., 1990). A ruptura das células feita por esse método, gera um rompimento não específico, visto que apenas uma parte da parede celular é rompida.

2.1.3 Ultrassonicação

A ruptura celular por ultrassonicação se dará quando ondas ultrassônicas com elevada frequência e intensidade é aplicada na biomassa. Essas ondas causam a cavitação que resulta na liberação de ondas de choques altamente energéticas que causam tensões mecânicas e danos na superfície das células. Durante esse processo ocorre a formação de bolhas que são menores que a células das microalgas, e a colisão entre as bolhas e as células cria pequenas regiões de pressões muito altas que acabem por romper a parede celular desses micro-organismos (GREENLY & TESTER, 2015)

A maior parte da energia ultrassônica absorvida pela biomassa se transforma em calor, assim um controle de temperatura é necessário (MIDDELBERG, 1995). Além da

temperatura outros fatores podem influenciar no processo de ultrassonicação como: tempo do processo - maiores tempos, mais rompimento ocorrerá. Entretanto deve-se observar que uma maior quantidade de células rompidas pode inibir a propagação das ondas sonoras, diminuindo a eficiência de processo; Esferas de Vidro - a adição de esferas de vidro aumenta a moagem, e por consequência a eficiência do processo. Viscosidade da biomassa celular – baixas viscosidades permitem um colapso mais violento das bolhas e uma maior eficiência da ruptura das células. Porém, a viscosidade aumenta à medida que os produtos intracelulares são liberados no meio.

2.1.4 Moagem

O moinho de bolas é um método simples e efetivo para o rompimento da parede celular de diferentes tipos de micro-organismos. O moinho possui uma câmara de moagem encamisada com uma haste longitudinal rotatória no centro. Os agitadores de diferentes formatos estão presos na haste, e eles são responsáveis pela transmissão de energia cinética à pequenas esferas que existem na câmara, forçando-as a colidirem umas com as outras (MIDDELBERG, 1995). A seleção do diâmetro das esferas e da carga de partículas é de grande importância para uma maior eficiência no processo de ruptura celular, dependendo da localização do bioproduto na célula.

2.1.5 Liofilização

O processo de liofilização constitui no congelamento da biomassa que depois será enviada para uma câmara de vácuo e aumento gradativo da temperatura. Com o aumento da temperatura a pressão circunvizinha é reduzida, o que permite que a água congelada passe diretamente da fase sólida para a fase gasoso. No processo de congelamento as paredes das células ficam mais porosas devido a formação de cristais de gelo dentro das células e aumentam a extração de produtos intracelulares. (CAÑAVATE; FERNÁNDEZ-DÍAZ, 2001).

2.1.6 Micro ondas

As micro-ondas, são ondas eletromagnéticas, com comprimento de onda maiores que os raios infravermelhos e menores que as ondas de rádio, compreendendo frequências entre 300 e 300.000 MHz. (MAHESAR et al., 2008). A energia das micro-ondas atua como radiação não ionizante que provoca a rotação dos dipolos e o movimento das moléculas por migração dos íons. Esta rotação com fricção das moléculas gera calor que causa a ruptura celular. O calor, em combinação com o efeito de eletroporação, resulta numa maior abertura da membrana, otimizando a extração de metabólitos intracelulares (CAMEL, 2000).

2.1.7 Prensagem

A prensa expeller é considerada a forma mais antiga de extração de óleo de algas. Este processo usa uma prensa mecânica para quebrar as células e comprimir o óleo da biomassa seca ou úmida e pode extrair cerca de 75% de óleo. O princípio envolvido nesta técnica é que ao aplicar alta pressão o teor de óleo da biomassa é eliminado pela quebra das células. A aplicação da pressão não deve ser muito alta, caso contrário, a qualidade dos lipídios, bem como a quantidade, diminuem (HARA e RADIN, 1978). Mas, este método é bastante lento e requer uma grande quantidade de biomassa (NETO *et al.*, 2013).

2.1.8 Método bead beating

O *bead beating* é um método em que as células das algas são quebradas pela alta velocidade de agitação (KUMAR *et al.*, 2015). Este método consiste no uso de esferas de vidro muito pequenas (ou algum outro material) que são adicionados a biomassa algal e esta sofre agitação. O choque físico, provocado pela agitação, entre as contas (vibrando ou sacudindo) com as células resulta em uma ruptura da parede celular, expondo todo o material ao meio. A grande vantagem deste método é que pode ser operado em processos contínuos e em grande escala.

2.2 Ruptura Celular por Métodos Químicos

A parede celular de um micro-organismo pode ser permeabilizada por vários compostos químicos, que irão diferir na seletividade e eficiência dependendo da espécie microbiana. A ruptura química pode ser realizada por hidróxidos, ácidos, agentes oxidantes, antibióticos, agentes quelantes, detergentes, solventes, enzimas ou por e hipocloritos (GECIOVA, BURY; JELEN, 2002, Steriti *et al.* 2014, bioresoure technology).

Os álcalis mais utilizados para ruptura celular são a amônia e o hidróxido de sódio, pois inativam micro-organismos geneticamente modificados ou patógenos durante o rompimento. Entretanto, geram muitos poluentes, que são a principal desvantagem desse método.

Agentes oxidantes, como a H_2O_2 e agente de Fenton ($FeSO_4$), foram eficientes para a ruptura de biomassa algal. De acordo com Wu *et al.* (2010), a reação entre H_2O_2 e íons Fe^{2+} pode produzir radicais hidroxila ($OH\cdot$) que por sua vez podem atacar e degradar os compostos orgânicos que constituem a parede celular (ST RITI *et al.*, 2014). Provavelmente, essa reação ocorre preferencialmente em certas zonas da parede celular que contém compostos orgânicos que são facilmente oxidados por radicais $OH\cdot$. De fato, a ruptura ocorre em certas áreas da parede celular e leva à liberação do material intracelular, incluindo lipídios. Uma vez que os lipídeos são transferidos para a solução, eles são atacados por radicais hidroxila, gerando degradação de produtos como os peróxidos lipídicos. (González *et al.*, 2012). Até onde essa reação indesejada prossegue dependerá das concentrações residuais de H_2O_2 e Fe^{2+} , bem como do tempo decorrido antes que

um solvente, como o etanol, seja adicionado na solução a fim de interrompê-la. Por esta razão, tanto a concentração de H_2O_2 quanto o tempo de contato devem ser ajustados adequadamente.

Os compostos detergentes dissociam proteínas e lipoproteínas das paredes celulares, provocando a formação de poros e liberando a molécula-alvo. A eficiência do rompimento depende do pH e da temperatura e pode ser aumentado por um pré-tratamento à base de solventes orgânicos que iniciam e estimulam a autólise (WAGNER, SCENI; RAMBALA, 2008).

Os solventes orgânicos servem para romper muitos tipos de células e podem ser qualificados como um meio tradicional de ataque. Não são empregados para ruptura em escala industrial por diversas razões, entre elas o alto custo e a toxicidade (TREVAN *et al.*, 1990). As rupturas químicas mais utilizadas são as que empregam o dimetilsulfóxido (DMSO) ou o tolueno, sendo que ambos alteram a composição das membranas, aumentando a sua permeabilidade (WAGNER, SCENI; RAMBALA, 2008).

Os solventes orgânicos conseguem romper muitos tipos de células e podem ser qualificados como um meio tradicional de ataque. Em escala industrial não são empregados, devido ao alto custo e toxicidade. (TREVAN *et al.*, 1990). Entretanto, alguns solventes orgânicos são permitidos para uso nas indústrias, principalmente na de alimentos, sendo que o uso e suas concentrações dependem do tipo de alimento onde eles serão empregados (FOOD AND DRUG REGULATION, 2005). Os solventes mais utilizados nas rupturas celulares são o dimetilsulfóxido (DMSO) ou o tolueno, sendo que ambos alteram a composição das membranas, aumentando a sua permeabilidade (WAGNER, SCENI; RAMBALA, 2008).

Os ácidos clorídrico, acético e láctico, foram utilizados na ruptura celular alguns microorganismos (NI *et al.*, (008).

Enzimas líticas são enzimas envolvidas na quebra da parede celular de leveduras e fungos, podendo ser utilizadas para a obtenção de diferentes produtos intracelulares (FLEURI; SATO, 2010). O mecanismo de rompimento como o uso de enzimas é baseado no fato de que a pressão osmótica interna rompe a membrana, ou parte dela, permitindo que o conteúdo intracelular seja liberado para o meio externo. As vantagens desse mecanismo são: fácil controle do pH e da temperatura do meio, baixo investimento de capital, alta especificidade para degradação da parede celular e uso em associação com métodos mecânicos. As enzimas agem sinergicamente na lise da parede celular, mas somente duas são essenciais para o rompimento da célula: a protease lítica específica, que degrada a camada externa de mananaproteína; e a β -1,3-glucanase lítica, que degrada a camada interna de glucana, implicando no rompimento celular por diferença de pressão osmótica (FLEURI; SATO, 2005). A eficácia de enzimas na lise dos componentes da parede celular pode variar dependendo do estágio de crescimento celular, do gênero e da espécie do microorganismo.

3 | TÉCNICAS DE EXTRAÇÃO LIPÍDICA DE ALGAS

3.1 Extração por solvente

A máxima “semelhante dissolve semelhante” descreve sucintamente o princípio básico que está por trás da extração lipídica de microalgas usando solventes (HALIM *et al.*, 2012), uma vez que prevê interações intermoleculares com polaridades semelhantes. Um solvente ideal requer altos níveis de especificidade para os lipídios, além de ser volátil o suficiente para garantir uma separação de baixa energia. A extração pode usar solventes não polares, como hexano, benzeno, tolueno, éter dietílico, clorofórmio e solventes polares como metanol, acetona, acetato de etila e etanol. Os solventes não polares interrompem as interações hidrofóbicas entre os lipídios não polares e neutros, disponíveis na biomassa das algas (MUBARAK *et al.*, 2015).

Um mecanismo de extração utilizando solventes orgânicos foi proposto por Halim *et al.* (2012) e é mostrado na Figura 1. Quando uma célula microalgal é exposta a um solvente orgânico apolar, como hexano ou clorofórmio, o solvente orgânico penetra através da membrana celular (etapa 1) e interage com os lipídios através de forças de van der Waals (etapa 2) para formar um complexo solvente orgânico-lipídio (etapa 3). Este complexo, impulsionado por um gradiente de concentração, se difunde através da membrana celular (etapa 4) e os lipídios são extraídos das células e permanecem dissolvidos no solvente orgânico (etapa 5). No entanto, alguns lipídios anfipáticos, encontrados no citoplasma, estão fortemente ligados a proteínas na membrana celular por ligações de hidrogênio. Interações de van der Waals formadas entre o solvente orgânico apolar e os lipídios anfipáticos no complexo são inadequados para interromper as associações lipídio-proteína. Assim, solventes orgânicos polares (metanol, por exemplo) são capazes de interromper essas associações formando ligações de hidrogênio com os lipídios no complexo (KATES 1972; MEDINA *et al.*, 1998). A metade inferior da Figura 3 mostra as cinco etapas pelas quais a mistura de solventes orgânicos (apolar/polar) passa, buscando facilitar a extração dos complexos lipídios que estão associados a proteínas.

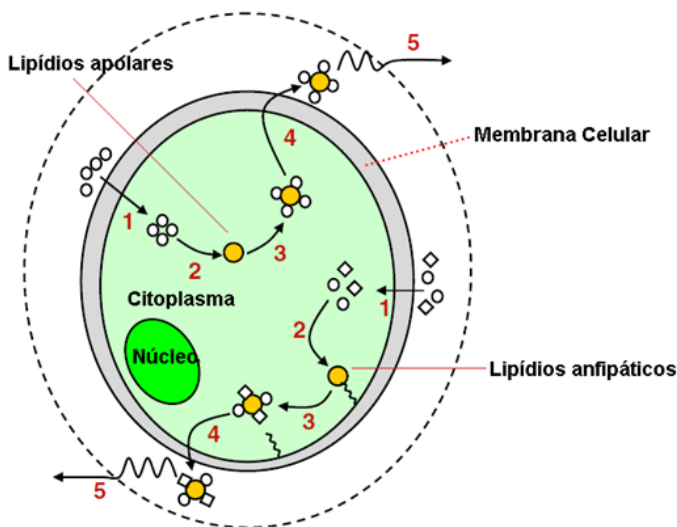


Figura 1 – Diagrama esquemático do mecanismo de extração lipídica por solvente orgânico, composto por cinco etapas. Onde: ○ solvente orgânico não polar, ◇ solvente orgânico polar

Na extração por solventes podemos citar o método de Folch *et al.* (1957) e o método de Bligh e Dyer (1959), que são métodos de extração a frio onde a qualidade da fração lipídica não é afetada. A combinação dos solventes utilizados na extração, para ambos os métodos, pode mudar com base na polaridade dos lipídios presentes nas espécies das algas.

O método de Folch *et al.* (1957) é a técnica de extração mais popular, em que vários solventes orgânicos ou mistura de diferentes solventes são utilizados para extrair seletivamente lipídios das microalgas. A combinação mais comum é clorofórmio e metanol na proporção de 2:1 por volume, seguida pela adição de uma solução de cloreto de potássio, visando uma melhor separação das fases. Após a adição da amostra na mistura de solventes, toda a mistura é agitada suavemente (cerca de 20-25 min) seguida por centrifugação (2000 rpm) ou filtração para recuperar a fase líquida. O manuseio rápido e fácil de grandes quantidades de amostras é a principal vantagem desse método.

O método de Bligh e Dyer (1959) é uma versão simplificada do método de Folch, propondo uma rápida extração e purificação de lipídios totais. Utiliza clorofórmio, metanol e água na proporção de 2:1:0,8 por volume, onde ocorre a formação de um sistema bifásico, a partir das proporções de solventes adicionados durante o processo de extração. Esta separação de fases está baseada na teoria do equilíbrio líquido-líquido desses três componentes (clorofórmio/metanol/água). Neste método, as proteínas da amostra são precipitadas entre as duas fases lipídicas, tanto a extração quanto a partição lipídica são realizadas simultaneamente. Vários trabalhos foram relatados na literatura usando o método de Bligh e Dyer para extração de lipídios (GRIFFITHS *et al.*, 2010; CHENG *et al.*,

2011; WIDJAJA *et al.*, 2009) e formas modificadas também foram usadas (LEE *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2012). O uso de solventes tóxicos como hexano e clorofórmio causa riscos adversos a saúde e ao meio ambiente e é a principal desvantagem do método de extração por solvente do óleo de algas (ARESTA *et al.*, 2005).

Outro método químico inclui a extração por Soxhlet, no qual um solvente orgânico é usado para remover o óleo da alga através de repetidas lavagens. O aparelho Soxhlet consiste em três compartimentos principais: um balão de fundo redondo, continuamente aquecido, um extrator do tipo Soxhlet para conter a biomassa microalgal e um condensador para resfriamento contínuo. Considerando que, durante os ciclos de evaporação e condensação do solvente, o aparelho de Soxhlet realiza o processo continuamente e restabelece a biomassa com solventes orgânicos frescos, podemos pensar nesse método como uma forma de minimizar o consumo de produtos químicos (HALIM *et al.*, 2012). Embora essa técnica de extração reduza a quantidade de solventes tóxicos, o tempo de execução mais longo é a principal desvantagem. Além disso, procedimentos com refluxo de solvente por muitas horas devem ser evitados, já que favorecem as reações de peroxidação e de hidrólise, as quais podem comprometer a quantificação de certos componentes lipídicos (KATES, 1972).

3.2 Uso de Fluídos Supercríticos

Os fluidos supercríticos são considerados adequados como um método de extração por solvente. Neste método o dióxido de carbono líquido, solvente de baixa toxicidade, é aquecido e usado como solvente para a extração do óleo. O CO₂ supercrítico (SC-CO₂) é comumente usado para a maioria das extrações de fluido supercrítico devido à sua pressão crítica moderada (7,4 MPa) e a baixa temperatura crítica (31,1 °C) (WANG e WELLER, 2006). As variáveis operacionais que influenciam o desempenho da extração de lipídios são pressão, temperatura e taxa de fluxo de fluido. As condições ideais dessas variáveis são importantes para reduzir a necessidade de energia e maximizar o rendimento lipídico na extração. Halim *et al.* (2011) avaliaram o desempenho da extração lipídica da *Chlorococcum sp.* utilizando SC-CO₂ e hexano, baseado nos rendimentos e na composição de ácidos graxos. O rendimento lipídico diminuiu com o aumento da temperatura e da pressão usando SC-CO₂. Eles também relataram que a extração por Soxhlet, usando hexano, levou 5 a 6 vezes o tempo necessário para extração com SC-CO₂ para alcançar um rendimento lipídico comparável de 0,058 g de lipídio/g de microalga seca. Além disso, o uso de co-solventes, como o etanol, com SC-CO₂ pode aumentar o rendimento de extração lipídica. A técnica de extração de fluido supercrítico usa solventes menos tóxicos para extração lipídica, contudo o investimento de capital inicial em equipamento é muito alto.

4 | EFEITO DO PRÉ-TRATAMENTO NA EXTRAÇÃO LIPÍDICA

Dependendo do tipo de biomassa, é recomendado um pré-tratamento antes da extração lipídica. O pré-tratamento ajuda a promover a ruptura celular das microalgas induzindo a extração de lipídios, ou seja, liberando-os das estruturas celulares com maior facilidade (MUBARAK et al., 2015). Os métodos de pré-tratamento podem ser mecânicos ou não mecânicos.

Os métodos mecânicos incluem homogeneização em alta pressão, ultrassonicação, moagem, autoclave, liofilização e micro-ondas. Os métodos não mecânicos envolvem o tratamento das células com ácidos, álcalis, enzimas e choques osmóticos (HALIM et al., 2012).

McMillan et al. (2013) analisaram diferentes métodos de pré-tratamento, como micro-ondas, banho-maria, *blender*, ultrassom e laser para romper a parede celular da microalga *Nannochloropsis oculata*. O requisito da temperatura relativamente baixa tornou o método de ruptura celular por ultrassonicação a melhor escolha, quando comparado aos métodos de micro-ondas e autoclave. As condições necessárias para a sonicação foram importantes para reduzir a entrada de energia e melhorar a qualidade dos lipídios da biomassa das algas.

Assim, encontrar o método mais eficiente e as condições ideais para a extração lipídica são importantes para redução dos custos na produção de biodiesel a partir de óleo de microalgas. De acordo com Mubarak et al. (2015), a adoção de um único método de extração pode não ser suficiente para obter o rendimento máximo das algas. Portanto, métodos de pré-tratamento, como métodos assistidos por micro-ondas ou ultrassom, combinados com extração por solvente, podem render o máximo da quantidade de lipídios das algas.

5 | ESTUDO MULTIVARIADO DAS CONDIÇÕES DE EXTRAÇÃO LIPÍDICA

Os protocolos de extração lipídica foram realizados de acordo com a literatura, com algumas modificações (BLIGH e DYER, 1959). Em um procedimento típico, 2 g de biomassa de microalga seca foi suspensa em 30 mL de uma mistura de solventes (clorofórmio:metanol ou clorofórmio:etanol) e mantida em ultrassonicação ou agitação magnética sob condições específicas, as quais estão descritas na Tabela 1. Em seguida, o resíduo de biomassa foi separado da fase orgânica por filtração e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida para obtenção do óleo. Todas as extrações foram realizadas em triplicata. (Dall'oglio et al. 2019). Um planejamento fatorial completo com quatro variáveis independentes (2^4) foi usado para avaliar a significância dos efeitos e as interações das variáveis na extração dos lipídios. A biomassa algal obtida no processo de secagem foi submetida a diferentes técnicas de rompimento. As variáveis avaliadas para o planejamento experimental I foram: mistura de solventes, método de extração, tempo de extração e pré-tratamento, conforme a

Tabela 1. Os métodos de extração utilizados foram ultrassom a 60 °C e agitação magnética. Os 16 ensaios foram realizados aleatoriamente em 5 dias para evitar erros sistemáticos. A resposta foi analisada como a quantidade de lipídios obtidos em relação à massa de microalgas utilizada, expressa em porcentagem.

| Variáveis | Símbolos | Nível Fatorial | |
|-----------------------|----------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | | -1 | +1 |
| Mistura de Solventes | X ₁ | CHCl ₃ :EtOH (2:1) | CHCl ₃ :MeOH (2:1) |
| Método de Extração | X ₂ | Ultrassonificação a 60 °C | Agitação Magnética a 60 °C |
| Tempo de Extração (h) | X ₃ | 1 | 2 |
| Pré-tratamento | X ₄ | Banho de Água | Forno |

Tabela 1 – Planejamento fatorial completo 2⁴ para a mistura de solventes, técnica de extração, tempo de extração e pré-tratamento (Planejamento Experimental I).

Com base nos resultados do planejamento experimental I, outro planejamento fatorial completo 2⁴ (planejamento experimental II), que avaliaria qualquer outra interação possível, foi proposto. As variáveis avaliadas para o planejamento experimental II são apresentadas na Tabela 2.

| Variáveis | Símbolos | Nível Fatorial | |
|---------------------------------------|----------------|-------------------------------|-------------------------------|
| | | -1 | +1 |
| Mistura de Solventes | X ₁ | CHCl ₃ :EtOH (2:1) | CHCl ₃ :MeOH (2:1) |
| Agitação Magnética / Temperatura (°C) | X ₂ | 60 | 150 |
| Tempo de Extração (h) | X ₃ | 1 | 2 |
| Pré-tratamento | X ₄ | Banho de Água | Forno |

Tabela 2 – Planejamento fatorial completo 2⁴ para a mistura de solventes, temperatura de extração, tempo de extração e pré-tratamento (Planejamento Experimental II).

Para o planejamento experimental II, 16 experimentos foram realizados. Como última investigação, foi considerado o tempo de extração, com base no planejamento experimental I. Nesse contexto, as diferenças entre as respostas para 2, 4 e 6 h de tempo de extração (realizadas em triplicata), utilizando ultrassonificação a 60 °C como método de extração, CHCl₃:MeOH (2:1) como solvente e banho-maria como pré-tratamento, foram avaliadas por meio da análise de variância unilateral (ANOVA unilateral).

A variável dependente corresponde a quantidade de lipídio obtida em relação a massa de microalga utilizada, expressa em porcentagem.

Para estratégia proposta, as variáveis independentes foram qualitativas e quantitativas, ou seja, o tempo de extração é o parâmetro quantitativo e os demais são os parâmetros qualitativos. A Tabela 3 mostra o resultado dos ensaios experimentais (16 execuções) para a extração lipídica, apresentando os níveis codificados das variáveis (conforme a Tabela 1). Os experimentos foram realizados de forma aleatória, em um período de 5 dias.

| Experimentos | Variáveis ¹ | | | | Rendimento total de lipídios (%) |
|--------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------------------------|
| | X ₁ | X ₂ | X ₃ | X ₄ | |
| 1 | -1 | -1 | -1 | -1 | 6,39 |
| 2 | -1 | -1 | -1 | +1 | 2,81 |
| 3 | -1 | -1 | +1 | -1 | 5,26 |
| 4 | -1 | -1 | +1 | +1 | 4,79 |
| 5 | -1 | +1 | -1 | -1 | 4,17 |
| 6 | -1 | +1 | -1 | +1 | 4,39 |
| 7 | -1 | +1 | +1 | -1 | 5,13 |
| 8 | -1 | +1 | +1 | +1 | 4,19 |
| 9 | +1 | -1 | -1 | -1 | 7,50 |
| 10 | +1 | -1 | -1 | +1 | 5,90 |
| 11 | +1 | -1 | +1 | -1 | 6,23 |
| 12 | +1 | -1 | +1 | +1 | 7,70 |
| 13 | +1 | +1 | -1 | -1 | 6,29 |
| 14 | +1 | +1 | -1 | +1 | 5,48 |
| 15 | +1 | +1 | +1 | -1 | 6,06 |
| 16 | +1 | +1 | +1 | +1 | 5,72 |

Tabela 3 – Planejamento Experimental I (planejamento fatorial completo 2⁴) e respostas (rendimento total de lipídios) obtidas para cada experimento.

¹ De acordo com as descrições da Tabela 1.

O gráfico de Pareto (Figura 2), resultante da estimativa de efeitos padronizados do planejamento experimental I para cada interação e fator, mostra a magnitude e a importância dos parâmetros. A linha tracejada horizontal corresponde ao valor da distribuição *t* de Student com 95% de confiança ($p = 0,05$) e graus de liberdade adequados. Portanto, os efeitos individuais ou interações que ultrapassam a linha tracejada horizontal são significativos. Percebe-se que o único parâmetro significativo para a extração é a mistura de solventes. O valor positivo sugere que a maximização da resposta (aumento do rendimento total de lipídios) ocorre no nível mais alto, ou seja, com a proporção de CHCl₃:MeOH de 2:1. Esses dados estão de acordo com a literatura, Cho et al. (2012), em uma abordagem univariada,

obteve esse parâmetro (mistura de solventes de $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$ de 2:1) como o mais significativo também para a extração de lipídios da *Scenedesmus obliquus*. Abomohra et al. (2016) apresentam dados semelhantes. No entanto, é importante enfatizar que em análises univariadas a maximização da resposta só é encontrada em certas condições especiais, correspondentes aquelas cujas interações das variáveis tem pouca ou nenhuma influência no domínio experimental escolhido. Uma vez que a ausência de interações a priori nunca é conhecida, uma abordagem multivariada deve sempre ser feita. Os efeitos das outras variáveis, ou seja, método de extração, tempo e pré-tratamento não foram significativos, uma vez que não são estatisticamente diferentes da variação experimental.

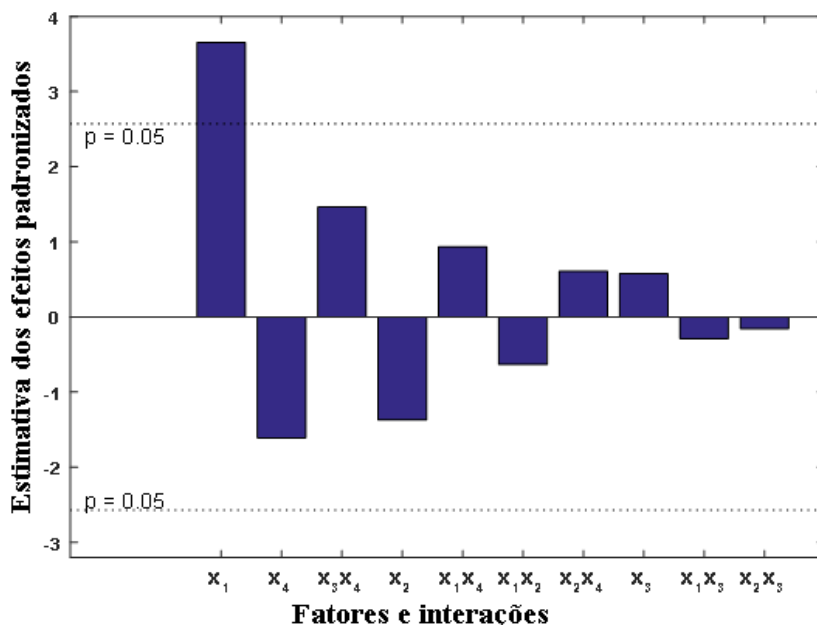


Figura 2 – Gráfico de Pareto para o planejamento experimental I com uma linha tracejada na horizontal correspondendo a um nível de significância de $p = 0,05$, que indica a significância da mistura de solventes para a extração lipídica. Os símbolos são apresentados na Tabela 1; X_iX_j representa a interação entre os fatores i e j .

É relevante notar que, apesar do gráfico de Pareto (Figura 5 - planejamento experimental I) revelar uma informação muito importante para a otimização da extração lipídica, diferentes níveis de temperatura não foram considerados. Anteriormente, as análises eram todas realizadas a $60\text{ }^\circ\text{C}$, tanto para extrações assistidas por ultrassom como por agitação magnética. A extração assistida por ultrassonicação ocorre necessariamente na fase líquida, ou seja, o procedimento deve ser realizado sob o ponto de ebulição do solvente, onde a cavitação provoca a formação de microbolhas (ALBAHARI et al., 2018).

Alternativamente, o método assistido por agitação magnética pode ser aplicado sob diferentes temperaturas. Portanto, um segundo planejamento experimental (planejamento experimental II) foi proposto para investigar qualquer efeito estatístico significativo envolvendo a temperatura e/ou suas interações com outras variáveis na extração.

Os experimentos de extração foram realizados em planejamento fatorial completo 2^4 , e os resultados com 16 experimentações são mostrados na Tabela 4. Os níveis codificados das variáveis podem ser vistos na Tabela 2. Os experimentos foram realizados de forma aleatória em um período de 5 dias.

| Experimentos | Variáveis ¹ | | | | Rendimento total de lipídios (%) |
|--------------|------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------------------------|
| | X ₁ | X ₂ | X ₃ | X ₄ | |
| 1 | -1 | -1 | -1 | -1 | 4,17 |
| 2 | -1 | -1 | -1 | +1 | 3,37 |
| 3 | -1 | -1 | +1 | -1 | 4,47 |
| 4 | -1 | -1 | +1 | +1 | 2,47 |
| 5 | -1 | +1 | -1 | -1 | 5,13 |
| 6 | -1 | +1 | -1 | +1 | 4,19 |
| 7 | -1 | +1 | +1 | -1 | 5,02 |
| 8 | -1 | +1 | +1 | +1 | 3,65 |
| 9 | +1 | -1 | -1 | -1 | 6,29 |
| 10 | +1 | -1 | -1 | +1 | 5,48 |
| 11 | +1 | -1 | +1 | -1 | 5,38 |
| 12 | +1 | -1 | +1 | +1 | 6,52 |
| 13 | +1 | +1 | -1 | -1 | 6,06 |
| 14 | +1 | +1 | -1 | +1 | 6,88 |
| 15 | +1 | +1 | +1 | -1 | 5,19 |
| 16 | +1 | +1 | +1 | +1 | 4,49 |

Tabela 4 – Planejamento Experimental II (Planejamento fatorial completo 2^4) e respostas (rendimento total de lipídios) obtidas para cada experimento.

¹ De acordo com as descrições da Tabela 2.

A Figura 3 apresenta o gráfico de Pareto, resultante do planejamento experimental II.

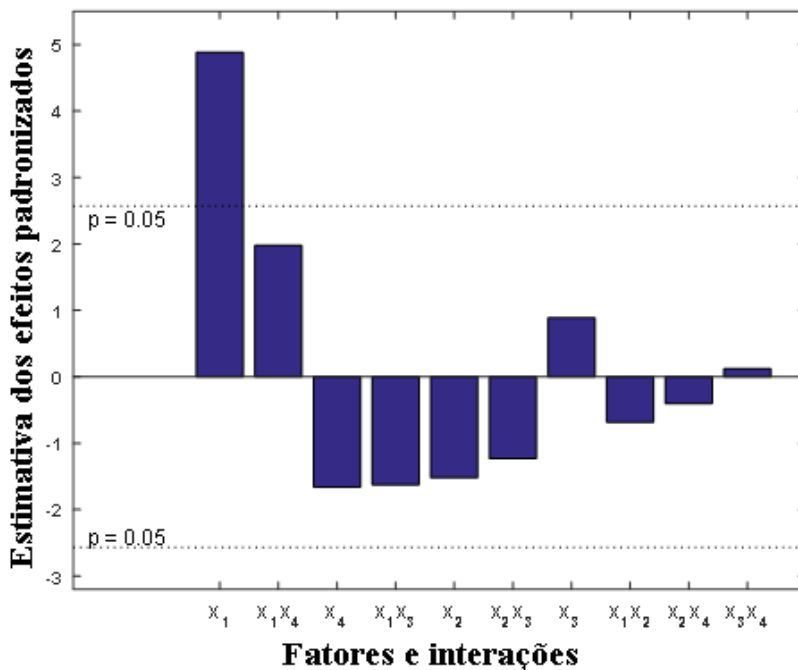


Figura 3 – Gráfico de Pareto para o planejamento experimental II com uma linha tracejada horizontal correspondendo a um nível de significância de $p = 0,05$, que indica a significância da mistura de solventes para a extração de lipídios. Os símbolos são apresentados na Tabela 3; X_iX_j representa a interação entre os fatores i e j .

A Figura 6 (gráfico de Pareto) mostra novamente que o único fator significativo é a mistura de solventes. Os demais fatores não apresentam interação significativa entre si para produzir a maximização das respostas. Ambos os planejamentos experimentais sugerem o seguinte:

1 – a proporção de 2:1 (CHCl_3 :MeOH) foi a melhor para maximizar a extração de lipídios da microalga da espécie *Scenedesmus sp.*;

2 – a composição de solventes não interage significativamente com as técnicas de extração (ultrassonicação e agitação magnética) nem com os tempos de extração;

3 – também não há interação significativa com a temperatura entre os níveis de 60 e 150 °C, utilizando a agitação magnética como método de extração;

4 – os procedimentos de pré-tratamento não são significativos e não interagem com as demais variáveis e;

5 – tempos de 1 e 2 h não diferem significativamente no que diz respeito ao teor de lipídios extraídos.

Diante dos resultados, a última investigação foi realizada com relação ao tempo de extração, a fim de verificar se os tempos de 4 e 6 h aumentariam a extração lipídica já que antes eram considerados apenas 1 e 2 h.

Assim, com base no planejamento experimental I e no efeito dos parâmetros primários, o uso de banho-maria, CHCl₃:MeOH (2:1) e ultrassonicação a 60 °C foram mantidos como pré-tratamento, mistura de solventes e método de extração, respectivamente. Os efeitos do banho-maria e ultrassom apresentam sinais negativos de acordo com o planejamento experimental proposto anteriormente, sugerindo que a resposta aumenta nos níveis mais baixos. *One-way* ANOVA foi usada para avaliar o tempo de extração (2, 4 e 6 h). As análises foram realizadas em triplicata nas condições citadas acima e os resultados são apresentados na Tabela 5.

| Tempo de Extração | Rendimento total de lipídios (%) | | |
|-------------------|----------------------------------|------|------|
| 2 | 6,23 | 5,91 | 6,06 |
| 4 | 5,17 | 5,98 | 7,65 |
| 6 | 6,32 | 5,88 | 7,17 |

Tabela 5 – Rendimento total de lipídios obtido da *Scenedesmus sp.* para tempos de extração diferentes. Condições experimentais: banho-maria, extração por ultrassom a 60 °C e CHCl₃:MeOH (2:1).

A Análise de Variância, Tabela 6, mostra que o tempo de extração não foi significativo no rendimento total de lipídios ($F = 3,04$, $p = 0,1223$), indicando que nas condições estudadas a extração não melhora expressivamente devido ao aumento do tempo, ou seja, o tempo de 2 h é suficiente para promover a liberação dos lipídios das células da microalga. Nesse ponto, vale ressaltar que a ausência de interações significativas verificadas no planejamento experimental I e os conhecimentos aqui desenvolvidos estimulariam a realização de um estudo univariado, mesmo com a modificação dos níveis de tempo. Porém, de acordo com o que foi exposto até o momento, a abordagem multivariada proposta é vantajosa no que diz respeito a redução do número de experimentos, tempo e energia.

| Fonte de Variação | ANOVA | | | | |
|-------------------|--------------------|--------------------|------------------|------|--------|
| | Soma dos Quadrados | Graus de Liberdade | Quadrados Médios | F | p |
| Entre o Grupo | 2,18447 | 2 | 1,09223 | 3,04 | 0,1223 |
| Dentro do Grupo | 2,15353 | 6 | 0,35892 | | |
| Total | 4,338 | 8 | | | |

Tabela 6 – ANOVA avaliando o efeito do tempo de extração (2, 4 e 6 h) na porcentagem de lipídios da microalga *Scenedesmus sp.*

Algumas espécies de microalgas pertencentes ao gênero *Scenedesmus* (*sp. obliquus*, *acutus*, *abundans*, *vacuolatus*, etc) são candidatas promissoras para produção de biodiesel. Numerosos estudos têm apontado à eficiência dessas microalgas na remoção de nutrientes de diferentes tipos de águas residuais, bem como apresentam informações a cerca da produtividade da biomassa dessas espécies. No entanto, poucos estudos comparam diferentes técnicas de ruptura celular para a extração de lipídios da *Scenedesmus sp.*

Guldhe et al. (2014) extraíram lipídios da biomassa seca da *Scenedesmus sp.* utilizando micro-ondas e sonicação para ruptura celular, na presença de clorofórmio e etanol (1:1). A extração assistida por micro-ondas rendeu 28,33% de lipídios bruto em comparação com 18,9% obtida por sonicação.

Jebali et al. (2015) isolaram *Scenedesmus sp.* do nordeste da Tunísia e cultivaram esta alga em águas residuais. Utilizaram o método descrito por Kochert para extração lipídica e obtiveram um conteúdo lipídico de 14,8%.

Ye et al. (2020) isolaram cepas da *Scenedesmus sp.* da região do Corredor de Hexi, China, a fim de produzir alto conteúdo de lipídios usando águas residuais como meio de cultura. Os lipídios foram extraídos usando o método de Bligh e Dyer (1959), obtendo um teor de lipídios de 15,56%.

Abomohra et al. (2018) selecionaram treze microalgas de água doce para produção de biodiesel, contudo os estudos não incluem a *Scenedesmus sp.* Porém, após comparações os autores sugerem que uma microalga do gênero *Scenedesmus* (a *S. obliquus*) é a mais promissora para produção de biodiesel em larga escala devido sua alta taxa de crescimento e por apresentar o maior teor de lipídios (19%) entre as espécies testadas. A extração de lipídios foi realizada pelo método Folch (1957), com modificações.

6 | CONCLUSÃO

O presente trabalho destaca o uso de técnicas de ruptura de células de algas bem como extração de lipídeos. As técnicas podem ser físicas ou químicas, entretanto, os melhores resultados são encontrados quando se faz o uso de duas técnicas concomitantemente. O estudo multivariado da extração de lipídios totais da *Scenedesmus sp.*, usando planejamento fatorial completo 2^4 e *One-way* ANOVA mostrou que a ultrassonicação por 2 horas em meio de CHCl_3 :MeOH (2:1) foi a melhor escolha. Comprovou-se que o único parâmetro significativo foi a mistura de solventes e que essa variável não interage significativamente com as demais variáveis. O método de extração utilizado neste trabalho pode ser facilmente aplicado em outros laboratórios de pesquisa devido a necessidade de um equipamento de ultrassom de baixo custo. Embora este estudo incentive um análise univariado quando comparado com a literatura, a otimização multivariada aqui relatada é altamente vantajosa devido a redução do número de experimentos, o que promove a otimização do tempo,

gasto de energia e consumo de reagentes. Além disso, o perfil de ácidos graxos apresentou uma elevada quantidade de compostos saturados e monoinsaturados, o que indica seu caráter adequado para produção de biodiesel.

REFERÊNCIAS

- ABOMOHR, A. E-F.; JIN, W.; SAGAR, V.; ISMAIL, G. A. Optimization of chemical flocculation of *Scenedesmus obliquus* grown on municipal wastewater for improved biodiesel recovery. **Renewable Energy**, v. 115, p. 880-886, 2018.
- ALBAHARI, P.; JUG, M.; RADIĆ, K.; JURMANOVIĆ, S.; BRNČIĆ, M.; BRNČIĆ, S. R.; VITALI ČEPO, D. Characterization of olive pomace extract obtained by cyclodextrin-enhanced pulsed ultrasound assisted extraction. **LWT - Food Sci. Technol.**, v. 92, p. 22-31 2018.
- ARESTA, M.; DIBENEDETTO, A.; CARONE, M.; COLONNA, T.; FRAGALE, C. Production of biodiesel from macroalgae by supercritical CO₂ extraction and thermochemical liquefaction. **Environ. Chem. Lett.**, v. 3 p. 136–139, 2005.
- BALAT, M. Potential alternatives to edible oils for biodiesel production – A review of current work. **Energy Convers. Manag.**, v. 52, p. 1479-1492, 2011.
- BAICHA, Z.; SALAR-GARCÍA, M.; ORTIZ-MARTÍNEZ, V.; HERNÁNDEZ-FERNÁNDEZ, F.; DE LOS RÍOS, A.; LABJAR, N.; LOTFI, E.; ELMAHI, M. A critical review on microalgae as an alternative source for bioenergy production: A promising low cost substrate for microbial fuel cells. **Fuel Process. Technol.**, v. 154, p. 104-116, 2016.
- BARCLAY, W., MEAGER, K., ABRIL, J. Heterotrophic production of long chain omega-3 fatty acids utilizing algae and algae-like microorganisms, **J. Appl. Phycol.** v. 6, p. 123-129, 1994.
- BHARGAVI, G.; NAGESWARA RAO, P.; RENGANATHAN, S. Review on the Extraction Methods of Crude oil from all Generation Biofuels in last few Decades. **IOP Conf. Ser. Mater. Sci. Eng.**, v. 330, p. 1-19, 2018.
- BLIGH, E.G.; DYER, W.J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Can. J. Biochem. Physiol.**, v. 37, p. 911-917, 1959.
- CAMEL, V. Microwave-assisted solvent extraction of environmental samples. **Trends in analytical chemistry**, v. 19, n. 4, p. 20, 2000.
- CAÑAVATE, J. P.; FERNÁNDEZ-DÍAZ, C. Pilot evaluation of freeze-dried microalgae in the mass rearing of gilthead seabream (*Sparus aurata*) larvae. **Aquaculture**, v. 193, p. 257-269, 2001.
- CHENG, C.H.; DU, T.B.; PI, H.C.; JANG, S.M.; LIN, Y.H.; LEE, H.T. Comparative study of lipid extraction from microalgae by organic solvent and supercritical CO₂. **Bioresour. Technol.**, v. 102, p. 10151–10153, 2011.
- CHEN, R.; QIN, Z.; HAN, J.; WANG, M.; TAHERIPOUR, F.; TYNER, W.; O'CONNOR, D.; DUFFIELD, J. Life cycle energy and greenhouse gas emission effects of biodiesel in the United States with induced land use change impacts. **Bioresour. Technol.**, v. 251, p. 249-258, 2018.

CHO, S.C.; CHOI, W.Y.; OH, S.H.; LEE, C.G.; SEO, Y.C.; KIM, J.S.; SONG, C.H.; KIM, G.V.; LEE, S.Y.; KANG, D.H.; LEE, H.Y. Enhancement of Lipid Extraction from Marine Microalga, *Scenedesmus* Associated with High-Pressure Homogenization Process. **J. Biomed. Biotechnol.**, 2012

DALL'OGGIO, D. F., SOUSA, L. C., SOUSA, S. A. A., GARCIA, M. A. S., SOUSA, E., LIMA, S. G., COSTA, P. S., GULDHE, A., BUX, F., MOURA, E. M., MOURA, C. V. R. Using a Multivariate Approach to Compare Lipid Extraction Protocols from Microalgae *Scenedesmus* sp. **J. Braz. Chem. Soc.**, v. 30, n° 3, p. 633-640, 2019.

FLEURI, L. F.; SATO, H. H. Produção, purificação, clonagem e aplicação de enzimas líticas. **Química Nova**, v. 28, n. 5, p. 871-879, 2005.

FOLCH J.; LEES M.; SLOANE STANLEY G.H. A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues. **J Biol Chem.**, v. 226, p. 497-509, 1957.

FOOD AND DRUG REGULATION. Disponível em: <http://laws.justice.gc.ca/en/F-27/C.R.C.-c.870/124366.html#rid-12437>, Department of justice, Canada, 2005.

GECIOVA, J.; BURY, D.; JELEN, P. Methods for disruption of microbial cells for potential use in the dairy industry - a review. **International Dairy Journal**, v. 12, p. 541-553, 2002.

GHASEMI NAGHDI, F.; GONZÁLEZ GONZÁLEZ, L. M.; CHAN, W.; SCHENK, P. M. Progress on lipid extraction from wet algal biomass for biodiesel production. **Microb. Biotechnol.**, v. 9, p. 718-726, 2016.

GONZÁLEZ, P.M., PILONI, N.E., PUNTARULO, S.,. In: Catala, Angel (Ed.), Iron Overload and Lipid Peroxidation in Biological Systems. Lipid Peroxidation. 2012. Disponível em: <http://www.intechopen.com/books/lipid-peroxidation/iron-overload-and-lipidperoxidation-in-biological-systems>

GREENLY, J. M., TESTER, J. W. Ultrasonic cavitation for disruption of microalgae. **Bioresource Technology**, v 184, p. 276-279, 2015.

GRIFFITHS, M.J.; VAN HILLE, R.P.; HARRISON, S.T. Selection of direct transesterification as the preferred method for assay of fatty acid content of microalgae, **Lipids**, v. 45 p. 1053-1060, 2010.

GULDHE, A.; SINGH, B.; RAWAT, I.; RAMLUCKAN, K.; BUX, F. Efficacy of drying and cell disruption techniques on lipid recovery from microalgae for biodiesel production. **Fuel**, v. 128, p. 46-52, 2014.

HALIM, R.; HARUN, R.; DANQUAH, M.K.; WEBLEY, P.A. Microalgal cell disruption for biofuel development, **Appl. Energy**, v. 91 p. 116-121, 2012.

HARA, A.; RADIN NS. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. **Analytical Biochem.**, v. 90, p. 420-426, 1978.

HARUN, R., SINGH, M., FORDE, G.M., DANQUAH, M.K. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renew. Sust. Energ. Rev.**, v 14, p. 1037-1047, 2010.

JEBALI, A.; ACIÉN, F. G.; GÓMEZ, C.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MHIRI, N.; KARRAY, F.; DHOUB, A.; MOLINA-GRIMA, E.; SAYADI, S. Selection of native Tunisian microalgae for simultaneous wastewater treatment and biofuel production. **Bioresource Technology**, 2015.

KATES, M. Techniques of lipidology: isolation, analysis and identification of lipids. Elsevier Applied Science: London, 1972, cap. 2.

KHAN, S.A., RASHMI, HUSSAIN, M.Z., PRASAD, S., BANERJEE, U.C. Prospects of biodiesel production from microalgae in India. **Renew. Sust. Energ. Rev.** v. 13, p. 2361–2372, 2009.

KUMAR, R. R., RAO, P. H., ARUMUGAM, M., Lipid extraction methods from microalgae: a comprehensive review. *Frontiers in Energy Research*, v. 2, p. 61, 2015.

LEE, A. K.; LEWIS, D. M.; ASHMAN, P. J. Microbial flocculation, a potentially lowcost harvesting technique for marine microalgae for the production of biodiesel. **Journal of Applied Phycology**, v. 21, n. 5, p. 559-567, 2008. ISSN 0921-8971/1573-5176.

LEE, J.Y.; YOO, C.; JUN, S.Y.; AHN, C.Y.; OH, H.M. Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. **Bioresour. Technol.**, v. 101, p. S75-S77, 2010.

MAHESAR, S. A.; SHERAZI, S. T.; ABRO, K.; KANDHRO, A.; BHANGER, M. I.; VAN DE VOORT, F. R.; SEDMAN, J. Application of microwave heating for the fast extraction of fat content from the poultry feeds. **Talanta**, v. 75, n. 5, p. 1240-1244, 2008.

MATA, T.M., MARTINS, A.A., CAETANO, N.S. Microalgae for biodiesel production and other applications: a review. **Renew. Sust. Energ. Rev.** v. 14, p. 217–232, 2010.

MCMILLAN, J.R.; WATSON, I.A.; ALI, M.; JAAFAR, W. Evaluation and comparison of algal cell disruption methods: microwave, waterbath, blender, ultrasonic and laser treatment. **Appl. Energy**, v. 103 p. 128–134, 2013.

MEDINA, A.R.; GRIMA, E.M.; GIMENEZ, A.G.; IBANEZ, MJ. Downstream processing of algal polyunsaturated fatty acids. **Biotechnology Advances**, v. 16, p. 517–80, 1998.

MIDDELBERG, A. P. J. Process-scale disruption of microorganism. **Biotechnology Advances**, v. 13, n. 3, p. 491-551, 1995.

MISHRA, V. K. & GOSWAMI, R. A review of production, properties and advantages of biodiesel. **Biofuels**, v. 9, n° 2, p. 273-289, 2018.

MOAZAMI, N.; ASHORI, A.; RANJBAR, R.; TANGESTANI, M.; EGHTESEADI, R.; NEJAD, A.S. Largescale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*. **Biomass Bioenergy**, v. 39 p. 449–453, 2012.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHARA, T.V. A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production. **Algal Research**, v. 7, p 117–123, 2015.

NETO, A.M.P.; SOTANA DE SOUZA, R.A.; LEON-NINO, A.D.; DA COSTA, J.D.A.; TIBURCIO, R.S.; NUNES, T.A.; SELLARE DE MELLO, T.C.; KANEMOTO, F.T.; SALDANHA-CORRÉA, F.M.P.; GIANESELLA, S.M.F. Improvement in microalgae lipid extraction using a sonication-assisted method. **Renew. Energy**, v. 55, p. 525–531, 2013.

NI, H.; CHEN, Q.; HE, G.; WU, G.; YANG, Y. Optimization of acidic extraction of astaxanthin from *Phaffia rhodozyma*. **Journal of Zhejiang University Science B**, v. 9, n. 1, p. 51-59, 2008.

OUANJI, F.; KHACHANI, M.; BOUALAG, M.; KACIMI, M.; ZIYAD, M. Large-scale biodiesel production from Moroccan used frying oil. **Int. J. Hydrogen Energy**, v. 41, p. 21022-21029, 2016.

RAMLUCKAN, K., MOODLEY, K. G., BUX, F. An evaluation of the efficacy of using selected solvents for the extraction of lipids from algal biomass by the soxhlet extraction method. **Fuel**, v. 116, p. 103–108, 2014.

RANDRIANARISON, G.; ASHRAF, M. A. Microalgae: a potential plant for energy production. **Geol. Ecol. Landscapes**, v. 1, p. 104-120, 2017.

SCOTT, S. A., DAVEY, M. P., DENNIS, J. S., HORST, I., HOWE, C. J., LE-SMITH, D. J., et al., Biodiesel from algae: challenges and prospects, **Curr. Opin. Biotechnol.** v. 21, p. 277-286, 2010.

SPOLAORE, P., JOANNIS-CASSAN, C., DURAN, E., ISAMBERT, A. Commercial applications of microalgae. **J. Biosci. Bioeng.** v. 101, p. 87–96, 2006.

STERITI, A., ROSSI, R., CONCAS, A., CAO, G. A novel cell disruption technique to enhance lipid extraction from microalgae, **Bioresource Technology**, v.164, 70–77. 2014.

TREVAN, M. D.; BOFFEY, S.; GOULDING, K. H.; STANBURY, P. **Biocología: principios biológicos**. Zaragoza: Editorial Acribia, 1990. ISBN 10: 8420006718

ULLAH, K.; AHMAD, M.; SOFIA; SHARMA, V. K.; LU, P.; HARVEY, A.; ZAFAR, M.; SULTANA, S.; ANYANWU, C.N. Algal biomass as a global source of transport fuels: overview and development perspectives. **Prog. Nat. Sci. Mater. Int.**, v. 24, p. 329-339, 2014.

WAGNER, J. R.; SCENI, P.; RAMBALA, M. A. O. Ruptura celular y fraccionamiento de componentes de levadura. In: WAGNER, J. R.; RAMBALA, M. A. O.; LEGARRETA, I. G. **Las levaduras y sus productos como ingredientes en la industria de alimentos**. 1. ed. Bernal: Universidad Nacional de Quilmes Editorial, p. 215-214, 2008.

WANG, L.; WELLER, C.L. Recent advances in extraction of nutraceuticals from plants. **Trends Food Sci. Technol.**, v. 17 p. 300–312, 2006.

WIDJAJA, A.; CHIEN, C.-C.; JU, Y.-H. Study of increasing lipid production from fresh water microalgae *Chlorella vulgaris*. **J. Taiwan Inst. Chem. Eng.** v. 40 p. 13–20, 2009.

WIJFFLES, R. H., BARBOSA, M. J., EPPINK, M. H. Microalgae for the production of bulk chemicals and biofuels, **Biofuels Bioprod. Biorefin.** V. 4, p. 287-295, 2010.

YAP, B. H. J., CRAWFORD, S. A., DUMSDAY, G. J., SCALES, P. J., MARTIN, G. J. O. A mechanistic study of algal cell disruption and its effect on lipid recovery by solvent extraction. **Algal Research**, v. 5, p. 112–120, 2014.

YE, S.; GAO, L.; ZHAO, J.; AN, M.; WU, H.; LI, M. Simultaneous wastewater treatment and lipid production by *Scenedesmus sp.* HXY2. **Bioresource Technology**, v. 302, p. 1-7, 2020.

CAPÍTULO 4

ALTERNATIVE ROUTE TO SYNTHESIZE A BIOPHENOLIC RESIN FROM TANNIN AND KRAFT BLACK LIQUOR AND ITS APPLICATION AS AN ADSORBENT MATERIAL

Data de aceite: 01/12/2020
Submission date: 05/11/2020

Wardleison Martins Moreira

State University of Maringá, Department of
Technology
Umuarama – Paraná – Brazil
University of Coimbra, CIEPQPF – Department
of Chemical Engineering
Coimbra – Portugal
<https://orcid.org/0000-0002-1187-9300>

Paula Valéria Viotti

State University of Maringá, Department of
Chemical Engineering
Maringá – Paraná – Brazil
<https://orcid.org/0000-0002-3537-8068>

Marcelo Fernandes Vieira

State University of Maringá, Department of
Chemical Engineering
Maringá – Paraná – Brazil
<https://orcid.org/0000-0001-7290-8569>

Cristina Maria dos Santos Gaudêncio Baptista

University of Coimbra, CIEPQPF – Department
of Chemical Engineering
Coimbra – Portugal
<https://orcid.org/0000-0002-7807-0995>

Mara Heloisa Neves Olsen Scaliante

State University of Maringá, Department of
Chemical Engineering
Maringá – Paraná – Brazil
<https://orcid.org/0000-0001-9090-9274>

Marcelino Luiz Gimenes

State University of Maringá, Department of
Chemical Engineering
Maringá – Paraná – Brazil
<https://orcid.org/0000-0003-0061-1082>

ABSTRACT: Nowadays, Kraft liquor is currently burned in the pulp and paper mills to produce energy and recover the chemicals. Therefore, this traditional and overspread process originates a process bottleneck, once the recovery boiler must have the capacity to handle the black liquor production rate. In this work, an alternative application for the Kraft black liquor is addressed. A blend of condensed tannin and black liquor was used to synthesize phenolic resin as an alternative to the conventional petrochemical raw materials. First, the Kraft black liquor was hydroxymethylated with formaldehyde. Then, a polycondensation reaction with tannin occurred which was followed by thermal crosslinking. Textural and structural evaluation of the samples evidenced the resin specific surface area in the range 2 – 6 m² g⁻¹ and a great variety of surface functional groups. Morphological analysis revealed the nodular structure of the material. Finally, the resin possible application for removing emergent organic contaminants was assessed. Methylene blue and methyl orange were used as the model molecules and, after 24 hours, adsorption capacities of 50.76 e 26.28 mg g⁻¹ were achieved, respectively.

KEYWORDS: Polycondensation, Kraft black liquor, Tannin, Biobased phenolic resin, Adsorption.

ROTA ALTERNATIVA DE SÍNTESE DE RESINA BIOFENÓLICA A PARTIR DE TANINO E LICOR NEGRO KRAFT E SUA APLICAÇÃO COMO MATERIAL ADSORVENTE

RESUMO: Atualmente, o processo de polpação Kraft queima o licor negro para produzir energia e recuperar os produtos químicos. Esse processo convencional acaba gerando um gargalo no processo, uma vez que a capacidade da caldeira de combustão deve suportar a taxa de produção do licor negro. Dessa forma, o presente trabalho propõe uma aplicação alternativa para o licor negro Kraft. Uma mistura de tanino e licor negro foi utilizada como alternativa às matérias-primas fenólicas derivadas da indústria petroquímica para a produção de resinas fenólicas. Inicialmente, o licor negro Kraft foi hidroximetilado com formaldeído e, em seguida, foi realizada uma reação de policondensação com tanino, seguida por uma reticulação térmica. A avaliação das propriedades texturais e estruturais das amostras evidenciou uma área superficial específica da resina na faixa de 2 a 6 m² g⁻¹ e uma grande variedade de grupos funcionais na superfície. A análise morfológica revelou a estrutura nodular do material. Por fim, foi avaliada a possível aplicação da resina para remoção de corantes. Azul de metileno e alaranjado de metila foram usados como moléculas modelo e, após 24 horas, capacidades de adsorção de 50,76 e 26,28 mg g⁻¹ foram alcançadas, respectivamente.

PALAVRAS-CHAVE: Policondensação, Licor negro kraft, Tanino, Resina biofenólica, Adsorção.

1 | INTRODUCTION

New and biobased materials development focuses on the searching for products that can replace the petrochemical route by using raw materials of natural origin. The use of waste as a substitute for synthetic chemicals is of great industrial interest, since the former has a low cost, low environment impact and expands the industrial processes sustainability prospects.

The phenolic gel is obtained by the polycondensation of the phenolic monomers with aldehyde, in acid (novolac) or basic (resol) medium (PEKALA and KONG, 1989; THAKUR and THAKUR, 2015). The commonly used phenolic compounds are resorcinol and phenol, which are non-renewable, have a high cost as well as high toxicity. Thus, in tune with the new principles of green chemistry and circular economy, new phenolic materials have been suggested by researchers seeking to lower the cost of producing gels and carbon composites and to detach these products from the petrochemical route (GARDZIELLA et al., 2000; GHISELLINI et al., 2016).

The Kraft black liquor is a lignin-rich byproduct from the pulping process, which is currently burned in the recovery boiler to be used as a source of energy (ONG et al., 2018). However, the pulp and paper mills are self-sufficient in terms of energy once they produce more energy than needed to run the mill. Therefore, a fraction of the black liquor can also be deviated to be employed in a different added-value application. Moreover, once the boiler

scale-up is expensive, it dictates the overall capacity of the mills and hardly accommodate a further increase in black liquor production due to raising in paper demand. Thus, a deviation of a fraction of the Kraft black liquor will eliminate this bottleneck and reflect in an increasing in the pulp mill processability, as mentioned by Gosselink et al. (2004) and Kang et al. (2012). Kang et al. (2012) also claim the upper furnace corrosion due to the deposition of inorganic salts. Consequently, the recovery boiler operation is compromised since the heat transfer effectiveness will be reduced.

Due to the black liquor has high lignin content, it stands as a promising phenolic source (FOULET et al., 2016; GOSSELINK et al., 2004; NASEEM et al., 2016). Besides lignin, tannin has a high flavonoid content, which holds a polyhydroxyphenol units associations, being another renewable polyphenolic alternative (BOTHA et al., 1978; JANA et al., 2015; PIZZI, 2003). Moreover, tannin and lignin are the predominant compounds in pulp and paper waste, once they must be separated from the cellulose to produce a high-quality fiber (VASHI et al., 2018).

While no resins using a blend of crude Kraft black liquor and condensed tannin exist to our knowledge, the present work will focus on this blend for synthesizing a novel biobased material and evaluate its possible applications. As a result, along with the development of the lignocellulose biorefinery industry, the potential of renewable raw materials in producing biofuels, biomaterials and chemicals will be valorized.

Bearing in mind the above statements, the present work aims to assess the viability of using a blend of crude Kraft black liquor and tannin for phenolic resins production and its reuse in value-added products. In particular, evaluate the material final properties and its possible application as an innovative and low-cost adsorbent for emergent organic contaminants removal, such as dyes. This work innovates in using industrial Kraft black liquor as such, without any pretreatment, blended with tannin to synthesize phenolic resins. The use of the Kraft black liquor as received reduces processing costs, waste disposal and ends up adding value to the residue, offering new applications to the market.

2 | MATERIALS AND METHODS

2.1 Materials

The Kraft black liquor (KBL) was supplied by a Brazilian company and obtained from a mixture of hardwood (*Eucalyptus spp*) and softwood (*Pinus spp.*). Commercial condensed tannin, SETA RC, was from SETA® S/A and extracted from black wattle (*Acacia mearnsii*). The KBL and tannin were used as received and their original characteristics are shown in section 3.1. Alkali lignin pattern was purchased from Sigma-Aldrich®. Formaldehyde 37 % (wt.) aqueous solution and anhydrous sodium hydroxide ACS reagent grade for analysis and purity greater than 97 % were obtained from Synth®.

2.2 Methods

2.2.1 Phenolic resin synthesis

The syntheses were accomplished under reflux, in a three-neck round-bottom glass flask equipped with a vertical condenser, a thermocouple and a magnetic mixer, placed in a sand bath. In each experiment, the amount of each reactant was introduced into the flask according to the following procedure. Firstly, the crude KBL, was hydroxymethylated with excess (2 times on wet weight basis) of formaldehyde 37 % (wt.) aqueous solution, at 343 K, for 1 hour. A given amount of tannin powder was diluted in a sodium hydroxide 50% (wt.) aqueous solution, then added to the hydroxymethylated black liquor and stirred for homogenization. The additional amount of formaldehyde aqueous solution (37 % wt.) was incorporated into the blend, under agitation for 2 hours, at 343 K. Finally, the mixture was set in sealed autoclaves to undergo crosslinking reaction at 363 K for 48 hours. The resins underwent solvent exchange by immersing about 80 g of phenolic resin in a flask containing 150 mL of acetone. Then, the flask was placed in an orbital bath, at 150 rpm and 298 K for 24 hours. This procedure was repeated 4 times with acetone replacement. Then, they were placed inside one-side opened PVC tubes and dried in a convection oven at 303 K, for 24 hours, to obtain a clean unclogged resin.

2.2.2 Resin characterization

Resin's morphologies were investigated by Scanning Electron Microscopy (SEM) in a FEI QUANTA 250.

Resin's superficial groups were identified by Fourier Transform Infra-Red spectroscopy (FTIR), conducted in a BRUKER VERTEX 70V RAM II, in transmittance mode, over the infra-red range of 400 to 4000 cm^{-1} .

Nitrogen adsorption and desorption isotherms, at 77 K, were assessed in a Quantachrome NOVA-1200, to evaluate the material textural properties. The specific surface area was estimated by Brunauer-Emmett-Teller (BET) methodology, pore average diameter by BJH method and the total pore volume assumed as the volume of N_2 adsorbed at P/P_0 of 0.95 (THOMMES et al., 2015).

The pH point of zero charge (pH_{pcz}) corresponds to the pH value at which the surface electrical charge densities equal zero. The pH_{pcz} was performed according to Regalbuto and Robles (2004) methodology. Briefly, several aqueous solutions with different pH values (2 to 12), adjusted with HCl and NaOH 0.1 mol L^{-1} were prepared and 50 mL of each solution were introduced into a flask. 50 g of resin sample were added to each flask and stirred for 24 hours, at 298 K. The final pH was then measured and the graph of the final pH versus the initial pH plotted. The pH_{pcz} corresponds to the final pH value when it remains constant.

2.2.3 Dye adsorption evaluation

Commercial methylene blue (MB) and methyl orange (MO) were used as model dye adsorbates for evaluating the resin adsorbent potential. Influence of adsorbate-adsorbent contact time on adsorption capacity was studied. Briefly, 10 mg of the resin were added to 20 mL adsorbate 50 mg L⁻¹ aqueous solution, in their original pH, under constant agitation (150 rpm) at 298 K. Samples concentration was measured in a UV-VIS spectrophotometer (HACH DR 5000) at a wavelength of 663 and 464 nm, for MB and MO respectively.

The adsorption capacity, q_t (mg g⁻¹) was calculated using Equation 1.

$$q_t = \frac{(C_0 - C_t)}{m} V \quad (\text{Equation 1})$$

where C_0 and C_t are the initial and time t dye aqueous solution concentrations (mg L⁻¹), respectively, V is the dye solution volume (L) and m the phenolic resin weight (g).

In order to assess the adsorption process limiting step and the kinetic of this process, different kinetic models were fitted to the experimental data. The models of pseudo-first order (LAGERGRÉN, 1898), pseudo-second order (HO and MCKAY, 1999) and intraparticle diffusion (WEBER and MORRIS, 1963) were fitted to the experimental data, according to Equations 2, 3 and 4, respectively.

$$q_t = q_e (1 - e^{-k_1 t}) \quad (\text{Equation 2})$$

where q_t (mg g⁻¹) and q_e (mg g⁻¹) are the dye adsorbed at time t (h) and at equilibrium, respectively, and k_1 (h⁻¹) is the pseudo-first order constant rate.

$$q_t = \frac{k_2 q_e^2 t}{1 + k_2 q_e t} \quad (\text{Equation 3})$$

where k_2 (g mg⁻¹ h⁻¹) is the pseudo-second order constant rate.

$$q_t = k_{id} t^{1/2} + C \quad (\text{Equation 4})$$

where k_{id} (g mg⁻¹ h^{-1/2}) is the intraparticle diffusion rate constant and C (mg g⁻¹) is the boundary layer thickness constant.

3 | RESULTS AND DISCUSSION

3.1 Resin characterization

The morphology of the resin was investigated by Scanning Electron Microscopy (MEV). The images obtained, illustrated in Figure 1-(a-c), reveals the resin macroporous

character. Textural characterization reinforced the SEM images findings, once the phenolic resin has low specific area ($S_{\text{BET}} = 5.13 \text{ m}^2 \text{ g}^{-1}$) and low volume of micropores ($V_{\text{P total}} = 0.0067 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$; $V_{\text{P micro}} = 0.0063 \text{ cm}^3 \text{ g}^{-1}$). Despite the low specific area, FTIR analysis shows the wide variety of functional groups on the resin surface. Since the functional groups affect the charge balance in the surface of the material, the dye adsorption can also be affected. The FTIR spectrum obtained (Figure 1-d) reveals the presence of hydroxyl (-OH) groups by the peak around 3400 cm^{-1} and the resin aromatic nature (C=C) is represented by the peaks at 1496 and 1593 cm^{-1} . The presence of aromatic groups in the material suggests the occurrence of π - π interactions between the dyes and the adsorbent, which has a positive impact in the adsorption process. The peaks nearby 2937 , 1463 and 1037 cm^{-1} confirm the biobased resin crosslinking by the presence of the methylene (C-H) and ether-methylene (C-H and C-O) bridges (MARTÍNEZ et al., 2016) in the polymeric matrix.

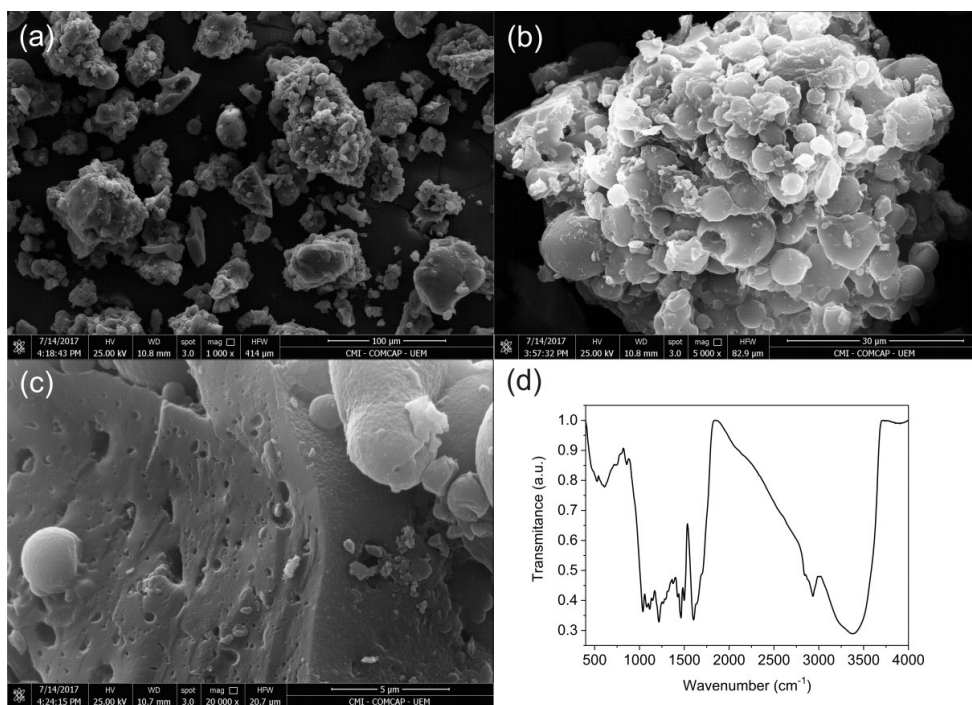


Figure 1: SEM images ((a) 1000x, (b) 5000x and (c) 20000x) and FTIR spectrum (d) of the biophenolic resin.

3.2 Resin potencial application as adsorbent

The effect of the contact time between the adsorbate-adsorbent system was studied for 24 hours and the dyes normalized concentrations in the adsorbate phase solution are plotted in Figure 2-(a). Due to a large number of active sites available on the surface of the

adsorbent at the beginning of the process, the initial rate of adsorption was the highest. For both dyes, the adsorption increased progressively and, at 24 h, the MB and MO removal was approximately 60 and 23 %, with adsorption capacities of 50.76 and 26.28 mg g⁻¹, respectively.

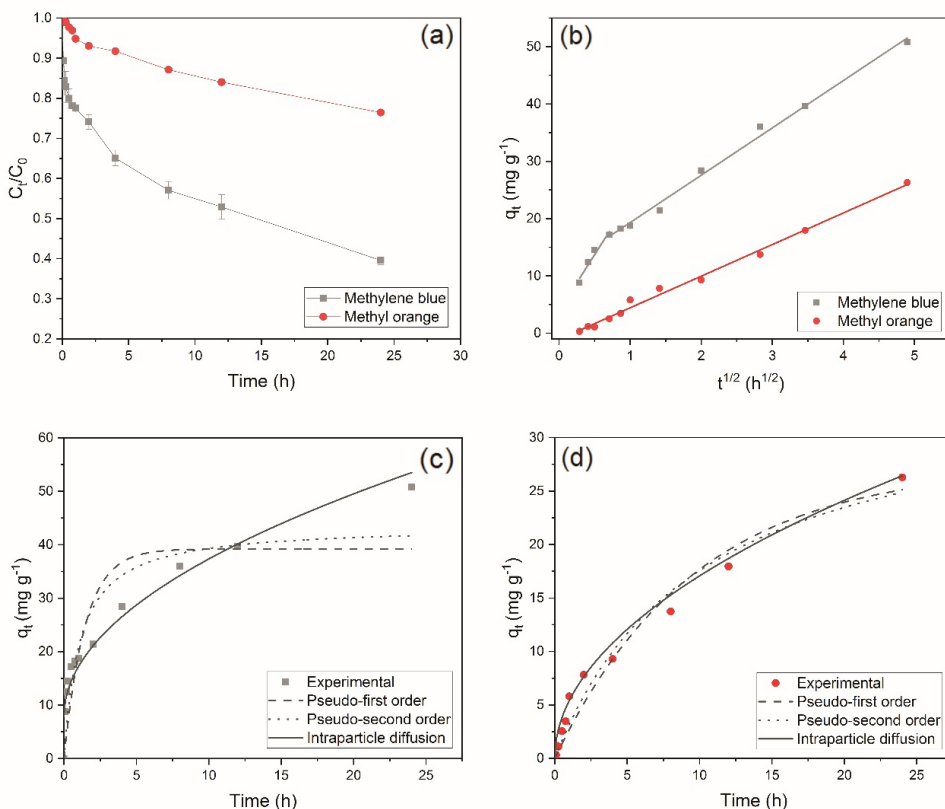


Figure 2: (a) Adsorbate concentration change versus adsorption time, at 298 K, for 24 h; (b) Weber and Morris plot; (c) and (d) Kinetic models fitting to MB and MO, respectively.

The adsorption process involves several transport phenomena and the kinetic of the overall process depends on the prevailing step. Pseudo-first order, pseudo-second order and intraparticle diffusion kinetic models were fitted to the experimental data. The non-linear fittings are shown in Figures 2-(c) and 2-(d) and their parameters are compiled in Table 1. The adjustments reveal that neither pseudo-first nor pseudo-second order models are representative of MB kinetic data. For both dyes, the intraparticle diffusion model was the best fitted, since the highest correlation coefficient (R^2) and lowest SSE values were obtained. To better understand the prevailing adsorption step, Figure 2-(b) is also shown. The Weber and Morris plot shows two linear sections for the MB adsorption. That suggests

that the MB adsorption, during the evaluated time, occurred in two stages. In the first step, the adsorbate diffusion through the adsorbent external limiting layer was fast and did not limit the process rate. Then, the second and predominant step is attributed to the diffusion within the resin pores. Figure 2-(b) shows that only one stage in the plot of the MO experimental data, with approximately zero interception on y -axis, indicating that the internal diffusion controls the adsorption (ALENCAR et al., 2012). For both adsorbates, the intraparticle diffusion occurs slowly and progressively along the resin pores.

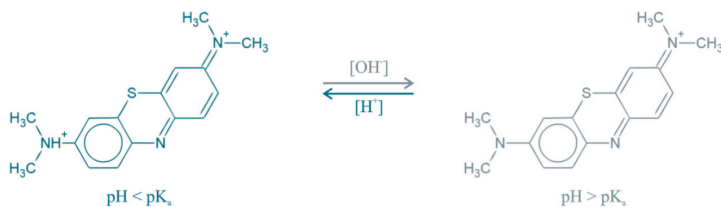
| | Methylene Blue | Methyl Orange |
|-------------------------------------|----------------|---------------|
| Pseudo-first order | | |
| q_e ($mg\ g^{-1}$) | 39.217 | 27.425 |
| k_1 (h^{-1}) | 0.690 | 0.103 |
| R^2 | 0.777 | 0.963 |
| SSE | 494.993 | 27.535 |
| Pseudo-second order | | |
| q_e ($mg\ g^{-1}$) | 43.596 | 35.409 |
| k_2 ($g\ mg\ h^{-1}$) | 0.021 | 0.003 |
| R^2 | 0.864 | 0.972 |
| SSE | 303.517 | 20.589 |
| Intraparticle diffusion | | |
| k_{ID} ($mg\ g^{-1}\ h^{-1/2}$) | 9.302 | 5.396 |
| C ($mg\ g^{-1}$) | 7.934 | 0.010 |
| R^2 | 0.955 | 0.981 |
| SSE | 99.413 | 13.733 |

Table 1: Fitted kinetic models parameters.

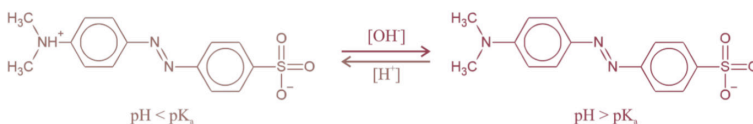
In addition to the process mechanisms suggested by the kinetic study, the interactions between the adsorbate and adsorbent molecules and functional groups have also to be considered. The pH_{pzc} relates the adsorbent surface functional groups with its surface charge according to the solution pH, being an important parameter for understanding the adsorption mechanisms. Given that the resin pH_{pzc} is around 8.5, the charge on its surface is positive at $pH < 8.5$ and negative at $pH > 8.5$. Moreover, the MB and MO are cationic and anionic dyes, respectively. The MB solution original pH was 1.7 and, as its pK_a is 5.6 (at 298 K), the amino group of the MB molecules is protonated, as illustrated in Figure 3-(a). As the solution pH increases to a value higher than the pK_a , the MB becomes deprotonated, i.e. in its cationic form. That indicated that at a pH 1.7, there is an electrostatic repulsion between the MB and the resin, so that other interactions, such as H-bonding (between the resin hydroxyl group and the MB amino group) and π - π interactions (between the resin and the

MB aromatic structure) could explain the high removal degree achieved. On the other hand, the MO original solution pH was 6.6 and a pK_a of 4.2 (at 298 K). As a result, the amino groups are deprotonated and the ionization extent of MO privileges its anionic form (Figure 3-(b)). Moreover, at pH 6.6 some functional groups, phenolic O–H and C=O, are not dissociated and repulsion did not take place. However, hydrogen bonding and π - π interactions may also occur between the resin and the MO. The proposed adsorption mechanisms for the MB and MO, at the studied conditions, are illustrated in Figure 3-(c).

(a) MB



(b) MO



(c)

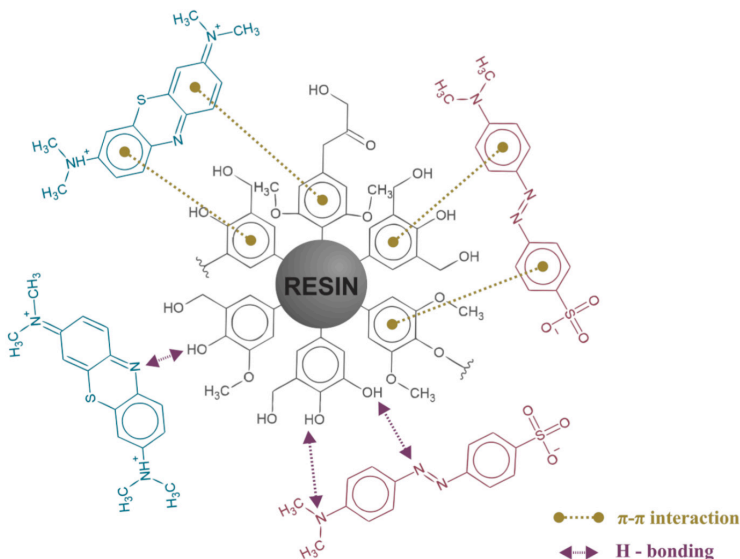


Figure 3: MB (a) and MO (b) ionization according to the solution pH and (c) the adsorption mechanisms proposed by the present work, at the studied conditions.

The above results confirm the potential of the phenolic resin for use as an adsorbent. Furthermore, after accomplishing this purpose, both resin and adsorbate can undergo pyrolysis to degrade the organic contaminant and regenerate the adsorbent or produce a pyrolytic carbon. Moreover, the resin impregnated with dye (a nitrogen source) may also be used as a nitrogen-doped carbon material in a dielectric double layer capacitor and supercapacitors.

4 | CONCLUSION

A blend of crude Kraft black liquor and tannin were successfully used as phenolic precursors for phenolic resins production by a polycondensation reaction. This mixture has a very low cost compared to the phenolic raw materials currently in use. The specific surface area of the resins produced is not large with diversified surface functional groups. When the resin was tested as an adsorbent, a good dye removal was achieved in the evaluated time. Adsorption capacities of 50.76 e 26.28 mg g⁻¹ were achieved for methylene blue and methyl orange, respectively. This confirmed the feasibility of using this newly synthesized material as an alternative, sustainable and low-cost adsorbents for contaminant removal.

REFERENCES

ALENCAR, W. S. et al. Application of Aqai Stalks as Biosorbents for the Removal of the Dye Procion Blue MX-R from Aqueous Solution. **Separation Science and Technology**, v. 47, n. 3, p. 513-526, 2012.

BOTHA, J. J.; FERREIRA, D.; ROUX, D. G. Condensed tannins: Direct synthesis, structure, and absolute configuration of four biflavonoids from black wattle bark ('mimosa') extract. **Journal of the Chemical Society, Chemical Communications**, n. 16, p. 700–702, 1978.

FOULET, A. et al. Preparation of hierarchical porous carbonaceous foams from Kraft black liquor. **Materials Today Communications**, v. 7, p. 108–116, 2016.

GARDZIELLA, A.; PILATO, L. A. .; KNOP, A. **Phenolic Resins**. 2ª edição ed. Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg, 2000.

GHISELLINI, P.; CIALANI, C.; ULGIATI, S. A review on circular economy : the expected transition to a balanced interplay of environmental and economic systems. **Journal of Cleaner Production**, v. 114, p. 11–32, 2016.

GOSELINK, R. J. A. et al. Co-ordination network for lignin — standardisation , production and applications adapted to market requirements (EUROLIGNIN). **Industrial Crops and Products**, v. 20, p. 121–129, 2004.

HO, Y. S. .; MCKAY, G. Pseudo-second order model for sorption processes. **Process Biochemistry**, v. 5, n. 34, p. 451–465, 1999.

JANA, P. et al. Thermal conductivity improvement of composite carbon foams based on tannin-based disordered carbon matrix and graphite fillers. **Materials and Design**, v. 83, p. 635–643, 2015.

KANG, S. et al. Solid fuel production by hydrothermal carbonization of black liquor. **Bioresource Technology**, v. 110, p. 715–718, 2012.

LAGERGREN, S. Zur theorie der sogenannten adsorption gelöster stoffe, Kungliga Svenska Vetenskapsakademiens. **Handlingar**, v. 24, p. 1–39, 1898.

MARTÍNEZ, J. J. D. et al. Thermal Study of Gels Obtained From Resol Type Phenolic Resins Modified With Lignin. **Macromolecular Symposia**, v. 370, n. 1, p. 7–16, 2016.

NASEEM, A. et al. Lignin-derivatives based polymers, blends and composites: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 93, p. 296–313, 2016.

ONG, B. H. Y. et al. Hydrothermal liquefaction of Radiata Pine with Kraft black liquor for integrated biofuel production. **Journal of Cleaner Production**, v. 199, p. 737–750, 2018.

PEKALA, R. W.; KONG, F. M. A synthetic route to organic aerogels - Mechanism, structure, and properties. **Journal de Physique Colloques**, v. 50, n. C4, p. 33–40, 1989.

PIZZI, A. Phenolic Resin Adhesives and Natural Phenolic Adhesives. In: PIZZI, A. ; MITTAL, K. L. (Eds.). . **Handbook of Adhesive Technology**. 2nd. ed. New York: Marcel Dekker Inc., 2003.

REGALBUTO, J.; ROBLES, J. **The engineering of Pt/carbon catalyst preparation**. University of Illinois, Chicago, 2004.

THAKUR, V. K.; THAKUR, M. K. Recent advances in green hydrogels from lignin: A review. **International Journal of Biological Macromolecules**, v. 72, p. 834–847, 2015.

THOMMES, M. et al. Physisorption of gases , with special reference to the evaluation of surface area and pore size distribution (IUPAC Technical Report). **Pure Applied Chemistry**, v. 87, p. 1051–1069, 2015.

VASHI, H.; IORHEMEN, O. T.; TAY, J. H. Degradation of industrial tannin and lignin from pulp mill effluent by aerobic granular sludge technology. **Journal of Water Process Engineering**, v. 26, n. June, p. 38–45, 2018.

WEBER, W. J. .; MORRIS, J. C. Kinetics of adsorption on carbon from solution. **Journal of the Sanitary Engineering Division**, v. 89, n. 2, p. 31–60, 1963.

AVALIAÇÃO DO POTENCIAL DO EMPREGO DE ÁLCOOIS COMO AGENTE ESTABILIZANTE EM MISTURAS BIO-ÓLEO PIROLÍTICO/DIESEL

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 06/11/2020

Wendell Ferreira de La Salles

Universidade Federal do Maranhão
Departamento de Tecnologia Química
São Luís – Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/6935994431461983>

Kátia Simone Teixeira da Silva de La Salles

Universidade Federal do Maranhão
Departamento de Tecnologia Química
São Luís – Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/3258022875158002>

Larissa Machado de Assis

Universidade Federal do Maranhão
Coordenação de Engenharia Química
São Luís – Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/0568027542293584>

Jullyane Cunha Moreira

Universidade Federal do Maranhão
Coordenação de Engenharia Química
São Luís – Maranhão
<http://lattes.cnpq.br/4048420079829971>

RESUMO: O bio-óleo produzido por pirólise rápida ou liquefação da biomassa vem se destacando por ser um produto de grande potencial para atuar como fonte energética. Entretanto, possui algumas propriedades indesejadas quando se considera a sua aplicação como combustível automotivo em motores do ciclo diesel, como por exemplo, alto teor de oxigênio e água, elevada corrosividade e imiscibilidade em diesel. Neste

trabalho, foi avaliado o potencial de alguns álcoois como agentes estabilizantes no processo de solubilização de um bio-óleo sintético em diesel através da tecnologia de microemulsificação. Parâmetros que influenciam no processo de solubilização foram avaliados, tais como, razão bio-óleo/diesel, natureza e concentração dos álcoois. Os resultados demonstraram que o n-octanol foi o mais eficiente dentre os álcoois estudados para promover a solubilização do sistema. A razão volumétrica bio-óleo/diesel ótima foi 3:7 e a concentração ideal do n-octanol 0,85 M. O potencial de aplicação das misturas foi avaliado em termos do seu poder calorífico, massa específica, viscosidade cinemática e índice de viscosidade.

PALAVRAS-CHAVE: Bio-óleo, microemulsões, combustíveis, pirólise.

EVALUATION OF THE POTENTIAL USE OF ALCOHOLS AS STABILIZING AGENT IN BIO-OIL PIROLYTIC/DIESEL MIXTURES

ABSTRACT: Bio-oil produced by fast pyrolysis or liquefaction of biomass has stood out for being a product with great potential to act as an energy source. However, it has some unwanted properties when considering its application as automotive fuel in diesel engines, for example, high oxygen and water content, high corrosivity and immiscibility in diesel. In this work, the potential use of some alcohols as stabilizing agents in the process of solubilization of a synthetic bio-oil in diesel through microemulsification technology was evaluated. Parameters that influence the solubilization process were evaluated, such as

bio-oil/diesel ratio, nature and concentration of alcohols. The results showed that n-octanol was the most efficient among the studied alcohols to promote the solubilization of the system. The optimal bio-oil/diesel volumetric ratio was 3:7 and the ideal concentration of n-octanol 0,85 M. The application potential of the mixtures was evaluated in terms of their calorific value, specific mass, kinematic viscosity and viscosity index.

KEYWORDS: Bio-oil, microemulsions, fuels, pyrolyse.

1 | INTRODUÇÃO

Os Combustíveis fósseis são atualmente a fonte energética mais usada mundialmente, contudo, a cada ano, as perspectivas futuras em torno do uso desses recursos não renováveis vêm se tornando cada vez menos atrativas. Em frente a esses direcionamentos, os produtos obtidos a partir de resíduos da biomassa apresentam-se como uma alternativa para a nova abordagem do mercado energético. O bio-óleo, um líquido que pode ser obtido a partir da pirólise da biomassa, vem atraindo muito atenção por ser uma alternativa promissora para substituir os combustíveis fósseis, pois apresenta um grande potencial para o uso em motores de combustão e caldeiras de aquecimento (Liang *et al.*, 2018; Xiu *et al.*, 2012). Entretanto, o seu uso comercial como combustível é muito limitado devido a características como elevada viscosidade, comportamento corrosivo e alto teor de água (Leng *et al.*, 2015). Consequentemente, a sua utilização direta se torna inviável, sendo necessária aplicação de métodos de melhoramento do bio-óleo.

A microemulsificação é uma técnica de melhoramento da qualidade do bio-óleo que consiste na combinação de dois líquidos imiscíveis capazes de formar misturas homogêneas com auxílio de agentes emulsionantes. Através dessa tecnologia, é possível desenvolver sistemas termodinamicamente estáveis de bio-óleo com diesel ou biodiesel (Leng *et al.*, 2018). Ikura *et al.* (2003) obtiveram propriedades melhoradas do bio-óleo com teor 5-30% em diesel quando inserido em microemulsões. No entanto, a utilização dos tensoativos comerciais tem sido um contraponto negativo, devido ao seu elevado custo que dificulta o desenvolvimento em larga escala de processos baseados nesse método.

De La Salles *et al.* (2016) verificaram em seus trabalhos que o aumento da razão cotensoativo/tensoativo levava uma maior solubilização do bio-óleo no sistema, quando do emprego de álcoois de cadeia curta como cotensoativos, evidenciando que a utilização de álcoois de forma isolada poderia ser uma alternativa ao uso dos tensoativos clássicos.

Portanto, o presente trabalho teve como objetivo fundamental avaliar o potencial do emprego de álcoois como agente estabilizante no processo de microemulsificação de bio-óleo em diesel. Diversos parâmetros que afetam a estabilidade da microemulsão foram avaliados, tais como, a razão inicial bio-óleo/diesel (v/v) e a natureza e concentração do álcool. As propriedades da microemulsão combustível também foram analisadas e comparadas com as propriedades do bio-óleo sintético e do diesel.

2 I METODOLOGIA

2.1 Material

A amostra diesel utilizada foi fornecida pelo Laboratório de Análise e Pesquisa em Química Analítica de Petróleo e Bicomcombustíveis (LAPQAP) da Universidade Federal do Maranhão (UFMA). Glucose, Vanilina, Água Deionizada, Guaiacol, Glixal, Furfural, Ácido Acético, Metanol e Acetol usados na formulação do bio-óleo e os álcoois n-butanol, n-hexanol, n-octanol e isoamílico foram adquiridos junto a Sigma-Aldrich, com pureza superior a 99%, exceto o glixal, obtido na forma de solução aquosa a 40% e o Acetol (90%).

2.2 Preparo do Bio-óleo

O bio-óleo sintético foi formulado com base nos constituintes químicos usados por Wang *et al.* (2014) com a seguinte composição em massa: 8 % de Glucose, 8% de Vanilina, 25% de Água Deionizada, 17% de Guaiacol, 6% de Glixal, 6% de Furfural, 15% de Ácido Acético, 7% de Metanol e 8% de Acetol. Tal formulação visou a minimizar problemas de reprodutibilidade dos dados da pesquisa uma vez que o bio-óleo real é relativamente instável quimicamente. Inicialmente, adicionou-se a glucose, vanilina e água deionizada e agitou-se por cerca de 10 minutos até completa solubilização, em seguida, os demais componentes foram inseridos. A mistura resultante foi continuamente agitada por cerca de duas horas.

2.3 Preparo das Misturas

Com um volume total de 10 mL (variando-se a razão inicial bio-óleo/diesel e a natureza do cotensoativo), massas de bio-óleo, diesel e álcool foram pesadas e misturadas em erlenmeyer sob agitação magnética por 15 min. Posteriormente, as amostras foram transferidas para cones graduados e deixadas em repouso durante 24 h, onde se observava uma separação de fases, sendo a fase superior a fase microemulsionada e a fase inferior bio-óleo residual. Todos os ensaios foram realizados a temperatura ambiente (25°C). A eficiência do sistema no processo de solubilização de bio-óleo foi avaliada em termos de dois parâmetros de otimização, definidos como parâmetro S (volume de bio-óleo solubilizado por volume de diesel) e parâmetro E (volume de bio-óleo solubilizado por mol de cotensoativo), conforme o trabalho de Wang *et al.* (2014).

2.4 Caracterização

A caracterização da microemulsão, bio-óleo e do diesel foram realizadas no Laboratório de análises em Química Analítica de Petróleo e Biocombustíveis da Universidade Federal do Maranhão por meio de análises de massa específica (Density Meter DMA 4500 M), poder calorífico (IKA C2000), viscosidade (HVB 438 visco bath). A estabilidade da

microemulsão foi avaliada em termos da determinação do índice de viscosidade, conforme trabalho de Chiaramonti *et al.* (2003).

O índice de viscosidade é calculado

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Efeito da Natureza do Álcool e da Razão Bio-óleo/Diesel

Os resultados das análises da razão inicial B/D (v/v) e da influência dos diferentes tipos de álcoois na solubilização de bio-óleo estão dispostos na Figura 1. As concentrações dos álcoois estudados foram fixadas em 0,75 M.

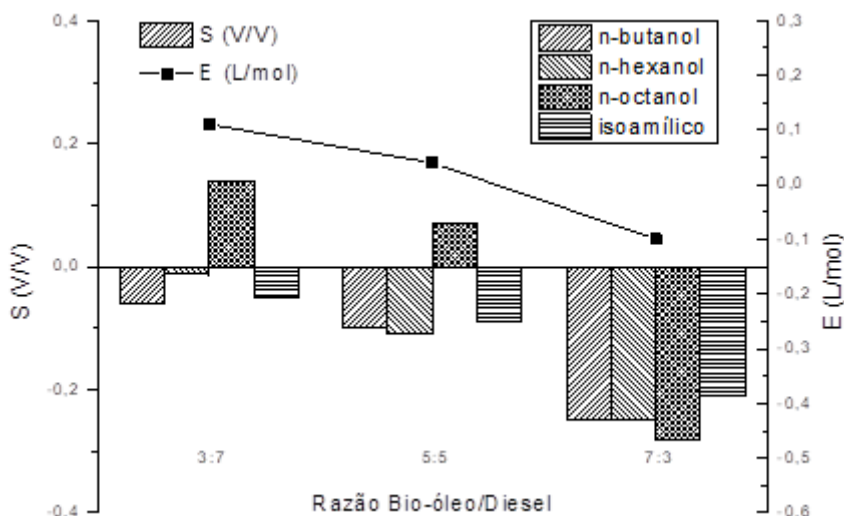


Figura 1 – Influência da natureza do álcool e da razão B/D de solubilização do bio-óleo em diesel.

Ao analisar a atuação dos álcoois como estabilizante, percebe-se que a maior parte deles não promoveu melhoria na solubilização do bio-óleo em diesel, apresentando um incremento negativo, ou seja, ao invés de se verificar uma redução no volume de bio-óleo residual devido a uma solubilização parcial deste na fase diesel observou-se um aumento no volume de bio-óleo em função do álcool adicionado ao sistema se solubilizar nesta fase. Dentre os álcoois avaliados, somente o n-octanol foi capaz de promover uma solubilização parcial de bio-óleo na fase diesel, obtendo valores de parâmetro S (volume bio-óleo solubilizado por volume de diesel) em torno de 0,14 na razão bio-óleo/diesel (v/v) de 3:7. Avaliando-se o volume de bio-óleo solubilizado por mol de álcool empregado, representado pelo parâmetro E, nota-se que o n-octanol obteve maior eficiência na razão 3:7 tendo um

valor de $E_{\text{máx}} = 0,13$. Observa-se também uma tendência do decaimento da eficiência do álcool com o aumento da razão B/D.

Os resultados obtidos revelam a capacidade de álcoois (especificamente o n-octanol em nosso caso) de atuar como agente tensoativo, conforme relatado nos trabalhos de DeLuna *et al.* (2017). A superfície ativa desses componentes proporciona a redução da tensão superficial entre fases imiscíveis, como no caso da mistura bio-óleo/diesel, podendo levar o sistema à formação de uma emulsão ou microemulsão. De modo semelhantemente aos resultados expostos neste trabalho, Wang *et al.* (2014) avaliando o efeito do n-octanol, n-heptanol, n-hexanol, n-pentanol e n-butanol como cotensoativos concluíram que o n-octanol era um coagente ideal de solubilização de bio-óleo em diesel, no entanto, nestes trabalhos o octanol atuava de fato como um cotensoativo associado a um tensoativo (Span80).

3.2 Efeito da Concentração do Álcool

A influência da concentração do álcool no processo de solubilização do bio-óleo é apresentada na Figura 2. Para a análise, foi tomado como base as condições pré-estabelecidas com razão B/D inicial de 3:7 em volume e n-octanol como álcool. Variou-se a concentração do álcool de 0,75 a 1,15 M.

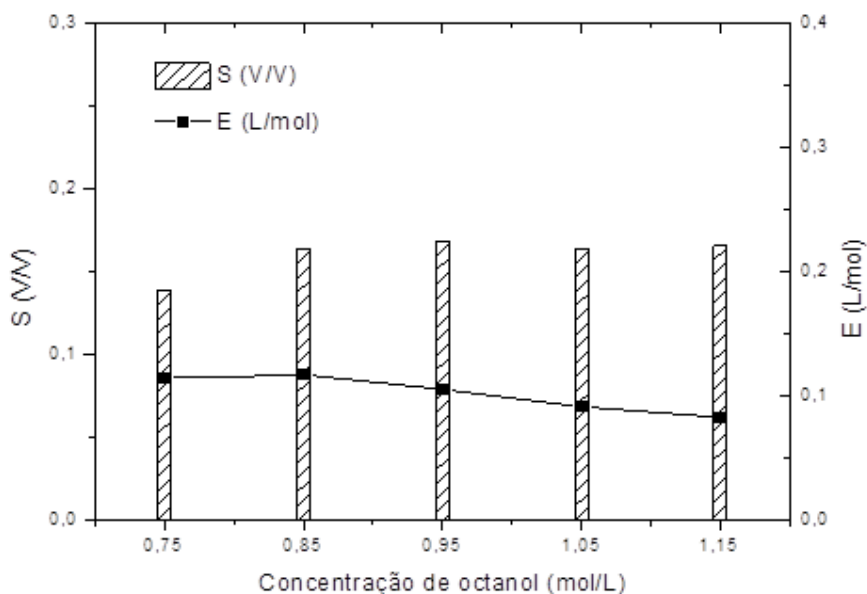


Figura 2 – Efeito da concentração do n-octanol na solubilização do bio-óleo em diesel

Ao se passar de 0,75 M para 0,85 M observa-se um leve aumento no teor de bio-óleo solubilizado, no entanto, a partir desta concentração o teor de bio-óleo solubilizado praticamente não sofreu alteração, o que evidencia a existência de um limite máximo na capacidade do n-octanol com um agente de solubilização do bio-óleo na mistura. No que diz respeito a eficiência do álcool no processo (avaliado pelo parâmetro E), também se atinge um máximo na concentração de 0,85 M.

De acordo com Jiang e Ellis (2009), existe uma concentração ótima de octanol para produzir misturas bio-óleo/diesel estáveis. Quando as concentrações são muito elevadas pode ocorrer a desestabilização por coalescência, em contrapartida, em baixas concentrações o sistema está sujeito a aglomerações de gotículas de óleo. Logo, é importante a definição de uma concentração ideal para favorecer a máxima eficiência de solubilização.

3.3 Caracterização

A caracterização foi realizada tanto para a microemulsão selecionada (fase microemulsionada obtida empregando-se octanol na concentração de 0,85 M como agente estabilizante e razão (v/v) bio-óleo/diesel de 3:7), quanto para o bio-óleo e o diesel. Os resultados das análises de massa específica, poder calorífico, viscosidade e índice de viscosidade são apresentados na Tabela 1.

| | PCS (MJ/kg) | r (g/cm ³) | n (mm ² /s) | IV |
|--------------|-------------|------------------------|------------------------|-------|
| Bio-óleo | 18,27 | 1,116 | 2,320 | 0,162 |
| Diesel | 44,86 | 0,853 | 3,770 | 0,008 |
| Microemulsão | 40,08 | 0,879 | 4,038 | 0,047 |

Tabela 1 – Caracterização das amostras de diesel, bio-óleo e microemulsão

Observa-se que os valores das massas específicas das microemulsões situaram-se levemente acima dos valores obtidos para o diesel puro, influenciadas diretamente pela presença do bio-óleo nesta fase. Os valores das viscosidades cinemáticas das microemulsões também foram superiores aos valores obtidos para o diesel puro, fato que se justifica pela presença do octanol na composição das microemulsões. Como era esperado, o poder calorífico das microemulsões se apresentou inferior ao poder calorífico do diesel, no entanto, bem superior ao poder calorífico do bio-óleo puro. É importante ressaltar que o poder calorífico da microemulsão está diretamente relacionado ao volume de bio-óleo solubilizado, de modo que pode ser elevado, ou diminuído, alterando-se o volume de bio-óleo solubilizado. Em relação ao índice de viscosidade, sabe-se que quanto menor o seu valor, mais estável é a mistura, de modo que o valor obtido indica que a microemulsão avaliada possui boa estabilidade.

4 | CONCLUSÃO

Os resultados apresentados confirmam o potencial do emprego da tecnologia de microemulsões em processos de melhoria do bio-óleo empregando-se álcoois como agente de solubilização, em contrapartida ao uso dos tensoativos clássicos. Foram obtidas misturas estáveis bio-óleo/diesel na razão de 0,17 mL de bio-óleo por mL de diesel com propriedades combustíveis semelhantes às propriedades do diesel, sinalizando que tal procedimento tem potencial real de aplicação no aproveitamento do bio-óleo como combustível automotivo. No mais, as propriedades das microemulsões obtidas ainda podem ser otimizadas, visto que as condições “ótimas” para o sistema microemulsionado foram definidas apenas em termos de parâmetros de otimização baseados exclusivamente na eficiência no tensoativo e no volume de bio-óleo solubilizado, sem uma preocupação mais efetiva com o impacto destes parâmetros nas propriedades combustíveis da microemulsão.

REFERÊNCIAS

CHIARAMONTI, D.; BONINI, M., FRATINI, E., TONDI, G., GARTNER, K., BRIDGWATER, A. V., GRIMM, H. P., SOLDAINI, I., WEBSTER, A., BAGLIONI, P., Development of emulsions from biomass pyrolysis liquid and diesel and their use engines – part 1: emulsion production, **Biomass and Bioenergy**, v. 25, n. 1, p. 85-99, 2003. doi:10.1016 / S0961-9534 (02) 00183-6.

DE LUNA, M. D. G.; CRUZ, L. A. D.; CHEN, W. H.; LIN, B. J.; HSIEH, T. H. Improving the stability of diesel emulsions with high pyrolysis bio-oil content by alcohol co-surfactants and high shear mixing strategies. **Energy**, v. 141, p. 1416-1428, 2017. <https://doi.org/0.1016/j.energy.2017.11.055>.

DE LA SALLES, W. F.; DE LA SALLES, K. T. S.; FREIRE, E. A. R.; ASSIS, L. M. **Estudo da capacidade de solubilização de bio-óleo em diesel por meio da tecnologia de microemulsões empregando brij-93 como tensoativo**. In: XXI Congresso Brasileiro de Engenharia Química, 2016, Ceará, **Anais**. Fortaleza, 2016.

IKURA, M.; STANCIULESCU, M.; HOGAN, E. Emulsification of pyrolysis derived bio-oil in diesel fuel. **Biomass & Bioenergy**, v. 24, n. 3, p. 221-232, 2003. doi: 10.1016 / S0961-9534 (02) 00131-9.

JIANG, X.; ELLIS, N. Upgrading bio-oil through emulsification with biodiesel: mixture production. **Energy Fuel**, v. 24, n. 2, p. 1358-1364, 2009. <https://doi.org/10.1021/ef9010669>

LENG, L.; LI, H.; YUAN, X.; ZHOU, W.; HUANG, H. Bio-oil upgrading by emulsification/microemulsification: A review. **Energy**, n. 161, p. 214-232, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.energy>.

LENG, L.; YUAN, X.; CHEN, X.; HUANG, H.; WANG, H.; LI, H.; ZHU, R.; LI, S.; ZENG, G. Characterization of liquefaction bio-oil from sewage sludge and its solubilization in diesel microemulsion. **Energy**, v. 82, p. 218-228, 2015. doi: 10.1016 / j.energy.2015.01.032

LIANG, J.; QIAN, Y.; YUAN, X.; LENG, L.; ZENG, G.; JIANG, L.; SHAO, J.; LUO, Y.; DING, X.; YANG, Z.; LI, X. Span80/Tween80 stabilized bio-oil-in-diesel microemulsion: Formation and combustion. **Renew. Energy**, v. 126, p. 774-782, 2018. <https://doi.org/10.1016/j.renene.2018.04.010>

WANG, X. L.; YUAN, X. Z.; HUANG, H. J.; LENG, L. J.; LI, H.; PENG, X.; WANG, H.; LIU, Y.; ZENG, G. M. Study on the solubilization capacity of bio-oil in diesel by microemulsion technology with Span80 as surfactant. **Fuel Processing Technology**, 2014, v. 118, p. 141-147. <https://doi.org/10.1016/j.fuproc.2013.08.020>

XIU, S.; SHAHBAZI, A. Bio-oil production and upgrading research: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**., 2012, v. 16, n. 7, p. 4406-4414. <https://doi.org/10.1016/j.rser.2012.04.028>

CAPÍTULO 6

PREPARAÇÃO DE HIDROGÉIS A BASE DE GLICEROL PARA REMOÇÃO DE CONTAMINANTES DE ÁGUAS RESIDUAIS

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão: 03/09/2020

Bárbara Brígida Pinho de Lima

Instituto Federal Goiano

Rio Verde – Goiás

<http://lattes.cnpq.br/0040142157741493>

Wesley Renato Viali

Instituto Federal Goiano

Rio Verde – Goiás

<http://lattes.cnpq.br/8783679369399364>

Eloiza da Silva Nunes Viali

Instituto Federal Goiano

Rio Verde – Goiás

<http://lattes.cnpq.br/4019603533072368>

RESUMO: Ultimamente os hidrogéis vêm sendo utilizados em diversas áreas nos campos de pesquisas, por apresentarem microestrutura de rede, funcionalidades químicas, elevada flexibilidade mecânica e elevado grau de intumescimento, podendo ser um agente adsorvente para a adsorção reversível dos compostos de interesse. Na sua maioria, são polimerizados a partir de monômeros, onde são interligados pela reação de polimerização pelo qual possui dois métodos para a obtenção do polímero desejado a policondensação e poliadição. Neste trabalho, para adquirir o polímero empregou-se o método de policondensação logo após a reticulação, observando a caracterização através do grau de intumescimento e rendimento, o hidrogel obtido gerou propriedades vantajosas,

possuindo características químicas apropriadas para sua aplicação como sendo um adsorvente para a purificação de águas contaminadas.

PALAVRAS-CHAVE: Polímero, Reticulação, Adsorção, Azul de Metileno.

PREPARATION OF GLYCEROL-BASED HYDROGELS FOR REMOVING CONTAMINANTS FROM WASTEWATER

ABSTRACT: Lately, hydrogels have been used in several areas in the research fields, as they present network microstructure, chemical functionalities, high mechanical flexibility, and a high degree of swelling, and can be an adsorbent agent for the reversible adsorption of the compounds of interest. Most of them are polymerized from monomers, where they are interconnected by the polymerization reaction whereby it has two methods for obtaining the desired polymer: polycondensation and polyaddition. In this work, to acquire the polymer, the polycondensation method was used immediately after cross-linking, observing the characterization through the degree of swelling and yield, the obtained hydrogel generated advantageous properties, having appropriate chemical characteristics for its application as being an adsorbent for the purification of contaminated water.

KEYWORDS: Polymer, Crosslinking, Adsorption, Polyester

1 | INTRODUÇÃO

Os hidrogéis são definidos como sendo polímeros capazes de absorverem grandes quantidades de água, por serem constituídos de polímeros possuem redes poliméricas estruturadas formadas por ligações covalentes ou interações físicas, com isso, obtêm grande hidrofiliabilidade (afinidade por água) e insolubilidade. A hidrofiliabilidade e insolubilidade dos hidrogéis dependem de como os grupos estão expostos na cadeia e de como estão entrelaçados as cadeias que o formam respectivamente. Os grupos polares do hidrogel são hidratados ao absorverem a água causando o estiramento das redes poliméricas provocando seu inchaço.

Uma das aplicações para os hidrogéis é na agricultura por conter propriedades como reter e disponibilizar água para as plantas, reduzir a lixiviação de nutrientes entre outros [1], sendo utilizado também como sistema de liberação controlada de insumos agrícolas cujo benefícios são: aumentar eficiência funcional do insumo sintetizado quimicamente, baixo custo, aumentar a segurança no manuseio desses produtos, reduzir riscos de toxidez para o homem e por fim reduzir a contaminação ambiental[2]. Hidrogéis poliméricos têm sido desenvolvidos para adsorção seletiva de ânions e cátions metálicos permitindo elevadas capacidade de adsorção e subsequente remoção do sistema contaminado [3]. Grupos funcionais na matriz polimérica proporcionam a adsorção das espécies alvos por interações eletrostáticas e formação de complexos [4].

Os empregos dos hidrogéis como agente adsorvente vêm obtendo resultados eficientes para a purificação de águas contaminadas por apresentarem grupos hidrofílicos, elevadas intumescimento, biocompatibilidade e reutilização se for desenvolvido para a adsorção de materiais poluentes como metais pesados, corantes orgânicos e herbicidas além de permitirem a formação de nanopartículas no interior de sua estrutura [5]. Liu et al. (2016) realizaram uma síntese usando amido de batata pelo método de polimerização por enxerto de radicais livres, onde, obtiveram-se amostras com diferentes proporções de ácido acrílico (AA) e amido. De acordo com as caracterizações realizadas concluíram que os hidrogéis superabsorventes porosos de amido/AA podem ser eficientes na remoção de corantes orgânicos catiônicos das águas residuais devido à sua capacidade de adsorção e com altas taxas de adsorção [7].

Este trabalho tem como objetivo preparar e caracterizar hidrogéis a partir de um pré-polímero, variando as concentrações e os reagentes envolvidos no mesmo utilizando-o como adsorvente para a remoção de azul de metileno dissolvido em água.

2 I MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Síntese da G01

Experimento baseado no trabalho de Gyawali com algumas modificações [8]. Num balão de três bocas adicionou-se ácido cítrico, ácido maléico, polietilenoglicol (PEG) de massa molecular 400g/mol e glicerol nas seguintes proporções: 2: 1: 1: 1. A mistura foi mantida sob agitação com temperatura 150°C e após 3 horas reduzia-se a temperatura para 120°C durante 24 horas. Passado as 24 horas o sistema foi desligado e a amostra guardada em um recipiente fechado.

O pré-polímero foi reticulado com a adição do metilbissacrilamida, ácido acrílico, e persulfato de potássio à temperatura ambiente em um molde de silicone [6]. Após a reticulação o hidrogel foi dialisado, seco e armazenado. O rendimento da amostra foi realizado com o objetivo de determinar a eficiência da reação, obtido pela razão das quantidades de produto adquirido em uma reação pela quantidade máxima possível. Os resultados foram calculados a partir da seguinte equação:

$$\% \text{ rendimento} = \frac{M_S}{M_R} \times 100 \quad (1)$$

Onde M_S e M_R referem-se às massas secas e reticuladas respectivamente.

2.2 Grau de Intumescimento (%GI)

O grau de intumescimento foi determinado usando 0,012g do monólito G01. Cada amostra foi imersa em 150 mL de água deionizada em um béquer. Em intervalos pré-determinados (0, 5, 10, 20, 30, 60, 120, 720, 1440, 2880 minutos) as amostras foram pesadas e logo após calculado o GI através da equação:

$$\%GI = \frac{M_T - M_0}{M_0} \times 100 \quad (2)$$

Onde M_T é a massa intumescida e M_0 é a massa seca antes da amostra ser imersa na água.

Foi calculado conforme Motta para comparar a massa do hidrogel intumescido e a massa do hidrogel seco [9].

2.3 Ensaio de adsorção

Inicialmente foi preparado soluções de azul de metileno com variadas concentrações (1, 2, 4, 8, 10 mg/L) para determinar a curva padrão. Em seguida o ensaio de adsorção foi realizado a temperatura ambiente a partir da solução 22,74 mg/L de azul de metileno, aferiu-se a massa dos monólitos e o imergiu nesta solução que foi mantida sob agitação, 1mL era retirada após intervalos de tempo específicos e diluída para 5mL. As concentrações foram

medidas por UV Espectrofotômetro visível (UV-Vis) em termos do seu máximo de absorção a 664 para o azul de metileno. Os ensaios de adsorção foram realizados em triplicata e os valores médios foram apresentados.

3 | RESULTADO E DISCUSSÃO

Durante a reação de polimerização que é iniciada quando a temperatura atinge a 150°C, ocorre à ligação dos grupos ácidos nos grupos -OH do polietilenoglicol e do glicerol gerando um poliéster em ambos monômeros sintetizados com alto peso molecular, resultando em um líquido viscoso denominado pré-polímero. Em seguida pesou-se 2,371g desse pré-polímero e deu-se início ao processo de reticulação com 0,015g de metilbissacrilamida (MBA), 135µL de ácido acrílico e 400 µL da solução de persulfato de sódio (KPS) 0,273 mol/L. O pH foi regulado com 500 µL da solução de NaOH 0,1mol/L e logo após a mistura foi colocada em uma forma de silicone.

Analisando o rendimento percebe-se que o monólito G01 gerou um rendimento baixo (11,02%) por conter um baixo peso molecular tornando-o menos viscoso, no entanto, o rendimento não interfere em suas propriedades de intumescimento e adsorção.

O grau de intumescimento do hidrogel, imerso em água deionizada com temperatura ambiente está apresentado na figura 1. Inicialmente observou-se que o hidrogel intumesciu de forma rápida comprovando sua hidrofiliicidade, porém após trinta minutos o monólito apresentou uma massa constante sendo que o polímero atingiu o máximo da sua capacidade de intumescimento em 609%. A propriedade hidroretentora deste polímero surge devida sua a estrutura porosa gerada após o processo reticulação.

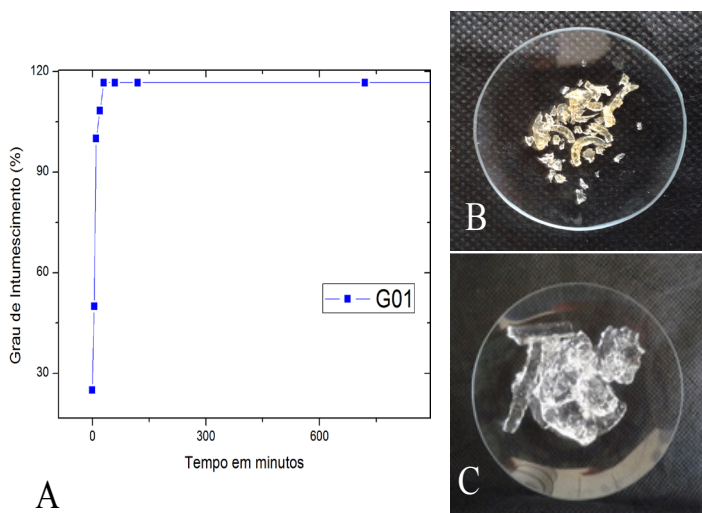


Figura 1: (A) Grau de intumescimento (%GI), (B) hidrogel seco, (C) hidrogel intumescido.

No que se refere ao ensaio de adsorção, a concentração de azul de metileno foi determinada pela curva padrão cuja equação foi $Abs = 0 + 0,18116 [AM]$. Com a realização deste ensaio pode-se analisar que ao longo do tempo determinado o hidrogel foi atraindo as moléculas do corante usado para sua superfície comprovando assim a sua capacidade como adsorvente. Para construir a curva da isoterma foram utilizados $[AM]_{\text{sólido}} / M_{\text{sólido}}$ (mg/L/g).

A isoterma de adsorção apresentou perfil sigmoidal. Inicialmente o processo de adsorção é lenta, no entanto, após os 1440 minutos a quantidade de azul de metileno adsorvida atinge platô em 328 mg/L/g.

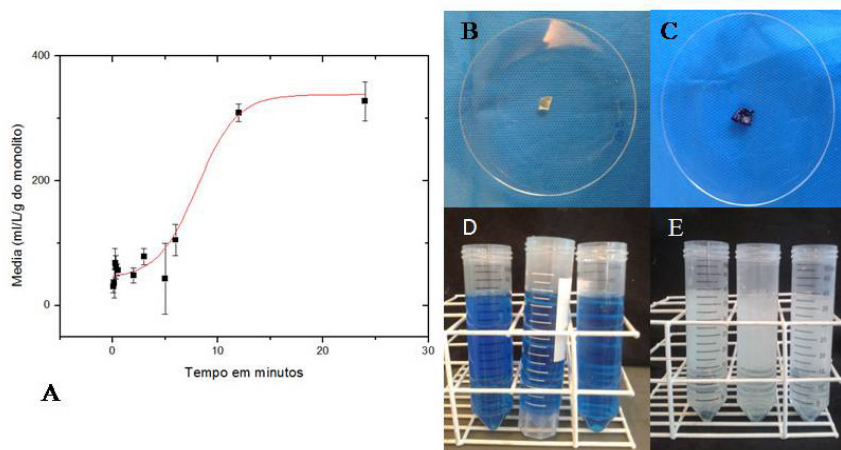


Figura 3: (A) Curva da isoterma, (B) hidrogel seco, (C) hidrogel com o corante adsorvido, (D) soluções antes de imergir o hidrogel, (E) soluções após 1440 min. com o hidrogel imergido.

4 | CONCLUSÃO

Depois dos estudos de síntese e caracterização do hidrogel a partir do pré-polímero obtido, conclui-se que através do grau de intumescimento e do rendimento pôde-se comprovar a eficiência do hidrogel como sendo um agente adsorvente, movendo as moléculas do azul de metileno dissolvido na água para sua superfície tornando-a limpa.

REFERÊNCIAS

1. AZEVEDO, F.; BERTONHA, A.; GONÇALVES, A. Uso de hidrogel na agricultura. **Revista do Programa de Ciências Agro-Ambientais**, v.1, n.1, p.23-31, 2002.
2. AOUADA; M. Hidrogéis Biodegradáveis: uma opção na aplicação como veículos carreadores de sistemas de liberação controlada de pesticidas. São Paulo. **EMBRAPA**. 1.ed. p. 01-33, Nov.2009.

3. KIOUSSIS, D. R.; KOFINAS, P. Characterization of anion diffusion in polymer hydrogels used for wastewater remediation. **Polymer**, v. 46, n. 22, p. 9342-9347, 2005. SOUDA, P.; SREEJITH, L. Environmental sensitive hydrogel for purification of waste water: part 1: synthesis and characterization. **Polymer Bulletin**, v. 71, n. 4, p. 839-854, 2014.
4. SOUDA, P.; SREEJITH, L. Environmental sensitive hydrogel for purification of waste water: part 1: synthesis and characterization. **Polymer Bulletin**, v. 71, n. 4, p. 839-854, 2014.
5. AJMAL, M.; SIDDIQ M.; AKTASC, N.; and SAHINER, N.. MagneticCo-Fe bimetallic nanoparticle containing modifiable microgels for the removal of heavy metal ions, organic dyes and herbicides from aqueous media. **RSC Adv.**, 2015, p.43873-43884.
6. LIMA, B.B. P. de et al. Síntese de hidrogéis poliméricos à base de glicerol. Resumo expandido.. in: anais do **V Congresso Estadual de Iniciação científica e Tecnológica**. Anais...Iporá(GO) IF Goiano, 2016.
7. Liu X, Wei Q. Removal of methylene blue from aqueous solution using porous starch-: G -poly(acrylic acid) superadsorbents. **RSC Adv.** 2016;6(83):79853–8, 2016.
8. GYAWALI, D. et al. Citric acid-derived in situ crosslinkable biodegradable polymers for cell delivery. **Biomaterials**, v. 31, n. 34, p. 9092-9105, 2010.
9. MOTTA, Caroline. **Preparação e Caracterização de Hidrogéis Superabsorventes a partir de Quitosana e Poliacrilonitrila**. Relatório (Disciplina de Estágio Supervisionado II [QMC 5512]) -Universidade Federal de Santa Catarina Centro de Ciências Físicas e Matemáticas Departamento de Química, Florianópolis, 2009 p.01-36, Disponível em : <<https://repositorio.ufsc.br/bitstream/handle/123456789/99780/caroline.pdf>> . Acesso em: 12 de Maio. 2016

ELABORAÇÃO E ANÁLISE DE CHOCOLATE ENRIQUECIDO COM FARINHA DE CAROÇO DE JACA

Data de aceite: 01/12/2020

Data da submissão: 15/10/2020

Matheus Henrique Nascimento Goes

Departamento De Ciências Exatas E
Tecnológicas - Universidade Estadual De Santa
Cruz (UESC)
Ilhéus - Bahia
<http://lattes.cnpq.br/2111995454109364>

Janclei Pereira Coutinho

Departamento De Ciências Exatas E
Tecnológicas - Universidade Estadual De Santa
Cruz (UESC)
Ilhéus - Bahia
<http://lattes.cnpq.br/6364459250826859>

Fábio Alan Carqueija Amorim

Departamento De Ciências Exatas E
Tecnológicas - Universidade Estadual De Santa
Cruz (UESC)
Ilhéus - Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7583976864322053>

Julia Carneiro Romero

Departamento De Ciências Exatas E
Tecnológicas - Universidade Estadual De Santa
Cruz (UESC)
Ilhéus - Bahia
<http://lattes.cnpq.br/7497589652850269>

RESUMO: Uma das frutas adaptadas ao Brasil, em especial a região sul da Bahia, é a jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.). Mesmo sendo amplamente difundida na região, não é uma fruta com alto valor de mercado e suas sementes são consideradas resíduos. Entretanto, estudos recentes mostram o potencial inexplorado do valor alimentício do caroço de jaca, sendo um produto que pode ser considerado uma ótima fonte de fibras, além de ser rico em carboidratos, proteínas e minerais. Por isso, buscando uma forma de reduzir o desperdício alimentar e o acúmulo de resíduos, a proposta deste trabalho foi desenvolver um chocolate com o acréscimo de farinha de semente de jaca em 3 composições: 5, 10 e 15 % em peso total. Esse produto passou por análises bromatológicas para determinar sua composição e conteúdo mineral e foi submetido a análise sensorial de provadores não treinados para mensurar seu grau de aceitação se comparado a um chocolate padrão 70 % de cacau. Os resultados se mostraram positivos na utilização da farinha de semente de jaca, sendo obtido um produto menos gorduroso (com uma redução no teor de gordura de até 2,4 %), com um teor de umidade sem diferença significativa da amostra padrão (abaixo de 2,6%) um aumento de até 0,18% de cinzas indicando um acréscimo do conteúdo mineral. Para a análise de minerais individuais, foi observado uma variação não significativa para 7 elementos analisados. A análise sensorial mostrou-se promissora em relação à aceitação do produto pelos provadores, sendo os produtos de 5 e 10 % de adição os que possuíram médias sem diferença significativa da amostra controle, demonstrando a neutralidade

do aditivo utilizado, nessa porcentagem, nas características sensoriais do produto final. Foi possível a adição de farinha de caroço de jaca, agregando valor a esse subproduto, sem perdas nutricionais ou sensoriais ao chocolate.

PALAVRAS-CHAVE: Jaca, chocolate, resíduo, aditivo alimentar.

ELABORATION AND ANALYSIS OF ENRICHED CHOCOLATE WITH JACKFRUIT SEED FLOUR

ABSTRACT: One of the fruits adapted to Brazil, especially the southern region of Bahia, is jackfruit (*Artocarpus heterophyllus* L.). This fruit is a food that is generally consumed in its natural form, without any process, additives or other forms. Although widespread in the southern region, the jackfruit isn't a fruit with a high market value and its seeds are considered waste. However, recent studies show the untapped potential of jackfruit seed food value as a product that can be considered a great fiber source, besides being rich in carbohydrates, proteins and minerals. Instead, and aiming at a way to reduce food waste and waste accumulation, a proposal of this work was to develop a chocolate-like product with addition of toasted jackfruit seed flour in 3 different compositions: 5, 10 and 15% by total weight. This product underwent bromatological analysis to determine its composition and mineral content and was subjected to sensory analysis of untrained tasters to measure her degree of acceptance compared to a 70% cocoa chocolate standard. The results are effective in the use of jackfruit seed meal, using a less greasy product (with a fat content reduction of up to 2.4%), with a variation content without significant sample difference. standard (below 2.6%) an increase of up to 0,18% of specified ash an increase in mineral content. For an analysis of individual minerals, a non-significant variation was observed for 7 elements analyzed. A sensory analysis was promising in relation to the acceptance of the products by the providers, being the 5 and 10% addition products that had media without significant control sample difference, demonstrating a neutrality of the additive used by this percentage in the organoleptic properties of the final product. It was possible to add jackfruit stone flour, adding value to this byproduct, without nutritional or sensory losses to chocolate.

KEYWORDS: Jackfruit, chocolate, waste, food additive.

1 | INTRODUÇÃO

O Brasil está entre os maiores produtores de frutas do mundo. Entre os diversos fatores que podem ser atribuídos esse sucesso, o clima predominantemente tropical, amplo território agrícola e grande disponibilidade de água se sobressaem (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2018). Dentre todas as regiões, o Nordeste se destaca por sua grande diversidade de tipos de frutas encontradas, tornando a atividade de comercialização dessas frutas um grande potencial econômico nessa região.

Uma das espécies que mais obteve sucesso na sua adaptação e produção em larga escala para comercialização, tanto para o mercado interno quanto para exportação, foi o cacau, um dos principais responsáveis pelo desenvolvimento socioeconômico de algumas regiões, principalmente na região sul da Bahia devido a utilização da amêndoa desse fruto para a fabricação de chocolate e seus derivados (ROCHA, 2008).

Outra espécie que é muito bem adaptada ao Brasil e a essa região sul da Bahia, apesar de não ter o mesmo destaque econômico que o cacau é a jaqueira, uma cultura de origem asiática e que chegou ao país na época de colonização. Seu fruto é um alimento que geralmente é consumido *in natura*, ou seja, sem nenhum processamento, ou na forma de doces (ABREU; RODRIGUES, 2010). Entretanto, estudos mostram o potencial inexplorado do potencial alimentar da semente de jaca, que apesar de ser consumido em alguns lugares até mesmo cozida ou assada, industrialmente não possui um valor comercial e é considerado um resíduo, sendo descartada (SANTOS, 2009).

Dentre as diversas pesquisas realizadas com essa proposta, foram surgindo sugestões de uso da semente de jaca, principalmente na forma de farinha. Esse produto é capaz de agregar um valor nutricional ao alimento que está sendo produzido, uma vez que a semente de jaca é uma ótima fonte de fibras (27 g), proteínas (10,5 g), carboidratos (57,4 g), sais minerais (principalmente cálcio e potássio), dentre outros – todos esses valores supracitados sendo para cada 100 g de semente (BORGES; BONILHA; MANCINI, 2006).

Sabendo desse potencial alimentício presente na semente de jaca e considerando que ela é um resíduo, o objetivo desse trabalho é desenvolver um chocolate com a adição de 5, 10 e 15 % de farinha de semente de jaca visando o reaproveitamento dessa fonte nutricional pouco explorada/valorizada pela indústria de modo a reduzir o desperdício e tornar os novos produtos mais saudáveis conservando seu sabor.

2 | REFERENCIAL TEÓRICO

2.1 Chocolate

Como principal produto fabricado a partir do cacau, o chocolate merece um destaque especial, sendo um dos produtos de maior consumo mundial. Segundo a ANVISA (2005), este é definido como sendo um produto obtido a partir da mistura de derivados de cacau, massa de cacau e manteiga de cacau com outros ingredientes, contendo no mínimo 25 % de sólidos totais de cacau. O produto pode apresentar recheio, cobertura e consistência variados. O chocolate pode ser caracterizado por ser sólido à temperatura ambiente e derreter facilmente na temperatura corporal. Possui um aroma característico que somado a sua doçura, contribuem para sua grande aceitabilidade.

A partir do fluxograma apresentado na Figura 1, é possível observar as etapas de fabricação do chocolate. As sementes de cacau passam por um processo de pré-tratamento que consiste em fermentação e secagem, como consta no fluxograma. De acordo com Leite (2012, p. 52, *apud* HUANG, BARRINGER, 2010), a fermentação tem como principais objetivos a eliminação do poder germinativo da semente, a redução da acidez, adstringência e amargor em sementes de cacau. É também um passo fundamental na formação de açúcares redutores e aminoácidos, que são os precursores da reação de Maillard durante a torração.

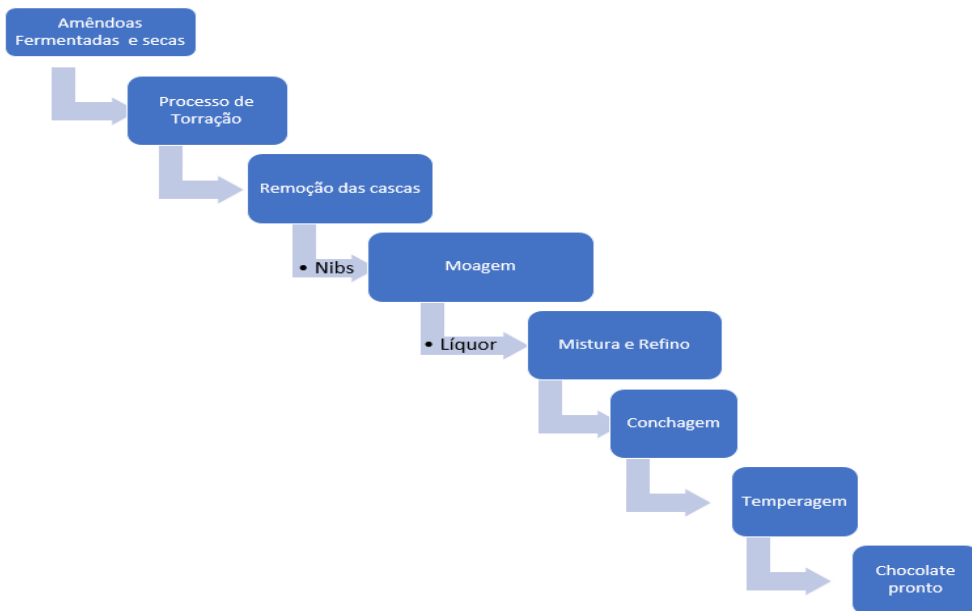


Figura 1 - Fluxograma da produção de chocolate

Fonte: Autoria própria.

Já a secagem tem como o principal objetivo a eliminação da água, mas de maneira homogênea. Um fator importante é o tempo dessa eliminação, para garantir que a redução da umidade não ocorra somente na superfície, mas sim em toda semente. Essa etapa pode ocorrer de maneira natural, exposta ao sol ou em secadores especiais (LANNES, 1997).

Uma vez secas e fermentadas, como mostrado no fluxograma da Figura 1, as amêndoas são enviadas para torrefação com o objetivo de reduzir a umidade de 7 a 8 % para 1,5 a 2 %, além de facilitar a retirada da casca e realçar seu aroma. A retirada de quase toda a água existente nas amêndoas é essencial para evitar problemas com os equipamentos nas etapas posteriores. Em condições ótimas, na torração há o desenvolvimento máximo do potencial aromático da amêndoa. (LANNES, 1997).

Ainda segundo Lannes (1997), após a torrefação a amêndoa passa por um processo de descascamento e recebe o nome de *nibs* (amêndoa seca, fermentada, torrada e limpa). O *nibs* então é encaminhado ao processo de moagem para obtenção de uma massa de cacau, denominada de *liquor*, que pode ser alternativamente prensada para a obtenção de manteiga e torta de cacau ou continuar para a próxima etapa de mistura e refino.

Nesse estágio a massa será misturada com os outros ingredientes que consistem, geralmente de açúcar, leite e manteiga de cacau. As quantidades desses ingredientes dependem do tipo do chocolate desejado para o produto final e do fabricante. O refino é um processo que promove a redução do tamanho das partículas dos ingredientes com o

objetivo de torna-los imperceptíveis na boca durante a degustação do produto final (LEITE, 2012).

A conchagem é o processo seguinte, com o principal objetivo de etapa de mistura que envolve a redução da umidade, volatilização dos ácidos graxos e aldeídos, o desenvolvimento da textura uniforme e a mudança da cor, sendo esse processo exercendo grande influência ao sabor global do chocolate, devido principalmente a formação de diversos compostos por meio da reação de Maillard (EFRAIM, 2009).

O último processo na fabricação é a temperagem cujo o objetivo é a formação de cristais estáveis no produto. Essa etapa tem seu início com a fusão completa da gordura do chocolate em uma faixa de temperatura entre 40 a 50 °C. Em seguida é feito um resfriamento controlado, para cerca de 28 a 29 °C, sob agitação, para induzir à cristalização da gordura, seguido de aquecimento entre 30 e 32 °C para derreter os cristais instáveis. Esse produto temperado então é resfriado até uma temperatura de 18 °C, com a finalidade de desenvolver uma massa quebradiça, brilhante, estável e homogênea (LEITE, 2012).

2.2 Estudos de diferentes substitutos para o cacau na formulação de chocolate e outros de seus derivados

Existem diversos fatores de instabilidade que podem afetar a produção, distribuição e preço do cacau como, por exemplo, pragas, doenças, clima, entre outros. Devido a isso, a busca por aditivos e substitutos que possam diminuir ou sanar a utilização desse fruto em diversos produtos tem crescido e se tornado de grande interesse pela indústria de chocolates e derivados. Essas substâncias podem ser adicionadas na formulação desses produtos, substituindo parcialmente ou totalmente a utilização de cacau com o objetivo de diminuir o preço do produto final.

Desse modo, algumas pesquisas, como as citadas adiante, têm se desenvolvido nessa direção com a finalidade de aprimorar esses alimentos, alterando as proporções de alguns ingredientes. Alguns exemplos dessa substituição são: obtenção de gorduras de cupuaçu, alternativas à manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate, realizada por Luccas (2001); a alteração no tipo de gordura nos chocolates ao leite, feita por Luccas, Bonomi e Kieckbusch (2014); o desenvolvimento de sorvete de chocolate utilizando fibra de casca de laranja como substituto de gordura, de autoria de Boff et al. (2011); possíveis substituintes de cacau em pó nos achocolatados pesquisado por Medeiros e Lannes (2009); dentre tantos outros.

Além desses trabalhos de substituição do cacau por outras substâncias, algumas pesquisas têm sido realizadas de modo a promover o mesmo melhoramento em produtos derivados do chocolate já existentes, tendo a substituição realizada em outros ingredientes que não o cacau, mas que também são relevantes. Exemplos dessas pesquisas são os trabalhos feitos por Richter e Lannes (2007) que tratam da substituição de açúcares por edulcorantes e agentes de corpo em bombons para dietas especiais; e o trabalho Padilha

et al. (2010) com o objetivo de formular massas de bolo de chocolate com farinha de yacón (*Smallanthus sonchifolius*).

A metodologia aplicada a essas modificações é semelhante aos trabalhos citados e comprovam que um produto pode ser obtido com qualidade semelhante ou até melhor caso haja a substituição de um ou mais ingrediente da sua receita original, sem alterar suas características sensoriais.

2.3 Jaca

A árvore conhecida popularmente no Brasil como jaqueira é originária da Índia, pertence à família Moraceae e tem o nome de *Artocarpus heterophyllus* L. e, segundo Cabral (2014), foi trazida para o Brasil pelos portugueses durante o período de colonização, sendo bem adaptada devido ao clima tropical. Pode se desenvolver em climas subtropical e semiárido e possui o fruto conhecido como jaca.

Ainda de acordo com Cabral (2014), o fruto da jaqueira mede de 12 a 90 cm de comprimento, 13 a 50 cm de diâmetro e apresenta peso variando de 3 a 60 kg, sendo considerado um dos maiores frutos do mundo. Tem como características a sua coloração verde-amarelada, superfície áspera contendo algumas saliências e aroma específico quando maduro. Por ser tão grande, pode comportar centenas de sementes revestida com uma polpa comestível que possui sabor adocicado e consistência mole ou dura.

A jaca é considerada uma fruta rica em carboidratos e, principalmente, apresenta um alto teor de fibras que são importantes para o funcionamento intestinal. Na composição química, essa fruta mostra-se rica também em cálcio, fósforo, ferro e vitaminas do complexo B, principalmente, a vitamina B2 (Riboflavina) e vitamina B5 (Niacina) (SOUZA, 2007, p. 226). A Tabela 1 contém os valores de composição química da jaca.

| COMPOSIÇÃO COMPOSIÇÃO | FRUTO | | | |
|--------------------------|---------|--------------|---------|-------|
| | Imaturo | Polpa Madura | Semente | Polpa |
| Umidade (%) | 85,20 | 72,40 | 57,60 | 84,00 |
| Calorias (cal) | 51,00 | 97,00 | 43,00 | 52,00 |
| Proteína (g) | 2,00 | 1,40 | 5,60 | 1,90 |
| Gordura (g) | 0,60 | 0,40 | 0,60 | 0,10 |
| Carboidratos (g) | 11,50 | 24,00 | 34,90 | 18,90 |
| Fibras (g) | 2,60 | 0,80 | 1,40 | 1,10 |
| Cinzas (g) | 0,70 | 1,00 | 1,30 | — |
| Cálcio (mg) | 53,00 | 23,00 | 23,00 | 20,00 |
| Ferro (mg) | 0,40 | 1,10 | 0,80 | 0,5 |
| Sódio (mg) | 3,00 | 2,00 | 3,00 | |
| Potássio (mg) | 323,00 | 107,00 | 763,00 | |

| | | | | |
|-----------------------------|-------|--------|-------|--------|
| Vitamina A (UI) | 30,00 | 175,00 | — | 540,00 |
| Tiamina (mg) | 0,12 | 0,90 | 0,60 | 30,00 |
| Rivoflavina (mg) | 0,05 | 0,05 | 0,06 | |
| Niacina (mg) | 0,50 | 0,90 | 0,60 | |
| Ácido Ascórbico (mg) | 12,0 | 5,00 | 10,00 | |

Tabela 1- Composição química da jaca por 100 g de fruto

Fonte: AFISJ (2011).

O fruto é basicamente consumido na forma *in natura*, sendo sua polpa a parte mais aproveitada industrialmente. Já as sementes apresentam um potencial de uso em preparos de alimentos, porém sua utilização ainda é pouco explorada. Essas podem ser consumidas cozidas, torradas ou assadas na brasa, além de serem trituradas e utilizadas sob a forma de farinha para compor diversos tipos de alimentos (SANTOS, 2009).

Diversos estudos têm surgido na utilização dessa farinha de semente de jaca na substituição de outros ingredientes na formulação de doces, bolos, biscoitos e outros. Exemplos disso são os estudos de Almeida (2016) em analisar farinha de semente de jaca como possível substituinte da aveia para elaboração de barras de cereais; a pesquisa de Ladim (2012) na formulação de quibes com farinha de semente de jaca; o trabalho de Silva (2012) na aceitação da aparência e aroma de bolinha de queijo (sem glúten) elaborada com a semente da jaca; e os estudos de Spada (2017), focados na caracterização e análise sensorial da semente de jaca torrada e sua utilização como substituinte do cacau em pó na preparação de cappuccinos.

3 | METODOLOGIA

3.1 Produção da farinha

Após a realização da etapa de coleta das amostras, as sementes de jaca obtidas foram descascadas manualmente e enviadas para serem torradas no forno da Comissão Executiva de Planejamento da Lavoura Cacaeira (CEPLAC), geralmente utilizado para a torra de amêndoas secas de cacau. As sementes foram torradas a uma temperatura de 120 °C durante 1 hora e 45 minutos. Após isso, elas foram moídas, peneiradas em uma peneira comum e, no momento de produção do chocolate, adicionada ao demais ingredientes, durante o processo de refino do cacau. Todo o processo pode ser observado na Figura 2.

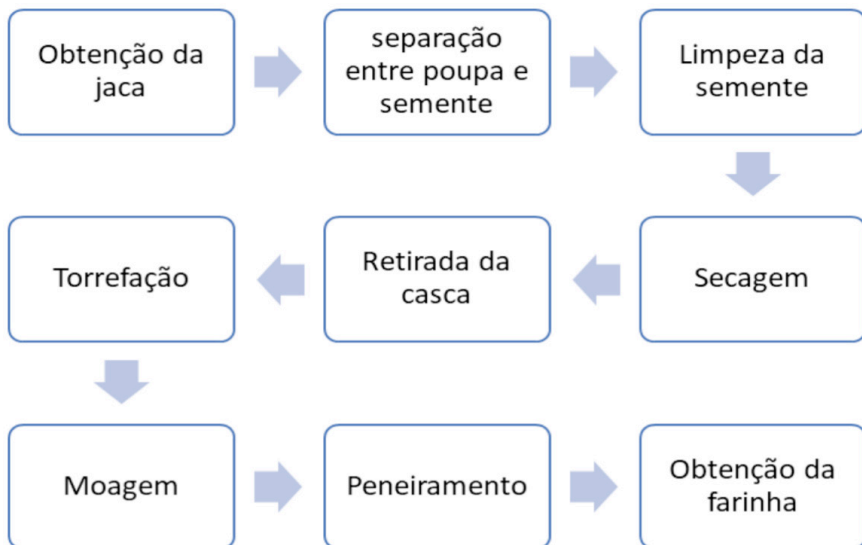


Figura 2: Fluxograma da produção da farinha de semente de jaca.

Fonte: Autoria própria.

3.2 Fabricação do chocolate

A produção do chocolate foi realizada de acordo com os passos descritos no fluxograma da Figura 1, com a diferença na etapa de mistura e refino, onde foi adicionada a farinha da semente de jaca na massa do chocolate. Essa adição ocorreu em 3 proporções diferentes, sendo elas quantidades equivalentes, em peso total, de 5, 10 e 15 % de farinha de semente de jaca.

3.3 Análises

As metodologias de análise bromatológicas foram baseadas em Cecchi (2003) como descritas a seguir.

3.3.1 Análise bromatológica

3.3.1.1 Umidade

A determinação da umidade foi realizada através de gravimetria em estufa. Foram pesados 1 g das amostras em cadinho previamente tarado e inserido em uma estufa. As amostras então foram retiradas e pesadas em intervalos de 1 hora, sendo a análise encerrada quando verificado que o peso das amostras está se mantendo constante.

3.3.1.2 Cinzas

A determinação de cinzas foi realizada por método gravimétrico em mufla, até peso constante. As amostras foram pesadas e colocadas na mufla a 500 °C até completar a incineração.

3.3.1.3 Lipídeos Totais (Método de Bligh-Dyer)

Foram pesados 1 grama das amostras e transferidas para um erlenmeyer. Neste, foram adicionados 10 ml de clorofórmio, 20 ml de metanol e 8 ml de água. Essa vidraria foi fechada hermeticamente e inserida em um agitador rotativo por 15 minutos, tempo este necessário para a dissolução da amostra na solução. Em seguida, foram adicionados mais 10 ml de clorofórmio e 10 ml de água com a finalidade de quebrar a mistura monofásica anterior e ser possível separa-las em um funil de decantação.

A parte inferior, composta por clorofórmio, foi separada em um béquero e posta pra secar na capela de exaustão por 24 horas e, em seguida, pesado.

3.3.1.4 Análise de minerais

Foram pesados 0,2 g das amostras e transferidas para os tubos de digestão, onde se iniciou uma decomposição por via úmida, utilizando 7 ml de ácido nítrico 65% (v/v). Essa digestão ocorreu por 3 horas com um auxílio de um bloco digestor a 150 °C e ocorreu em sistema fechado com refluxo (“dedo frio”). Após esse processo, as amostras passaram por um processo de filtração, uma vez que qualquer impureza sólida prejudicaria a bomba do equipamento.

As amostras então foram analisadas em um equipamento de espectrometria de emissão atômica com plasma de micro-ondas (MP AES) para a determinação dos minerais presentes. A quantificação foi realizada pela comparação das leituras das amostras com curva analítica de padrão externo, dos respectivos elementos.

3.3.2 Análise sensorial

A análise sensorial foi realizada tendo como base um Método Sensorial Afetivo, onde foi avaliado a aceitação e a preferência dos consumidores entre um produto e outro através de uma escala hedônica de aceitação contendo 9 notas para cada atributo avaliado. Além disso, foi avaliado uma possível intenção do provador em comprar este produto, caso ele estivesse disponível no mercado através de uma escala hedônica de 5 pontos.

Nessa análise foi comparado um chocolate padrão 70 % de cacau com o chocolate com farinha de semente de jaca em diferentes composições. Primeiro entre o padrão e o tipo chocolate com 5 % de farinha de jaca, sendo seguido do produto com 10 % e para finalizar o produto com 15 %.

As amostras foram entregues em guardanapos de cor branca, à temperatura controlada de 22 °C, codificadas e avaliadas por 100 provadores não treinados quanto à aceitação (aparência, sabor, aroma, textura impressão global) e intenção de compra. Cada

provedor recebeu uma ficha com uma escala hedônica com 9 níveis de aceitação, onde ele pôde avaliar os parâmetros supracitados onde 9 significa “gostei muitíssimo” e variando até o valor mínimo que significa “desgostei muitíssimo” e uma escala de 5 pontos variando de “certamente compraria” até “certamente não compraria”.

Um modelo da ficha que foi distribuída para os provedores durante a análise sensorial encontra-se na Figura 3 desse trabalho.

| | | | | |
|---------------------------|--|--|--|--|
| Código da amostra | | | | |
| Aparência | | | | |
| Cheiro | | | | |
| Textura | | | | |
| Gosto | | | | |
| Impressão Global | | | | |
| Intenção de Compra | | | | |

Aparência / Cheiro / Textura / Gosto / Impressão Global

Intenção de compra

- (9) Gostei Extremamente
- (8) Gostei Muito
- (7) Gostei Moderadamente
- (6) Gostei Ligeiramente
- (5) Nem gostei nem desgostei
- (4) Desgostei Ligeiramente
- (3) Desgostei Moderadamente
- (2) Desgostei Muito
- (1) Desgostei Extremamente

- (5) certamente compraria
- (4) provavelmente compraria
- (3) não se se compraria ou não compraria
- (2) provavelmente não compraria
- (1) certamente não compraria

Comentários (opcional)

Figura 3: Ficha de avaliação sensorial.

Fonte: Autoria própria.

3.3.3 *Análise estatística*

Para os parâmetros avaliados na análise sensorial quanto à aceitação e intenção de compra foi realizada uma média das notas. Após isso um teste Tukey ($p < 0,05$) foi realizado a fim de examinar se existe diferença significativa entre as notas de cada indicador da amostra padrão de 70 % de cacau e do produto tipo chocolate com adição de farinha de semente de jaca. Após isso, foi realizado a análise desses dados e sua disposição em forma de gráficos e histograma.

4 I APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

4.1 Produção do Chocolate

Foram produzidos 10 kg de chocolate, quantidade mínima para os equipamentos da CEPLAC, sendo essa massa dividida em 4 partes de 2,5 kg. Uma formulação continuou sem alteração, sendo de 70% de cacau e foi utilizada como padrão de comparação, como mostrado na Tabela 2. Nos outros 3 lotes de 2,5 kg foram adicionadas as devidas quantidades de farinha de semente de jaca para atingir a concentração de 5, 10 e 15%. Essa adição foi realizada no processo de refino, tendo este uma duração de 24 horas sendo processado para promover uma mistura homogênea.

| Ingrediente | massa (Kg) | % |
|--------------------------|------------|------|
| Açúcar | 2,960 | 29,6 |
| Lecitina de soja | 0,040 | 0,4 |
| Manteiga de cacau | 0,500 | 5 |
| Nibs de cacau | 6,5 | 65 |
| Total | 10 | 100 |

Tabela 2 - Composição do chocolate padrão 70% de cacau.

Já a massa de farinha adicionada em cada lote de 2,5 de chocolate pode ser visualizada na Tabela 3.

| Composição do chocolate | Massa de farinha (g) |
|-------------------------|----------------------|
| Fórmula padrão | 0,0 |
| Adição de 5% | 131,5 |
| Adição de 10% | 277,7 |
| Adição de 15% | 441,2 |

Tabela 3 - Massa de farinha de semente de jaca adicionada em formulação de chocolate.

4.2 Análises bromatológicas

4.2.1 Umidade

Na análise de umidade foi possível perceber que não há diferença significativa entre as amostras, o que já era previsto, uma vez que o chocolate apresenta baixa umidade (<5 %) e a farinha de caroço de jaca apresenta igualmente baixa umidade (<10 %), adicionalmente, na etapa de conchagem o chocolate (ou a mistura de chocolate com

farinha) são aquecidos a uma temperatura de 50 °C por cerca de 30 minutos causando a evaporação de água residual, gerando um produto sólido.

Nas amostras sem adição de farinha de caroço de jaca foi encontrado um teor de umidade de 2,6 % ($\pm 0,81$), para as amostras com adição de 5, 10 e 15 % de farinha de caroço de jaca foram encontrados 2,05 ($\pm 0,15$), 2,19 ($\pm 0,40$) e 2,00 % ($\pm 0,58$), respectivamente, o que pelo teste Tukey ($p \leq 0,05$) não representa diferença significativa. A adição de farinha de caroço de jaca não altera a umidade do chocolate.

4.2.2 Cinzas

Com a análise de cinzas é possível quantificar o resíduo inorgânico remanescente após a completa destruição da matriz orgânica do alimento, ou seja, representa o conteúdo total de minerais presentes na amostra. Nessa análise foi possível observar um aumento no valor de cinzas proporcional à quantidade de farinha adicionada no chocolate, sendo este aumento nos valores de 0,05 ($\pm 0,021$), 0,13 ($\pm 0,021$) e 0,18 % ($\pm 0,022$), para as composições de 5, 10 e 15 %, respectivamente.

Esse acréscimo no valor de cinzas indica a presença de minerais oriundos da farinha de semente de jaca que enriqueceu o chocolate, sendo a determinação de quais deles foram adicionados realizadas a seguir.

4.2.3 Minerais

Foram analisados os elementos: cobre, zinco, cálcio, ferro, manganês, sódio e magnésio, sendo que a escolha desses elementos foi baseada na disponibilidade do LQAA (Laboratório de química analítica aplicada), em termos de padrões analíticos e capacidade de detecção pelo equipamento. Os resultados do conteúdo desses elementos estão apresentados na Tabela 4.

| Amostra | Elemento | | | | | | |
|----------------|-----------------------------------|---------------------------------|---------------------------------|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
| | Zn* | Mg** | Mn* | Na* | Fe* | Cu* | Ca** |
| Farinha | 16,89 ^{ab} $\pm 0,61$ | 1,26 ^a $\pm 0,04$ | 2,08 ^b $\pm 0,06$ | 60,35 ^a $\pm 17,26$ | 9,76 ^b $\pm 2,48$ | 9,71 ^a $\pm 2,95$ | 11,33 ^a $\pm 0,87$ |
| C ₀ | 18,81 ^a $\pm 2,61$ | 1,37 ^a $\pm 0,11$ | 4,40 ^a $\pm 0,12$ | 67,46 ^a $\pm 16,98$ | 20,47 ^a $\pm 0,45$ | 11,05 ^a $\pm 2,40$ | 10,62 ^a $\pm 0,87$ |
| C ₅ | 14,47 ^b $\pm 1,23$ | 1,30 ^a $\pm 0,02$ | 4,06 ^a $\pm 0,06$ | 62,24 ^a $\pm 4,34$ | 19,46 ^a $\pm 0,47$ | 9,91 ^a $\pm 1,48$ | 8,17 ^b $\pm 0,16$ |

| | | | | | | | |
|-----------------------|-------------------------------|-----------------------------|-----------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
| C₁₀ | 16,97 ^{ab} ± 0,10 | 1,42 ^a ± 0,09 | 4,24 ^a ± 0,17 | 67,41 ^a ± 5,41 | 19,15 ^a ± 0,69 | 10,92 ^a ± 1,98 | 10,58 ^a ± 0,64 |
| C₁₅ | 16,90 ^{ab} ± 1,32 | 1,35 ^a ± 0,05 | 4,10 ^a ± 0,21 | 66,74 ^a ± 4,67 | 19,76 ^a ± 2,11 | 11,81 ^a ± 3,55 | 10,43 ^a ± 0,19 |

Tabela 4: Resultados das análises de minerais para os 7 elementos analisados

* $\mu\text{g}\cdot\text{g}^{-1}$ ** $\text{mg}\cdot\text{g}^{-1}$

A amostra C₀, C₅, C₁₀ e C₁₅ correspondem, respectivamente as amostras com 0, 5, 10 e 15 % de adição de farinha de semente de jaca. As análises do conteúdo de minerais revelaram para os elementos citados que, ao contrário do objetivo inicial de enriquecimento do chocolate, foi possível conseguir no máximo a manutenção dos níveis dos elementos já presentes no chocolate sem adição da farinha de jaca, ou seja, a adição de farinha não trouxe de fato um ganho nutricional, o que pode estar relacionado com diversos fatores, entre eles, incertezas analíticas, mas com maior grau de contribuição, a variedade de jaca estudada, que contrariando as referências, apresentou teor menor que o chocolate para os referidos elementos.

Outro fato que deve ser mencionado é que a análise desses elementos não condiz com o resultado da análise de cinzas, que mostrou um aumento no teor mineral do chocolate com a adição de farinha do caroço de jaca, o que pode estar relacionado com a variação de outros elementos, como o potássio, fósforo e selênio que não foram analisados.

4.2.4 Lipídios

Os resultados da análise de lipídios demonstraram uma redução na porcentagem de gordura com a adição gradativa da farinha de semente de jaca, um comportamento coerente com a literatura, uma vez que foi adicionado um material com um valor de gordura muito pequeno. Na Tabela 5 é possível visualizar esses resultados.

| Amostra | Lipídio (%) |
|-----------------------------------|------------------|
| Farinha de semente de jaca | 1,1988 ± 0,1861 |
| Controle | 25,5313 ± 0,4200 |
| Adição de 5% | 24,9509 ± 0,1241 |
| Adição de 10% | 24,5242 ± 0,0700 |
| Adição de 15% | 23,1861 ± 0,1881 |

Tabela 5 - Resultados da análise de lipídio expressa em porcentagem

A partir dos dados expressos na Tabela 5, é possível observar uma redução de até 2,34 % no valor de gordura do chocolate na amostra com o maior teor do aditivo.

4.3 Análise Sensorial

A análise sensorial ocorreu na UESC com 100 provadores não treinados dispostos de maneira a não haver comunicação nem contato visual entre si. Os resultados de média e desvio padrão da análise estão dispostos na Tabela 6.

| Parâmetros avaliados na análise sensorial | Amostra com 5 % | | Amostra com 10 % | | Amostra com 15 % | | Amostra controle | |
|---|-------------------|--------|-------------------|--------|-------------------|--------|-------------------|--------|
| | Média | Desvio | Média | Desvio | Média | Desvio | Média | Desvio |
| Aparência | 7,68 ^a | 1,14 | 7,7 ^a | 1,14 | 7,02 ^a | 1,73 | 6,14 ^a | 1,56 |
| Cheiro | 6,82 ^a | 1,57 | 6,86 ^a | 1,31 | 6,84 ^a | 1,34 | 7,44 ^a | 1,34 |
| Gosto | 6,4 ^a | 1,79 | 6,67 ^a | 1,68 | 6,06 ^a | 2,23 | 7,65 ^a | 1,31 |
| Textura | 7,7 ^a | 1,5 | 7,24 ^a | 1,68 | 7,22 ^a | 1,55 | 7,64 ^a | 1,35 |
| Intenção de compra | 4,0 ^a | 1,0 | 3,62 | 0,90 | 3,24 | 1,29 | 4,02 ^a | 0,95 |
| Impressão global | 6,88 ^a | 1,79 | 6,67 ^a | 1,52 | 6,24 ^a | 1,88 | 7,18 ^a | 1,78 |

Tabela 6 – Médias e desvios das notas obtidas dos parâmetros avaliados na análise sensorial para os chocolates com farinha de semente de jaca e para o chocolate controle.

Letras iguais (sobrescritas) numa mesma linha representam médias estatisticamente semelhantes.

A partir de uma comparação dos dados expressos acima utilizando um teste de Tukey, é possível chegar a uma conclusão de se tratar de amostras sem diferença significativa, resultado do grande intervalo de variação das médias e dos desvios. Isso acontece devido a utilização da escala hedônica para a avaliação dos parâmetros, sendo que esta não permite números decimais, resultado assim em uma variação de mais de 10 % a cada intervalo de notas permitidas, sendo este fator agravado na categoria “intenção de compra”, com cada intervalo de notas representando 20 % de variação.

Devido a este fator, o trabalho com essa forma de disposição de dados leva a conclusões precipitadas dos resultados, sendo necessário buscar outra forma de expressá-los. A forma escolhida para demonstrar a disposição de notas de maneira mais clara foi através de histogramas, como os expressos a seguir.

4.3.1 Aparência

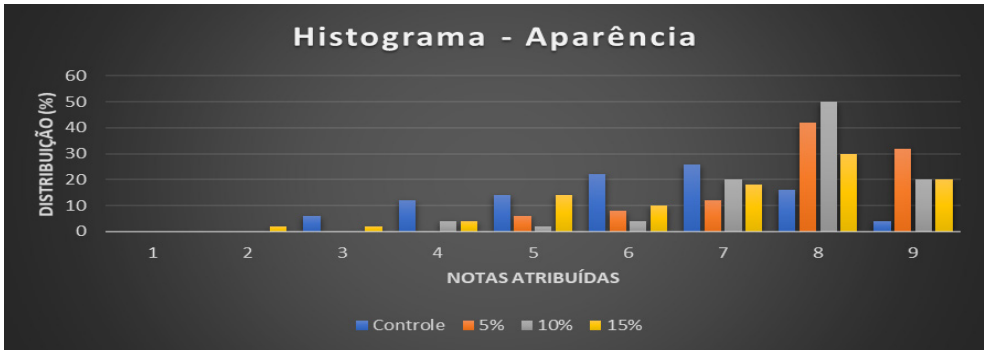


Figura 4 - Histograma comparativo na categoria aparência resultante da análise sensorial da amostra controle e das amostras com farinha de semente de jaca.

A partir da análise do histograma da Figura 4, foi possível observar uma maior aceitação das amostras de 5 e 10 % de adição de farinha de semente de jaca, uma vez que a maior porcentagem de suas frequências se encontra distribuída nas notas 8 e 9 (74 e 70%, respectivamente).

4.3.2 Cheiro

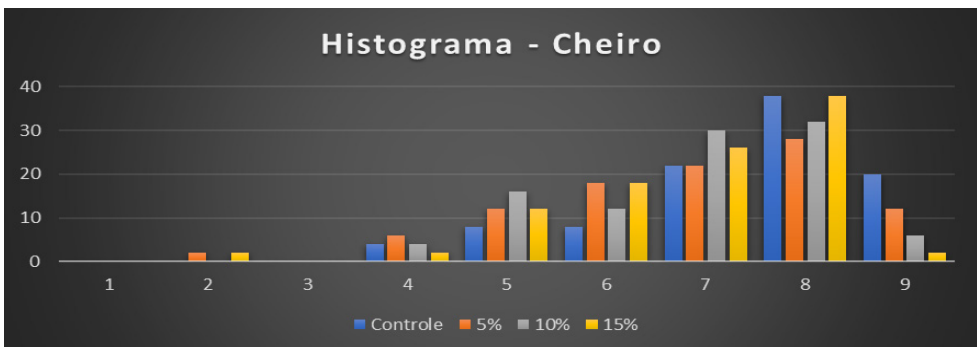


Figura 5 - Histograma comparativo na categoria aparência resultante da análise sensorial da amostra controle e das amostras com farinha de semente de jaca.

Na caracterização do cheiro, é possível observar na Figura 5 uma distribuição mais homogênea das notas de todas as amostras, não gerando diferença significativa da amostra controle para as amostras com adição de farinha de semente de jaca.

4.3.3 Textura

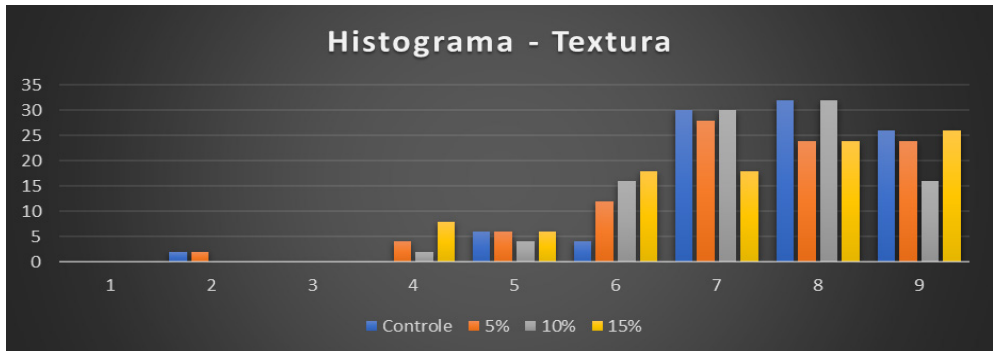


Figura 6 - Histograma comparativo na categoria textura resultante da análise sensorial da amostra controle e das amostras com farinha de semente de jaca.

Na análise da textura, presente na figura 6, observa-se uma predominância de notas 7, 8 e 9 (mais de 65% do total) para todas as amostras, não havendo diferença significativa entre as amostras controle e com aditivos. A maior distribuição das notas mais altas é um indicativo de uma boa aceitação dos provadores para todas as amostras.

4.3.4 Sabor

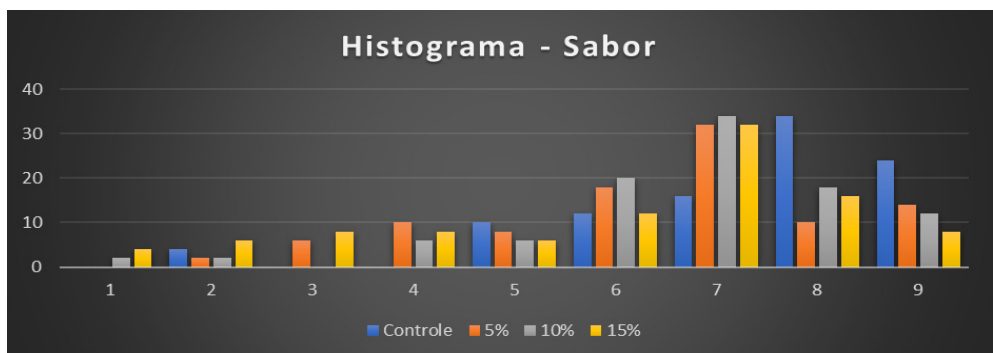


Figura 7 - Histograma comparativo na categoria textura resultante da análise sensorial da amostra controle e das amostras com farinha de semente de jaca.

No critério sabor, percebe-se, pela Figura 7, uma maior distribuição das frequências de notas, com maior concentração das notas em valores intermediários (6 e 7) e atingindo os valores mínimos em alguns pontos, algo que não ocorria significativamente nos outros parâmetros avaliados. Isto demonstra que, provavelmente, os provadores não estavam acostumados a degustar chocolates com alto teor de cacau, algo comum para a maioria da população.

Mesmo fora do Brasil, entende-se que geralmente, chocolates amargos com maior percentual de cacau apresentam menor índice de aceitação em relação aos chocolates com menor teor de cacau, sendo estes os mais conhecidos e consumidos. Na pesquisa dirigida por Thamke e colaboradores (2009), foi avaliada a descrição sensorial de chocolates amargos por parte dos provadores, e resumindo os resultados, notou-se que, no que diz respeito à sensação na boca e gosto, o chocolate com menor teor de cacau foi caracterizado como derretido, cremoso e suave, enquanto que o produto com o maior teor de cacau foi descrito como mais viscoso e seco, deixando gosto por mais tempo na boca.

4.3.5 Impressão global

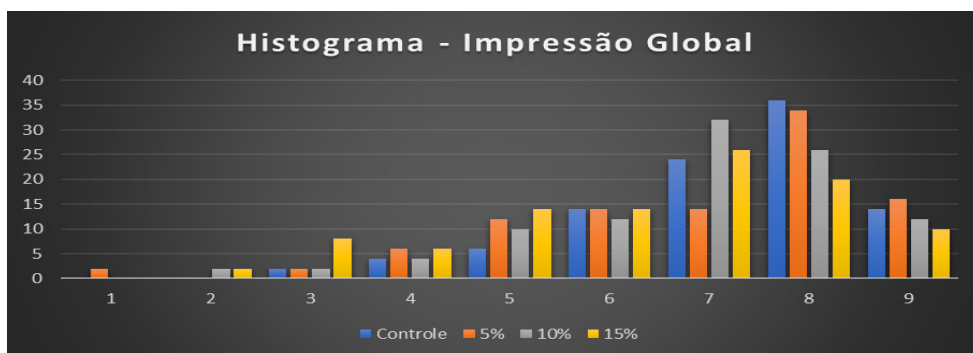


Figura 8 - Histograma comparativo da impressão global resultante da análise sensorial da amostra controle e das amostras com farinha de semente de jaca.

Na Figura 8 está presente o aspecto impressão global, que avalia de uma maneira geral a opinião do provador sobre tudo que ele pôde perceber no chocolate enquanto fazia a análise, percebe-se que, apesar de uma distribuição de notas homogêneas nas notas intermediárias (4, 5 e 6), a amostra de 5% obteve resultados tão bons quanto a amostra controle. A amostra de 10% também obteve resultados satisfatórios, quando comparado as outras duas.

4.3.6 Intenção de compra

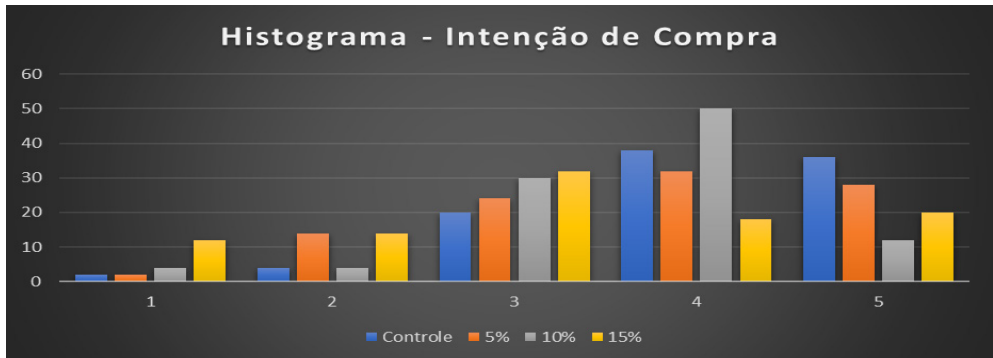


Figura 9 - Histograma comparativo da intenção de compra resultante da análise sensorial da amostra controle e das amostras com farinha de semente de jaca.

Na intenção de compra, observada na Figura 9, as amostras de 5% e, principalmente as de 10% de adição de farinha de semente de jaca, obtiveram resultados satisfatórios, se concentrando em mais 60% nas notas mais altas (4 e 5). A intenção de compra é um fator muito importante dessa análise, pois ela avalia se o produto apresentado possui características positivas suficientes para serem adquiridos pelo provador, servindo de resumo de todos os outros aspectos. Os resultados positivos das duas primeiras amostras com aditivo revelam boa aceitação por parte do consumidor ao novo produto se comparado a amostra controle, sendo essa um chocolate já consolidado no mercado.

5 | CONSIDERAÇÕES FINAIS

A adição de farinha de semente de jaca no chocolate se mostrou sendo um processo de baixo custo, sem necessidade de alterações na planta de produção de chocolate, apenas um incremento para o processo de fabricação da farinha, que também é de baixo custo, mostrando um uso efetivo de um subproduto até então descartado, agregando valor para o mesmo e diminuindo a geração de resíduos na cadeia produtiva da jaca e sem perdas sensoriais para o chocolate.

As análises bromatológicas indicam resultados promissores na utilização deste aditivo alimentar, uma vez que a adição de farinha de semente de jaca não altera significativamente a umidade do produto, mantendo-se em torno de 2,6%. Além disso é possível uma diminuição de até 2,34% gordura no chocolate, se comparado a amostra de 15% com a amostra controle.

Já a partir da análise de cinzas, é possível concluir que a utilização da farinha de semente de jaca agrega conteúdo mineral ao chocolate, sendo necessário no futuro, uma análise mais detalhada de outros elementos que possam ser detectados em equipamentos e padrões analíticos mais precisos.

Nas análises sensoriais foi possível ver uma boa aceitação pelos provadores principalmente nas amostras de 5 a 10 %, em diversos atributos sensoriais e na intenção de compra, mostrando que a adição da farinha de semente de jaca, nessas concentrações, não altera significativamente as propriedades organolépticas do chocolate.

REFERÊNCIAS

ABREU, R. C. R.; RODRIGUES, P. J. F. P. **Árvore exótica *Artocarpus heterophyllus* (Moraceae) invade a Mata Atlântica brasileira. Rodriguésia** [online]. 2010, vol.61, n.4, pp.677-688. ISSN 0370-6583. <http://dx.doi.org/10.1590/2175-7860201061409>

[AFISJ] Agriculture and Fisheries Information Service Jackfruit. **Department of Agriculture**. 2011. Disponível em:<<https://pt.scribd.com/document/63162481/Jack-Fruit>>. Acesso em: 11 de outubro de 2018.

Almeida, I. D. S.. **Avaliação bromatológica da farinha de sementes de jaca (*Artocarpus heterophyllus* Lam.) como possível substituinte da aveia para elaboração de barras de cereais**. 2016.

ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA 2018. Santa Cruz do Sul: Editora Gazeta, 2018-. ISSN 1808-4931

[ANVISA] Agência Nacional de Vigilância Sanitária. **Regulamento Técnico para chocolate e produtos de cacau**. Resolução RDC nº 264. 2005.

BOFF, C. C.; CRIZEL, T. M.; ARAUJO, R. R.; RIOS, A. O.; FLÓRES, S. H. **Desenvolvimento de sorvete de chocolate utilizando fibra de casca de laranja como substituto de gordura**. 2011.

BORGES, S. V.; BONILHA, C. C.; MANCINI, M. C. **Sementes de Jaca (*Artocarpus integrifolia*) e de Abóbora (*Curcubita moschata*) desidratadas em diferentes temperaturas e utilizadas como ingredientes em biscoitos tipo cookie**. Alimentos e Nutrição, v. 17, n. 3, p. 317-321, jul./set. 2006.

CABRAL, S. B. et al. **Desenvolvimento de tecnologia para produção de bioetanol a partir da semente de jaca (*Artocarpus heterophyllus* L.)**. 2014.

CECCHI, Heloisa Máscia. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**. -Campinas. SP: editora da Unicamp, 2003.

EFRAIM, P. **Contribuição a melhoria de qualidade de produtos de cacau no Brasil, por meio da caracterização de derivados de cultivares resistentes à vassoura de bruxa e de sementes danificadas pelo fungo**. 2009. 226 p. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Engenharia de Alimentos, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

LANDIM, L. B.; BONOMO, R. C. F.; REIS, R. C.; SILVA, N. M. C.; VELOSO, C. M.; FORTAN, R. C. I. **Formulação de quibes com farinha de semente de jaca**. UNOPAR Cient. Ciênc. Biol. Saúde, v. 14, n. 2, p. 87-93, 2012

LANNES, S. C. S. **Estudo das propriedades físico-químicas e de textura de chocolates**. 1997. 118 f. Tese (Doutorado em Tecnologia de Alimentos) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo.

LEITE, P. B. **Caracterização de chocolates provenientes de variedades de cacau *Theobroma cacao* resistentes à vassoura de bruxa**. 2012. 170 f. Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) – Faculdade de Farmácia, Universidade Federal da Bahia, Salvador.

MEDEIROS, M. L.; LANNES, S. C. da S. **Avaliação química de substitutos de cacau e estudo sensorial de achocolatados formulados**. *Ciência e Tecnologia Alimentar*, Campinas, v. 29, n. 2., abr./jun. 2009

LUCCAS, V. BONOMI, E. C.; KIECKBUSCH. **Caracterização comparativa entre chocolates ao leite formulados com gordura e leite anidro e com estearina de gordura de leite**. *Brazilian Journal of Food Technology*, Campinas, v. 17, n. 2, abr./jun. 2014.

LUCCAS, V. **Fracionamento térmico e obtenção de gorduras de cupuaçu alternativas a manteiga de cacau para uso na fabricação de chocolate**. 2001. 201 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

PADILHA, V. M.; ROLIM, P. M.; SALGADO, S. M.; LIVERA, A. S.; ANDRADE, S. A. C.; GUERRA, N. B. **Perfil sensorial de bolos de chocolate formulados com farinha de yacon (*Smallanthus sonchifolius*)**. *Ciência e Tecnologia Alimentar*, Campinas, v. 30, n. 3, jul./set. 2010

RICHTER, M. LANNES, S. C. da S. **Bombom para dietas especiais: avaliação química e sensorial**. *Food Science and Technology*, Campinas, v. 27, n. 1, jan./mar. 2007.

ROCHA, Lurdes Bertol. **A região cacauera da Bahia-dos coronéis à vassoura-de-bruxa: saga, percepção, representação**. Editus, Editora da UESC, 2008.

SANTOS, C. T. Farinha da Semente de Jaca: **Caracterização físico-química e propriedades funcionais**. 73p. Dissertação – (Mestrado em Engenharia de Processos de Alimentos). Itapetinga-BA: UESB, 2009

SILVA, C. M. S.; VASCONCELOS, M. M. C.; PAULA, A. I. A.; MONTE, F. R. S.; MORAIS, A. C. S. **Avaliação da aceitação da aparência e aroma de bolinha de queijo (sem glúten) elaborada com a semente da jaca (*Artocarpus integrifolia* L.)**. In: VII CONNEPI, 2012, Palmas.

SOUZA, T. S. **Desidratação osmótica de frutículos de jaca (*Artocarpus integrifolia* L.): Aplicação de modelos matemáticos**. 2007. 69f. Dissertação (Mestrado em Engenharia de Alimentos). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Itapetinga.

SPADA, F. P. **Roasted jackfruit seed as a potential substitute for chocolate aroma: obtainment, composition, olfactometry, and application**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo.

THAMKE, I.; DURRSCHMID, K.; ROHM, H. **Sensory description of dark chocolates by consumers**. *Food Science and Technology*, v.42, n.2, p.534-539, 2009.

VIEIRA, G. et al. **Caracterização dos parâmetros físico, físicoquímico da jaca in natura e desidratada**. In: Anais do 19º Congresso Brasileiro de Fruticultura. Cabo Frio. 2006. p. 450.

FORMULAÇÃO DE MATRIZES ANTI-INCRUSTANTES UTILIZANDO SURFACTANTES NATURAIS

Data de aceite: 01/12/2020

Data de submissão:05/11/2020

Anderson Oliveira de Medeiros

Universidade Católica de Pernambuco- Centro de Ciências e Tecnologia.
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/1629788550827259>

Maria da Gloria Conceição da Silva

Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Rede Nordeste de Biotecnologia
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/9843431393356502>

Leonie Asfora Sarubbo

Universidade Católica de Pernambuco- Centro de Ciências e Tecnologia.
Recife – Pernambuco
<http://lattes.cnpq.br/4691045388698504>

RESUMO: Organismos incrustantes marinhos causam prejuízos econômicos e para remoção desses organismos, são utilizados biocidas tóxicos e letais em seres vivos não-alvo. Para evitar o processo de bioincrustação, a aplicação de substâncias naturais surge como uma alternativa ambientalmente correta. Os surfactantes são compostos químicos que possuem propriedades anfipáticas que os permitem interagir com distintas moléculas de diferentes afinidades. Os de origem natural são produzidos por plantas ou micro-organismos, possuem baixa toxicidade, alta biodegradabilidade, resistência em condições extremas de temperaturas, pH e salinidade

além de sua atividade antimicrobiana, inibindo a adesão microbiana e formação de biofilmes, estruturas necessárias para a condução do processo de incrustação. O presente trabalho teve por objetivo formular e avaliar matrizes anti-incrustantes contendo surfactantes naturais atóxicos para aplicação como revestimento em qualquer instalação submersa em meio marinho com presença de organismos incrustantes. Para esse fim, surfactantes naturais foram obtidos por processo fermentativo, pela modificação química do óleo de soja (*Glycine max* (L)) ou adquiridos comercialmente. Foram preparadas matrizes à base de resina natural contendo os seguintes surfactantes: surfactante oligômero do glicerol, laurato de glicerila, ácido oleico hidroxilado, glicolípido, lecitina, ácido oleico hidroxilado de sódio e oleato hidroxilado de glicerila. Essas matrizes foram aplicadas em placas metálicas e imersas no Porto do Recife-PE durante 25 dias. Os resultados analisados da área incrustada através do *software ImageJ* demonstraram que em comparação com a placa revestida apenas com a matriz (82,70%) e a placa 10, sem revestimento (98,19%), a matriz + laurato (62,44%) e a matriz + ácido hidroxilado (72,34%) exibiram as atividades anti-incrustante mais promissoras. Desse modo, foi possível obter matrizes com atividade anti-incrustante contendo surfactantes naturais obtidos de fontes renováveis (óleo de soja residual), evitando assim, a utilização convencional de organismos marinhos, que necessitam de criação em cativeiro, sendo um processo lento e pouco produtivo.

PALAVRAS-CHAVE:

Revestimento, incrustantes, bioincrustação.

FORMULATION OF ANTI-FOULING MATRICES USING NATURAL SURFACTANTS

ABSTRACT: Biofouling, present in marine environments, causing economic losses. To remove these organisms, toxic and lethal biocides are used in non-target living beings. To avoid the biofouling process, the application of natural substances appears as an environmentally friendly alternative. Surfactants are chemical compounds that have amphipathic properties that allow them to interact with different molecules of different affinities. Those of natural origin are produced by plants or microorganisms, have low toxicity, high biodegradability, resistance in extreme conditions of temperature, pH, and salinity in addition to their antimicrobial activity, inhibiting microbial adhesion and formation of biofilms, structures necessary for driving the fouling process. The present work aimed to formulate and evaluate antifouling matrices containing non-toxic natural surfactants for application as a coating in any installation submerged in the marine environment with the presence of fouling organisms. For this purpose, natural surfactants were obtained by the fermentation process, by chemical modification of soybean oil (*Glycine max* (L)), or purchased commercially. Matrices based on natural resin were prepared to contain the following surfactants: glycerol oligomer surfactant, glycerol laurate, hydroxylated oleic acid, glycolipid, lecithin, sodium hydroxylated oleic acid, and glyceryl hydroxylated oleate. These matrices were applied to metal panels and immersed in the Port of Recife-PE for 25 days. The results analyzed from the covered area using the ImageJ software showed that compared to the panel coated only with the matrix (82.70%) and panel 10, without coating (98.19%), the matrix + laurate (62.44 %) and the matrix + hydroxylated acid (72.34%) exhibited the most promising antifouling activities. In this way, it was possible to obtain matrices with anti-fouling activity containing natural surfactants obtained from renewable sources (residual soy oil), thus avoiding the conventional use of marine organisms, which need to be reared in captivity, being a slow and not very productive process.

KEYWORDS: Coating, fouling, biofouling.

1 | INTRODUÇÃO

Bioincrustação em superfícies de materiais é um dos principais problemas no ambiente marinho, afetando de modo particular o setor náutico, devido ao aumento do consumo de combustível. Essa comunidade biológica marinha incrustante do inglês, *biofouling*, dependendo do tamanho dos organismos envolvidos, são subdivididos em *microfouling* e *macrofouling* (GITTENS et al., 2013; GULE et al., 2016).

O desenvolvimento do *biofouling* ocorre tipicamente em quatro fases: formação de uma camada de moléculas orgânicas; colonização primária por micro-organismos, como bactérias e diatomáceas; colonização unicelular por esporos de algas; e fixação de macroincrustantes multicelulares (MAGIN et al., 2010).

Pela proximidade de usinas termelétricas com a região costeira os organismos planctônicos e larvas de organismos incrustantes são atraídos para o circuito de refrigeração das usinas (POORNIMA et al., 2006). As bioincrustações nos sistemas de resfriamento

vão aos poucos dificultando a troca de calor nas serpentinas e radiadores, causando o aumento da temperatura de operação. Para minimizar esses efeitos, as usinas precisam realizar manutenção e limpeza mecânica periódicas das tubulações e essa ação exige constantes e longos desligamentos dos equipamentos (DEGER, 2010). Para reduzir os prejuízos causados pelas incrustações, as termelétricas frequentemente aplicam biocidas na água de resfriamento que circula nos equipamentos para controle do crescimento desses organismos incrustantes. Tradicionalmente, o uso do hipoclorito de sódio (NaOCl) é o tratamento biocida mais comumente utilizado em sistemas de resfriamento, dado sua alta eficiência (LI et al., 2011). No entanto, a utilização contínua de hipoclorito, além de representar custos consideráveis para as usinas, tem efeitos prejudiciais ao meio ambiente, sendo limitado sua concentração de cloro residual total em 0,01 mg/L em águas salinas e salobras, pela legislação brasileira vigente, Resolução do CONAMA 357/2005, complementada pela Resolução do CONAMA 430/2011.

A utilização de revestimentos anti-incrustantes, à base de produtos químicos sintéticos, têm sido uma das estratégias principais para combater o *biofouling*, nas incrustações marinhas. Biocidas como o TBT (tributilestanho) são eficazes na redução da incrustação, mas os desse tipo estão proibidos por sua elevada toxicidade em organismos não alvos (YEBRA; KIIL; DAM-JOHANSEN, 2004; GITTENS et al., 2013). Mesmo com a ocorrência de outras formulações a legislação mundial impôs limitações crescentes sobre o uso de biocidas para combater a incrustação biológica e, como alternativa, tecnologias livres de biocidas vêm sendo desenvolvidas para enfrentar este desafio (GITTENS et al., 2013; GULE et al., 2016).

Uma das tendências atuais é a alteração de superfícies para torná-las mais hidrofóbicas por meio da introdução de substâncias tensoativas, como também pela adição de substâncias naturais com ação antimicrobiana nas superfícies tratadas, eliminando, assim, a adesão microbiana, pois uma vez que os biofilmes colonizam uma superfície, eles alteram as propriedades da superfície e facilitam o processo de adesão de outros incrustantes (GITTENS et al., 2013; DAMODARAN; MURTHY, 2016).

Surfactantes são tensoativos naturais que possuem a propriedade de reduzir a tensão superficial e interfacial. Os derivados do petróleo podem ser obtidos por síntese química, e os naturais (biossurfactantes) provenientes de plantas, de micro-organismos, entre outras fontes. Dentre as várias vantagens dos biossurfactantes sobre os surfactantes sintéticos estão a baixa toxicidade, biodegradabilidade, atividade e resistência em condições extremas de temperaturas, pH e salinidade. Além de suas atividades antibacterianas, antivirais e antifúngicas, esses compostos também provaram serem bons inibidores da adesão microbiana e formação de biofilmes (DUSANE et al., 2013; BANAT; DE RIENZO; QUINN, 2014; SANTOS et al., 2016; ARAUJO et al., 2016;).

Desse modo, compreendendo que a formação de biofouling faz com que o setor termelétrico interrompa suas atividades, gerando uma grande perda econômica no setor,

e com os métodos de controle não atendendo o conceito de indústria ecológica, faz-se necessário o desenvolvimento de revestimentos anti-incrustantes que não contenham substâncias nocivas à fauna e flora presentes nas proximidades das instalações, e que sejam eficientes em relação àqueles organismos causadores das incrustações nos sítios internos das tubulações do sistema de resfriamento da indústria.

Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi formular um revestimento anti-incrustante atóxico e avaliar seu comportamento antifouling frente a organismos incrustantes comumente encontrados em tubulações de termoelétricas costeiras.

2 | MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Preparação da matriz com propriedade anti-incrustante

A composição da formulação da matriz foi adaptada de Acevedo et al., (2013) e expressa em porcentagem por massa. Os componentes foram misturados em um agitador mecânico (Tecnal LTDA, Brasil) a 2000 rpm por 50 min.

2.2 Obtenção dos ativos

As substâncias avaliadas no presente trabalho foram selecionadas com base em estudos que demonstraram o potencial antimicrobiano/anti-incrustante de alguns tipos de surfactantes naturais (FUSETANI, 2011; RUFINO et al., 2011). Foram produzidos: o ácido oleico hidroxilado, ácido oleico hidroxilado de sódio, oleato de glicerila, laurato de glicerila e oleato hidroxilado de glicerila, por meio da modificação química do óleo de soja (*Glycine max* (L.)) através de reações de neutralização, esterificação do glicerol e reações de hidroxilação por epoxidação, utilizando catalisador adequado. O glicolípido foi obtido a partir da fermentação da bactéria *Pseudomonas cepacia*, de acordo com a metodologia de Soares da Silva et al., (2017) e o surfactante/emulsificante lecitina adquirido da empresa Nutryervas do Brasil LTDA.

2.3 Ensaio antimicrobiano

Os ativos a serem incorporados nas formulações anti-incrustantes foram avaliados através do teste de inibição do crescimento bacteriano, baseado no método de Bauer et al., (1966). Foi utilizada a cepa da bactéria *Pseudomonas aeruginosa* (UCP0992), obtida junto à Coleção de Culturas da Universidade Católica de Pernambuco – UNICAP. Esse gênero de bactérias é pioneiro na formação de biofilmes e conhecido por auxiliar no reconhecimento, fixação e metamorfose de larvas de organismos incrustantes. Foi utilizado meio ágar Marinho (Bacto Marine Ágar 2216, Difco) para o crescimento microbiano. Discos de antibiograma ($\varnothing = 6$ mm) contendo cada ativo a ser testado foram transferidos para as placas de Petri e dispostos em posições equidistantes. As placas de Petri foram incubadas em estufa a 30 °C e verificada após 24h a ocorrência ou não da formação de halos em torno de cada disco, indicando ocorrência ou não de inibição.

2.4 Incorporação dos ativos

Os compostos ativos testados foram incorporados posteriormente à matriz na concentração inicial de 5% (p/p).

| Misturas | Composição |
|-----------|--|
| Controle | Matriz sem ativo |
| Mistura 1 | Matriz + surfactante oligômero do glicerol * |
| Mistura 2 | Matriz + laurato de glicerila |
| Mistura 3 | Matriz + hidroxilado de glicerila |
| Mistura 4 | Matriz + glicolípido |
| Mistura 5 | Resina natural |
| Mistura 6 | Matriz + lecitina* |
| Mistura 7 | Matriz + ácido oleico hidroxilado de sódio |
| Mistura 8 | Matriz + oleato hidroxilado de glicerila |

Tabela 1 – Misturas formuladas com surfactantes naturais para obtenção de anti-incrustantes

* ativos de reconhecida atividade antimicrobiana/*antifouling*

2.5 Ensaios de imersão

Para os ensaios de imersão in situ, placas de aço (1mm x 100mm x 200mm) foram previamente tratadas, limpas com detergente e álcool 96 % para remoção de sujidades da superfície. Em seguida, foi aplicada uma demão de cada matriz formulada sobre toda área superficial das placas utilizando um pincel universal de uma polegada. As placas foram numeradas e furadas (abertura de 3 mm de diâmetro) para auxiliar na fixação ao suporte de trilho. Posteriormente, as placas de aço contendo as matrizes foram imersas em água do mar em uma área com alta ocorrência de organismos incrustantes no Porto do Recife S.A., Recife/PE. As placas foram verificadas quanto à ação anti-incrustante após 7 dias e depois em 25 dias de imersão, respectivamente. As imagens fotográficas obtidas durante as amostragens das placas nos períodos especificados passaram por análise da superfície com a ajuda do *software* editor de imagem *ImageJ*. As misturas das formulações que apresentaram a melhor resposta no ensaio de imersão foram utilizadas na continuidade dos testes. Houve também variação da concentração dos ativos a fim de obter um melhor perfil do efeito anti-incrustante.

2.6 Avaliação das propriedades dos anti-incrustantes formulados - Ensaio de teor de sólidos por massa, análise do aspecto visual e secagem ao toque livre de pegajosidade

Uma vez que a formulação não vem a ser de fato uma tinta, adaptações dos protocolos das normas foram realizados. O teor de sólidos das formulações foi verificado

de acordo com a metodologia adaptada da norma Petrobras N 1367 (2008) e expresso em porcentagem por massa. O teste foi realizado em triplicata. Em relação aos outros testes, a análise do aspecto visual foi baseada na norma Petrobras N 2630 (2011) e o ensaio de secagem ao toque livre de pegajosidade, adaptado da norma ASTM D 1640 (2014).

2.7 Ensaio de toxicidade

As misturas das formulações mais promissoras foram avaliadas quanto à toxicidade utilizando-se larvas do microcrustáceo *Artemia salina* como indicador de toxicidade, adaptado de MEYER et al., (1982). As larvas foram expostas aos anti-incrustantes nas concentrações testadas durante 24 horas e depois observadas quanto à mortalidade. O teste foi realizado em triplicata.

2.8 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

O surfactante natural mais promissor selecionado nos testes acima foi redissolvido em clorofórmio deuterado (CDCl_3) e os respectivos espectros de ^1H RMN e de ^{13}C RMN foram registrados a 25°C utilizando um espectrômetro da Agilent 300Mz operando a 300,13 MHz. Os desvios químicos (δ) foram dados na escala ppm em relação ao tetrametilsilano (TMS).

3 | RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Ensaio antimicrobiano

A Figura 1 mostra os resultados para os testes de inibição do crescimento microbiano. Verificou-se que todos os surfactantes naturais testados promoveram algum tipo de inibição do crescimento microbiano, destacando-se o laurato de glicerila e o sal de sódio do ácido oleico hidroxilado, os quais apresentaram os maiores halos de inibição (Tabela 2).

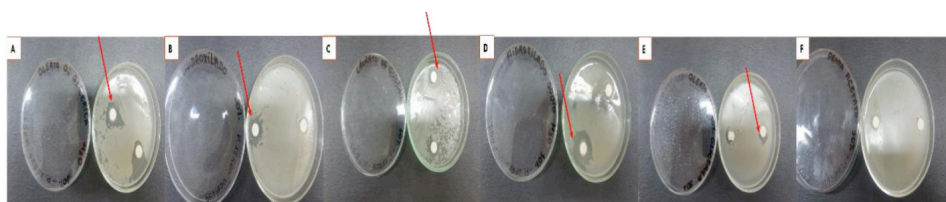


Figura 1 – Resultados visuais da inibição microbiana pelos surfactantes naturais. (A) Oleato de glicerila. (B) Ácido oleico hidroxilado. (C) laurato de glicerila. (D) sal de sódio do ácido oleico hidroxilado. (E) Oleato de glicerila hidroxilado. (F) Penta-Acetato de Glicose (Controle Negativo).

O penta-acetato de glicose (utilizado como controle negativo) não inibiu o crescimento bacteriano.

| Surfactantes naturais derivados do óleo de soja | Diâmetro do halo de inibição (cm) |
|---|-----------------------------------|
| Oleato de glicerila | 2,86 |
| Ácido oleico hidroxilado | 2,88 |
| Laurato de glicerila | 3,38 |
| Sal de sódio do ácido oleico hidroxilado | 4,84 |
| Oleato de glicerila hidroxilado | 2,11 |
| Penta-Acetato de glicose (Controle negativo) | 0,20 |

Tabela 2 – Resultados da inibição microbiana e halos produzidos surfactantes naturais obtidos pela modificação química do óleo de soja

A bactéria Gram-negativa *P. aeruginosa* apresenta a capacidade de formar biofilmes resistentes (JAGANI; CHELIKANI; KIM, 2009). Biofilmes são as primeiras formas de vida desenvolvidas na sucessão ecológica que precede o processo de incrustação causador da macroincrustação (DOGHRI et al., 2011). Além disso, micro-organismos que crescem em um biofilme são muito mais resistentes aos agentes inibidores do que as células planctônicas, requerendo 1000 vezes mais inibidores para matar células de biofilmes do que células planctônicas (JAGANI; CHELIKANI; KIM, 2009). Deste modo, os resultados obtidos indicaram um grande potencial dos surfactantes naturais como inibidores do crescimento de biofilmes e consequente formação do *biofouling*.

3.2 Ensaio de imersão

Na Figura 2 (Figuras 2A – 2B), estão apresentados os resultados obtidos nos testes em campo, após 7 dias (A) e 25 dias (B) das placas imersas no Porto do Recife. O retardo da incrustação foi evidenciado pela diferença na cobertura das placas, conforme mostrado na Figura 2.

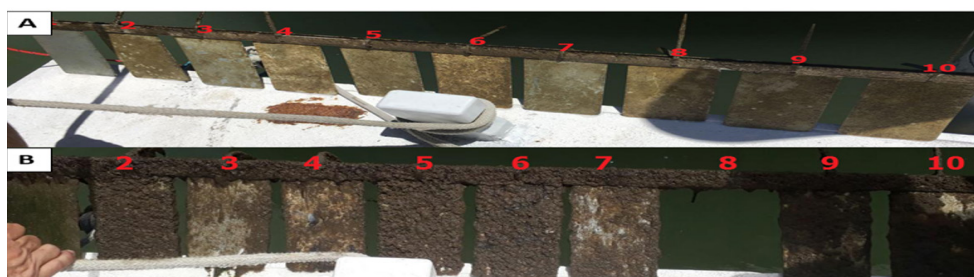


Figura 2 – Placas após 7 dias (A) e 25 dias (B) imersas no Porto do Recife. 1: Matriz sem ativos; 2: Matriz + surfactante oligômero do glicerol; 3: Matriz + laurato de glicerila; 4: Matriz + ácido oleico hidroxilado; 5: Matriz + glicolípido; 6: Resina natural(breu); 7: Matriz + lecitina; 8: Matriz + ácido oleico hidroxilado de sódio; 9: Matriz + oleato hidroxilado de glicerila; 10: Sem revestimento/tratamento.

Nessa etapa, obteve-se também a análise do aspecto visual e ensaio de secagem ao toque livre de pegajosidade. Observou-se que as superfícies das placas 1, 3 e 4 apresentaram-se lisas após suas secagens sem exibir problemas de TAC (aderência ao toque). Já as placas 2, 7 e 8 ficaram pouco lisas, com grande aderência ao toque e relativamente maleáveis. Por outro lado, as placas 5 e 9 ficaram bem rugosas, mas não apresentaram TAC. A placa 6 exibiu uma pequena aderência ao toque (TAC). Para a imersão no ambiente, também foi incluída mais uma placa não revestida e sem nenhum tratamento (placa 10), para servir de parâmetro base para comparação com as placas contendo as matrizes. De modo geral, observou-se que as placas 1,3 e 4 (matriz; matriz + laurato de glicerila; matriz + ácido oleico hidroxilado, respectivamente), as quais exibiram alta lisura e ausência de TAC, apresentaram os melhores resultados de inibição do biofouling. A placa 7 (matriz + lecitina), embora exibindo TAC acentuado, também promoveu relativa inibição da bioincrustação. As demais placas, devido ao acentuado TAC e/ou rugosidade da superfície, não apresentaram resultados antifouling satisfatórios. Na Figura 3 é apresentada a análise dos percentuais de área coberta das placas mais representativas dos diferentes resultados obtidos em campo, calculados pelo software *ImageJ* após 25 dias. A aferição pelo aplicativo indicou que, em comparação com a placa da matriz (82,700%) e a placa 10 (98,187%), completamente cobertas, as placas 3 (62,444%) e 4 (72,336%) apresentaram retardo da incrustação.

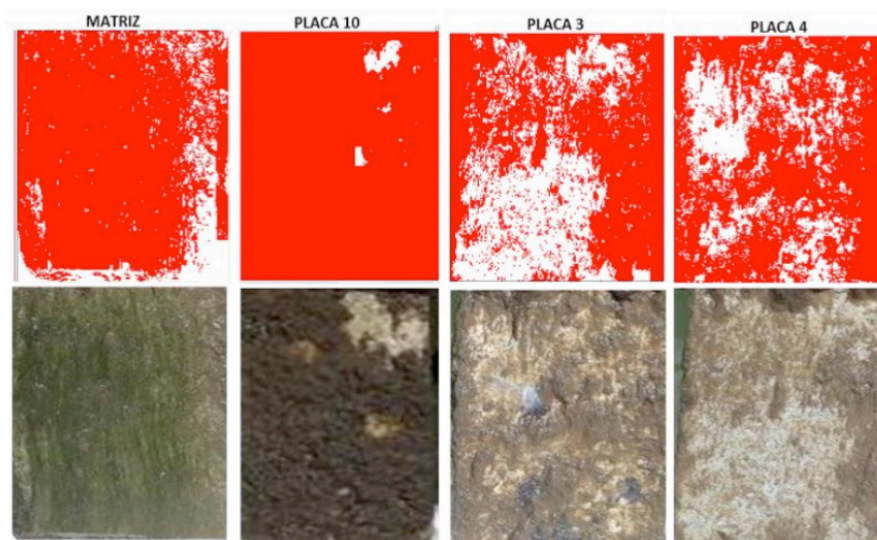


Figura 3 – Análise de área da superfície coberta pelo *software ImageJ* das placas após 25 dias submergidas no Porto do Recife, Recife – PE. Imagens superiores: análise estatística de área coberta das placas correspondentes placas. Imagens inferiores: fotos reais.

Para evitar o *biofouling*, duas abordagens podem ser empregadas: (I) evitar o desenvolvimento das fases iniciais da bioincrustação empregando bioativos em forma não letal para o meio ambiente, e (II) formular e aplicar revestimentos anti-incrustantes inibidores da fixação larval, tornando a superfície não adequada para o desenvolvimento do *biofouling* (BRESSY et al., 2014; JERABEK et al., 2016). Neste trabalho, as duas estratégias foram simultaneamente aplicadas, e como resultado, a Matriz + laurato de glicerila (placa 3) e a Matriz + ácido oleico hidroxilado (placa 4) apresentaram os melhores potenciais de inibição do desenvolvimento do biofouling. Acevedo et al., (2013) também avaliaram uma matriz natural, adicionada, todavia, de extratos de animais marinhos (esponja e pepino-do-mar) durante 90 dias de imersão, obtendo atividade *antifouling*. Uma das grandes vantagens dos resultados apresentados no presente relatório é a possibilidade de obtenção de ativos naturais obtidos de fontes alternativas com atividade antimicrobiana e *antifouling*, sem ter que extrair diretamente de organismos marinhos, evitando, assim, a degradação da fauna e flora marinhas.

3.3 Ensaio de teor de sólidos por massa

Na Figura 4, são apresentados os resultados do teor de sólidos por massa das misturas formuladas mais promissoras. Observou-se que independente da concentração de ativos utilizada, não houve interferência na massa das matrizes após remoção do solvente por evaporação em estufa.

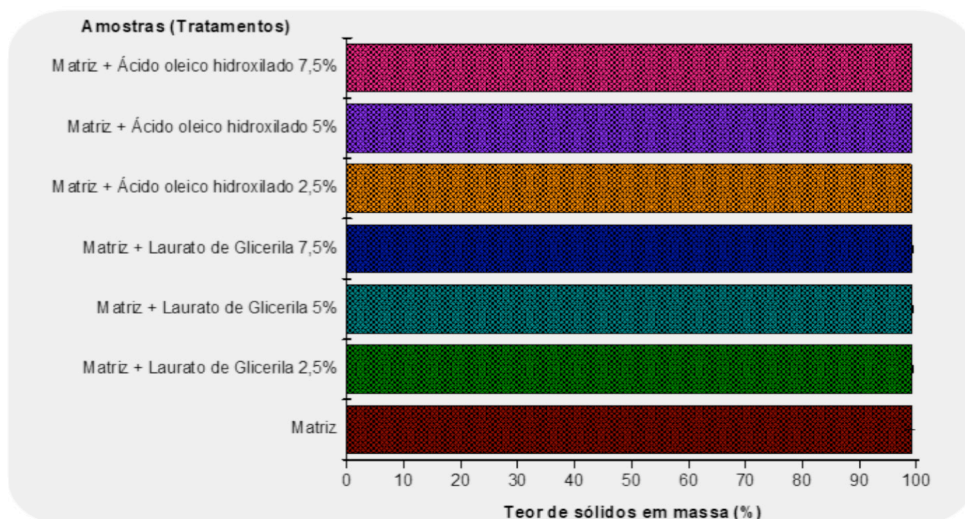


Figura 4 - Resultado das médias do teor de sólidos em massa de cada mistura em suas respectivas concentrações.

3.4 Ensaio de toxicidade

Na Figura 5, têm-se os resultados, em porcentagem, da mortalidade das larvas de *Artemia salina*. Os dados demonstraram que a matriz, o Ácido oleico hidroxilado + matriz, e o laurato de glicerila a 2,5% + matriz não causaram toxicidade a esse microcrustáceo. Nestes casos, o controle letal (CL) ficou abaixo do valor de 50% de mortalidade, considerado como padrão. Entretanto, as misturas contendo laurato de glicerila em concentrações de 5% e 7,5% apresentaram valores de mortalidade acima de 85%. Na Tabela 3, a análise estatística dos resultados indicou que há diferença entre a toxicidade, contudo para alguns grupos não houve diferença desse efeito. A escolha deste organismo se deu pelo fato deste pertencer ao grupo dos crustáceos, o mesmo grupo pertencente das cracas (incrustantes mais recorrentes do ambiente marinho). Os resultados obtidos (Figura 5; Tabela 3) demonstraram que a Matriz contendo laurato de glicerila em concentração $\geq 5\%$ apresentou alta toxicidade para as larvas de *Artemia salina*, despertando interesse para avaliação no processo inibição das larvas de cracas.

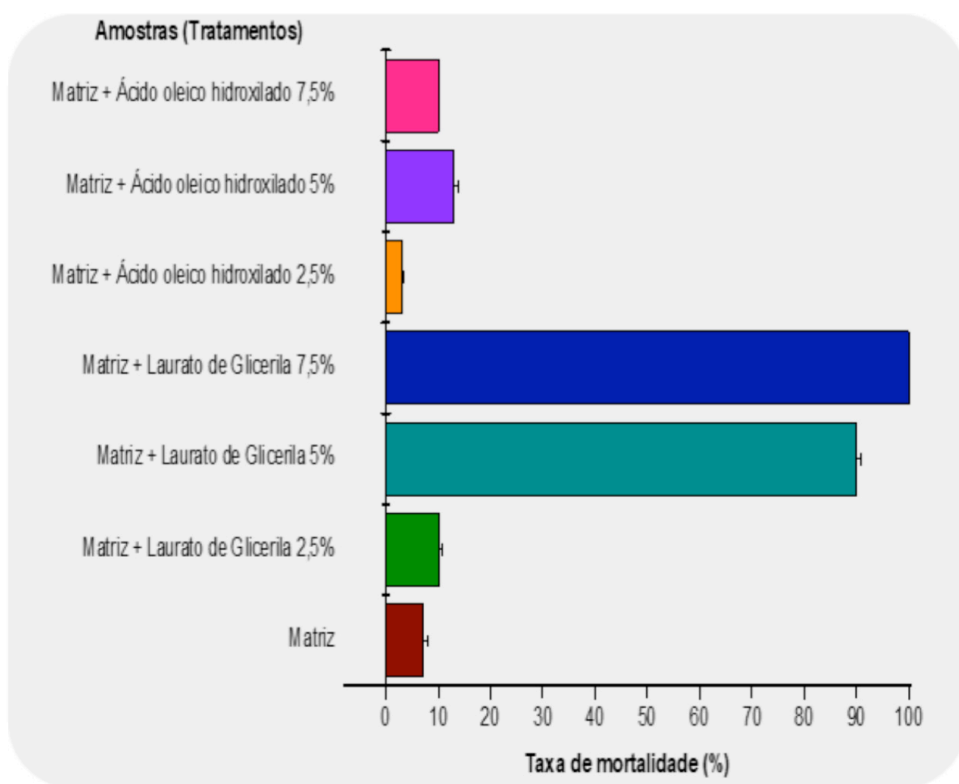


Figura 5 – Média percentual da mortalidade de *Artemia salina* de acordo com cada mistura em suas respectivas concentrações.

| Mistura | Aditivos (%) | Teor de toxicidade (%) |
|-----------------------------------|--------------|------------------------|
| Matriz | 0 | 7 ^b |
| Matriz + Laurato de Glicerila | 2,5 | 10 ^b |
| Matriz + Laurato de Glicerila | 5,0 | 90 ^a |
| Matriz + Laurato de Glicerila | 7,5 | 100 ^a |
| Matriz + Ácido oleico hidroxilado | 2,5 | 3 ^b |
| Matriz + Ácido oleico hidroxilado | 5,0 | 13 ^b |
| Matriz + Ácido oleico hidroxilado | 7,5 | 10 ^b |

Tabela 3 – Resultados da análise estatística do teste de toxicidade sobre a *Artemia salina*.

Nota: Os valores do teor de toxicidade seguidos pela mesma letra, não apresentam diferença significativa, de acordo com o teste de Tukey, a 5% de significância.

3.5 Espectroscopia de ressonância magnética nuclear (RMN)

A Figura 6 ilustra os espectros de ¹H RMN de e ¹³C RMN do laurato de glicerila, que foi o surfactante ativo que apresentou o maior grau de inibição da bioincrustação. Os sinais entre δ 0,5 e 2,5 ppm sugerem a presença de hidrogênio ligado ao grupo alifático e aquele entre δ 3,5 e 4,5 ppm indica a presença de hidrogênio ligado aos grupos hidroxila (Figura 9A). Já os picos mostrados entre 60 e 80 ppm (Figura 9B) são de carbono ligado aos grupos hidroxila. A Figura 9C ilustra a estrutura química sugerida para o laurato de glicerila (dodecanoato de 2,3-dihidroxi-propanoíla), baseado nos resultados do RMN.



Figura 6 – Espectros do ¹H RMN (A) e ¹³C RMN (B) do laurato de glicerila. (C) estrutura química sugerida para o laurato de glicerila (dodecanoato de 2,3-dihidroxi-propanoíla).

As atividades antimicrobianas e, portanto, anti-incrustantes apresentadas pelos surfactantes naturais avaliados no presente estudo, são devidas, principalmente, às interações superficiais com a membrana plasmática das células dos micro-organismos formadores de biofilmes e das larvas dos organismos incrustantes. Para que tais interações ocorram, é necessário que a molécula exiba características anfipáticas e tensoativas, como as obtidas no presente estudo, com destaque para o laurato de glicerila (SCHLIEVERT et al., 1992; FUSETANI, 2011).

4 | CONCLUSÃO

As composições: Matriz, Matriz + laurato e Matriz + ácido hidroxilado apresentaram atividade anti-incrustante promissora sobre diferentes grupos de bioincrustantes durante o período testado. Não foi possível afirmar com clareza quais grupos de incrustantes foram os mais inibidos, no entanto, a matriz já foi capaz de inibir a presença de incrustantes do grupo dos *macrofouling*, apresentando, a olho nu, incrustação apenas por macroalgas. Os ativos mais solúveis em água, de um modo geral, foram menos eficientes no teste *in situ*. O teor de sólidos por massa não apresentou diferença estatística significativa entre as misturas das formulações, mesmo em diferentes concentrações dos ativos. Ajustes nas proporções dos componentes das formulações, bem como a interação da matriz com os ativos promoveram um maior aumento do potencial anti-incrustante. Conclui-se ainda que é possível obter surfactantes naturais com atividade antifouling a partir de fontes renováveis (óleo de soja residual), os quais podem ser produzidos industrialmente em grande escala, evitando assim, a utilização convencional de organismos marinhos, que necessitam de criação em cativeiro, sendo um processo lento e pouco produtivo.

REFERÊNCIAS

- ACEVEDO, M. S. et al. **Antifouling paints based on marine natural products from Colombian Caribbean**. *International Biodeterioration & Biodegradation*, v. 83, p. 97–104, 2013.
- AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS. **ASTM D1640/D1640M-14. Standard test methods for drying, curing, or film formation of organic coatings**. West Conshohocken, 2014.
- BRESSY, CHRISTINE; LEJARS, M. **Marine Fouling : An Overview Marine Fouling An Overview**. *The Journal of Ocean Technology*, v. 9, n. February, 2014.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 357**, de 17 de março de 2005. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2005.
- CONAMA - Conselho Nacional do Meio Ambiente. **Resolução nº 430**, de 13 de maio de 2011. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, 2011.
- DAMODARAN, V. B.; MURTHY, N. S. **Bio-inspired strategies for designing antifouling biomaterials**. *Biomaterials Research*, v. 20, n. 1, p. 18, dez. 2016.
- DEGER, C. A. **Avaliação do desempenho de ortopolifosfato em sistemas de resfriamento de usinas hidrelétricas em substituição ao hidróxido de sódio**. Estudo de caso da UHE gov. Parigot de Souza. Curitiba, 2010. Dissertação (Mestrado em Desenvolvimento de Tecnologia). Instituto de Engenharia do Paraná, 2010.
- FUSETANI, N. **Antifouling marine natural products**. *Nat. Prod. Rep.*, v. 28, n. 2, p. 400–410, 2011.

- GITTENS, J. E. et al. **Current and emerging environmentally-friendly systems for fouling control in the marine environment.** *Biotechnology Advances*, v. 31, n. 8, p. 1738–1753, 2013.
- GULE, N. P.; BEGUM, N. M.; KLUMPERMAN, B. **Advances in biofouling mitigation: A review.** *Critical Reviews in Environmental Science and Technology*, v. 46, n. 6, p. 535–555, mar. 2016.
- JERABEK, A. S.; WALL, K. R.; STALLINGS, C. D. **A practical application of reduced-copper antifouling paint in marine biological research.** *PeerJ*, v. 4, p. e2213, 2016.
- LI, H. et al. **Escalating Water Demand for Energy Production and the Potential for Use of Treated Municipal Wastewater.** *Environmental science & technology*, p. 4195-4200, 2011.
- MAGIN, C. M.; COOPER, S. P.; BRENNAN, A. B. **Non-toxic antifouling strategies.** *Materials Today*, v. 13, n. 4, p. 36–44, 2010.
- PETROBRÁS. **Normas Técnicas Petrobras. N 2630:** Tinta Epóxi-Fosfato de Zinco de Alta Espessura. Rio de Janeiro, 2011.
- PETROBRÁS. **Normas Técnicas Petrobras. N-1367:** Determinação de teor de sólidos por massa. Rio de Janeiro, 2008.
- POORNIMA, E. H. et al. **Use of coastal waters as condenser coolant in electric power plants: Impact on phytoplankton and primary productivity.** *Journal of Thermal Biology*, v. 31, n. 7, p. 556–564, 2006.
- RASBAND, W. S. ImageJ. **BETHESDA, M.D: US National Institutes of Health**, p. 1997–2007, 1997. Disponível em: < <http://rsb.info.nih.gov/ij> > Acesso em: 01 de fevereiro de 2018
- RUFINO, R. D. et al. **Antimicrobial and anti-adhesive potential of a biosurfactant Rufisan produced by Candida lipolytica UCP 0988.** *Colloids and Surfaces B: Biointerfaces*, v. 84, n. 1, p. 1–5, 2011.
- SCHLIEVERT, P. M.; DERINGER, J. R.; KIM, M. H.; PROJAN, S. J.; NOVICK, R. P. **Effect of glycerol monolaurate on bacterial growth and toxin production.** *Antimicrob Agents Chemother*, v. 36, p. 626–631, 1992.
- SOARES DA SILVA, R. DE C. F. et al. **Production and characterization of a new biosurfactant from Pseudomonas cepacia grown in low-cost fermentative medium and its application in the oil industry.** *Biocatalysis and Agricultural Biotechnology*, v. 12, n. September, p. 206–215, 2017.
- YEBRA, D. M.; KIIL, S.; DAM-JOHANSEN, K. **Antifouling technology - Past, present and future steps towards efficient and environmentally friendly antifouling coatings.** *Progress in Organic Coatings*, v. 50, n. 2, p. 75–104, 2004.

SOBRE A ORGANIZADORA

ÉRICA DE MELO AZEVEDO - Possui Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (2019), Graduação em Química com Atribuições Tecnológicas pela Universidade Federal do Rio de Janeiro (2012) e complementação pedagógica para exercício da docência na Faculdade Souza Marques (2015). É docente efetiva do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro Campus Duque de Caxias (IFRJ CDuC) e ministra aulas de Química Geral e Inorgânica para turmas da Graduação e Ensino Médio/Técnico e aulas de análise térmica aplicada à alimentos para turmas da Pós-Graduação. Atualmente é vice-coordenadora de Extensão do IFRJ CDuC. Coordena e colabora com projetos de pesquisa desenvolvidos no IFRJ e colabora em projetos de pesquisa financiados pelo CNPq e desenvolvidos na Escola de Química da UFRJ na área de Tecnologia Química, análise térmica e tratamento térmico de resíduos. Orientou e participou de bancas de trabalhos de conclusão de curso nos temas citados. Têm atuado como membro de comissões julgadoras de editais de fomento à pesquisa e bolsas de iniciação científica do CNPq no âmbito do IFRJ. Publicou artigos em revistas nacionais e internacionais na área de Análise Térmica e na área de Ensino a Distância. Desde 2016 é revisora do renomado periódico Journal of Thermal Analysis (JTAC). Atuou como organizadora de e-books e autora de capítulos de livros publicados na área de Química e Engenharia Química pela Atena Editora.

ÍNDICE REMISSIVO

A

Aditivo Alimentar 68, 84

Adsorção 43, 61, 62, 63, 64, 65

B

Bioetanol 2, 3, 10, 11, 85

Bioincrustação 87, 88, 94, 95, 97

Bio-óleo 53, 54, 55, 56, 57, 58, 59

C

Chocolate 67, 68, 69, 70, 71, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 83, 84, 85, 86

D

Dynetica 10, 13, 14, 15, 18

E

Extração de Lipídeos 20, 22, 37

H

Hidrogéis 61, 62, 65, 66

Hidrólise Enzimática 1, 2, 5, 6

J

Jaca 67, 68, 69, 72, 73, 74, 75, 76, 77, 78, 79, 80, 81, 82, 83, 84, 85, 86

L

Licor Negro Kraft 43

M

Microalgas 20, 21, 22, 23, 27, 28, 30, 31, 37

Microemulsões 53, 54, 58, 59

P

Pirólise 53, 54

Produtos de Valor Agregado 1, 2, 3, 6

Proteólise 1

R

Remoção de Contaminantes 61

Resina Biofenólica 43

S

Software Livre 10, 13

Soro de Queijo 2, 3

Surfactantes Naturais 87, 90, 91, 92, 93, 97, 98

T

Tanino 43

Técnicas Físicas e Químicas 20

Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia na Engenharia Química

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Desenvolvimento e Transferência de Tecnologia na Engenharia Química

www.atenaeditora.com.br 

contato@atenaeditora.com.br 

[@atenaeditora](https://www.instagram.com/atenaeditora) 

www.facebook.com/atenaeditora.com.br 

Atena
Editora

Ano 2020