

RUI MIGUEL DE CARVALHO JÚNIOR



**DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE ENERGÉTICA DO PROCESSO
DE OBTENÇÃO DO BIODIESEL DE MICROALGA POR
METANÓLISE *IN SITU***

CURITIBA

2010

RUI MIGUEL DE CARVALHO JÚNIOR

**DESENVOLVIMENTO E ANÁLISE ENERGÉTICA DO
PROCESSO DE OBTENÇÃO DO BODIESEL DE MICROALGA
POR METANÓLISE *IN SITU***

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Engenharia da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Engenharia.

Orientador: Dr. José Viriato Coelho Vargas
Co-Orientador: Dr. Luiz Pereira Ramos

CURITIBA

2010

Dedico este trabalho principalmente a meu filho Caio Letty de Carvalho. A minha mãe Terezinha Koch, a minha irmã Daniella Koch e em especial a amiga e Professora Dra. Maria Bertilia Oss Giacomelli.

“Se você não der 110 por cento não vai chegar lá. Se quiser chegar a algum lugar vai ter que se virar sozinho, por que ninguém vai fazer nada por você”.

Lance Armstrong

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	vi
LISTA DE FIGURAS	viii
LISTA DE TABELAS	ix
LISTA DE ABREVIATURAS.....	x
RESUMO.....	xii
ABSTRACT	xiii
1 INTRODUÇÃO.....	1
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA.....	5
2.1 Biodiesel no Mundo.....	5
2.2 Biodiesel no Brasil.....	9
2.3 Síntese do Biodiesel.....	14
2.3.1 Transesterificação Homogênea Básica	18
2.3.2 Transesterificação Homogênea Ácida	20
2.3.3 Transesterificação <i>in situ</i>	23
2.4 Aplicações Tecnológicas das Microalgas.....	26
3 OBJETIVOS.....	39
3.1 Objetivos Específicos	39
4 DEFINIÇÃO DE MATERIAIS / EQUIPAMENTOS / PROCESSOS.....	40
4.1 Cromatografia Gasosa Acoplado à Espectrometria de Massas	40
4.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV)	41
5 MATERIAIS E MÉTODOS.....	42
5.1 Montagem dos experimentos	43
5.2 Identificação e Quantificação dos Produtos da Reação.....	46
5.2.1 Cromatografia Gasosa Acoplado à Espectrometria de Massas	46
5.2.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF)	47
5.2.3 Determinação do Índice de Iodo.....	47
5.2.4 Determinação do Índice de Saponificação	48
5.2.5 Determinação do poder calorífico superior (PCS) e inferior (PCI).....	48
5.2.6 Estimação das propriedades combustíveis do material obtido.....	49
5.3 Determinação da Eficiência Energética.....	50
6 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
6.1 Processos Investigativos.....	52

6.1.1	Extração com Solvente.....	52
6.1.2	Reação de Metanólise <i>in situ</i>	55
6.1.3	Estimação de algumas propriedades do biodiesel obtido.....	59
6.2	Caracterização de consumo de energia & Eficiência Energética	63
7	CONCLUSÕES E SUGESTÕES	72
7.1	Conclusões	72
7.2	Sugestões para trabalhos futuros	73
8	REFERÊNCIAS	75

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Dr. José Viriato Coelho Vargas, pela orientação, ensinamentos e paciência durante a elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Luiz Pereira Ramos, pela co-orientação, contribuindo significativamente com suas valiosas sugestões, bem como, o espaço físico, amizade e companherismo durante a execução deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Claudiney Cordeiro, pelo auxílio compartilhado durante este trabalho.

Ao Prof. Dr. Roberto Bianchini Derner, por disponibilizar sua estrutura física (Laboratório de Camarões Marinhos – UFSC/CCA) para a realização de um estágio durante o trabalho experimental.

Aos colegas de laboratório Arion Zandoná Filho, Rafael Marangoni, Fabiano Rosa da Silva, Ana Paula Pitarelo, Danielle Szczerbowski, Ricardo Brugnago, Marcus Brandalize, Luiz Bortolli Júnior e Wiviane Pereira Gomes pelo apoio, amizade e companheirismo ao longo destes dois anos de trabalho.

Aos colegas do LABPOL em especial a Márcia, Tatiane, Heveline, Angelo, Reinaldo e Simone.

Aos colegas do laboratório de camarões marinhos – UFSC/CCA/Departamento de Aqüicultura Engº Agrônomo Msc. Felipe do Nascimento Vieira, a mestrande em Engenharia de Aqüicultura Rafaela Gordo Correa e ao aluno de iniciação científica do curso de Engenharia de Aqüicultura Eduardo da Luz, por compartilharem seus conhecimentos.

A todos os amigos e colegas do Departamento de Química da UFPR por onde estive, principalmente ao Irineu, Fabio, Leandro, Edson, Dayne, Diogo, Alisson, Érica Rodrigo. Amigos para toda a hora.

A todos os colegas do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento de Energia Auto-sustentável (NPDEAS-UFPR), em especial ao Prof. Alberto Tadeu M. Cardoso aos alunos Vilson Locatelli, Luiz Francisco Corrêa Ghidini, Jonas Colen Torrens e Thiago de Carvalho Melo.

Ao Alexandre Becker do Grupo Integrado de Aquicultura e Estudos Ambientais da UFPR, por ter realizado o cultivo das microalgas bem como ter compartilhado seu conhecimento.

A todos meus familiares, em especial aos meus tios José Florencio Kock, Maria Irene e Souza Kock, Nereu Florêncio Kock e os meus primos Kelsner de Souza Kock, Solange de Souza Castelini, Kênia de Souza Kock, Luiza Kock Lacerda e Ana Carolina Tavares Kock.

Aos amigos que não poderia deixar de citar e que torciam pelo meu êxito, Ricardo Cunha, Marcos Oliveira, Giovani, João Carlos, Juliano, Lars, Alexandre, Marcio, Richard, José Luiz Piñeyrua, Elke Renate, André Piñeyrua, Cesar Alexandro e Rafael Tarozo que me apoiavam nos momentos de dificuldades, independente da distância.

À Coordenação e aos Professores do Programa de Pós-graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais (PIPE) da UFPR e a todas as pessoas que, de maneira direta ou indireta, fizeram parte integrante deste processo.

Ao Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento – LACTEC, pela realização do ensaio cromatográfico.

E ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq, pelo apoio financeiro cedendo à bolsa de mestrado.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 - Balanço Energético Nacional, 2008.	1
Figura 2 – Disponibilidade de Recursos Renováveis e Não Renováveis. Comparação Brasil X Mundo.	2
Figura 3 - Evolução da produção de Biodiesel nos E.U.A.	8
Figura 4 - Principais matérias-primas para produção de biodiesel no Brasil.	13
Figura 5 – Cultivo de microalga em Fotobioreatores fechados	14
Figura 6 – Equação geral da reação de transesterificação, sendo que, R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R ¹ a cadeia carbônica do álcool reagente .	15
Figura 7 – Mecanismo de transesterificação de catálise básica de óleos vegetais...	19
Figura 8 – Mecanismo da Reação de Saponificação dos monoésteres alquílicos	21
Figura 9 – Mecanismo de transesterificação homogênea catalisada por ácido.	22
Figura 10 – Diferentes espécies de microalgas - (a) <i>spirulina sp</i> ,(b) <i>Chlorella vulgaris</i> ,(c) <i>Haematococcus pluvialis</i> , (d) <i>Dunaliella Salina</i> ,(e) <i>Botryococcus braunii</i> , (f) <i>Phaeodactylum tricornutum</i> , (g) <i>Porphyridium cruentum</i>	31
Figura 11 – (a) Estrutura química da astaxantina, (b) Estrutura química do β – caroteno	32
Figura 12 – Vista área da empresa Cyanotech EUA, (Cyanotech, 2009).	32
Figura 13 – Sistema de extração soxhlet.	43
Figura 14 - Coluna cromatográfica de sílica gel	44
Figura 15 - Transferência da amostra para o topo da coluna cromatográfica	44
Figura 16 - Fração I na purificação dos lipídeos na coluna de sílica gel	44
Figura 17 - Fração IV na purificação dos lipídeos na coluna de sílica gel	44
Figura 18 – Reação de metanólise <i>in situ</i>	45
Figura 19 – Diagrama do Processo de obtenção dos monoésteres por metanólise <i>in situ</i>	52
Figura 20 – Purificação com coluna de sílica gel do óleo bruto.....	54
Figura 21 – Síntese de ésteres graxos por metanólise <i>in situ</i>	56
Figura 22 - Espectro no IV do material obtido por meio da metanólise <i>in situ</i>	56
Figura 23 - Espectro das dez amostras da reação de metanólise <i>in situ</i>	57
Figura 24 – Cromatograma (CG) da amostra da reação de metanólise <i>in situ</i>	58
Figura 25 - Perfil de ácidos graxos das matérias primas testados na estimação	60
Figura 26 - Número de cetano estimado (NC).....	61
Figura 27 - Viscosidade cinemática estimada	63

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Ranking dos maiores produtores de biodiesel na Europa	7
Tabela 2 – Evolução das empresas em operação na Argentina	9
Tabela 3 – Padrões de Qualidade do Biodiesel	16
Tabela 4 – Sequestro de carbono por floresta	28
Tabela 5 – Sequestro de carbono por microalgas.....	28
Tabela 6 – Comparação de algumas espécies produtoras de óleo.....	34
Tabela 7 – Resultados das extrações dos lipídeos de microalgas.....	53
Tabela 8 - Principais bandas no IV identificadas na amostra	57
Tabela 9 – Perfil graxo da amostra resultante da metanólise <i>in situ</i>	59
Tabela 10 – Base de cálculo para a massa molar média dos monoésteres	64

LISTA DE ABREVIATURAS

AIE – Agência Internacional de Energia

AGL – Ácido Graxo Livre

TG (s) – Triacilglicerídeo (s)

PNPB – Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel

pH – Potencial hidrogênico

CG-EM – Cromatografia gasosa acoplado a Espectro de Massas

IVTF – Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier

II – Índice de iodo

IS – Índice de saponificação

CG – Cromatografia gasosa

EM – Espectrometria de massas

He – Gás hélio

AOCS - American Oil Chemical Society

PCI – Poder calorífico inferior

PCS – Poder calorífico superior

NIST – National Institute of Standards and Technology

IPCC - Intergovernmental Panel on Climate Change

UV – Ultravioleta

EBB – European Biodiesel Board

NBB – National Biodiesel Board

CNPE – Conselho Nacional de Política Energética

CETEC – Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais

MDL – Mecanismo de Desenvolvimento Limpo

LACTEC – Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento

E.U.A – Estados Unidos da América

ASTM – American Society for Testing and Materials

DIN – Deutsches Institut für Normung

PIS - Programa de Integração Social

PASEP – Programa de Formação do Patrimônio do Servidor Público

CONFINS – Contribuição para Financiamento da Seguridade Social

RESUMO

As fontes de biocombustíveis derivados de culturas terrestres, tais como, soja e colza têm pressionado cada dia mais o mercado de alimentos, contribuindo também para a escassez de água potável e para a destruição das florestas no mundo. Neste sentido, as microalgas apresentam grande potencial em substituição a essas fontes, no que tange à produção de biodiesel, e várias vantagens em relação aos vegetais superiores, como por exemplo, maior seqüestro de CO₂ e maior rendimento de óleo por área cultivada. Estes produtos podem ser transformados em biocombustíveis e co-produtos valiosos. Desta forma, este trabalho teve como objetivo principal investigar a viabilidade energética de produzir biodiesel a partir de microalgas. Para isso foram testadas as microalgas *Nannochloropsis oculata*, *Phaeodactylum tricorutum* e *Thalassiosira fluviatilis*, sendo que todas as espécies foram cultivadas com o meio Guillard F/2 e fotoperíodo natural, ou seja, sem luz artificial. Depois de atingida a fase estacionária de cultivo, foram então floculadas para posteriormente serem secas, sendo neste processo utilizada a secagem por aspersão (“spray drying”) para as espécies *Nannochloropsis oculata* e *Phaeodactylum tricorutum* e secagem em estufa para a espécie *Thalassiosira fluviatilis*. Com a biomassa microalgal seca, foram realizados ensaios de extração de lipídeos utilizando como solventes álcool etílico ou hexano, em um extrator do tipo “soxhlet”, variando-se apenas o tempo de extração de 6 horas e 24 horas com ambos os solventes. A reação de transesterificação foi realizada em laboratório utilizando um balão de 500 mL sendo este aquecido em banho de glicerina até a temperatura desejada (80 °C), no entanto, esta reação foi realizada apenas com a espécie *N. oculata*, tendo a adição da mistura de metanol:ácido clorídrico:clorofórmio (10:1:1, v/v/v) diretamente na biomassa seca (2g de microalga), ou seja, *in situ*, com agitação constante, temperatura de 80 °C e 2 horas de reação. Foram utilizadas a técnica de espectroscopia na região do infravermelho com transformada de Fourier (IVTF) e cromatografia gasosa acoplada com espectroscopia de massas para caracterizar os produtos obtidos. As propriedades físicas tais como poder calorífico, índice de iodo, índice de saponificação, viscosidade cinemática e número de cetano foram determinadas com o intuito de caracterizar o produto da reação como possível biocombustível. Além dessas propriedades, a eficiência energética do processo de obtenção dos ésteres também foi avaliada. Por meio da técnica de IVTF foi possível identificar as principais bandas de absorção de ésteres, sendo encontradas na região de 1741 cm⁻¹ (C=O), 1168-1243 cm⁻¹ (C – O), além das bandas características de deformações axiais e angulares de C – H em 2921, 1461, 1377, 719 cm⁻¹. Com a realização da análise de cromatografia gasosa acoplada com a espectroscopia de massas, foi possível identificar os principais ácidos graxos contido nos triacilglicerídeos da microalga testada, tendo um percentual de aproximadamente 60% ácidos graxos insaturado e 40% ácidos graxos saturado. Com estes dados foi possível estimar as propriedades como biocombustível deste material, tendo como parâmetros as normas ANP 07, ASTM e EN/DIN, onde apenas em relação a viscosidade cinemática (ASTM e EN/DIN) os monoésteres obtido encontraram-se fora do estabelecido, no entanto, respeitando a norma nacional (ANP 07). Em relação a eficiência energética, este processo demonstrou uma eficiência bioenergética, tendo a liberação de energia de aproximadamente 40%, ou seja, *output* superior ao *input*.

Palavras chave: Biodiesel, microalga, metanólise *in situ*.

ABSTRACT

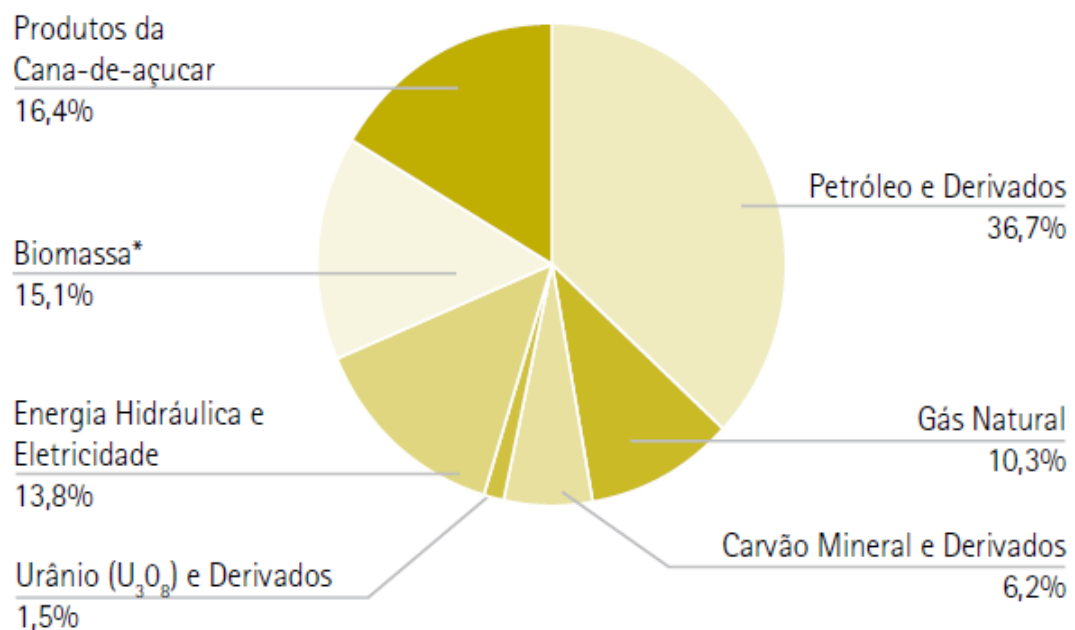
However, the sources of biofuels derived from food crops, such as soybean and rapeseed have increasingly pressed the food market, which also contributes to fresh water scarcity and destruction of forests in the world. In this sense, the algae have great potential to replace those sources with respect to the production of biodiesel, and several advantages over the higher plants, such as increased sequestration of CO₂ and higher oil yield per area cultivated. These products can be transformed into biofuels and valuable co-products. Thus, this study aims to investigate the feasibility of producing biodiesel from microalgae. For that, the microalgae *Nannochloropsis oculata*, *Phaeodactylum tricornutum* and *Thalassiosira fluviatilis* were tested, and all species were grown in medium Guillard F/2, under natural photoperiod, i.e., without artificial light. After reaching the stationary phase of cultivation, they were then flocculated for later drying, and the process used spray drying for *Nannochloropsis oculata* and *Phaeodactylum tricornutum* and greenhouse drying for *Thalassiosira fluviatilis*. From the dry microalgal biomass, lipid extraction tests were performed using solvents such as ethanol or hexane in a soxhlet extractor type, varying only the extraction time from 6 to 24 hours with both solvents. The transesterification reaction was carried out in the laboratory using a 500 mL flask which is heated in glycerin until the desired temperature (80 °C), however, this reaction was performed only with the species *N. oculata*, with the addition of methanol: hydrochloric acid: chloroform (10:1:1, v / v / v) directly on the dry biomass, ie, *in situ*, with constant stirring, temperature of 80 ° C and 2 hours duration. The Fourier Transform-Infrared Spectroscopy (FTIR) technique and gas chromatography coupled with mass spectroscopy were utilized to characterize the products obtained. Physical properties such as heating value, iodine value, saponification number, kinematic viscosity and cetane number were determined in order to characterize the reaction product as a possible biofuel. Besides these properties, the energetic efficiency of the process for obtaining the esters was also evaluated. By means of FTIR technique was possible to identify the main absorption bands of esters, being found in the region of 1741 cm⁻¹ (C = O), 1168-1243 cm⁻¹ (C - O), besides the characteristic bands of deformation axial and angular C - H in 2921, 1461, 1377, 719 cm⁻¹. With the analysis of gas chromatography coupled with mass spectroscopy, it was possible to identify the major fatty acids contained in triglycerides from the microalgae tested, with a rate of approximately 60% unsaturated fatty acids and 40% saturated fatty acids. With these data it was possible to estimate the properties of this material as biofuel, taking as parameters the NPA norms in 2007, ASTM and EN / DIN, where only for the kinematic viscosity (ASTM and EN / DIN) obtained from the monoesters were found outside the established resource. However, respecting the national standard (ANP 2007). For efficiency, this process demonstrated a bioenergetic efficiency, and the energy release of about 40%, ie, output exceeds the input.

Keywords: Biodiesel, microalgae, methanolysis *in situ*.

1 INTRODUÇÃO

A expectativa da redução das reservas de petróleo, bem como a crescente preocupação com a preservação ambiental vem incentivando a substituição do petróleo por combustíveis alternativos. Isto ocorre, em virtude do aumento no nível de poluentes, principalmente os causadores do efeito estufa, em sua maioria proveniente das emissões de veículos que utilizam combustíveis fósseis.

A principal característica da matriz energética brasileira reside na elevada porcentagem de energia renovável (Figura 1), com aproximadamente 45 % proveniente de fontes renováveis [1]. No Brasil uma grande parcela da matriz energética é representada pelos biocombustíveis, sendo em sua maioria o álcool combustível produzido a partir da cana-de-açúcar.



Nota:* Inclui lenha, carvão vegetal e outros renováveis

Figura 1 - Balanço Energético Nacional, 2008.

Fonte [1].

Desta forma, o país apresenta grande possibilidade de se firmar como um dos líderes mundiais no setor de energia, principalmente, pelo potencial hídrico e

auxiliado por um forte programa de combustíveis alternativos liderado pelo bioetanol obtido a partir da cana-de-açúcar [2]. Esta, por sua vez, ocupa a segunda posição entre as principais fontes de energia primária no país, atrás apenas do petróleo e seus derivados [1].

As fontes fósseis têm uma participação próxima de 86% do total da energia consumida mundialmente, cabendo ao petróleo um percentual de 37,2 %, ao carvão mineral 27,6 % e ao gás natural 21,2 %. Os 14 % restantes estão representados pela geração termo-nuclear 7,9 %, biomassa 3,2 %, hidroelétrica 2,3 % e demais fontes com apenas 0,6 % [3]. Deste ponto de vista, o Brasil está em destaque, no que diz respeito a energias renováveis. Conforme na Figura 2¹ [4], o país é um importante utilizador deste tipo de energia, compondo 45 % de sua matriz, enquanto que no mundo este valor não ultrapassa 14 %. Nos Estados Unidos, por exemplo, este percentual é de apenas 4,3 % e na Inglaterra de 1,1 % [5].

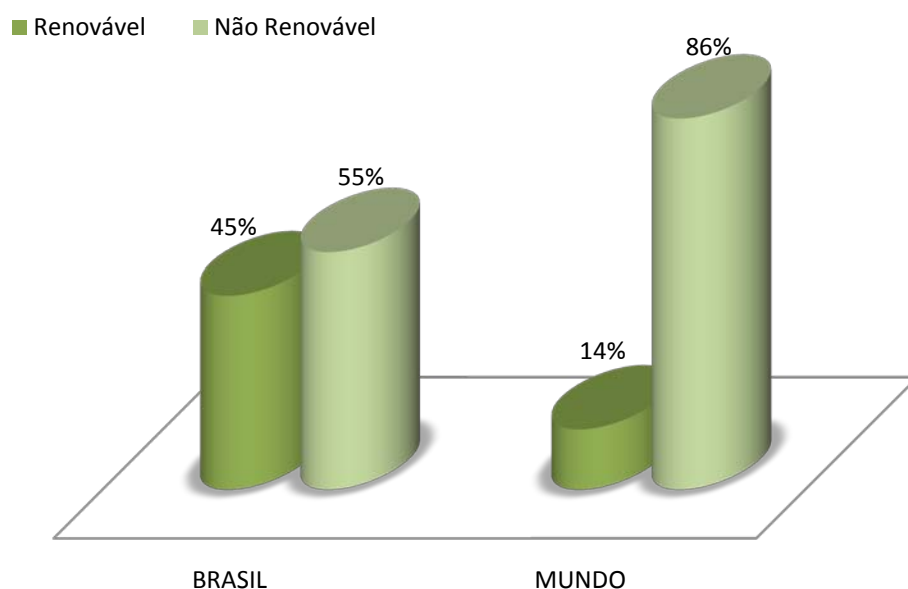


Figura 2 – Disponibilidade de Recursos Renováveis e Não Renováveis. Comparação Brasil X Mundo.

Fonte [4].

¹ GOMIDE, R.B. Biocombustíveis na Matriz Energética Brasileira. Ministério de Minas e Energia. Departamento de Combustíveis Renováveis.

Assim, face às prioridades dadas atualmente ao petróleo, carvão e gás [6], existe a necessidade de um substituto energético aos combustíveis fósseis, visto que as reservas petrolíferas rumarão para o esgotamento. Além disso, é de se prever que na medida que as reservas forem ficando escassas o preço do petróleo ficará tão elevado, que sua utilização como combustível não será mais conveniente, fazendo-se, necessária a obtenção de recursos energéticos alternativos.

Desta forma, seja pelos efeitos negativos causados ao meio ambiente ou esgotamento das reservas de combustíveis fósseis, o desenvolvimento de fontes energéticas alternativas se faz imprescindível. Atualmente, inúmeras pesquisas sugerem a utilização de biomassa para fins energéticos, principalmente, como combustíveis [7, 8, 9]. Estudos já apontam que a utilização da biomassa para fins energéticos tem uma participação crescente na matriz energética mundial, com a estimativa de que até o ano de 2050, o uso mundial de biomassa disponível deverá dobrar [10].

A utilização de biocombustíveis líquidos derivados de triacilglicerídeos é uma alternativa para a substituição parcial ou total do diesel de petróleo. Por definição, o biodiesel é um substituto natural do diesel de petróleo, que pode ser produzido pela transesterificação de triacilglicerídeos ou esterificação de ácidos graxos livres, mediante a utilização de um álcool de cadeia curta e um catalisador homogêneo ou heterogêneo [9,11,12].

A utilização de biodiesel pode oferecer diversas vantagens, entre estas, sociais e econômicas. Atualmente a produção mundial de biodiesel se concentra em utilizar apenas óleos vegetais de plantas superiores e ou gorduras animais. Porém, a crescente projeção para o consumo do biodiesel no mundo eleva o interesse na busca por novas fontes oleaginosas, na qual, associadas com as tecnologias

existentes auxiliarão a viabilizar esta demanda. Dentro disto é preciso avaliar as extensões de terras agricultáveis disponíveis, sob pena de haver conflito com a produção de alimentos, escassez de água e adubo.

A produção de biodiesel a partir de microalgas é uma alternativa a atual produção de biocombustíveis a partir de plantas superiores . As microalgas podem ser uma solução ideal, tendo em vista duas de suas principais funções: maior taxa de sequestro CO₂ quando comparado com plantas superiores, sendo esta fonte de carbono utilizada na biossíntese de lipídeos, os quais serão convertidos a biodiesel; e, ainda não competem com terras aráveis, sendo o espaço para o cultivo das microalgas destinado apenas como suporte. A grande dificuldade neste processo está por conta da separação da biomassa do meio de cultivo e a extração eficiente do óleo produzido, isto é, de forma economicamente e energeticamente viável, como encontrado neste trabalho.

Assim, esta dissertação versa sobre a viabilidade energética de produção de monoésteres alquílicos a partir de microalgas, visando à produção de biodiesel. Desta maneira, esta contém oito capítulos, incluindo a introdução, subseqüentemente no segundo capítulo uma revisão de literatura, sendo expostos conteúdos sobre transesterificação homogênea ácida, básica e *in situ*, além de conceitos básicos sobre biodiesel e microalgas. No capítulo três são expostos os objetivos deste trabalho, posteriormente sendo apresentados nos capítulos 4 e 5 definições de alguns materiais/equipamentos/processos utilizados neste estudo e os materiais e métodos, respectivamente. Este trabalho é finalizado com os capítulos 6, 7 e 8, apresentando os resultados e discussão, conclusões e referências.

2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

2.1 Biodiesel no Mundo

A introdução do aproveitamento de óleos, gorduras e seus derivados, foi realizada no final do século XIX, quando Rudolph Diesel, inventor do motor à combustão interna que leva seu nome, utilizou em seus ensaios petróleo cru e óleo de amendoim² [13]. Por razões da época estes deram lugar ao diesel de petróleo.

No entanto, cita-se, como um marco na história dos biocombustíveis líquidos, a data de 31 de agosto de 1937, data em que foi realizado o depósito da patente do pesquisador belga Charles George Chavanne, "*Procédé de transformation d'huiles végétales en vue de leur utilisation comme carburants*"³, visando à transformação de um óleo vegetal em monoésteres metílicos e etílicos de ácidos graxos [13]. Nessa mesma época, outros países desenvolveram pesquisas. Por exemplo, o Instituto Francês do Petróleo realizou em 1940 diversos testes utilizando a tecnologia belga para produção de biodiesel a partir de óleo de dendê e etanol, com resultados extremamente satisfatórios [14]. Já pesquisadores americanos desenvolveram um processo utilizando catalisadores ácidos seguidos de catalisadores básicos, para evitar a formação de sabões e viabilizar a transformação de óleos brutos, com altos índices de acidez, diretamente em biodiesel [15]. A China, por exemplo, utilizou o craqueamento do óleo de tungue no período de guerra para obtenção de combustíveis para substituir a gasolina e o diesel [13].

Desde então, as pesquisas apontam certo interesse no desenvolvimento de novos insumos básicos, de caráter renovável, para a produção de combustíveis que possam substituir os derivados de petróleo. Atualmente, os benefícios existentes na

² Shay, E. G.; *Biomass Bioenerg.*,4, 227,1993.

³ Chavanne, G.; *BE* 422, 877, (CA 1938, 32, 4313), 1937.

produção e utilização de biodiesel, aliados à necessidade dos países desenvolvidos de reduzir suas taxas de emissões de CO₂, constituem a verdadeira força motriz para a produção e consumo de combustíveis mais limpos.

O principal mercado produtor e consumidor de biodiesel em grande escala, atualmente, é a União Européia, representada principalmente pelo European Biodiesel Board – EBB, sendo a Alemanha a maior produtora mundial, seguida pelos Estados Unidos da América, França, Argentina e Brasil [17]. Sobre a produção de biodiesel no mundo, relatórios da EBB dão maior destaque à produção de biodiesel nos Estados Unidos e ao programa nacional de biodiesel brasileiro, pela sua capacidade de expansão. Também é relatado, com menor destaque, novos investimentos na Malásia, Austrália, Canadá, ente outros países [17].

Na Europa, o volume de produção chegou em 2008 a 7,76 milhões de toneladas de biodiesel [17], registrando um aumento de 35,7 % em relação ao ano anterior. Para o final de 2009, estima-se que foram produzidos mais de 20,56 milhões de litros [17].

Conforme pode ser observado na Tabela 1, as plantas de biodiesel instaladas ao longo do território europeu, as quais estão majoritariamente na Alemanha, França, Itália, Bélgica e Polônia, foram capazes de produzir um total aproximado de 5,8 milhões de toneladas de biodiesel em 2008. A Alemanha sendo o maior produtor de biodiesel é responsável por 36 % da produção mundial [17]. Já nos Estados Unidos, existem atualmente 87 plantas instaladas, das quais 13 estão expandindo suas operações, e 65 plantas se encontram em construção [18].

A utilização do biodiesel na Europa começou a partir de 1991, como consequência de uma política agrícola comunitária, que ofereceu subsídios para a produção agrícola não-alimentar, com o que se buscava descongestionar os

mercados de alimentos, saturados pelos generosos subsídios agrícolas. A Alemanha se encontra em plena utilização do biodiesel como combustível.

Tabela 1 - Ranking dos maiores produtores de biodiesel na Europa

País	Produção 2008 (milhões de Ton.)	Cap. Produção 2009 (milhões de Ton.)
Alemanha	2,82	5,20
França	1,82	2,51
Itália	0,60	1,91
Bélgica	0,28	0,71
Polónia	0,28	0,58
Portugal	0,27	0,47
Áustria	0,21	0,71
Espanha	0,21	3,76
Reino Unido	0,20	0,61
Outros	1,10	4,22
Total	7,76	20,56

Fonte: [19], Adaptado pelo autor.

Nos últimos anos a produção alemã aumentou e passou a representar 52 % de toda a produção europeia. Em 2007, a produção expandiu 16,8 % em relação a 2006 [4].

O estado de Niedersachsen é pioneiro na produção deste biocombustível, sendo que em 2004 foram vendidos mais de 34,9 milhões de litros deste combustível nos postos desse território [20]. O estado de Baviera possui aproximadamente 357 postos, o que lhe confere o primeiro lugar em número de postos no mundo. Em segundo lugar encontra-se o estado de Westfália, com 350 postos [19].

Já nos Estados Unidos, a utilização do biodiesel passou a tornar-se de interesse a partir da motivação americana em melhorar a qualidade do meio ambiente. Com isso, o programa de incentivo à utilização do biodiesel visava à sua utilização nas grandes cidades e nos ônibus escolares.

As normas regulamentadoras nos E.U.A são definidas pela American Society for Testing and Materials (ASTM), sendo o marco regulatório dado pela ASTM PS

121-99. Em dezembro de 2001, foi aprovada a norma ASTM completa para o biodiesel, com a nova designação de D-6751 [18].

Esta norma abrange o biodiesel puro (B100), para mistura com petrodiesel em níveis de até 20 % em volume [18], o que justifica o significativo aumento da sua produção no país, conforme pode ser observado na Figura 3. Sendo que a capacidade total de produção de biodiesel atingiu, em 2008, 2.649,8 milhões de litros [18].

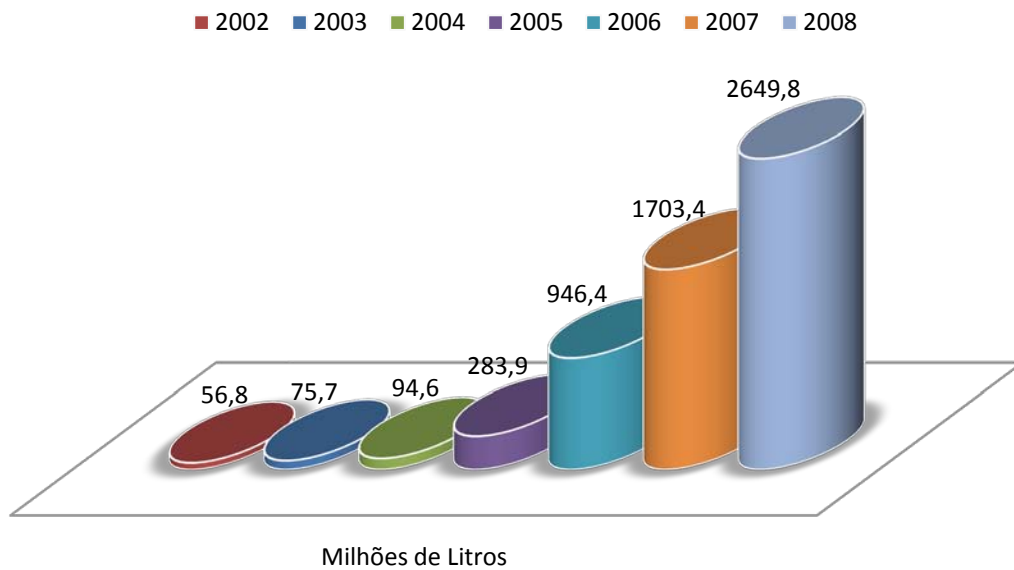


Figura 3 - Evolução da produção de Biodiesel nos E.U.A.

Fonte:[18], Adaptado pelo autor.

Na Argentina o programa de biodiesel iniciou com o estabelecimento da Resolução 129/2001. Posteriormente, foi criado o Decreto Governamental 1.396 de novembro de 2001, que isenta os impostos por 10 anos de toda a cadeia produtiva do biodiesel [21]. Praticamente toda a produção de biodiesel Argentina é exportada para a União Européia, seu principal mercado consumidor, porém, o mercado interno deve crescer de forma significativa a partir de 2010, quando entrará em vigor a “lei

26.093 de 2006”, a qual determina a adição de pelo menos 5 % de biodiesel no diesel de petróleo [21].

Em 2010 cerca de 650 milhões de litros de biodiesel deverão ser produzidos, sendo que até 2023 são esperados cerca de 1090 milhões de litros [6]. A implantação de várias fábricas de biodiesel na Argentina comprova o interesse dos usuários pelos combustíveis alternativos, conforme pode ser observado na Tabela 2.

Tabela 2 – Evolução das empresas em operação na Argentina

Empresa	2006	2007	2008
Vicentin	48.000	48.000	48.000
Biomadero S.A.	30.000	30.000	30.000
Pitey S.A.	30.000	30.000	30.000
Soyenergy S.A.	24.000	24.000	24.000
Advanced Organic Materials S.A.	16.000	16.000	70.000
Biodiesel S.A.	7.000	7.000	7.000
Renova S.A.		200.000	200.000
Ecofuel S.A.		200.000	200.000
Energia Sanluisena Refineria Arg. S.A.		30.000	30.000
LDC Argentina S.A.			300.000
Unitec Bio S.A.			200.000
Explora			120.000
Molinos Rio de la Plata S.A.			100.000
Diferoil S.A.			30.000
Ricard Set Energias Renovables S.A.			18.000
Hector Bolzan & Cia. S.A.			7.200
Energias Renovables Argentinas S.A.			6.500
B.H. Biocombustibles SRL			4.000
Total anual da capacidade de produção (em toneladas)	155.000	585.000	1.424.71

Fonte: [21], adaptado pelo autor.

2.2 Biodiesel no Brasil

Segundo a Agência Internacional de Energia (AIE), a produção global de biodiesel cresceu 295 % entre 2000 e 2005 [22] e, ainda assim, há uma tendência crescente de substituição dos combustíveis fósseis pelos biocombustíveis. A AIE

estima que até 2030 a participação dos biocombustíveis nos transportes rodoviários será de aproximadamente 7 %, enquanto que em 2004 era de apenas 1 %.

As principais forças motrizes para a crescente popularidade dos biocombustíveis estão relacionadas aos preços elevados e inconsistentes do petróleo, além das incertezas e os perigos da geopolítica deste recurso fóssil. Estes, por sua vez estão situados em sua maioria em regiões de instabilidade política e, ainda, apontam com a imprescindível eliminação gradual dos combustíveis fósseis, a fim de reduzir as emissões de gases de efeito estufa [23].

Como base da estratégia energética, muitos países tem focado seus esforços na busca por fontes de energia renováveis, tanto para minimizar os custos de energia, bem como para obter auto-suficiência em sua matriz energética [24].

No Brasil, a questão do uso dos biocombustíveis começou a ser discutida pelo governo federal nas décadas de 70 e 80, durante as crises do petróleo, quando foi criado o PROÁLCOOL [25] e o Plano de Produção de Óleos Vegetais para Fins Energéticos (PRO-ÓLEO) [26], o que resultou na Resolução nº 007 de 22 de outubro de 1980, da Comissão Nacional de Energia. Esta previa a regulamentação da mistura de 30 % de óleo vegetal ou derivado deste, no óleo diesel, e uma substituição integral em longo prazo. O objetivo deste Programa foi gerar um excedente significativo de óleo vegetal capaz de tornar seus custos de produção competitivos com os do óleo mineral.

Neste período foi solicitada a primeira patente sobre biodiesel no Brasil, que trata da obtenção de sucedâneo vegetal para combustíveis fósseis pelo processo de transesterificação, destacando-se os estudos da Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais (CETEC), em parcerias com a Universidade Federal do Ceará e da UNICAMP [13].

No entanto, com a queda do preço do petróleo, o trabalho desenvolvido pela Comissão Nacional de Energia foi abandonado na metade da década de 80. Mesmo assim, alguns cientistas prosseguiram com as pesquisas.

No final do século XX, as universidades e os centros de pesquisa em parceria com o Governo Federal efetuaram alguns estudos para a retomada do uso de biodiesel. Sendo que em 2002, a etanólise de óleos vegetais foi considerada como a rota principal para um programa de substituição do diesel de petróleo nomeado na Portaria MCT nº 702, de 30 de outubro de 2002, como PROBIODIESEL. Embora possua limitações tecnológicas quando comparada à metanólise [27, 28], a etanólise do óleo de soja foi a rota escolhida, devido à grande produção de álcool etílico no Brasil [29].

Posterior a estes estudos, foi criado o marco regulatório com a Lei nº 11.097, publicada em 13 de janeiro de 2005, introduzindo o biodiesel na matriz energética brasileira. Esta Lei tinha por iniciativa a introdução gradual do biodiesel na composição do combustível brasileiro, começando com 2 % (B2) em 2008 até chegar a 5 % (B5) em 2013. No entanto, estas metas foram alteradas, sendo que desde julho de 2009, estava sendo comercializado em todo o território brasileiro o B4 (4 % de biodiesel), sendo esta regra estabelecida pela Resolução nº 2/2009 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada no Diário Oficial da União (DOU) em 18 de maio de 2008, que aumentou de 3 para 4% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel. E a partir de janeiro de 2010 foi introduzido o B5 (5 % de biodiesel), antecipando em 3 anos a meta inicialmente proposta. A contínua elevação do percentual de adição de biodiesel ao diesel pode demonstrar o sucesso do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB).

No entanto, o PNPB foi concedido com o objetivo central de incentivar a agricultura familiar pelo sistema de benefícios fiscais. Assim, foram instituídas algumas regras tributárias referentes às contribuições federais (PIS/PASEP e COFINS) estabelecidas pela Lei nº 11.116, de 18 de maio de 2005, e os Decretos nº 5297, de 6 de dezembro de 2004, e nº 5457, de 6 de junho de 2005.

Para garantir o desenvolvimento regional e sócio-econômico, foram criados dispositivos para reduções desses impostos. Foram estabelecidos três níveis distintos de desoneração tributária para produtores de biodiesel que obtenham matéria prima das seguintes regiões: (i) 50 % das regiões Nordeste e Semi-Árido, (ii) 10 % das regiões Norte e Centro Oeste e (iii) 30 % das regiões Sudeste e Sul.

A Política brasileira para o biodiesel atribuía objetivos louváveis de promover a inclusão social e o desenvolvimento regional. No entanto, verificou-se que a falta de incentivos, aliada a formação técnica deficiente, dificultaram o êxito do programa. Assim, pode ser observada a predominância da soja como matéria-prima frente a outras oleaginosas (Figura 4) representando mais de 80 % da produção nacional. Podendo este ser um indicador inicial, o qual ameaça a sustentabilidade ambiental do Programa, uma vez que a soja é uma oleaginosa cultivada em grandes escalas e na monocultura, e ainda tendo seu preço controlado pelo mercado global, por ser uma commodity.

A maior parte da capacidade de produção de biodiesel autorizado está instalada no Centro-Oeste do país, sendo que nas regiões Nordeste e Norte, há poucos produtores de grande porte, o que não está em conformidade com a inclusão social do PNPB, sendo estas regiões as quais apresentam o menor índice de desenvolvimento. Esta realidade coloca em questão vários aspectos da sustentabilidade social do programa, tais como a capacidade dos agricultores

familiares para negociar preço justo para seu produto e ter autonomia para planejar suas colheitas [30].

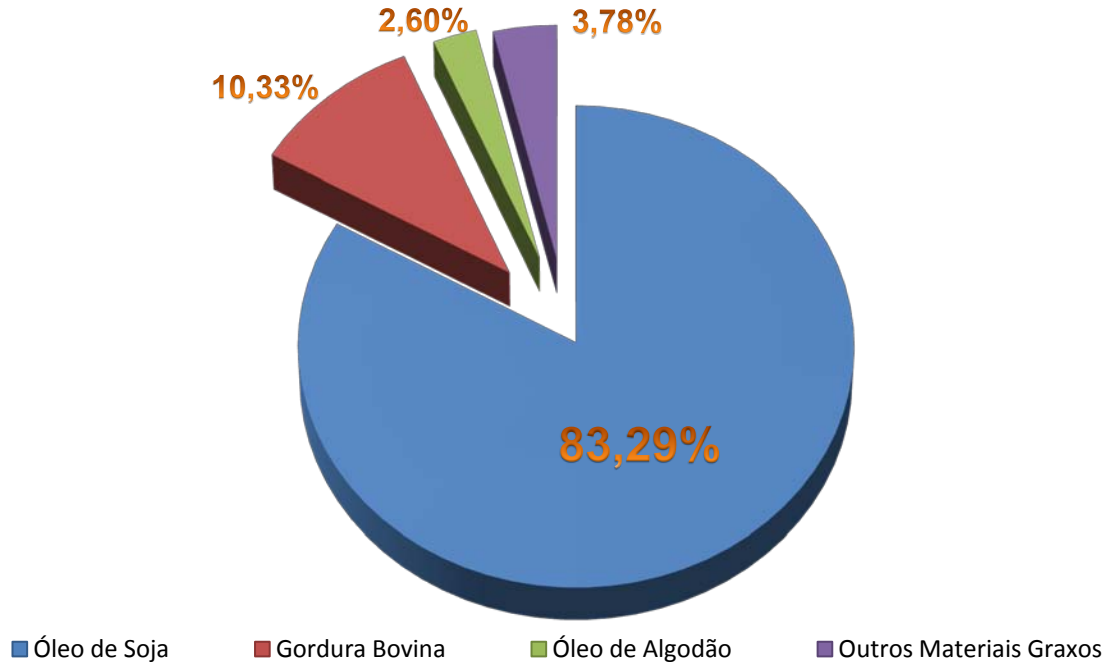


Figura 4 - Principais matérias-primas para produção de biodiesel no Brasil.

Fonte: ANP.

Para que ocorra a inversão deste modelo inicial esperam-se maiores incentivos para a produção de biodiesel a partir de outras matérias-primas, a fim de evitar que a soja permaneça a dominar como matéria-prima. Alternativas ao óleo de soja apresentam-se os óleos de pinhão-manso, dendê, babaçu, buriti, algodão, óleo usado em frituras, gorduras animais e microalgas.

No entanto, uma das maiores controvérsias em torno da produção dos biocombustíveis está relacionada à conservação da segurança alimentar. Neste aspecto, torna-se necessário a busca por métodos alternativos de produção de biodiesel, por meio de novas rotas de síntese e/ou utilizando novos catalisadores

com melhor desempenho, como os heterogêneos, ou ainda a busca de matérias-primas alternativas, como neste caso, as microalgas.

Uma das diferenças de estar produzindo biocombustíveis de microalga frente a outras oleaginosas, está principalmente ligada na parte de cultivo, ou seja, quando estas são cultivadas não utiliza-se nada que esteja ligado diretamente à alimentação humana. As microalgas ainda podem ser cultivadas em áreas impróprias para agricultura, como áreas desérticas, pois o espaço é usado apenas como suporte (Figura 5) e, ainda, apresentam uma maior produtividade de óleo, quando comparada as oleaginosas tradicionalmente utilizadas para a produção de biodiesel [31]. Outra vantagem das microalgas é que seu cultivo pode ser ininterrupto, podendo assim produzir biomassa todos os dias.



Figura 5 – Cultivo de microalga em Fotobioreatores fechados

2.3 Síntese do Biodiesel

Embora o conceito sobre biodiesel esteja sob discussão, este termo pode ser empregado para descrever ésteres de ácidos graxos de cadeia longa (monoésteres alquílicos) derivados de fontes renováveis, tais como óleos vegetais e gorduras

animais [9, 29]. Este combustível é obtido juntamente com o glicerol pela reação do triacilglicerídeo com etanol ou metanol, denominada de alcoólise, podendo ter como precursor de catálise, bases inorgânicas (hidróxidos de sódio e potássio) e/ou ácidos minerais (ácido sulfúrico, ácido clorídrico) ou ainda pela adição direta do metóxido de sódio ou potássio, desta forma caracterizando o meio como homogêneo. Quando comparado a etanólise em sistemas heterogêneos que necessita de temperatura de 150 °C [4], os sistemas homogêneos requerem baixos consumos energéticos, sendo que em torno de 70 °C, foram alcançados conversões de 97,2 %, tendo o etanol como reagente de transesterificação e 0,3 % de NaOH [23].

A reação de transesterificação pode ser descrita como uma reação orgânica em que um éster é transformado em outro pela mudança na porção alcóxi [6], quando este, devidamente purificado e adequado a normas específicas (Tabela 3), passa a ser denominado de biodiesel.

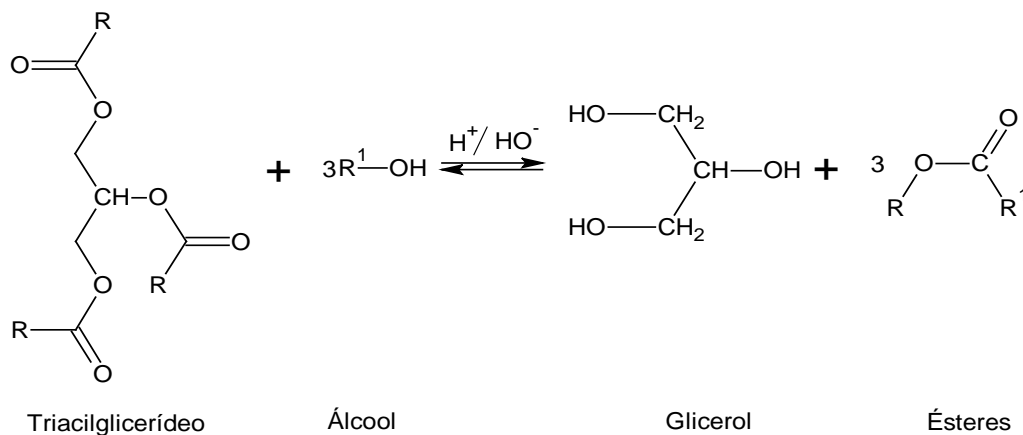


Figura 6 – Equação geral da reação de transesterificação, sendo que, R representa a cadeia carbônica dos ácidos graxos e R¹ a cadeia carbônica do álcool reagente

Fonte [9].

Nesta reação o triacilglicerídeo reage com um álcool de cadeia curta, produzindo uma mistura de ésteres monoalquílicos e glicerol (Figura 6). O processo acontece em uma seqüência de três etapas, sendo estas, reações seqüenciais e

reversíveis, em que diacilglicerídeos e monoacilglicerídeos são formados como intermediários [6,9].

Tabela 3 – Padrões de Qualidade do Biodiesel

CARACTERÍSTICA	UNIDADE	Brasil (ANP 07/2008)	UE (EN 14214)	EUA (ASTM D6751)
Aspecto	-----	Límpido e isento de impurezas	-----	-----
Massa específica *	kg/m ³	850-900 a 20°C	860-900 a 15°C	-----
Viscosidade cinemática a 40°C *	mm ² /s	3,0 - 6,0	3,5 - 5,0	1,9 - 6,0
Água e sedimentos, max.*	%volume	-----	-----	0,05
Ponto de Fulgor. mín.*	°C	100	120	130
Destilação; 90% vol. recuperados, máx.*	°C	-----	-----	360
Resíduo de carbono, máx.*	% massa	Em 100% da amostra 0,050	10% residual da destilação 0,3	Em 100% da amostra 0,05
Cinzas sulfatadas, máx.*	% massa	0,02	0,02	-----
Enxofre total, máx.*	mg/kg	50	10	15
Corrosividade ao cobre, 3h a 50 °C, máx.*	-----	1	1	3
Número de cetanos *	-----	anotar	51 (mín.)	47 (mín.)
Ponto de entupimento de filtro a frio, máx.*	°C	19	Por Região	-----
Ponto de fluidez (<i>pour point</i> -PP)*	°C	-----	Por Região	-----
Ponto de nuvem (<i>cloud point</i> - CP)*	°C	-----	-----	Registrar
Sódio + Potássio, máx.*	mg/kg	5	5	-----
Cálcio + magnésio, máx.*	mg/kg	5	5	-----
Fósforo, máx.	mg/kg	10	10	10
Contaminação total, máx.	mg/kg	24	24	-----
Teor de éster, min.	%massa	96,5	96,5	-----
Índice de acidez, máx.	mg KOH/g	0,5	0,5	0,5
Glicerina livre, máx.	%massa	0,02	0,02	0,02
Glicerina total, máx.	%massa	0,25	0,25	0,24
Monoglicerídeos	%massa	anotar	0,8 (máx.)	-----
Diglicerídeos	%massa	anotar	0,2 (máx.)	-----
Triglicerídeos	%massa	anotar	0,2 (máx.)	-----
Metanol ou Etanol, máx	%massa	0,2	0,2	-----
Índice de Iodo	g I ₂ /100g	anotar	120 (máx.)	-----
Estabilidade à oxidação a 110°C, min	h	6	6	-----
Água, máx.	mg/kg	500	500	500
Ácido linolênico	%massa	-----	12 (máx.)	-----
Metil ésteres com mais de 4 insaturações	%massa	-----	1 (máx.)	-----

* Parâmetros típicos da normalização do diesel mineral

A síntese do biodiesel é uma reação química de equilíbrio, na qual a tendência é a formação dos monoalquil ésteres, como foi observado na Figura 6. Os valores estequiométricas são de 3:1 (álcool:óleo), entretanto, devido ao caráter

reversível da reação, faz-se necessário a utilização de razões molares álcool:óleo acima dos valores estequiométricos.

Outros fatores também podem prejudicar a formação dos monoésteres. Considerando reações de transesterificação catalisadas por bases, observa-se que o rendimento cai quando a concentração de ácidos graxos livres (AGL) é superior a 5 %, devido à formação de sais de ácidos graxos no meio reacional [32]. O teor de umidade também é um parâmetro importante para a determinação da viabilidade do processo de transesterificação de óleos vegetais. Ambos, em excesso, bem como quantidade insuficiente de catalisador, podem causar a formação de sabão [23]. Uma alternativa a este processo é a utilização de catalisador homogêneo ácido, como ácido sulfúrico, ácido fosfórico, ácido clorídrico e outros.

Assim, o sistema de catálise ácida pode ser usado em reações de transesterificação de triacilglicerídeos e esterificação de ácidos graxos livres para produzir biodiesel. No entanto, a transesterificação ácida é mais lenta que a reação catalisada por bases. Isto pode ser observado no mecanismo de reação em meio ácido (Figura 9), onde se faz necessário primeiro a protonação do carbono da carbonila para posterior ataque nucleofílico do catalisador [32], enquanto que na catálise alcalina este ataque ocorre diretamente pelo álcoóxido presente no meio de reação (Figura 7). Além disso, a forte corrosividade dos ácidos e as ameaças ambientais, que estes podem representar, também têm sido impedimentos à sua utilização. No entanto, dada a versatilidade de catalisadores ácidos para lidar com altos teores de ácidos graxos livres, seu uso tem sido proposto como uma alternativa economicamente viável para produção de biodiesel a partir de matérias-primas de baixo custo, ou seja, com valores elevados de AGL.

Embora a literatura relate diversos sistemas de catálise para a reação de alcoólise [4,9], como resina iônica (resinas catiônicas fortemente ácidas), argilominerais ativados, hidróxidos duplos lamelares, superácidos, superbases e enzimas lipolíticas (lipases). Este escopo versará apenas sobre sistemas homogêneos, em meios básicos, ácidos e *in situ*.

2.3.1 Transesterificação Homogênea Básica

Atualmente, a catálise homogênea tem sido a rota tecnológica mais utilizada para a produção de biodiesel, sendo majoritariamente produzido pela reação de transesterificação em meio alcalino. Nesta rota podem ser empregados hidróxidos de metais alcalinos e carbonatos, como precursores da espécie catalítica, e/ou alcóxidos de metais alcalinos (metóxido de sódio, etóxido de sódio, propóxido de sódio e butóxido de sódio) [33]. Porém, ainda existem alguns problemas que devem ser solucionados no método tradicional de produção. Dentre estes, a dificuldade de separação do catalisador, a pureza da glicerina e a purificação dos monoésteres obtidos, podendo assim comprometer suas qualidades como combustível, bem como reduzir o valor comercial da glicerina produzida, este co-produto de elevado valor agregado. Usualmente, a separação do catalisador residual é realizada por meio da lavagem do biodiesel com água, o que resulta a geração de uma grande quantidade de efluente e na introdução de umidade no combustível.

O mecanismo aceito para a reação de transesterificação alcalina em meio homogêneo, empregando metanol, está apresentado na Figura 7 [9]. Primeiramente, é gerado *in situ* o íon alcóxido como resultado da reação do álcool (ROH) com a base (B), produzindo o ácido conjugado BH⁺. Este íon alcóxido faz um ataque nucleofílico ao carbono da carbonila do triacilglicerídeo, gerando um intermediário tetraédrico, ocorrendo posteriormente um rearranjo estrutural e, assim, este por sua

vez elimina uma molécula de monoéster e, também, outro íon alcóxido, que se combina com o ácido conjugado BH^+ [4], produzindo um diacilglicerídeo e regenerando a base B. O processo completo envolve uma seqüência de três reações sucessivas e reversíveis, em que di- e monoacilglicerídeos são formados [23].

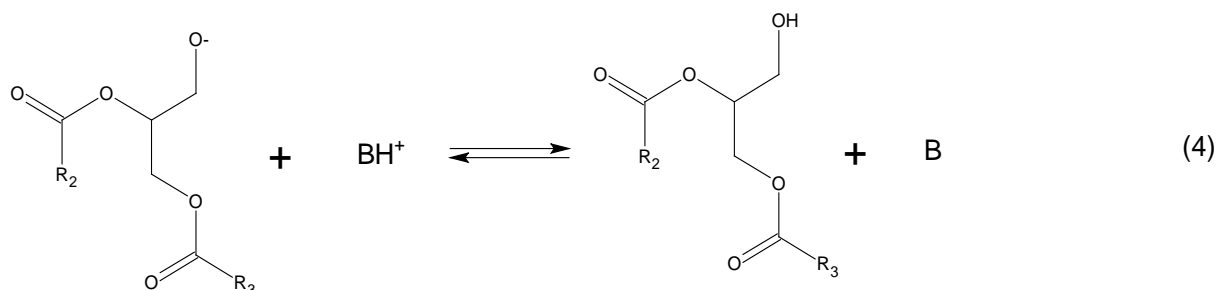
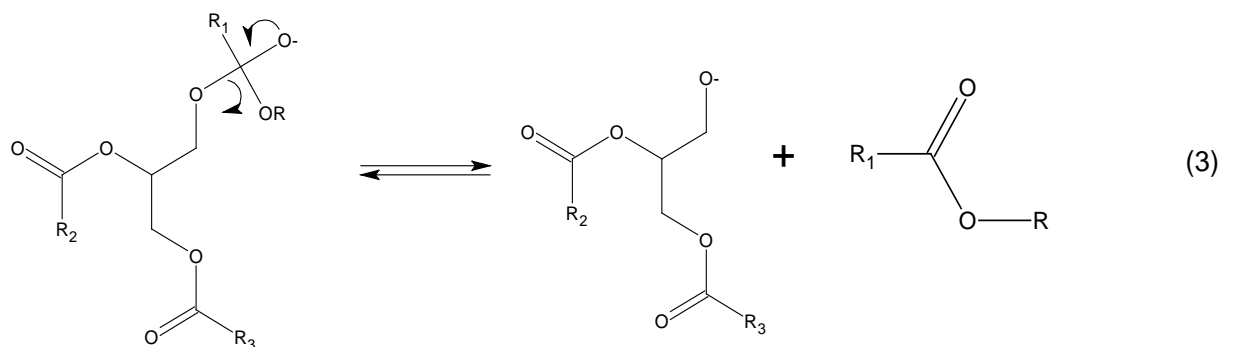
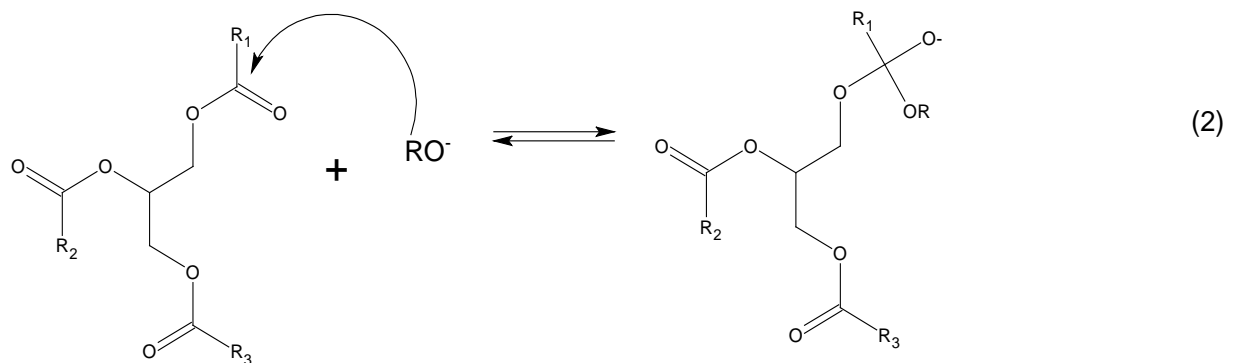


Figura 7 – Mecanismo de transesterificação de catálise básica de óleos vegetais.

Fonte: [9].

Alternativamente, pode-se adicionar diretamente os íons alcóxidos à reação [4]. Entretanto, os hidróxidos de sódio e de potássio são mais comumente empregados, para geração dos seus respectivos alcóxidos [23]. Assim, pode-se observar também que parte dos trabalhos descritos na literatura emprega como catalisadores alcóxidos metálicos [34]. No entanto, existem também outros catalisadores básicos, sendo estes não iônicos, que podem ser usados na transesterificação dos triacilglicerídeos, evitando a formação de subprodutos indesejáveis como os sabões. Entre estes, a trietilamina, piperidina e as guanidinas [9].

2.3.2 Transesterificação Homogênea Ácida

Como já mencionado no item 2.3.1, é interessante do ponto de vista econômico e ambiental, a utilização de óleos vegetais com altos índices de acidez, como por exemplo, óleos de fritura usados. A transesterificação via catálise básica para a obtenção de ésteres alquílicos pode apresentar alguns problemas que levariam a necessidade de um pré-tratamento para baixar a acidez. Esta forma, pode haver aumento do custo final, pois uma grande quantidade dos ácidos graxos livres reagiria com o catalisador (básico), formando sabão e emulsões (Figura 8), prejudicando assim, a separação dos ésteres e da glicerina, além de comprometer o rendimento e qualidade dos monoésteres produzidos [32].

Dessa forma, torna-se viável a utilização de catalisadores ácidos (ácidos sulfúrico, sulfônico e clorídrico) que permitem a obtenção de elevados rendimentos em ésteres alquílicos, sem a necessidade de um pré-tratamento. No entanto a catálise ácida exige condições mais drásticas como razão molar (álcool: óleo) e tempo de reação mais elevadas [35], quando comparadas com a catálise alcalina.

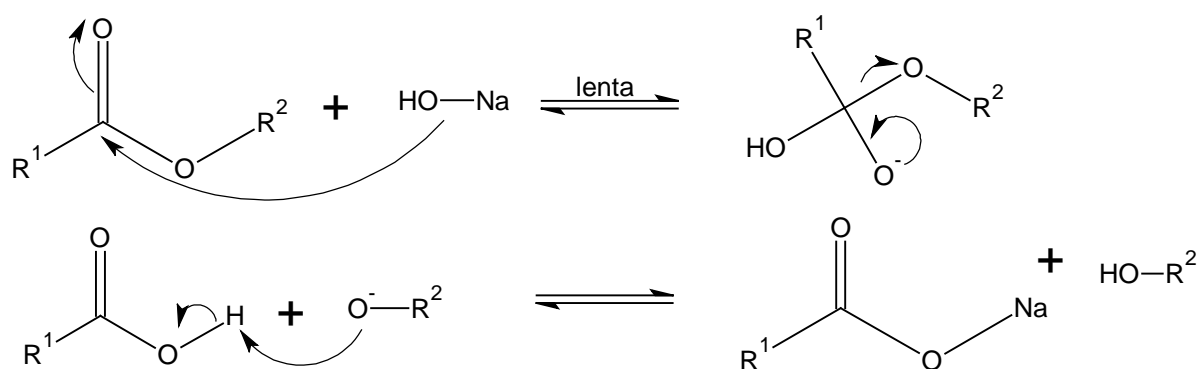
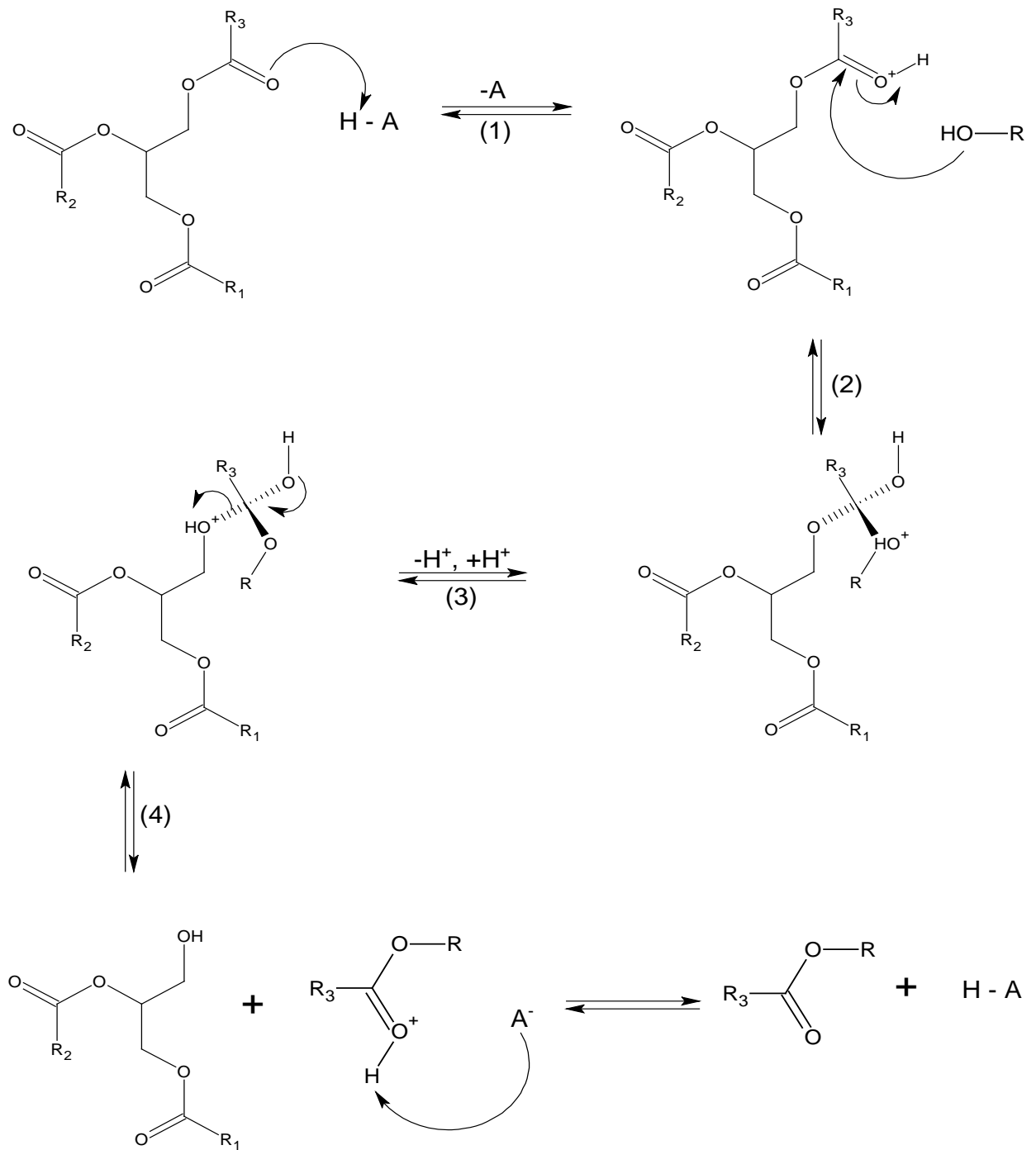


Figura 8 – Mecanismo da Reação de Saponificação dos monoésteres alquílicos

Fonte: [36].

O mecanismo de transesterificação catalisada por ácido é apresentado na Figura 9 [37]. Em princípio, as etapas da reação podem ser resumidas da seguinte forma: primeiro, o grupo carbonila do triacilglicerídeo (TG) é protonado pelo catalisador ácido. Em segundo lugar, o grupo carbonila protonado sofre um ataque nucleofílico de uma molécula de álcool, formando um intermediário tetraédrico. Em terceiro lugar, a migração dos prótons do solvente dá origem a um grupo de saída, posteriormente ocorrendo (quarto) a clivagem das espécies hemiacetal (tetraédrico intermediário) e gerando uma molécula de monoéster de alquila protonado e um diacilglicerídeo. Em quinto lugar, ocorre a transferência do próton do grupo alquila e a regeneração do catalisador ácido. Esta seqüência repete-se por mais duas vezes, tendo como resultado três monoésteres alquílicos e uma molécula de glicerol como produtos da reação.

Neste tipo de reação catalisada por ácido, observa-se como interação fundamental do efeito catalítico, a protonação do grupo carbonila sobre o TG [32]. Este catalisador (ácido) aumenta a interação da eletrofilicidade do átomo de carbono da carbonila, tornando mais susceptível ao ataque nucleofílico [37].



H - A = Catalisador Ácido

R_1, R_2, R_3 = Grupo alquílico do ácido graxo

Figura 9 – Mecanismo de transesterificação homogênea catalisada por ácido.

Fonte: [37], adaptado pelo autor.

Comparando este mecanismo com o da catálise alcalina, na qual o catalisador básico assume uma rota direta para ativar a reação, criando primeiramente o íon alcóxido (*in situ*), que atua inteiramente como um nucleófilo forte (Figura 7), com o da catálise ácida, na qual ocorre a formação de uma espécie eletrofílica, poder-se-ia assim dizer que esta seria, então, a principal diferença entre as atividades catalíticas.

Como descrito, então, podem ser utilizados ácidos como catalisadores da alcoólise. Estes catalisadores podem fornecer altos rendimentos em monoésteres, mas a reação é lenta, necessitando de elevadas razões molares álcool:óleo, temperaturas elevadas e mais de 2 horas para conversão completa [36].

2.3.3 Transesterificação *in situ*

O preço da matéria prima para a produção de biodiesel tem influência direta no custo final deste biocombustível, em geral, cerca de 70-80 % do custo é proveniente da matriz utilizada para a produção [38]. A fim de reduzir o custo, uma série de esforços tem sido realizados, como a seleção de matérias-primas de menor valor agregado ou simplificação de processos.

A utilização de fluidos supercríticos [39], bem como processos de produção que apresentem redução das unidades de processamento, apontam como alternativas aos processos convencionais, com o intuito de reduzir os custos finais. Estas reações apresentam-se como um método seguro e rápido, sem causar danos ambientais e, ainda, necessitando de menos energia no processo global. Tendo em vista que o custo do equipamento ainda é mais elevado, este processo é compensado pela rapidez da reação, melhor rendimento e menor custo de purificação do biodiesel obtido [40].

Segundo alguns autores a transesterificação não-catalítica com álcool supercrítico, ou seja, alcoóis submetidos a extremas pressões e temperaturas podem apresentar vantagens em relação ao método convencional [41], como por exemplo, a ausência de procedimentos de remoção dos resíduos de catalisadores e produtos saponificados após a reação, bem como a ausência do pré-tratamento do óleo vegetal para eliminação de água e ácidos graxos livres, pois este método não é sensível a estes contaminantes [42].

Já em relação às unidades dos processos operacionais, o processo de transesterificação *in situ* promove a conversão do óleo da biomassa diretamente para monoésteres, eliminando assim a etapa de extração necessária para obter a matéria-prima, ou seja, o óleo, para posteriormente convertê-lo em “biodiesel”, sendo esta a diferença para o método convencional.

A transesterificação utilizando metanol no estado supercrítico poderia, portanto, ajudar na simplificação do processo de conversão, reduzindo potencialmente o custo do processo global, minimizando conseqüentemente os custos do produto final [42]. Este método também pode ser considerado vantajoso para uso com microalgas, tendo em vista a dificuldade da extração e purificação do óleo destas, como observado neste trabalho.

A alcoólise direta do óleo da biomassa comparada à rota convencional vem sendo apresentada com valores maiores de rendimentos de biodiesel [43]. A aplicação do processo de transesterificação *in situ* utilizando catalisadores homogêneos ácidos para a produção de biodiesel a partir da biomassa não é um método atual. Esta metodologia já foi demonstrada em 1985, utilizando como matéria-prima sementes de girassol [43, 44]. Usando o método *in situ* os autores [43], obtiveram um aumento no rendimento em biodiesel de até 20 % em relação ao

processo convencional. Essa melhora foi atribuída por estes autores a melhor acessibilidade do ácido utilizado na reação ao óleo da biomassa [44].

Devido ao conteúdo em ácidos graxos livres nos lipídios das microalgas, a catálise ácida é considerada viável como rota de síntese para conversão a monoésteres alquílicos. A transesterificação *in situ* também foi estudada por outros autores [45]. Na ocasião estes investigaram dois níveis de temperatura e várias condições de reação, como por exemplo: o álcool, a razão molar, a concentração do ácido e o tempo de reação. Sob as condições estudadas, o melhor rendimento em monoésteres metílicos foi de 98,2%, obtido em uma proporção molar de metanol:óleo de 300:1, concentração do ácido de 100% e tempo de reação de 1 hora [45]. O uso de ácido na transesterificação *in situ* também foi estudado para a conversão em monoésteres etílicos de ácidos graxos de soja e de ácidos graxos livres e óleo do farelo de arroz [46, 47], no entanto, os valores não foram satisfatórios.

Conforme mostrado, vários estudos demonstraram a viabilidade da produção de biodiesel via metanólise ácida *in situ*. Conseqüentemente, torna-se necessário o estudo da alcoólise *in situ* de ácidos graxos de microalgas, tendo em vista a potencialidade destas para a produção de biodiesel.

Recentemente foi publicado um estudo avaliando as principais condições operacionais da transesterificação *in situ* de microalgas [48]. Neste, foram consideradas as seguintes variáveis: volume de metanol (20, 40, 60, 80, 100 mL) em relação à biomassa (15 g), temperatura (23, 30, 60, 90 °C), tempo de reação (entre 1 hora e 12 horas) e a agitação do meio reacional (sem agitação, agitando na primeira hora, agitando com intervalos de 1 hora e agitação constante, todos em 500 rpm).

Além disso, o efeito da umidade da biomassa da microalga no processo de conversão também foi estudado. Os melhores resultados da transesterificação *in situ* foram encontrados quando foi utilizado 60 mL de metanol com 15 g de biomassa microalgal, a temperatura de 60 °C, chegando a 92 % de conversão com 1 hora de reação e agitação constante [48]. Em relação à umidade estes mesmos autores puderam observar que esta variável afetou negativamente no processo, sendo que o valor limite para inibir a reação foi encontrado acima de 31,7 % (base seca). Da mesma forma, chegando à conversão de 81,7 % com 0,7 % (base seca) de umidade. Desta forma o processo de secagem da biomassa não pode ser negligenciado, sendo observados melhores valores de conversão quando se utiliza amostras completamente secas.

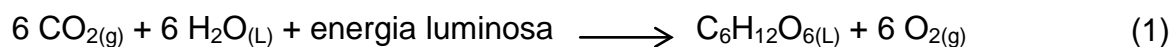
A investigação do teor de umidade para o processo de transesterificação *in situ* da biomassa microalgal é de extrema importância, uma vez que sua secagem é um dos passos mais importantes na economia do processo de produção de biodiesel de microalgas. Avalia-se que cerca de até 30 % do total dos custos de produção estejam associados a este parâmetro [49].

2.4 Aplicações Tecnológicas das Microalgas

Segundo dados do “Intergovernmental Panel on Climate Change” (IPCC), desde a era pré-industrial a concentração de CO₂ na atmosfera cresceu de 280 ppm para 379 ppm [50]. Para amenizar o acúmulo destes gases, organismos fotossintéticos podem exercer papel preponderante na dinâmica do carbono, realizando sua remoção.

A fotossíntese realizada pelos organismos clorofilados utiliza energia solar para converter esta em energia química, com posterior formação de matéria

orgânica (biomassa) e liberação de oxigênio por meio da metabolização da água e do gás carbônico retirados do meio [51], segundo:



É reconhecido pela comunidade científica que projetos florestais são capazes de mitigar o efeito estufa pela fixação de carbono na biomassa vegetal (Tabela 4), além de outros benefícios como a recuperação de áreas degradadas e conservação da biodiversidade. Entretanto, ao se lavrar o solo para o plantio, grande quantidade de CO_2 é liberada para atmosfera o que anularia o efeito benéfico da absorção de CO_2 e sua incorporação na biomassa das plantas ao longo de sua vida [52]. Desta forma, a investigação de outros organismos fotossintéticos, com capacidade de absorver CO_2 da atmosfera, poderia minimizar os efeitos do reflorestamento, no que diz respeito ao seqüestro de carbono, como por exemplo, as microalgas.

As microalgas são as principais responsáveis pela absorção do CO_2 atmosférico nos oceanos [53]. Conforme pode ser observado na Tabela 5, as microalgas têm capacidade de absorver até 15 vezes mais CO_2 que as florestas. Uma parte do CO_2 absorvido pelas microalgas é transferida para o fundo oceânico num processo conhecido como “bomba biológica” [53, 54]. Desta forma, o seqüestro de carbono poderia impedir que o acúmulo dos gases do efeito estufa fosse ainda maior.

As microalgas são divididas em uma ampla variedade de classes, se distinguindo principalmente pela sua pigmentação, ciclo de vida e estrutura celular básica. As algas são organismos pertencentes ao reino vegetal que compreendem um grupo muito diverso de organismos fotossintetizadores [55]. São classificadas

como talófitas, isto é, plantas inferiores, por apresentarem uma estrutura simples não vascularizada com ausência de raiz, caule e folhas [56].

Tabela 4 – Sequestro de carbono por floresta

Nome Científico	Nome Popular	Produtividade de carbono (t ha ⁻¹ ano ⁻¹)	CO ₂ equivalente (t ha ⁻¹ ano ⁻¹)
<i>Swietenia macrophylla</i> King	Mogno	5,60	20,55
<i>Hymenaea courbaril</i> L.	Jatobá	5,60	20,55
<i>Anadenanthera colubrina</i>	Angico	8,60	29,36
<i>Cedrela fissilis</i> Vell.	Cedrus	5,60	20,55
<i>Pinus taeda</i>	Pinus	10,34	37,95
<i>Havea sp.</i>	Seringueira	5,17	18,97
<i>Acacia mangium</i>	Acácia	10,55	38,72
<i>Apuleia leiocarpa</i>	Garapia	12	44,04
<i>Inga sp.</i>	Ingá	8,00	29,36

Fonte: [57].

As algas são em maioria eucarióticas, podendo ser pluricelulares ou unicelulares, apresentando similaridade em muitos aspectos comuns com as plantas superiores. Possui clorofila “a” como seu pigmento fotossintético primário [58]. Outros tipos de clorofila, como os carotenóides (β -caroteno e fucoxantina), a ficocianina e a ficoeritrina apresentam uma distribuição mais limitada nas algas, funcionando como pigmentos secundários [59].

Tabela 5 – Sequestro de carbono por microalgas

Espécie de Microalga	Produtividade de carbono (t ha ⁻¹ ano ⁻¹)	CO ₂ equivalente (t ha ⁻¹ ano ⁻¹)
<i>Clorella sp.</i>	182	667,94
<i>Spirulina sp.</i>	107	392,69
<i>Scenedesmus obliquus</i>	102,7	376,91
<i>Spirulina platensis</i>	44	161,48
<i>Botryococcus braunii</i>	42,80	157,08
<i>Nannochloropsis oculata</i>	32	117,44
<i>Tetraselmis strain</i>	27,37	100,45

Fonte: [57]

As microalgas possuem rápido crescimento (aproximadamente 10 dias, dependendo da espécie), elevada tolerância a condições extremas, ou seja, salinidade e pH. Além da possibilidade de serem cultivadas em pequenas áreas e em regiões inadequadas para culturas agrícolas [53]. Além da potencial aplicação biotecnológica, estudos apontam a produção de biocombustíveis a partir das microalgas, figurando assim juntamente com as oleaginosas, alternativas aos combustíveis fósseis [31].

Estima-se que existam cerca de 26.000 espécies de microalgas. Embora estas apresentem grandes potencialidades, apenas um pequeno número delas foi identificado com utilidades comerciais, por exemplo, *Spirulina*, *Chlorella*, *Haematococcus*, *Dunaliella*, *Botryococcus*, *Phaeodactylum* e *Porphyridium* [60] (Figura 10).

Outras espécies também vêm sendo estudadas na aquicultura para a alimentação direta ou indireta de algumas espécies de peixes, moluscos, crustáceos. Neste caso incluem-se as *Chaetoceros*, *Cryptocodinium*, *Isochrysis*, *Nannochloris*, *Nitzschia*, *Schizochytrium*, *Tetraselmis* e *Skeletonema* [56].

No entanto, afirma-se que a *Dunaliella* é provavelmente uma das melhores espécies de algas para o cultivo em massa descrito até agora, especialmente devido a sua exigência de alta salinidade e temperatura do meio de cultivo, aceitando valores $>30\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $> 3\text{ mol.L}^{-1}$ de NaCl [59], enquanto outras espécies como por exemplo a *Nostoc* necessita temperatura entre $21 - 28\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $0,17 - 0,43\text{ mol.L}^{-1}$ de NaCl [59]. Assim, com esta alta salinidade e temperatura a *Dunaliella* minimiza o número de competidores e predadores no meio de cultivo [61].

Com estas propriedades, foi dado na década de 70 o início da produção comercial da *Dunaliella salina* (Figura 10 d) como fonte de produtos químicos

específicos, tendo o objetivo de produzir β -caroteno (59) (Figura 11 (b)), e posteriormente a isso a utilização da *Haematococcus pluvialis* (Figura 10 c) como fonte de astaxantina (Figura 11 (a)) [62].

O β -caroteno é um pigmento tipicamente encontrado nas microalgas, bem como nas macroalgas e nas plantas superiores. Geralmente, é encontrado numa fração inferior a 1% da massa seca, mas pode ser acumulado até aproximadamente 10 % em espécies halotolerantes (crescem em elevada concentração de sal), como naquelas do gênero *Dunaliella* [56].

A espécie *Haematococcus pluvialis* tem sido cultivada comercialmente devido a sua capacidade de acumular astaxantina sob condições de estresse ambiental, como deficiência de nitrogênio e elevada intensidade luminosa [63]. A *H. pluvialis* pode conter entre 1,5 e 3 % de astaxantina na biomassa seca [64]. O maior mercado para a astaxantina tem sido a aquicultura, em que é especialmente empregada para dar a cor avermelhada à carne do salmão cultivado [65].

Além do interesse da astaxantina na aquicultura, diversos trabalhos vêm relacionando este antioxidante com benefícios a saúde.

A cegueira e a catarata são duas doenças que estão relacionadas com a luz induzida em processos oxidativos no olho [66]. Por sua vez, a astaxantina possui uma forte atividade antioxidante de proteção ao efeito da luz ultravioleta (UV) [67]. Um estudo realizado em animais demonstrou que a retina de ratos alimentados com astaxantina foram menos danificadas por raios UV e recuperaram mais rapidamente do que os animais não alimentados com astaxantina ⁴ [68]. Portanto, pode-se inferir que a dieta com astaxantina fornece proteção contra os raios ultravioleta, assim demonstrando o potencial da astaxantina para a saúde do olho. Como este relato,

⁴ Tso, M.O.M. and Lam, T-T. (1996) Method of Retarding and Ameliorating Central Nervous System and Eye Damage. U.S. Patent #5527533

foram encontrados vários estudos que relacionam os benefícios da adição da astaxantina na dieta alimentar [69, 70, 71, 72].

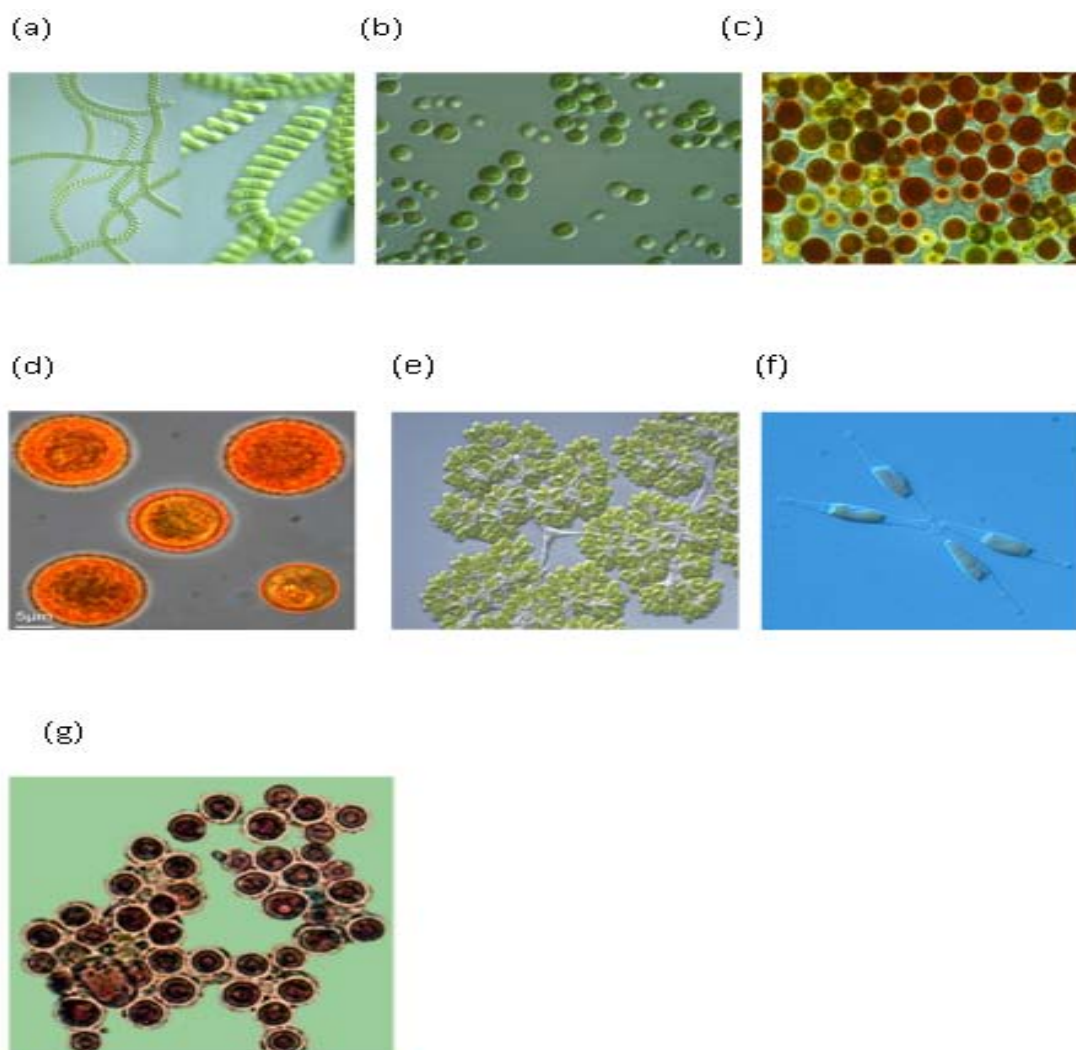


Figura 10 – Diferentes espécies de microalgas - (a) *spirulina sp*,(b) *Chlorella vulgaris*,(c) *Haematococcus pluvialis*, (d) *Dunaliella Salina*,(e) *Botryococcus braunii*, (f) *Phaeodactylum tricornutum*, (g) *Porphyridium cruentum*.

Assim com tantos benefícios oriundos de substâncias microalgais, muitas empresas estão tendo o interesse em cultivá-las. Há cerca de 25 anos, uma empresa americana, chamada Cyanotech (Figura 12), cultiva diferentes espécies de microalgas para fins comerciais. Atualmente, está comercializando uma variedade de produtos químicos, que inclui alimentos, vitaminas, medicamentos e fertilizantes [73].

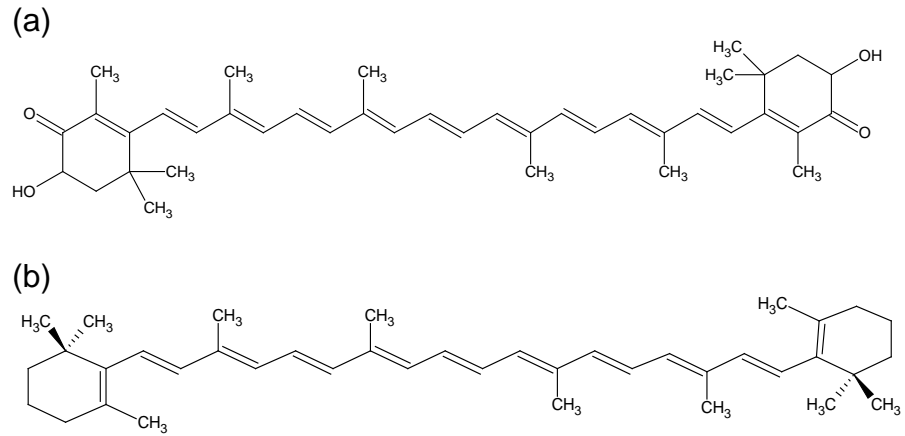


Figura 11 – (a) Estrutura química da astaxantina, (b) Estrutura química do β – caroteno.

Fonte: [59]



Figura 12 – Vista aérea da empresa Cyanotech EUA, (Cyanotech, 2009).

No entanto, um dos primeiros esforços realizados para a utilização de microalgas para a geração de biocombustíveis foi o estudo feito pelo *Aquatic Species Program*, sendo grande parte desta pesquisa realizada entre 1978-1982. Estes estudos centraram sobre o uso de microalgas para produção de hidrogênio. No entanto, no começo 1980 o programa mudou sua ênfase para outros combustíveis, em especial o biodiesel [74].

É crescente o interesse no uso de microalgas para a produção de biocombustíveis tais como: biodiesel, hidrogênio e metano. Têm-se como principais vantagens das microalgas em relação aos vegetais superiores, uma maior produção de biomassa por área, rápida velocidade de crescimento, possibilidade de uso de resíduos industriais no cultivo, maior capacidade de biofixação de CO₂ e facilidade para sintetizar lipídeos. Segundo a literatura científica, as microalgas com 30 % de lipídeos em massa seca podem produzir 58.700 L/ha de óleo, e são consideradas fontes potenciais para a produção de biodiesel, apresentando índices superiores as culturas de milho (172 L/ ha), soja (446 L/ ha), canola (1,190 L/ ha) e palma (5,950 L/ ha) [31].

A utilização da biomassa de microalgas para a produção de biodiesel está sendo relatada como uma das matérias-primas mais promissoras com potencial para cumprir as metas de substituição do diesel de petróleo [31]. Este mesmo autor sugere, com base em microalgas, que para a implantação de 50% de biodiesel destinado ao transporte nos EUA seria necessário a utilização de 2,5% do território agricultável deste país, ou seja, cerca de 10 vezes menos se fosse utilizado óleo de palma para o mesmo destino (Tabela 6).

A produção comercial de biodiesel a partir de microalgas ainda enfrenta obstáculos, principalmente, devido aos elevados custos associados com a produção

de biomassa e as rotas de conversão a combustível. Para tal produção é necessário primeiramente separar a biomassa do meio de cultura. Este processo envolve uma ou mais etapas de separação sólido:líquido, como floculação, centrifugação e filtração. A seguir, a biomassa é desidratada. Para este processo, podem ser empregadas diversas técnicas, como a secagem ao sol, o “spray-drying” e a liofilização. Para a extração dos compostos, as células microalgais são rompidas, empregando métodos de homogeneização, ultra-som entre outras, com posterior ataque de solventes. As substâncias de interesse são então recuperadas e, na maioria dos casos, sofrem algum processo de purificação, como por exemplo, cromatografia em coluna (utilizando sílica gel), conforme descrito na AOCS Cd 11c-93 [75].

Tabela 6 – Comparação de algumas espécies produtoras de óleo

Colheita	Rendimento de óleo (L/ha)	Área de terra necessária (M ha (a))	Área de cultivo necessário nos EUA (%)
Milho	172	1540	846
Soja	446	594	326
Canola	1190	223	122
Pinhão - Manso	1892	140	77
Óleo de cocô	2689	99	54
Óleo de palma	5950	45	24
Microalga (b)	136900	2	1,1
Microalga (c)	58700	4,5	2,5

(a) Para implantar 50% de biodiesel nos E.U.A.

(b) Biomassa com 70% (em peso) de óleo

(c) Biomassa com 30% (em peso) de óleo

Fonte: [31].

A produção de biodiesel a partir de óleo de microalgas tem sido demonstrada na literatura utilizando a rota convencional [76, 77], que envolve a extração dos lipídios da biomassa de microalgas seguindo sua conversão em biodiesel e glicerol. Desta forma, foram realizados experimentos com três solventes para a extração dos lipídeos da microalga, sendo: l-butanol, etanol e 2-propanol, sendo o solvente mais eficiente para a extração o l-butanol (eficiência de 90 %), seguido por 2-propanol e

etanol. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram obtidos por meio da utilização de 0.6 mol.L^{-1} de ácido clorídrico em metanol durante 1 hora a $70 \text{ }^\circ\text{C}$, chegando a conversão de 68 % em monoalquil éster [76].

Encontra-se ainda na literatura, a utilização de métodos integrados para a produção de biodiesel a partir de óleo de microalgas, utilizando a espécie *Chlorella protothecoides*, em meio heterotrófico, o cultivo heterotrófico proposto resultou o acúmulo de lípidos de 55 % nas células, sendo estes lipídeos extraídos com n-hexano em extrator do tipo soxhlet. O melhor rendimento dos metil ésteres derivados de ácido graxo foram obtidos com razão molar 56:1 (álcool : óleo), a temperatura de $30 \text{ }^\circ\text{C}$, com tempo de reação de 4 horas [77].

Outros autores alcançaram êxito com sistemas heterogêneos para tal produção [78]. Estes, por sua vez, procuraram avaliar o efeito do MgO e CaO suportado em Al_2O_3 como catalisador da reação de transesterificação do óleo de microalga. Estes autores obtiveram conversão de 97,5%, utilizando uma razão molar de 30:1 (álcool : óleo) a $50 \text{ }^\circ\text{C}$ por 4 horas de reação, utilizando como catalisador 2% (em relação a massa do óleo) CaO suportado em Al_2O_3 .

Mais recentemente está sendo discutida a produção de biodiesel *in situ* de microalgas [48], conforme já descrito no item 2.3.3, e também como será discutido neste trabalho.

Embora falasse muito sobre biodiesel de microalgas, uma série de estudos vem tentando estimar a viabilidade econômica da produção do óleo a partir de algas em larga escala utilizando tanques abertos (raceway ponds)⁵ [79]. Desta forma, foi estimado que o custo do óleo de algas pudesse estar na faixa de \$ 39 – \$ 69 / barril (bbl) [79]. Esta estimativa foi baseada no cultivo de 400 hectares de microalgas em

⁵ Benemann J, Oswald W Systems and Economic Analysis of Microalgae Ponds for Conversion of CO_2 to Biomass, Final Report to the US Department of Energy. Pittsburgh Energy Technology Center, 1996.

tanques abertos, usando o CO₂ puro “flue gás” a partir da liberação de uma termoelétrica, sendo a produtividade pressuposta de 30-60 g . m⁻². dia⁻¹ de biomassa microalgal, com rendimento de lipídeos nas microalgas de 50%. O Departamento de Energia dos Estados Unidos, por meio do *Aquatic Species Program*, descobriu que as algas eram apenas economicamente viáveis como biocombustível quando o preço do petróleo fosse superior a U\$ 60 barril [80]. No entanto, outros estudos ainda afirmam que hoje em dia o biodiesel de microalgas é financeiramente inviável, sendo o valor estimado de U\$ 7/gal, enquanto que o biodiesel de girassol está em torno de U\$ 3,16/gal [81].

A utilização do conceito de biorefinaria poderia auxiliar na redução dos custos operacionais, viabilizando assim a produção do biodiesel de microalgas. Como uma refinaria de petróleo, uma biorefinaria usa cada componente do material da biomassa para produzir produtos úteis. Algumas biorefinarias já estão sendo operadas no Canadá, Estados Unidos e na Alemanha para a produção de biocombustíveis e outros produtos derivados de culturas como milho e soja [31].

Além do óleo (lipídeos), a biomassa de microalga contém proteínas, carboidratos e outros nutrientes [82]. Portanto, a biomassa residual da produção de processos de biodiesel pode ser utilizada como alimentos para animais e pescado e, ainda, podendo ser utilizados como adubo e também na geração de biogás, sendo assim uma forma de co-geração de energia [83]. A composição da biomassa de algas pode conter até 46 % carbono (C), 10 % de nitrogênio (N) e 1 % de fosfatos (P) e 1 kg de biomassa microalgal seca utiliza até 1,7 kg de CO₂ [84]. Assim, projetos de biodiesel de microalgas podem ser considerados como Mecanismo de Desenvolvimento Limpo (MDL) e, ainda, trazer valores monetários adicionais por meio da venda de crédito de carbono.

Como demonstrado acima, alguns estudos apontam a viabilidade de produzir biodiesel de microalgas, enquanto que outros estudos também apontam algumas dificuldades, ressaltando o alto valor em produzir este tipo de biocombustível. Assim, autores ainda demonstram em artigos científicos o interesse de viabilizar esta técnica em seus países como forma de reduzir o consumo de combustíveis fósseis e, ainda, reduzir a emissão de gases proveniente de termoelétricas [85]. Levando em consideração a potencialidade de produzir biodiesel de microalgas, estes microorganismos têm a capacidade de reduzir os efeitos causados pelo CO₂, sendo esse gás um dos principais causadores do efeito estufa. Assim, o seqüestro de carbono poderia ser uma ferramenta importante para reduzir as emissões de CO₂ na atmosfera. Por sua vez, a mitigação biológica de CO₂ tem atraído muita atenção como uma estratégia alternativa, pois gera a produção de biomassa no processo de fixação de CO₂ por meio da fotossíntese [86, 87].

A nível mundial, o carvão é, de longe, o maior recurso de energia fóssil disponível [85]. A Índia tem vastas reservas de carvão, mas a maioria é de baixa qualidade [85]. A Índia tem uma base instalada de cerca de 124.287 MW de eletricidade por ano (em 2006), sendo 66 % energia térmica (85 % baseado em carvão), e apenas 5 % do total instalado, de energia renovável [22]. Segundo o *World Energy*, relatório sobre as perspectivas de 2007 [22], as emissões totais de CO₂ da Índia (2007-2008) foram de 1200 milhões de toneladas, das quais 800 milhões de toneladas de CO₂ (67%) provenientes da combustão do carvão. O “Flue Gases” de usina de energia é responsável por mais de 7 % do total mundial de emissões de CO₂ [88]. O CO₂ dos gases de combustão está disponível, com baixo ou nenhum custo. Assim, pode-se resolver este enorme problema das emissões de carbono das termoelétricas, utilizando a exploração de algas por meio da reciclagem

de carbono [87]. Desta forma, é possível estimar a potencialidade das microalgas para o seqüestro de carbono das chaminés de termoelétrica, chegando num valor máximo de 40% de CO₂ incorporado no cultivo da *Chlorella sp.*, ou seja, cerca de 1 g. L⁻¹.dia⁻¹ de CO₂ [85].

Portanto, o seqüestro de carbono utilizando as microalgas oferece uma oportunidade para reduzir a emissão dos gases do efeito estufa que pode completar as atuais estratégias de recursos energéticos e aumentar o uso de combustíveis não-fósseis na matriz energética mundial.

3 OBJETIVOS

O presente trabalho teve por objetivo global desenvolver e analisar a viabilidade energética do processo de metanólise *in situ* da biomassa de microalgas.

3.1 Objetivos Específicos

- Extrair e caracterizar o óleo de microalgas.
- Encontrar uma rota de síntese para obtenção de monoésteres de alquila (biodiesel) proveniente da biomassa microalgal.
- Determinar alguns parâmetros que caracterizem os monoésteres obtidos como biocombustível.
- Desenvolver uma rotina de cálculos para determinar a eficiência energética do processo do biodiesel de microalgas.
- Determinar a eficiência energética real do processo de obtenção dos monoésteres.
- Analisar a viabilidade energética do processo de obtenção do biodiesel de microalga.

4 DEFINIÇÃO DE MATERIAIS / EQUIPAMENTOS / PROCESSOS

4.1 Cromatografia Gasosa Acoplado à Espectrometria de Massas

A Cromatografia Gasosa (CG) é uma técnica de separação e análise de misturas de substâncias voláteis. A amostra é vaporizada e introduzida num fluxo de gás adequado denominado de fase móvel ou gás de arraste. Este fluxo de gás com a amostra vaporizada passa por um tubo contendo a fase estacionária (coluna cromatográfica), onde ocorre a separação da mistura.

As substâncias separadas saem da coluna, dissolvidas no gás de arraste e passam por um detector; dispositivo que gera um sinal elétrico proporcional à quantidade de material eluido. O registro deste sinal em função do tempo é o cromatograma, sendo que as substâncias aparecem nele como picos com área proporcional à sua massa, o que possibilita a análise quantitativa. A CG é aplicável para separação e análise de misturas cujos constituintes tenham pontos de ebulição de até 300°C e que sejam termicamente estáveis [89].

Em um sistema de cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) as amostras provenientes do cromatógrafo a gás, no estado gasoso, são bombardeadas por elétrons e são quebradas gerando íons positivos, negativos e radicais e a partir da diferença entre massa/carga dos íons gerados irá separá-los.

Simplificadamente, o espectro de massa funciona da seguinte maneira: Um feixe de elétrons de alta energia bombardeia a amostra, em fase gasosa, e o aparelho detecta e registra os fragmentos gerados pelo impacto dos elétrons. Os fragmentos gerados podem ser íons, radicais ou moléculas neutras. No aparelho são detectados apenas os fragmentos catiônicos (íons positivos), os íons moleculares, de carga unitária. Estes íons possuem alta energia e são capazes de romper

ligações covalentes, fragmentando-se em pedaços menores. Logo, a partir de um fragmento, podem surgir vários outros fragmentos menores [90].

4.2 Espectroscopia no Infravermelho (IV)

É um tipo de espectroscopia de absorção, a qual usa a região do infravermelho do espectro eletromagnético. Como as demais técnicas espectroscópicas, esta pode ser usada para identificar um composto ou investigar a composição de uma amostra.

Esta técnica se baseia no fato de que as ligações químicas das substâncias possuem frequências de vibração específicas, as quais correspondem a níveis de energia da molécula (chamados nesse caso de níveis vibracionais). Tais frequências dependem do formato da superfície de energia potencial da molécula, da geometria molecular, das massas dos átomos e eventualmente do acoplamento entre os átomos.

Se a molécula receber radiação eletromagnética com exatamente a mesma energia de uma dessas vibrações, então a luz será absorvida, desde que sejam atendidas a determinadas condições. Para que uma vibração apareça no espectro IV, a molécula precisa sofrer uma variação no seu momento dipolar durante essa vibração [91].

O espectro infravermelho de um composto químico é considerado uma das propriedades físico-químicas mais características e, por conta disto, a espectroscopia na região do IV tem extensa aplicação na identificação dos compostos.

5 MATERIAIS E MÉTODOS

Para a reação de metanólise *in situ* foi utilizada a microalga *Nannochloropsis oculata* como fonte microalgal cultivada pelo Grupo Integrado de Aqüicultura e Estudos Ambientais (GIA) da UFPR, sendo utilizado o meio de cultivo Guillard F/2 e fotoperíodo natural, i.e., sem a adição de luz artificial. No entanto, para a extração do óleo, além da *N. oculata* foram realizados experimentos com outras espécies de microalgas, e.g., *Phaeodactylum tricornutum*, sendo esta cultivada no GIA, com meio de cultivo Guillard F/2 e fotoperíodo natural e a *Thalassiosira fluviatilis*, sendo esta cultivada nas instalações do Laboratório de Camarões Marinhos (LCM-UFSC), tendo como meio de cultivo o Guillard F/2 modificado pelo LCM com fotoperíodo natural. Para a extração do óleo foi utilizado hexano P.A. (Synth[®], 98,5 %) e álcool etílico P.A. (IMPEX Reagentes Analíticos[®], 99,8 %). Para a reação de metanólise *in situ* foi usado Ácido Clorídrico P.A. (Synth[®], 36,5-38 %), Álcool Metílico P.A. (Química Especializada Erich – QEEL[®], 99,8 %) e Clorofórmio (Vetec Química Fina[®], 99,5 %). Para a caracterização por espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (IVTF) foi usado KBr grau espectroscópico (Sigma-Aldrich[®]) e para a análise por cromatografia gasosa acoplada a espectrometria de massas (CG-EM) foi usado padrão interno de Heptadecanoato de Metila (Sigma-Aldrich[®], ~99 %) e *n*-Heptano (Sigma-Aldrich[®], ~99 %) como diluente da amostra. Para o cálculo estimado do Índice de Iodo e do Índice de saponificação foram utilizados os métodos descritos nas normas AOCS Cd 1c-85 e AOCS Cd 3a-94 [92, 93], respectivamente. Já o poder calorífico dos monoésteres obtidos foi determinado com base no índice de saponificação e do número de iodo, conforme relatado [94].

5.1 Montagem dos experimentos

Com o intuito de promover a extração contínua do material graxo proveniente da microalga foram realizados diversos ensaios utilizando o sistema de extração do tipo soxhlet (Figura 13), variando o tempo de extração (6 horas e 24 horas) e o solvente (Hexano ou Álcool Etilico), sendo utilizados 30 g de biomassa microalgal (seca) em cartuchos no extrator do tipo soxhlet e 300 mL de solvente. Após o tempo da extração, o solvente foi evaporado sob pressão reduzida (evaporador rotativo), obtendo apenas o material extraído.



Figura 13 – Sistema de extração soxhlet.

O material extraído foi purificado seguindo a norma AOCS Cd 11c-93 [95], sendo preparada uma coluna cromatográfica com aproximadamente 30 g de sílica gel (Merck®, tamanho de partícula 0,063-0,200 mm / 70-230 mesh ASTM), suspensa

em 60 mL de éter de petróleo (Figura 14). Foi então pesado 1,0556 g do material a ser purificado (material extraído), sendo dissolvido em 3 mL de clorofórmio. Esta fração foi transferida quantitativamente para o topo da coluna cromatográfica (Figura 15). A amostra foi eluída com vazão controlada de ~ 2 mL/min., usando 250 mL para cada fração, sendo 10 % de éter dietílico em éter de petróleo (Fração I - triacilglicerídeos) (Figura 16); 25 % de éter dietílico em éter de petróleo (Fração II - diacilglicerídeos); 100 % de éter dietílico (Fração III- monoacilglicerídeos); 100 % álcool etílico (Fração IV – glicerol e materiais polares) (Figura 17).



Figura 15 - Coluna cromatográfica de sílica gel



Figura 14 - Transferência da amostra para o topo da coluna cromatográfica



Figura 17 - Fração I na purificação dos lipídeos na coluna de sílica gel



Figura 16 - Fração IV na purificação dos lipídeos na coluna de sílica gel

A síntese dos monoésteres foi realizada com a adição dos reagentes de transesterificação (204 mL) [metanol:ácido clorídrico:clorofórmio, 10:1:1 (v/v/v)] à biomassa seca (2 g). A amostra foi aquecida em um banho com glicerina a 80 °C por 120 min (Figura 18). Após aquecimento, a amostra foi resfriada até a temperatura ambiente, seguida pela adição de H₂O Milli-Q (2 mL) e de uma mistura de Hexano:Clorofórmio, 4:1 (v/v) (200 mL). A mistura foi, então, levada a um evaporador rotativo até que o excesso de reagente da reação tenha sido separado e o material resultante foi centrifugado a 14000 rpm por 10min.



Figura 18 – Reação de metanólise *in situ*.

5.2 Identificação e Quantificação dos Produtos da Reação

Os monoésteres produzidos foram analisados por IVTF e CG-EM. As análises por espectroscopia de IVTF foram realizadas utilizando 20 μL da amostra em pastilhas de 100 mg de KBr, tendo como objetivo, determinar as principais características estruturais do produto da reação, enquanto que os ensaios por CG-EM foram realizados pelo Laboratório de Química do Instituto de Tecnologia para o Desenvolvimento – LACTEC, utilizando quantificação com padrão interno de heptadecanoato de metila, segundo a norma EN 14103:2003 com o intuito de adquirir o perfil graxo do produto obtido da reação de metanólise *in situ*.

5.2.1 Cromatografia Gasosa Acoplado à Espectrometria de Massas

As análises por cromatografia gasosa acoplada ao espectrômetro de massas (CG-EM) foram realizadas em um cromatógrafo gasoso marca Shimadzu[®] modelo GC 17A com injetor split/splitless acoplado a um detetor de massas Shimadzu[®] modelo GCMS-QP 5050 com ionização por impacto de elétrons a 70 eV. A coluna capilar utilizada foi Carbowax com recheio de Polietileno Glicol – 30 m (comprimento) x 0,25 mm (diâmetro interno) x 0,25 μm (espessura do filme). O gás de arraste utilizado foi He mantido a uma vazão constante de 1 mL/min. . O volume de injeção foi 1,0 μL , operando no modo split de 50 mL/min com splitless de 1:20., com temperatura do bloco de 250 °C. O forno foi programado para trabalhar no modo isotérmico a 210 °C e a temperatura do detetor (EM) foi de 250 °C, sendo o tempo total da corrida de 25 min.

A quantificação do produto da metanólise *in situ* foi realizada segundo a norma DIN 14013, utilizando padrão interno de heptadecanoato de metila e *n*-heptano como diluente. Após a aquisição dos espectros de massa, estes foram

comparados com a biblioteca de espectros NIST disponível no equipamento. O percentual mássico foi determinado pela equação a seguir:

$$C = \frac{(\sum A) - A_{EI}}{A_{EI}} \times \frac{C_{EI} \times V_{EI}}{m} \times 100\% \quad (2)$$

Sendo que,

$\sum A$, é determinado pela área total dos picos dos metil ésteres de C14:0 a C 24:1.

A_{EI} , é a área do pico correspondente a solução de heptadecanoato de metila.

C_{EI} , é a concentração do heptadecanoato de metila (mg/mL).

V_{EI} , é o volume da solução de heptadecanoato de metila (mL).

m , é a massa da amostra (mg).

5.2.2 Espectroscopia no Infravermelho com Transformada de Fourier (IVTF)

As análises por IVTF foram realizadas em um equipamento da marca Bomem, disponível no Departamento de Química da UFPR. Os espectros foram obtidos na faixa de 4000 a 400 cm^{-1} , com resolução de 4 cm^{-1} e 64 varreduras por espectro. Para a análise foram utilizados aproximadamente 20 μL da amostra suportados em pastilhas de 100 mg KBr. Esta análise indicou as principais características estruturais do produto da reação de metanólise *in situ*.

5.2.3 Determinação do Índice de Iodo

Com base no perfil graxo dos ésteres obtidos foi possível estimar o Índice de Iodo (II) segundo o método da AOCS Cd 1c-85 definido por:

$$II = (\%C16 : 1 \times 0,9976) + (\%C18 : 1 \times 0,8986) + (\%C18 : 2 \times 1,810) + (\%C22 : 1 \times 0,7497) \quad (3)$$

5.2.4 Determinação do Índice de Saponificação

Com base no perfil graxo dos ésteres obtidos foi possível estimar o Índice de Saponificação (IS) segundo o método da AOCS Cd 3a-94 definido por:

$$IS = \frac{3 \times 56,1 \times 1000}{[(MM \times 3) + 92,09] - (3 \times 18)} \quad (4)$$

Sendo que,

MM= Massa Molar Média dos ésteres obtidos da metanólise.

5.2.5 Determinação do poder calorífico superior (PCS) e inferior (PCI)

O Poder Calorífico de combustíveis é definido como a quantidade de energia interna contida no combustível, sendo que quanto maior for este parâmetro, maior será a energia contida. Há dois tipos de poder calorífico, o poder calorífico superior (PCS) e o poder calorífico inferior (PCI). O PCS pode ser definido como a quantidade de calor produzido por 1 kg de combustível, quando este entra em combustão, em excesso de ar, e os gases da descarga são resfriados, de modo que o vapor de água gerado seja condensado. Já o PCI é a quantidade de calor que pode produzir 1kg de combustível, quando este entra em combustão com excesso de ar e os gases de descarga são resfriados até o ponto de ebulição da água, evitando assim que a umidade gerada na combustão seja condensada. Dentro deste ponto de vista o PCS foi estimado, de acordo com [94]:

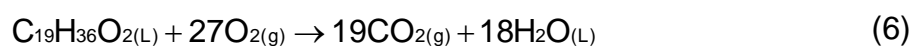
$$PCS = \frac{618000}{IS} - 0,08 \times II - 430 \quad (5)$$

Sendo que,

II = Índice de iodo, (determinado por (3)).

IS = Índice de saponificação, (determinado por (4)).

Para determinar a massa de água, foi levada em consideração a reação de combustão do combustível (considerando a fórmula molecular do oleato de metila, pela similaridade da massa molecular), para posteriormente ser calculado o PCI, conforme se segue:



$$\text{PCI} = \text{PCS} - \text{Hv}(\text{m}_{\text{H}_2\text{O}}(\text{kg})) \quad (7)$$

Sendo que Hv é o calor de aquecimento mais o calor latente de vaporização da água, considerando aqui a temperatura ambiente (20 °C), o calor específico da água (1 kcal / kg . °C) e o calor latente de vaporização (540 kcal / kg).

5.2.6 Estimação das propriedades combustíveis do material obtido

As principais propriedades que determinam a adequação de qualquer material para uso combustível em motores do ciclo diesel podem ser elucidadas por meio do número de cetano, propriedades de fluxo a frio, estabilidade oxidativa, viscosidade e densidade. Estas propriedades são em grande parte definidas pela composição em ésteres graxos do biodiesel [96]. Dentro deste princípio, uma rotina computacional foi desenvolvida, em Matlab® R2006b [97], com o objetivo de estimar as propriedades de um biodiesel com base no seu perfil de ácidos graxos. Para esta comparação

foram utilizados os dados dos óleos de soja, canola, palma [98] e de duas microalgas “1 e 2” [99, 100], além do perfil graxo da microalga “3” obtido neste trabalho.

Esta rotina computacional utiliza uma série de métodos descritos na literatura e, em seguida, aplica regras de mistura (com base na composição química) que permitem o cálculo das propriedades do combustível [97].

5.3 Determinação da Eficiência Energética

Para determinação da eficiência energética de um sistema usualmente é utilizada uma medida de produtividade, também denominada de eficiência produtiva (π) conforme se segue:

$$\pi = \frac{\text{Produtos}}{\text{Insumos}} \quad (8)$$

A eficiência energética a ser determinada diz respeito à produtividade do insumo energia, relacionando os produtos, ou o principal produto (neste caso os monoésteres obtidos), com o consumo total de energia nesse processo. Neste caso é possível utilizar diretamente a seguinte expressão:

$$\eta_{E,BSB} = \frac{m_B \times \text{PCI}(\text{monoésteres})}{E_{(\text{Total})}} \quad (9)$$

Sendo que:

$\eta_{E,BSB}$ = eficiência energética de biomassa seca a biodiesel;

m_B = massa (g) do “biodiesel” obtido no processo;

PCI = Poder calorífico inferior dos monoésteres obtidos;

$E_{\text{(Total)}}$ = Energia consumida no processo.

O gasto energético global está relacionado com a somatória de todas as energias do processo, ou seja, energia elétrica e a energia interna do solvente utilizado e, pode ser estabelecido por:

$$E_{\text{Total}} = E_1 + E_2 + E_3 + \sum_{i=1}^3 U_i \quad (10)$$

Sendo que:

E_1, E_2, E_3 = é dado como o consumo de energia elétrica das etapas do processo de metanólise *in situ*;

$$\sum_{i=1}^3 U_i = \text{Somatória da energia interna dos solventes consumidos.}$$

Como o processo de obtenção dos monoésteres foi realizado em sistema fechado (Figura 18), ou seja, sem a perda de massa do solvente. A energia total pode ser reduzida a:

$$E_{\text{Total}} = \sum_{i=1}^3 E \quad (11)$$

Sendo a energia elétrica em cada etapa determinada por:

$$E = V \times A \times \Delta t \quad (12)$$

Sendo que:

V = Tensão Elétrica

A = Corrente Elétrica

Δt = Variação do tempo

Os conceitos apresentados até o momento permitem a análise da eficiência energética do processo de obtenção dos ésteres (biodiesel), obtidos pela metanólise *in situ*, o diagrama do processo está apresentado na Figura 19.

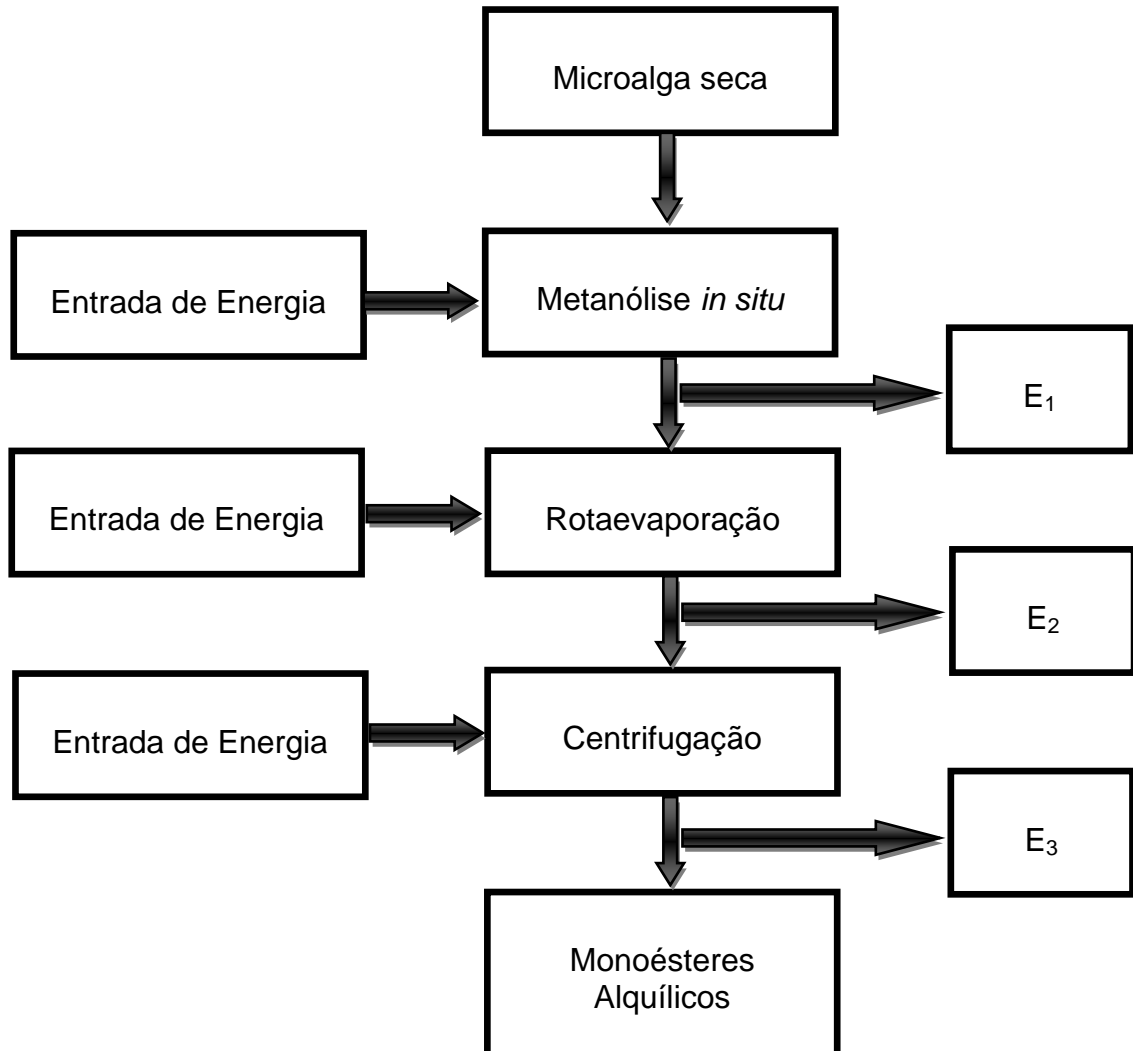


Figura 19 – Diagrama do Processo de obtenção dos monoésteres por metanólise *in situ*.

6 RESULTADOS E DISCUSSÃO

6.1 Processos Investigativos

6.1.1 Extração com Solvente

Com o objetivo de maximizar a extração do material graxo da microalga foi investigado a potencialidade de solventes orgânicos. Também foram investigados o

tempo de extração, para aumentar a acessibilidade do solvente à biomassa microalgal, e a *polaridade do solvente* (hexano ou álcool etílico), uma vez que os lipídeos das microalgas encontram-se em três diferentes formas (ligações apolares, ligações eletrostáticas e pontes de hidrogênios e, ainda, as ligações covalentes resultantes da união de ácidos graxos e oxiácidos com polissacarídeos) ⁶ [101], os principais resultados dos 60 experimentos (12 x 5) realizados, estão apresentados na Tabela 7.

Tabela 7 – Resultados das extrações dos lipídeos de microalgas.

Microalga	Método de Secagem	Solvente / Tempo de extração	Rendimento em lipídeos (m/m)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Liofilizado	Hexano/6h	8,22±4,6939%
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Spray drier	Hexano/6h	11,16±10,2374%
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	Estufa	Hexano/6 h	4,07±1,7567%
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Liofilizado	Hexano/24h	14,68±12,1558%
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Spray drier	Hexano/24h	3,76± 1,7671%
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	Estufa	Hexano/24 h	7,67±3,3268%
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Liofilizado	Álcool Etílico/6h	8,11±3,1812%
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Spray drier	Álcool Etílico/6h	3,82±0,7472%
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	Estufa	Álcool Etílico/6h	3,39±0,9835%
<i>Nannochloropsis oculata</i>	Liofilizado	Álcool Etílico/24h	32,89±7,0693%
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	Spray drier	Álcool Etílico/24h	4,34±0,8766%
<i>Thalassiosira fluviatilis</i>	Estufa	Álcool Etílico/24h	15,25±3,3622%

Embora os valores possam apresentar alguma significância numérica, estão longe dos valores descritos na literatura (exceto o valor médio da extração com álcool etílico para a espécie *Nannochloropsis oculata*, com tempo de extração de 24h), além de não apresentarem boa repetibilidade experimental. Esta discrepância de resultados pode estar associada à característica das microalgas, principalmente

⁶ KATES, M.; WORK, E. Lipids extraction procedures. En: *Technics of lipidology, Isolation, Analysis and Identification of lipids*. North Holland Publishing Company. 607p.

no que se fala, ao rompimento da parede celular, o que dificulta a permeabilidade do solvente responsável pela extração aos compostos interno da microalga.

Estes valores estão relacionados com o extrato bruto, sendo necessária uma segunda etapa, ou seja, a purificação do óleo obtido (Figura 20). Como proposta de purificação foi utilizada a norma AOCS Cd 11c-93 para separação dos triacilglicerídeos dos demais compostos, sendo que após esta etapa ocorreu uma redução em torno de 50% (dos principais resultados) em relação à extração inicial (m/m), o que reduziu significativamente o volume de óleo, inviabilizando a etapa seguinte da “síntese do biodiesel”. Com essas dificuldades tornou-se evidente a necessidade de alternativas para o processo de produção dos monoésteres (biodiesel).



Figura 20 – Purificação com coluna de sílica gel do óleo bruto.

6.1.2 Reação de Metanólise *in situ*

Com as dificuldades encontradas na extração do óleo, foram realizadas várias buscas na literatura sobre alternativas para a produção de monoésteres a partir do óleo de microalgas, na qual foram encontrados 3 trabalhos relacionados [102,103], sendo que um deles foi publicado recentemente [48], por sua vez, este mais completo, levando em consideração as variáveis que influenciam a reação de metanólise *in situ*.

A reação de síntese ocorreu conforme descrito no item 2.1., de acordo com a literatura [102, 103]. No entanto, com a proposta de obter maiores quantidades destes monoésteres, foi alterada a rota sintética, aumentando proporcionalmente (~10 x) a massa da microalga e os reagentes utilizados para a reação, em relação à metodologia proposta na literatura.

Com relação aos resultados, foram realizados 11 experimentos, obtendo-se um rendimento médio de 23,07% \pm 2,76 (m/m) ou (0,4614g). Ao contrário da proposta de extração, a transesterificação *in situ* apresentou valores satisfatórios tendo em vista que esta reação foi processada em uma única etapa (Figura 18), sem a necessidade das etapas de extração e purificação do óleo.

Como formas de caracterização do material obtido foram realizados os ensaios de IVTF e CG-EM, com os resultados sendo coerentes com as propriedades químicas de ésteres.

A análise dos espectros de IVTF (Figura 22) permitiu identificar as bandas características das ligações que fazem parte da estrutura orgânica dos monoésteres graxos [91]. Assim, foram claramente caracterizadas as deformações axiais de C=O (1741cm⁻¹) e C-O (1168-1243 cm⁻¹) de ésteres, além das deformações axiais e

angulares de C-H nas regiões de 2921, 1461, 1377 e 719 cm^{-1} . Todas as amostras obtidas apresentaram o mesmo perfil de IVTF (Figura 23).

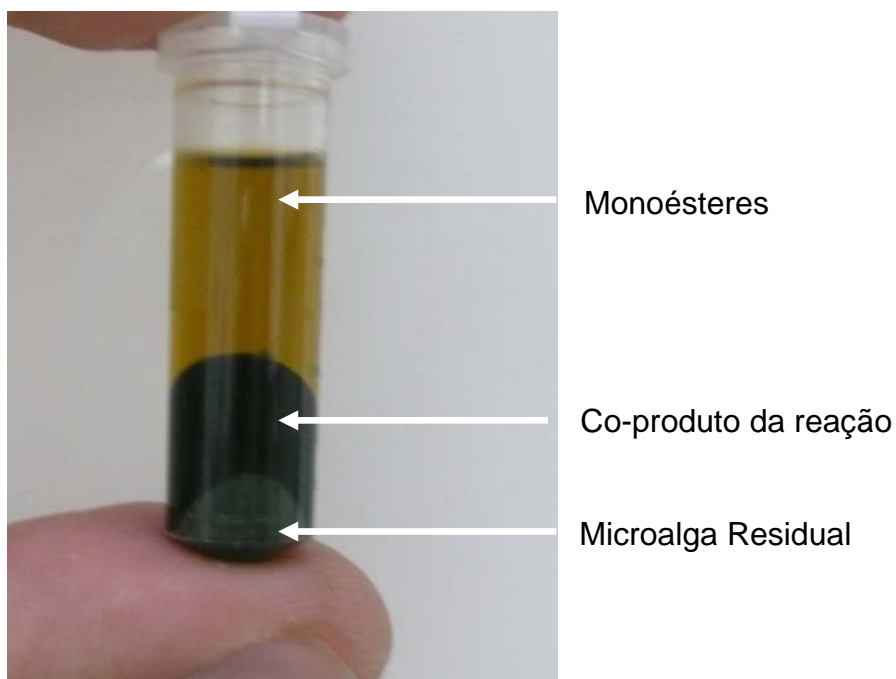


Figura 21 – Síntese de ésteres graxos por metanólise *in situ*.

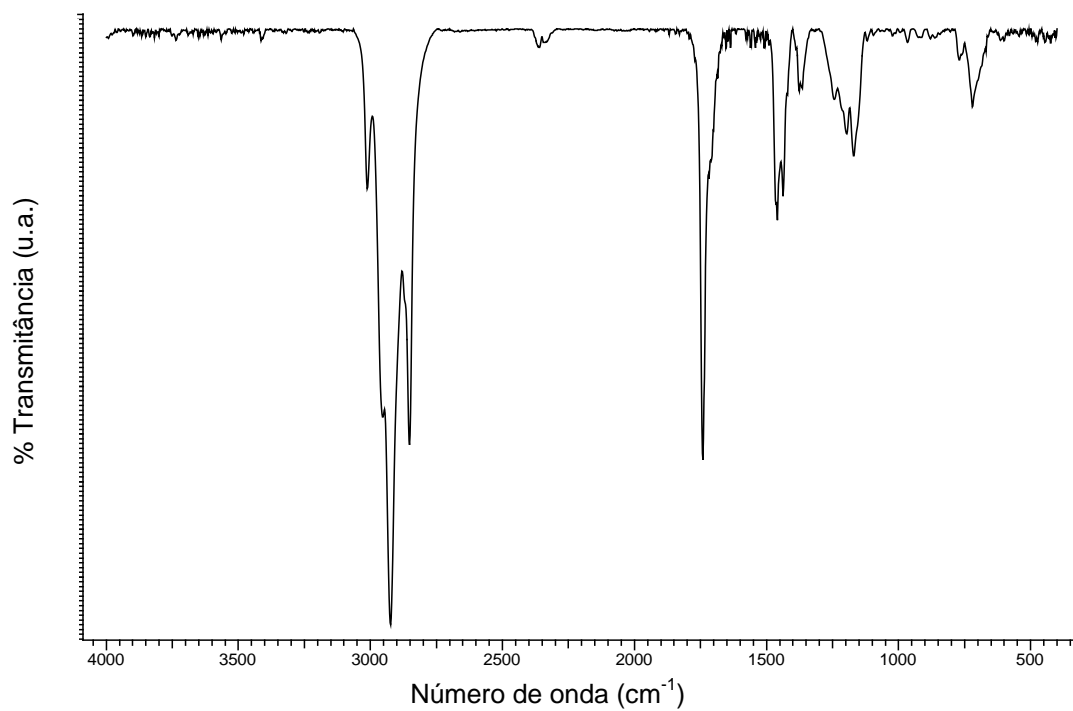


Figura 22 - Espectro no IV do material obtido por meio da metanólise *in situ*

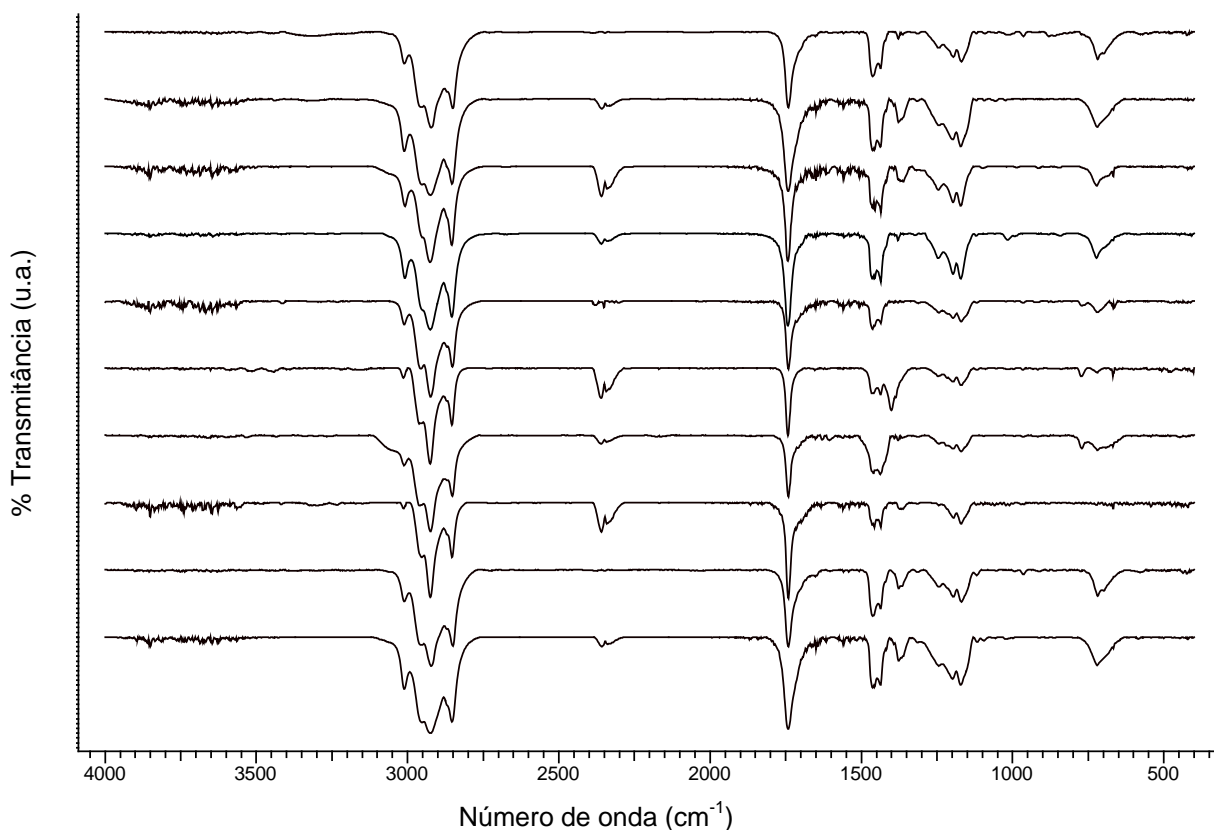


Figura 23 - Espectro das dez amostras da reação de metanólise in situ

As principais deformações associadas aos ésteres estão relacionadas na Tabela 8, embora na Figura 23 possa ser observado em alguns espectros picos em torno de 2400 cm^{-1} , sendo esta absorção relacionada ao CO_2 que possa ter ficado no compartimento da amostra, sendo assim não apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 - Principais bandas no IV identificadas na amostra

Tipo de Deformação	Faixa de absorção
Deformação axial CH_3	$1493 - 1378\text{ cm}^{-1}$
Deformação axial $\text{C} = \text{O}$	$1750 - 1735\text{ cm}^{-1}$
Deformação axial $\text{C} - \text{O}$	$1240 - 1163\text{ cm}^{-1}$
Deformação axial (éster saturado) $\text{C} - \text{O}$	$1210 - 1163\text{ cm}^{-1}$
	$3000 - 2800\text{ cm}^{-1}$
Deformação axial, angular $\text{C} - \text{H}$	$1470 - 1370$
	$860 - 720$

Fonte [91], adaptado pelo autor.

Para confirmação da obtenção de monoésteres graxos, foi realizado a análise por CG-EM, com o intuito de explorar o perfil graxo deste material, conforme pode ser observado na Figura 24.

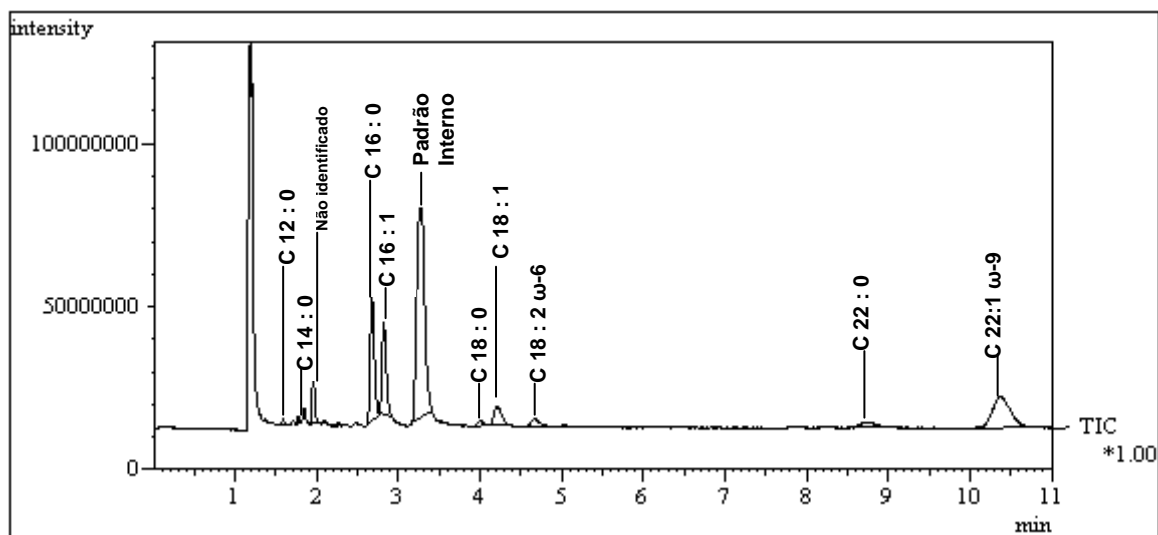


Figura 24 – Cromatograma (CG) da amostra da reação de metanólise *in situ*.

Tendo em vista que a quantificação do ensaio cromatográfico foi realizada com padronização interna, foi necessário a utilização de um espectrômetro de massas para investigar os picos relacionados à amostra e poder elucidar a sua composição. Após obtenção do cromatograma, que revelou a presença de 10 compostos, cada pico foi comparado com os dados da biblioteca NIST, disponível no cromatógrafo utilizado, o que levou a identificação de 9 monoésteres metílicos, sendo que apenas um destes não foi possível identificar com base nos dados utilizado.

Após a realização destes ensaios e com a caracterização confirmando a presença de monoésteres alquílicos, e com base no perfil graxo, foi possível

identificar alguns parâmetros de interesse, como: massa molar, índice de iodo, índice de saponificação, poder calorífico superior e inferior e a eficiência energética.

Tabela 9 – Perfil graxo da amostra resultante da metanólise *in situ*.

Ácido Graxo	Área do Pico (A _L)	% de Cada Pico
1- Laurato de Metila	3589695	0,58
2- Miristolato de Metila	41761198	6,76
3- Não identificado	1496426	0,24
4- Palmitato de Metila	173966221	28,18
5- Palmitoleato de Metila	139585603	22,61
6- Estearato de Metila	6368301	1,03
7- Oleato de Metila	38226088	6,19
8- Linoleato de Metila	16709214	2,71
9- Behenoato de Metila	24998298	4,05
10- Erucicolato de Metila	170715849	27,65

6.1.3 Estimação de algumas propriedades do biodiesel obtido

Com base na composição química (Figura 25) dos ésteres metílicos da *N. oculata*, pode-se esperar que o biodiesel obtido apresente alto índice de cetano, sendo que esta propriedade aumenta com o grau de saturação e o tamanho da cadeia hidrocarbônica do produto [96]. Espera-se, também, que os ésteres metílicos derivados desta microalga apresentem estabilidade oxidativa relativamente baixa, já que aproximadamente 60 % de seus componentes são ésteres graxos insaturados. Este produto ainda poderá apresentar problema de fluxo a frio, caracterizado pela cristalização de ésteres graxos saturados de alta massa molar como o ácido erucico, no entanto, este problema poderá ser resolvido por meio de um processo de winterização [104], objetivando fracionar os materiais graxos de alto ponto de fusão para que o biodiesel obtido da microalga *N. oculata* passe a apresentar melhores propriedades combustíveis.

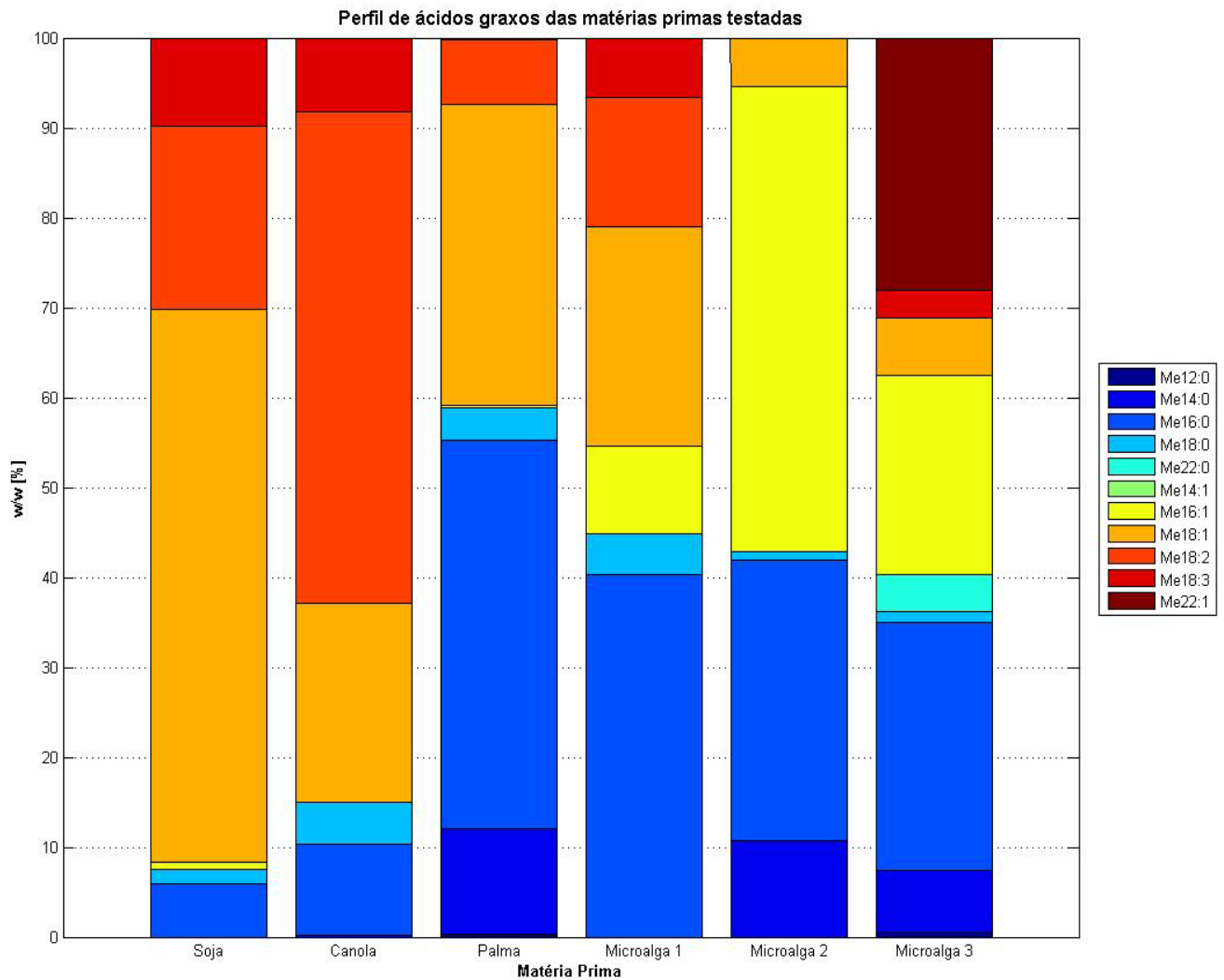


Figura 25 - Perfil de ácidos graxos das matérias primas testados na estimação

No entanto, o número de cetano é uma medida das características da qualidade do combustível de auto-ignição. Combustíveis com baixo número de cetano podem causar ruído, emissões de gases como hidrocarbonetos e NO_x , além de material particulado ⁷[105].

O número de cetano depende do comprimento da cadeia e do número de duplas ligações. Assim, aumenta com o aumento da cadeia de ácidos graxos e diminui quando se aumenta o número de ligações duplas [105]. Como pode ser

⁷ Worldwide Fuel charter, 2006. Biodiesel Guidelines. First edition.

observado na Figura 25, aproximadamente 30% da composição dos ésteres obtidos é representado por ácidos graxos com 22 carbonos em sua estrutura associados com aproximadamente 40 % de ácidos graxos saturados. Isto poderia contribuir para o alto valor encontrado para o número de cetano, como mostrado na Figura 26, apresentando valores superiores aos mínimos valores admitidos pelas normas EN 14214, ASTM D 6751 (NC 51 e NC 47 respectivamente).

O aumento do número de cetano a um certo nível (cerca de 60) tem sido posto em discussão para a redução dos gases NO_x [106, 107, 108]. Desta forma, poder-se-ia esperar que o biodiesel obtido neste trabalho possa apresentar baixas emissões de NO_x , quando comparados ao outros biodiesel, i.g. soja e canola.

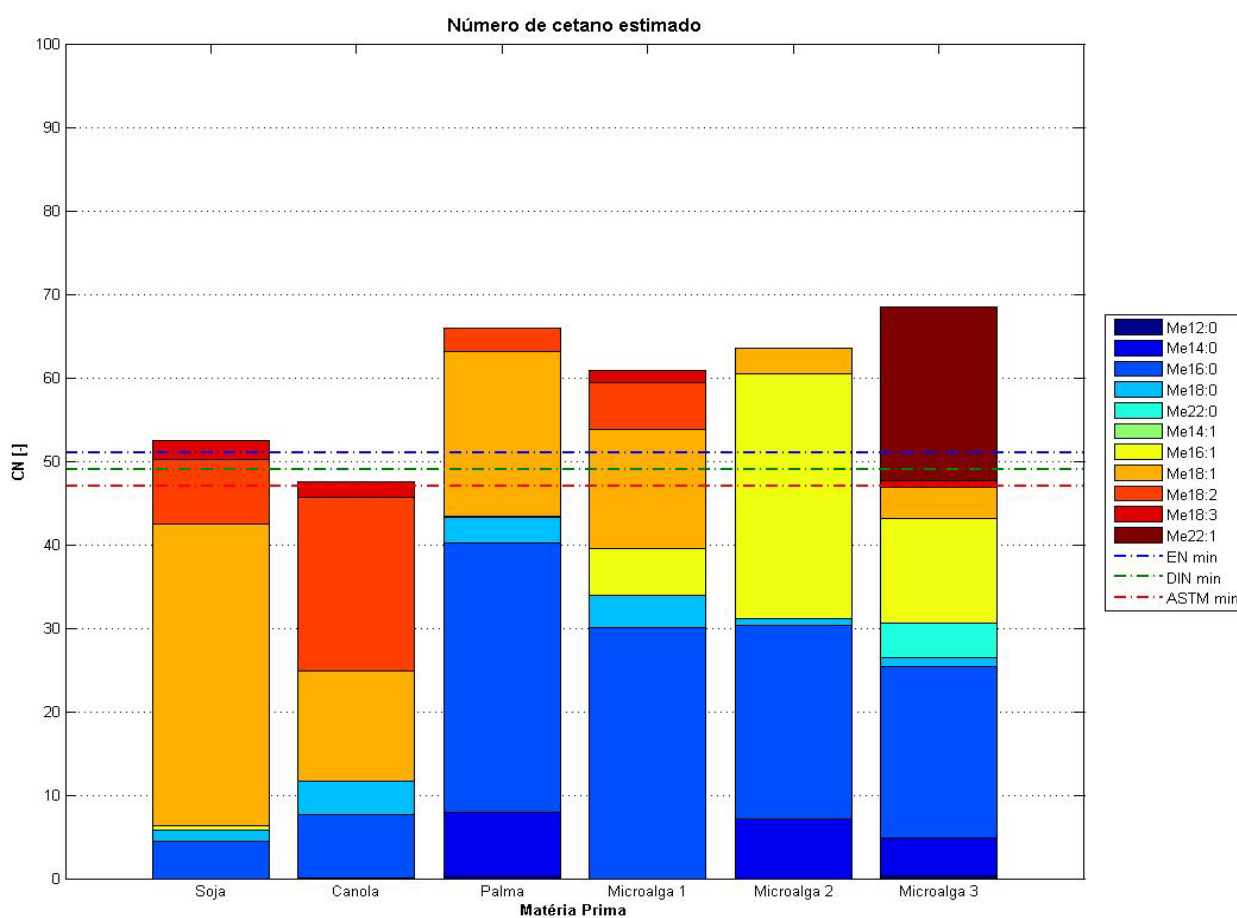


Figura 26 - Número de cetano estimado (NC)

Reduzir a elevada viscosidade dos óleos vegetais é a principal razão para a produção de ésteres alquílicos, pois esta alta viscosidade leva a problemas operacionais em motores do ciclo diesel, por exemplo, o aumento de depósitos de carbono nos motores [109].

A viscosidade de um éster graxo aumenta com o comprimento da cadeia e o índice de saturação [96]. No entanto, apenas duplas ligações *cis* causam uma notável redução da viscosidade, quando comparadas com ésteres de ligações duplas *trans*, demonstrando, assim, viscosidade semelhante ao éster quando saturado [96]. Assim, quando se avalia o perfil graxo dos ésteres obtido (microalga 3), pode-se prever que este deverá apresentar alta viscosidade (Figura 27), sendo que mais de 40 % são derivados de ácidos graxos saturados, mas ainda assim está dentro dos parâmetros estabelecidos pela ANP, que está entre 3 – 6 mm²/s. No entanto, está fora do estabelecido pela norma DIN EN 14214 que está entre 3,5 – 5,5 mm²/s.

A viscosidade do biodiesel aumenta com o comprimento da cadeia carbônica e com o grau de saturação [96] e tem influência no processo de queima na câmara de combustão do motor. Alta viscosidade ocasiona heterogeneidade na combustão do biodiesel, devido à diminuição da eficiência de atomização na câmara de combustão, ocasionando a deposição de resíduos nas partes internas do motor [109].

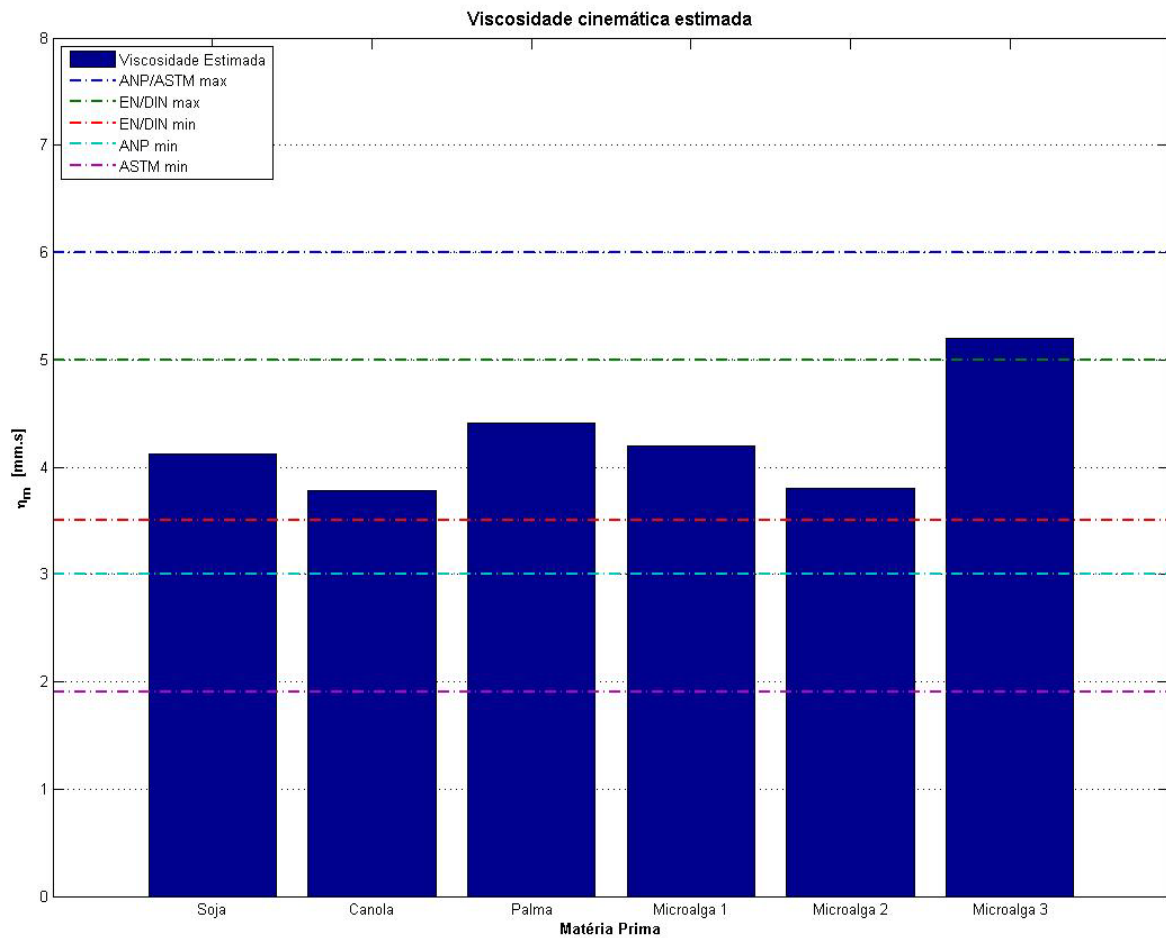


Figura 27 - Viscosidade cinemática estimada

6.2 Caracterização de consumo de energia & Eficiência Energética

Para o cálculo de eficiência energética, foram utilizados os parâmetros adquiridos no processo de produção (*input e output*). Para o consumo de energia elétrica que ocorreu em três etapas distintas do processo (Figura 19), o cálculo foi realizado como segue, para cada uma destas etapas:

$$E = V \times A \times \Delta t$$

$$E_1 = 110 \times 0,9 \times 7200$$

$$E_1 = 712800J$$

$$E_2 = 220 \times 5,2 \times 2460$$

$$E_2 = 2814240\text{J}$$

$$E_3 = 220 \times 0,2 \times 600$$

$$E_3 = 26400\text{J}$$

Desta forma foi possível calcular a energia total consumida no processo de obtenção dos monoésteres, ou seja, da biomassa seca (microalga) até o produto final (monoésteres de alquila).

$$E_{\text{Total}} = E_1 + E_2 + E_3$$

$$E_{\text{Total}} = 712800 + 2814240 + 26400$$

$$E_{\text{Total}} = 3553440 = 850,1\text{kcal}$$

Para a determinação do poder calorífico inferior e superior, foi necessário calcular a massa molar média dos monoésteres obtidos, esta por sua vez foi obtida por meio da composição química determinada por CG-EM (Tabela 9). Assim, foi determinada a massa molar média, por meio da média ponderada dos picos cromatográficos em relação à massa molar de cada ácido graxo que compõe os respectivos monoésteres metílicos, conforme observado na Tabela 10.

Tabela 10 – Base de cálculo para a massa molar média dos monoésteres

Ácido Graxo	Massa molar (g/mol)	% de Cada pico
1- Ácido Laurico	200,30	0,58
2- Ácido Mirístico	228,37	6,76
3- Não Identificado		0,24
4- Ácido Palmítico	256,42	28,18
5- Ácido Palmitoleico	254,41	22,61
6- Ácido Esteárico	284,48	1,03
7- Ácido Oleico	282,46	6,19
8- Ácido Linoleico	280,45	2,71
9- Ácido Behênico	340,58	4,05
10- Ácido Erucico	338,57	27,65
Massa Molar Média	274,00 g/mol	

Utilizando os dados da massa molar (MM) média foi possível chegar ao índice de saponificação, sendo calculado conforme a equação 4.

$$IS = \frac{3 \times 56,1 \times 1000}{[(274,00 \times 3) + 92,09] - (3 \times 18)}$$

$$IS = \frac{168300}{860,09}$$

$$IS = 195,68 \text{mgKOH/gamostra}$$

Utilizando o mesmo princípio realizado na determinação da massa molar média, foi determinado o Índice de Iodo conforme descrito na equação 3. O cálculo utilizado está exposto abaixo:

$$II = (\%C16 : 1 \times 0,9976) + (\%C18 : 1 \times 0,8986) + (\%C18 : 2 \times 1,810) + (\%C22 : 1 \times 0,7497)$$

$$II = (22,61 \times 0,9976) + (6,19 \times 0,8986) + (2,71 \times 1,810) + (27,65 \times 0,7497)$$

$$II = 53,75 \text{gl/100gamostra}$$

O índice de iodo representa à verdadeira insaturação dos ácidos graxos presentes em uma amostra. Quando as insaturações não são conjugadas e nem estão em posições adjacentes à carboxila, pois nesses casos a adição dos halogênios seria incompleta, ou seja, não seria quantitativa. Por sua vez, valores para o índice de iodo acima de 135 levam a produção de um biodiesel inaceitável para fins carburantes devido à tendência a formar depósitos de carbono

Por outro lado, uma grande parcela da composição química deste material graxo é proveniente do ácido erucico (C 22:1 ω9). Este é um ácido graxo monoinsaturado classificado como Omega 9, ou seja, sua insaturação está entre os carbonos 9 e 10 da cadeia carbônica (sendo esta contagem feita a partir da extrema oposta a ligação éster). Isto já era esperado, pois as microalgas apresentam alta

potencialidade de sintetizar este composto, além dos classificados como Omega 3 [110].

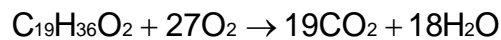
Seguindo a base de cálculo, foram determinados o poder calorífico superior (PCS) e o poder calorífico inferior (PCI).

$$PCS = \frac{618000}{IS} - 0,08 \times II - 430$$

$$PCS = \frac{618000}{195,68} - 0,08 \times 53,75 - 430$$

$$PCS = 2723,92 \text{ kcal / mol}$$

Para a determinar o PCI foi necessário levar em consideração a massa de água produzida na reação de combustão. Esta massa é determinada pela equação química abaixo (levando em consideração a fórmula molecular do oleato de metila, devido sua proximidade da massa molar dos monoésteres obtidos), e também o fator Hv (calor de aquecimento), sendo assim os cálculos seguem abaixo:



$$n^{\circ} \text{ mols} = \frac{\text{massa(g)}}{\text{MM(g/mol)}}$$

$$18 = \frac{\text{massa}}{18}$$

$$\text{massa}_{H_2O} = 324 \text{ g}$$

$$Hv = Q_{\text{aquecimento}} + Q_{\text{vaporização}}$$

$$Hv = (100 - 20) + 540$$

$$Hv = 620 \text{ kcal / kg}$$

Após a aquisição de todos esses dados, foi possível determinar o PCI, levando em consideração a massa de água perdida no processo de combustão.

$$\begin{aligned} \text{PCI} &= \text{PCS} - H_v(m_{\text{H}_2\text{O}}) \\ \text{PCI} &= 2723,92 - 620(0,324) \\ \text{PCI} &= 2523,04 \text{kcal / mol} \end{aligned}$$

Com estes dados foi então determinada a eficiência energética do processo de obtenção de biodiesel por metanólise *in situ*, conforme segue abaixo:

$$\begin{aligned} \eta_{\text{E,BSB}} &= \frac{m\text{B} \times \text{PCI}}{E_{\text{Total}}} \\ \eta_{\text{E,BSB}} &= \frac{0,4614 \times 2523,04}{850,11} \\ \eta_{\text{E,BSB}} &= 1,37 \end{aligned}$$

Com base nos valores obtidos, observa-se que a energia de saída do sistema (*output*), ou seja, a energia liberada pelo produto é maior que a energia consumida no processo (*input*). Assim, podemos dizer que existe uma sustentabilidade bioenergética neste processo.

Devido a falta de informação nesta área de bioprocessos, foram utilizados alguns parâmetros com intuito meramente comparativo. Sendo assim, quando o valor obtido neste trabalho (1,37) é comparado com a eficiência energética do biodiesel de soja e girassol estabelecido em 1,06 e 1,12, respectivamente [111], ou ainda quando comparado ao do bioetanol que foi relatado ser de 1,10 [112], podemos observar superioridade da microalga, embora a base para o cálculo da eficiência energética do biodiesel de soja e girassol tenha sido diferente, i.e, foi levado em consideração os produtos agrícolas para tal produção, e que neste trabalho não foi considerado (sendo o meio nutritivo do cultivo), e assim poderia

reduzir o valor obtido. No entanto, espera-se que a microalga tenha valor superior que outras oleaginosas.

A perspectiva de produção em larga escala das microalgas para aplicações em biocombustíveis é motivada pela alta produtividade que estes microorganismos podem alcançar. Em contra partida, uma grande quantidade de biomassa é gerada após o processo de produção do biodiesel.

Na perspectiva de cultivos em grande escala, a quantidade de biomassa residual e as quantidades de fertilizantes utilizados para o cultivo devem ser consideradas, levando assim a uma eficiência energética total.

A digestão anaeróbica é um processo fundamental que pode resolver o problema dos resíduos de microalga do processo de produção de biodiesel, bem como o equilíbrio econômico-energético [83]. Na verdade, a conversão da biomassa algal após a extração lipídica em biogás é um processo que pode recuperar mais energia do que a energia dos lipídeos da célula [113].

O balanço energético total da microalga é superior ao do bioetanol quando considerado a co-geração de energia por meio do biogás da microalga residual do processo do biodiesel [83]. Assim, segundo este mesmo autor, pode ser estimado a potencialidade da geração total de energia pela microalga, sendo aqui adaptados os valores encontrados neste estudo, conforme segue abaixo:

$$Y_E = E_{\text{óleo}} \times P_{\text{óleo}} + E_{\text{biogás}} \times P_{\text{biogás}}$$

Sendo que:

Y_E , é a energia total produzida por ano ($\text{GJ} \cdot \text{ha}^{-1} \cdot \text{ano}^{-1}$).

$E_{\text{óleo}}$, é a energia contida no óleo (sendo atribuído o valor de $37,9 \times 10^{-3} \text{ GJ} \cdot \text{kg}^{-1}$ valor este encontrado para o óleo de colza, sendo este valor utilizado) [83].

$E_{\text{biogás}}$, é a energia liberada pelo biogás (sendo atribuído o valor de 25×10^{-3} GJ.m⁻³ [83]).

$P_{\text{óleo}}$, é a produtividade do óleo expressa kg.ha⁻¹.ano⁻¹, sendo este determinado como segue:

Considerando a produtividade (fotobioreator) de 0,048 kg . ha⁻¹. ano [31] e o “*production facility*” de 0,9 (90%), e o $X_{\text{óleo}}$, esta, sendo a fração contida de óleo na biomassa, que no caso foi utilizado o valor percentual do biodiesel obtido neste trabalho, como descrito no item 6.1.2, *acrescido* de 10% proveniente da glicerina total contida na estrutura do triacilglicerídeo [6, 114].

$$P_{\text{biomassa}} = 0,048 \frac{\text{kg}}{\text{m}^2 \times \text{dia}} \times 10^4 \frac{\text{m}^2}{\text{ha}} \times 365 \frac{\text{dia}}{\text{ano}} \times 0,9$$

$$P_{\text{biomassa}} = 157680 \frac{\text{kg}}{\text{ha} \times \text{ano}}$$

$$P_{\text{óleo}} = X_{\text{óleo}} \times P_{\text{biomassa}}$$

$$P_{\text{óleo}} = 0,33 \times 157680$$

$$P_{\text{óleo}} = 52034,40 \frac{\text{kg}}{\text{ha} \times \text{ano}}$$

$P_{\text{biogás}}$, é a produtividade por área de biogás (sendo assumido a quantidade produzida de biogás ($Y_{\text{biogás}}$) de 0,5 m³. Kg⁻¹ [83]). Assim foi possível calcular:

$$P_{\text{biogás}} = (1 - X_{\text{óleo}}) \times P_{\text{biomassa}} \times Y_{\text{biogás}}$$

$$P_{\text{biogás}} = (1 - 0,33) \times 157680 \times 0,5$$

$$P_{\text{biogás}} = 52822,80 \frac{\text{m}^3}{\text{ha} \times \text{ano}}$$

Aplicando estes valores na equação mencionada para o cálculo da energia total produzida por ano, tem-se:

$$Y_E = E_{\text{óleo}} \times P_{\text{óleo}} + E_{\text{biogás}} \times P_{\text{biogás}}$$

$$Y_E = 37,90 \times 10^{-3} \frac{\text{GJ}}{\text{ha} \times \text{ano}} 52034,40 \frac{\text{kg}}{\text{ha} \times \text{ano}} + 25 \times 10^{-3} \frac{\text{GJ}}{\text{m}^3} \times 52822,80 \frac{\text{m}^3}{\text{ha} \times \text{ano}}$$

$$Y_E = 3292,67 \frac{\text{GJ}}{\text{ha} \times \text{ano}}$$

Desta forma, é possível determinar o balanço energético real (Y_n) contido na biomassa de microalgas, sendo ainda necessário descontar o valor da produção de biodiesel. Como descrito a baixo:

$$Y_n = Y_E \times \left(1 - \frac{1}{\eta_{E,BSB}} \right)$$

$$Y_n = 3292,67 \times \left(1 - \frac{1}{1,37} \right)$$

$$Y_n = 889,26 \frac{\text{GJ}}{\text{ha} \times \text{ano}}$$

No entanto, neste valor não está contida a energia consumida na secagem da microalga. No projeto onde este trabalho foi apoiado, as microalgas estão sendo secas em um equipamento de Spray drier, disponível na UFPR. Com a utilização do spray drier foi possível determinar o consumo energético, sendo este valor de, 2812,297 MJ.dia⁻¹, necessário para obter 240 kg.dia⁻¹ de microalga seca [115] e, considerando que neste trabalho foi utilizado 2 g de microalga para a reação de metanólise *in situ*, pode-se dizer que seria necessários 5,6 kcal para a secagem da microalga. Assim, incorporando este valor para o cálculo da eficiência energética, tem-se:

$$\eta_E = \frac{0,4614 \times 2523,04}{850,11 + 5,6}$$

$$\eta_E = 1,36$$

Sendo calculado novamente o balanço energético real como descrito acima, temos $Y_n = 871,59 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{ano}^{-1}$.

Neste sentido o balanço energético real da microalga foi 5,3 vezes superior ao balanço energético da cana-de-açúcar (etanol e bagaço), sendo o balanço energético da cana-de-açúcar de $163,9 \text{ GJ}\cdot\text{ha}^{-1}\cdot\text{ano}^{-1}$ [83, 116].

7 CONCLUSÕES E SUGESTÕES

7.1 Conclusões

A metanólise *in situ* a partir de microalgas apresentou valores satisfatórios no que diz respeito a eficiência energética. Assim podemos dizer que a energia liberada neste processo é maior do que a energia consumida, desta forma, o processo de obtenção de biodiesel de microalgas por metanólise *in situ* apresenta-se energeticamente viável, precisando ainda ser feitos estudos referentes à viabilidade econômica.

Referente à extração do óleo, verificou-se que não é simples como relatado em alguns artigos e, ainda, uma enorme dificuldade em relação à repetibilidade dos ensaios.

Os resultados obtidos neste trabalho comprovam que pode ser produzido biodiesel a partir de microalgas. Desta forma, as algas podem ser utilizadas como fontes renováveis de energia. Muitos pesquisadores relataram que é necessário melhorar o cultivo das microalgas, tanto no aspecto nutricional (meio de cultivo) como nas formas de cultivar estas (Fotobiorreatores), para maximizar a produção de biomassa e, também, seu teor de lipídeos, aumentando assim a produção de biodiesel e reduzindo o custo final deste biocombustível. No atual nível biológico de performance dos lipídeos de microalgas relatado na literatura, estas encontram economicamente inviáveis (~\$ 7/gal) quando comparadas com o óleo de girassol (~\$ 3.16/gal) [81].

Em relação aos aspectos industriais os equipamentos e processos utilizados ainda hoje nas indústrias, têm uma grande parcela de responsabilidade pelas perdas de energia verificadas no balanço energético. Do ponto de vista operacional, econômico ou ambiental as perdas trazem prejuízos para toda a cadeia produtiva,

sendo assim, a metanólise *in situ* evita o consumo abusivo de energia além de reduzir etapas do processo global.

Em resumo, as principais conclusões desta Dissertação são:

1. A metanólise *in situ* para a síntese do biodiesel de microalgas é possível de ser realizada em laboratório e pode ser ampliada para a escala industrial;
2. A análise energética realizada demonstra o potencial de utilização industrial da técnica de síntese de biodiesel a partir da biomassa de microalgas desenvolvida neste trabalho, com uma eficiência energética calculada de 1,408, i.e., produzindo 40 % a mais de energia na forma de biodiesel do que a energia consumida no processo de obtenção do biocombustível;
3. A microalga pode gerar aproximadamente 6 vezes mais energia por área por ano, quando comparado ao bioetanol proveniente da cana de açúcar (álcool e bagaço), totalizando uma geração de 954,118 GJ.ha⁻¹.ano⁻¹, sendo o bioetanol 163,9 GJ.ha⁻¹.ano⁻¹;
4. A extração do óleo a partir da microalga não é um processo simples como relatado na literatura, embora possam ser utilizados outros solventes que podem melhorar a extração, além de outros métodos.

7.2 Sugestões para trabalhos futuros

1. Os ésteres obtidos até o momento baseiam-se na reação em que não foi otimizado o processo de síntese. Sendo assim, é importante avaliar algumas condições para que se obtenha a maximização dos rendimentos mássicos neste processo. Desta forma, torna-se interessante o estudo das seguintes condições:
 - a. Razão volumétrica álcool : ácido;
 - b. Temperatura da reação;
 - c. Natureza do ácido;

2. Estudos ainda relacionados á viabilidade técnico-econômica, incorporando os valores relacionados aos materiais necessários para a construção dos sistemas de cultivo;
3. A complementação deste estudo com o balanço energético referente aos insumos utilizados para cultivar as microalgas (micro e macronutrientes);
4. A aquisição de valores reais de produtividade dos cultivos em batelada, bem como em fotobioreatores.
5. Um estudo sócio-econômico da taxa de retorno para o investimento na geração de energia por meio de microalgas.

8 REFERÊNCIAS

1. BRASIL. Empresa de Pesquisa Energética: Balanço Energético Nacional 2009 – Ano base 2008: Resultados Preliminares, Rio de Janeiro: EPE, 2009 Disponível em:
<https://ben.epe.gov.br/down/ResultadosPreBEN2009.pdf.pg18>. Acesso em: 12/08/09.
2. VICHI, Flavio Maron; MANSOR, Maria Teresa Castilho. Energia, meio ambiente e economia: o Brasil no contexto mundial. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 3, p.757-767, 2009.
3. BRESSAN FILHO, A. A CONAB e os biocombustíveis: O uso da biomassa como nova fonte energética mundial. In: Abastecimento e segurança alimentar: O crescimento da agricultura e a produção de alimentos no Brasil. Brasília: CONAB, 2008. p.147 – 212.
4. CORDEIRO, Claudiney Soares. **Compostos lamelares como catalisadores heterogêneos em reações de (trans)esterificação (m) etílica**. 2008. 168 f. Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2008.
5. BRASIL. Antônio Jorge de Oliveira. Embrapa Informação Tecnológica. **Plano Nacional de Agroenergia 2006-2011**. 2. ed. Brasília, 2006. 114 p.
6. CORDEIRO, Claudiney Soares. **Síntese e caracterização de biodiesel etílico para utilização em motores do ciclo-diesel**. 2003. 99 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós - Graduação em Engenharia Mecânica e de Materiais, Centro Federal de Educação Tecnológica do Paraná, Curitiba, 2003.
7. RAMOS, Luiz Pereira *et al.* Optimization of the ethanolysis of *Raphanus sativus* (L. Var.) crude oil applying the response surface methodology. **Bioresource Technology**, [s.i.], n. 99, p.1837-1845, 12 jun. 2007.
8. AL-WIDYAN, Mohamad I.; TASHTOUSH, Ghassan; ABU-QUDAIS, Moh'd. Utilization of ethyl ester of waste vegetable oils as fuel in diesel engines. **Fuel Processing Technology**, [s.i.], n. 76, p.91-103, 01 dez. 2001.
9. SCHUCHARDT, Ulf; SERCHELI, Ricardo; VARGAS, Rogério Matheus. Transesterification of Vegetable Oils: a Review. **Journal Brazilian Chemical Society**, Brazil, v. 9, n. 1, p.199-210, 09 maio 1997.

10. FISCHER, G.; SCHRATTENHOLZER, L. Global bioenergy potentials through 2050. **Biomass & Bioenergy**, Pergamon, v.20, n.3, p. 151-159, mar., 2001.
11. CORDEIRO, C.S.; ARIZAGA, G. G. C.; RAMOS, L. P.; WYPYCH, F. A new zinc hydroxide nitrate heterogeneous catalyst for the esterification of free fatty acids and the transesterification of vegetable oils. **Catalysis Communications**, v.9, n.11-12, p. 2140-2143, 2008.
12. KUCEK, K.T.; OLIVEIRA, M.A. F. C.; WILHELM, H. M.; RAMOS, L. P. Ethanolysis of Refined Soybean Oil Assisted by Sodium and Potassium Hydroxides. **Journal of American Oil Chemists' Society**, v. 84, p. 385-392, 2007.
13. SUAREZ, Paulo A. Z.; MENEGHETTI, Simoni M. Plentz. 70º Aniversário do biodiesel em 2007: Evolução histórica e situação atual no Brasil. **Química Nova**, São Paulo, v. 30, n. 8, p.2068-2071, 9 nov. 2007.
14. BIODIESEL NO MUNDO. Disponível em:
http://www.biodieselbrasil.com.br/biodiesel_mundo.asp . Acesso em 01/11/2009.
15. GATEAU, P.; GUIBET, J. C.; HILLION, G.; STERN, R.; *Rev. L'Institut Français du Pétrole* **1985**, 40, 509.
16. KEIM, G. I.; *US* 2,383-601, **1945** (CA 1946, 40, 4617).
17. BIODIESEL no mundo. Disponível em:
<http://www.biodieselbr.com/biodiesel/mundo/biodiesel-no-mundo.htm>. Acesso em: 01/11/09.
18. National Biodiesel Board (NBB). Disponível em: <http://www.biodiesel.org/>. Acesso em: 01/11/09.
19. EUROPEAN BIODIESEL BOARD. Disponível em: <http://www.ebb-eu.org>. Acesso em: 01/11/09.
20. BIOFUELS PLATFORM. Production of biofuels in the world in 2008. Disponível em:
<http://www.biofuels-platform.ch/en/infos/production.php?id = biodiesel>. Acesso em: 01/11/09.

21. ARGENTINA. Carlos S. James. Cámara Argentina Energías Renovables. **Outlook for the Argentine biodiesel Industry**. Buenos Aires, 2008. 27 p.
22. The International Energy Agency. IEA energy technology essentials: biofuel production. International Energy Agency. Disponível em: <http://www.iea.org/textbase/techno/essentials2.pdf>. Acesso em 11/11/2009.
23. KUCEK, Karla Thomas. **Otimização da transesterificação etílica do óleo de soja em meio alcalino**. 2004. 123 f. Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2004.
24. RAMOS, L. P.; et al. Biodiesel: Um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Biociência & Desenvolvimento**, v.31, p.28-37, 2003.
25. GOLDEMBERG, J.; COELHO, S. T.; PLÍNIO, M. N.; LUCOND, O.; **Biomass and Bioenergy** 2004, 26, 301.
26. Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais: Relatório final do Convênio STI- MIC / CETEC, CETEC: Belo Horizonte-MG, 1983, vol.1 e 2.
27. ABREU, F. R.; LIMA, D. G. de; HAMÚ, E. H.; WOLF, C.; SUAREZ, P. A. Z.; **J. Mol. Catal. A: Chem.** 2004, 209, 29.
28. MACEDO, C. C. S.; ABREU, F. R.; TAVARES, A. P.; ALVES, M. B.; ZARA, L. F.; RUBIM J. C.; SUAREZ, P. A. Z.; **Journal American Oil Chemical Society**. 2006, 17, 1291.
29. RAMOS, L. P.; WILHELM, H. M.; **Applied Biochemistry Biotechnology**, 121-124, 807, 2005.
30. GARCEZ, Catherine Aliana Gucciardi; VIANNA, João Nildo de Souza. Brazilian biodiesel policy: social and environmental considerations of sustainability. **Energy**, [s.i.], v. 34, p.645-654, 13 jan. 2009.
31. CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, 25, 294-306, 2007.

32. CANAKCI, M; GERPEN, J. V. Biodiesel Production Via Acid Catalysis. ***Transactions of the American Society of Agricultural Engineers***. V. 42, p. 1203-1210, 1999.
33. MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review .***Bioresource Technology***. V.70, p.1-15. 1999.
34. Freedman, B.; Butterfield, R.O.; Pryde, E. H.; ***Journal American Oil Chemical Society***, 63, 1598. 1986.
35. FREEDMAN, B. ; PRYDE, E. H.; MOUNTS, T. L. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. ***Journal American Oil Chemical Society***. 1984; 61(10): 1638–1643.
36. SILVA, Fabiano Rosa da. **Produção de ésteres metílicos utilizando catalisadores à base de bismuto**. 2009. 121 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Pós Graduação em Química, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
37. LOTERO, Edgar; et al. Synthesis of biodiesel via acid catalysis. ***Industrial & Engineering Chemical Research***, [s.i.], n. 44, p.5353-5363, 2005.
38. SHI, H; BAO, Z. Direct preparation of biodiesel from rapeseed oil leached by twophase solvent extraction. ***Bioresource Technology***; v. 99:9025–9028.2008.
39. MACÍAS-SÁNCHEZ, M.d. et al. Supercritical fluid extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Nannochloropsis gaditana*. ***Journal Of Food Engineering***, [s.i], n. 66, p.245-251, 2005.
40. KUSDIANA, Dandan; SAKA,Shiro. Kinetics of transesterification in rapeseed oil to biodiesel fuel as treated in supercritical methanol. ***Fuel***, n. 80, 693-698, 2001.
41. CAO, W.; HAN, H.; ZHANG, J. Preparation of biodiesel from soybean oil using supercritical methanol and co-solvent. ***Fuel*** 84, p. 347–351,2005.
42. KASTEREN, J.M.N.; NISWORO, A.P.; A process model to estimate the cost of industrial scale biodiesel production from waste cooking oil by supercritical transesterification; ***Resources, Conservation and Recycling***, 2007.
43. HARRINGTON, K.J.; D'ARCY-EVANS, C. A comparison of conventional and in situ methods of transesterification of seed oil from a series of sunflower cultivars. ***Journal American Oil Chemical Society***, v.62, 1009–1013,1985.

44. HARRINGTON, K.J.; D'ARCY-EVANS, C. Transesterification in situ of sunflower seed oil. **Ind Eng Chem Prod Res Dev**; v.24,314–318,1985.
45. SILER-MARINKOVIC, S.; TOMASEVIC, A. Transesterification of sunflower oil in situ. **Fuel**; v.77,1389–1391,1998.
46. KILDIRAN, G.; ÖZGUL-YÜCEL, S.; TÜRKAY, S. In-situ alcoholysis of soybean oil. **Journal American Oil Chemical Society**; v.73,225–228, 1996.
47. ÖZGUL-YÜCEL, S.; TÜRKAY, S. Variables affecting the yields of the methyl esters derived from the in-situ esterification of rice bran oil. **Journal American Oil Chemical Society**; v.79: 611-614,2002.
48. EHIMEN, E. A.; SUN, Z. F.; CARRINGTON, C. G. Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids. **Fuel**. 2009; p. 1-8.
49. BECKER, E. W. *Microalgae: biotechnology and microbiology*. Cambridge studies in biotechnology. Cambridge: Cambridge University Press; 1994. 293pp.
50. IPCC: CLIMATE CHANGE 2007: **The 4th assessment report to the intergovernmental panel on climate change**. Disponível em: <http://www.ipcc.ch>. Acesso em 28/11/2009.
51. COUTO, L. C. et al. Vias de valorização energética da biomassa. **Biomassa & Energia**. 2004, v. 1,n. 1, p.71-92.
52. ARAÚJO, M. S. M. Relatório de análise de Desenvolvimento Limpo – MDL. ANEEL. Disponível em: <http://www.ivig.coppe.ufrj.br/doc/r1parte2d.pdf> . Acesso em: 25/11/2009.
53. BORGES, Lucélia *et al.* Potencial de absorção de carbono por espécies de microalgas usadas na aquicultura: primeiros passos para o desenvolvimento de um "mecanismo de desenvolvimento limpo". **Atlântica**, Rio Grande, v. 1, n. 29, p.35-46, 2007.
54. LALLI, C., PARSONS, T. *Biological Oceanography: an Introduction*. Oxford, Butterworth & Heinemann Ltda. 301p., 1993.
55. SOUTH, G.R.; WHITTICK, A. **Introduction to Phycology**. Oxford: Blackwell Scientific, 1987. 341p

56. DERNER, Roberto Bianchini *et al.* Microalgas, produtos e aplicações. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 36, n. 6, p.1959-1967, 2006.
57. Congresso Internacional de Bioenergia, 4., 2009, Curitiba. Anais. Curitiba: FUPEF, 2009.
58. VAN DEN HOEK, C.; MANN, D. G.; JAHNS, H. M. **ALGAE An Introduction to Phycology**. Cambridge: Cambridge University Press, 1989. 627 p.
59. RICHMOND, Amos. **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Iowa: Blackwell Science, 2004. 566 p.
60. RAJA, R. *et al.* A Perspective on the biotechnological potential of microalgae. **Critical Reviews In Microbiology**, [s.i.], n. 88, p.34-47, 01 maio 2008.
61. GOMEZ, P.I., GONZALEZ, M.A. Genetic variation among seven strains of *Dunaliella salina* (Chlorophyta) with industrial potential, based on RAPD banding patterns and on nuclear ITS rDNA sequences. **Aquaculture**, [s.i.], n. 233, 149–162, 2004.
62. LORENZ, R.T., CYSEWSKI, G.R. Commercial potential for *Haematococcus* microalgae as a natural source of astaxanthin. **Trends Biotechnology**, n.18,160–167. 2000.
63. CORDERO-ESQUIVEL, B *et al.* Astaxanthin production from the green alga *Haematococcus pluvialis* with different stress conditions. **Biotechnology Letters**, v.2, n. 18, p.213-218, 1996.
64. BOROWITZKA, M.A. Commercial production of microalgae: ponds, tanks, tubes and fermenters. **Journal of Biotechnology**, v.70, p.313-321, 1999.
65. TRIPATHI, U. *et al.* Production of astaxanthin in *Haematococcus pluvialis* cultured in various media. **Bioresource Technology**, n.68, p.197-199, 1999.
66. JACQUES, P. The potential preventive effects of vitamins for cataract and age-related macular degeneration. **International Journal for Vitamin and Nutrition Research**, [s.i.], n. 69, p. 198–205, 1999.

67. O'CONNOR, I.; O'BRIEN, N. Modulation of UVA light-induced oxidative stress by beta-carotene, lutein and astaxanthin in cultured fibroblasts. **Journal of Dermatological Science**, [s.i.], n. 16, p. 226–230, 1998.
68. GUERIN, Martin; HUNTLEY, Mark E.; OLAIZOLA, Miguel. Haematococcus astaxanthin: applications for human health and nutrition. **Trends In Biotechnology**, [s.i.], v. 21, n. 5, p.210-216, 2003.
69. BENNEDSEN, M. *et al.* Treatment of *H. pylori* infected mice with antioxidant astaxanthin reduces gastric inflammation, bacterial load and modulates cytokine release by splenocytes. **Immunology Letters**, [s.i.], n. 70, p.185–189, 1999.
70. KRITCHEVSKY, S. B. β -Carotene, carotenoids and the prevention of coronary heart disease. **Journal Nutrition**, [s.i.], n. 129, p. 5–8, 1999.
71. MURILLO, E. Efecto hipercolesterolémico de la cantaxantina y La astaxantina en ratas. **Archivos Latinoamericanos de Nutrición**, n. 42, p. 409–413, 1992.
72. TANAKA, T. *et al.* Chemoprevention of rat oral carcinogenesis by naturally occurring xanthophylls, astaxanthin and canthaxanthin. **Cancer Research** [s.i.], n. 55, p. 4059–4064, 1995.
73. CYANOTECH. Disponível em: <http://www.cyanotech.com/>. Acesso em 29/11/2009.
74. UNITED STATES OF AMERICA. John Sheehan, *et al.* National Renewable Energy Laboratory. **A look back at the U.S. Department of Energy's aquatic species program: biodiesel from algae**. [s.i.], 1998. 328 p.
75. AOCS International. 1997. Official methods of analysis. Quantitative Separation of Monoglycerides, diglycerides and Triglycerides by Silica Gel Column Chromatography: Cd 11c-93.
76. NAGLE, N.; LEMKE, P. Production of methyl ester fuels from microalgae. **Applied Biochemistry Biotechnology**, v.24/25, 355–361,1990.
77. MIAO, X.; WU, Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. **Bioresource Technology**, v.97, 841-846, 2006.

78. UMDU, E. S.; TUNCER, M.; SEKER, E. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts. **Bioresource Technology**, 1-4, 2009.
79. SCHENK, Peer M. *et al.* Second generation biofuels: high-efficiency microalgae for biodiesel production. **Bioenergy Resource**, [s.i.], n. 1, p.20-43, 2008.
80. COYLE, W., A Global Perspective: The Future of Biofuels, Economic Research Service, US Dept. of Agriculture, Washington, DC, 2007. Disponível em: <http://www.ers.usda.gov/AmberWaves/November07/PDF/Biofuels.pdf>, acessado em 16/02/2010.
81. SOLAR ENERGY RESEARCH INSTITUTE. HILI, A. M.; FEINBERG, D. A. **Fuel** from microalgae lipid products. Portland, 17p., 1984.
82. SÁNCHEZ, M. A. *et al.* Shear stress tolerance and biochemical characterization of *Phaeodactylum tricornutum* in quasi steady-state continuous culture in outdoor photobioreactors. **Biochemical Engineering Journal**, [s.i.], n. 16, p. 287–297, 2003.
83. CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. **Trends Biotechnology**, [s.i.], n. 26, p. 126–131, 2008.
84. HU, Qiang *et al.* Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **The Plant Journal**, [s.i.], n. 54, p.621-639, 2008.
85. KHAN, Shakeel A. *et al.* Prospects of biodiesel production from microalgae in India. **Renewable And Sustainable Energy Reviews**, [s.i.], n. 13, p.2361-2372, 2009.
86. MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Biofixation of carbon dioxide by *Spirulina* sp. and *Scenedesmus obliquus* cultivated in a three stage serial tubular photobioreactor. **Journal Biotechnology**, [s.i.], n.129,p.439–445, 2007.
87. SKJANES, K.; LINDBLAD, P.; MULLER, J. Bio CO₂ a multidisciplinary, biological approach using solar energy to capture CO₂ while producing H₂ and high value products. **Biomolecular Engineering**, [s.i.], n. 24, p. 405–413, 2007.
88. SAKAI, N. *et al.* *Chlorella* strains from hot springs tolerant to high temperature and high CO₂. **Energy Conversion Management**, [s.i.], n. 36, p.693–696, 1995.

89. COLLINS, Carol H.; BRAGA, Gilberto L.; BONATO, Pierina S.. **Fundamentos de Cromatografia**. Campinas: Editora Unicamp, 2006. 453 p.
90. GROB, Robert L.; BARRY, Eugene F.. **Modern practice of gas chromatography**. New Jersey: Wiley Interscience, 2004. 1036 p.
91. SILVERSTEIN, R. M.; BASSLER, G. C.; MORRILL, T. C. **Identificação Espectrométrica de Compostos Orgânicos**. 7ed, p. 65-101;141-173, 2006.
92. AOCS International. 1997. Official methods of analysis. Calculated Iodine Value: Cd 1c-85.
93. AOCS International. 1997. Official methods of analysis. Calculated Saponification Value: Cd 3a-94.
94. KRISNANGKURA, K. Estimation of Heat of Combustion of Triglycerides and Fatty Acid Methyl Esters. **Journal American Oil Chemical Society**, v. 68, nº 1, p. 56-58, 1991.
95. AOCS International. 1997. Official methods of analysis. Quantitative separation of monoglycerides, diglycerides and triglycerides by silica gel column chromatography: Cd 11c-93.
96. KNOTHE, Gerhard. Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition. **Energy & Environmental Science**, [s.i], n. 2, p.759-766, 2009.
97. TORRENS, Jonas Colen Ladeia. **Adaptação e otimização de uma unidade geradora para a utilização de biodiesel de microalgas**. 2009. 104 f. Monografia (Graduação) - Curso de Engenharia Mecânica, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2009.
98. YUAN, W.; HANSEN, A. C.; ZHANG, Q. Predicting the temperature dependent viscosity of biodiesel fuels. **FUEL**, [s.i] v. 88, p. 1120-1126, 2009.
99. MORAIS, M. G.; COSTA, J. A. V. Perfil de ácidos graxos de microalgas cultivadas com dióxido de carbono. **Ciência e Agrotecnologia**, [s.i], v. 32, n.4, p. 1245-1251, 2008.

100. TONON, T. *et al.* Long chain polyunsaturated fatty acid production and partitioning to triacylglycerols in four microalgae. **Phytochemistry**, [s.i.], v. 61, p. 15-24. 2002
101. VEGA, Bertha Olivia Arredondo; VOLTOLINA, Domenico. **Métodos y herramientas analíticas en la evaluación de la biomasa microalgal**. La Paz: Cib, 2007. 97 p.
102. BURJA, Adam M. *et al.* Evaluation of fatty acid extraction methods for *Thraustochytrium sp.* ONC-T18. **Journal Of Agricultural And Food Chemistry**, [s.i.], n. 55, p.4795-4801, 2007.
103. LEWIS, Tom; NICHOLS, Peter D.; MCMEEKIN, Tom A.. Evaluation of extraction methods for recovery of fatty acid from lipid-producing microheterotrophs. **Journal Of Microbiological Methods**, [s.i.], n. 43, p.107-116, 2000.
104. CUNHA, D. C.; CREXI, V. T.; PINTO, L. A. A. Winterização de óleo de pescado via solvente. **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, [s.i.], v. 29, p. 207-213, 2009.
105. LAPUERTA, Magín; RODRÍGUEZ-FERNÁNDEZ, José; MORA, Emilio Font de. Correlation for the estimation of the cetane number of biodiesel fuels and implications on the iodine number. **Energy Policy**, [s.i.], n. 37, p.4337-4344, 2009.
106. LADOMMATOS, N.; PARSI, M.; KNOWLES, A. The effect of fuel cetane improver on diesel pollutant emissions, **Fuel**, [s.i.], n. 75, p. 8–14, 1996.
107. McCORMICK, R. L. *et al.* Herring, Impact of biodiesel source material and chemical structure on emissions of criteria pollutants from a heavy-duty engine, **Environmental Science & Technology**, [s.i.], n. 35, p. 1742–1747, 2001.
108. KNOTHE, G.; SHARP, C. A.; RYAN, T. W. Exhaust emissions of biodiesel, petrodiesel, neat methyl esters, and alkanes in a new technology engine, **Energy Fuels**, [s.i.], n. 20, p. 403–408, 2006.

109. LÔBO, Ivon Pinheiro; FERREIRA, Sérgio Luis Costa. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n. 6, p.1596-1608, 2009.
110. ZITTELLI, G. Chini *et al.* Production of eicosapentaenoic acid by *Nannochloropsis* sp. cultures in outdoor tubular photobioreactors. **Journal Of Biotechnology**, [s.i.], n. 70, p.299-312, 1999.
111. SOARES, L. H. B. *et al.* **Eficiência energética comparada das culturas do girassol e soja, com aptidão para a produção de biodiesel no Brasil**. Seropédica: Embrapa, 2008. 6p. Relatório técnico.
112. FURLANETO, Fernanda de Paiva Badiz *et al.* Avaliação energética da produção de etanol utilizando como matéria-prima a cana-de-açúcar. **Ciência Rural**, [s.i.], v. 39, n. 8, p.2516-2520, 2009.
113. SIALVE, Bruno; BERNET, Nicolas; BERNARD, Olivier. Anaerobic digestion of microalgae as a necessary step to make microalgal biodiesel sustainable. **Biotechnology Advances**, [s.i.], n. 27, p.409-416, 2009.
114. AOCS International. 1997. Official methods of analysis. Total, Free and Combined Glycerol Iodometric – Periodic Acid Method: Ca 14-56.
115. LOCATELLI, V. J., *et al.* Spray drying of *Nannochloropsis oculata* microalgae biomass. 20th International Congress of Mechanical Engineering, Proceedings of COBEM, Gramado, RS, Brazil, 15–20 November 2009.
116. MACEDO, Isaias C.; SEABRA, Joaquim E .A.; SILVA, João E. A. R.. Green house gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: the 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass & Bioenergy**, [s.i.], n. 32, p.582-595, 2009.