

## INFLUÊNCIA DO PRÉ-TRATAMENTO E DAS CONDIÇÕES DE PROCESSO NA EXTRAÇÃO SUPERCRÍTICA DE METABÓLITOS MICROALGAIS: UMA REVISÃO DE LITERATURA

Letícia Santos Batista Martins<sup>1</sup>; Ingrid Lessa Leal<sup>2</sup> Bruna Aparecida Souza Machado<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Bolsista; Iniciação científica – CNPq; Martinsleticiasbm@gmail.com

<sup>2</sup>Centro Universitário SENAI CIMATEC; Salvador-BA; ingrid.leal@fieb.org.br, brunam@fieb.org.br

### RESUMO

A extração de compostos microalgais segue em crescente. Tal ascensão se baseia sobretudo na composição lipídica e bioativa das microalgas. O uso de fluidos supercríticos constitui um método verde de extração de compostos, e usa solventes em estado supercrítico. As condições de pré processo e processamento influenciam diretamente sobre os resultados a serem obtidos. Dessa forma, o presente estudo tem como objetivo realizar uma revisão de literatura com enfoque na influência dos pré-tratamentos e condições de processo, tais como uso de solventes, co-solventes e variações de pressão e temperatura na busca pela eficiência extrativa de compostos de interesse em microalgas. Foram selecionados 10 artigos originais, que apresentaram *Nannochloropsis* e *Chlorella* como as principais microalgas estudadas, a redução de água em diferentes métodos como o pré tratamento mais usual, variação de temperatura entre 40 e 60 °C, pressão entre 100 e 750 bar; o CO<sub>2</sub> e o álcool aparecem como os solventes e co-solventes mais utilizados. A adoção de pré-tratamentos e condições adequadas de processo se mostraram cruciais para que houvesse êxito na extração e recuperação de metabólitos de interesse.

**PALAVRAS-CHAVE:** microalgas, pré-tratamento, extração supercrítica, compostos microalgais.

### 1. INTRODUÇÃO

As microalgas são microrganismos fotossintéticos encontrados de forma individual ou em colônias nos corpos aquáticos terrestres.<sup>1</sup> Com o advento da biotecnologia, a biomassa microalgal foi difundida como fonte de pigmentos e metabólitos, os quais agregam valor à bioprodutos variados.<sup>2</sup> O potencial uso desta biomassa é reflexo da sua alta produtividade, efetiva captura de carbono, elevado teor lipídico, bem como a possível integralização entre seus sistemas de cultivo e processamento.<sup>1</sup>

Os fluidos supercríticos são substâncias gasosas que ao obter um ponto máximo, adquirem caráter supercrítico, isto é, apresentam-se em uma fase entre o estado gasoso e o líquido.<sup>3</sup> O seu sucesso está intrinsecamente relacionado com o pré-tratamento da biomassa, e a escolha adequada das condições de processo.<sup>4</sup> Biomassas previamente tratadas ajudam na liberação de potenciais solutos de interesse e sua recuperação durante a extração.<sup>4</sup> Além disso, existe uma alta seletividade advinda dos tratamentos da amostra no processo antecedente à extração, o que favorece a especificidade desta.<sup>5</sup>

Um processo de extração por fluido supercrítico produtivo depende da seleção adequada dos parâmetros.<sup>6</sup> Sendo assim, buscou-se realizar uma revisão de literatura a partir de estudos que apresentam a extração por fluido supercrítico de metabólitos presentes nas biomassas microalgais, abordando os efeitos do pré-tratamento e das condições de processo na efetividade da extração.

### 2. METODOLOGIA

Este estudo constitui uma revisão bibliográfica a respeito da aplicação da extração por fluido supercrítico como um método de preservação dos metabólitos presentes nas biomassas microalgais. A coleta de dados foi realizada no período de 16 a 29 de março de 2021, e utilizou-se para a pesquisa as bases de dados Google Acadêmico (Google Scholar), Literatura Latino-Americana e do Caribe em Ciências da Saúde (LILACS) e National Library of Medicine (PUBMED), tendo como critério de inclusão: Artigos experimentais publicados no período entre 2015 e 2021; que apresentassem descritores como: microalgas, extração por fluido supercrítico, extração supercrítica e suas variantes em inglês. A pesquisa no Google Scholar, LILACS e PUBMED, resultou em 8.830, 1 e 3 artigos relacionados respectivamente, sendo selecionado um total de 10 artigos para o presente estudo.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.1 MICROALGAS

A aplicação de microalgas em processos industriais e a extração de seus compostos segue em crescente.<sup>5,9</sup> Tal ascensão se baseia na composição lipídica dos microrganismos sob meios específicos de cultivo, capacidade de reprodução ágil, alta eficiência de conversão energética em biomoléculas e as individualidades metabólicas das inúmeras espécies, sendo as mais prevalentes nos estudos em questão:

*Nannochloropsis* e *Chlorella* (Quadro 1).<sup>5,10</sup> Outrossim, as microalgas possuem a capacidade de fixar CO<sub>2</sub>, são fontes de antioxidantes, tais como astaxantina e a luteína, carotenóides, carboidratos, pigmentos, proteínas, vitaminas e variados compostos de potencial valor agregado.<sup>5,9,10,11,7</sup>

Quadro 1. Microalgas e principais condições processuais para extração por fluido supercrítico

Espécies de microalgas	Pré-processamento	Condições de processo	Solventes co-solventes	Referência
<i>Nannochloropsis marítima</i> <i>Nannochloropsis salina</i>	Secagem por fluxo de ar/ Secagem por anel	40 - 60 °C / 60 °C 100 - 300 / 300- 400 bar	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	4
<i>Spirulina spp.</i>	Secagem por fluxo de ar/Liofilização	40 - 60 °C 150,200,250,300 bar	CO <sub>2</sub>	5
<i>Chlorella sp.</i>	NA	40 - 60 °C 150-300 bar	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	9
<i>Chlorella vulgaris</i>	NA	40,80 °C aprox. 276, 621 bar	CO <sub>2</sub>	13
<i>Tetrademus Obliquus</i>	Liofilização/Dispersão de fase sólida de matriz com diatomáceas	40- 60°C 100-350 bar	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH/CH <sub>3</sub> OH/ C <sub>10</sub> H <sub>16</sub>	11
<i>Dunaliella salina</i>	Secagem por fluxo de ar/ secagem por fluxo de ar e microondas / liofilização	aprox. 60 °C 200 - 400 bar	CO <sub>2</sub> H <sub>2</sub> O	7
<i>Haematococcus pluvialis</i>	NA	50, 65 e 80 °C 100, 400, 550 bar	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	10
<i>Chlamydomonas sp.</i> <i>Tetraselmis chunii</i> <i>Nannochloropsis gaditana</i> <i>Chlorella sorokiniana</i>	Liofilização	80 °C 150 bar	CO <sub>2</sub> CH <sub>3</sub> OH	14
<i>Nannochloropsis oculata</i> <i>Chlorella vulgaris</i>	Liofilização	50 °C 250, 450, 750 bar	CO <sub>2</sub> C <sub>2</sub> H <sub>5</sub> OH	12
<i>Botryococcus braunii</i>	Despressurização rápida	40 °C 300 bar	CO <sub>2</sub>	8

Legenda: NA= Não se aplica; CO<sub>2</sub>= Dióxido de carbono; C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH= Etanol; CH<sub>3</sub>OH= Metanol; C<sub>10</sub>H<sub>16</sub>= Limoneno; H<sub>2</sub>O= Água.

### 3.2 CONDIÇÕES DE PRÉ PROCESSAMENTO

A liofilização, técnica de desidratação por sublimação foi a mais aplicada, apresentou alta seleção de extração dos carotenóides e preservou as estruturas celulares de *Spirulina*,<sup>5</sup> Ao ser aplicada como método preliminar à mistura da biomassa de *Tetrademus Obliquus* com diatomáceas, elevou o rendimento do extrato.<sup>5</sup> Em contraponto as secagens, se manejadas de forma intensiva, podem degradar pigmentos carotenóides.<sup>7</sup> Nesse sentido, deve-se analisar o teor de água das biomassas e elaborar curvas de secagem a fim evitar processos degradativos.<sup>7</sup> Sendo assim, o tempo e intensidade do processo precisam ser analiticamente avaliados para que não ocorra degradações indesejadas, visto que não é viável ter uma quantidade expressiva de extrato sem a garantia de preservação bioativa.<sup>4</sup> Outro método que visa preparar a biomassa é a despressurização rápida, a qual por meio da ruptura celular permite maior rendimento extrativo.<sup>8</sup> Em microalgas *Botryococcus braunii* a técnica permitiu um rendimento de clorofila dez vezes maior à amostra não tratada. Também houve uma preservação da atividade antioxidante, devido ao alto teor de carotenóides, clorofilas e tocoferóis.<sup>8</sup> De forma geral, observa-se a utilização de temperaturas brandas.<sup>7, 8</sup>

### 3.3 CONDIÇÕES PROCESSUAIS: TEMPERATURA, PRESSÃO, USO DE SOLVENTES E CO-SOLVENTES

No ponto crítico do solvente, a pressão e a temperatura se bem estabelecidas irão propiciar o aumento da densidade e solubilidade do fluido supercrítico.<sup>3</sup> Os estudos apresentaram variação de temperatura entre 40 e 80°C, pressão entre 100 e 750 bar. Na extração de lipídeos, a pressão teve um efeito mais significativo do que a temperatura.<sup>4</sup> Em *Nannochloropsis*, a pressão acima de 200 bar favoreceu a recuperação de carotenóides.<sup>4</sup> Enquanto que para a *Spirulina spp.* a temperatura exerceu influencia expressiva, à 40 °C favoreceu a recuperação de carotenóides totais e clorofila-a, porém não favoreceu a extração dos carotenóides nas temperaturas de 40 e 60 °C.<sup>5</sup> Assim como a *Spirulina spp.*, a *Chlorella sp.* também teve sucesso na extração de carotenóides e clorofila à 40 °C, mas em temperaturas próximas ou iguais à 60°C apresentou degradação de ambos.<sup>9</sup> Em suma, a temperatura se mostrou fundamental na extração de

carotenóides e clorofilas.<sup>5,9,10,8</sup> Assim como para a astaxantina e a luteína.<sup>10</sup> À pressão de 100 bar na temperatura de 40 °C foi extraída a menaquinona-7, homólogo da vitamina K12.<sup>11</sup>

O CO<sub>2</sub>, principal solvente utilizado pelos estudos (Quadro 1) demonstrou ter efetivo poder de solubilidade mediante aumento da pressão com temperatura constante, a situação inversa resultou na diminuição da capacidade solvente, e portanto o rendimento de carotenóides foi menor.<sup>11</sup> O co-solvente mais associado ao CO<sub>2</sub> foi o C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH (Quadro 1), sendo responsável por elevar a solubilidade da clorofila-a.<sup>9</sup> Ainda que o etanol tenha se mostrado eficaz, em *Haematococcus pluvialis* ao comparar a extração com ou sem C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH visando a preservação da astaxantina notou-se uma diminuição da pureza do composto, o que não aconteceu com a luteína, carotenóide. Por sua vez, o C<sub>10</sub>H<sub>16</sub> não influenciou na composição do extrato.<sup>11</sup> O uso da água como co-solvente resultou em melhora na extração de carotenóides em extratos de *Dunaliella*,<sup>7</sup> e na extração de clorofila-a de *Nannochloropsis*.<sup>4</sup>

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Por fim, os estudos revelaram expressiva influência das condições pré-processuais e processuais na preservação dos bioativos microalgais, se usados de forma específica para cada microalga. A liofilização foi o método pré-processual mais executado. A secagem por fluxo de ar ou anel também se mostrou usual, mas quando aplicada intensamente apresentou desnaturação de compostos; no processamento, as pressões e temperaturas se bem controladas indicaram potencializar a solubilidade/seletividade dos metabólitos; o uso de co-solventes foi positivo para a extração de determinados solutos, mas afetou a pureza de outros.

#### 4. REFERÊNCIAS

- <sup>1</sup>EMBRAPA. Microalgas. **Agroenergia em Revista**, Brasília, ano IV, ed. 10, p. 4-11, dez 2016.
- <sup>2</sup>SUPERCRITICAL Fluids Extraction of Valuable Compounds from Algae: Future Perspectives and Challenges. **Engineering Journal**, v. 22, ed. 5, p. 1-18, 30 set. 2018.
- <sup>3</sup>MAUL, Aldo *et al.* Extração por fluido supercrítico. In: SOCIEDADE BRASILEIRA DE FARMACOGNOSIA. **Revista Brasileira de Farmacognosia**. 2. ed. Curitiba: jan 1996. v. 5, p. 1-8.
- <sup>4</sup>MOUAHID, Adil *et al.* Selective Extraction of Neutral Lipids and Pigments from *Nannochloropsis salina* and *Nannochloropsis maritima* Using Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction: Effects of Process Parameters and Pre-treatment. **The Journal of Supercritical Fluids**, v. 165, p. 1-35, 1 nov. 2020.
- <sup>5</sup>FILÓCOMO, Diego. **OBTENÇÃO DE COMPOSTOS DE ALTO VALOR COMERCIAL A PARTIR DE BIOMASSA MICROALGAL POR EXTRAÇÃO COM FLUIDO SUPERCRÍTICO (EFS)**. 2015. 96 p. Dissertação - Universidade Federal Rural Do Rio De Janeiro, 2015.
- <sup>6</sup>WRONA, Olga *et al.* Selective Extraction of Neutral Lipids and Pigments from *Nannochloropsis salina* and *Nannochloropsis maritima* Using Supercritical CO<sub>2</sub> Extraction: Effects of Process Parameters and Pre-treatment. **JOURNAL OF AOAC INTERNATIONAL**, v. 100, n. 6, p. 1-11, 22 nov. 2019.
- <sup>7</sup>MOUAHID, Adil *et al.* Effects of high water content and drying pre-treatment on supercritical CO<sub>2</sub> extraction from *Dunaliella salina* microalgae: Experiments and modelling. **The Journal of Supercritical Fluids**, [S. l.], v. 116, p. 1-10, 14 jun. 2016. Disponível em: <https://www.journals.elsevier.com/the-journal-of-supercritical-fluids>. Acesso em: 25 mar. 2021.
- <sup>8</sup>UQUICHE, Edgar *et al.* Enhancement of pigment extraction from *B. braunii* pretreated using CO<sub>2</sub> rapid depressurization. **Brazilian Journal of Microbiology**, Chile, p. 1-9, 6 abr. 2016.
- <sup>9</sup>ABRAHAMSSON, Victor *et al.* Multicomponent inverse modeling of supercritical fluid extraction of carotenoids, chlorophyll A, ergosterol and lipids from microalgae. **The Journal of Supercritical Fluids**, p. 1-29, 3 maio 2018.
- <sup>10</sup>MOLINO, Antonio. Extraction of Astaxanthin and Lutein from Microalga *Haematococcus pluvialis* in the Red Phase Using CO<sub>2</sub> Supercritical Fluid Extraction Technology with Ethanol as Co-Solvent. **Marine Drugs**, Itália, p. 1-16, 3 nov. 2018.
- <sup>11</sup>CHRONOPOULOU, Laura *et al.* Extraction of Carotenoids and Fat-Soluble Vitamins from *Tetrademus Obliquus* Microalgae: An Optimized Approach by Using Supercritical CO<sub>2</sub>. **Molecules**, Itália, p. 1-14, 16 jul. 2019.
- <sup>12</sup>OBEID, Sara *et al.* Supercritical carbon dioxide extraction and fractionation of lipids from freeze-dried microalgae *Nannochloropsis oculata* and *Chlorella vulgaris*. **Algal Research - Biomass, Biofuels and Bioproducts**, Elsevier, 2018, 34, pp.49-56.
- <sup>13</sup>BAHADAR, Ali *et al.* Supercritical Fluid Extraction of Microalgae (*Chlorella vulgaris*) Biomass. In: **HANDBOOK of Marine Microalgae: Biotechnology Advances**. 1. ed.: Academic Press, 2015. cap. 21, p. 317-330.
- <sup>14</sup>ZOCCALI, Mariosimone *et al.* First Apocarotenoids Profiling of Four Microalgae Strains. **Multidisciplinary Digital Publishing Institute**, Itália, p. 1-9, 6 jul. 2019.