

TAMIRES TEIXEIRA BARCELOS

**SEPARAÇÃO DE LIPÍDIOS NEUTROS EM MISTURAS DE ÓLEOS E  
GORDURAS POR EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2017

**Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade  
Federal de Viçosa - Câmpus Viçosa**

T

B242s  
2017  
Barcelos, Tamires Teixeira, 1991-  
Separação de lipídios neutros em misturas de óleos e  
gorduras por extração líquido-líquido / Tamires Teixeira  
Barcelos. – Viçosa, MG, 2017.  
viii, 52 f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Inclui anexos.

Orientador: Marcio Arêdes Martins.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Referências bibliográficas: f. 36-44.

1. Microalgas. 2. Equilíbrio líquido-líquido. 3. Biodiesel.  
I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Engenharia  
Agrícola. Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola.  
II. Título.

CDD 22. ed. 662.88

TAMIRES TEIXEIRA BARCELOS

**SEPARAÇÃO DE LIPÍDIOS NEUTROS EM MISTURAS DE ÓLEOS E  
GORDURAS POR EXTRAÇÃO LÍQUIDO-LÍQUIDO**

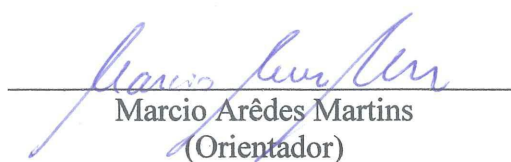
Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 23 de novembro de 2017.

  
Jane Sélia dos Reis Coimbra

  
Maurício de Oliveira Leite

  
Rita de Cássia Superbi de Souza

  
Marcio Arêdes Martins  
(Orientador)

*“O correr da vida embrulha tudo.  
A vida é assim: esquenta e esfria,  
aperta e daí afrouxa,  
sossega e depois desinquieta.  
O que ela quer da gente é coragem*

*Guimarães Rosa*

*Aos meus amados pais.*

*Dedico*

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, por me permitir alcançar mais essa conquista.

Aos meus pais Jorge e Lena, pelo apoio incondicional e por sempre investirem e acreditarem em mim.

Aos meus irmãos Marcus e Gabriel pelo carinho e amizade.

Ao Guilherme por todo amor e paciência.

Aos meus amigos por tornarem os meus dias mais alegres e por serem apoio nos momentos difíceis.

À Universidade Federal de Viçosa (UFV) e ao Departamento de Engenharia Agrícola (DEA), pela oportunidade de desenvolver este trabalho.

À Coordenação de Aperfeiçoamento Pessoal de Nível Superior (CAPES) pela concessão da bolsa de estudo.

À Petrobras pelo financiamento à pesquisa e infraestrutura laboratorial.

À Fapemig, processo APQ-01357-14, pelo financiamento da pesquisa.

Ao Professor Marcio Arêdes pela orientação, confiança, ensinamentos e oportunidades concedidas.

À querida Professora Rita pelas valiosas contribuições no desenvolvimento deste trabalho.

Aos demais membros da banca examinadora, Dr. Maurício e Professora Jane, por fazerem parte da conclusão de mais essa etapa.

À Raquel e Arthur pela amizade, carinho, enorme ajuda e por serem minha força durante essa jornada. Sem vocês eu não teria conseguido!

Ao Dilson e demais colegas do Laboratório de Biocombustíveis: Bruno, Paula, Lorena, Andry, Gerson, Daniel, Manu, Matheus, Rúben e William, por toda a ajuda no desenvolvimento desse trabalho.

A todos que de um modo geral, direta ou indiretamente, contribuíram para realização deste trabalho e para minha formação acadêmica, Muito Obrigada!

## **BIOGRAFIA**

TAMIRES TEIXEIRA BARCELOS, filha de Jorge Teixeira Barcelos e Maria Helena Teixeira Barcelos, nasceu em Timóteo, Estado de Minas Gerais, em 19 de junho de 1991.

Em março de 2009 iniciou o Curso de Engenharia Química na Universidade Federal de Viçosa (UFV), graduando-se em janeiro de 2015.

Em agosto de 2015, iniciou o curso de Mestrado no Programa de Pós-Graduação em Engenharia Agrícola na Universidade Federal de Viçosa, concentrando seus estudos na área de Energia, concluindo-o em novembro de 2017.

## SUMÁRIO

<b>RESUMO .....</b>	<b>vii</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>viii</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>4</b>
2.1 Microalgas.....	4
2.2 Composição de lipídios das microalgas .....	5
2.3 Conversão a biodiesel .....	6
2.4 Extração líquido-líquido .....	7
2.5 Diagrama de equilíbrio.....	10
<b>3. MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>11</b>
3.1 Obtenção do óleo de microalgas .....	11
3.2 Obtenção de ácidos graxos livres .....	16
3.3 Determinação dos dados de equilíbrio líquido-líquido .....	17
3.3.1 Construção da curva binodal .....	17
3.3.2 Construção das linhas de amarração (Tie lines).....	19
3.4 Aplicação dos dados de equilíbrio a um sistema contendo o óleo bruto de <i>Desmodemus communis</i> .....	20
3.5 Determinação dos coeficientes de partição e seletividade .....	21
<b>4. RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>21</b>
4.1 Construção das curvas binodais .....	21
4.2 Construção das linhas de amarração (Tie-lines).....	24
4.3 Separação dos lipídios no óleo bruto de <i>Desmodesmus communis</i> .....	32
4.4 Determinação dos coeficientes de partição e seletividade .....	32
<b>5. CONCLUSÃO.....</b>	<b>35</b>
<b>6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>36</b>
<b>ANEXO I – Dados das curvas binodais .....</b>	<b>45</b>
<b>ANEXO II - Cromatogramas.....</b>	<b>50</b>

## RESUMO

BARCELOS, Tamires Teixeira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, novembro de 2017. **Separação de lipídios neutros em misturas de óleos e gorduras por extração líquido-líquido.** Orientador: Marcio Arêdes Martins.

As microalgas vem se consolidando como uma excelente fonte de biomassa para a produção de biodiesel, devido às suas grandes vantagens em relação às culturas tradicionais, porém o elevado teor de ácidos graxos livres (AGL) do óleo dificulta seu refino por processos convencionais. Sendo assim, esse trabalho teve por objetivo a separação de lipídios neutros em óleos de acidez elevada, como o de microalgas, por meio da determinação dos dados de equilíbrio do sistema de extração composto por óleo (TAG + AGL), hexano e etanol hidratado 95%. Uma vez que o óleo de microalgas possui composição extremamente complexa, o que dificulta a determinação dos dados de equilíbrio, foi utilizada uma mistura de óleos e gorduras (MOG), de composição análoga à do óleo de *Desmodemus communis*, à qual foram adicionados 2%, 20% e 40% de AGL. Os dados de equilíbrio foram determinados pela construção de curvas binodais e linhas de amarração para o sistema nas temperaturas de 35 °C, 40 °C e 45 °C e teores de AGL de 2 %, 20 % e 40 %. Foram utilizadas três equações empíricas para correlação dos dados obtidos para as curvas binodais. Os parâmetros do modelo que melhor se ajustou aos dados foram utilizados juntamente com os dados de separação das fases, obtidos por método gravimétrico, para construção das linhas de amarração. A composição das fases foi calculada utilizando o software Engineering Equation Solver (EES). O modelo proposto foi avaliado pela aplicação a um sistema contendo o óleo bruto da microalga *D. communis*, com acidez inicial de 46 %. Foram calculados os coeficientes de partição de lipídios neutros ( $K_{LN}$ ), do AGL ( $K_{AGL}$ ) e a seletividade do etanol hidratado 95% (S), para as MOGs e para o óleo bruto. Os valores de seletividade indicaram que o uso do etanol hidratado 95% como solvente favoreceu a concentração de AGL na fase extrato (rica em etanol) e dos lipídios neutros (TAGs) na fase refinado (rica em hexano), permitindo a separação do óleo de microalgas em uma fração rica em lipídios polares e outra rica em lipídios apolares. O aumento da acidez inicial do óleo, aumenta o  $K_{LN}$  e reduz S. Os valores de S nos sistemas contendo óleo bruto de *D. communis*, apresentaram valores inferiores aos apresentados pela MOG estudada, em decorrência do aumento dos valores de  $K_{LN}$  nesses sistemas. Essa diferença se deve não somente à acidez relativamente superior do extrato bruto (46%), mas também pela complexidade da composição do óleo de microalgas.

## ABSTRACT

BARCELOS, Tamires Teixeira, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, November, 2017. **Separation of neutral lipids in mixtures of oil and fats by liquid-liquid extraction.** Advisor: Marcio Arêdes Martins.

Microalgae has been established as an excellent source of biomass for biodiesel production due to their great advantages over traditional crops. Besides that, the high free fatty acids (FFA) content of the oil difficults the oil refining by conventional processes. The objective of this work was to separate neutral lipids in high acidity vegetable oils, such as microalgae, by determining the equilibrium data of the extraction system composed of oil (TG + FFA), hexane and hydrous ethanol 95 %. Since the microalgae oil has an extremely complex composition, which makes it difficult to determine the equilibrium data, a mixture of oils and fats (MOF), with composition analogous to that of *Desmodium communis* was used. To this oil FFA contents were added in order to obtain mixtures containing 2 %, 20 % and 40 %. The equilibrium data were determined by the construction of binodal curves and tie lines for the system at temperatures of 35 °C, 40 °C and 45 °C and FFA contents of 2 %, 20 % and 40 %. Three empirical equations were used to correlate binodal data. The parameters of the equation of best accuracy were used along with the phase separation data obtained by gravimetric method for the construction of the tie lines. The phase composition was calculated using the Engineering Equation Solver (EES) software. The proposed model was evaluated by its application to a system containing crude *D. communis* oil, with initial acidity of 46 %. Neutral lipids partition coefficient ( $K_{NL}$ ) and FFA partition coefficient ( $K_{FFA}$ ), as well as the selectivity of hydrous ethanol (S), were calculated for both the synthetic mixtures studied and the crude oil. The selectivity values indicated that the use of hydrous ethanol as solvent favored the concentration of FFA in the extract phase (rich in ethanol) and neutral lipids (TG) in the refined phase (rich in hexane). This conclusion allows the use of hydrous ethanol to separate microalgae oil in a fraction rich in polar lipids and another rich in neutral lipids. The increase of the oil initial acidity increases  $K_{NL}$  and reduces S. The values of S for the systems containing crude *D. communis* oil, in the three evaluated temperatures, presented lower values than those presented by the MOF studied, due to the increase of  $K_{NL}$  values in these systems. This difference is due not only to the relatively higher acidity of the crude oil (46%), but also to the complexity of the microalgae oil composition.

## 1. INTRODUÇÃO

O consumo de energia no mundo vem crescendo rapidamente e estima-se que a demanda irá aumentar em mais de 85% até 2040. Essa grande demanda por energia somada aos impactos ambientais provocados pelo uso de combustíveis fósseis, limitação de reservas de petróleo e aumento nos preços dos combustíveis, estimula a busca por novas fontes de energia que sejam renováveis, não tóxicas e biodegradáveis. Nesse contexto, o biodiesel e o bioetanol se destacam como importantes alternativas para a substituição parcial dos combustíveis fósseis (VISSER et al., 2011; PARSAEIMEHR, SUN e CHEN, 2015; BESSA et al., 2016).

O biodiesel é definido como um combustível obtido a partir de fontes renováveis, como óleos vegetais e gorduras animais. Quimicamente, é composto por ésteres monoalquílicos de ácidos graxos de cadeia longa produzidos principalmente pelas reações de transesterificação e esterificação (MOSER, 2009). No Brasil, os critérios de avaliação da qualidade do biodiesel foram estabelecidos pela Agência Nacional do Petróleo (ANP) pela Resolução nº45 de 2014, a qual regulamenta diversos parâmetros, tais como o número de cetano, ponto de fulgor, teor de ésteres, índice de acidez, massa específica e viscosidade cinemática (ANP, 2014).

As microalgas tem se consolidado como uma fonte potencial de biomassa para a produção de biodiesel por apresentarem grandes vantagens em relação às culturas tradicionais, tais como: elevada capacidade de produção de óleo por unidade de área e rápida produção de biomassa, quando comparada à outras culturas (AMARO, GUEDES e MALCATA, 2011; SHOW et al., 2015); grande capacidade de adaptação a diversos ambientes, desde que em condições adequadas de calor e radiação, podendo utilizar águas salobras ou residuárias, impróprias para o cultivo de plantas vasculares (HALIM, DANQUAH e WEBLEY, 2012; WILLIAMS e LAURENS, 2010); e elevada capacidade de fixação de carbono atmosférico, devido à alta taxa de fotossíntese das mesmas (DELRUE et al., 2012).

O processo comumente utilizado para produção do biodiesel compreende as etapas de extração do óleo com solventes, evaporação do solvente, refino do óleo bruto e transesterificação (RODRIGUES et al., 2014). O refino é realizado para a remoção de impurezas presentes nos óleos brutos vegetais, especialmente ácidos graxos livres (AGLs) e fosfolípidios. A presença de AGLs afeta negativamente a qualidade do óleo na transesterificação e sua estabilidade à oxidação (GONÇALVES; BATISTA;

MEIRELLES, 2002). Teores de acidez no óleo acima de 4% reduzem o rendimento da conversão em éster da reação de transesterificação, por meio da reação entre o catalisador alcalino e os ácidos graxos formando sabão (ISSARIYAKUL e DALAI, 2014; BALASUBRAMANIAN, DOAN e OBBARD et al., 2013).

O refino dos óleos vegetais é geralmente realizado por um processo físico ou químico (GONÇALVES et al., 2016). O processo químico alcalino é efetuado pela neutralização dos ácidos graxos livres por uma solução de hidróxido de sódio, e é o mais utilizado devido à sua versatilidade e aplicabilidade. Contudo, esse processo não é recomendado para óleos de acidez elevada, podendo ocorrer perdas significativas de lipídios neutros devido à saponificação ou arraste dos mesmos pela chamada pasta de neutralização (*soapstock*) (GONÇALVES et al., 2016). Para tais óleos, o refino físico é recomendado e realizado sob alta temperatura e baixa pressão, que volatiliza e remove os AGLs com reduzida perda de lipídios neutros. Porém pode ocorrer a formação de produtos secundários, além do consumo de energia desse processo ser maior e sua aplicabilidade ser limitada (GONÇALVES, BATISTA E MEIRELLES, 2002).

Em comparação com outros óleos vegetais, os óleos de microalgas contém um teor maior de AGL, o que dificulta seu refino por processos convencionais. Segundo Chen et al. (2012), o teor de AGL na biomassa pode variar de 4 a 70%, dependendo do gênero da microalga, da temperatura e tempo de armazenamento. Em relação a quantidade de lipídios totais, esse teor varia de 20 a 50% (PREISS e KOWALSKI, 2010). As microalgas também apresentam um elevado teor de fosfolipídios, que pode variar de 8 a 47%, dependendo da espécie e condições de cultivo das microalgas. No óleo de soja bruto, esse teor está entre 2 e 3% (FOLEY et al., 2011).

O particionamento dos lipídios pela extração líquido-líquido, por meio do uso de um solvente ou mistura de solventes adequados, pode ser uma técnica alternativa para o refino do óleo de microalgas, uma vez que pode ser realizada em baixa temperatura e a pressão atmosférica, evitando a formação de compostos secundários (RODRIGUES, ONOYAMA e MEIRELLES, 2006; GONÇALVES et al., 2016).

A extração líquido-líquido nas etapas de refino de óleo bruto, seja desacidificação ou desodorização, se baseia na diferença de solubilidade dos lipídios neutros e polares nos solventes (MAY, HOMRICH e CERIANI, 2016). Esse processo é realizado em condições mais brandas, quando comparado aos processos físicos, com baixo consumo de energia e sem perda na qualidade do óleo. Sendo assim, a extração líquido-líquido é um processo viável de separação para o refino de óleos vegetais, pois remove os compostos indesejados do óleo bruto, incluindo ácidos graxos livres e compostos

odoríferos (FERREIRA et al., 2015; RODRIGUES et al., 2014; BESSA et al., 2016, HOMRICH E CERIANI, 2016; MAY, HOMRICH e CERIANI, 2016).

Alguns autores estudaram a desacidificação de óleos vegetais por meio da extração líquido-líquido para diferentes óleos, tais como canola (FERREIRA et al., 2015), milho (FERREIRA et al., 2015), girassol (MAY, HOMRICH e CERIANI, 2016), farelo de arroz (RODRIGUES et al., 2014), palma (SILVA et al., 2011), entre outros, analisando a extração de ácidos graxos livres, os componentes minoritários, a influência da água e da temperatura na distribuição desses componentes (SHIOZAWA et al., 2015).

Com o objetivo de aumentar a eficiência na extração de AGLs, diversos estudos reportam que o emprego de álcoois de cadeia curta, como etanol anidro ou hidratado, apresentaram excelentes resultados para a desacidificação, pois possuem baixa toxicidade, facilidade de recuperação, boa seletividade e coeficientes de distribuição para ácidos graxos (BATISTA et al., 2012; MOHSEN-NIA e KHODAYARI, 2008). O teor de água presente no etanol hidratado reduz a perda de lipídios neutros e aumenta a seletividade do solvente (GONÇALVES; BATISTA; MEIRELLES, 2002).

Rodrigues et al. (2014) realizaram a desacidificação do óleo de farelo de arroz por meio da extração líquido líquido, em uma coluna de discos perfurados utilizando o etanol como solvente. Eles concluíram que esse método reduz consideravelmente a acidez do óleo e ainda remove outros compostos indesejados, como os fosfolipídios. Além disso a perda de lipídios neutros é significativamente menor que nos processos de refino físico e alcalinos, reportados na literatura.

Gonçalves et al. (2016) avaliaram a influência da proporção entre óleo e solvente, assim como do teor de água no solvente, na desacidificação do óleo de palma pela extração líquido-líquido, realizada em uma coluna de discos perfurados rotativa. Os autores concluíram que é possível obter óleo de palma refinado com teor de ácidos graxos livres inferior a 0,3% m/m em condições selecionadas, minimizando a perda de lipídios neutros e maximizando a transferência de ácidos graxos livres para a fase polar. A mesma metodologia foi utilizada por Israyandi, Zahrina e Mulia (2017) para análise da desacidificação do óleo de palma pelo solvente natural NADES, uma mistura de betaína monohidratada e ácido propiônico.

Não há na literatura estudos referentes à construção de diagramas de equilíbrio especificamente para o óleo de microalgas. No entanto, Molina Grima et al. (1994) utilizaram um diagrama de equilíbrio para o sistema hexano:etanol:água, reportado por Bonner (1910), para comparar a extração de lipídios das microalgas por essa mistura de solventes em duas diferentes proporções. Esse método foi proposto em substituição a um

dos métodos mais tradicionais de extração de lipídios de microalgas, descrito por Bligh e Dyer (1959), o qual utiliza uma mistura de clorofórmio, metanol e água. Apesar da comprovada eficiência do método de Bligh e Dyer, o clorofórmio e o metanol são solventes tóxicos, fazendo-se necessário a busca por solventes alternativos que apresentem a mesma ou maior eficiência, com menor ou nenhuma toxicidade (MOLINA GRIMA, GONZÁLEZ e GIMÉNEZ, 2013). Os resultados obtidos por Molina Grima et al. (1994) evidenciaram o potencial de utilização do sistema composto por hexano, etanol e água, todavia não foi possível determinar as condições do sistema em que o rendimento e particionamento dos lipídios entre as fases são maximizados.

Diante do exposto, esse trabalho teve por objetivo realizar a separação de lipídios neutros em óleos de acidez elevada, como o de microalgas, por meio da determinação dos dados de equilíbrio do sistema de extração composto por óleo (triacilgliceróis + AGL), hexano e etanol hidratado 95%.

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 Microalgas**

As microalgas pertencem à um grupo de produtores primários microscópicos de elevada eficiência fotossintética, que apresentam produção de biomassa e rendimento de óleo por área muito superior à outras culturas oleaginosas tradicionais (SHOW et al., 2015; TABATABAEI et al., 2011). Esses organismos são capazes de se desenvolver em uma gama de ambientes, desde água doce a ambientes altamente salinos. Seu cultivo pode ser realizado em ambientes impróprios para outras culturas, como águas residuárias e salobras (HANNON et al., 2010; TABATABAEI et al., 2011).

Além do acúmulo de lipídios, as microalgas possuem elevada capacidade de acumular proteínas, carboidratos e outros compostos bioativos, possibilitando sua utilização na produção de etanol, biogás e biodiesel. São ainda, fonte de diversas substâncias de alto valor comercial como pigmentos, antioxidantes, ácidos graxos poli-insaturados, vitaminas, proteínas e sais minerais (HANNON et al., 2010).

As microalgas são excelentes fixadoras do carbono atmosférico, fixando uma quantidade maior de carbono em menor tempo, quando comparado a outras espécies vegetais. Estima-se que cada tonelada de biomassa algal produzida consuma duas toneladas de CO<sub>2</sub> por meio da fotossíntese (BENEMANN, 1997). Em virtude dessas

características, estas têm sido objeto de pesquisa em diversas áreas, destacando-se a de biocombustíveis (FRANCO et al., 2013).

Microalgas do filo *Chlorophyceae* são conhecidas por apresentarem as maiores taxas de crescimento dentre as demais microalgas. Neste filo, espécies do gênero *Chlorella*, *Desmodesmus* e *Scenedesmus* tem sido exploradas como potenciais para a produção de óleo para biodiesel (MATA et al., 2010).

## **2.2 Composição de lipídios das microalgas**

A composição de lipídios e o perfil de ácidos graxos das microalgas são afetados pela espécie, ciclo de vida e condições de cultivo, como composição do meio de cultivo, temperatura, intensidade luminosa e taxa de aeração e mistura. Todos estes fatores de estresses bióticos e abióticos influenciam diretamente nas características do combustível produzido (SAN PEDRO et al., 2013; WILLIAMS e LAURENS, 2010).

Entre os lipídios produzidos pelas algas, encontram-se lipídios neutros, polares, ceras, esteróis e hidrocarbonetos, além de outras moléculas, como tocoferóis, carotenoides, terpenos, quininos e clorofilas. Os lipídios são agrupados em duas categorias: lipídios de reserva (neutros) e lipídios estruturais (polares) (GUZMÁN et al., 2010; HALIM, DANQUAH e WEBLEY, 2012; SHARMA, SCHUHMANN e SCHENK, 2012).

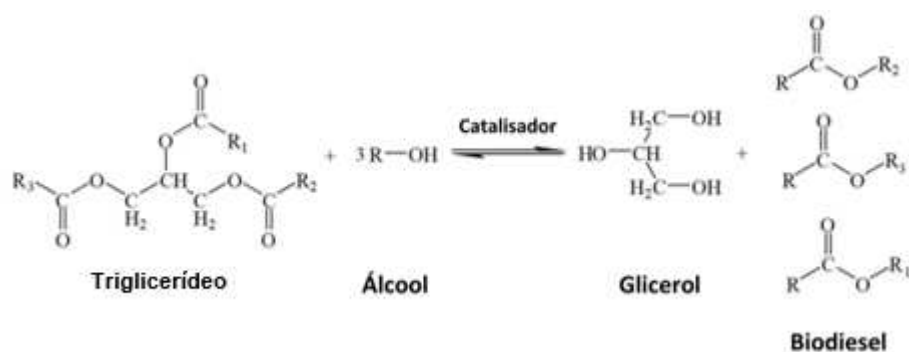
Os lipídios de reserva estão, majoritariamente, na forma de triacilgliceróis (TAG), composto em sua maior parte por ácidos graxos saturados e em menor parte, monoinsaturados, os quais podem ser transesterificados para a produção de biodiesel. Em geral, os TAGs são sintetizados na presença de luz e armazenados no citosol para posterior utilização na síntese de lipídios polares na ausência de luz. Existem ainda alguns tipos de lipídios neutros que não possuem ácidos graxos, tais como hidrocarbonetos, esteróis, cetonas e pigmentos (carotenóides e clorofilas). Apesar dessas frações de lipídios serem solúveis em solvente orgânico, as mesmas não podem ser convertidas em biodiesel (HALIM, DANQUAH e WEBLEY, 2012; SHARMA, SCHUHMANN e SCHENK, 2012).

Os lipídios estruturais ou polares, compostos por fosfolipídios, glicolipídios e esteróis, são importantes componentes das membranas celulares agindo como uma barreira de permeabilidade seletiva para células e organelas. Possuem um elevado teor de ácidos graxos poli-insaturados (PUFAs), os quais constituem nutrientes essenciais para seres humanos e animais aquáticos (SHARMA, SCHUHMANN e SCHENK 2012).

## 2.3 Conversão a biodiesel

A produção de biodiesel a partir do óleo de microalgas pode ser realizada pelos processos já estabelecidos de produção de biodiesel a partir de óleos vegetais e gorduras animais: transesterificação, esterificação e craqueamento. Tais rotas de conversão podem ser realizadas *in situ*, ou seja, a partir da biomassa de microalgas ou a partir do óleo extraído.

A transesterificação consiste na reação química entre um triglicerídeo e um álcool na presença de um catalisador ácido, básico ou enzimático, como indicado na Figura 1. Uma vez que essa é uma reação reversível, álcool em excesso é utilizado para direcionar o equilíbrio no sentido de formação de produtos. O álcool utilizado pode ser o metanol, etanol ou butanol (MA e HANNA, 1999).



**Figura 1-** Reação de Transesterificação (MACHADO, 2013)

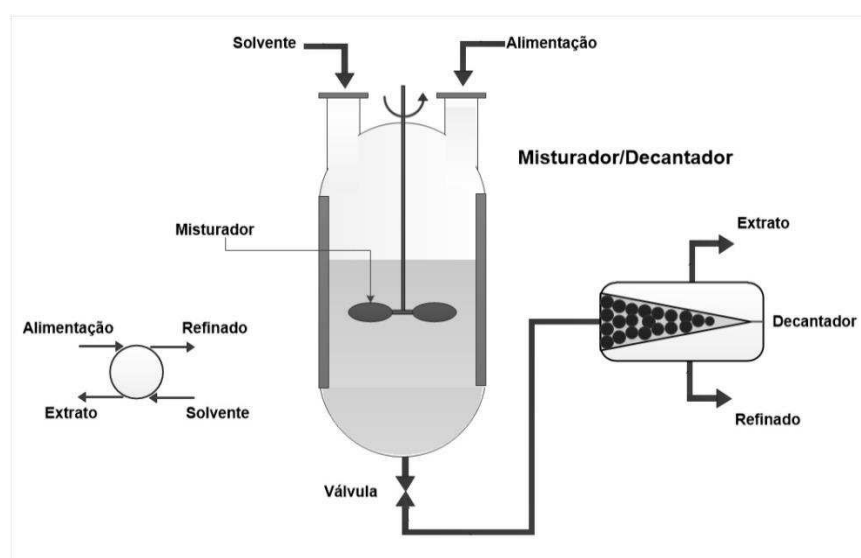
A catálise alcalina tem sido a técnica mais utilizada em processos industriais de produção de biodiesel por transesterificação. No entanto, catalisadores alcalinos não são recomendados para uso em óleos contendo teor de ácidos graxos livres superior a 0,5%, como o óleo de microalgas. A adição de um álcali forte forma sais de ácido graxo (sabões) e provoca a formação de uma emulsão. Além de prejudicar a separação das fases, o consumo de catalisador reduz a velocidade da reação e o rendimento do processo de síntese e separação (ROBLES-MEDINA et al., 2009).

O óleo de microalga pode ser, então, transesterificado por catálise ácida ou enzimática (por meio de lipases). Nesse caso, não são formadas emulsões, porém o catalisador ácido é mais corrosivo, resulta em cinética mais lenta e apresenta menor rendimento em comparação à catálise alcalina. Portanto, a catálise ácida é raramente utilizada em escala industrial (ROBLES-MEDINA et al., 2009).

A escolha de um método de refino do óleo mais seletivo, e que permita o fracionamento entre triacilgliceróis e ácidos graxos livres, produziria um óleo de menor acidez, o que poderia viabilizar a aplicação da catálise alcalina no processo de transesterificação.

## 2.4 Extração líquido-líquido

A extração líquido-líquido consiste em um processo de separação caracterizado pelo contato entre uma corrente líquida (alimentação), contendo o soluto de interesse, e um solvente ou mistura de solventes. Sendo assim, o solvente dissolve parcialmente determinadas espécies da alimentação, realizando uma separação parcial ou total dos seus componentes. Ao final do processo formam-se duas fases: a extrato, rica no componente que se deseja extrair (soluto), e a refinado ou resíduo, pobre em soluto (GEANKOPLIS, 1993; SEADER et al., 2006). A Figura 2 apresenta um diagrama do sistema de extração.



**Figura 2** – Sistema de extração líquido-líquido e representação em diagrama de processo.

Para que a extração seja eficiente, deve-se selecionar um solvente adequado para a remoção do componente de interesse. O mesmo deve ser preferencialmente estável, não-tóxico, de baixo custo e de fácil recuperação (MOLINA GRIMA, GONZÁLEZ e GIMÉNEZ, 2013).

A extração líquido-líquido é uma das operações unitárias mais utilizadas para a extração de lipídios da biomassa algal, podendo-se utilizar solventes como o éter etílico, clorofórmio, etanol e hexano, sendo o último o mais utilizado devido ao baixo custo e maior solubilidade do óleo devido à forte interação TAG-solvente (LIRA et al., 2012; SHRESTHA, HAERIZADEH e HILDEBRAND, 2013).

A extração com hexano pode ser feita em conjunto com outro solvente, como o etanol, uma vez que em determinadas espécies de microalgas os lipídios polares correspondem a mais de 50% do teor de óleo, possibilitando também a separação dessa fração. É importante conhecer a relação exata de etanol a ser utilizada, visando evitar a extração de outros conteúdos celulares, como açúcares, aminoácidos, sais hidrofóbicos e pigmentos (LIRA et al., 2012; SHRESTHA, HAERIZADEH e HILDEBRAND, 2013). Assim, a escolha do sistema de extração utilizado é um fator crucial na viabilidade do processo *downstream*, uma vez que a composição dos lipídios presentes no óleo bruto influencia diretamente o rendimento do processo de transesterificação posterior.

Bligh e Dyer (1959) propuseram um método de extração a partir da mistura clorofórmio:metanol (1:2 v/v), que é o mais utilizado, ainda que com adaptações. A água presente nas células das microalgas age como um terceiro componente do sistema de extração clorofórmio:metanol, permitindo a separação tanto dos lipídios neutros quanto polares, ou seja, nesse método não é necessário a secagem completa da biomassa. Embora seja um procedimento rápido e quantitativo, os solventes metanol e clorofórmio são tóxicos e seu manuseio é indesejado (HALIM, DANQUAH e WEBLEY, 2012). Dessa forma, novas combinações de solventes, de menor ou nenhuma toxicidade, tem sido estudadas visando a substituição dos mesmos.

Analisando o uso de uma mistura de hexano:isopropanol (3:2 v/v) para extração dos lipídios da microalga *Chlorococcum sp.* em batelada e de forma contínua em um aparato do tipo Soxhlet, Halim et al. (2011) concluíram que a operação contínua e o uso do isopropanol como co-solvente permitem um aumento considerável na eficiência e no rendimento da extração. Uma vez que os lipídios polares estão, em sua maioria, ligados às proteínas das membranas celulares por fortes interações eletrostáticas, a extração dos mesmos requer a presença de um solvente polar para o rompimento do complexo lipídeo-proteína, antes da extração com o hexano (HALIM et al., 2011).

Outras misturas de solventes foram avaliadas por Ryckebosch et al. (2014), objetivando extração de ômega 3 para aplicação na indústria de alimentos. Os sistemas analisados pelos autores foram: diclorometano:etanol (1:1 v/v), hexano, hexano:isopropanol (3:2 v/v), etanol, acetona, acetato de etila e acetato de etila:hexano. A eficiência de extração foi comparada a do sistema clorofórmio:metanol (1:1 v/v), previamente estudado por Ryckebosch, Muylaert e Foubert (2012). Os sistemas que apresentaram melhores rendimentos, relativos aos teores de lipídios totais (LT) extraídos, foram diclorometano:etanol e hexano:isopropanol. Ainda que o sistema contendo diclorometano tenha apresentado rendimento elevado, esse solvente possui potencial

carcinogênico, além de ser altamente volátil e corrosivo, e, por esse motivo, o sistema hexano:isopropanol foi o mais indicado.

Um estudo mais recente realizado por López et al. (2016) e baseado em trabalhos desenvolvidos por López et al. (2015), Ryckebosch et al. (2014) e Ramluckan, Moodley e Bux (2014), compara o rendimento da extração utilizando nove misturas de solventes, em relação ao teor de lipídios saponificáveis (LS), os quais incluem os lipídios neutros saponificáveis (LNS) como acilgliceróis e ácidos graxos livres e lipídios polares como glicolipídios (GL) e fosfolipídios (FL). Os resultados obtidos por López et al. (2016) são sumarizados na Tabela 1 e indicam que o rendimento de lipídios saponificáveis é tanto maior quanto maior a polaridade do primeiro solvente adicionado ao sistema de extração. Além disso, a cristalização por acetona, em baixa temperatura, eleva consideravelmente a pureza da extração pela precipitação de substâncias não lipídicas e lipídios não saponificáveis, como ceras e gomas.

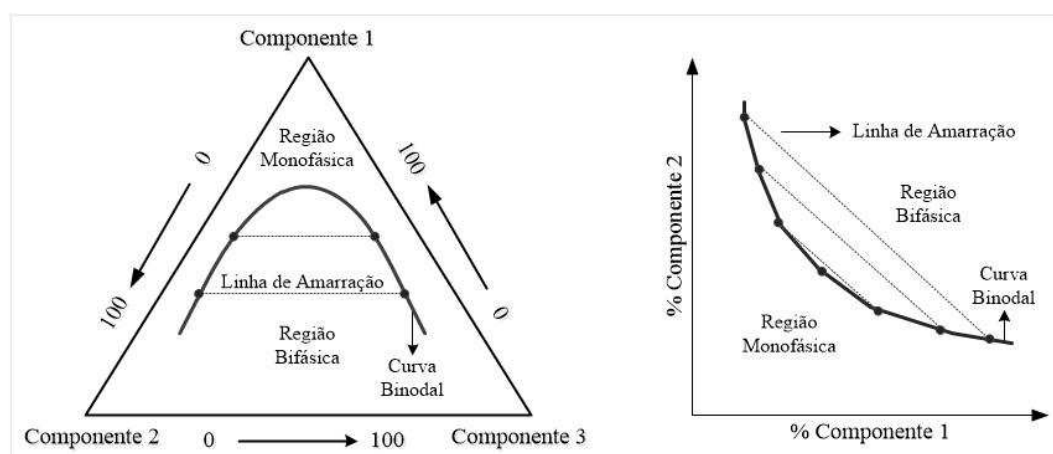
**Tabela 1**– Rendimento da extração de lipídios da microalga *Nannochloropsis gaditana* utilizando diferentes misturas de solventes (LÓPEZ et al., 2016)

Sistema de extração	Rendimento de Lipídios Saponificáveis (LS) (%)	Pureza dos Lipídios Saponificáveis (LS) (%)	Lipídios Neutros Saponificáveis (LNS) (%)	Glicolipídios (GL) (%)	Fosfolipídios (FL) (%)
<b>Biomassa Homogeneizada</b>	-	12,0 ± 2,4	29,9 ± 0,6	57,4 ± 1,4	12,7 ± 0,8
<b>Etanol (96% v/v)-hexano</b>	85,0 ± 6,7	38,1 ± 1,8	24,9 ± 0,0	61,8 ± 0,3	13,3 ± 0,3
<b>Etanol (96% v/v)-hexano + acetona</b>	75,0 ± 5,7	95,0 ± 3,2	51,0 ± 1,8	43,5 ± 0,2	5,5 ± 1,9
<b>Hexano:isopropanol (3:2)(v/v)</b>	63,4 ± 1,4	32,2 ± 1,1	49,7 ± 1,4	47,2 ± 1,8	3,1 ± 0,6
<b>Hexano:etil acetato (3:2)(v/v)</b>	49,7 ± 0,3	-	65,7 ± 7,2	31,6 ± 8,7	2,7 ± 0,2
<b>Etil acetato</b>	44,1 ± 1,0	-	64,9 ± 1,7	34,6 ± 1,9	0,5 ± 0,2
<b>Hexano</b>	37,7 ± 3,5	56,0 ± 2,4	64,6 ± 0,8	32,2 ± 2,6	3,2 ± 0,1
<b>Hexano + acetona</b>	34,8 ± 2,6	61,0 ± 3,6	62,5 ± 0,5	34,9 ± 1,6	2,5 ± 0,3
<b>Hexano-etanol:água (50% água)</b>	27,5 ± 3,4	-	69,1 ± 8,7	29,4 ± 2,5	1,5 ± 0,1
<b>Hexano-etanol: água (5% água)</b>	15,8 ± 2,4	59,8 ± 4,6	84,7 ± 8,7	13,2 ± 1,6	2,1 ± 0,2

Os estudos citados apontam que o hexano, em conjunto com um co-solvente polar, como o etanol e isopropanol, constituem um dos sistemas de extração com maior potencial e versatilidade para a extração dos lipídios de microalgas visando a produção de biodiesel.

## 2.5 Diagrama de equilíbrio

Os dados de equilíbrio líquido-líquido de um sistema podem ser representados por meio de diagramas triangulares ou retangulares, como os apresentados na Figura 3. No diagrama triangular cada um dos vértices do triângulo representa um componente puro e cada um dos lados representa a mistura binária correspondente. Os pontos no interior do triângulo correspondem a misturas ternárias. A linha de equilíbrio, denominada curva binodal, representa o limite de miscibilidade, que separa a região monofásica da bifásica. As linhas de amarração ou *tie-lines*, contidas na região bifásica, conectam as duas fases em equilíbrio: extrato e refinado (GEANKOPLIS, 1993; SEADER et al., 2006). Nos diagramas, existe um ponto denominado ponto crítico ou *plait point*, no qual as composições do extrato e do refinado se igualam e, nessas condições, não é possível realizar a separação (GEANKOPLIS, 1993). No diagrama retangular, as definições são as mesmas, porém são representados apenas dois componentes do sistema.



**Figura 3** – Diagramas triangular (à esquerda) e retangular (à direita).

A razão entre as concentrações do soluto na fase extrato e na fase refinado é denominada coeficiente de partição ou distribuição. Esse é um dos parâmetros mais importantes a ser determinado, uma vez que permite quantificar o grau de separação alcançado no processo de extração (GEANKOPLIS, 1993).

Molina Grima et al. (1994) utilizaram um diagrama triangular para o sistema hexano:etanol:água, previamente publicado por Bonner (1910), para comparar a extração de lipídios por essa mistura de solventes em duas diferentes proporções. Esse estudo evidenciou a importância dos diagramas de equilíbrio na determinação das condições ótimas de extração.

Não há na literatura estudos referentes à construção de diagramas de equilíbrio especificamente para a separação de componentes presentes no óleo de microalgas. No entanto, as metodologias propostas por Silva, Coimbra e Meirelles (1997), Lanza et al. (2009), Rezende (2009), Follegatti-Romero et al. (2010) e Santos (2015) para a construção de diagramas ternários referentes a outros sistemas, podem ser utilizadas como base para esse trabalho.

### 3. MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Biocombustíveis do Departamento de Engenharia Agrícola (DEA) da Universidade Federal de Viçosa (UFV), Estado de Minas Gerais.

#### 3.1 Obtenção do óleo de microalgas

O óleo bruto de microalga foi extraído de um lote de cultivo da cepa *Desmodesmus communis* BR007, obtida junto à Coleção de Cianobactérias e Microalgas do Projeto Petrobrás, da Unidade de Crescimento de Plantas (UCP) do Departamento de Biologia Vegetal (DBV) da Universidade Federal de Viçosa (UFV).



**Figura 4** – Extração do óleo bruto de *Desmodesmus communis* BR007 em extrator do tipo Soxhlet.

A extração foi realizada em um extrator do tipo Soxhlet, como apresentado na Figura 4. Foram avaliadas três diferentes composições de solvente: clorofórmio:metanol

(1:2), etanol anidro:hexano (1:2) e etanol anidro:hexano (2:1) para a extração do óleo contido em 10 g de *D. communis* BR007.

O solvente foi adicionado a um balão de 500 mL, previamente pesado em balança analítica. A biomassa de microalga, previamente seca e macerada, foi disposta em cartuchos de papel filtro (granulometria de 8 µm), também previamente pesados em balança analítica, e estes foram inseridos na corneta do extrator. Os cartuchos foram submetidos à dez passagens de solvente sob uma temperatura de 70 °C.

Após a extração, os cartuchos foram secos em estufa com recirculação de ar e os balões submetidos à destilação para recuperação dos solventes. Tanto os cartuchos secos quanto os balões, contendo o óleo bruto da microalga, foram novamente pesados em balança analítica para determinação do rendimento da extração (Tabela 2).

**Tabela 2** – Rendimento da extração de *Desmodemus communis* em Soxhlet.

<b>Sistema de extração</b>	<b>Rendimento em óleo bruto de <i>Desmodemus communis</i> (%)</b>
Clorofórmio:metanol (1:2)	31,3 ± 1,2
Etanol anidro:hexano (1:2)	17,1 ± 1,5
Etanol anidro:hexano (2:1)	24,73 ± 1,0

Conforme apresentado na Tabela 2, o sistema clorofórmio:metanol (1:2) apresentou maior rendimento em óleo bruto porém, provocou maior arraste de compostos indesejados, em relação aos demais sistemas, o que dificulta o processo de refino do óleo.

Nos sistemas em que foi utilizado etanol anidro e hexano é possível verificar menor arraste de compostos indesejados, mas estes contém múltiplos componentes, que tornam o sistema óleo:hexano:etanol anidro extremamente complexo, o que dificulta a obtenção dos dados de equilíbrio. Alguns desses componentes também conferem uma coloração bastante escura ao óleo (Figura 5), o que inviabiliza a determinação das curvas de equilíbrio pelo método de titulação turbidimétrica, uma vez que não é possível identificar o momento em que a mistura se torna turva.



**Figura 5** - Óleo Bruto de *Desmodesmus cummunis* BR007

Devido à complexidade e ao caráter opaco e escuro do óleo bruto, optou-se pela utilização de uma mistura de óleos e gorduras de composição semelhante ao óleo de *D. communis* contendo apenas triacilgliceróis (TAG) e ácidos graxos livres (AGL). Inicialmente determinou-se o perfil de ácidos graxos do óleo bruto de *Desmodesmus communis*, e em seguida, foi feita uma pesquisa bibliográfica da composição lipídica de diversos óleos e gorduras (Tabela 3). A partir desses dados e do perfil lipídico do óleo bruto da microalga, foi formulada uma mistura contendo óleos de soja, palma e gordura de frango, cujo perfil mais se aproximava daquele do óleo bruto de *D. communis*, determinado experimentalmente. Foram utilizados óleos de soja e palma comerciais das marcas Liza e Hemmer, respectivamente, e gordura de frango, extraída da pele de frango em estufa com circulação de ar, construída pelo Departamento de Engenharia Agrícola da UFV.

Os perfis de ácidos graxos dos óleos comerciais, gordura de frango e do óleo bruto de microalga (Tabela 4) foram obtidos pela derivatização e conversão dos óleos a ésteres metílicos de ácidos graxos (FAME's), seguindo metodologia proposta por Ichihara e Fukubayashi (2010). As amostras derivatizadas foram quantificadas quanto ao perfil graxo e teor de ésteres, em um Cromatógrafo à Gás (CG 2010, Shimatzu, Japão), nas seguintes condições: injeção direta de 1  $\mu\text{L}$  da amostra, rampa de aquecimento linear de 60 °C para 330 °C a 20 °C  $\text{min}^{-1}$  e alta velocidade linear para melhor resolução dos picos. Os cromatogramas são apresentados no anexo II.

A partir da determinação desses perfis de ácidos graxos, foi feita uma mistura inicial de 65 % (m/m) de óleo de palma e 35 % (m/m) de óleo de soja. Para a mistura, foram considerados ácidos graxos em quantidades majoritárias, com 16 e 18 carbonos, saturados e insaturados. Na composição final da mistura, utilizou-se 55 % (m/m) da

mistura inicial (óleo de soja e palma) e 45 % (m/m) de gordura de frango (Tabela 4). Essa mistura final será simplificada denominada mistura de óleos e gordura (MOG).

**Tabela 3** – Perfil de ácidos graxos de óleos e gorduras

Ácido graxo	Óleos e gorduras									
	Óleo de Palma <sup>1</sup>	Óleo de Oliva <sup>1</sup>	Óleo de Amendoim <sup>1</sup>	Óleo de Soja <sup>1</sup>	Óleo de Girassol <sup>1</sup>	Óleo de Milho <sup>1</sup>	Óleo de Macaúba <sup>2</sup>	Gordura de Frango <sup>3</sup>	Sebo Bovino <sup>3</sup>	Gordura de Porco <sup>4</sup>
C16:0	36,7	11,6	8,0	11,3	6,2	6,4	12,0	23,8	23,8	20,7
C16:X	0,1	1,0	0,0	0,1	0,1	0,6	1,6	7,2	5,5	2,0
C18:0	6,6	3,1	1,8	3,6	3,7	1,4	2,3	5,6	22,3	10,9
C18:X	55,0	83,4	82,0	83,9	88,3	90,9	78,7	61,2	40,5	59,9
<b>TOTAL</b>	<b>98,4</b>	<b>99,1</b>	<b>91,8</b>	<b>98,9</b>	<b>98,3</b>	<b>99,3</b>	<b>94,6</b>	<b>97,8</b>	<b>92,1</b>	<b>93,5</b>

<sup>1</sup>Ramos et al. (2009); <sup>2</sup>Penha et al. (2015); <sup>3</sup>Yuan et al. (2017); <sup>4</sup>Shah et al. (2015).

**Tabela 4** – Composição de ácidos graxos de óleos e gordura utilizados na MOG e do óleo bruto de *Desmodemus communis*.

Ácido graxo	Óleos e gorduras					
	Óleo de Palma Comercial	Óleo de Soja Comercial	Gordura de Frango	Óleo de Palma + Óleo de Soja	Óleo de Palma + Óleo de Soja + Gordura de Frango	Óleo bruto de <i>Desmodemus communis</i> BR007
C16:0	31,8	11,2	26,5	24,6	25,4	26,3
C16:X	0,0	0,0	7,6	0,0	3,4	4,4
C18:0	3,0	3,3	5,8	3,2	4,4	0,0
C18:X	65,2	85,4	60,1	72,2	66,8	66,5
<b>TOTAL</b>	<b>100,0</b>	<b>99,9</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>100,0</b>	<b>97,2</b>

### 3.2 Obtenção de ácidos graxos livres

Os óleos comerciais, como os de soja e palma utilizados, possuem acidez baixa (abaixo de 3 %) e sendo assim, a MOG produzida é composta basicamente por TAG's. Uma vez que o óleo bruto de microalgas se caracteriza por apresentar acidez elevada (acima de 40 %), se fez necessário a síntese de ácidos graxos livres a serem incorporados à essa mistura.

Os ácidos graxos livres foram produzidos a partir da MOG, conforme metodologia proposta por Salimon, Abdullah e Salih (2011), com adaptações. A hidrólise da mistura foi realizada pela adição de uma massa de 50 g em um balão de 500 mL, mantido em banho para controle da temperatura, juntamente com 300 mL de uma solução alcóolica de KOH 2 mol L<sup>-1</sup>. A mistura foi mantida a 70 °C sob agitação por 4 horas. Após a hidrólise, foram adicionados 200 mL de água à mistura. Em seguida, foram adicionados 100 mL de hexano para remoção dos insaponificáveis. A fase alcóolica aquosa, contendo os sabões, foi então acidificada até pH 1 utilizando-se uma solução de HCl 6 mol L<sup>-1</sup> e os ácidos graxos livres foram extraídos com hexano. O extrato foi adicionado a um funil de separação e lavado com água deionizada até atingir pH 4. A fase inferior do funil foi separada e descartada, enquanto a fase superior, contendo os ácidos graxos livres, foi seca com sulfato de sódio anidro e o solvente evaporado. Em seguida o teor de ácidos graxos livres (AGL %) foi determinado.

Para a determinação do índice de acidez da MOG foi utilizado o método oficial 2.201 da IUPAC com a substituição do hidróxido de potássio (KOH) pelo hidróxido de sódio (NaOH). Em um frasco Erlenmeyer de 250 mL foram pesados 1 g do material e adicionados 150 mL de uma mistura de álcool etílico e éter dietílico (1:1), juntamente com algumas gotas de fenoftaleína. A solução foi titulada com NaOH 0,1 mol L<sup>-1</sup> até o aparecimento de uma coloração rosa permanente. O teor de ácidos graxos livres foi calculado por meio da equação 1.

$$\% \text{ AGL como oléico} = \frac{(28,2 \times M \times (V - B))}{W} \quad (1)$$

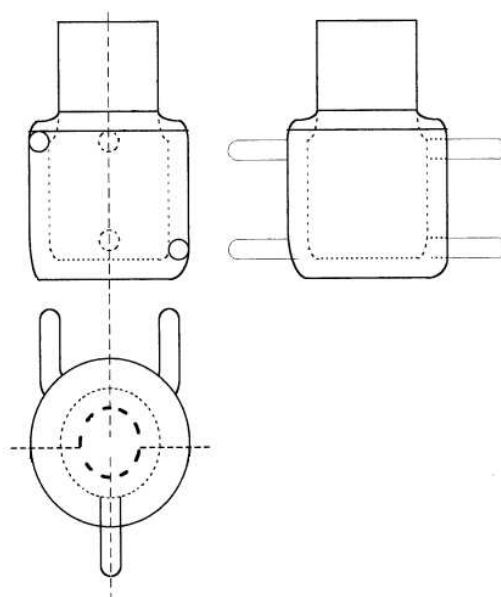
em que M é a molaridade da solução de NaOH, V é o volume gasto na titulação em mL, B é o volume do branco em mL e W é a massa da amostra em g.

### 3.3 Determinação dos dados de equilíbrio líquido-líquido

Os dados de equilíbrio do sistema pseudoternário MOG (TAG + AGL), hexano, etanol hidratado 95% (v/v), foram determinados pela construção de curvas binodais e linhas de amarração para o sistema em diferentes temperaturas e teores de AGL.

Foi utilizada a MOG de composição semelhante ao óleo de *Desmodemus communis* BR007 obtida como descrito no item 3.1. A essa mistura foram adicionados ácidos graxos livres de modo a se obter misturas contendo teores de AGL de 20 % (m/m) e 40 % (m/m). Um terceiro sistema foi utilizado como referência sem adição de AGL. Nesse sistema, o teor de AGL consistiu no teor natural dos óleos empregados na mistura (2 %).

Para a construção das curvas binodais foi utilizada uma célula de equilíbrio, como a representada na Figura 6, a qual consiste em um frasco de vidro encamisado com agitação magnética e temperatura controlada pela circulação de água (REZENDE, 2009; SILVA, COIMBRA e MEIRELLES, 1997).

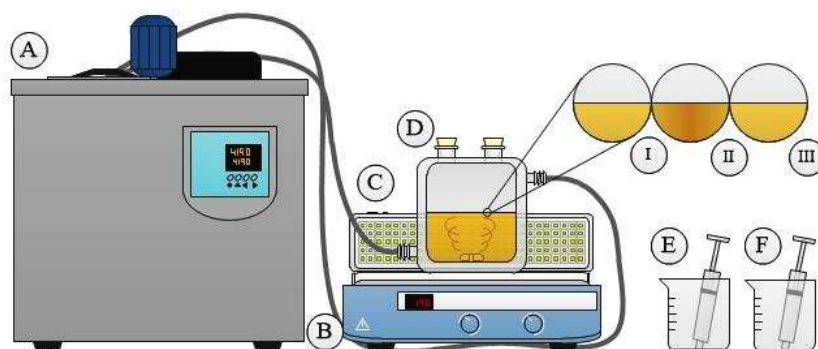


**Figura 6** – Esquema da célula de equilíbrio (SILVA, COIMBRA e MEIRELLES, 1997). Adaptado.

#### 3.3.1 Construção da curva binodal

As curvas binodais para o sistema bifásico, constituído de MOG (componente 1), etanol hidratado 95% (componente 2) e hexano (componente 3), foram traçadas pelo método de titulação turbidimétrica, à temperatura e agitação constantes, como apresentado na Figura 7. Soluções binárias de hexano/etanol hidratado 95% e

hexano/MOG foram adicionadas à célula de equilíbrio (D) e tituladas com MOG e etanol hidratado 95%, respectivamente.



**Figura 7** – Ilustração do Experimento para obtenção das curvas binodais. A: Banho ultratermostático, B: Mangueiras conectoras, C: Lâmpada de LED, D: Célula de equilíbrio, E: Solução titulante, F: Solução diluente, I e III: líquido límpido, II: líquido turvo.

A mudança visual da mistura, de aspecto límpido (I) para turvo (II), corresponde à mudança de uma única fase homogênea para duas fases em equilíbrio no sistema. Quando observada essa mudança, a composição da solução representa um ponto da curva de equilíbrio, ou curva binodal. Foram traçadas curvas para as temperaturas 35 °C, 40 °C e 45 °C, para MOGs com acidez 2 %, 20 % e 40 % (m/m), a fim de avaliar o efeito da temperatura e do teor de ácidos graxos livres na formação das fases. Esse intervalo de temperatura foi determinado considerando que à temperatura ambiente a MOG é sólida e acima de 45°C ocorre uma perda significativa de hexano.

Os modelos (equações 2, 3 e 4) foram ajustados aos dados experimentais para obtenção das curvas binodais, de acordo com a metodologia reportada na literatura para construção de diagramas de equilíbrio líquido-líquido (HAM et al., 2012; LU et al., 2012; WANG et al., 2010).

$$w_1 = a \exp(bw_2^{0,5} - cw_2^3) \quad (2)$$

$$w_1 = a + bw_2^{0,5} + cw_2 + dw_2^2 \quad (3)$$

$$w_1 = \exp(a + bw_2^{0,5} + cw_2 + dw_2^2) \quad (4)$$

em que  $w_1$  é a fração mássica de MOG;  $w_2$  é a fração mássica de etanol hidratado 95%; e a, b, c e d são os parâmetros de ajuste dos modelos.

### 3.3.2 Construção das linhas de amarração (Tie lines)

As linhas de amarração foram determinadas pelo método gravimétrico descrito por Merchuk et al. (1998). Foram preparadas cinco misturas (MOG, hexano e etanol hidratado 95 %) com composições pertencentes a região bifásica, previamente determinada pela curva binodal, utilizando MOGs com acidez de 2 %, 20 % e 40 % nas temperaturas de 35 °C, 40 °C e 45 °C (totalizando nove sistemas). Os componentes da mistura foram pesados e adicionados a um tubo de 15 mL, o qual foi submetido a agitação vigorosa em vortex por 15 minutos, para total contato entre os componentes. Em seguida, os tubos lacrados foram mantidos em repouso por 12 horas em estufa, sob temperatura controlada, para que ocorresse a separação entre as fases e o equilíbrio fosse estabelecido. As duas fases (extrato e refinado) foram separadas com auxílio de seringas descartáveis de 10 mL e agulhas de 6 cm de comprimento e pesadas em balança analítica.

Os dados de separação das fases obtidos pelo método gravimétrico foram aplicados a uma regra da alavanca que relaciona a massa da fase superior da mistura e a massa total da mesma (MERCHUK et al., 1998), juntamente com os parâmetros da equação 4 para construção das linhas de amarração. A composição das fases foi calculada utilizando o software Engineering Equation Solver (EES), por meio do sistema de equações 5 a 9.

$$w_1^t = \exp(a + b w_2^{t,0.5} + c w_2^t + d w_2^{t,2}) \quad (5)$$

$$w_1^b = \exp(a + b w_2^{b,0.5} + c w_2^b + d w_2^{b,2}) \quad (6)$$

$$w_1^t = \frac{w_1^m}{\alpha} - \left[ \frac{1-\alpha}{\alpha} \right] w_1^b \quad (7)$$

$$w_2^t = \frac{w_2^m}{\alpha} - \left[ \frac{1-\alpha}{\alpha} \right] w_2^b \quad (8)$$

$$\alpha = \frac{m_t}{m_{total}} \quad (9)$$

em que  $w_1^t$  é a fração mássica da MOG no topo;  $w_1^b$  é a fração mássica da MOG na base;  $w_2^t$  é a fração mássica de etanol hidratado 95% no topo;  $w_2^b$  é a fração mássica de etanol

hidratado 95% na base;  $m_t$  é a massa total da fase topo e  $m_{total}$  é a massa total do sistema (topo e base).

A confiabilidade das linhas de amarração foi verificada pelas equações empíricas de correlação propostas por Othmer-Tobias (equação 10) e Bancroft (equação 11).

$$\left(\frac{1-w_2^t}{w_2^t}\right) = k_1 \left(\frac{1-w_1^b}{w_1^b}\right)^n \quad (10)$$

$$\left(\frac{w_3^b}{w_1^b}\right) = k_2 \left(\frac{w_3^t}{w_2^t}\right)^r \quad (11)$$

em que  $w_2^t$  é a fração mássica de etanol hidratado na fase superior,  $w_1^b$  é a fração mássica da MOG na fase inferior,  $w_3^b$  e  $w_3^t$  são as frações mássicas de hexano nas fases inferior e superior, respectivamente e  $k_1$ ,  $k_2$ ,  $n$  e  $r$  são os parâmetros de ajuste. Uma relação linear dos gráficos  $\log\left(\frac{1-w_2^t}{w_2^t}\right)$  versus  $\log\left(\frac{1-w_1^b}{w_1^b}\right)$  e  $\log\left(\frac{w_3^b}{w_1^b}\right)$  versus  $\log\left(\frac{w_3^t}{w_2^t}\right)$  indica uma consistência dos resultados.

O ponto crítico dos sistemas foi estimado pelo método proposto por Han et al. (2012), no qual traça-se uma curva auxiliar ajustada pela equação linear 12 e o ponto crítico é determinado pela intersecção dessa com a curva binodal. Nesse ponto, as composições do extrato e do refinado se igualam e, nessas condições, não é possível realizar a separação.

$$w_1^b = f + gw_2^t \quad (12)$$

em que  $f$  e  $g$  são os parâmetros de ajuste, determinados por meio de uma regressão linear.

### 3.4 Aplicação dos dados de equilíbrio a um sistema contendo o óleo bruto de *Desmodemus communis*

Para avaliar a aplicação do modelo proposto a um sistema contendo o óleo bruto da microalga *Desmodemus communis* BR007, com acidez inicial de 46 %, foram determinadas, por gravimetria, as frações em massa de lipídios neutros e AGL nas fases extrato e refinado.

Cada fase contendo o óleo bruto teve sua composição de lipídios neutros e AGL quantificada. Após a determinação da acidez de cada fase e evaporação dos solventes (hexano e etanol hidratado 95%), o teor de lipídios neutros foi determinado, por gravimetria, permitindo calcular-se as frações em massa de lipídios neutros e AGL nas fases extrato e refinado.

### 3.5 Determinação dos coeficientes de partição e seletividade

A partir das frações mássicas de lipídios neutros e AGL nas fases extrato e refinado, foram calculados os coeficientes de partição dos lipídios neutros ( $K_{LN}$ ) e do AGL ( $K_{AGL}$ ), bem como a seletividade do etanol hidratado 95% (S), tanto para as MOG estudadas como para o óleo bruto, utilizando-se as equações 13, 14 e 15.

$$K_{AGL} = \frac{w_{AGL}^t}{w_{AGL}^b} \quad (13)$$

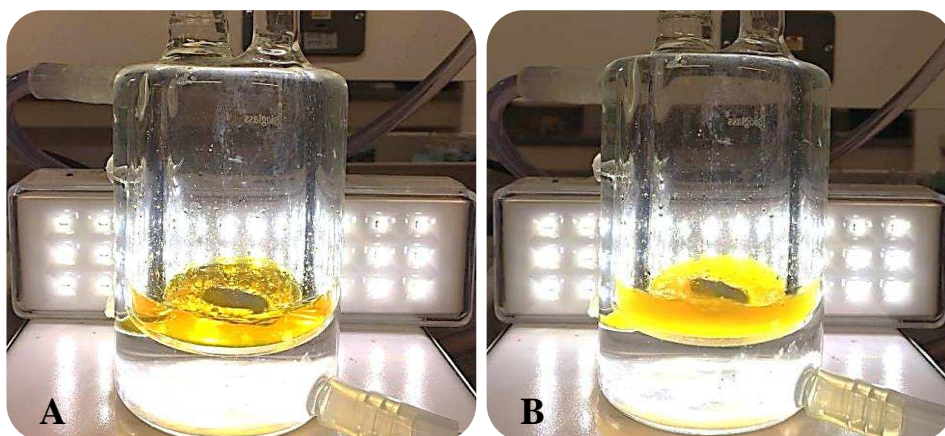
$$K_{LN} = \frac{w_{LN}^t}{w_{LN}^b} \quad (14)$$

$$S = \frac{K_{AGL}}{K_{LN}} \quad (15)$$

## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Construção das curvas binodais

Os dados obtidos pelo método da titulação turbidimétrica (Figura 8) para a MOG com teores de AGL de 2 %, 20 % e 40 %, nas temperaturas de 35 °C, 40 °C e 45 °C estão apresentados nas Tabelas 1, 2 e 3 (em anexo), em que  $w_1$  e  $w_2$  representam as frações mássicas de MOG e etanol hidratado 95%, respectivamente. Cada uma das linhas da tabela representa a composição de um ponto da curva de equilíbrio.



**Figura 8** - Método da titulação turbidimétrica durante a formação de (A) uma fase (translúcida) e (B) duas fases (mistura turva).

Os parâmetros de ajuste dos modelos 1 (equação 2), 2 (equação 3) e 3 (equação 4), os coeficientes de correlação ( $R^2$ ) e o desvio padrão (sd) para as MOG contendo 2 %, 20 % e 40 % de AGL nas temperaturas de 35° C, 40° C e 45° C, respectivamente, são apresentados nas Tabelas 5, 6 e 7.

O modelo 1, apesar de ter apresentado valores elevados para o coeficiente de correlação aos dados ( $R^2 > 0,9886$ ), não se ajustou a todos os sistemas estudados e sendo assim, o mesmo não foi utilizado. No entanto, os modelos 2 e 3 se ajustaram a todos os sistemas com elevado coeficiente de correlação ( $R^2 > 0,9950$ ) e desvio padrão inferior a 0,40 %, indicando um bom ajuste aos dados experimentais.

**Tabela 5** – Valores dos parâmetros de ajuste da equação 2 para o sistema MOG + hexano + etanol hidratado 95 % nas temperaturas 35 °C, 40 °C e 45 °C.

% AGL	a	b	c	$R^2$	100sd
<b>35 °C</b>					
2 %	0,4628	-1,3972	2,2203	0,9907	0,4000
20 %	44,7729	-9,1441	-11,0247	0,9998	0,1900
40 %	17,4983	-4,2202	5,6537	0,9988	0,3200
<b>40 °C</b>					
2 %	0,4938	-5,9180	-3,6439	0,9891	0,7900
20 %	12,6133	-5,8099	-0,1927	0,9997	0,2300
40 %	Não convergiu				
<b>45 °C</b>					
2 %	1,0628	-3,1130	-0,1614	0,9886	0,5400
20 %	20,9022	-6,7712	-1,8223	0,9991	0,3800
40 %	Não convergiu				

**Tabela 6** – Valores dos parâmetros de ajuste da equação 3 para o sistema MOG + hexano + etanol hidratado 95 % nas temperaturas 35 °C, 40 °C e 45 °C.

% AGL	A	b	c	d	R <sup>2</sup>	100sd
<b>35 °C</b>						
2 %	0,9378	-2,7324	2,9437	-1,3778	0,9950	0,3000
20 %	12,6538	-51,1325	60,4735	-26,5120	0,9998	0,1700
40 %	-44,9475	177,7695	-192,5203	63,7792	0,9997	0,1600
<b>40 °C</b>						
2 %	1,5852	-5,0161	5,3935	-2,3568	0,9972	0,4000
20 %	6,7193	-21,6361	20,7582	-6,3405	0,9998	0,1800
40 %	-48,9268	193,8191	-209,1318	68,1354	0,9987	0,2500
<b>45 °C</b>						
2 %	1,4451	-4,7033	4,9972	-1,9714	0,9981	0,2200
20 %	4,5772	-10,6641	5,3873	2,0940	0,9994	0,3000
40 %	-68,8246	253,1637	-257,2653	76,1346	0,9993	0,1600

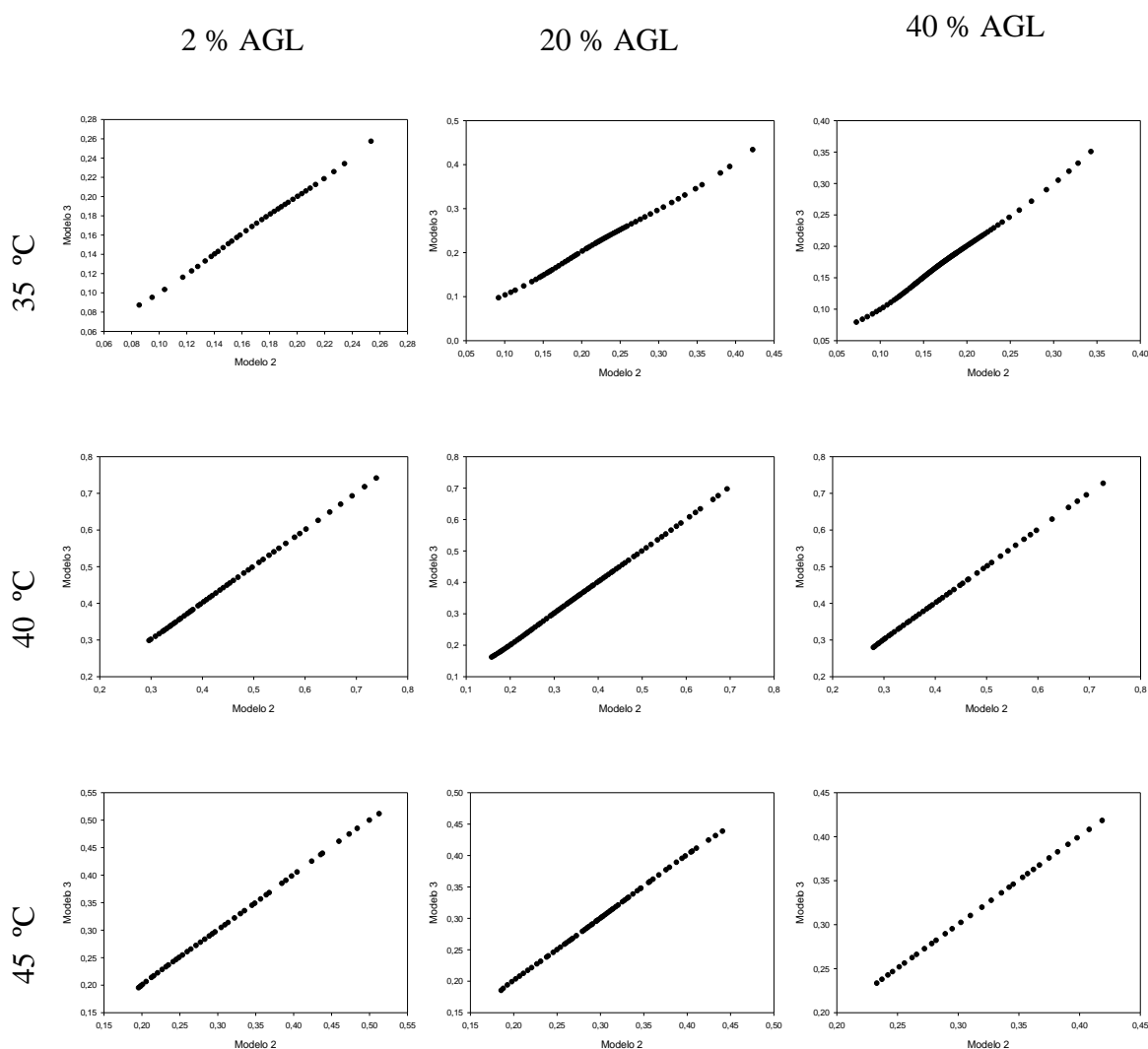
**Tabela 7** – Valores dos parâmetros de ajuste da equação 4 para o sistema MOG + hexano + etanol hidratado 95% nas temperaturas 35° C, 40° C e 45° C.

% AGL	A	b	c	d	R <sup>2</sup>	100sd
<b>35 °C</b>						
2 %	3,4912	-21,3068	26,0795	-13,9491	0,9970	0,2300
20 %	6,5609	-21,9259	15,5485	1,3690	0,9998	0,1600
40 %	-171,0799	627,9733	-644,1188	193,0984	0,9997	0,1600
<b>40 °C</b>						
2 %	3,3144	-19,0314	22,9313	-13,0628	0,9994	0,1800
20 %	4,7831	-15,6942	12,0928	-5,1154	0,9998	0,1800
40 %	-551,5908	1950,9332	-1935,1022	555,8199	0,9990	0,2100
<b>45 °C</b>						
2 %	3,0401	-17,7519	19,6686	-9,6736	0,9988	0,1800
20 %	-5,5894	33,7656	-53,5390	28,2502	0,9994	0,3100
40 %	-389,1368	1348,5092	-1310,2728	360,0661	0,9994	0,1500

A fim de comparar os modelos 2 e 3 e determinar o que melhor se ajusta aos dados experimentais, foi realizada também uma análise de identidade dos modelos para todos os sistemas estudados.

Os resultados dessa análise (Figura 9) permitem concluir que os modelos 2 e 3 predizem a mesma resposta. Assim, o modelo 3 (equação 4) foi escolhido para ajuste dos

dados por apresentar melhor coeficiente de correlação ( $R^2 > 0,9970$ ) e menor desvio padrão (inferior a 0,31 %) para todos os sistemas estudados (Tabelas 6 e 7).



**Figura 9** – Análise de identidade dos modelos 2 e 3 para os sistema contendo teores de AGL de 2 %, 20 % e 40 % nas temperaturas de 35 °C, 40 °C e 45 °C.

#### 4.2 Construção das linhas de amarração (Tie-lines)

Os dados obtidos para a composição global do sistema, da fase refinado (rica em hexano) e da fase extrato (rica em etanol hidratado 95%) para os cinco pontos de mistura dos nove sistemas avaliados são apresentados nas Tabelas 8, 9 e 10.

**Tabela 8** – Dados das linhas de amarração do sistema MOG:hexano:etanol hidratado 95 % para 2 % de AGL.

Sistema Total		Fase rica em MOG		Fase rica em etanol	
100w1	100w2	100w1	100w2	100w1	100w2
<b>35 °C</b>					
16,61	43,50	28,51	16,81	8,52	61,65
17,74	44,41	33,28	13,95	7,14	65,20
18,91	45,41	37,86	12,13	6,20	67,73
20,09	46,56	41,67	11,00	4,89	71,60
21,25	47,49	45,34	10,12	4,17	73,98
<b>40 °C</b>					
23,99	40,05	39,84	15,17	5,57	68,96
26,32	40,97	45,46	13,02	4,07	73,46
28,63	42,08	52,24	11,19	3,72	74,67
31,43	43,31	58,63	9,92	2,74	78,53
34,28	44,55	63,50	9,15	1,68	84,03
<b>45 °C</b>					
18,57	39,16	28,62	17,72	9,84	57,79
20,31	41,06	34,64	14,33	7,81	64,38
22,31	42,20	39,79	12,41	6,34	69,41
24,10	43,91	45,20	10,92	5,29	73,31
26,06	45,36	51,56	9,61	4,84	75,11

**Tabela 9** – Dados das linhas de amarração do sistema MOG/hexano/etanol hidratado 95 % a 20 %.

Sistema Total		Fase rica em MOG		Fase rica em etanol	
100w1	100w2	100w1	100w2	100w1	100w2
<b>35 °C</b>					
47,69	30,41	53,12	25,46	21,01	53,12
51,07	30,82	58,71	24,06	20,63	58,71
54,19	31,10	63,45	23,05	20,44	63,45
57,48	31,59	69,01	22,03	20,39	69,01
60,57	32,00	72,86	21,39	20,50	72,86
<b>40 °C</b>					
36,28	39,84	47,28	32,00	20,16	51,33
37,79	40,50	52,60	29,94	17,22	55,17
39,48	41,19	57,69	28,24	14,90	58,67
41,03	41,89	62,30	26,89	13,24	61,49
42,10	42,60	65,85	25,95	12,08	63,65
<b>45 °C</b>					
45,22	35,89	55,15	29,67	24,63	48,80
47,72	36,43	59,08	28,48	23,48	53,40
50,40	36,75	63,68	27,19	23,60	56,05
52,86	37,23	66,99	26,31	24,53	59,13
54,56	37,39	68,79	25,85	25,52	60,95

**Tabela 10** – Dados das linhas de amarração do sistema MOG/hexano/etanol hidratado 95 % a 40 %.

Sistema Total		Fase rica em MOG		Fase rica em etanol	
100w1	100w2	100w1	100w2	100w1	100w2
<b>35 °C</b>					
31,84	55,33	36,25	52,56	14,67	66,10
33,13	55,65	38,76	51,72	14,17	68,90
34,53	55,88	40,76	51,06	14,70	71,22
36,01	56,21	43,31	50,23	15,70	72,85
37,30	56,42	44,30	49,91	17,45	74,54
<b>40 °C</b>					
25,01	60,71	26,21	59,64	18,31	66,62
25,51	60,87	26,71	59,44	19,20	68,43
26,02	60,99	26,84	59,38	21,39	70,01
26,60	61,21	27,11	59,27	23,99	71,10
27,42	61,30	27,51	59,12	26,99	71,97
<b>45 °C</b>					
27,34	62,91	29,03	61,44	19,17	70,05
27,69	62,84	29,19	61,37	19,29	71,10
28,26	63,14	30,12	60,96	20,12	72,68
28,81	63,16	30,32	60,87	21,61	74,05
29,29	63,38	30,90	60,63	22,67	74,71

A confiabilidade das tie-lines calculadas foi verificada pela utilização das correlações empíricas propostas por Othmer-Tobias (Equação 10) e Bancroft (Equação 11). Na Tabela 11 estão apresentados os parâmetros de ajuste das equações e coeficiente de correlação.

**Tabela 11** - Valores dos parâmetros de ajuste para a confiabilidade das linhas de amarração para os sistemas com teores de AGL de 2 %, 20 % e 40 % nas temperaturas 35 °C, 40 °C e 45 °C.

%AGL	k <sub>1</sub>	n	k <sub>2</sub>	r	R <sub>1</sub> <sup>2</sup>	R <sub>2</sub> <sup>2</sup>
<b>35 °C</b>						
2	0,3091	0,7811	4,9659	1,3370	0,9860	0,9894
20	0,8904	0,5459	2,0989	2,0399	0,9759	0,9800
40	0,2659	1,1580	0,8523	0,8781	0,9892	0,9470
<b>40 °C</b>						
2	0,3305	0,8037	3,7688	1,2715	0,9217	0,9238
20	0,8746	0,6621	3,2196	3,3121	0,9982	0,9896
40	0,0079	4,0044	0,5544	0,0328	0,9536	0,8605
<b>45 °C</b>						
2	0,3270	0,8349	3,8230	1,1587	0,9732	0,9647
20	1,2156	0,8056	0,6665	1,4509	0,9876	0,9901
40	0,0431	2,5488	0,4041	0,1179	0,9576	0,9184

O elevado coeficiente de correlação obtido para ambas as equações indicam a consistência dos resultados.

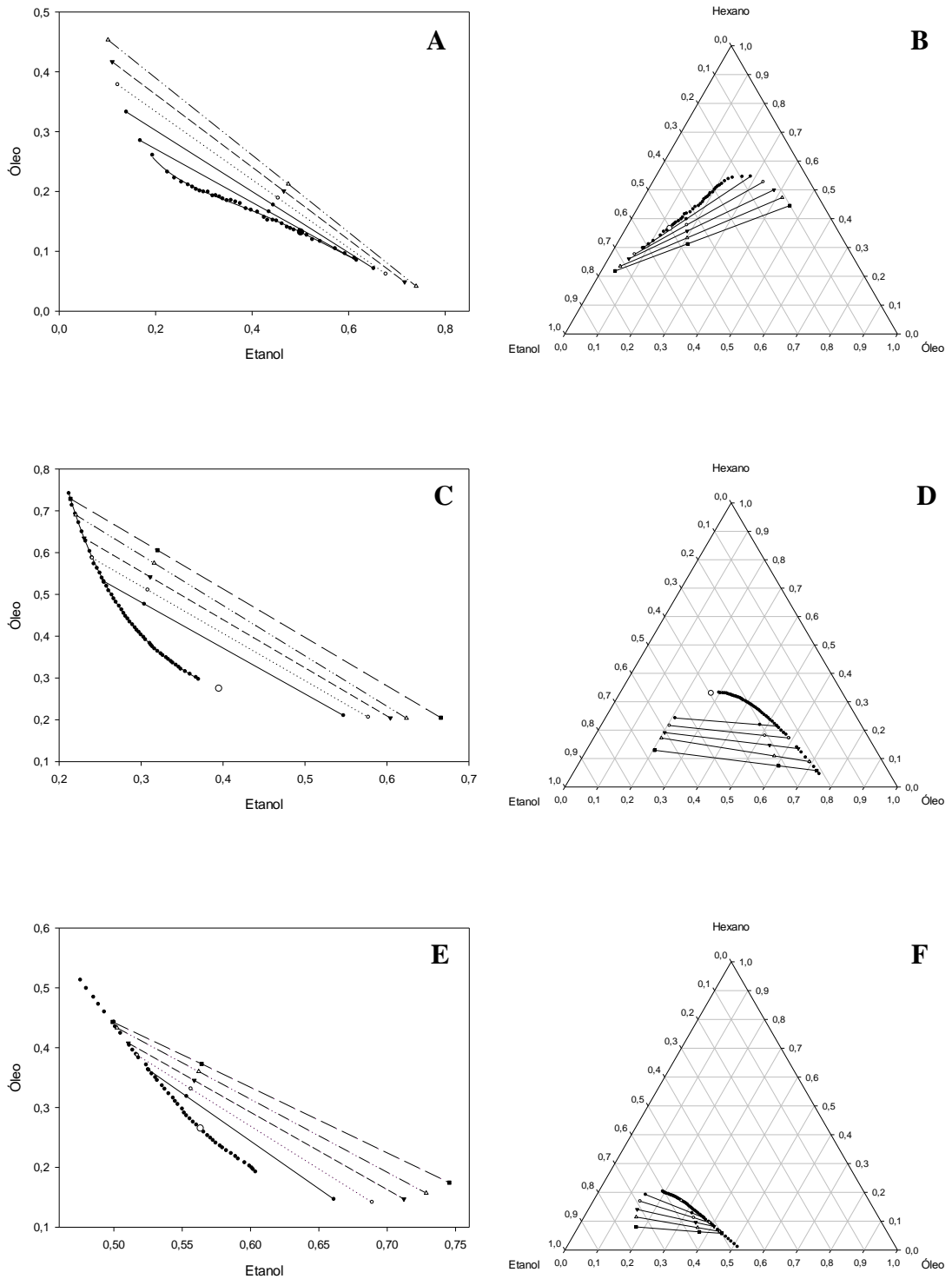
Após validar a confiabilidade das linhas de amarração, foi determinado o ponto crítico para os sistemas em estudo, cujos parâmetros de ajuste, coeficientes de correlação e valores são apresentados na Tabela 12.

**Tabela 12** - Valores dos parâmetros de ajuste e pontos críticos para os sistemas com teores de AGL de 2 %, 20 % e 40 % nas temperaturas 35 °C, 40 °C e 45 °C.

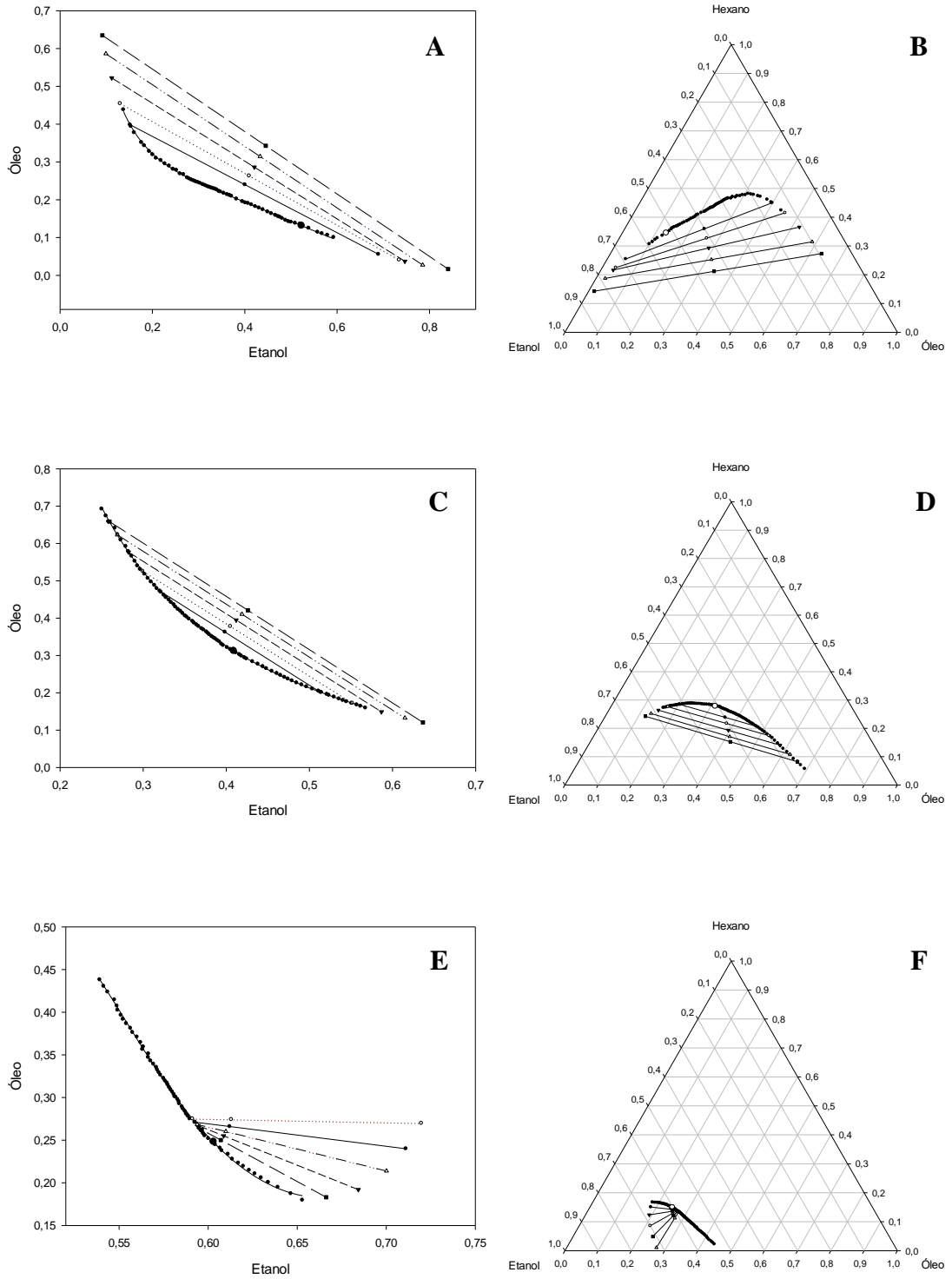
%AGL	F	g	R <sup>2</sup>	Ponto Crítico (100w1;100w2;100w3)
<b>35 °C</b>				
2	-0,5440	1,3484	0,9932	50,12; 1318; 36,70
20	-0,4068	1,7249	0,9740	39,51; 27,48; 33,01
40	-0,2907	0,9863	0,9884	56,35; 26,51; 17,14
<b>40 °C</b>				
2	-0,7261	1,6402	0,9433	52,59; 13,15; 34,56
20	-0,3034	1,5068	0,9985	40,88; 31,26; 27,86
40	0,1157	0,2198	0,9504	60,30; 24,82; 14,88
<b>45 °C</b>				
2	-0,4418	1,2374	0,9509	46,52; 13,38; 40,10
20	-0,0204	1,1637	0,9881	35,71; 39,52; 24,77
40	0,0132	0,3943	0,9560	62,87; 26,10; 11,03

Os diagramas de equilíbrio para todos os sistemas contendo a curva binodal, linhas de amarração e ponto crítico estão apresentados nas Figuras 10, 11 e 12, em coordenadas retangulares e triangulares.

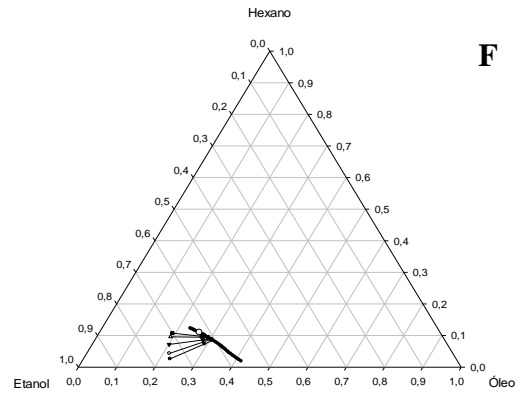
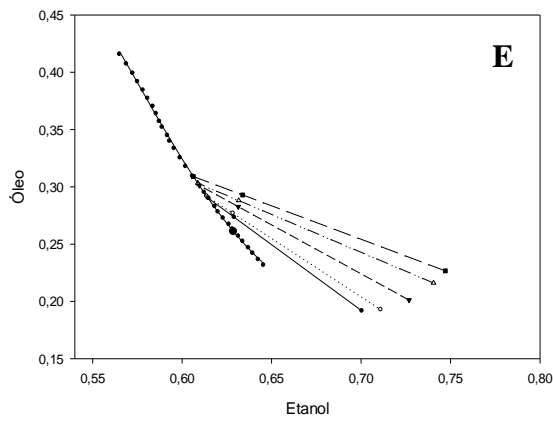
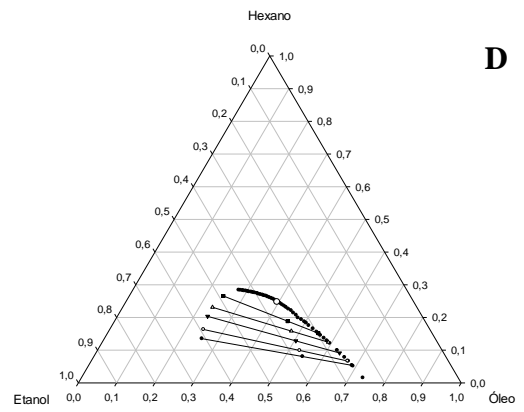
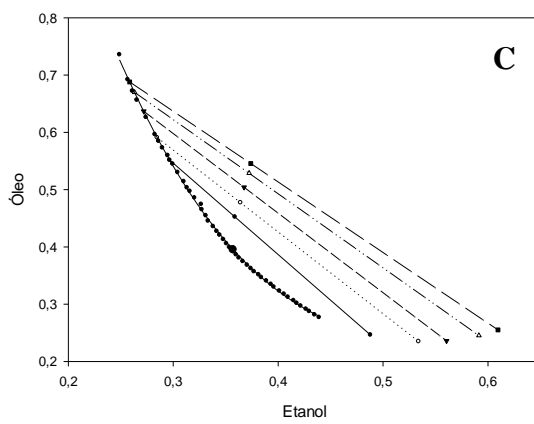
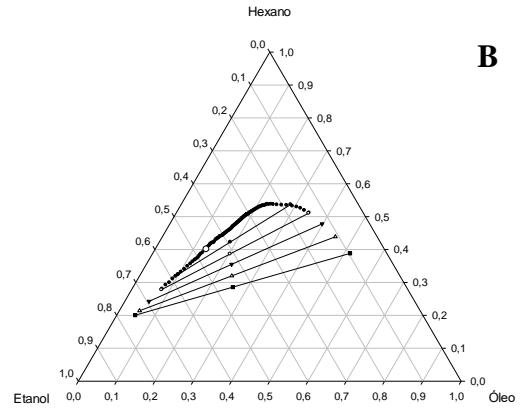
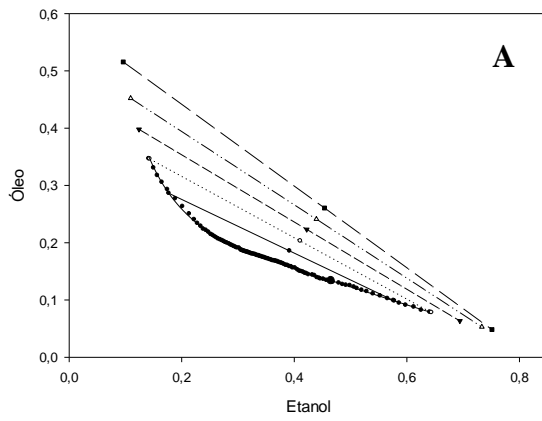
Os dados e diagramas de equilíbrio apresentados permitem a escolha de condições, ou seja, composição de um sistema bifásico e temperaturas, para emprego na separação entre lipídios neutros e ácidos graxos livres no óleo de microalgas. A avaliação do desempenho e eficiência do uso da separação líquido-líquido é realizada pela quantificação dos coeficientes de partição dos lipídios neutros e AGL, assim como a seletividade (equações 13 a 15).



**Figura 10** - Curva binodal, linhas de amarração e ponto crítico para o sistema contendo teores de AGL de 2 % (A e B), 20 % (C e D) e 40 % (E e F) a 35 °C em coordenadas retangulares e triangulares.



**Figura 11** - Curva binodal, linhas de amarração e ponto crítico para o sistema contendo teores de AGL de 2 % (A e B), 20 % (C e D) e 40 % (E e F) a 40 °C em coordenadas retangulares e triangulares.



**Figura 12** - Curva binodal, linhas de amarração e ponto crítico para o sistema contendo teores de AGL de 2 % (A e B), 20 % (C e D) e 40 % (E e F) a 45 °C em coordenadas retangulares e triangulares.

### 4.3 Separação dos lipídios no óleo bruto de *Desmodesmus communis*

O óleo bruto da microalga *Desmodesmus communis* BR007 apresentou uma acidez titulável de  $46 \pm 0,500$  %. O óleo bruto foi então submetido à separação na região bifásica utilizando uma mistura de 34,50 % de óleo bruto, 55,90 % de etanol hidratado 95 % e 9,60 % de hexano, na temperatura de 35 °C, 30,40 % de óleo bruto, 61,50 % de etanol hidratado 95 % e 8,10 % de hexano, na temperatura de 40 °C e 32,20 % de óleo bruto, 62,60 % de etanol hidratado 95 % e 5,20 % de hexano, na temperatura de 45° C. Essas condições foram escolhidas pois, conforme os resultados de separação da MOG com acidez de 40 %, verifica-se nesses pontos melhor separação entre lipídios neutros e AGL.

### 4.4 Determinação dos coeficientes de partição e seletividade

Os valores dos coeficientes de partição de lipídios neutros (LN), ácidos graxos livres (AGL), bem como da seletividade do etanol tanto para o óleo bruto de *Desmodesmus communis*, quanto para os nove sistemas contendo a mistura de óleos e gorduras (MOG) estão apresentados na Tabela 13.

**Tabela 13** - Valores dos coeficientes de partição de lipídios neutros ( $K_{LN}$ ), AGL ( $K_{AGL}$ ) e seletividade (S) para os sistemas com teores de AGL de 2 %, 20 % e 40 % nas temperaturas 35 °C, 40 °C e 45 °C.

%AGL	$K_{AGL}$	$K_{LN}$	S
<b>35 °C</b>			
2 %	1,05	0,21	5,03
20 %	0,82	0,17	4,95
40 %	0,94	0,28	3,38
46 % ( <i>Desmodesmus communis</i> BR007)	0,88	0,78	1,13
<b>40 °C</b>			
2 %	0,98	0,10	9,67
20 %	1,02	0,18	5,53
40 %	1,01	0,20	5,02
46 % ( <i>Desmodesmus communis</i> BR007)	1,00	0,83	1,22
<b>45 °C</b>			
2 %	0,98	0,15	6,71
20 %	1,01	0,16	6,33
40 %	0,77	0,21	3,73
46 % ( <i>Desmodesmus communis</i> BR007)	0,89	0,89	1,02

Por meio da análise dos coeficientes de partição (Tabela 13), pode-se constatar que os ácidos graxos livres migraram para a fase extrato (rica em etanol), uma vez que o  $K_{AGL}$  foi próximo a 1 para todos os sistemas estudados, não apresentando diferença considerável entre os valores dessa variável na faixa de acidez inicial e temperatura avaliados. Segundo Gonçalves e Meirelles (2004), os coeficientes de distribuição não precisam ser necessariamente maiores que 1, apesar de valores altos serem desejáveis para que uma menor quantidade de solvente ou um número não muito elevado de estágios de equilíbrio possam ser usados para a extração.

Os valores de seletividade apresentados na Tabela 13 indicam ainda que o uso do etanol hidratado 95% como solvente favoreceu a concentração de AGL na fase extrato e do óleo neutro (TAGs) na fase refinado (rica em hexano), o que pode ser confirmado pela inclinação das linhas de amarração nos diagramas de equilíbrio (Figuras 10, 11 e 12). Porém, posto que a seletividade é calculada pela razão entre os coeficientes de distribuição do AGL e de lipídios neutros (equação 15), observa-se que com o aumento da acidez inicial do óleo, maiores quantidades de lipídios neutros estarão presentes na fase extrato, de modo que os sistemas com elevado teor de AGL tendem a ter maiores coeficientes de distribuição de lipídios neutros ( $K_{LN}$ ) e, deste modo, menores valores de seletividade. Essa constatação permite a separação do óleo de microalgas usando etanol hidratado 95% em um fração rica em lipídios polares e outra (refinado) rica em lipídios apolares.

Esse comportamento pode ser explicado pela solubilidade dos lipídios neutros na fase alcóolica, que é tanto maior quanto maior a concentração inicial de AGL no óleo (Gonçalves et al., 2016; Shiozawa et al., 2015; Rodrigues et al., 2014). A observação dos diagramas de equilíbrio (Figuras 10, 11 e 12) confirma esse resultado, uma vez que para uma mesma temperatura, maiores valores iniciais de acidez do óleo provocam uma redução da região heterogênea (bifásica) delimitada pela curva binodal.

May et al. (2016) determinaram os dados de equilíbrio líquido-líquido para um sistema pseudoternário composto por óleo de semente de girassol refinado, ácido butírico, valérico, ou caprílico e etanol anidro. Esses autores relataram que quanto menor a cadeia dos ácidos graxos, maior sua solubilidade em etanol e maior o seu coeficiente de partição. Isso se deve ao fato de o coeficiente de atividade desses ácidos serem menores na presença do solvente do que na presença do diluente, favorecendo sua migração para a fase rica em solvente. Além disso, a longa cadeia apolar de ácidos graxos como o oléico resulta em uma alta solubilidade dos mesmos tanto no solvente como no diluente. Portanto, ácidos

graxos de cadeia curta, como butírico e valérico, apresentam coeficientes de partição superiores (maiores que 2) aos ácidos graxos de cadeia longa (menores que 2).

Resultados semelhantes foram obtidos por Shiozawa et al. (2015), ao comparar o particionamento dos ácidos graxos oléico e linoléico dos óleos de soja, farelo de arroz e semente de algodão, utilizando o etanol como solvente. Os valores dos coeficientes de partição para todos os óleos estudados ficaram entre 1,0 e 1,5, sendo que o mesmo decresceu na seguinte sequência: óleo de soja, óleo de semente de algodão e óleo de farelo de arroz.

Uma vez que a MOG, assim como o óleo de *D. communis*, são ricos em ácidos graxos de cadeia longa, como os ácidos oléico e linoléico (aproximadamente 65%), os valores de  $K_{AGL}$  obtidos nesse trabalho corroboram os resultados obtidos por May et al. (2016) e Shiozawa et al. (2015).

Observa-se ainda na Tabela 13 que os valores de seletividade para os sistemas contendo óleo bruto de *D. communis*., nas três temperaturas avaliadas, apresentaram valores inferiores aos apresentados pela mistura de óleos e gordura estudada, em decorrência do aumento dos valores de  $K_{LN}$  nesses sistemas. Essa diferença se deve não somente à acidez relativamente superior do óleo bruto (46%), mas pela complexidade da composição do óleo de microalgas.

Diferente dos óleos provenientes de oleaginosas, os óleos brutos de microalgas contém uma complexa classe de lipídios, que inclui não apenas TAG e AGL mas também lipídios estruturais como fosfolipídios, glicolipídios, esteróis, ceras e graxas, além de uma quantidade significativa de pigmentos (HALIM, DANQUAH e WEBLEY, 2012; SHARMA, SCHUHMAN e SCHENK, 2012). Até o presente momento não foram encontrados na literatura informações sobre o particionamento dessas classes de lipídios em sistemas ternários como realizado nesse trabalho.

Uma vez que o óleo nesse estudo foi dividido em TAG e AGL, a fração mássica referente aos lipídios “neutros” pode conter, no caso do óleo bruto, outros lipídios polares, como fosfolipídios e glicolipídios, os quais podem ter migrado juntamente com o AGL para a fase extrato, provocando um aumento da fração mássica de lipídios neutros nessa fase e conseqüentemente, do  $K_{LN}$ . Esses outros lipídios polares, como MGDG e DGDG, estão presentes no óleo de microalgas em quantidades expressivas, que varia de acordo com a espécie, condições de cultivo, entre outros (GUIHÉNEUF et al., 2015).

## 5. CONCLUSÃO

De acordo com os resultados obtidos neste trabalho e os objetivos propostos, conclui-se que é possível realizar a separação por polaridade dos lipídios presentes em óleos de acidez elevada, como o de microalgas, utilizando o sistema ternário proposto, contendo MOG, hexano e etanol hidratado 95 %.

Os ácidos graxos livres migraram preferencialmente para a fase rica em etanol em todos os sistemas estudados, não sofrendo influência considerável da temperatura nas faixas de acidez inicial e temperatura avaliadas. Os valores de seletividade indicaram ainda que o uso do etanol hidratado 95% como solvente favoreceu a separação entre os compostos polares e neutros. O aumento da acidez inicial do óleo provocou um aumento do coeficiente de distribuição de lipídios neutros e, conseqüentemente, redução dos valores de seletividade.

Os sistemas contendo óleo bruto de *Desmodesmus communis* apresentaram valores inferiores aos apresentados pela MOG estudada nas três temperaturas avaliadas, devido ao aumento dos valores de  $K_{LN}$  nesses sistemas, o que pode ser explicado pela acidez relativamente superior do óleo bruto (46%) e complexidade da composição do óleo de microalgas.

## 6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANP, 2014. Agência Nacional de Petróleo. Resolução ANP nº 45, 25 de agosto de 2014.

AMARO, H. M.; GUEDES, A. C.; MALCATA, F. X. Advances and Perspectives in Using Microalgae to Produce Biodiesel. **Applied Energy**, v.88, p.3402–3410, 2011.

BALASUBRAMANIAN, R. K.; DOAN, T. T. Y.; OBBARD, J. P.; Factors affecting cellular lipid extraction from marine microalgae. **Chemical Engineering Journal**, v.215-216, p.929-936.

BATISTA, E.; MONNERAT, S.; KATO, K.; STRAGEVITCH, L.; MEIRELLES, J. A. Liquid–Liquid Equilibrium for Systems of Canola Oil, Oleic Acid, and Short-Chain Alcohols. **Journal Of Chemical & Engineering Data**, v. 44, n. 6, p.1360-1364, 1999.

BENEMANN, J. CO<sub>2</sub> mitigation with microalgae systems. **Energy Conversion and Management**, v.38, p.S475-S479, 1997.

BESSA, L. C. B. A.; FERREIRA, M. C.; ABREU, C. R. A.; BATISTA, E. A. C.; MEIRELLES. A new UNIFAC parameterization for the prediction of liquid-liquid equilibrium of biodiesel systems. **Fluid Phase Equilibria**, v.425, p.98-107, 2016.

BLIGHT, E. G.; DYER, W. J. A rapid method of total lipid extraction and purification. **Canadian Journal of Biochemistry and Physiology**, v.37, p.911-917, 1959.

BONNER, W. D. Experimental Determination of Binodal Curves, Plait Points, and Tie Lines, in 50 Systems, each consisting of Water and Two Organic Liquids. **Journal of Physical Chemistry**, v.14, p.738-789, 1910.

CHEN, L.; LIU, T.; ZHANG, W.; CHEN, W.; CHEN, X; WANG, J. Biodiesel production from algae oil high in free fatty acids by two-step catalytic conversion. **Bioresource Technology**, v.111, p.208-214, 2012.

DELRUE, F.; SETIER, P. A.; SAHUT, C.; COURNAC, L.; ROUBAUD, A.; PELTIER, G.; FROMENT, A. K. An economic, sustainability, and energetic model of biodiesel production from microalgae. **Bioresource Technology**, v.111, p.191-200, 2012.

FERREIRA, M. C.; BESSA, L. C. B. A.; SHIOZAWA, S.; MEIRELLES, A. J. A.; BATISTA, E. A. C. Liquid-liquid equilibrium of systems containing triacylglycerols (canola and corn oils), diacylglycerols, monoacylglycerols, fatty acids, ester and ethanol at T/K=303.15 and 318.15. **Fluid Phase Equilibria**, v. 404, p.32-41, 2015.

FOLEY, P. M.; BEACH, E. S.; ZIMMERMAN, J. B. Algae as a source of renewable chemicals: opportunities and challenges. **Green Chemistry**, v.13, p.1399, 2011.

FOLLEGATTI-ROMERO, L. A.; LANZA, M.; BATISTA, F. R. M.; BATISTA, E. A. C.; OLIVEIRA, M. B.; COUTINHO, J. A. P. MEIRELLES, A. J. A. Liquid-Liquid Equilibrium for Ternary Systems Containing Ethyl Esters, Anhydrous Ethanol and Water at 298.15, 313.15, and 333.15K. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.49, p.12613-12619, 2010.

FRANCO, A. L. C.; LÔBO, I. P.; CRUZ, R. S.; TEIXEIRA, C. M. L. L.; NETO, J. A. A.; MENEZES, R. S. Biodiesel De Microalgas: Avanços e Desafios. **Química Nova**, v.36, p.437-448, 2013.

GEANKOPLIS, C. J. Transport Processes and Unit Operations. Prentice-Hall International, 3ª edição, Minnesota, 921p, 1993.

GONÇALVES, C. B; MEIRELLES, A. J. A.. Liquid, liquid Equilibrium Data for the System Palm Oil + Fatty Acids + Ethanol + Water at 318.2 K. **Fluid Phase Equilibria**, 2004.

GONÇALVES, C. B.; BATISTA, E.; MEIRELLES, A. J. A.. Liquid-Liquid Equilibrium Data for the System Corn Oil + Oleic Acid + Ethanol + Water at 298.15 K. **Journal Of Chemical & Engineering Data**, v. 47, n. 3, p.416-420, 2002.

GONÇALVES, C. B.; RODRIGUES, C. E. C.; MARCON, E. C.; MEIRELLES, A. J. A. Deacidification of palm oil by solvent extraction. **Separation And Purification Technology**, v. 160, p.106-111, 2016.

GUIHÉNEUF, F.; SCHMID, M.; STENGEL, D. D. Lipids and Fatty Acids in Algae: Extraction, Fractionation Into Lipid Classes, and Analysis by Gas Chromatography Coupled with Flame Ionization Detector (GC-FID). **Methods in Molecular Biology**, v.1308, 2015.

GUZMÁN, H. M.; VALIDO, A. J.; DUARTE, L. C.; PRESMANES, K. F. Estimate by means of flow cytometry of variation in composition of fatty acids from *Tetraselmis Suecica* in response to culture conditions. **Aquaculture International**, v.18, p.189–199, 2010.

HALIM, R.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P. A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: a review. **Biotechnology Advances**, v.30, p.709-732, 2012.

HALIM, R.; GLADMAN, B.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P. A. Oil Extraction from Microalgae for Biodiesel Production. **Bioresource Technology**, v.102, p.178–185, 2011.

HAN, J.; WANG, Y.; YU, C.; LI, Y.; KANG, W.; YAN, Y. (Liquid + liquid) equilibrium of (imidazolium ionic liquids + organic salts) aqueous two-phase systems at T=298.15K and the influence of salts and ionic liquids on the phase separation. **Journal of Chemical Thermodynamics**, v.45, p.59-67, 2012.

HANNON, M.; GIMPEL, R.; TRAN, M.; RASALA, B.; MAYFIELD, S. Biofuels from algae: challenges and potential. **Biofuels**, v.1, p.763–784, 2010.

HOMRICH, P. O. N.; CERIANI, R. Liquid-liquid Equilibrium Data for the Pseudoternary Model System of Refined Sunflower Seed Oil + (n-Hexanal, or 2-Nonenal, or 2,4-Decadienal) + Anhydrous Ethanol at 298.15K. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v.61, p.3069-3076, 2016.

ICHIHARA, K.; FUKUBAYASHI, Y. Preparation of fatty acid methyl esters for gas-liquid chromatography. **Journal of Lipid Research**, v.51, p.635-640, 2010.

ISRAYANDI; ZHRINA, I; MULIA, K. Optimization process for deacidification of palm oil by liquid-liquid extraction using NADES (Natural Deep Eutectic Solvent). **AIP Conference Proceedings**, 1823, 2017.

ISSARIYAKUL, T.; DALAI, A. K. Biodiesel from vegetable oils. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.31, p.446-471, 2014.

LANZA, M.; SANAIOTTI, G.; BATISTA, E. A. C.; POPPI, R. J.; MEIRELLES, A. J. A. Liquid-Liquid Equilibrium Data for Systems Containing Vegetable Oils, Anhydrous Ethanol, and Hexane at (313.15, 318.15, and 328.15) K. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v.54, p.1850-1859, 2009.

LIRA, R. A.; MARTINS, M. A.; MACHADO, M. F.; CORRÊDO, L. P.; MATOS, A. T. As Microalgas Como Alternativa À Produção de Biocombustíveis. **Engenharia Na Agricultura**, v.20, p.389-403, 2012.

LÓPEZ, E. N.; MEDINA, A. R.; MORENO, P. A. G.; CERDÁN, L. E.; MOLINA-GRIMA, E. Extraction of microalgal lipids and the influence of polar lipids on biodiesel production by lipase-catalyzed transesterification. **Bioresource Technology**, v.216, p.904-913, 2016.

LÓPEZ, E. N.; MEDINA, A. R.; MORENO, P. A. G.; CALLEJÓN, M. J. J.; CERDÁN, L. E.; VALVERDE, L. M.; LÓPEZ, B. C.; MOLINA-GRIMA, E. Enzymatic production of biodiesel from *Nannochloropsis gaditana* lipids: Influence of operational variables and polar lipid content. **Bioresource Technology**, v.187, p.346-353, 2015.

LU, Y.; HAN, J.; SHENG, C.; YU, P.; TAN, Z.; YAN, Y. Measurement and correlation of phase diagram data for polyoxyethylene (10) lauryl ether and potassium hydroxide/potassium carbonate/potassium phosphate aqueous two-phase systems at 298.15K. **Thermochimica Acta**, v.543, p.1-8, 2012.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel Production: A Review. **Bioresource Technology**, v.70, p.1-15, 1999.

MACHADO, S. A. Estudo da produção de biodiesel a partir do óleo de macaúba (*Acrocomia aculeata*) pela rota etílica. **Dissertação de Mestrado**, Universidade de São Paulo, Lorena, 2013.

MATA, T. M.; MARTINS, A. A.; CAETANO, N. S. Microalgae for biodiesel production and other applications: A review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.14, n.1, p.217–232, 2010.

MAY, C. P.; HOMRICH, P. O. B.; CERIANI, R. Pseudoternary liquid-liquid equilibria for refined sunflower seed oil + carboxylic acids + anhydrous ethanol at 298.15K. **Fluid Phase Equilibria**, v.427, p.297-302, 2016.

MERCHUK, J. C.; ANDREWS, B. A.; ASENJO, J. A. Aqueous two-phase systems for protein separation studies on phase inversion. **Journal of Chromatography B**, v.711, p.285-293, 1998.

MOLINA GRIMA, E.; GONZÁLEZ, M. J. I.; GIMÉNEZ, A. G. Solvent Extraction Microalgae Lipids. **Algae for Biofuels**, c.11, p.187-205, 2013.

MOLINA GRIMA, E.; MEDINA, A. R.; GIMÉNEZ, A. G.; PÉREZ, J. A. S.; CAMACHO, F. G.; SÁNCHEZ, J. L. G. Comparison Between Extraction of Lipids and Fatty Acids from Microalgal Biomass. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.71, p.955-959, 1994.

MOHSEN-NIA, M.; KHODAYARI, A. De-acidification of sunflower oil by solvent extraction: (Liquid-liquid) equilibrium data at  $T = (303.15 \text{ and } 313.15)\text{K}$ . **Journal of Chemical Thermodynamics**, v. 40, p.1325-1329, 2008.

MOSER, B. R. Biodiesel production, properties and feedstocks. **In vitro Cellular & Development Biology – Plant**, v.45, p. 229-266, 2009.

PARSAEIMEHR, A.; SUN, Z.; CHEN, Y. Simultaneous improvement in production of microalgal biodiesel and high-value alpha-linolenic acid by a single regulator acetylcholine. **Biotechnology Biofuels**, v.8, p.11, 2015.

PENHA, F. M.; REZZADORI, K.; PRONER, M. C.; ZIN, G.; FOGAÇA, L. A.; PETRUS, J. C. C.; OLIVEIRA, J. V.; LUCCIO, M. D. Evaluation of permeation of macauba oil and n-hexane mixtures through polymeric commercial membranes subjected to different pre-treatments. **Journal of Food Engineering**, v. 155, p.79-86, 2015.

PREISS, M. R.; KOWALSKI, S. P. Algae and Biodiesel: Patenting energized as green goes commercial. **Journal of Commercial Biotechnology**, v.16, p.293-312, 2010.

RAMLUKAN, 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.

RAMOS, M. J.; FERNÁNDEZ, C. M.; CASAS, A.; RODRÍGUEZ, L.; PÉREZ. A. Influence of fatty acid composition of raw materials on biodiesel properties. **Bioresource Technology**, v. 100, p.261-268, 2009.

REZENDE, J. R. Desacidificação de óleo de macaúba por extração líquido-líquido, para produção de biodiesel. Dissertação de Mestrado, **Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia**, Itapetinga, 2009.

ROBLES-MEDINA, A.; GONZÁLEZ-MORENO, P. A.; ESTEBAN-CERDÁN, L.; MOLINA-GRIMA, E. Biocatalysis: Towards ever greener biodiesel production. **Biotechnology Advances**, v.27, p.398-408, 2009.

RODRIGUES, C. E. C.; ONOYAMA, M. M.; MEIRELLES, A. J. A. Optimization of the rice bran oil deacidification process by liquid-liquid extraction. **Journal Of Food Engineering**, v.73, n.4, p.370-378, 2006.

RODRIGUES, C. E. C.; GONÇALVES, C. B.; MARCON, E. C; BATISTA, E. A. C.; MEIRELLES, A. J. A. Deacidification of rice bran oil by liquid-liquid extraction using a renewable solvent. **Separation And Purification Technology**, v. 132, p.84-92, 2014.

RYCKEBOSCH, E.; BERMÚDEZ, S. P. C.; TERMOTE-VERHALLE, R.; BRUNEEL, C.; MUYLAERT, K.; PARRA-SALDIVAR, R.; FOUBERT, I. Influence of extraction solvent system on the extractability of lipid components from the biomass of *Nannochloropsis gaditana*. **Journal of Applied Phycology**, v.26, p. 1501-1510, 2014.

RYCKEBOSCH, E.; MUYLAERT, K.; FOUBERT, I. Optimization of an Analytical Procedure for Extraction of Lipids from Microalgae. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v.89, p.189-198, 2012.

SALIMON, J.; ABDULLAH, B. M.; SALIH, N. Hydrolysis optimization and characterization study of preparing fatty acids from *Jatropha curcas* seed oil. **Chemistry Central Journal**, v.5, p-67, 2011.

SAN PEDRO, A.; GONZÁLEZ-LÓPEZ, C. V.; ACIÉN, F. G.; MOLINA-GRIMA, E. Marine microalgae selection and culture conditions optimization for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v.134, p.353-361, 2013.

SANTOS, T. V. M. S. Construção de curvas binodais para sistemas ternários, contendo biodiesel, álcool e água. Dissertação de Mestrado, **Instituto Superior de Engenharia de Lisboa**, Lisboa, 2015.

SEADER, J. D.; HENLEY, E. J.; ROPER, D. K. Separation Process Principles, John Wiley & Sons, 3ª edição, Salt Lake City, 821p, 2006.

SHAH, M.; POUDEL, J.; KWAK, H.; OH, S. C. Kinetic analysis of transesterification of waste pig fat in supercritical alcohols. **Process Safety and Environmental Protection**, v. 98, p.239-244, 2015.

SHARMA, K. K.; SCHUHMANN, H.; SCHENK, P. M. High lipid induction in microalgae for biodiesel production. **Energies**, v.5, p.1532–1553, 2012.

SHOW, K.; LEE, D.; TAY, J.; LEE, T.; CHANG, J. Microalgal drying and cell disruption - Recent advances. **Bioresource Technology**, v.184, p.258-266, 2015.

SHIOZAWA, S.; BESSA, L. C. B. A.; FERREIRA, M. C.; MEIRELLES, A. J. A.; BATISTA, E. A. C. Liquid-liquid Equilibrium Data for Fatty Systems Containing Monoacylglycerols and Diacylglycerols. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v.60, p. 2371-2379, 2015.

SHRESTHA, R. P.; HAERIZADEH, F.; HILDEBRAND, M. Molecular Genetic Manipulation of Microalgae: Principles and Applications. Handbook of Microalgal Culture: Applied Phycology and Biotechnology. Wiley-Blackwell, 2<sup>a</sup> edição, Chichester, 719p, 2013.

SILVA, L. H. M.; COIMBRA, J. S. R.; MEIRELLES, A. J. A. Equilibrium Phase Behavior of Poly(ethylene Glycol) + Potassium Phosphate + Water Two-Phase Systems at Various pH and Temperatures. **Journal of Chemical & Engineering Data**, v.42, p.398-401, 1997.

SILVA, A. E.; LANZA, M.; BATISTA, E. A. C.; RODRIGUES, A. M. C.; MEIRELLES, A. J. A.; SILVA, L. H. M. Liquid-liquid Equilibrium Data for Systems Containing Palm Oil Fractions + Fatty Acids + Ethanol + Water. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v. 56, p.-1892-1898, 2011.

TABATABAEI, M.; TOHIDFAR, M.; JOUZANI, G. S.; SAFARNEJAD, M.; PAZOUKI, M. Biodiesel production from genetically engineered microalgae: Future of bioenergy in Iran. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v.15, p.1918-1927, 2011.

VISSER, E. M.; FILHO, D. O; MARTINS, M. A.; STEWART, B. L. Bioethanol production potential from Brazilian biodiesel co-products. **Biomass and Bioenergy**, v.35, p.489-494, 2011.

WANG, Y.; MAO, Y.; HAN, J.; LIU, Y.; YAN, Y. Liquid-liquid Equilibrium of Potassium Phosphate/Potassium Citrate/Sodium Citrate + Ethanol Aqueous Two-Phase Systems at (298.15 and 313.15) K and Correlation. **Journal of Chemical and Engineering Data**, v.55, p.5621-5626, 2010.

WILLIAMS, P. J. B.; LAURENS, L. M. L. Microalgae as biodiesel & biomass feedstocks: Review & analysis of the biochemistry, energetics & economics. **Energy & Environmental Science**, v.3, p.554-590, 2010.

YUAN, M.; CHEN, Y.; CHEN, J.; LUO, Y. Dependence of cold filter plugging point on saturated fatty acid profile of biodiesel blends derived from different feedstocks. **Fuel**, v. 195, p.59-68, 2017.

## ANEXO I – Dados das curvas binodais

Nas Tabelas 1, 2 e 3 estão apresentados os dados obtidos pelo método da titulação turbidimétrica, os quais foram utilizados para construção das curvas binodais. Em que, w1 é a fração mássica de MOG e w2 é a fração mássica de etanol hidratado 95%.

**Tabela 1:** Dados da curva binodal para o sistema MOG (2 %, 20 % e 40 % AGL) (1), etanol hidratado 95 % (2) e hexano (3) a 35° C.

2 % AGL		20 % AGL		40 % AGL	
100w1	100w2	100w1	100w2	100w1	100w2
8,33	64,08	77,75	20,38	51,30	47,56
8,88	61,21	74,19	21,20	49,92	47,99
9,61	59,24	71,32	21,57	48,45	48,52
10,46	57,24	69,27	21,99	47,26	48,87
11,68	54,11	67,18	22,39	45,98	49,31
11,98	52,51	65,00	22,79	44,28	50,03
12,70	51,34	62,75	23,24	43,50	50,10
13,46	49,89	60,32	23,74	42,43	50,50
13,58	48,67	58,81	24,01	40,41	51,14
13,82	47,96	57,30	24,24	39,60	51,38
14,05	47,25	56,27	24,65	38,91	51,63
14,61	46,19	55,14	24,98	38,32	51,81
15,09	45,07	53,93	25,24	37,12	52,38
15,23	44,31	52,90	25,49	36,34	52,52
15,22	43,20	51,95	25,81	35,64	52,78
15,68	42,50	50,89	26,04	35,02	53,05
16,58	41,12	49,88	26,44	34,55	53,18
16,91	39,79	48,98	26,67	33,66	53,54
17,14	38,72	48,16	26,94	33,08	53,73
18,00	37,54	47,22	27,33	32,31	54,02
18,27	36,58	46,32	27,64	31,60	54,34
18,54	35,62	45,49	27,89	31,03	54,50
18,49	34,78	44,77	28,10	30,52	54,69
18,80	33,93	44,18	28,37	29,77	55,01
19,11	33,25	43,42	28,63	29,11	55,16
19,33	32,47	42,76	28,96	28,63	55,32
19,29	31,82	42,06	29,26	28,12	55,56
19,92	30,87	41,47	29,48	27,57	55,80
19,95	29,94	40,97	29,75	27,10	56,05
20,10	29,16	40,35	29,99	26,43	56,35
20,35	28,41	39,79	30,32	25,91	56,57
20,75	27,65	39,19	30,54	25,33	56,86
21,11	26,73	38,32	31,07	24,91	57,08
21,58	25,37	37,89	31,23	24,51	57,26
22,26	23,90	37,52	31,39	24,07	57,46
23,25	22,46	36,99	31,65	23,60	57,78
26,07	19,37	36,40	32,02	23,28	57,95
29,82	15,16	35,84	32,42	22,80	58,24
		35,42	32,66	22,33	58,59
		34,90	33,07	21,83	58,90
		34,47	33,34	21,41	59,10
		34,00	33,66	20,78	59,58
		33,62	33,87	20,24	59,93
		33,11	34,27	19,92	60,10
		32,62	34,61	19,65	60,20
		32,14	34,85	19,26	60,38

31,57	35,39	18,85	60,39
30,94	35,98	18,53	60,53
30,18	36,72	17,97	60,91
29,72	37,02		
29,06	37,61		

**Tabela 2:** Dados da curva binodal para o sistema MOG (2 %, 20 % e 40 % AGL) (1), etanol hidratado 95 % (2) e hexano (3) a 40° C.

2 % AGL		20 % AGL		40 % AGL	
100w1	100w2	100w1	100w2	100w1	100w2
9,42	62,90	73,45	24,92	45,03	54,00
9,84	61,31	69,25	25,02	43,81	53,91
10,05	59,25	67,39	25,53	43,05	54,13
10,64	57,93	65,86	25,84	42,38	54,35
11,06	56,73	64,14	26,61	41,46	54,74
11,43	55,79	62,37	26,93	40,74	54,88
12,51	53,87	60,97	27,32	40,24	54,92
13,59	51,95	59,23	27,91	39,65	55,10
13,82	50,92	57,86	28,22	39,17	55,21
14,09	50,02	56,63	28,61	38,67	55,40
14,22	49,50	55,26	29,01	38,13	55,63
14,57	48,86	54,02	29,31	37,63	55,75
15,09	48,10	53,09	29,65	37,10	56,00
15,43	47,58	51,81	30,17	36,46	56,20
15,58	47,26	50,68	30,57	35,95	56,36
15,90	46,66	49,73	30,96	35,64	56,31
16,36	45,75	48,80	31,36	35,13	56,64
16,80	44,94	47,95	31,65	34,71	56,64
17,41	43,93	46,99	32,15	34,31	56,77
17,84	43,09	46,19	32,49	33,92	56,93
18,21	42,29	45,53	32,76	33,54	57,09
18,71	41,45	44,91	33,10	33,26	57,14
19,07	40,73	44,25	33,36	32,93	57,23
19,21	40,11	43,65	33,69	32,64	57,32
19,52	39,51	43,02	33,89	32,26	57,49
20,23	38,21	42,39	34,20	31,97	57,58
20,95	37,14	41,89	34,49	31,72	57,68
21,18	36,74	41,32	34,75	31,50	57,73
21,41	36,21	40,65	35,05	31,21	57,81
21,77	35,46	40,31	35,24	30,93	57,90
22,12	34,71	39,77	35,53	30,66	57,99
22,26	34,38	39,17	35,95	30,38	58,07
22,64	33,93	38,74	36,12	30,11	58,13
22,86	33,55	38,23	36,42	30,06	58,18
23,02	33,13	37,81	36,67	29,79	58,28
23,19	32,69	37,23	37,03	29,54	58,35
23,36	32,27	36,87	37,26	29,29	58,37
23,53	31,88	36,34	37,62	28,93	58,53
23,80	31,41	35,93	37,81	28,68	58,58
24,06	30,92	35,63	37,96	28,40	58,69
24,38	30,34	35,12	38,24	28,08	58,77
24,61	29,86	34,76	38,48	27,83	58,86
24,82	29,36	34,46	38,69	27,52	58,96
25,04	28,92	34,05	38,92	27,11	59,24
25,29	28,41	33,71	39,16	26,69	59,41
25,57	27,96	33,06	39,44	26,41	59,48
25,83	27,55	32,71	39,63	26,16	59,59
26,68	26,75	32,14	40,11	25,81	59,72
26,89	26,00	31,65	40,48	25,53	59,81
27,83	25,21	31,15	40,86	25,20	60,01

28,09	24,48	30,76	41,16	24,84	60,19
28,95	23,64	30,27	41,57	24,48	60,39
29,54	22,71	29,90	41,81	24,08	60,67
30,41	21,84	29,44	42,19	23,79	60,76
31,00	20,81	29,12	42,44	23,36	61,12
31,96	20,05	28,38	43,15	22,79	61,35
32,83	19,33	27,71	43,80	22,32	61,70
34,34	18,24	27,04	44,40	21,95	61,97
35,16	17,63	26,50	44,83	21,48	62,30
37,76	16,06	25,79	45,49	21,07	62,62
39,43	15,33	25,21	46,09	20,61	62,97
43,83	13,74	24,69	46,53	20,06	63,38
		24,16	47,01	19,49	63,92
		23,73	47,42	18,74	64,64
		23,23	47,91	17,98	65,29
		22,69	48,47	17,07	66,29
		22,16	49,06	16,05	67,32
		21,65	49,65		
		21,04	50,36		
		20,50	51,10		
		20,14	51,44		
		19,62	52,11		
		19,37	52,35		
		18,89	52,97		
		18,39	53,57		
		17,98	54,05		
		17,65	54,45		
		17,19	55,08		
		16,78	55,70		
		16,42	56,16		
		15,96	56,74		

**Tabela 3:** Dados da curva binodal para o sistema MOG (2 %, 20 % e 40 % AGL) (1), etanol hidratado 95 % (2) e hexano (3) a 45° C.

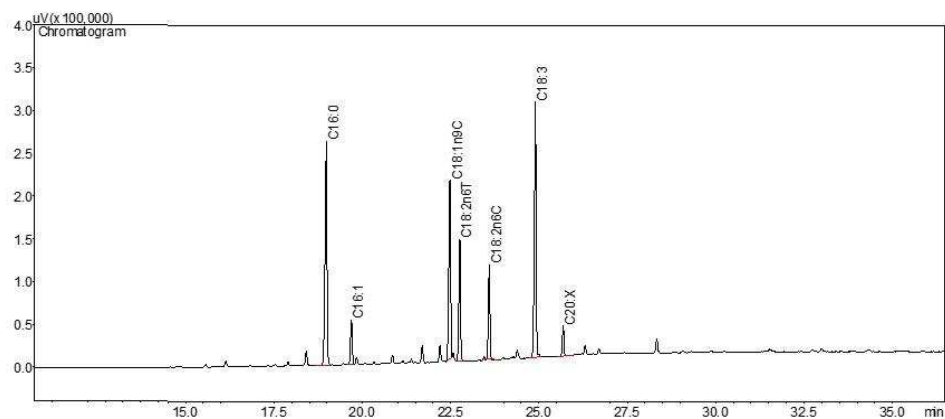
2 % AGL		20 % AGL		40 % AGL	
100w1	100w2	100w1	100w2	100w1	100w2
7,89	64,08	73,56	24,89	12,31	56,23
8,22	62,56	69,18	25,67	13,14	56,50
8,78	61,25	67,20	26,11	14,34	56,88
9,10	59,80	65,63	26,55	15,22	57,24
9,46	58,65	62,62	27,41	16,14	57,50
9,91	57,64	59,62	28,26	17,19	57,81
10,25	56,57	58,47	28,61	18,11	58,07
10,72	55,25	57,30	28,98	19,41	58,36
11,07	54,01	55,96	29,48	20,50	58,55
11,47	52,88	54,48	29,96	21,69	58,73
11,72	51,98	52,99	30,43	22,54	58,88
12,02	51,13	51,41	31,02	23,51	59,17
12,27	50,60	50,35	31,31	24,25	59,30
12,52	49,89	49,71	31,59	25,08	59,55
12,59	49,19	48,56	32,03	25,59	59,88
12,72	48,59	47,42	32,67	26,18	60,19
12,96	47,95	46,52	32,73	27,03	60,58
13,13	46,88	45,45	33,12	28,01	60,92
13,37	46,36	44,53	33,34	28,84	61,23
13,44	45,73	43,56	33,82	29,39	61,48
13,64	45,17	42,72	34,16	30,19	61,83
13,68	44,67	42,07	34,43	30,64	62,00

13,81	44,43	41,30	34,79	31,08	62,29
13,92	44,06	40,58	35,08	31,59	62,61
14,27	43,61	39,92	35,35	32,72	62,81
14,37	43,25	39,19	35,74	33,23	63,14
14,44	42,54	38,66	35,99	33,94	63,39
14,62	42,16	38,08	36,27	34,68	63,71
14,69	41,87	37,46	36,64	35,09	63,94
14,87	41,57	36,83	37,05	35,78	64,25
14,98	41,20	36,22	37,40	36,36	64,55
15,06	40,90	35,69	37,71	36,81	65,62
15,28	40,58	35,15	38,15		
15,59	40,14	34,68	38,41		
15,63	39,73	34,06	38,89		
15,80	39,46	33,48	39,33		
15,86	39,15	32,99	39,59		
16,05	38,81	32,31	40,13		
16,10	38,47	31,76	40,57		
16,29	38,07	31,24	40,94		
16,45	37,76	30,62	41,49		
16,56	37,39	30,17	41,79		
16,70	37,05	29,69	42,16		
16,80	36,72	29,13	42,67		
16,85	36,40	28,75	42,96		
16,88	36,15	28,15	43,49		
16,98	35,91	27,69	43,91		
17,06	35,67				
17,19	35,37				
17,24	35,11				
17,34	34,84				
17,43	34,63				
17,49	34,37				
17,59	34,11				
17,65	33,87				
17,73	33,69				
17,78	33,46				
17,83	33,26				
17,96	33,03				
18,00	32,78				
18,04	32,55				
18,10	32,38				
18,18	32,19				
18,23	31,95				
18,31	31,82				
18,35	31,65				
18,39	31,51				
18,45	31,33				
18,52	31,15				
18,58	30,97				
18,62	30,82				
18,69	30,66				
18,76	30,52				
19,07	30,22				
19,10	29,84				
19,22	29,57				
19,37	29,28				
19,50	28,99				
19,64	28,70				
19,79	28,43				
19,95	28,07				
20,08	27,73				
20,24	27,44				
20,39	27,17				
20,54	26,83				

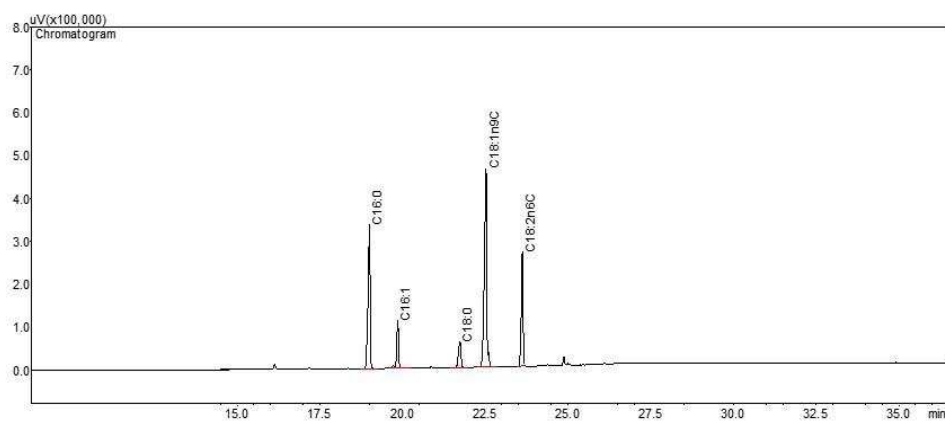
20,69	26,49
20,88	26,15
21,07	25,83
21,30	25,50
21,47	25,17
21,85	24,77
22,17	24,32
22,40	23,83
22,89	23,40
23,38	22,81
24,04	22,23
25,04	21,35
26,33	20,15
27,68	18,88
29,29	17,48
30,56	16,49
31,74	15,67
33,07	15,01
34,68	14,16
38,88	12,83

---

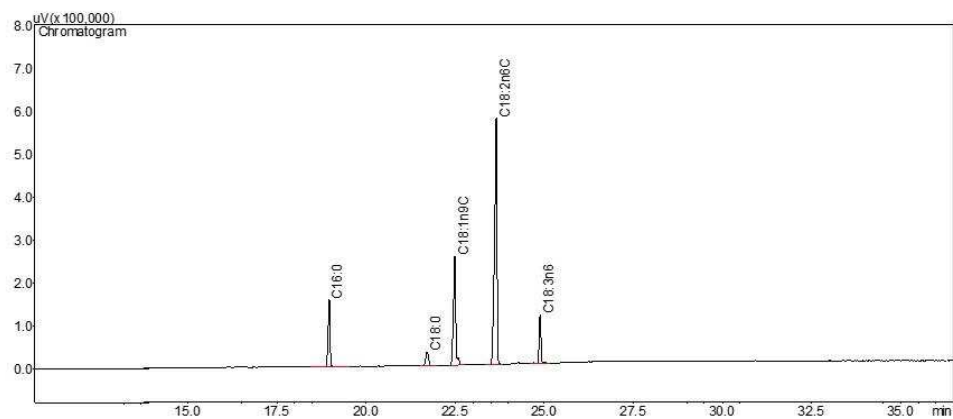
## ANEXO II - Cromatogramas



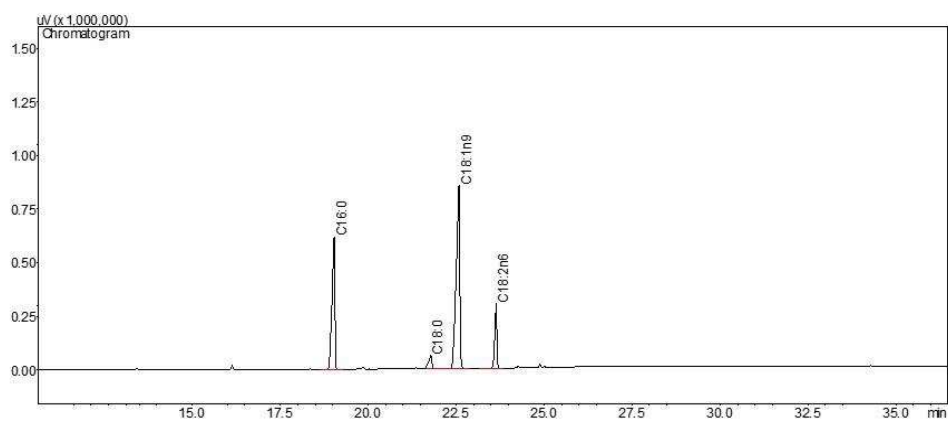
**Figura 1:** Cromatograma do óleo da microalga *Desmodemus communis*.



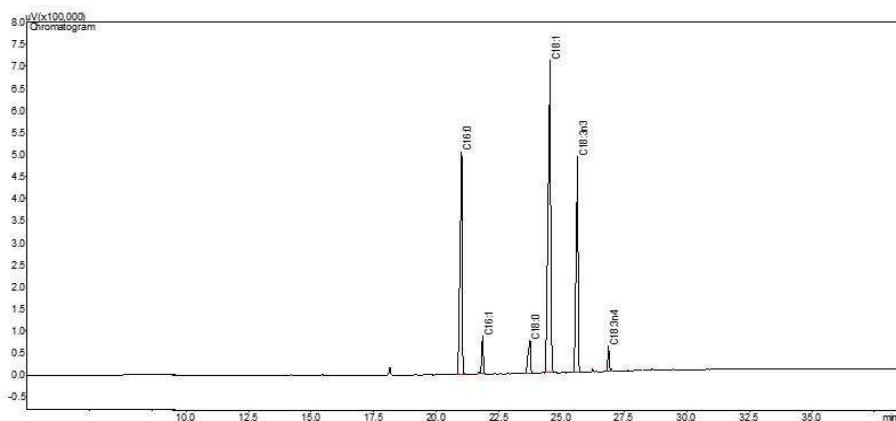
**Figura 2:** Cromatograma da gordura de frango extraída no Laboratório de Biocombustíveis da UFV.



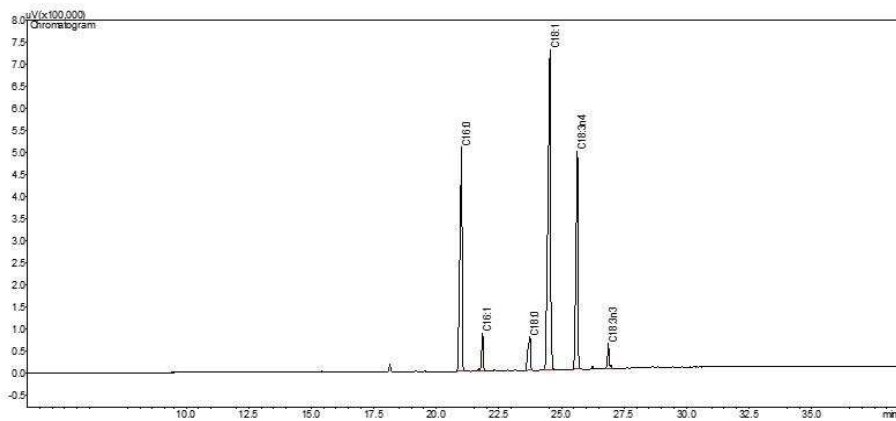
**Figura 3:** Cromatograma do óleo de soja comercial da marca Liza.



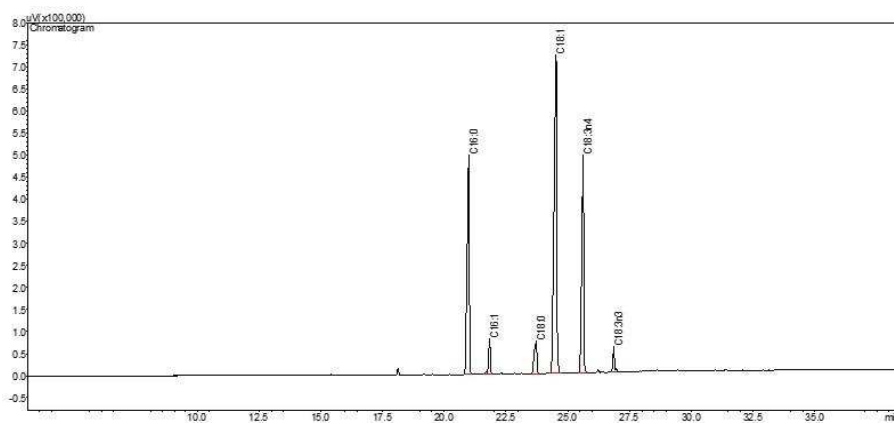
**Figura 4:** Cromatograma do óleo de dendê da marca Hammer.



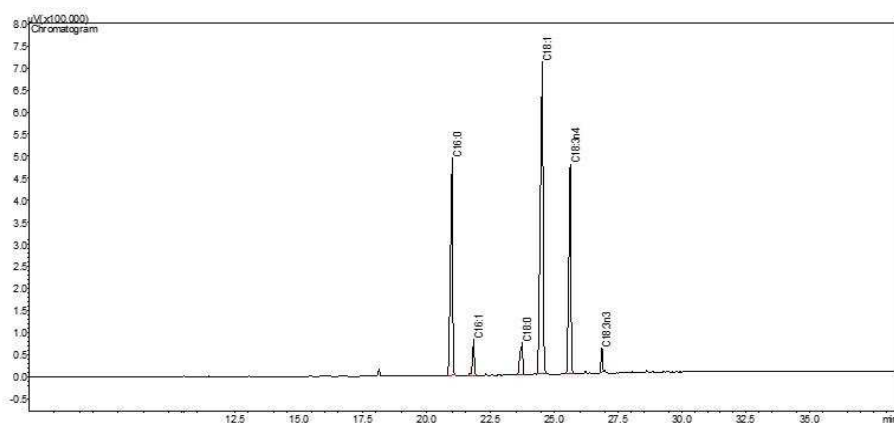
**Figura 5:** Cromatograma do óleo sintético da microalga *Desmodesmus communis* com acidez de 1-3%.



**Figura 6:** Cromatograma dos ácidos graxos livres (AGL) produzidos.



**Figura 7:** Cromatograma do óleo sintético da microalga *Desmodesmus communis* com acidez de 20%.



**Figura 8:** Cromatograma do óleo sintético da microalga *Desmodesmus communis* com acidez de 40%.