

**Avaliação da rota saponificação-  
acidulação-esterificação na produção  
de biodiesel a partir do óleo bruto da  
microalga *Scenedesmus* sp.**

**Mateus Victorio Marques**

**Projeto Final de Curso**

**Orientadoras**

**Prof. Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.**

**Carolina Vieira Viêgas, D.Sc.**

**Março de 2022**

# **AVALIAÇÃO DA ROTA SAPONIFICAÇÃO- ACIDULAÇÃO-ESTERIFICAÇÃO NA PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DO ÓLEO BRUTO DA MICROALGA *SCENEDESMUS SP.***

***Mateus Victorio Marques***

Projeto Final de Curso submetido ao Corpo do Corpo Docente da Escola de Química, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Engenharia Química.

Aprovado por:

---

Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.

---

Maria José O. C. Guimarães, D.Sc.

---

Vinicius Rossa, D.Sc.

Orientado por:

---

Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.

---

Carolina Vieira Viêgas, D.Sc.

Rio de Janeiro, RJ - Brasil

Março de 2022

### **Ficha Catalográfica**

Marques, Mateus Victorio.

Avaliação da rota saponificação-acidulação-esterificação na produção de biodiesel a partir do óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp./ Mateus Victorio Marques.

Rio de Janeiro: UFRJ/EQ, 2022.

xiii, 88 p.; il.

(Monografia) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Escola de Química, 2022.

Orientadora: Yordanka Reyes Cruz.

Coorientadora: Carolina Vieira Viêgas.

1. Microalgas. 2. Biodiesel. 3. Saponificação – acidulação – esterificação. 4. Monografia. (Graduação – UFRJ/EQ). 5. Yordanka Reyes Cruz. Carolina Vieira Viêgas. I. Avaliação da rota saponificação-acidulação-esterificação na produção de biodiesel a partir do óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp.

Dedico este trabalho ao Walt. Não poderia ser diferente.

“Nada na vida é para ser temido, apenas para ser compreendido.”

Marie Salomea Skłodowska-Curie

## AGRADECIMENTOS

Agradeço a minha orientadora, Prof. Yordanka Reyes Cruz pelos longos anos de aprendizado, paciência e oportunidades, bem como pelo conhecimento transmitido e confiança em mim. Agradeço também à outra orientadora, Carolina Vieira Viêgas, por todos esses anos de práticas laboratoriais, pelas técnicas ensinadas e pela oportunidade de trabalharmos juntos.

Agradeço ao GreenTec - Laboratório de Tecnologias Verdes, pela cessão da infraestrutura e possibilidade de realização de pesquisa. Agradeço especialmente à toda equipe do laboratório, com quem trabalhei durante anos, em especial ao Germildo, pelas incontáveis horas de troca e trabalho juntos.

Agradeço aos meus pais, Rosana e Aluizio, por proporcionarem suporte, carinho e amor durante toda minha trajetória, bem como serem meus maiores apoiadores. Agradeço a eles por terem proporcionado todas as condições que me possibilitaram chegar aqui.

Agradeço aos meus amigos da Escola de Química pelas constantes trocas e bons momentos durante toda a graduação, em especial ao grupo GMDF e a Mariana. Agradeço também aos meus amigos de mais longa data, do Colégio Santo Agostinho, que por muitos anos fizeram parte do meu dia-a-dia e foram parte fundamental para minha educação, em especial ao grupo TMT. Agradeço, claro, ao meu amigo Alexandre, por sempre se fazer presente e ser a pessoa mais solícita e prestativa que conheço.

Agradeço a FAPERJ, pela bolsa de iniciação científica no início da minha graduação, projeto no qual despertei meu interesse pelas microalgas.

Agradeço a todos os professores que puderam passar seus ensinamentos durante minha trajetória e que, de alguma forma, contribuíram para minha formação.

Resumo do Projeto de Final de Curso apresentado à Escola de Química como parte dos requisitos necessários para obtenção do grau de Engenharia Química.

## **AVALIAÇÃO DA ROTA SAPONIFICAÇÃO-ACIDULAÇÃO-ESTERIFICAÇÃO NA PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DO ÓLEO BRUTO DA MICROALGA *SCENEDESMUS* SP.**

Mateus Victorio Marques

Março, 2022

Orientadoras: Prof. Yordanka Reyes Cruz, D.Sc.

Carolina Vieira Viêgas, D.Sc.

As microalgas apresentam um enorme potencial para complementar a crescente demanda energética prevista para as próximas décadas, especialmente na esfera das energias renováveis. São organismos que apresentam diversas vantagens frente às culturas terrestres tradicionais na produção de biodiesel. Dentre estas vantagens, as microalgas apresentam alta eficiência na conversão da luz solar em biomassa, sendo capazes de produzir e armazenar muito mais óleos se comparado às oleaginosas convencionais, acarretando numa produtividade muito superior na produção de biocombustíveis. Outra característica a favor das microalgas se baseia no fato de que elas não necessitam de terras férteis, nem de grandes quantidades de terra, assim como água de qualidade para se desenvolverem. Assim, esses microrganismos podem ser produzidos em áreas marginais, sem a competição com a produção de alimentos, uma das principais questões apontadas contra a expansão da produção dos biocombustíveis, em especial o biodiesel. No Brasil, o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel, lançado no início do século XXI, tinha como um dos objetivos a diversificação das matérias-primas utilizadas para a produção do biodiesel. Atualmente, fica claro que este objetivo está distante de ser alcançado uma vez que mais de 70% da produção de biodiesel no país provém de uma mesma matéria-prima: a soja. No entanto, a produção de biodiesel a partir desta matéria-prima ainda é um desafio. O óleo extraído das microalgas é composto por diversas classes lipídicas, sendo algumas delas não convertíveis em biodiesel por transesterificação ou esterificação, rotas utilizadas convencionalmente. Neste sentido, o presente trabalho busca estudar uma rota de produção pouco utilizada para a produção de biodiesel, a rota da saponificação – acidulação – esterificação, em uma matéria-prima que mostra enorme potencial para o futuro. Os resultados deste estudo mostram que as condições ótimas para a realização da saponificação do óleo bruto ficaram próximas a 95 °C, 2 h de reação e razão óleo:água/base (1:3). Após 2 h de reação, à temperatura supracitada, foi possível observar conversão total, dos compostos saponificáveis em sabão, com 70% de conteúdo graxo atingido na mistura final, bem como a razão de 1:3, condição mínima testada, também se mostrou eficaz, não sendo limitante no processo.

# ÍNDICE

<b>1 – INTRODUÇÃO</b> .....	1
<b>1.1 – Justificativa</b> .....	1
<b>1.2 – Objetivos</b> .....	2
1.2.1 – Objetivo geral.....	2
1.2.2 – Objetivos específicos .....	2
<b>2. REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....	3
<b>2.1 - Biodiesel</b> .....	3
2.1.1 – Histórico do Biodiesel .....	4
2.1.1.1 – Histórico no Mundo.....	4
2.1.1.2 – Histórico no Brasil.....	6
2.1.2 – Produção e Consumo .....	12
2.1.2.1 – Produção e Consumo no Mundo .....	12
2.1.2.2 – Produção e Consumo no Brasil .....	15
2.1.3 – Matérias-Primas.....	21
<b>2.2 – Microalgas</b> .....	28
2.2.1 – Vantagens na produção de biodiesel.....	28
2.2.2 – Histórico das iniciativas para produção de biodiesel a partir de microalgas .....	30
2.2.3 – Cultivo.....	31
2.2.3.1 – Meios de Cultura .....	31
2.2.3.2 – Formas de Cultivo.....	32
2.2.3.3 – Colheita .....	35
2.2.3.4 – Secagem e extração.....	38
2.2.4 – Transformação em biodiesel.....	41
<b>2.3 – Rotas para a produção de biodiesel</b> .....	42
2.3.1 – Transesterificação.....	42
2.3.2 – Hidroesterificação .....	45
2.3.3 – Saponificação – acidulação – esterificação .....	46
2.3.3.1 – Saponificação .....	46
2.3.3.2 – Acidulação .....	47
2.3.3.3 – Esterificação .....	47
<b>3 – MATERIAIS E MÉTODOS</b> .....	49
<b>3.1 – Estratégia</b> .....	49
<b>3.2 – Matéria-prima</b> .....	50



3.2.1 – Determinação do perfil graxo por cromatográfica gasosa.....	51
3.2.2 – Cálculo da massa molar média do óleo bruto (MM <sub>OB</sub> ) .....	52
<b>3.3 – Saponificação</b> .....	<b>52</b>
3.3.1 – Metodologia de Box-Behnken .....	54
<b>3.4 – Acidulação</b> .....	<b>57</b>
<b>3.5 – Cromatografia em camada delgada (TLC)</b> .....	<b>57</b>
<b>3.6 – Determinação do índice de acidez (IA)</b> .....	<b>60</b>
<b>4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES</b> .....	<b>61</b>
4.1 - Caracterização da matéria-prima (óleo bruto da microalga <i>Scenedesmus</i> sp.).....	61
4.2 – Cálculo da massa molar média do óleo bruto (MM <sub>OB</sub> ) .....	62
4.3 – Saponificação .....	64
4.4 – Acidulação e cromatografia em camada delgada .....	64
4.5 – Metodologia de Box-Behnken .....	69
4.6 – Condição ótima .....	73
<b>5. – CONCLUSÃO</b> .....	<b>75</b>
5.1 – Conclusões .....	75
5.2 – Sugestões para trabalhos futuros .....	76
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	<b>77</b>
<b>APÊNDICE I – Parâmetros Estatísticos</b> .....	<b>82</b>

## ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Estrutura química do biodiesel, -R é uma cadeia longa vinda dos ácidos graxos .....	3
Figura 2. Emissões de GEEs do diesel mineral em comparação com diferentes porcentagens de biodiesel na mistura com o diesel (em gCO <sub>2</sub> e/MJ) .....	4
Figura 3. Ônibus modelo O-364 da fabricante Mercedes Benz consumindo biodiesel .....	8
Figura 4. Histórico do biodiesel no Brasil .....	11
Figura 5. Produção mundial de biocombustíveis, com previsão até 2025.....	12
Figura 6. Produção de biodiesel nos Estados Unidos (2001 - out 2021).....	13
Figura 7. Consumo e produção do biodiesel na União Europeia (UE) .....	14
Figura 8. Produção mundial de biocombustíveis.....	14
Figura 9. Consumo mundial de biocombustíveis.....	15
Figura 10. Capacidade nominal e consumo de biodiesel em 2020 .....	16
Figura 11. Capacidade e produção brasileira de biodiesel por região (milhões de litros).....	17
Figura 12. Produção regional de biodiesel em 2020 .....	17
Figura 13. Oferta e produção de diesel e biodiesel no Brasil .....	18
Figura 14. Participação de matérias-primas para a produção nacional de biodiesel em 2020 .....	18
Figura 15. Exportação de glicerina bruta e glicerol .....	20
Figura 16. Importação de metanol para produção de biodiesel.....	20
Figura 17. Estrutura molecular de ácidos graxos encontrados na natureza.....	22
Figura 18. Exemplo de um acilglicerídeo: um triacilglicerídeo.....	22
Figura 19. Exemplos de um ácido fosfatídico (fosfato de diacilglicerina) (A) e de seus derivados Lecitina (B), Cefalina (C) e Serina (D).....	23
Figura 20. Lagoa do tipo raceway .....	33
Figura 21. Fotobiorreator tubular vertical .....	34
Figura 22. Biomassa já centrifugada (a); processo de floculação com diferentes dosagens de coagulante (b).....	36
Figura 23. Esquema geral do aproveitamento da biomassa de microalgas para a produção de biodiesel .....	41
Figura 24. Esquema reacional e mecanismo da transesterificação homogênea em meio básico .....	43
Figura 25. Esquema reacional e mecanismo da transesterificação homogênea em meio ácido.....	44
Figura 26. Esquema reacional de hidrólise de triglicerídeos, resultando em glicerol e ácidos graxos.....	45
Figura 27. Esquema simplificado da reação de esterificação de um ácido graxo .....	45
Figura 28. Esquema geral simplificado da reação de saponificação de um triglicerídeo utilizando hidróxido de sódio.....	46
Figura 29. Esquema reacional de uma reação de acidulação de um sabão ....	47
Figura 30. Esquema geral da reação de esterificação via catalise ácida .....	48

Figura 31. Mecanismo reacional da esterificação utilizando metanol.....	48
Figura 32. Sequência reacional de saponificação seguida de acidificação para obtenção de ácidos carboxílicos .....	49
Figura 33. Óleo bruto da microalga <i>Scenedesmus</i> sp.....	50
Figura 34. Sistema reacional da saponificação .....	53
Figura 35. Diagrama experimental de Box-Behnken de três fatores.....	54
Figura 36. Exemplo de marcação na placa de sílica .....	58
Figura 37. Eluição da placa de sílica na cubeta (TLC) .....	59
Figura 38. Placa após eluição, antes de ser tratada com iodo .....	59
Figura 39. Perfil lipídico do óleo bruto da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. ....	62
Figura 40. Representação esquemática do cálculo da $MM_{OB}$ .....	63
Figura 41. Geração de sabão no meio reacional.....	64
Figura 42. Cromatografia em camada delgada do óleo bruto da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. ....	65
Figura 43. Exemplo de placa após eluição e revelação com iodo.....	67
Figura 44. Interface do software CLIQS .....	67
Figura 45. Diagrama de Pareto .....	70
Figura 46. Gráfico de resíduos versus ordem .....	71
Figura 47. Gráficos de contorno .....	71
Figura 48. Gráficos de superfície .....	72
Figura 49. Diagrama de Pareto .....	83
Figura 50. Gráfico de probabilidade normal .....	84
Figura 51. Gráfico versus fit .....	84
Figura 52. Histograma.....	85
Figura 53. Gráfico versus ordem .....	85
Figura 54. Gráfico de contorno tempo x temperatura.....	86
Figura 55. Gráfico de contorno razão x temperatura.....	86
Figura 56. Gráfico de contorno razão x tempo .....	87
Figura 57. Gráfico de superfície tempo-temperatura.....	87
Figura 58. Gráfico de superfície temperatura-razão.....	88
Figura 59. Gráfico de superfície tempo-razão .....	88

## ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1. Comparativo do complexo da soja .....	19
Tabela 2. Principais ácidos graxos encontrados na natureza .....	24
Tabela 3. Ranking de produção de biocombustíveis e principais matérias-primas .....	26
Tabela 4. Comparação entre fontes de óleo para fabricação de biodiesel.....	27
Tabela 5. Produção de energia e eficiência fotossintética de diferentes fontes de biomassa.....	29
Tabela 6. Conteúdo e produtividade de óleo de algumas espécies de microalgas.....	29
Tabela 7. Comparativo dos sistemas de cultivo .....	34
Tabela 8. Comparativo entre os métodos de colheita mais utilizados.....	37
Tabela 9. Comparativo entre os métodos de extração de óleo .....	40
Tabela 10. Condições experimentais da saponificação .....	52
Tabela 11. Valores máximos, médios e mínimos no planejamento experimental (BBD) .....	55
Tabela 12. Planejamento geral de Box-Behnken .....	55
Tabela 13. Comparativo de alguns métodos de 3 níveis quanto ao total de experimentos.....	56
Tabela 14. Valores para o cálculo estequiométrico na reação de acidulação..	57
Tabela 15. Perfil lipídico do óleo bruto da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. ....	61
Tabela 16. Cálculo da massa molar média do óleo bruto de <i>Scenedesmus</i> Sp. ....	63
Tabela 17. Composição química do óleo bruto da microalga <i>Scenedesmus</i> sp. ....	65
Tabela 18. Resultados (%) de ácidos graxos.....	68
Tabela 19. Sumário do modelo .....	69
Tabela 20. Coeficientes do modelo estatístico .....	69
Tabela 21. Condições ótimas para realização da saponificação.....	73
Tabela 22. Resultados da cromatografia em camada delgada para as condições ótimas.....	73
Tabela 23. Resultados para o índice de acidez.....	74
Tabela 24. Coeficientes codificados do método .....	82
Tabela 25. Sumário da metodologia de Box-Behnken .....	82
Tabela 26. Análise de variância .....	82
Tabela 27. Ajustes (fits) e diagnósticos para observações incomuns .....	83

## LISTA DE SIGLAS

ABIOVE - Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais  
AGs - Ácidos Graxos  
ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis  
AO - Ácido oleico  
ASP - *Aquatic Species Program*  
BBD - *Box-Behnken Design*  
Bep – Barril Equivalente de Petróleo  
BP - *British Petroleum*  
CCC - *Central Composite Circumscribed*  
CCD - Cromatografia em Camada Delgada  
CCD - Método do Composto Central  
CCF - *Composite Face Centered*  
CCI - *Central Composite Inscribed*  
CG - Cromatografia Gasosa  
CIF - *Cost, Insurance and Freight*  
CNPE - Conselho Nacional de Política Energética  
CNPq - Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico  
COFINS - Contribuição para o Financiamento da Seguridade Social  
DG - Diglicerídeos  
EC - *European Commission*  
EE - Esteróis  
EG - Ergosteróis  
EIA - *Energy Information Administration*  
EPE – Empresa de Pesquisa Energética  
EU FAS - *European Union Foreign Agricultural Service*  
EUA - Estados Unidos da América  
FINEP - Financiadora de Estudos e Projetos  
FOB - *Free On Board*

GEEs - Gases do efeito estufa  
IA - Índice de Acidez  
IEA - *International Energy Agency*  
INT - Instituto Nacional de Tecnologia  
LP - Lipídeos polares  
MA - Microalga  
MCT - Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovações  
MM - Massa molar média  
MME - Ministério de Minas e Energia  
MUFA - Ácidos graxos monoinsaturados  
OECD - *Organization for Economic Co-operation and Development*  
OG - Óleo de girassol  
PASEP - Programa de Formação do Patrimônio do Servidor Público  
pH - Potencial hidrogeniônico  
PIS - Programa de Integração Social  
PNPB - Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel  
PUFA - Ácidos graxos poli-insaturados  
RED - *Renewable Energy Directive*  
Rf - Fator de retenção  
SAFA - Ácidos graxos saturados  
SCS - Selo Combustível Social  
TGs - Triglicerídeos  
TLC - *Thin Layer Chromatography*  
EU - União Europeia  
USD - *United States Dollar*

# 1 – INTRODUÇÃO

## 1.1 – Justificativa

Nos últimos anos, a demanda por combustíveis renováveis tem aumentado, fruto da variação do preço do petróleo no mercado internacional e da crescente preocupação com o meio ambiente (HALIM *et al.*, 2012). Considerando o crescimento populacional e a demanda energética que o acompanha, rotas alternativas de suprimento desta demanda devem ser consideradas e desenvolvidas. A queima de combustíveis fósseis, não renováveis, para geração de energia, além de ser um dos grandes motivos para a poluição ambiental, guarda consigo o perigo iminente do fim das reservas e a necessidade de nos tornarmos menos dependente deles (HOWARTH, 2009). Dentro deste cenário, a produção de biodiesel como rota de suprimento que complemente e até substitua o uso do diesel fóssil deve ser considerada. Dentre os combustíveis renováveis, viáveis tecnicamente de serem produzidos em larga escala, o biodiesel tem papel de destaque, por suas vantagens ambientais, sociais, econômicas e tecnológicas (MATA *et al.*, 2010).

Do ponto de vista ambiental, o biodiesel é uma fonte atóxica de energia renovável, que não possui compostos aromáticos em sua composição, com emissões de SO<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, CO e material particulado muito menores que sua contraparte fóssil (LEUNG, 2010). O ciclo completo do biodiesel, desde o cultivo da matéria-prima até obtenção do combustível, alcança reduções de até 78% nas emissões de gás carbônico (DOSHI *et al.*, 2016). Do ponto de vista econômico, o biodiesel pode gerar receita com exportações, diminuir a necessidade de importações de produtos refinados, criar empregos em zonas rurais, estimular a agricultura familiar e aumentar a segurança energética do país (ANUAR e ABDULLAH, 2013).

Lançado no Brasil em 2004, o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB) tinha três principais metas: promover a inclusão social e desenvolvimento socioeconômico vinculado ao cultivo e produção do biodiesel; alcançar um preço competitivo para o biocombustível; e diversificar a matéria-prima utilizada na produção. Atualmente, em 2022, é possível afirmar que os primeiros dois objetivos do programa foram alcançados com certo sucesso, enquanto o terceiro parece ter sido esquecido. O biodiesel pode ser produzido a partir de diferentes fontes, como óleos e gorduras de origem vegetal e animal e até óleos residuais de fritura. No Brasil, apesar da enorme gama de matérias-primas possíveis, a produção de biodiesel é extremamente baseada no cultivo da soja, que representa mais de 70% da fabricação do biocombustível nacionalmente.

A produção de biocombustíveis inclui, mas não se limita às fontes mencionadas anteriormente, as microalgas também surgem como uma alternativa bastante promissora. As vantagens são inúmeras frente as culturas tradicionais, e serão destrinchadas com mais detalhes ao longo deste trabalho. Segundo alguns

autores, as microalgas são a única alternativa capaz de tornar o biodiesel viável para substituir completamente o diesel de petróleo (Chisti, 2007; DISMUKES *et al.*, 2008, CHEN *et al.*, 2015).

Nesse sentido, o presente trabalho busca descrever os aspectos relacionados à produção de biodiesel, bem como analisar uma rota alternativa para a produção do mesmo, desenvolvendo as melhores condições para tal.

## **1.2 – Objetivos**

### 1.2.1 – Objetivo geral

Proposta e avaliação de produção de biodiesel, a partir do óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp., utilizando a rota tecnológica saponificação – acidulação – esterificação.

### 1.2.2 – Objetivos específicos

- Utilizar técnicas de planejamento experimental, com metodologia de superfície de resposta para avaliar as condições da rota;
- Obter as condições ótimas, que maximizem a formação de ácidos graxos para posterior transformação em ésteres graxos;
- Determinar a composição do óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp., bem como a composição do produto gerado nas melhores condições da rota proposta;
- Obter uma mistura rica em ácidos graxos passíveis de serem transformados em biodiesel por esterificação.

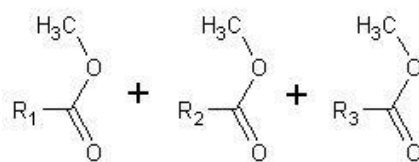


## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 - Biodiesel

Segundo definição do Ministério de Minas e Energia, o biodiesel é “um combustível biodegradável derivado de fontes renováveis como óleos e gorduras, animais ou vegetais”. Segundo Suarez e cols., 2007, o biodiesel “é uma mistura de ésteres de ácidos graxos com monoalcoóis de cadeia curta, como o metanol ou o etanol” (Figura 1). Independente das minúcias das diferentes definições, o que é comum a todas elas, é de que o biodiesel é um tipo de biocombustível, de fonte renovável, formado por ésteres de ácidos graxos, seja de origem vegetal ou animal.

Figura 1. Estrutura química do biodiesel, -R é uma cadeia longa vinda dos ácidos graxos



Biodiesel (éster)

Fonte: Knothe et al. (2006)

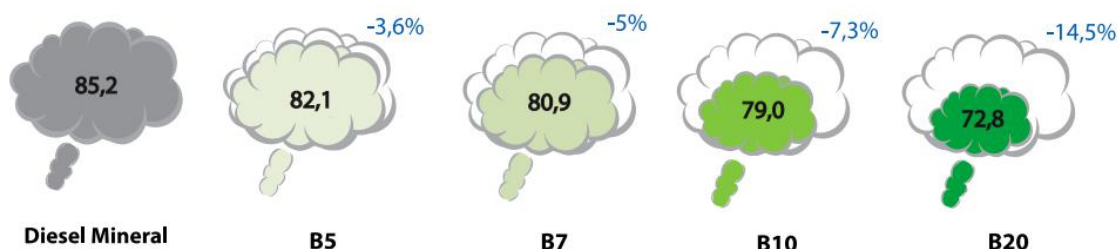
Suas propriedades são das mais diversas, uma vez que a gama de matérias-primas para a produção de biodiesel é imensa, desde sebo e banha animal, a oleaginosas como girassol, soja e babaçu, e até microalgas.

O biodiesel pode substituir total ou parcialmente o diesel derivado do petróleo em motores de ciclo diesel de automóveis ou estacionários. Como combustível, ele pode ser utilizado puro ou misturado com o diesel comum em qualquer proporção. Essas misturas são denominadas como ‘BXX’, onde XX é o percentual em volume de biodiesel adicionado à mistura total, por exemplo, B2, B10 e B50 são combustíveis com uma concentração de biodiesel de 2%, 10% e 50%, respectivamente (HINRICHS, 2003).

As principais vantagens do biodiesel frente ao diesel fóssil estão na esfera ambiental. O biodiesel é uma fonte de energia limpa e renovável, já o diesel do petróleo é um combustível não renovável, uma vez que o petróleo leva milhões de anos para se formar. Além disso, a emissão de gases do efeito estufa (GEEs) é consideravelmente menor no biocombustível em comparação com seu similar fóssil (Figura 2). As vantagens, no entanto, não estão restritas ao meio ambiente, o biodiesel tem alto poder lubrificante, podendo aumentar a vida do motor; ele tem fácil transporte e armazenamento, devido ao seu menor risco de explosão;

pode ser utilizado em motores sem quaisquer alterações mecânicas; pode ser obtido de diversas fontes distintas, diminuindo a dependência por uma única matéria-prima; pela maior diversidade de matérias-primas, a possibilidade de crises na produção e preço (como já ocorreu uma série de vezes com o petróleo) são reduzidas; entre diversas outras.

Figura 2. Emissões de GEEs do diesel mineral em comparação com diferentes porcentagens de biodiesel na mistura com o diesel (em gCO<sub>2</sub>e/MJ)



Fonte: Adaptado de DeltaCO<sub>2</sub> & CENA (2013)

## 2.1.1 – Histórico do Biodiesel

### 2.1.1.1 – Histórico no Mundo

O engenheiro alemão Rudolf Christian Karl Diesel, inventor do motor que levaria seu nome anos depois, descreveu que o primeiro uso de óleo vegetal como combustível em motores a combustão, ocorreu durante a Feira Internacional de Paris, entre os meses de abril e novembro de 1900. Rudolf havia desenvolvido um motor capaz de queimar combustíveis fósseis, primeiramente pó de carvão mineral e posteriormente petróleo e seus derivados, para transformar a energia química contida no combustível em energia cinética. No entanto, a pedido do governo francês, o engenheiro apresentou um pequeno motor capaz de funcionar a base de petróleo cru e óleo de amendoim, durante a feira. Ele, bem como o governo francês, acreditava que um motor que utilizasse óleos ou gorduras poderia contribuir imensamente para o desenvolvimento da agricultura nos países (Meneghetti *et al.*, 2006).

Desde essa época, o uso de óleos e gorduras de origem vegetal ou animal foi uma aposta para substituir os combustíveis fósseis na geração de energia, no entanto, devido ao baixo custo e alta disponibilidade do petróleo na época, este passou a ser o combustível preferencial nos motores (Suarez e cols., 2007). De fato, o desenvolvimento de processos para transformação de óleos e gorduras em derivados, com propriedades físico-químicas similares às dos combustíveis fósseis, foi incentivado principalmente em períodos de escassez de petróleo no mercado internacional, com destaque para as Primeira e Segunda Guerras Mundiais (Meher *et al.*, 2006).

Uma das primeiras produções científicas neste âmbito data de 31 de agosto de 1937, quando ocorreu o depósito da patente '*Procédé de transformation d'huiles*

*végétales em vue de leur utilisation comme carburants'* pelo pesquisador belga Charles George Chavanne. O principal escopo da mesma era sobre a transformação de um óleo vegetal em ésteres, metílicos e etílicos, de ácidos graxos, reivindicando no item de número 15, a utilização destes produtos como combustível para motores de combustão interna. Nesta patente, bem como em outro artigo posterior escrito pelo mesmo autor, foi descrita a transesterificação do óleo de dendê, tanto com metanol como com etanol, na presença de catalisador ácido, no caso, o ácido sulfúrico. Em 1938, Chavanne foi responsável por uma série de ensaios bem-sucedidos com o uso do que hoje pode-se chamar de biodiesel, a partir do dendê. O combustível foi utilizado para alimentar uma linha de ônibus comercial de passageiros que ligava as cidades de Bruxelas e Louvain, na Bélgica (Schuchardt *et al.*, 1998).

No início da década de 1940, a China se tornou o principal contribuinte em larga escala para a produção de fontes alternativas aos combustíveis fósseis. Refinarias de petróleo do país utilizavam o craqueamento para a produção de hidrocarbonetos a partir do óleo de tungue (Mo *et al.*, 2008).

Com o final da Segunda Guerra Mundial e a volta à normalidade no abastecimento de petróleo ao redor do globo, a produção em larga escala de biodiesel foi temporariamente abandonada por boa parte dos países. Apesar disso, durante as décadas de 50 e 60, maiores desenvolvimentos a respeito de reações de transesterificação de óleos vegetais com emprego de álcool, sob catálise ácida ou alcalina, foram registrados em uma série de artigos e patentes (Gateau *et al.*, 1985).

A partir da década de 1970, marcada pelas crises no mercado de petróleo, com destaque para os choques de 1973 e 1979, e, conseqüentemente, o aumento brusco no preço do barril, o biodiesel retornou às discussões como principal alternativa para o diesel convencional. Além dessas crises deixaram evidente para o planeta a necessidade da busca por fontes alternativas de energia (Meher *et al.*, 2006).

Sendo assim, diversos países, com destaque para Áustria, Alemanha, França e Estados Unidos, desde o final dos anos 70, desenvolveram estudos a respeito do uso e da produção em larga escala de gorduras, óleos e seus derivados, que pudessem atuar no papel de combustíveis líquidos. Estes esforços culminaram com o começo da introdução do biodiesel, diesel renovável e bioquerosene de aviação na matriz energética desses países (Guerreiro *et al.*, 2006).

Com a chegada dos anos 90, além das preocupações estruturais e econômicas que giravam entorno da indústria de petróleo e gás, houve um crescente interesse nas questões ambientais. A relação entre o elevado volume de combustíveis fósseis queimados e o aumento nos níveis de gases de efeito estufa emitidos à atmosfera, degradação da camada de ozônio, dentre os diversos outros fatores relacionados ao aquecimento global, reforçou ainda mais a necessidade de substituir os derivados de petróleo por fontes renováveis de energia (Dube *et al.*, 2007).

Com a assinatura do Protocolo de Quioto em 1997 por 192 países, que tinha dentre os principais objetivos a promoção do uso de fontes energéticas renováveis, bem como a diminuição das emissões de gases do efeito estufa, a produção e utilização de biodiesel se tornaram cada vez mais difundidas (Costa Neto *et al.*, 2000).

No início do século XXI, uma série de leis e incentivos fiscais foram aprovados de forma a estimular a utilização do biodiesel como alternativa ao diesel comum. Dentre eles, destaca-se: a Diretiva 2003/30/EC, aprovada em maio de 2003 pela União Europeia, que estipulava que até 2010, pelo menos 5,75% de todo combustível fóssil utilizado nos países pertencentes à União fosse de fontes renováveis; a Lei 11.097, de janeiro de 2005 no Brasil, que previa a introdução de biodiesel na matriz energética brasileira como substituição ao diesel, com porcentagens gradativamente maiores ao passar dos anos; o Ato de Criação de Empregos Norte Americano de 2004, que previa a diminuição no pagamento de impostos para aqueles consumidores que utilizassem biodiesel para abastecer seus veículos; a publicação da Política Nacional de Biocombustíveis em 2006 na Malásia, segundo maior produtor de óleo de dendê no planeta, que abriria as portas para a implementação de uma mínima concentração de biodiesel no diesel vendido no país; dentre diversos outros. Estas medidas foram e são fundamentais para a difusão do uso do combustível no mundo, atualmente, o patamar do biodiesel se encontra no recorde histórico de produção mundial.

### 2.1.1.2 – Histórico no Brasil

Os primeiros registros sobre biodiesel no Brasil são da década de 1920, após a Primeira Guerra Mundial, o Instituto Nacional de Tecnologia (INT) buscava e testava combustíveis alternativos aos derivados de petróleo (Gomes, 2005).

Na década de 1940, foram relatadas as primeiras tentativas do uso de óleos e gorduras em motores a combustão interna. Notícias da época também mostram a existência de estudos e até utilização de óleos vegetais puros em motores diesel, culminando na proibição da exportação destes óleos, como maneira de garantir uma queda nos preços e, assim, viabilizar sua utilização em locomotivas. Além destas prospecções com os óleos puros, existem relatos de estudos acerca de reações de craqueamento, porém, não há menções de que a transesterificação tenha sido estudada no país. A primeira patente relacionada a um processo de transesterificação foi requerida em 1980, pelo documento 'Processo de produção de combustíveis a partir de frutos ou sementes de oleaginosas' (PI- 8007957).

Como mencionado anteriormente, a partir da década de 1970, houve um aumento brusco na busca por novas fontes de combustível que pudessem substituir os fósseis, e no Brasil o cenário não foi diferente. Em 1975 foi criado o Programa Nacional do Álcool, o Proálcool, iniciativa do Governo Central para aumentar a produção de etanol combustível para o uso em motores de

combustão interna. O programa oferecia empréstimos com taxas abaixo das praticadas no mercado para as montadoras que produzissem carros movidos a álcool, bem como para produtores de cana de açúcar que chegassem ao etanol (Gomes, 2005). Em um primeiro momento, o programa teve um impacto positivo, reduzindo a importação de petróleo no final da década de 70. No entanto, com a chegada da década seguinte e a normalização da oferta de petróleo e, conseqüentemente, uma redução dos custos dos derivados, o preço da gasolina e do álcool para o consumidor final ficaram próximos, reduzindo significativamente o interesse no biocombustível. Somado a isso, quedas nas safras de açúcar em uma série de países fizeram com que o preço do açúcar no mercado internacional disparasse, levando os produtores a elevar a produção de açúcar para exportação e reduzir consideravelmente a produção de etanol. Assim, com baixa produção de etanol no mercado e pouca procura por parte dos consumidores, as fabricantes de veículos priorizaram a produção de novos automóveis movidos apenas à gasolina. Somente em 2003, com novo aumento no preço do barril, a indústria automotiva produziu uma inovação, criando os veículos *flex*, que poderiam ser alimentados tanto a gasolina como a etanol, em qualquer proporção, veículos que são vendidos até hoje (Macedo *et al.*, 2006).

Além do Programa Nacional do Álcool, outras iniciativas foram criadas no país como alternativa aos combustíveis fósseis. Em 1980, foi elaborado pela Comissão Nacional de Energia o Plano de Produção de Óleos Vegetais para Fins Energéticos (Pró-Óleo), que previa a adição de 30% de óleos vegetais e seus derivados ao diesel, com posterior substituição integral no longo prazo. Foi previsto, no escopo do programa, a utilização da transesterificação de diversos óleos e gorduras já implementados no Brasil, advindos de atividade agrícola e do setor extrativista. A primeira patente do país no assunto, já mencionada anteriormente, surgiu de estudos realizados na Universidade Federal do Ceará, em parceria com o Ministério da Indústria e do Comércio. Em Fortaleza, além dos testes laboratoriais, foram realizados uma série de testes em maior escala, com destaque para testes em ônibus. A ideia era utilizar uma frota de ônibus movida a biodiesel puro, que foi denominado de 'Prodiesel', uma referência ao programa nacional 'Proálcool'. Em outubro de 1980, um ônibus do modelo O-364 da fabricante Mercedes Benz (Figura 3), consumindo biodiesel, circulou pela cidade cearense com convidados para uma festa. O combustível foi produzido pela primeira empresa criada no Brasil para tal função, denominada de Proerg. Foram consumidos mais de 300 mil litros de biodiesel e percorridos mais de 2 milhões de quilômetros ao todo nos testes. Os resultados mostraram a viabilidade técnica no uso do produto, porém, seus elevados custos de produção, se comparados ao diesel convencional impediram seu uso em escala comercial. Devido à queda do preço do petróleo em 1986, o programa Pro-Óleo foi completamente abandonado (Vigliano, 2003).

Figura 3. Ônibus modelo O-364 da fabricante Mercedes Benz consumindo biodiesel



*Fonte: A Concepção do Biodiesel no Ceará – Fortalbus*

Apenas no final dos anos 1990 que o biodiesel voltou a pauta no Brasil, devido a crescente preocupação com o aquecimento global, fruto da queima de combustíveis fósseis e com a crise instalada no Oriente Médio, agravada em 2001, que trouxe à tona a possibilidade de esgotamento no fornecimento de petróleo. Em 2002, através da Portaria MCT Nº 702, o governo federal lançou o Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico de Biodiesel (Probiobiodiesel), após uma série de estudos realizados pelo Ministério de Ciência e Tecnologia.

No início de 2003, mesmo com a troca de governo no país, foi dada continuidade ao projeto, que tinha como principal objetivo a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira. Em julho, foi criado um Grupo de Trabalho Interministerial que ficaria responsável pela prospecção e apresentação da viabilidade técnica, bem como das ações necessárias para o sucesso na implementação do programa. O resultado foi publicado no relatório final, lançado em dezembro de 2003, que afirmou que o biodiesel poderia e deveria ser imediatamente implementado e recomendou os 4 principais pontos:

- Inclusão do desenvolvimento socioeconômico de regiões mais carentes;
- Custo competitivo;
- Não obrigatoriedade do uso;
- Inexistência de matéria-prima e rota de produção preferencial.

Em setembro de 2004, através da medida provisória 214, o governo federal atribuiu a ANP a competência de especificação, regulação, contratação e fiscalização do biodiesel no país. Em seu primeiro artigo, a medida afirmava:

“Biodiesel: combustível para motores a combustão interna com ignição por compressão, renovável e biodegradável, derivado de óleos vegetais ou de gorduras animais, que possa substituir parcial ou totalmente o óleo diesel de origem fóssil.”

Pode-se observar que a definição não especifica a rota utilizada para a produção do biodiesel, considerando qualquer meio de produção válido para a obtenção do combustível, uma forma de estimular a diversificação das matérias-primas, uma das metas do programa. Um dos componentes criticados sobre a passagem foi a parte “óleos vegetais ou de gorduras animais”, uma vez que existem tanto óleos animais, assim como gorduras vegetais. Esta passagem foi prontamente corrigida na legislação posterior (Gomes *et al.*, 2005).

Em dezembro de 2004, um ano após a publicação do relatório final, a Presidência da República lançou o Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), através de medida provisória. Este foi o grande marco da história do biodiesel no Brasil, uma vez que possibilitou a introdução do combustível na matriz energética brasileira. Em 13 de janeiro de 2005, a medida provisória foi aprovada pelo Congresso Nacional através da lei nº 11.097. A lei previa que o biodiesel, obrigatoriamente, deveria ser introduzido como mistura a todo diesel comum comercializado no país, com percentual gradativo ao longo dos anos. De início, a comercialização de diesel B2 (2% em volume de biodiesel) foi autorizada de forma não obrigatória, passando a ser obrigatório em todo território nacional 3 anos após a publicação da lei, ou seja, no começo de 2008. A lei também estipulava que deveria haver aumento no teor de biodiesel de forma gradativa, alcançando B5 em janeiro de 2013. Graças à elevada capacidade de produção instalada no país, a data para alcance do B5 foi revista, sendo antecipada para janeiro de 2010 (Dabdoub *et al.*, 2009).

Um dos principais desafios do programa foi o de conseguir integrar a produção de biodiesel com a diminuição de desigualdades regionais e desenvolvimento socioeconômico dos agricultores familiares, como recomendou o grupo de trabalho interministerial, responsável pelo PNPB. Como solução para este desafio, foi criado o Selo Combustível Social, gerido pelo então Ministério do Desenvolvimento Agrário, atualmente o selo é de responsabilidade da Secretaria de Agricultura Familiar e Cooperativismo. De início, o selo era concedido apenas para os produtores que comprassem suas matérias-primas para a produção de biodiesel de pequenos produtores rurais (Suarez *et al.*, 2007).

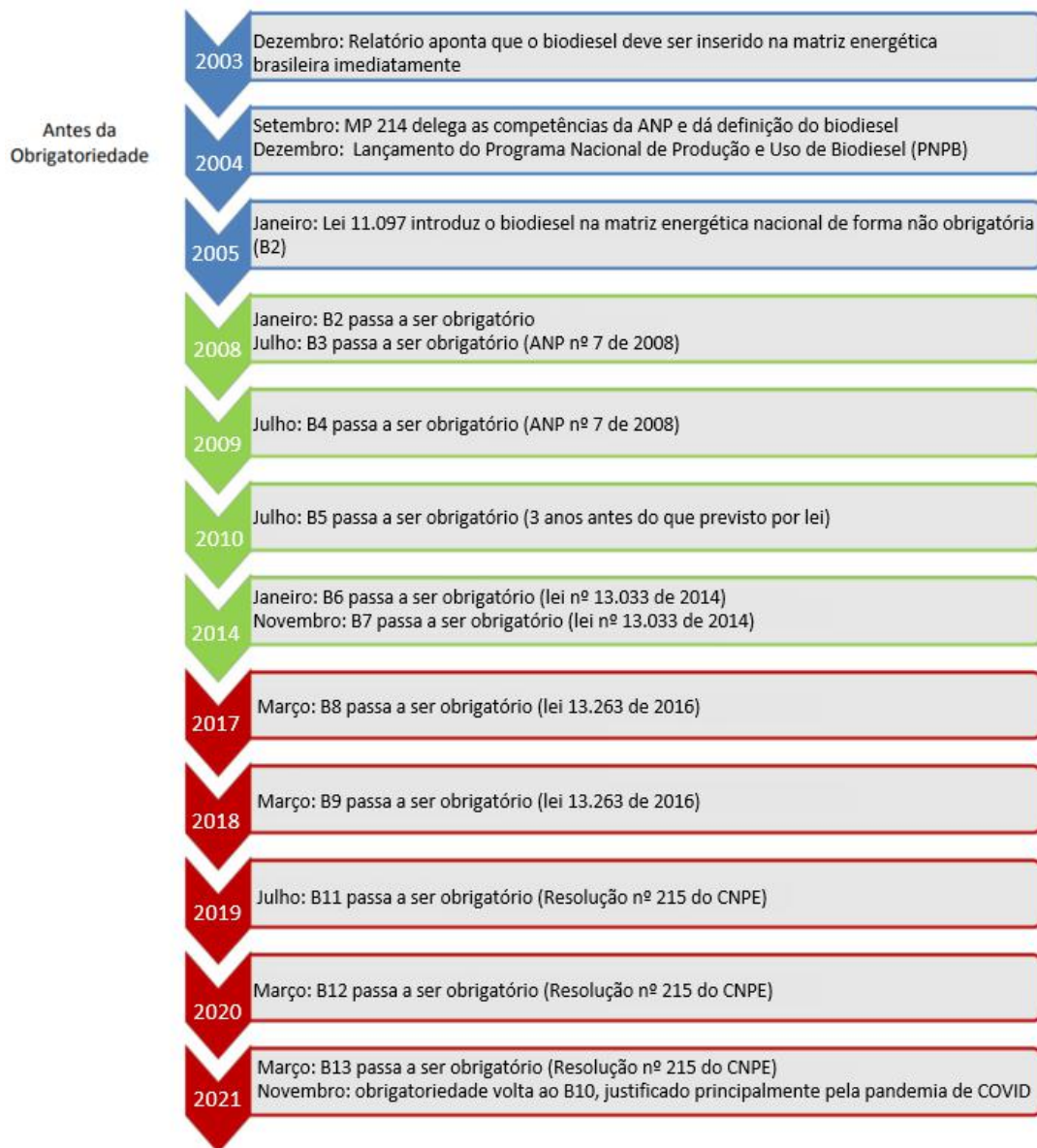
O produtor que detivesse o selo teria descontos e até isenção em impostos federais, como PIS/PASEP e COFINS. O desconto tinha uma faixa de 30% chegando até os 100% dependendo da região produzida e de qual era a oleaginosa utilizada como base. Para se chegar aos 100% de isenção, era necessário que a empresa, possuidora do Selo Combustível Social, comprasse mamona ou dendê de agricultores familiares das regiões norte, nordeste ou semiárido. Em 2008, no entanto, foi decidido que quaisquer empresas produtoras de biodiesel que possuíssem o selo e comprassem matérias-primas de agricultores familiares teriam isenção total das faixas (Bronzel *et al.*, 2009).

Atualmente, o Selo Combustível Social serve como um potencial ganho financeiro para as produtoras de biodiesel. Apenas aquelas que possuem o selo são convidadas a participar do primeiro pregão dos leilões de compra de biodiesel realizados pela ANP, onde o preço pago pela Agência por litro de biodiesel é o maior de todos os pregões. Essa foi uma maneira que o governo encontrou para estimular que as empresas buscassem esta certificação, de modo a alcançar o objetivo da diminuição das desigualdades previsto pelo PNPB.

Com o sucesso no alcance da meta estipulada pela lei nº 11.097, de alcançar a comercialização do biodiesel B5 em todo território nacional, em 2014 foi sancionada a lei 13.033 que aumentava a obrigatoriedade para B6 em julho de 2014 e para B7 em setembro do mesmo ano, ambas atingidas com sucesso. Em março de 2016, foi sancionada a lei nº 13.263, que previa que o teor de biodiesel chegasse a B8 até março de 2017, B9 até março de 2018 e B10 até março de 2019. Esta mesma lei autorizava o Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) a elevar o teor de biodiesel, chegando até o B15, após a realização de testes e ensaios em motores de combustão interna, que validassem o uso da mistura. Assim, pela Resolução 16, de 2018 do CNPE, a partir de julho de 2019, o diesel vendido nos postos brasileiros deveria ter teor de biodiesel de ao menos 11%, aumentando 1% em março de cada ano, chegando a 15% em março de 2023 (Figura 4) (MME, 2021).



Figura 4. Histórico do biodiesel no Brasil



Fonte: O próprio autor

Os percentuais foram atingidos nas devidas datas, sendo, de março de 2021 até novembro do mesmo ano, o combustível com maior teor de biodiesel já vendido no país, B13. A partir de novembro, através de decisão do CNPE, a porcentagem foi reduzida para 10% até o final de 2022, com justificativa do aumento de preços do óleo de soja e dificuldades gerais relacionadas à pandemia. Assim para 2023, a previsão é de que o mínimo necessário seja de 13%, não mais os 15% previstos em 2018 (MME, 2021).

## 2.1.2 – Produção e Consumo

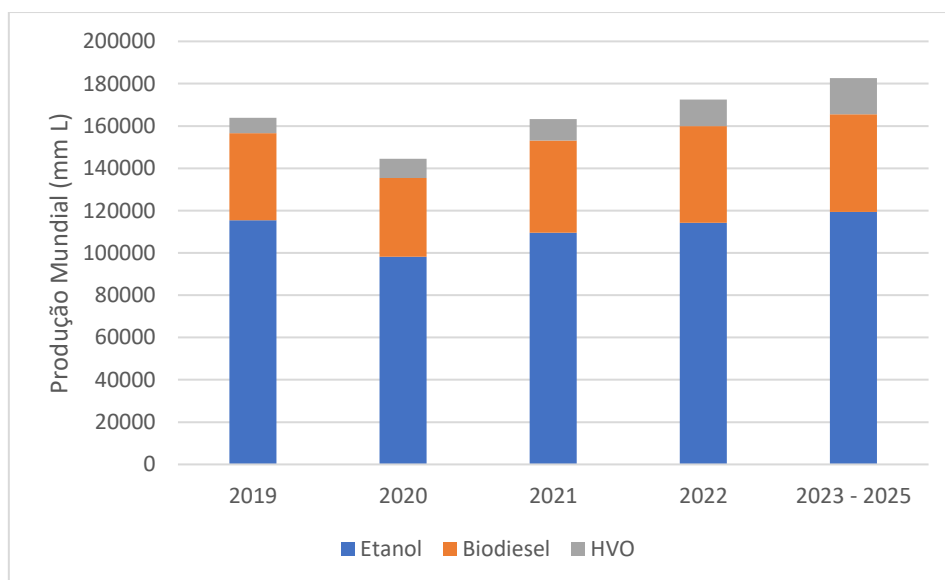
### 2.1.2.1 – Produção e Consumo no Mundo

Atualmente, biodiesel é o segundo combustível de fonte renovável mais produzido no planeta, com cerca de 25% do volume total, superado apenas pelo etanol. Em 2019, ano recorde de produção de biocombustíveis, cerca de 163 bilhões de litros foram produzidos, sendo 41,237 bilhões, ou 25,75%, de biodiesel (BP, 2021).

De 2019 para 2020, o consumo, assim como a produção de biocombustíveis tiveram um declínio de mais 10%, em contraste com os 6% de crescimento anual dos 10 anos anteriores. Esse declínio foi influenciado principalmente pela queda de mais de 8% na demanda dos líquidos para o setor de transporte, fruto da diminuição no setor por conta da pandemia. Os maiores impactos, responsáveis por mais 90% da redução na produção, se deram graças a queda nas produções brasileiras e norte americanas de etanol, bem como na produção europeia de biodiesel (BP, 2021).

Apesar disso, no ano de 2021 a produção de biodiesel bateu os níveis de 2019, com mais de 43,5 bilhões de litros produzidos ao redor do globo. A expectativa no curto a médio prazo é de que o setor tenha um crescimento de cerca de 6% por ano, similar ao ocorrido na década de 2010. Assim, estima-se que por volta do triênio 2023 – 2025, a geração de biodiesel alcance a marca de 46 milhões de litros anuais (Figura 5) (IEA, 2021).

Figura 5. Produção de mundial biocombustíveis, com previsão até 2025

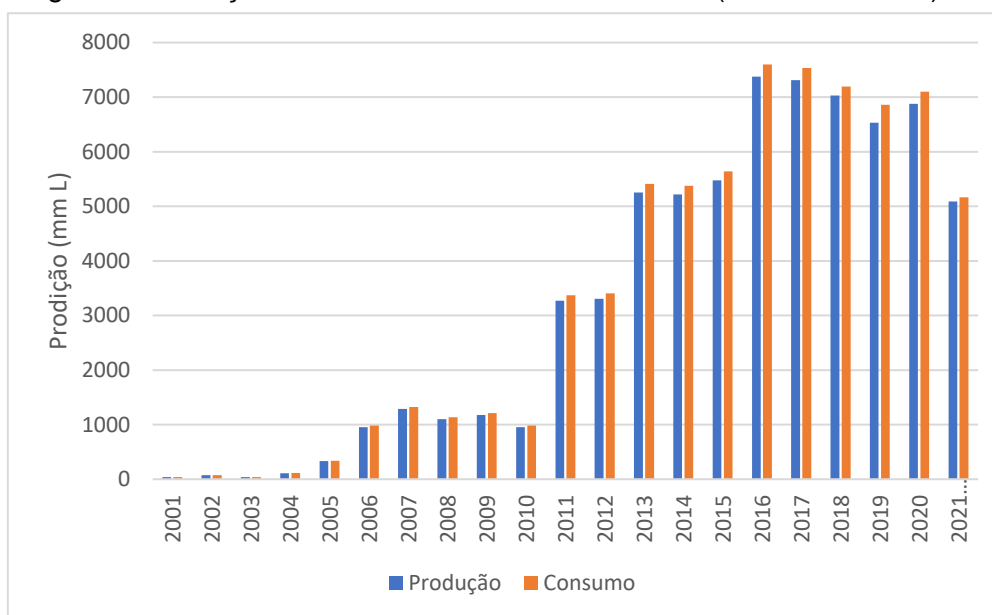


Fonte: IEA, 2021

Por ampla margem, os Estados Unidos são os maiores consumidores de biodiesel no planeta, responsáveis por 17% em 2020; no quesito produção, estão em segundo lugar. O país é quase autossuficiente no que tange ao recurso, com exportações e importações pouco relevantes frente ao consumo. No ano de

2019, o país produziu cerca de 6500 milhões de litros de biodiesel, 70% de sua capacidade instalada de 9300 milhões de litros (Figura 6). A Califórnia usa quase todo o biodiesel produzido nos EUA e todo o biodiesel importado pelo país, principalmente devido aos benefícios econômicos de seu uso no estado, graças ao 'Padrão de Combustível de Baixo Carbono da Califórnia' que oferta diversos benefícios aos motoristas que abastecerem seus veículos com combustíveis não fósseis (EIA, 2021).

Figura 6. Produção de biodiesel nos Estados Unidos (2001 - out 2021)



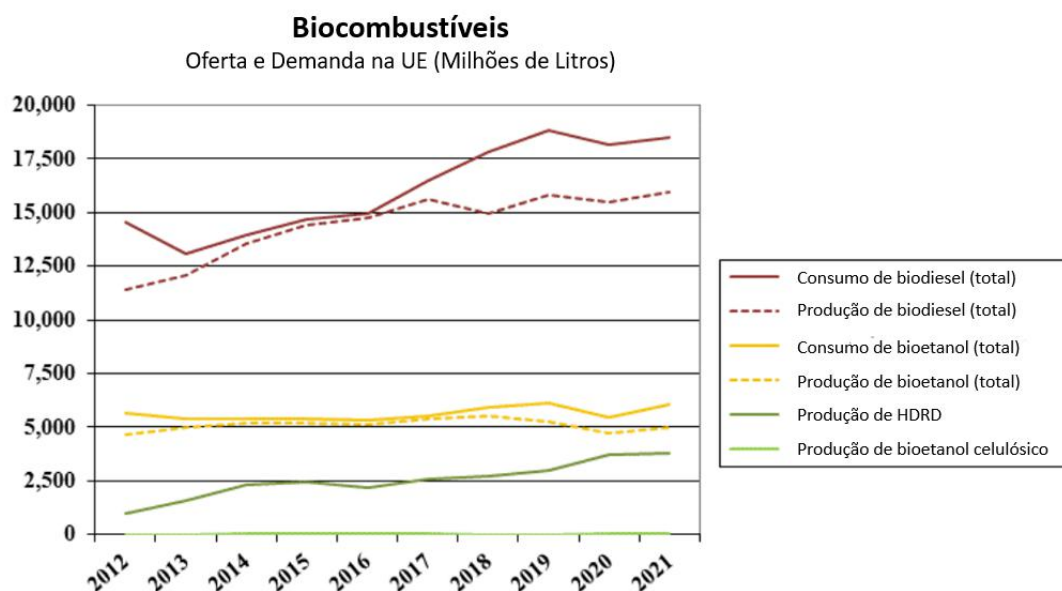
Fonte: EIA, 2021

No topo do pódio da produção global de biodiesel está a Indonésia, com cerca de 8600 milhões de litros, ou mais de 20% do total global, produzidos em 2020. O país é o maior produtor e exportador de óleo de dendê no planeta, destinando uma parte dessa produção para a produção do biocombustível. Como incentivo para a utilização desse óleo de dendê, visando uma menor queima de combustíveis fósseis, o governo indonésio aprovou em meados de 2020 o "Programa Mandatório B30". Em 2016, o teor de biodiesel no diesel já era de 20%, com a aprovação deste programa, a obrigatoriedade passou para 30%, com expectativa do governo de aumentar para 40% ainda nesta década. Assim, o uso de óleo de dendê no país tem previsão de aumento de 23,2% até 2030, e, o consumo de biodiesel, tem aumento projetado em 7% (EU FAS, 2021).

Os países da União Europeia também possuem grande relevância no cenário mundial de biodiesel, com destaque para Alemanha e França, 4º e 5º maiores produtores, respectivamente. Somados, os países do bloco representam mais de 40% do consumo mundial de biodiesel. Esse alto consumo é fruto principalmente da Diretiva de Energia Renovável (RED), aprovada em 2009, que tinha como objetivo alcançar ao mínimo 20% da matriz energética de todos os países integrantes da união de fontes renováveis. Para o setor de transportes, esse número era de 10%. Em 2018, foi aprovada a Diretiva de Energia

Renovável II (REDII), que aumentava os números para 32% do geral e 14% no setor de transportes. Assim, a expectativa é de que o consumo, bem como produção de biodiesel no bloco, aumente no curto e médio prazos (Figura 7) (EU FAS 2021).

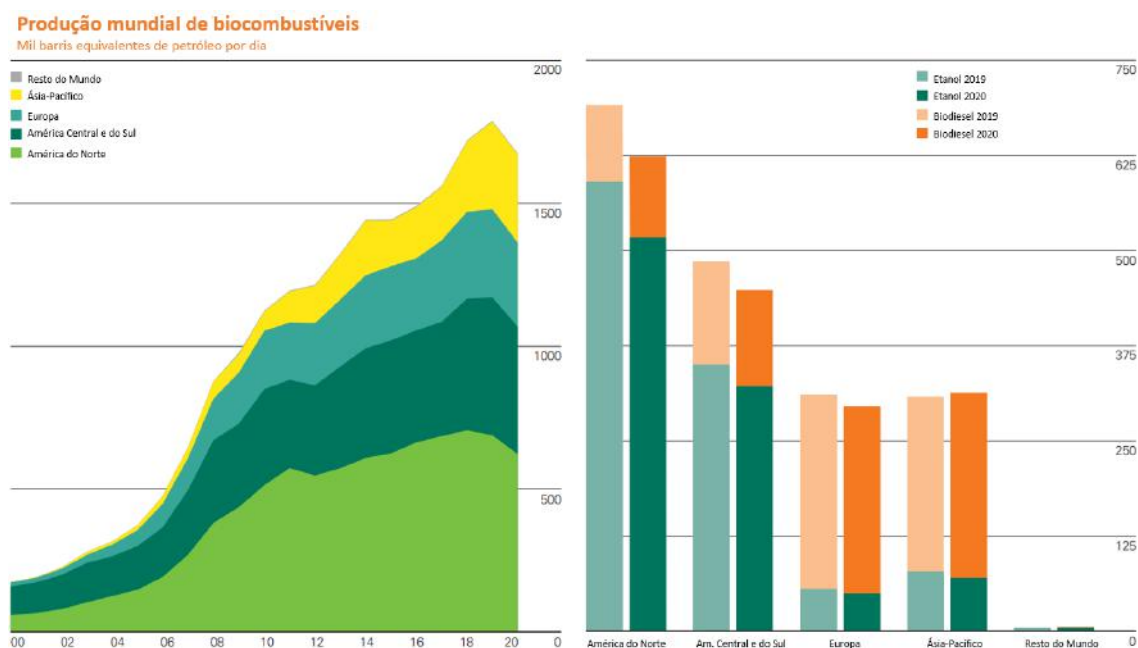
Figura 7. Consumo e produção do biodiesel na União Europeia (UE)



Fonte: EU FAS Posts, 2021

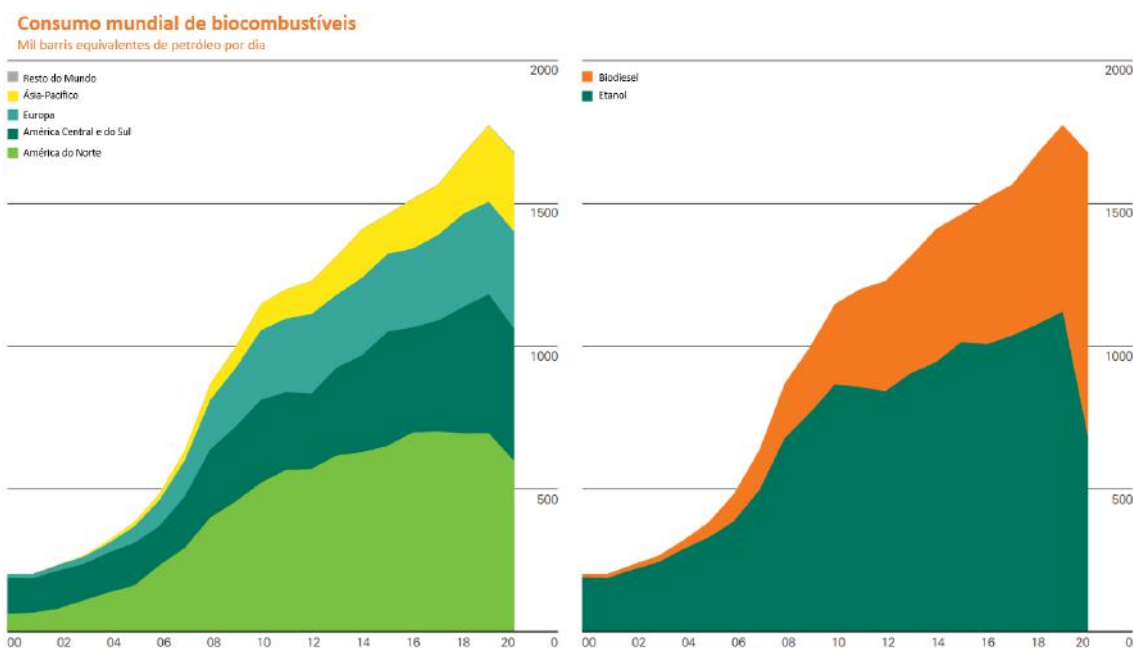
Nas Figuras 8 e 9 é apresentado o panorama da produção e consumo de biocombustíveis no mundo, com especificação do biodiesel a direita.

Figura 8. Produção mundial de biocombustíveis



Fonte: BP - Statistical Review of World Energy 2021

Figura 9. Consumo mundial de biocombustíveis



Fonte: BP - Statistical Review of World Energy 2021

### 2.1.2.2 – Produção e Consumo no Brasil

O Brasil figura entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel no planeta, figurando usualmente como terceiro colocado em ambas as esferas. Em 2020, apesar dos efeitos da pandemia, foram consumidos 6400 milhões de litros do biocombustível no país, o que representa um aumento de 10% em relação a 2019. Já a produção, atingiu um aumento de 9% em relação ao ano anterior, com registro de aumento em todas as regiões: Norte, Nordeste, Sudeste, Sul e Centro-Oeste, de 37,2%, 5,3%, 1,2%, 14,4% e 4,7%, respectivamente (EPE, 2020).

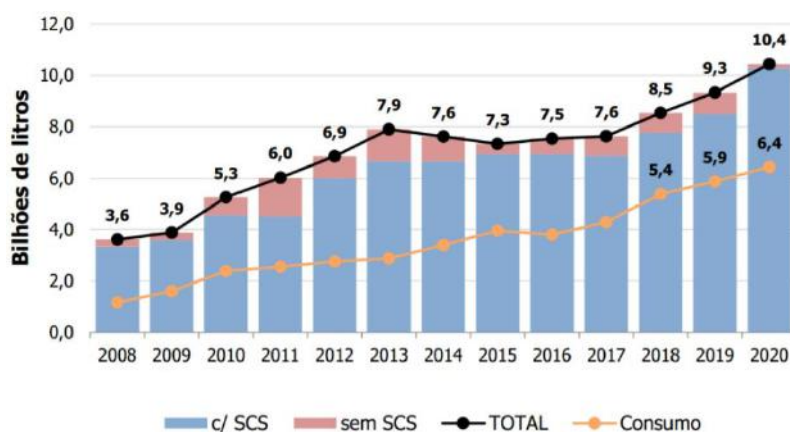
Como contextualização, desde 2007, a comercialização do biodiesel é feita através de leilões públicos, organizados pela ANP, de acordo com as diretrizes estabelecidas pelo Conselho Nacional de Política Energética (CNPE) e pelo Ministério de Minas e Energia (MME). Esses leilões visam à aquisição do biocombustível pelas refinarias e importadores de óleo diesel, de forma a atender o percentual mínimo obrigatório de biodiesel regente no momento, assim como para fins de uso voluntário e de pesquisa. O volume adquirido nos leilões deve ser entregue, seja na modalidade CIF ou FOB, pelas unidades produtoras de biodiesel. Como referência, em 2020, a ANP realizou 6 leilões para compra de biodiesel pelas distribuidoras de combustível, totalizando 76 desde o início do PNPB. Como dito anteriormente, os produtores que possuem o Selo Combustível Social, são convidados a participarem do primeiro pregão dos leilões, em que a ANP costuma comprar o litro de biodiesel por um valor mais elevado se comparado aos outros pregões. Além disso, aquelas detentoras do

se são beneficiadas com acesso a melhores condições de financiamento junto às instituições financeiras (MME, 2020).

Segundo levantamento da ANP, até dezembro de 2020, o país possuía capacidade instalada para produção de biodiesel de 10,4 bilhões de litros por ano, dividida entre as 49 usinas produtoras autorizadas. No mesmo ano, a produção nacional atingiu cerca de 6,45 bilhões de litros, ou seja, 62% da capacidade instalada, demonstrando claro potencial de crescimento nesse segmento.

Na Figura 10 se apresenta a capacidade nominal brasileira, bem como o consumo de biodiesel no país, distinguindo a produção entre as detentoras e não detentoras do SCS.

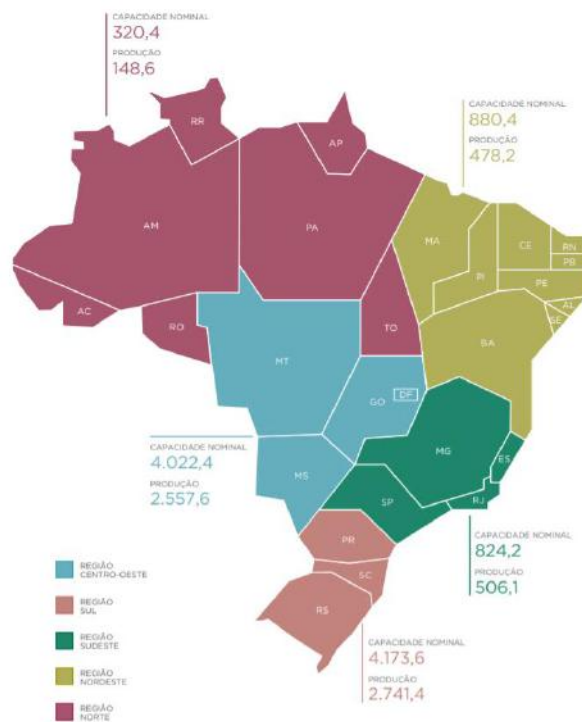
Figura 10. Capacidade nominal e consumo de biodiesel em 2020



Fonte: Adaptado de *Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020 – Ministério de Minas e Energia*

Na Figura 11 mostra-se a capacidade nominal e a produção por região.

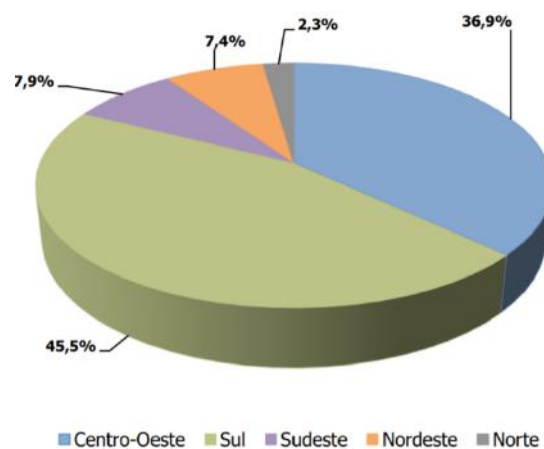
Figura 11. Capacidade e produção brasileira de biodiesel por região (milhões de litros)



Fonte: *Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020 – Ministério de Minas e Energia*

Quanto a distribuição dessa produção pelo território nacional, as regiões Sul e Centro-Oeste sempre tiveram maior destaque frente as outras, em função da abundante disponibilidade de matérias-primas, soja e sebo, nos estados dessas regiões. Os estados do Rio Grande do Sul, com 27,9% do total nacional e Mato Grosso, com 19,1% são os líderes no país (Figura 12). Embora o maior volume de vendas e de consumo seja na região Sudeste, a região Sul representa quase 50% da produção total de biodiesel no país, seguida pela Centro-Oeste com cerca de 37% (MME, 2020).

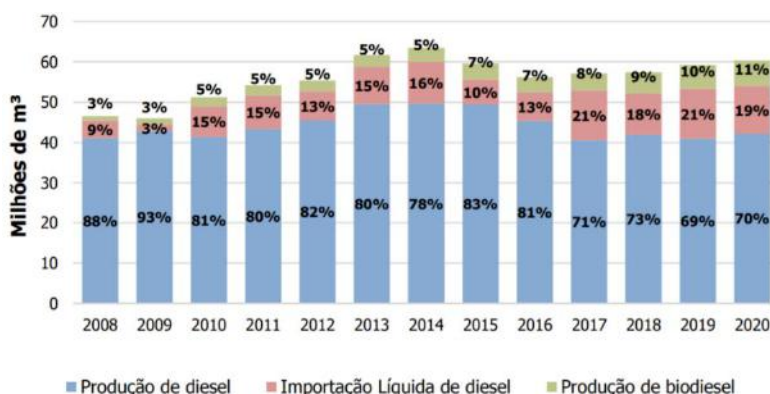
Figura 12. Produção regional de biodiesel em 2020



Fonte: *Adaptado de Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020 – Ministério de Minas e Energia*

O aumento de 11% para 12% no teor mínimo obrigatório de biodiesel na mistura de diesel comercializada nos postos atenuou as necessidades de importação do diesel fóssil, além de acarretar o crescimento na produção e no consumo do biocombustível no país. Em 2020, a produção de diesel A pelo parque de refino teve um incremento de 3,2%, enquanto sua importação baixou 3,3% no comparativo com 2019 (Figura 13). O diesel B, no mesmo período, teve um crescimento de apenas 1,7% na produção, enquanto o biodiesel bateu os 8,6% (MME, 2020).

Figura 13. Oferta e produção de diesel e biodiesel no Brasil

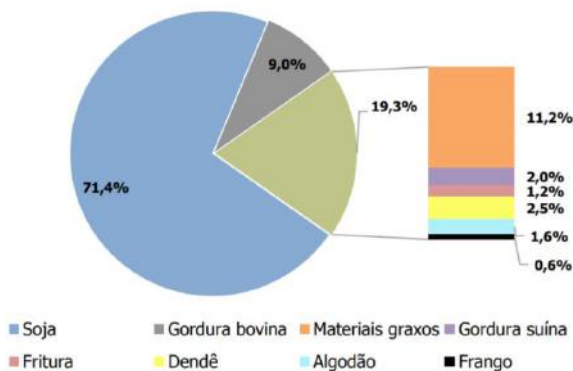


Fonte: Adaptado de *Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020 – Ministério de Minas e Energia*

O óleo de soja figura como a matéria-prima mais importante para produção do biodiesel no Brasil, em 2020 ele representou 71,4% de todos os insumos para produção do combustível (Figura 14). Esses mais de 70% representaram 4,6 bilhões de litros produzidos de biodiesel a partir do óleo de soja em 2020, havendo um crescimento de 14,5% do 'market-share' em comparação a 2019.

Após o óleo de soja, os materiais graxos variados representam 11,2% da produção brasileira, seguidos pela gordura bovina, ou sebo, com 9,0% e os 8,4% restantes são pulverizados entre diversas fontes, como óleo de dendê, gorduras provenientes da fritura, gordura suína, entre outros (MME, 2020).

Figura 14. Participação de matérias-primas para a produção nacional de biodiesel em 2020



Fonte: *Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020 – Ministério de Minas e Energia*



A tendência é de que o óleo de soja permaneça por um longo período como principal insumo para produção do biodiesel, principalmente pela abundância de soja produzida no país, com destino à indústria alimentícia e exportações. No entanto, já é possível observar o surgimento de matérias-primas emergentes no mercado. Assim como ocorreu com o sebo bovino, que teve um forte crescimento na última década, a utilização de outros materiais graxos (dos mais variados), como outros óleos, com destaque ao de dendê e aos óleos residuais, tem projeções de destaque para o médio prazo. Essas demandas surgem principalmente pela necessidade de diversificação da cesta de insumos, para atendimento aos aumentos mandatórios previstos (EPE, 2020).

A soja é um dos principais grãos produzidos no país, com capacidade de processamento de mais de 63 milhões de toneladas anuais (Tabela 1). Em 2019, o Brasil teve sua safra recorde de soja, com 128 milhões de toneladas colhidas. Devido à complexidade do grão, a soja pode ser processada em uma gama de formas distintas, porém, devido à legislação em curso no país priorizar a exportação do grão, a indústria, no que tange ao processamento, opera com certa ociosidade. Em relação ao total produzido, a soja destinada para produção do óleo com intuito final de produção de biodiesel representa cerca de 5% (MME, 2020).

Tabela 1. Comparativo do complexo da soja

Milhões de toneladas	2019	2020	$\Delta$ % (2019 - 2020)
Produção de soja	120,8	128,0	6,0%
Capacidade instalada de processamento de soja	63,3	63,3	0,0%
Exportação de soja em grão	74,1	83,0	12,0%
Soja processada	43,5	46,8	7,6%
Farelo de soja produzido	33,5	36,0	7,6%
Óleo de soja produzido	8,8	9,6	9,1%
Exportação de óleo de soja	1,0	1,1	10,0%
Consumo de óleo alimentício e outros	7,9	8,5	7,6%
Consumo de óleo de soja para biodiesel	3,7	4,2	13,5%

*Fonte: Adaptado de Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020 – Ministério de Minas e Energia*

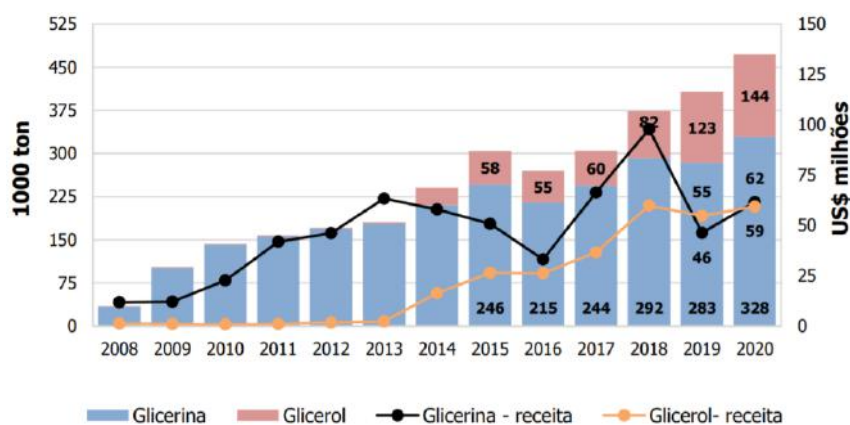
De acordo com a Associação Brasileira das Indústrias de Óleos Vegetais (ABIOVE), entre os anos de 2008 e 2020, a produção de óleo de soja aumentou 53%. Esse valor é muito inferior se comparado ao que foi destinado para a produção de biodiesel, que em valores absolutos saltou de 0,8 milhão em 2008 para 4,2 milhões de toneladas em 2020, um crescimento expressivo de 431% no período. Novamente, essa alta é em grande parte justificada pelo crescimento gradual nos percentuais mandatórios de biodiesel no diesel vendido nos postos.

Um dos principais coprodutos na cadeia de fabricação do biodiesel é a glicerina, respondendo por aproximadamente 10% em massa do que é produzido de combustível. No ano de 2020, estima-se que 640 mil toneladas de glicerina foram

produzidas como fruto da obtenção do biodiesel. Desse valor, 328 mil toneladas foram exportadas, um aumento de 15,9% em relação ao ano anterior.

O glicerol, nome dado à classificação da glicerina refinada, assim possuindo um preço mais alto no mercado internacional, chegou ao valor de 144 mil toneladas exportadas em 2020. Devido ao crescente número de usinas que estão instalando equipamentos para purificação da glicerina em glicerol, processo ainda em curso, visando melhores receitas, o glicerol já atingiu aumento de 17% nas exportações desde 2013 (Figura 15). O principal destino destas commodities é a China, com 79% do volume da glicerina bruta e 66% do glicerol (MME, 2020).

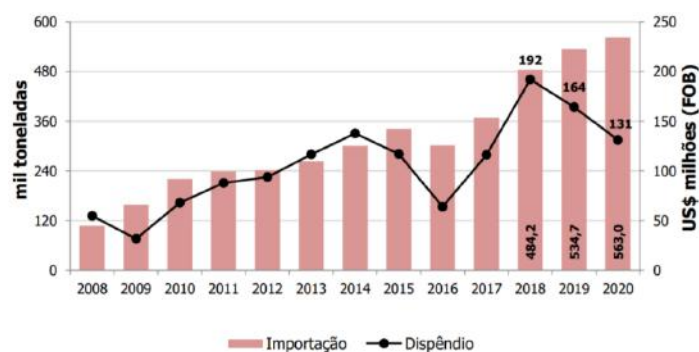
Figura 15. Exportação de glicerina bruta e glicerol



Fonte: Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020 – Ministério de Minas e Energia

O metanol é um insumo fundamental para a produção do biodiesel através das rotas de esterificação ou transesterificação. Em 2020, para produção do biocombustível, o Brasil importou 563 mil toneladas da commodity, advindas em sua maior parte do Chile, Trinidad e Tobago, Venezuela e Estados Unidos. Na Figura 16 mostra-se a quantidade de metanol importada com finalidade de produção de biodiesel, e o montante gasto (dispêndio). Em 2020, o volume teve um crescimento de cerca de 5%, função do aumento da produção de biodiesel nacional para suprir a elevação do teor na mistura vendida ao consumidor final (MME, 2020).

Figura 16. Importação de metanol para produção de biodiesel



Fonte: Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020 – Ministério de Minas e Energia

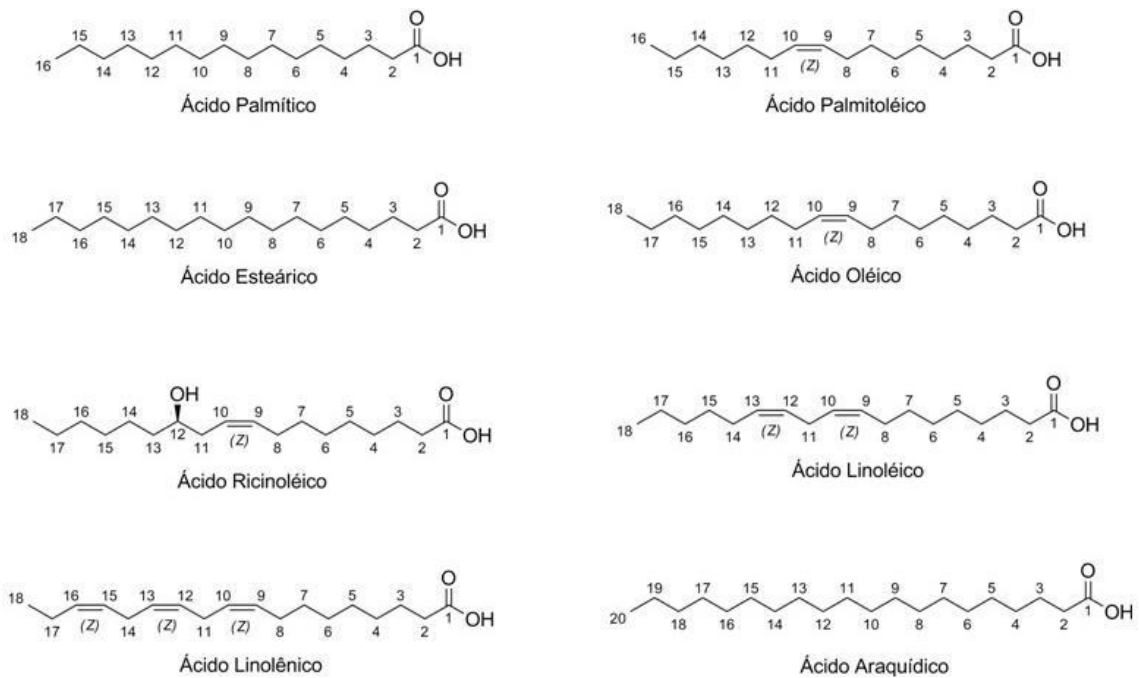
### 2.1.3 – Matérias-Primas

Como expresso anteriormente, o biodiesel pode ser produzido a partir de uma gama enorme de insumos, sendo os óleos e gorduras os precursores de todos os processos.

Óleos e gorduras são substâncias hidrofóbicas, insolúveis em água, pertencentes à classe química dos lipídeos, podendo ser de origem vegetal, animal ou microbiana. O Conselho Nacional de Normas e Padrões para Alimentos define, para gorduras, a temperatura de 20 °C como o limite inferior para o ponto de fusão, enquanto para óleos, este é o limite superior. Assim, a diferença entre óleos e gorduras é puramente uma definição. Em boa parte do território brasileiro, à temperatura ambiente, os óleos se encontram no estado líquido, enquanto as gorduras em estado sólido (Suarez *et al.*, 2007). A classe dos lipídeos é a de maior abundância na natureza, constituída por uma série de compostos químicos, sendo os mais importantes os ácidos graxos livres, bem como seus derivados como os acilglicerídeos e os fosfatídeos (Lopez *et al.*, 2005).

Ácidos graxos são compostos orgânicos, da classe dos ácidos, com estrutura molecular primariamente linear, sendo diferenciados pelo número de carbonos na cadeia, bem como pela presença ou não de ligações duplas entre carbonos na mesma (Yin *et al.*, 2008). Os ácidos graxos que não possuem ligações duplas, ou insaturações, são conhecidos como saturados, bem como os que possuem este tipo de ligação são chamados de insaturados. Pela característica da ligação, ainda é possível a aparição de isômeros *cis* e *trans* dependendo da estrutura molecular. Na natureza, os isômeros *cis* de ácidos graxos e derivados são ampla maioria frente aos isômeros *trans*, bem como cadeias graxas com número par de carbonos são muito mais encontradas. Além da diferença entre isômeros, os ácidos graxos insaturados podem se diferenciar pela posição da ligação dupla na cadeia carbônica (Xie *et al.*, 2006). Na Figura 17, estão exemplificados os ácidos graxos ocorridos naturalmente de maior relevância.

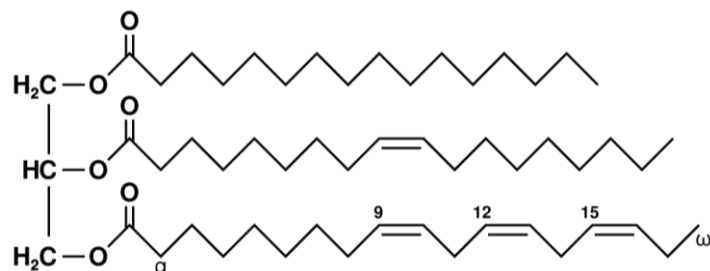
Figura 17. Estrutura molecular de ácidos graxos encontrados na natureza



Fonte: Adaptado de Moretto e cols. (1989)

Na natureza, ácidos graxos são encontrados na sua forma não associada, os chamados ácidos graxos livres, ou associados com certos grupos e funções, formando outras classes de compostos químicos. Uma das principais formas associadas presente na natureza é a classe dos acilglicerídeos, que são ésteres de ácidos graxos formados pela condensação desses ácidos com o glicerol (Figura 18) (Garcia *et al.*, 2008). Dependendo do número de moléculas que se associou covalentemente ao glicerol, de 1 a 3, os compostos são classificados como mono-, di- ou triacilglicerídeos. Esses compostos são facilmente esterificados (ou transesterificados), chegando aos constituintes do biodiesel (Jackson *et al.*, 2006). Vale ressaltar que os acilglicerídeos podem ser formados por ácidos graxos iguais ou diferentes entre si.

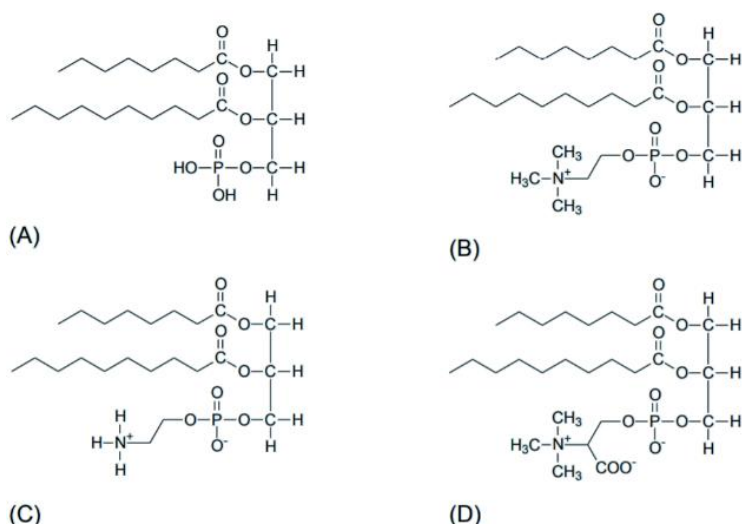
Figura 18. Exemplo de um acilglicerídeo: um triacilglicerídeo



Fonte: SOLOMONS G. e FRYHLE (2002)

Um segundo grupo de grande importância é o dos fosfatídeos, compostos derivados do ácido fosfatídico. O próprio ácido fosfatídico é uma substância obtida pela condensação de um poliol (um álcool orgânico com múltiplos grupos hidroxilas), comumente o glicerol, com o ácido fosfórico e dois ácidos graxos, idênticos ou não. Essa condensação pode ocorrer com diversas espécies químicas, levando à aparição de diferentes fosfatídeos, com destaque para as lecitinas (derivados da colina), cefalinas (derivados da etanolamina) e a fosfatidilserina (derivados da L-serina), exemplificados na Figura 20 (Omota *et al.*, 2003). Estas moléculas possuem duas regiões bastantes distintas em suas estruturas, uma região bastante polar (hidrofílica), onde há concentração dos grupamentos funcionais contendo a carbonila, e outra bastante apolar (hidrofóbica), representada pela longa cadeia hidrocarbônica. Devido à presença dessas regiões, os fosfatídeos, popularmente conhecidos como gomas, agem como surfactantes naturais, e, na indústria de alimentos, são comumente utilizados como emulsificantes (Bournay *et al.*, 2004).

Figura 19. Exemplos de um ácido fosfatídico (fosfato de diacilglicerina) (A) e de seus derivados Lecitina (B), Cefalina (C) e Serina (D)



Fonte: Oliveira *et al.* (2007)

Os óleos e gorduras triacilglicéridicos são constituintes essenciais em todas as formas de vida, seja de plantas ou de animais, e estão amplamente distribuídos na natureza. Toda e qualquer espécie, de plantas e animais, produz certa quantidade, ainda que pequena, de óleos ou gorduras no seu ciclo de vida (Veldurthy *et al.*, 2005). Ainda assim, poucas são as espécies capazes de produzirem os compostos em quantidade suficiente para serem exploradas comercialmente. Além da quantidade, as propriedades físico químicas dos óleos extraídos são essenciais na escolha de uma matéria-prima, principalmente se tratando de produção em larga escala (Dossin *et al.*, 2006). O número de insaturações, a posição destas insaturações na cadeia graxa, o tamanho da

cadeia, bem como a estrutura tridimensional da molécula final, são fatores que alteram as propriedades dos óleos e gorduras (Tabela 2).

Tabela 2. Principais ácidos graxos encontrados na natureza

Ácido Graxo	Nome Sistemático	Símbolo	Fórmula
Butírico	butanóico	C4 ou C4:0	C <sub>4</sub> H <sub>8</sub> O <sub>2</sub>
Capróico	hexanóico	C6 ou C6:0	C <sub>6</sub> H <sub>12</sub> O <sub>2</sub>
Caprílico	octanóico	C8 ou C8:0	C <sub>8</sub> H <sub>16</sub> O <sub>2</sub>
Caprico	decanoico	C10 ou C10:0	C <sub>10</sub> H <sub>20</sub> O <sub>2</sub>
Otusílico	cis-4-decenóico	C10:1(n4)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
Caproleico	Cis-9-decenóico	C10:2(n9)	C <sub>10</sub> H <sub>18</sub> O <sub>2</sub>
Láurico	dodecanóico	C12 ou C12:0	C <sub>12</sub> H <sub>24</sub> O <sub>2</sub>
Lauroleico	cis-5-lauroleico	C12:1(n5)	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
Lindérico	cis-4-dodecenóico	C12:1(n4)	C <sub>12</sub> H <sub>22</sub> O <sub>2</sub>
Mirístico	tetradecanóico	C14 ou C14:0	C <sub>14</sub> H <sub>28</sub> O <sub>2</sub>
Miristoleico	cis-9-tetradecenóico	C14:1(n9)	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>
Tsuzeico	cis-4-tetradecenóico	C14:1(n4)	C <sub>14</sub> H <sub>26</sub> O <sub>2</sub>
Palmítico	hexadecanóico	C16 ou C16:0	C <sub>16</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Palmitoleico	cis-9-hexadecenóico	C16:1(n9)	C <sub>16</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
Estearico	octadecanóico	C18 ou C18:0	C <sub>18</sub> H <sub>36</sub> O <sub>2</sub>
Petroselínico	cis-6-octadecenóico	C18:1(n6)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Oleico	cis-9-octadecenóico	C18:1(n9)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Eládico	trans-9-octadecenóico	C18:1(tn9)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Vaccênico	cis-11-octadecenóico	C18:1(n11)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>2</sub>
Linoleico	cis-9, cis-12-octadecadienóico	C18:2(n9,12)	C <sub>18</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Linolênico	cis-9,cis-12,cis-15-octadecatrienóico	C18:3(n9,12,15)	C <sub>18</sub> H <sub>30</sub> O <sub>2</sub>
Ricinoleico	12-hidroxi-cis-9-octadecenóico	C18:1(n9):OH(n12)	C <sub>18</sub> H <sub>34</sub> O <sub>3</sub>
Araquídico	eicosanóico	C20 ou C20:0	C <sub>20</sub> H <sub>40</sub> O <sub>2</sub>
Gadoleico	cis-9-eicosenóico	C20:1(n9)	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>
Gadóico	cis-11-eicosenóico	C20:1(n11)	C <sub>20</sub> H <sub>38</sub> O <sub>2</sub>
Araquidônico	cis-6,cis-9,cis-12,cis-15-eicostetraenóico	C20:4(n6,9,12,15)	C <sub>20</sub> H <sub>32</sub> O <sub>2</sub>
Behênico	docosanóico	C22 ou C22:0	C <sub>22</sub> H <sub>44</sub> O <sub>2</sub>
Cetoleico	cis-11-docosenóico	C22:1(n11)	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>
Erúcico	cis-13-docosenóico	C22:1(n13)	C <sub>22</sub> H <sub>42</sub> O <sub>2</sub>
Lignocérico	tetracosanóico	C24 ou C24:0	C <sub>24</sub> H <sub>48</sub> O <sub>2</sub>
Nervônico	cis-15-tetracosenóico	C24:1(n15)	C <sub>24</sub> H <sub>46</sub> O <sub>2</sub>

Fonte: Ramos, L. P. et al (2016)

Exemplificando uma propriedade físico química fortemente alterada com a estrutura da cadeia graxa, a alteração no número de insaturações na molécula está diretamente ligada ao ponto de fusão da mesma. De maneira geral, quanto maior o número de ligações duplas na molécula, mais alto é o ponto de fusão do triacilglicerídeo (SOLOMONS e FRYHLE, 2002). Assim, a maioria dos triacilglicerídeos saturados, como aqueles que compõem o sebo animal e o óleo de dendê, são sólidos à temperatura ambiente, enquanto os insaturados e poli-

insaturados, como os constituintes dos óleos de soja, milho e girassol, são líquidos a temperatura ambiente (Suarez *et al.*, 2007). Desse modo, a escolha de uma matéria-prima passível de ser transformada em biodiesel em larga escala, passa por uma série de fatores e variáveis.

O Brasil, por ser um país de dimensões continentais, apresenta um leque amplo no uso de matérias-primas para produção de biodiesel, como soja, mamona, dendê, girassol, algodão, babaçu, macaúba, amendoim, pinhão-manso, além das de origem animal, como o sebo bovino, as gorduras de suínos e frango e óleos de vísceras de peixe (Macedo *et al.*, 2006). Como destacado anteriormente, óleos de descarte e óleos de fritura vem já sendo utilizados como fontes alternativas, porém em baixa escala. Mais de 350 espécies diferentes de plantas já foram identificadas como tendo potencial para utilização na produção do biodiesel ao redor do mundo (Shimada *et al.*, 2007). No entanto, vale ressaltar que as propriedades finais do combustível estão diretamente ligadas, não só à matéria-prima inicial, mas também à tecnologia associada ao processo de transformação, inviabilizando o uso de diversas espécies (Vigliano, 2003).

De maneira geral, é possível obter ésteres alquílicos de ácidos graxos a partir de qualquer matéria-prima oleaginosa, entretanto, não são todas as matérias-primas capazes de garantir a qualidade final de um biodiesel que atenda às especificações internacionais (Jegannathan *et al.*, 2008). Isso acontece já que algumas apresentam propriedades não ideais, que acabam por tornar o biocombustível inadequado para o uso em motores do ciclo Diesel. Por exemplo, um biodiesel que tenha baixa estabilidade à oxidação é indesejado, uma vez que torna o armazenamento do líquido mais complexo, além de comprometer seu uso direto em motores (B100). Um exemplo mais palpável ocorre no óleo de mamona, a partir do qual se produzem ésteres com viscosidade superior àquelas estabelecidas pela grande maioria dos motores do ciclo Diesel, necessitando do uso de aditivos para adequação à venda (Dabdoub *et al.*, 2009).

Além do estudo das propriedades, diversas outras variáveis devem ser observadas para a escolha de uma matéria-prima viável, dependendo de uma avaliação minuciosa sobre suas respectivas cadeias produtivas. Desse modo, é possível afirmar que a viabilidade de uma matéria-prima, para produção do biocombustível em larga escala, depende de sua competitividade técnica, econômica e socioambiental. Como fatores relevantes nessa escolha, pode-se destacar: a produtividade por unidade de área cultivada; o teor de óleo extraído, bem como a complexidade exigida no processo de extração; o equilíbrio agrônomico de um cultivo de determinada espécie a longo prazo; a sazonalidade e o ciclo de vida da planta ou animal; adaptação territorial do cultivo; o impacto socioambiental e econômico do desenvolvimento da determinada cultura (Akoh *et al.*, 2005).

Realizados os estudos e prospecções necessárias, ainda restará a necessidade de implantação de projetos que ampliem escalas de produção daquela matéria-prima, além, de estudos de longa duração do uso do biodiesel em motores e estudos agrônomicos mais aprofundados que possam garantir a integridade do

ecossistema, bem como a disponibilidade em momentos de maior demanda. Todos esses projetos são intensivos em capital e em tempo, por isso, a produção do biocombustível é concentrada e pouco diversificada (Oda *et al.*, 2005). Cerca de 77% de todo biodiesel produzido no planeta vem de apenas 4 matérias-primas (dendê, soja, canola e óleos de fritura) (Tabela 3).

Tabela 3. Ranking de produção de biocombustíveis e principais matérias-primas

País	Ranking Produção (2020)	Principais Matérias-Primas
Estados Unidos	3	Óleo de soja
União Europeia	1	Óleo de canola / Óleos de fritura
Indonésia	2	Óleo de dendê
Brasil	4	Óleo de soja
China	8	Óleos de fritura
Índia	14	Óleos de fritura
Canadá	13	Óleo de canola / Óleo de soja
Argentina	5	Óleo de soja
Tailândia	6	Óleo de dendê
Colômbia	10	Óleo de dendê
Paraguai	17	Óleo de soja

Fonte: OECD-FAO *Agricultural Outlook 2020-2029*

A escolha da matéria-prima também é fator essencial sobre o custo da produção industrial (Qin *et al.*, 2008). Para usinas que produzem o biodiesel em larga escala, os custos de conversão, envolvendo álcool, catalisadores e energia, chegam a cerca de 10% do custo total. Já em unidades de pequeno a médio porte, esse mesmo custo usualmente varia entre 25 – 40% do valor do produto final. Na década de 90, cerca de 60 – 75% do custo do processo de produção de biodiesel era devido à matéria-prima, no entanto, atualmente esse valor chega a atingir 85% do custo final (Herrador, 2016). Fica evidente que a escolha de matéria-prima deve ser atrelada a uma decisão fundamentada, com os aspectos econômicos sendo parte fundamental.

Um dos principais fatores determinantes para a viabilidade de uma matéria-prima é a quantidade de óleo possível de ser extraída (Tiwari *et al.*, 2007). Oleaginosas que conseguem armazenar maiores quantidades de óleo em suas estruturas são preferíveis na produção do biodiesel, uma vez que seu emprego reduz o custo de produção; maior produção do biocombustível por área plantada (Tabela 4).

Ainda assim, a soja vai na contramão desse importante quesito, uma vez que sua capacidade de armazenamento de óleo e, por consequência, produção de biodiesel por hectare plantado, é baixa quando comparada a outras culturas. O cultivo da oleaginosa é realizado em larga escala e o óleo de soja surge como subproduto do processamento do farelo. No Brasil, dada a grandeza deste agronegócio, a soja foi a principal base para o desenvolvimento do PNPB. Fica claro que a utilização da soja tem suas raízes no cultivo da oleaginosa para a indústria alimentícia, sendo o subproduto uma conveniência para produção do biodiesel (Suarez *et al.*, 2007). O dendê, apesar de possuir números bastante



superiores à soja, também possui como principal razão para seu amplo uso, a indústria de alimentos. Os óleos mais consumidos no planeta na alimentação são, nessa ordem, os óleos de soja, dendê e canola.

Tabela 4. Comparação entre fontes de óleo para fabricação de biodiesel

Fonte de Óleo	Conteúdo de óleo por % matéria seca	Produção de óleo (L/ha/ano)	Uso da terra (m <sup>2</sup> /kg biodiesel/ano)	Produtividade de biodiesel (kg/ha/ano)
Milho	44	172,0	66	152
Cânhamo	33	363,0	31	321
Soja	18	636,0	18	562
Pinhão-Manso	28	741,0	15	656
Camelina	42	915,0	12	809
Canola	41	974,0	12	862
Girassol	40	1070,0	11	946
Mamona	48	1307,0	9	1156
Dendê	36	5366,0	2	4747
Microalga (baixo teor de óleo)	30	58700,0	0,2	51927
Microalga (médio teor de óleo)	50	97800,0	0,1	86515
Microalga (alto teor de óleo)	70	136900	0	121104

*Fonte: Mata et al. (2010)*

Outros fatores fundamentais são a sazonalidade do cultivo, ou seja, se é possível a realização de certo plantio o ano todo, e os intervalos entre colheitas, bem como as extensões de terra necessárias para uma produção aceitável de biodiesel. Em ambos os fatores, como o discutido no parágrafo anterior sobre produtividade, as microalgas se mostram consideravelmente mais favoráveis frente às culturas tradicionais. Elas também possuem diversas outras vantagens frente às oleaginosas comuns, tornando-se uma matéria-prima que surge como alternativa para o médio e longo prazo (Azeredo, 2012). Esse tema será abordado mais a fundo no próximo capítulo.

Independente da matéria-prima utilizada, o biodiesel deve apresentar propriedades similares às do diesel fóssil, podendo ser utilizado em motores comuns do ciclo diesel, sem a necessidade de ajustes. Assim, é impossível imaginar que o motor deva se adequar ao biocombustível, mas sim, o biocombustível deve se adequar às exigências estabelecidas pela especificação do motor. Com o surgimento de novas tecnologias e avanços nas já existentes, as especificações se tornam cada vez mais exigentes, fazendo com que qualquer produtor de biodiesel tenha um rígido controle de qualidade em seu ponto mais crítico. Deste modo, a identificação e escolha de uma matéria-prima abundante, barata e que garanta boas propriedades para o fluido final é

absolutamente fundamental para a garantia de uma produção sustentável e que atenda as demandas do mercado de biodiesel nos médio e longo prazos.

## 2.2 – Microalgas

Microalgas são microrganismos unicelulares fotossintéticos, componentes do fitoplâncton (Li *et al.*, 2008). O termo microalga não está diretamente ligado a taxonomia de seus integrantes, ele designa um grupo com características metabólicas semelhantes, que podem ou não ter surgido e evoluído em diferentes tempos, porém o mecanismo no interior das células é análogo. As microalgas estão presentes em todas as regiões do mundo, habitando os mais diversos ambientes aquático, seja salino ou de água doce. Estima-se que existam de 200000 a 800000 diferentes espécies de microalgas, das quais apenas cerca de 50000 foram identificadas e descritas. São mais de 15000 diferentes compostos originários desses microrganismos, como carotenoides, antioxidantes, ácidos graxos, enzimas, polímeros, peptídeos, toxinas e esteróis. Os organismos podem ser procariontes como as cianobactérias, ou eucariontes, como as algas verdes, algas vermelhas e diatomáceas. Na natureza, as microalgas são encontradas como células isoladas ou formando colônias, usualmente na forma de segmentos lineares de células. As colônias podem tomar grandes dimensões, enquanto o tamanho das células varia alguns poucos até centenas de micrômetros. Independente do arranjo das microalgas, não ocorre nenhuma diferenciação celular, ou seja, cada célula é capaz e responsável por todas suas funções vitais.

### 2.2.1 – Vantagens na produção de biodiesel

As microalgas apresentam diversas vantagens, que provêm de aspectos fisiológicos e bioquímicos, sobre as culturas terrestres (Chisti, 2007), fazendo com que o grupo seja considerado a fonte mais promissora de biomassa para a produção de biodiesel nos dias atuais. (Borugadda e Goud, 2012). As microalgas não requerem terras aráveis, podendo ser cultivadas em quase todas as regiões do planeta. Ademais, sua produção pode ser realizada durante todo o ano, não seguindo o regime de safras. A eficiência na conversão da luz solar durante o processo fotossintético das microalgas chega a ser de 6 a 12 vezes superior às culturas tradicionais, o que permite um crescimento muito mais acelerado, aumentando a produtividade. Na Tabela 5, são apresentadas as médias de produtividade de biomassa em barris equivalentes de petróleo (bep) por hectare ano, para algumas culturas utilizadas na produção de biocombustíveis. É possível perceber a ampla vantagem das microalgas; a cana de açúcar é a única cultura tradicional que chega a ter uma eficiência acima de 1%.

Tabela 5. Produção de energia e eficiência fotossintética de diferentes fontes de biomassa

Fonte de biomassa	Biocombustível produzido	Produtividade (bep/ha/ano)	Eficiência fotossintética (%)
Milho	Etanol	20	0,2
Cana de açúcar	Etanol	210 - 250	2 - 3
Soja	Biodiesel	13 - 22	0,1 - 0,2
Girassol	Biodiesel	8,7 - 16	0,1 - 0,2
Microalgas	Biodiesel	390 - 700	4 - 7

Fonte: Scott et al. (2010)

A biomassa das microalgas, de maneira geral, duplica a cada 24 horas, tempo que pode cair para até cerca de 3,5 horas durante a fase exponencial de crescimento de algumas espécies (Chisti, 2007). Esse veloz ciclo de vida permite colheitas contínuas, diminuindo a logística de armazenagem, fundamental para o cultivo das oleaginosas tradicionais, e diminuindo os custos totais do processo. Como mostrado anteriormente, a capacidade de armazenamento de conteúdo lipídico nas microalgas é enorme, com particularidades de cada espécie alterando esse número. A Tabela 6 exemplifica estes valores para algumas espécies.

Tabela 6. Conteúdo e produtividade de óleo de algumas espécies de microalgas

Espécie de microalga	Conteúdo de óleo por % da matéria seca	Produtividade de óleo (mg/L/dia)
<i>Nannochloropsis oculata</i>	22 - 30	84 - 142
<i>Chlorella vulgaris</i>	5 - 50	-
<i>Dunaliella salina</i>	14 - 20	116
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35 - 65	90 - 134
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19 - 22	45
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	18 - 57	45
<i>Spirulina máxima</i>	4 - 9	-
<i>Chlorococcum sp.</i>	19	54
<i>Chlorella protothecoides</i>	23 - 55	1214

Fonte: Mata et al., 2010.

Segundo Franco et al. (2013), o conteúdo de óleo em relação a matéria seca pode ser amplificado através da alteração nas condições de cultivo e stress ambiental. Diversos outros autores afirmam que condições como a deficiência

de nutrientes e promoção de anaerobiose, se aplicadas estrategicamente, podem aumentar a produção de lipídeos. A rápida taxa de crescimento, somada ao alto conteúdo de óleo por % de matéria seca, garantem uma alta produtividade de biodiesel.

Estruturas de suporte celular, formadas por polímeros nas células de biomassa vegetal, não se fazem presentes nas microalgas, o que facilita a extração do óleo bruto, aumenta a eficiência na conversão da biomassa em biocombustível e, por consequência, reduz os custos industriais (LYNDT et al., 2008). Somado a isso, a vasta diversidade ecológica, metabólica, morfológica e genética das microalgas, permite a escolha da espécie mais adequada para o sistema de colheita e as condições de cultivo de determinado processo (DISMUKES *et al.*, 2008). Outra enorme vantagem das microalgas frente às culturas tradicionais, como afirma Patil *et al.* (2008): as microalgas não necessitam de terras férteis para seu cultivo, acabando com a competição por áreas plantáveis, que podem ser utilizadas no cultivo de alimentos. Na realidade, esses organismos podem ser cultivados em pequenas extensões de terra, ainda assim garantindo elevada produção de biodiesel. O cultivo das microalgas será brevemente discutido neste capítulo.

Além do exposto acima, vale ainda ressaltar a habilidade das microalgas em consumir CO<sub>2</sub>, importante gás do efeito estufa, no processo fotossintético, contribuindo para a diminuição dos níveis do composto na atmosfera e, para uma eventual redução do aquecimento global. Ademais, os microrganismos podem ser cultivados em sistemas intensivos, utilizando águas servidas de rejeitos industriais, bem como efluentes de outros processos e até esgoto, como fonte de carbono, constituindo assim uma solução não só energética, mas também ambiental, que não oferece competição alguma à produção de alimentos.

### 2.2.2 – Histórico das iniciativas para produção de biodiesel a partir de microalgas

Com início em 1978, o Escritório de Desenvolvimento de Combustíveis, ligado ao Departamento de Energia dos Estados Unidos, financiou o *Aquatic Species Program* (ASP), que tinha como foco o desenvolvimento de combustíveis renováveis a partir de microalgas. O programa teve fim em 1996, e seu principal foco foi na produção de biodiesel a partir de microalgas que apresentassem alto teor de lipídeos em sua estrutura, cultivadas em tanques com utilização de CO<sub>2</sub> residual. Ao longo dos quase 20 anos do programa, diversos avanços foram alcançados no que tange as técnicas de manipulação do metabolismo das microalgas e na engenharia dos seus sistemas de produção. O relatório publicado em 1998 enumerando as atividades realizadas, bem como os avanços conquistados foram um grande marco na história, relativamente recente, da produção de biocombustíveis a partir de microalgas. Na época, a produção de biomassa microalgal para obtenção de biodiesel foi inviabilizada por questões

econômicas, principalmente devido à alta variação da produtividade do óleo ao longo do ano (Boonaert *et al.*, 2002).

Por volta da mesma época, no Japão um programa com objetivo similar foi implementado, porém substituindo o sistema aberto pelo cultivo em fotobiorreatores, com um maior controle sobre os parâmetros do cultivo, condições mais intensas, acarretando superior produtividade por área em comparação com o sistema aberto. O programa era coordenado pelo *Research Institute of Innovative Technology* e, como apontado pelo relatório final, não foi possível obter a viabilidade econômica para a produção em larga escala de óleo e biodiesel a longo prazo (Yuan *et al.*, 2008).

No Brasil, o interesse pelo tema começou a surgir no início do século XXI. Em 2008, o Ministério da Ciência, Tecnologia e Inovação lançou através do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), um edital de pesquisa que visava a seleção de projetos, para realização de investimentos em um valor total de R\$ 4,5 milhões, voltados para o cultivo de microalgas e produção de biodiesel. 63 projetos foram apresentados, com os mais diversos temas como: avaliação técnico-econômica do processo de produção de biodiesel, técnicas para maximizar a extração do óleo das microalgas, estudos acerca das condições ótimas de cultivo para determinadas espécies, dentre diversos outros. O programa foi avaliado como bem-sucedido pelos órgãos organizadores. Em novembro de 2010, o mesmo ministério aprovou o Projeto MCT/FINEP, que tinha como tema a “Produção de biodiesel derivado de óleos de microalgas”. O projeto contou com investimento total na casa dos R\$ 6 milhões e teve término em 2012, com participação de mais de 10 Institutos de Pesquisa e Universidades (Azeredo, 2012).

Atualmente o interesse pela pesquisa e desenvolvimento das microalgas só cresce, com iniciativas, sejam públicas ou privadas em uma gama de países, com destaque para os maiores produtores de biodiesel.

## 2.2.3 – Cultivo

### 2.2.3.1 – Meios de Cultura

Para um cultivo bem-sucedido de microalgas, o meio deve fornecer, na quantidade correta para a espécie, os macronutrientes: fósforo, nitrogênio e carbono. Existem diversos tipos e sistemas para o cultivo de biomassa algal, dependentes do tipo de metabolismo da microalga, podendo ser divididos em três principais grupos, que vão de acordo com a fonte que disponibiliza o carbono no meio: sistemas autotróficos, heterotróficos e mixotróficos. Os sistemas autotróficos, que utilizam da luz solar como principal fonte de energia e CO<sub>2</sub> como fonte única de carbono para o crescimento das microalgas; os sistemas heterotróficos, que utiliza compostos orgânicos dissolvidos (e.g., glicose, acetato), como fonte de energia e de carbono; os sistemas mixotróficos, que

apresentam as duas fases anteriores (BRENNAN e OWENDE 2010, CHEN *et al.* 2011).

Além dos macronutrientes já citados, micronutrientes como cálcio, magnésio, potássio, sílica, ferro, zinco, cobre, enxofre, cobalto e manganês, são essenciais para o crescimento das microalgas (CHRISTENSON e SIMS, 2011). Amaro *et al.* (2011) afirma que um dos motivos do elevado custo da produção de biodiesel a partir de microalgas surge da grande quantidade de fornecimento dos nutrientes, bem como do alto consumo de água. Sialve *et al.* (2009) mostrou que, usando nitrato como fonte de nitrogênio, seriam necessários de 6 – 8 toneladas/ha/ano, quantidade de 55 a 111 vezes superior que o utilizado para culturas tradicionais.

Águas residuais de esgotos doméstico, agrícola ou industrial, podem ser utilizadas como fonte de nutrientes para o cultivo, fato que diminuiria os custos, seja no tratamento de água, como na produção do biodiesel (CHEN *et al.*, 2015). Durante a fotossíntese as microalgas liberam oxigênio, que seria utilizado pelas bactérias no tratamento dessas águas residuais, diminuindo os custos de aeração do meio no processo (Gouveia *et al.*, 2016). Diversos estudos já foram feitos acerca do tema, principalmente com o uso do esgoto doméstico, alcançando-se resultados promissores na capacidade de cultivo. Outra vantagem já descrita na literatura é a capacidade de fixação de metais pesados como selênio, crômio e chumbo, arsênio e compostos orgânicos nocivos por parte das microalgas. Na utilização de águas residuais para o cultivo, essa fixação reduziria a formação de lodo tóxico e a emissão de gases causadores do efeito estufa.

Segundo Borowitzka (1999), uma série de considerações deve ser feita antes de se decidir qual sistema de cultivo será utilizado no processo. Dentre eles, destaca-se: disponibilidade e custo de nutrientes e água; características biológicas da espécie cultivada; custos da terra, trabalho e energia; tipo final do combustível alcançado; dentre outros.

### 2.2.3.2 – Formas de Cultivo

Existem duas principais formas de cultivo empregadas atualmente para o crescimento de biomassa microalgal em média e larga escala: sistemas abertos (*raceways*, lagos, lagoas, etc.) e sistemas fechados (tubular, reator em placa, fermentador, etc.) (DASGUPTA *et al.*, 2010).

Os sistemas de produção em lagoas abertas são utilizados desde a década de 1950, sendo deste tipo a maioria dos sistemas comerciais usados atualmente em larga escala. O principal motivo é a facilidade de operação, construção e operação, se comparados aos sistemas fechados (Richmond 2004). Segundo Huang *et al.* (2015), estes sistemas são formados por tanques abertos, ao ar livre, de 20 a 50 centímetros de profundidade, agitação e circulação no meio de cultivo, de forma a estabilizar o crescimento e produtividade das microalgas

(Figura 20). A contínua agitação impede que haja deposição de células no fundo dos tanques e garante melhor e mais uniforme acesso aos nutrientes e a luz solar. De maneira geral, utiliza-se uma pá mecânica para manter a agitação. O carbono provém do CO<sub>2</sub> do ar (sistema autotrófico), podendo haver a instalação de aeradores ao longo do tanque para aumentar a absorção do gás (BRENNAN & OWENDE, 2010; DASGUPTA *et al.*, 2010).

O menor custo é explicado pela possibilidade de utilização de diversos materiais na construção das paredes e fundo dos tanques, usualmente utiliza-se concreto, porém tijolos, areia, plástico, etc. também podem ser utilizados. A manutenção do sistema aberto é mais simples se comparada aos sistemas fechados pela facilidade de acesso ao tanque para realização da limpeza do biofilme que se acumula sobre as superfícies após o cultivo (FRANCO *et al.*, 2013). A grande desvantagem desse tipo de sistema é a dificuldade no controle das variáveis de cultivo (pH, salinidade, temperatura, iluminação, etc.) (CHISTI *et al.*, 2007). Outros fatores de desvantagem estão na ocorrência de grandes perdas de água por evaporação; alto risco de contaminação por espécies indesejadas, diminuindo o rendimento e, após estabelecidas no interior do tanque, essas espécies se mostram de difícil erradicação; baixa eficiência no uso de CO<sub>2</sub> (Kumar *et al.*, 2015). Esses fatores acabam por tornar a produtividade dos sistemas abertos consideravelmente inferior se comparada à dos sistemas fechados (RAWAT *et al.*, 2013).

Figura 20. Lagoa do tipo raceway



Fonte: Kochem (2010)

O cultivo em sistemas fechados é realizado em fotobiorreatores, formados por uma série de tubos transparentes, comumente de vidro ou plástico, que atuam como coletores de luz solar (Figura 21). Dentro dos reatores, parâmetros como pH, temperatura, salinidade, etc, bem como o fornecimento de nutrientes e carbono são controlados (CHISTI, 2007). Diversas formas de fotobiorreatores podem ser encontradas: reator tubular horizontal; reator tubular helicoidal; reator tubular vertical; reator em placas (possui área aberta para trocas gasosas); reator tipo fermentador (iluminação é fornecida internamente, por cabos ópticos, por exemplo) (DASGUPTA *et al.*, 2010).

Com condições de cultivo controladas, uma melhor distribuição de luz no interior do reator (principalmente pela menor ‘profundidade’) e a diminuição nos riscos de contaminação, a produtividade volumétrica dos sistemas fechados chega a ser 8 vezes superior que dos sistemas abertos, enquanto a concentração celular pode chegar a 16 vezes (PEQUENO *et al.*, 2012). Suas principais desvantagens são no custo de produção, operação e manutenção, muito superiores que o das lagoas do tipo *raceway*, bem como o surgimento de problemas como superaquecimento, entupimentos e acúmulo de oxigênio no interior do reator (Brenna e Owende, 2010).

Figura 21. Fotobiorreator tubular vertical



Fonte: Greenwell *et al.* (2010)

A produção em sistemas heterotróficos e mixotróficos é muito incipiente e pouco utilizada frente aos meios de produção autotróficos. A Tabela 7 enumera as principais vantagens e desvantagens dos diferentes sistemas de cultivo. Após o cultivo da biomassa, para a produção do biodiesel, a mesma segue para as etapas de processamento: colheita, secagem e extração do óleo.

Tabela 7. Comparativo dos sistemas de cultivo

Parâmetro	Sistemas abertos	Sistemas fechados
Espaço necessário	Grande	Pequeno
Risco de Contaminação	Alto	Médio a baixo
Perdas de Água	Alto	Baixo
Perdas de CO <sub>2</sub>	Alto	Quase nenhuma
Concentração de O <sub>2</sub>	Baixa	Deve ser removido continuamente
Controle do processo	Limitado	Possível
Desgaste dos materiais de construção	Baixo	Alto



Dependência das condições ambientais	Alto	Baixo
Temperatura	Variável	Necessita resfriamento
Custos da colheita	Alto	Médio
Manutenção	Fácil	Difícil
Custos de construção	Médio	Alto
Concentrações de biomassa na colheita	Baixo	Alto

Fonte: Pereira (2012)

### 2.2.3.3 – Colheita

O grande objetivo desta etapa é separar a biomassa de microalgas do grande volume de água. Idealmente a técnica de colheita deve ter baixos custos operacionais, energéticos e de manutenção, enquanto garante a produção de uma biomassa de alta concentração; até o momento uma técnica capaz de atender todos os requisitos não foi encontrada (BARROS *et al.*, 2015). Os desafios do processo residem na alta diluição dos meios de cultura, 0,5 – 2 g/L em sistemas abertos e 5 – 10 g/L em sistemas fechados, que acabam tornando a colheita responsável por 20 a 30% dos custos totais de produção (Grima *et al.*, 2003). A concentração ideal para a conversão industrial da biomassa gira em torno de 300 – 400 g/L, de 100 a 1000 vezes maior que a concentração inicial (Ginzburg, 1993). A escolha da técnica mais adequada depende de uma série de fatores, com destaque para a vazão do meio a ser separado, o tamanho das microalgas, a concentração do meio de cultivo e a especificação do óleo final (Pragya *et al.*, 2013). Os métodos mais comumente utilizados em média e larga escalas são: centrifugação, sedimentação por gravidade, floculação, filtração, ultra filtração, flotação e combinação entre eles (BARROS *et al.*, 2015).

A centrifugação é uma das técnicas de colheita mais versáteis, podendo ser utilizada para a maioria das espécies de microalgas (RAWAT *et al.*, 2011). São utilizadas centrífugas, que operam em altas velocidades angulares, fazendo com que ocorra a separação de matérias com densidades diferentes (Figura 22 a). É a técnica mais rápida de colheita, entretanto, mais cara devido ao alto consumo energético, o que torna a centrifugação viável apenas para produtos de alto valor (Barros *et al.*, 2015). Pragya *et al.* (2013) afirma que dentro de 2 a 5 minutos é possível recuperar até 90% da biomassa. Eficiências de colheita maiores que 95% e aumento na concentração em até 150 vezes são tecnicamente viáveis utilizando a centrifugação (GERARDO *et al.*, 2015).

Em contraste, a sedimentação por gravidade é a técnica mais simples e barata de colheita, baseando-se nas forças gravitacionais para a separação de fases. É um processo lento e pouco eficiente, passível de ser aplicado apenas nos cultivos de microalgas grandes, já que aquelas de menor tamanho permanecem em suspensão e acabam não sendo separadas (UDUMAN *et al.*, 2010). A colheita é realizada em separadores de lamela, que chegam a 6% de recuperação dos sólidos totais em suspensão, e tanques de sedimentação, com 3% dos sólidos totais em suspensão recuperados (Show *et al.*, 2014). Devido à

baixa eficiência do processo, comumente são utilizadas outras técnicas de recuperação de biomassa após a realização da sedimentação por gravidade.

A floculação se baseia na formação de um agregado de partículas menores, que facilitam sua sedimentação para o fundo dos tanques (GERARDO *et al.*, 2015). Esse processo pode ser obtido por diversas formas. Em um meio de cultivo de microalgas, a auto floculação pode ser induzida através da precipitação de sais com algas em pH elevado (Vandamme *et al.*, 2013). O aumento do pH é provocado pelo consumo de CO<sub>2</sub> no processo fotossintético, assim, realizando o cultivo sob luz solar com um fornecimento restrito de CO<sub>2</sub>, é possível auxiliar a auto floculação das células. Alternativamente, é possível adicionar produtos químicos, orgânicos ou inorgânicos, que tenham capacidade coagulante. Estes produtos são responsáveis por neutralizar as cargas negativas em excesso na superfície das microalgas, diminuindo a repulsão entre elas e facilitando a agregação das partículas (GERALDO *et al.*, 2015). Os flocculantes orgânicos são polímeros de alto peso molecular, possuindo caráter catiônico para maior eficácia (Vandamme *et al.*, 2013). Os compostos inorgânicos são mais comumente utilizados devido ao seu custo mais acessível e, dentre os inorgânicos, aqueles a base de ferro e alumínio mostraram melhores resultados (CHATSUNGNOEN e CHISTI, 2016). O sulfato de alumínio, por exemplo, mostrou ser capaz de separar dois terços da água em um meio de cultivo de microalgas na dosagem correta (Figura 22 b). As maiores desvantagens da aplicação dos coagulantes, além do aumento de custo do processo, surgem da necessidade do uso de grandes volumes dos produtos, elevada sensibilidade à variação de pH em algumas espécies de microalgas e contaminação do produto final com os metais adicionados (base dos coagulantes) (UDUMAN *et al.*, 2010).

Figura 22. Biomassa já centrifugada (a); processo de floculação com diferentes dosagens de coagulante (b)



Fonte: Mitchell, NPDEAS (2013)

Existem ainda a floculação eletrolítica e a eletrocoagulação, porém são processos pouco utilizados. Na floculação eletrolítica, as microalgas são atraídas para a superfície de um anodo onde suas cargas superficiais são neutralizadas, possibilitando a agregação das partículas. Na eletrocoagulação, há o emprego de eletrodos de sacrifício que, por meio de oxidação eletrolítica, formam

compostos coagulantes que desestabilizam as partículas em suspensão, formando flocos (AZARIAN *et al.*, 2007).

A filtração é uma técnica que utiliza da passagem da mistura contendo a biomassa microalgal através de um meio permeável, capaz de reter as partículas sólidas. A filtração convencional opera sob pressão ou sucção e, além dos filtros comuns, auxiliares de filtração como terra diatomácea e celulose podem ser utilizados para aumento na eficiência (GRIMA *et al.*, 2003). Esta técnica é recomendada para algas de grandes dimensões, maiores que 70 µm, não sendo indicada para aquelas com dimensões inferiores aos 30 µm; para estas é possível a utilização da micro e ultra filtração por membranas (Brennan e Owende, 2010). A filtração comum pode concentrar em até 245 vezes o meio, com a formação de tortas contendo 27% de sólidos (Mohn, 1980). A filtração com membranas tem capacidade para recuperar 100% da biomassa (GERARDO *et al.*, 2015), entretanto não é aplicável em larga escala devido ao seu alto consumo energético e necessidade constante de substituição das membranas, o que acarreta em um alto preço para o processo (RAWAT *et al.*, 2013).

Na flotação há o aprisionamento das células de microalgas em micro bolhas de ar dispersas no meio de cultivo. Estas bolhas se aderem às partículas sólidas e as levam para a superfície do fluido. Para gerar as bolhas, pode-se utilizar ar disperso, ar dissolvido, eletrólise ou ozônio (BARROS *et al.*, 2015). Na flotação com ar dissolvido, a mais empregada atualmente, é utilizado um fluxo de água pré-saturada com ar, produzindo bolhas de 10 a 100 µm. Na flotação com ar disperso, as bolhas são geradas através de um agitador mecânico, com tamanho entre 700 e 1500 µm, limitando seu uso, uma vez que bolhas menores se aderem às partículas sólidas com maior eficiência (Laamanen *et al.*, 2016). Na flotação com ozônio, as bolhas geradas possuem carga, o que faz com que ocorra maior interação com a superfície das microalgas, naturalmente carregadas negativamente, aumentando a aderência as bolhas (BARROS *et al.*, 2015). É comum no processo de colheita utilizar a flotação em combinação com a floculação química, obtendo resultados melhores se comparados aos processos individuais (UDUMAN *et al.*, 2010). A Tabela 8 faz um comparativo entre os principais métodos de colheita de microalgas.

Tabela 8. Comparativo entre os métodos de colheita mais utilizados

Processo de colheita	Rendimento	Gasto energético	Desvantagens
Floculação	Acima de 95% de remoção das microalgas	Baixa para fraca agitação	Custo dos floculantes e risco de contaminação
Centrifugação	95% de colheita de células e 22% de sólidos suspensos totais	Alta, 8 kWh/m <sup>3</sup>	Consumo de energia
Sedimentação	0,5 -1,5% de sólidos suspensos totais	Baixa, 0,1 kWh/m <sup>3</sup>	Processo lento

Filtração	1 -6% de sólidos suspensos totais	Baixa, 0,4 kWh/m <sup>3</sup>	Filtros precisam ser trocados periodicamente
Filtração (pressão)	5 -27% de sólidos suspensos totais	Média, 0,88 kWh/m <sup>3</sup>	Filtros precisam ser trocados periodicamente
Floculação - Flotação	90 % de remoção de microalga e 1-6% de sólidos suspensos totais	Alta, 10 a 20 kWh/m <sup>3</sup>	Consumo de energia
Eletrocoagulação	Acima de 95% de remoção das microalgas	Média-alta, 0,8 a 1,5 kWh/m <sup>3</sup>	Eletrodos precisam ser trocados periodicamente
Eletroflotação	3 -5% de sólidos suspensos totais	Elevada	Eletrodos precisam ser trocados periodicamente
Eletrofloculação	Acima de 90% de remoção das microalgas	Baixa-média, 0,33 kWh/m <sup>3</sup>	Eletrodos precisam ser trocados periodicamente

Fonte: Santos (2013)

#### 2.2.3.4 – Secagem e extração

Finalizada a colheita, as microalgas passam pelo processo de secagem, uma vez que a ausência de umidade é fundamental para o processo de extração do óleo (Lam e Lee, 2012). A secagem ao sol é o método mais utilizado, uma vez que é simples e barato, porém, extremamente lento e sujeito a perdas de material devido ao baixo controle das variáveis. Além disso, é um processo quase inviável em países de clima frio e temperado. Nesses países, devido às baixas temperaturas, consomem-se grandes quantidades de combustíveis na secagem. Muitas vezes, nesta etapa, o gasto energético supera a energia produzida pelo biodiesel, tornando o processo inviável (Sander e Murthy, 2010). Outros métodos utilizados na secagem da biomassa são a liofilização e a secagem em prateleiras, porém são bem mais caros que a secagem ao sol, sendo empregados apenas quando se visa a obtenção de produtos de alto valor agregado (GRIMA *et al.*, 2003).

A extração do óleo das microalgas pode ser feita por meio de processos químicos, físicos, combinação entre os dois, com emprego de enzimas ou com fluido supercrítico. Idealmente, o método utilizado para a extração deve ser o mais seletivo e específico possível, a fim de se extrair somente a fração desejada. As microalgas produzem uma gama enorme de compostos, dentre os diferentes tipos de lipídeos estão os fosfolipídios, glicolipídios, mono, di e triacilgliceróis, além dos componentes não lipídicos, como proteínas, pigmentos e açúcares. Para a produção de biodiesel, a extração deve conseguir retirar uma fração máxima dos compostos lipídicos, em especial os triacilgliceróis, facilmente convertíveis em biocombustíveis.

Os processos mecânicos são aqueles que rompem a parede celular das células, provocando a liberação do óleo (KIM *et al.*, 2013). A eficiência nesse tipo de método está ligada à espécie de microalga cultivada e melhores resultados são obtidos quando há combinação com processos químicos. A técnica de extração mecânica mais utilizada é a prensagem, que usa altas pressões para romper as paredes celulares. A vantagem deste método frente aos demais está na preservação das características químicas das substâncias presentes no interior das células, bem como no reduzido risco de contaminação da biomassa. Outro método mecânico estudado, porém, que tem baixa adesão em média e larga escala devido ao elevado consumo de energia é na utilização de ondas sonoras de alta frequência (ultrassom), gerando microbolhas, calor e ondas de choque capazes de romper a parede das células (RASHID *et al.*, 2014). Um método que tem se mostrado promissor quanto à eficiência do rompimento celular é a homogeneização a alta pressão, apesar de ainda consumir grandes quantidades de energia (Spiden *et al.*, 2013). A homogeneização é uma operação unitária que consiste no escoamento em alta pressão de uma suspensão, no caso a biomassa microalgal úmida, sobre uma seção anular cilíndrica e estreita presente numa válvula do homogeneizador. Tal escoamento acarreta em elevada tensão de cisalhamento nas partículas presentes no fluido, transformando-as em partículas menores e mais homogêneas (Gut *et al.*, 2017). Para atingir o rompimento celular, o homogeneizador é utilizado para produzir tensões de cisalhamento nas células, com o objetivo de romper a estrutura da parede celular, permitindo a obtenção dos compostos intracelulares de interesse (ANGLES *et al.*, 2017).

Os processos químicos empregam solventes orgânicos para extrair os óleos das microalgas, sendo os compostos mais utilizados o clorofórmio, hexano, etanol, benzeno, ácidos orgânicos, álcalis e misturas entre eles (Rashid *et al.*, 2014). Para que o processo seja eficiente, o solvente deve penetrar completamente na biomassa, possibilitando o contato e interação com os componentes lipídicos. Além disso, o solvente utilizado deve possuir algumas características como: ser insolúvel em água; ter baixo ponto de ebulição; ter densidade bem distinta se comparado a água, de maneira a facilitar a separação ao final do processo de extração; dissolver com facilidade a substância que se quer extrair. Vale ressaltar que a extração com biomassa seca é mais eficiente, uma vez que a presença de água reduz a interação entre as moléculas do solvente e a biomassa (HALIM *et al.*, 2012). Alguns dos processos químicos mais utilizados para a extração química dos óleos são: método de Bligh & Dyer, que utiliza solvente clorofórmio:metanol (2:1) para realizar a extração; extração com solvente etanol, usualmente utilizando um aparato Soxhlet; tratamento de J: Schmid-Bondzynski-Ratzlaff, onde a amostra é primeiramente tratada com forte solução de ácido clorídrico para depois entrar em contato com o solvente (mistura de etanol, éter dietílico e éter de petróleo); extração com solvente hexano:acetato de etila, utilizando a mistura de um composto polar e outro apolar, de modo a maximizar a extração dos compostos de interesse na biomassa microalgal.

Os processos químicos apresentam elevada eficiência, porém, possuem algumas desvantagens como: altos custos relacionados a recuperação dos

solventes; geração de grande quantidade de resíduos; necessidade do emprego de altos volumes de solvente, encarecendo o processo; e a possibilidade de o solvente utilizado alterar a composição química das substâncias extraídas (Kim *et al.*, 2013).

Outros dois métodos ainda não utilizados em larga escala, devido aos altos custos, porém que têm alcançado excelentes resultados e são focos de diversos estudos recentes são a extração com fluidos supercríticos e o uso de enzimas (VIGUERA *et al.*, 2016). A extração com fluido supercrítico apresenta altíssima seletividade, sendo CO<sub>2</sub> o composto mais usado, devido às suas baixas temperatura (31,1 °C) e pressão (72,9 atm) críticas. O emprego de enzimas também alcança altas eficiências na extração e outra vantagem sobre os processos químicos é de não alterar quimicamente os lipídeos. As classes de enzimas mais utilizadas são: celulase, neutrase e pectinase. A Tabela 9 apresenta um comparativo entre os métodos de extração discutidos anteriormente.

Tabela 9. Comparativo entre os métodos de extração de óleo

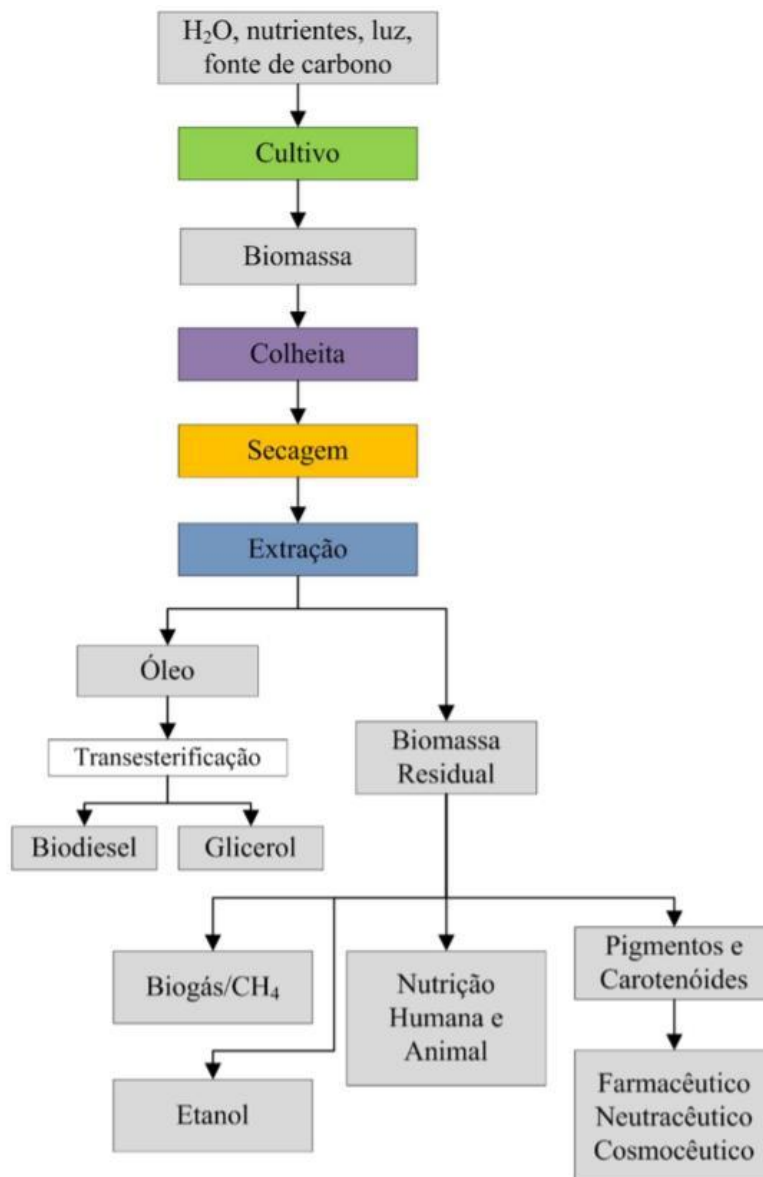
Método de extração	Vantagens	Desvantagens
Prensagem	Facilidade de aplicação, não usa Prensagem produtos químicos	Processo lento que requer uma grande quantidade de matéria-prima
Extração com solvente	Solventes usados são relativamente baratos	Maioria dos solventes orgânicos são inflamáveis e/ou tóxicos, são necessárias grandes quantidades de solvente e a recuperação é cara
Extração com fluido supercrítico	Não é tóxico nem inflamável, não deixa resíduos de solvente no extrato	Alto custo
Ultrassom	Extração rápida, melhor ruptura da parede celular	Alto custo
Enzimático	Seletivo, não altera quimicamente os lipídeos	Custo elevado das enzimas

Fonte: Mubarak *et al.* (2015)

## 2.2.4 – Transformação em biodiesel

Após a extração do óleo, a transformação do mesmo em biodiesel pode seguir diferentes rotas tecnológicas, tema discutido no próximo capítulo. A Figura 23 mostra o esquema global do processo, desde o cultivo da microalga até sua transformação no biocombustível, tomando como padrão a reação de transesterificação, a mais comumente utilizada em escala industrial.

Figura 23. Esquema geral do aproveitamento da biomassa de microalgas para a produção de biodiesel



Fonte: Adaptado de Naik et al., 2011

## 2.3 – Rotas para a produção de biodiesel

Diversas transformações são possíveis nos óleos vegetais, como a saponificação, hidrólise, hidrogenação e transesterificação. A partir destas, obtém-se produtos de elevada importância econômica que fazem parte de relevantes cadeias produtivas, no caso do presente trabalho, o produto em questão é o biodiesel. Como apresentado anteriormente, o biodiesel é formado por uma mistura de ésteres graxos. Devido à grande variedade de compostos presentes nos óleos vegetais, bem como a diversidade de reações possíveis de serem feitas, a obtenção desses ésteres pode ocorrer através diferentes rotas. Neste capítulo serão exploradas três delas, incluindo a rota tema de estudo do presente trabalho.

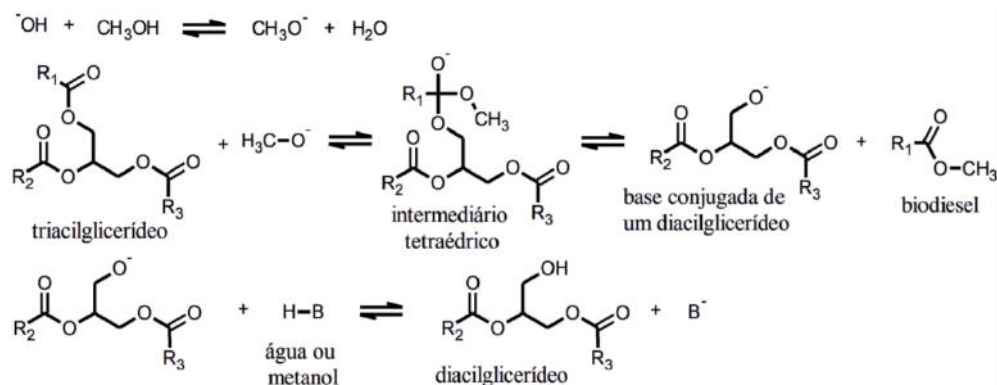
### 2.3.1 – Transesterificação

A transesterificação é uma reação reversível, podendo ocorrer por meio de catálise homogênea (ácida ou básica) ou heterogênea. Na reação, um mol de triglicerídeo reage com três mols de um álcool de cadeia curta, produzindo três mols de ésteres graxos e um mol de glicerina, principal subproduto. De maneira geral, a reação ocorre em três etapas, nas quais inicialmente gera-se um diglicerídeo, seguido de um monoglicerídeo e finalmente o glicerol e os monoésteres.

A transesterificação em meio alcalino através de catálise homogênea é o processo mais utilizado industrialmente para a produção do biodiesel. O nucleófilo da reação é o íon alcóxido, produzido *in situ* através do uso de bases de Brønsted-Lowry, normalmente hidróxidos de metais alcalinos (KOH e NaOH). Para cada mol de íons alcóxido produzido *in situ*, um mol de água também é formado, o que acaba resultando na hidrólise (quebra) dos ésteres, diminuindo o rendimento final. Assim, sempre que possível, a adição direta do nucleófilo no meio reacional deve ser considerada. O ataque do nucleófilo ocorre ao carbono carbonílico (eletrófilo) do triglicerídeo, uma vez que a o oxigênio, devido à ressonância, gera uma zona de caráter negativo sobre seu átomo e, conseqüentemente, uma área de caráter positivo sobre o carbono. Há então a formação de um intermediário tetraédrico que logo entra em colapso, produzindo uma molécula de monoéster graxo e a base conjugada de um diglicerídeo, que após protonada, gera o próprio diglicerídeo (Figura 24). O mecanismo é idêntico partindo do di e monoglicerídeo, resultando finalmente no éster e no glicerol.



Figura 24. Esquema reacional e mecanismo da transesterificação homogênea em meio básico

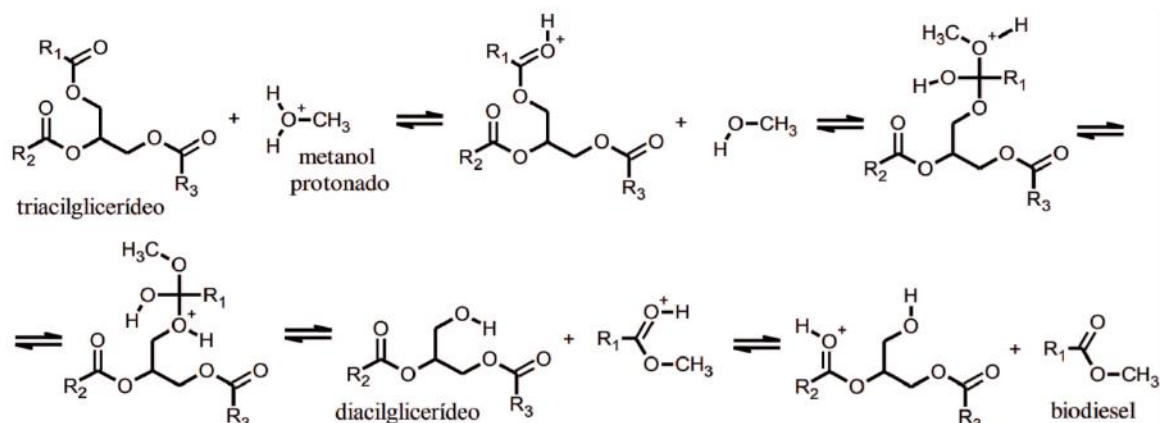


Fonte: Adaptado de BRITO (2008)

Como mostrado anteriormente, a reação é reversível, de modo a deslocar o equilíbrio no sentido da produção de biodiesel, é comum a utilização de álcool em amplo excesso estequiométrico, sendo comuns razões molares de até 12:1 (álcool: TG). O metanol é o álcool mais utilizado para a produção do biodiesel no mundo, principalmente por seu valor no mercado internacional ser menor que do etanol. No Brasil, apesar de o etanol ter um preço mais competitivo que em outros mercados, o metanol ainda é o principal reagente no processo de transesterificação para produção de biodiesel. Conforme observado na Figura 25, a base conjugada do álcool utilizado como reagente (íon alcóxido) é o nucleófilo da reação e, por ser pouco volumoso, o íon metóxido é um bom nucleófilo para reagir no centro eletrofílico da molécula. O etanol gera um nucleófilo mais volumoso, acarretando em uma maior obstrução estérica, dificultando a reação. A temperatura de ebulição do metanol (cerca de 65 °C) é relativamente baixa, o que facilita a recuperação do excesso de álcool por destilação. Comparativamente, o ponto de ebulição do etanol é por volta dos 78 °C.

Para óleos que possuam teor de ácidos graxos superior a 1%, a transesterificação em meio alcalino não é atrativa, uma vez que o emprego de bases fortes acaba convertendo os ácidos em sais, os sabões, que são de difícil remoção nos processos subsequentes de purificações de ésteres. Nesses casos, pode ser utilizada a transesterificação através de catálise homogênea em meio ácido. Primeiramente um ácido de Brønsted-Lowry (normalmente H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> ou HCl) protona o oxigênio da carbonila do triglicerídeo, aumentando assim o caráter eletrofílico deste carbono e facilitando o ataque nucleofílico do álcool. Apesar dos álcoois serem nucleófilos pobres, na presença de catalisadores ácidos, eles conseguem atacar os centros eletrofílicos, formando intermediários tetraédricos que, após estabilizarem, resultam no acilglicerídeo correspondente.

Figura 25. Esquema reacional e mecanismo da transesterificação homogênea em meio ácido



Fonte: Adaptado de BRITO (2008)

Se comparada ao meio alcalino, a transesterificação em meio ácido necessita de condições mais energéticas. Usualmente a reação em meio ácido é conduzida em temperaturas próximas à temperatura de ebulição do álcool, enquanto no meio alcalino essa condição é mais branda, podendo ser conduzida a 40 °C. Além disso, o tempo de reação costuma ser mais longo para se atingir o equilíbrio esperado, durando pelo menos 3 horas. A quantidade de álcool também é maior em comparação com o processo alcalino, com razões molares atingindo até 30:1 (álcool: TG).

A reação de transesterificação também pode ser conduzida utilizando catalisadores de fase heterogênea, com caráter ácido ou básico. O emprego da catálise heterogênea leva a reações muito mais lentas, no entanto, pode ser uma estratégia econômica mais viável, uma vez que apresenta certas vantagens em relação a catálise homogênea. A grande vantagem desse processo está na fácil separação dos catalisadores, justamente por serem sólidos, não sendo observadas perdas de massa em cada ciclo de reações. Dentre os catalisadores básicos se destacam os óxidos de metais alcalinos e alcalinos terrosos; os óxidos metálicos imobilizados em óxidos diversos (como sílica, alumina e zircônia); zeólitas básicas; e partículas magnéticas. Dentre aqueles com teor ácido, destacam-se: zircônia tungstatada/alumina; óxido de titânio sulfatado; acetato de zinco; molibdato de sódio; e tungstato de sódio.

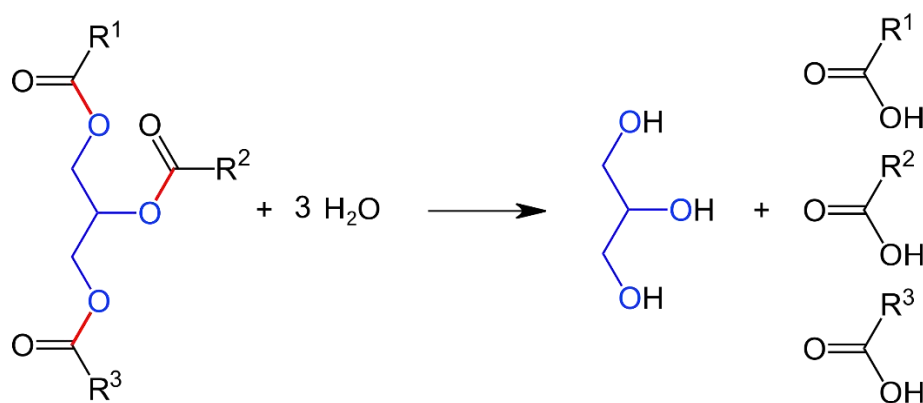
Existe ainda a transesterificação por catálise enzimática, onde enzimas (lipases), com destaque para a triacylglicerídeo hidrolase EC 3.1.1.3, atuam como catalisadores na reação. Apesar dos resultados recentes bastante promissores, o processo ainda é pouco utilizado, com produção em maior escala restrita a uma planta piloto na China, uma vez que o custo dos biocatalisadores é altíssimo (Du *et al.*, 2008). O biocatalisador chega a custar USD 1000/kg, enquanto as bases de metais alcalinos utilizadas na catálise homogênea podem custar USD 0,62/kg.

### 2.3.2 – Hidroesterificação

A hidroesterificação foi uma nova técnica criada, com os avanços tecnológicos realizados no século XXI, que permitia a utilização de qualquer matéria-prima lipídica independente de sua acidez ou umidade. Esta rota consiste na realização de uma reação de hidrólise seguida por uma reação de esterificação, de modo a se alcançar os ésteres, componentes do biodiesel.

A hidrólise, assim como a transesterificação, pode acontecer em meio ácido, básico e também catalisada por enzimas. O mecanismo é similar ao exposto na rota anterior, com a formação de intermediário quaternário, no entanto, como o nucleófilo da reação é a água, ocorre apenas a quebra das moléculas e a inserção de um átomo de hidrogênio ligado ao oxigênio (em contraste com o grupamento  $-CH_3$  no caso da transesterificação com metanol), resultando em ácidos ao invés de ésteres (Figura 26).

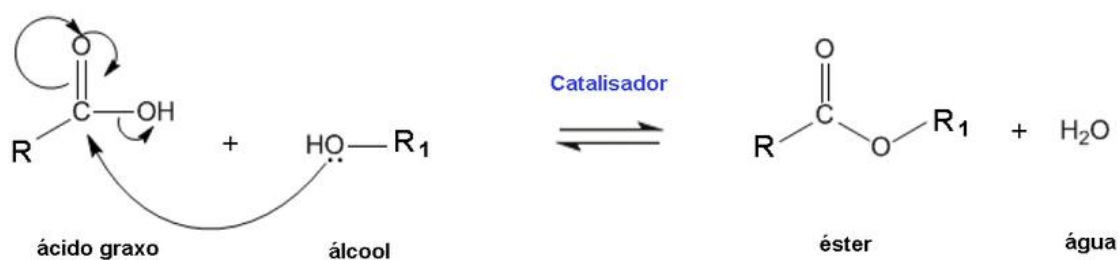
Figura 26. Esquema reacional de hidrólise de triglicerídeos, resultando em glicerol e ácidos graxos



Fonte: Adaptado de ALVES (2012)

Após a remoção da glicerina do meio, os ácidos graxos passam por uma reação de esterificação, na presença de um álcool, formando os ésteres (Figura 27). A reação de esterificação será detalhada mais adiante.

Figura 27. Esquema simplificado da reação de esterificação de um ácido graxo



Fonte: Adaptado de ALVES (2012)

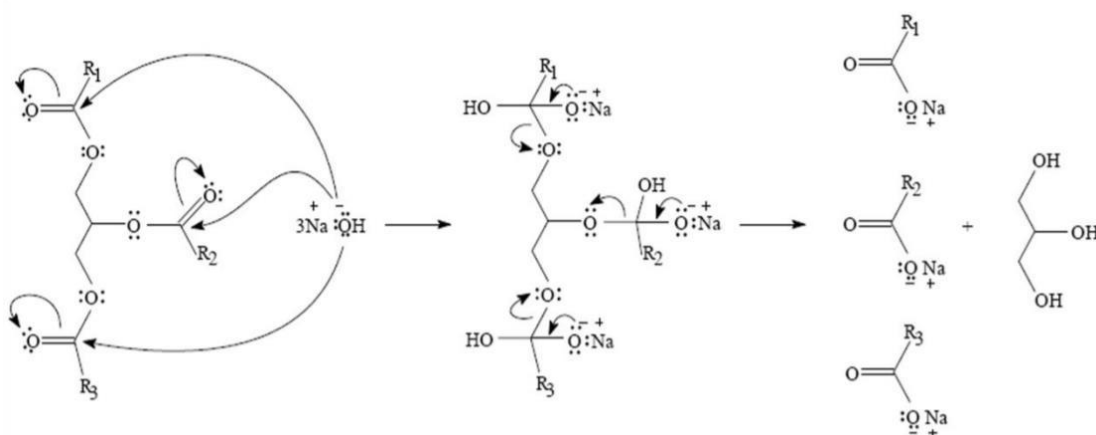
### 2.3.3 – Saponificação – acidulação – esterificação

Esta é a rota objeto de estudo do presente trabalho. Ela é pouco utilizada para a produção de biodiesel em média e larga escala, devido à necessidade de três etapas, com purificações ao longo do processo. No entanto, ela possui um diferencial frente às outras rotas: enquanto os métodos discutidos anteriores necessitam do próprio triglicerídeo para a produção do biodiesel, esta rota, por consistir em etapas de saponificação e acidulação, consegue transformar uma gama de outros tipos de lipídeos em moléculas passíveis de serem esterificadas, assim, aumentando o potencial para produção do biodiesel e o aproveitamento da biomassa microalgal.

#### 2.3.3.1 – Saponificação

A saponificação é um processo que envolve a conversão de um lipídeo em um sal de ácido graxo (sabão), além de um álcool (Figura 28). É uma reação realizada em meio alcalino, sendo necessária a adição de uma base forte de Brønsted-Lowry no meio, como o hidróxido de potássio (KOH), que é preferível pela produção de um sabão “macio”, ou seja, mais difícil de solidificar a temperatura ambiente, e o hidróxido de sódio (NaOH), mais utilizado industrialmente devido ao seu baixo custo (PERKINS, 1993). No caso dos triglicerídeos presentes nos óleos da microalga, ao reagir com uma solução aquosa de álcali, há a produção de uma mistura de sais alcalinos de ácidos graxos, o sabão, bem como o glicerol (VINEYARD, 2015).

Figura 28. Esquema geral simplificado da reação de saponificação de um triglicerídeo utilizando hidróxido de sódio



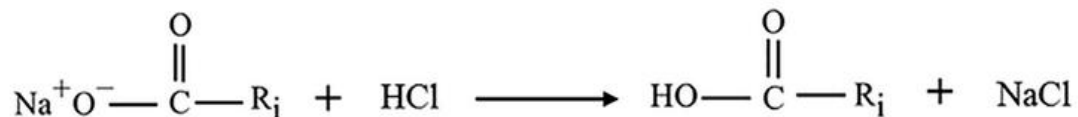
Fonte: VERGA REI (2009)

Inicialmente, ocorre o ataque nucleófilo da hidroxila dissociada do NaOH, uma vez que está em meio aquoso, ao carbono da carbonila do lipídeo. Há assim a formação de um intermediário tetraédrico, em seguida, a ligação dupla (C=O, carbonila) é restaurada pela expulsão do grupo abandonador, o íon alcóxido (RO<sup>-</sup>). Por fim, ocorre a desprotonação da carbonila por meio do alcóxido formado anteriormente, gerando o íon carboxilato (RCOO<sup>-</sup>) (Figura 28).

### 2.3.3.2 – Acidulação

Na reação de acidulação ou acidificação ocorre uma dupla troca, isto é, o cátion proveniente do ácido (H<sup>+</sup>) interage com o ânion do sal do ácido carboxílico formado na saponificação, restando o ânion do ácido (X<sup>-</sup>) e o cátion do sal (Na<sup>+</sup>). Assim, ao final da reação, forma-se uma mistura de ácidos graxos e um sal NaX (Figura 29). Diversos fatores interferem na ocorrência de uma reação de dupla troca, como a força do ácido utilizado, a concentração do mesmo em solução, a temperatura do meio, a solubilidade do sal formado, entre outras. Desse modo, recomenda-se a utilização de ácidos de Brønsted-Lowry fortes, sendo o ácido clorídrico (HCl) e ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) os mais utilizados.

Figura 29. Esquema reacional de uma reação de acidulação de um sabão



Fonte: Pereira et al. (2017)

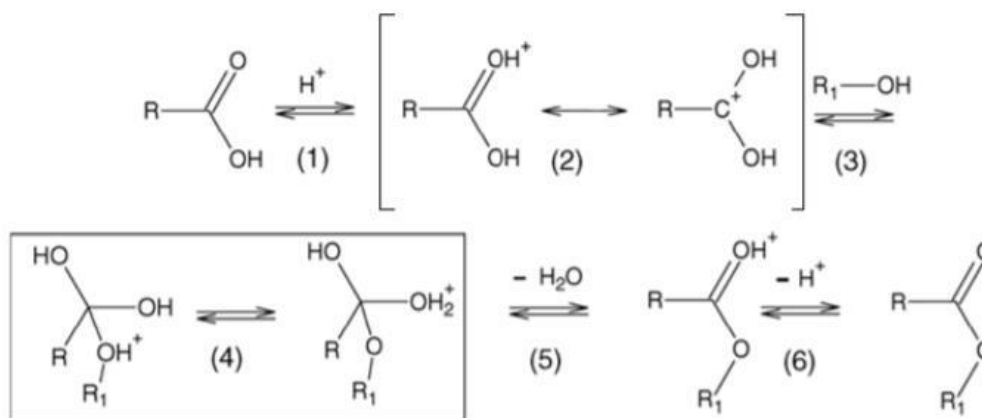
Os sais carboxilato, produtos da reação de saponificação, são, de maneira geral, dispersíveis em água, sendo assim bons candidatos para reações de acidificação. Isso faz com que o rendimento da etapa de acidulação, já realizada a saponificação, seja mais elevado em relação a uma acidulação ‘comum’ (MARTINS *et al.*, 2013).

### 2.3.3.3 – Esterificação

A esterificação é uma reação reversível onde ocorre a conversão de um ácido carboxílico em éster e água, em meio alcóolico e na presença de um catalisador (BRITO, 2008). Ácidos carboxílicos possuem carbonos carbonílicos com caráter eletrofílico pouco acentuado. Além disso, como mencionado anteriormente, álcoois são nucleófilos pobres por si só, de modo que a cinética de esterificação não seria favorecida na ausência de um catalisador. Quando há adição de ácidos fortes de Brønsted-Lowry no meio, o oxigênio carbonílico dos ácidos é protonado, aumentando assim o caráter eletrofílico do carbono carbonílico,

consequentemente facilitando o ataque nucleófilo do álcool (Figura 30). O meio ácido proporciona ainda um bom grupo abandonador para a reação de esterificação, a água.

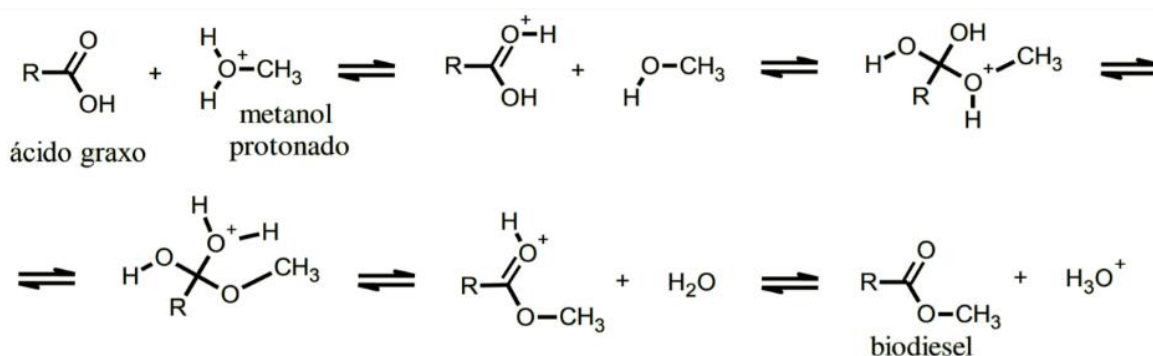
Figura 30. Esquema geral da reação de esterificação via catalise ácida



Fonte: Adaptado de GARCIA (2006)

Após o ataque do íon alcóxido gerado *in situ* ao carbono carbonílico, há a formação de um intermediário tetraédrico, pouco estável e que, finalmente, culmina na eliminação de um grupamento de água da molécula, atingindo-se o produto éster (BRITO, 2008; ALVES, 2011). Na Figura 31 o mecanismo de reação da esterificação em meio ácido, utilizando metanol como o álcool.

Figura 31. Mecanismo reacional da esterificação utilizando metanol



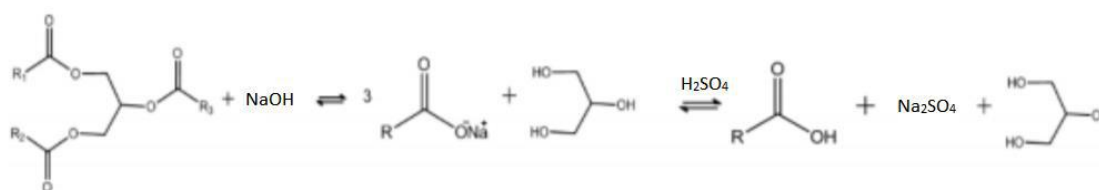
Fonte: Adaptado de BRITO (2008)

### 3 – MATERIAIS E MÉTODOS

#### 3.1 – Estratégia

Os óleos de microalgas, conforme já mencionado, são matérias-primas viáveis para a produção de biodiesel, devido ao seu alto conteúdo lipídico. No entanto, devido à complexa composição química da fração lipídica, a estratégia utilizada para se chegar a este fim foi a partir da obtenção dos ácidos graxos, passíveis de serem esterificados para produção do biodiesel. Para isso, partiu-se de uma reação de saponificação em meio básico, com uso de hidróxido de sódio, onde, conforme mencionado anteriormente, há produção de sabão e álcool. Após a saponificação, foi realizada uma reação de acidificação com ácido sulfúrico ( $H_2SO_4$ ) de modo a neutralizar a base presente em excesso, bem como converter os sais de ácidos carboxílicos (sabão) em ácidos carboxílicos (Figura 32).

Figura 32. Sequência reacional de saponificação seguida de acidificação para obtenção de ácidos carboxílicos



Fonte: Elaboração própria

Dando prosseguimento à rota, os álcoois presentes foram removidos do meio, após procedimento de lavagem e filtração à vácuo, bem como foi realizada uma lavagem seletiva com solvente para extração dos ácidos graxos. O grande interesse do trabalho é chegar a uma condição ótima, que maximize a quantidade de ácidos graxos passíveis de serem transformados em biodiesel, condição esta que não é bem descrita na literatura para óleos brutos de microalgas. Com essa condição bem estabelecida, seria possível a realização da esterificação, descrita extensamente na literatura, e obtenção dos ésteres formadores do biodiesel.

Realizadas as reações, utilizou-se o método modificado de cromatografia em camada delgada (CCD; em inglês: *thin layer chromatography* ou TLC) para a identificação e quantificação dos compostos presentes, uma vez que o volume disponível era baixo.

Para a identificação das melhores condições de saponificação e acidulação foi realizado um planejamento experimental com a metodologia superfície de resposta de três fatores, mais especificamente a metodologia de Box-Behnken.

É uma metodologia bastante consistente, que com reduzido número de experimentos consegue varrer o espaço amostral e retornar resultados satisfatórios. No caso do presente trabalho, uma vez que todas as reações do planejamento experimental foram realizadas em duplicata, e que a quantidade de amostra disponível era baixa, uma metodologia que não requeresse grande número de experimentos era preferível.

Com os resultados da cromatografia em camada delgada, processados pelo método do planejamento experimental, foi encontrada a melhor condição para o processo. Então, foram realizadas novas baterias de experimentos nessa melhor condição, utilizando um volume maior (5x) se comparado as primeiras reações. Ao final dessas reações, foi medida a acidez da amostra através da titulação, para determinar a quantidade de ácidos graxos livres, passíveis de serem transformados em biodiesel.

### 3.2 – Matéria-prima

No presente trabalho foi utilizado como matéria-prima o óleo bruto da microalga da espécie *Scenedesmus* sp. (Figura 33). O óleo foi extraído na unidade piloto do grupo de pesquisa da Universidade Federal de Viçosa, utilizando rompimento mecânico em homogeneizador, seguido de extração com o solvente hexano:acetato de etila (80:20 V/V). Essa extração foi realizada a partir da biomassa úmida da microalga, cultivada em unidade piloto da Universidade Federal do Rio Grande do Norte em sistema aberto do tipo *raceway*.

Figura 33. Óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp.



Fonte: O próprio autor



### 3.2.1 – Determinação do perfil graxo por cromatográfica gasosa

A técnica mais comumente empregada para análise de perfil graxo em amostras lipídicas é a cromatografia gasosa (CG). É necessária a conversão dos ácidos graxos em substâncias de maior volatilidade (como ésteres), a fim de reduzir a adsorção dos solutos no suporte e superfície da coluna cromatográfica, melhorando então a separação dos compostos e resultando em análises mais eficientes. Os ésteres metílicos são os derivados preferenciais utilizados nas análises de cromatografia gasosa.

O método selecionado para preparação da solução a ser analisada foi proposto por YOO *et al.* (2010), com modificações. Os procedimentos precederam o presente trabalho, quando foram pesados 300 mg de óleo que passou por etapa de saponificação, com 2 mL de solução 0,5 mol/L de hidróxido de potássio (KOH) em metanol, seguida da esterificação com 2 mL de solução de metanol com 5% de ácido clorídrico (HCl). Ambas as etapas foram realizadas em frasco fechado, à temperatura de 75 °C por 10 min em banho Maria. A fase contendo os ácidos graxos metilados foi então, extraída com adição de 2 mL de água destilada e 2 mL de hexano. A fase orgânica com hexano foi então separada com pipeta automática e transferida para frasco de vidro para posterior injeção no cromatógrafo.

A análise cromatográfica foi realizada em um cromatógrafo a gás, marca Shimadzu, modelo GC2014, acoplado a um detector de ionização de chama (FID), injetor do tipo split/splitless e uma coluna capilar (Carbowax 20M). Fase estacionária de polietileno glicol com 30 m de comprimento, diâmetro interno de 0.25mm e espessura do filme de 0.25 µm, marca Agilent. Os parâmetros utilizados na análise foram:

- Volume injetado: 1 µL;
- Injetor split: razão de 50:1;
- Temperatura do injetor: 250 °C;
- Gás de arrastre: hidrogênio (99,95 %), com velocidade linear 26,5 cm/s;
- Fluxo da coluna: 1 mL/min;
- Programação da temperatura do forno: 60 °C por 2 min; de 60 °C a 200°C (gradiente de 10 °C por min); de 200 °C a 240 °C (gradiente de 5 °C por minuto) e isoterma por 15 min;
- Temperatura do detector: 280 °C; o gás auxiliar (make-up) foi N<sub>2</sub> a 30 mL/min, H<sub>2</sub> (30 mL/min) e ar sintético (300 mL/min).

A identificação qualitativa do perfil graxo foi realizada por comparação do tempo de retenção dos constituintes da amostra com uma mistura contendo 37 padrões externos de ésteres metílicos de ácidos graxos da marca Sigma Aldrich (C4:0-C24:0). A composição foi determinada através do percentual das áreas relativas

de cada pico característico de éster com a área total de picos do cromatograma (método de normalização).

### 3.2.2 – Cálculo da massa molar média do óleo bruto ( $MM_{OB}$ )

Para que fosse possível realizar os cálculos necessários nas etapas seguintes, foi calculada a massa molar média do óleo bruto extraído da microalga *Scenedesmus* sp. Tal cálculo se baseou nos resultados de composição dos principais ácidos graxos presentes no óleo, obtidos através da técnica de cromatografia gasosa, descrita no item anterior. O cálculo foi baseado em procedimento descrito por Rodrigues e Ferreira (2021) e teve como premissa para base dos cálculos a estrutura química de um triglicerídeo, logo, a média ponderada dos ácidos graxos foi multiplicada por 3, representando cada uma das cadeias carbônicas RCOO. Além disso, foi reduzido o valor de 3, referente aos hidrogênios, bem como adicionado o valor de 41, correspondente aos carbonos e hidrogênios da estrutura do glicerol ( $C_3H_8O_3$ ) (Figura 40).

## 3.3 – Saponificação

A reação de saponificação foi baseada em procedimento descrito por Morshed *et al.* (2011). Em um balão de fundo redondo de 250 mL foram adicionados cerca de 3,0 g do óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp. e volume variável de solução aquosa de hidróxido de sódio (NaOH), uma vez que a quantidade de água era uma das variáveis a ser analisada pelo planejamento experimental. O balão foi colocado em banho de óleo, de modo a garantir a homogeneidade da temperatura do sistema e conectado a um condensador para promover o refluxo, como pode ser observado na Figura 34. Industrialmente há adição de solução saturada de cloreto de sódio para a separação do glicerol, que é posteriormente drenado (Salis *et al.*, 2005); este procedimento não foi realizado no presente trabalho. Todas as reações foram realizadas em duplicata, totalizando 30 reações, e o sistema foi mantido sob agitação magnética de por volta de 800 rpm nas condições especificadas na Tabela 10, seguindo a metodologia de Box-Behnken:

Tabela 10. Condições experimentais da saponificação

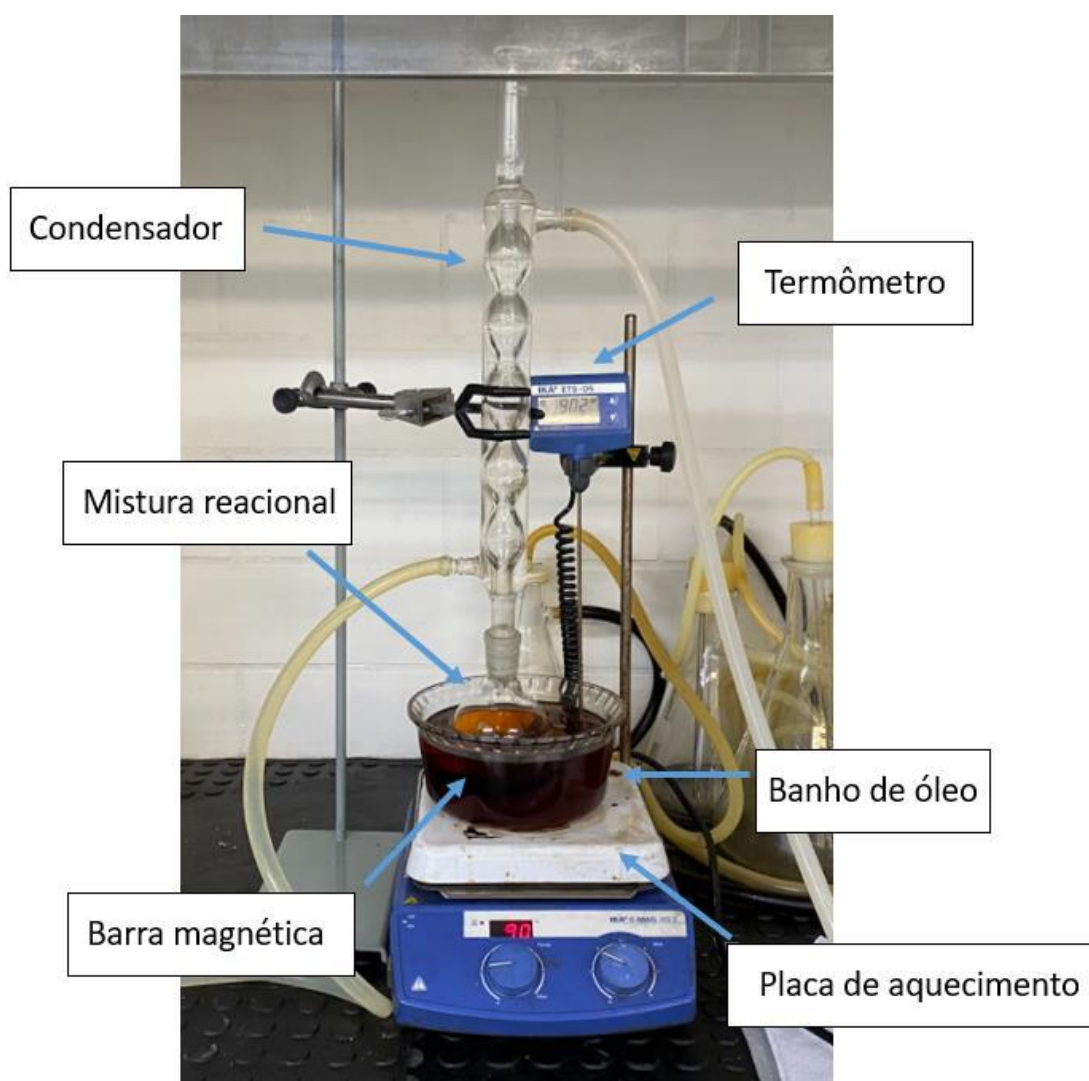
Repetições	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Razão (1:)
1	80	60,0	4
1	100	60,0	4
1	80	120,0	4

1	100	120,0	4
1	80	90,0	3
1	100	90,0	3
1	80	90,0	5
1	100	90,0	5
1	90	60,0	3
1	90	120,0	3
1	90	60,0	5
1	90	120	5
3	90	90,0	4

Fonte: O próprio autor

Ao final da reação, o balão foi retirado do banho e resfriado naturalmente até temperatura ambiente, seguindo para a acidulação.

Figura 34. Sistema reacional da saponificação



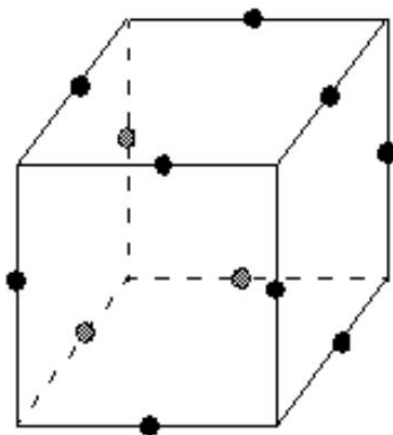
Fonte: O próprio autor

### 3.3.1 – Metodologia de Box-Behnken

O objetivo do trabalho era encontrar a melhor condição para a geração de ácidos graxos transformáveis em ésteres (biodiesel), assim, três condições distintas foram analisadas: temperatura, tempo de reação e razão água/base:óleo. Uma vez que eram três fatores estudados, que variavam independentemente, escolheu-se uma metodologia de planejamento experimental baseada em superfície de resposta para a predição da melhor condição.

Em estatística, um experimento de Box-Behnken (*Box-Behnken Design*, ou BBD) é um tipo de experimento de superfície de resposta que não contém um experimento fatorial completo ou fracionado incorporado, concebido por George Box e Donald Behnken em 1960. É um método que exige ao menos 3 variáveis independentes, que são espaçadas igualmente, em valores codificados como -1, 0, +1. Essas condições podem ser visualizadas como os pontos médios das bordas do espaço experimental. A Figura 35 mostra um experimento de Box-Behnken de três fatores, como é o caso do trabalho, onde os pontos no diagrama representam as condições nas quais as corridas experimentais foram executadas.

Figura 35. Diagrama experimental de Box-Behnken de três fatores



Fonte: Adaptado de Box e Behnken (1960)

A geometria deste projeto sugere uma esfera dentro do espaço amostral, de tal forma que a superfície imaginária da esfera se projeta através de cada face, tangenciando o ponto médio de cada borda do espaço. Dessa maneira, apesar da metodologia não cobrir os vértices do espaço amostral, ela garante rotatividade ao método, ou seja, a variância de predição permanece constante em todos os pontos equidistantes do centro do experimento. No presente trabalho, as condições de pontos médios, mínimos e máximos estão descritas

na Tabela 11. Vale ressaltar que estas condições se basearam em metodologias para processos similares, descritas na literatura.

Tabela 11. Valores máximos, médios e mínimos no planejamento experimental (BBD)

Ponto	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Razão (1:)
+1	100	120	5
0	90	90	4
-1	80	60	3

Fonte: O próprio autor

É possível relacionar os valores da Tabela 11 com os descritos previamente na Tabela 10. Com isso em mente, na Tabela 12 estão descritos os valores para uma metodologia genérica de Box-Behnken, sendo 'X' as variáveis e os algarismos as condições de máximo (+1), médio (0) e mínimo (-1). Cada experimento pode ser pensado como uma combinação de um experimento fatorial de dois níveis. Para o caso com três fatores, consequentemente três blocos, dois fatores são combinados seguindo uma metodologia fatorial, enquanto outro fator permanece no ponto médio (ou central). Exemplificando, em um bloco, X1 e X2 variam entre os pontos máximos e mínimos, enquanto X3 permanece no ponto central. Por não utilizar valores nos vértices do espaço amostral, a metodologia requer um maior número de experimentos nos pontos centrais (0, 0, 0).

Tabela 12. Planejamento geral de Box-Behnken

Repetição	X1	X2	X3
1	-1	-1	0
1	1	-1	0
1	-1	1	0
1	1	1	0
1	-1	0	-1
1	1	0	-1
1	-1	0	1
1	1	0	1
1	0	-1	-1
1	0	1	-1
1	0	-1	1
1	0	1	1
3	0	0	0

Fonte: O próprio autor

A escolha da metodologia se deu principalmente pelo fato da baixa disponibilidade de amostra não permitir um número elevado de experimentos.

Assim, optou-se por seguir o método que, com resultados estatísticos satisfatórios, retornaria uma condição otimizada com o menor número de experimentos. A Tabela 13 compara o número de experimentos do BBD com outros métodos de superfície de resposta para 3 fatores comumente utilizados: planejamento composto central circunscrito (*Central Composite Circumscribed*, ou CCC) e planejamento composto central inscrito (*Central Composite Inscribed*, ou CCI) juntos, uma vez que são estruturalmente idênticos; e planejamento composto de faces centradas (*Composite Face Centered*, ou CCF). Ainda assim, o BBD é considerado por alguns autores como um método mais proficiente se comparado ao fatorial completo, composto central (CCD) e o projeto Doehlert (Karmoker *et al.*, 2019).

Tabela 13. Comparativo de alguns métodos de 3 níveis quanto ao total de experimentos

CCC (CCI)				CCF				Box-Behnken			
Rep	X1	X2	X3	Rep	X1	X2	X3	Rep	X1	X2	X3
1	-1	-1	-1	1	-1	-1	-1	1	-1	-1	0
1	1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	0
1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	-1	1	0
1	1	1	-1	1	1	1	-1	1	1	1	0
1	-1	-1	1	1	-1	-1	1	1	-1	0	-1
1	1	-1	1	1	1	-1	1	1	1	0	-1
1	-1	1	1	1	-1	1	1	1	-1	0	1
1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1
-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
1	1,68	0	0	1	-1	0	0	1	0	-1	-1
2	1,68	0	0	1	1	0	0	1	0	1	-1
1	0	1,682	0	1	0	-1	0	1	0	-1	1
1	0	1,682	0	1	0	1	0	1	0	1	1
1	0	0	1,682	1	0	0	-1	3	0	0	0
1	0	0	1,682	1	0	0	1	-	-	-	-
6	0	0	0	6	0	0	0	-	-	-	-
<b>Total de Experimentos = 20</b>				<b>Total de Experimentos = 20</b>				<b>Total de Experimentos = 15</b>			

Fonte: O próprio autor

### 3.4 – Acidulação

O procedimento da reação de acidulação foi baseado naquele descrito por Deb *et al.* (2017). Após a reação de saponificação e resfriamento do balão para temperatura ambiente, foi adicionada solução de ácido sulfúrico (H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>) 1% m/V, em quantidade estequiométrica. Deixou-se reagir por 2h sob agitação magnética de 800 rpm e refluxo, no mesmo sistema reacional mostrado na Figura 34.

A quantidade de ácido sulfúrico adicionado ao meio foi calculada baseado na reação de neutralização a seguir, utilizando os dados da Tabela 14:



Tabela 14. Valores para o cálculo estequiométrico na reação de acidulação

Massa NaOH	Mol NaOH	Mol H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Massa H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>	Volume H <sub>2</sub> SO <sub>4</sub>
39,99 g/gmol	1 mol	0,5 mol	49,04 g/gmol	26,63 mL

*Fonte: Perry e Green (2007)*

Após o final da reação, o sistema foi resfriado a temperatura ambiente e lavado com água destilada até o efluente apresentar pH ≈ 6. Em seguida, o material foi lavado em aparato de filtração a vácuo, com solvente hexano:éter de petróleo (80:20), sendo o éter utilizado para conceder um pouco de polaridade a mistura e extrair uma maior quantidade de ácidos graxos. O material sólido obtido, constituído principalmente do sal sulfato de sódio, foi seco à temperatura ambiente.

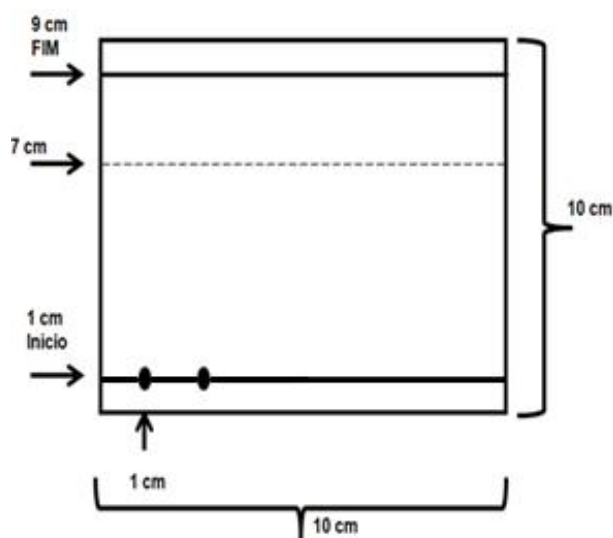
### 3.5 – Cromatografia em camada delgada (TLC)

Para identificação e quantificação dos compostos de interesse, os ácidos graxos, presentes ao final da reação de acidulação, utilizou-se método modificado de cromatografia em camada delgada.

Para a realização da análise, 0,01 g de amostra após acidulação foram dissolvidos em 500 µl de clorofórmio. O equivalente a 0,03 µl de solução foi aplicada cuidadosamente em placa de sílica gel, “TLC Plate, Silica Gel 60G” da marca Lemadou, com auxílio de pipeta automática (Figura 38). Além da amostra a ser analisada, quantidades iguais de padrões, também dissolvidos em clorofórmio, de trioleína, dioleína, monooleína, ácido graxo (oleico) e óleo de girassol foram aplicados nas placas para comparação e quantificação.

De modo a garantir uma separação eficiente e obter bandas agudas no *software* dos compostos de interesse, a separação foi realizada com solventes previamente testados e que mostraram resultados satisfatórios. Primeiro utilizou-se a mistura de solventes éter de petróleo/éter dietílico/ácido acético (70:30:2 V/V), para realizar a corrida até atingir a altura de 2/3 da placa de sílica (7 cm). Após secagem da placa, outra corrida foi realizada, utilizando mistura de solventes composta por éter de petróleo/éter dietílico (100:2 V/V), até atingir o topo da placa (9 cm) (Figuras 36 e 38). As corridas foram realizadas em cubas distintas, com adição de papel de filtro nas mesmas de modo a garantir a saturação do ambiente no momento em que fosse adicionada a placa de sílica para realização da corrida (Figura 37).

Figura 36. Exemplo de marcação na placa de sílica



Fonte: O próprio autor

Após eluição, a placa foi novamente seca e revelada com vapor de iodo, de modo a 'marcar' as manchas dos componentes e padrões. Em seguida, a placa com as manchas marcadas foi fotografada, para realização das análises em *software*. A fotografia passou por tratamento no programa ImageJ e posteriormente foi analisado pelo programa CLIQS, para quantificação dos compostos.

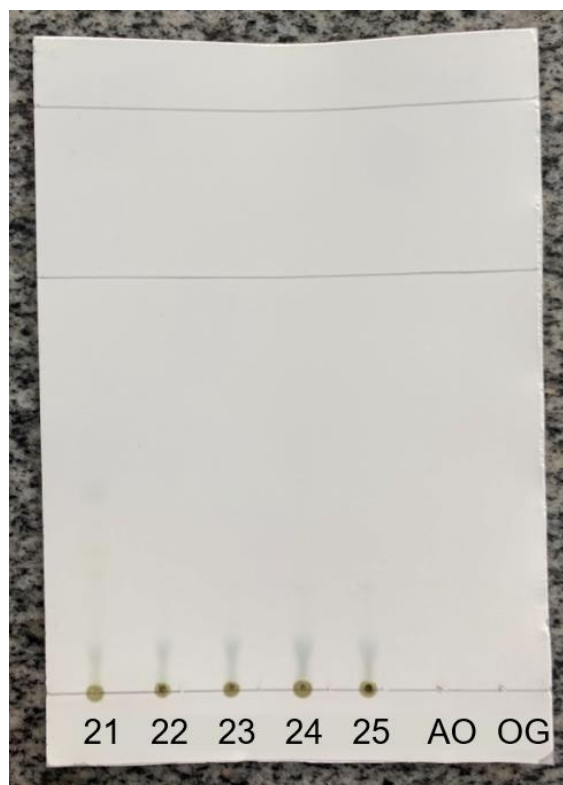


Figura 37. Eluição da placa de sílica na cubeta (TLC)



Fonte: O próprio autor

Figura 38. Placa após eluição, antes de ser tratada com iodo



Fonte: O próprio autor

### 3.6 – Determinação do índice de acidez (IA)

Após a determinação das condições ideais, as etapas de saponificação – acidulação foram realizadas novamente, em triplicata, com volume maior de óleo bruto (15 g). Para a quantificação de ácidos graxos livres presentes na amostra, passíveis de serem esterificados, foi realizada uma titulação, de modo a determinar o índice de acidez da amostra. O procedimento realizado foi adaptado da Instrução de Trabalho IT POV 034, do Ministério da Agricultura.

Em um Erlenmeyer de 250 mL, foi adicionado 1 g de amostra, seguido de 35 mL de solução de álcool isopropílico 99%. Foram então adicionados 3 gotas do indicador fenolftaleína no meio. Em seguida, realizou-se a titulação da amostra, com auxílio de uma bureta, utilizando solução 0,5 N de hidróxido de sódio (NaOH) previamente preparada, agitando vigorosamente o Erlenmeyer até o aparecimento de uma coloração levemente rosácea permanente por 30 segundos. O procedimento foi realizado em triplicata e, para o cálculo do índice de acidez, utilizou-se a equação abaixo.

$$\text{Índice de Acidez (mg NaOH/g}_{\text{amostra}}) = \frac{\text{Vol}_{\text{NaOH}} \cdot N_{\text{NaOH}} \cdot f_{c\text{NaOH}} \cdot \text{PM}_{\text{NaOH}}}{m_{\text{amostra}}}$$

Onde:

Vol – volume de NaOH utilizado na titulação da amostra (mL);

N – normalidade da solução de NaOH;

fc – fator de correção da solução de NaOH;

PM – peso molecular da solução de NaOH;

$m_{\text{amostra}}$  – massa da amostra titulada (g).

Os resultados obtidos podem ser expressos como o ‘próprio’ índice de acidez, na unidade mg de NaOH/g<sub>amostra</sub>, ou, como comumente é feito, como uma porcentagem de ácidos graxos frequentemente encontrados:

- Ácido oleico: dividir IA por 1,99
- Ácido láurico: dividir IA por 2,81
- Ácido palmítico: dividir IA por 2,19

## 4 – RESULTADOS E DISCUSSÕES

### 4.1 - Caracterização da matéria-prima (óleo bruto da microalga *Scenedesmus sp.*)

O perfil graxo do óleo bruto é apresentado na Tabela 15 e Figura 39. É possível perceber que se trata de um óleo formado majoritariamente por ácidos graxos poli-insaturados, apesar do constituinte de maior concentração ser o ácido esteárico (18:0). A faixa com maior contribuição na composição do óleo é a dos ácidos graxos com 18 átomos de carbono, respondendo por 39,99% do total. O perfil de ácidos graxos monoinsaturados (MUFA), saturados (SAFA) e poli-insaturados (PUFA) apresenta o seguinte comportamento: teor de PUFA (53,73%) > teor de SAFA (30,21%) > teor de MUFA (16,06).

Tabela 15. Perfil lipídico do óleo bruto da microalga *Scenedesmus sp.*

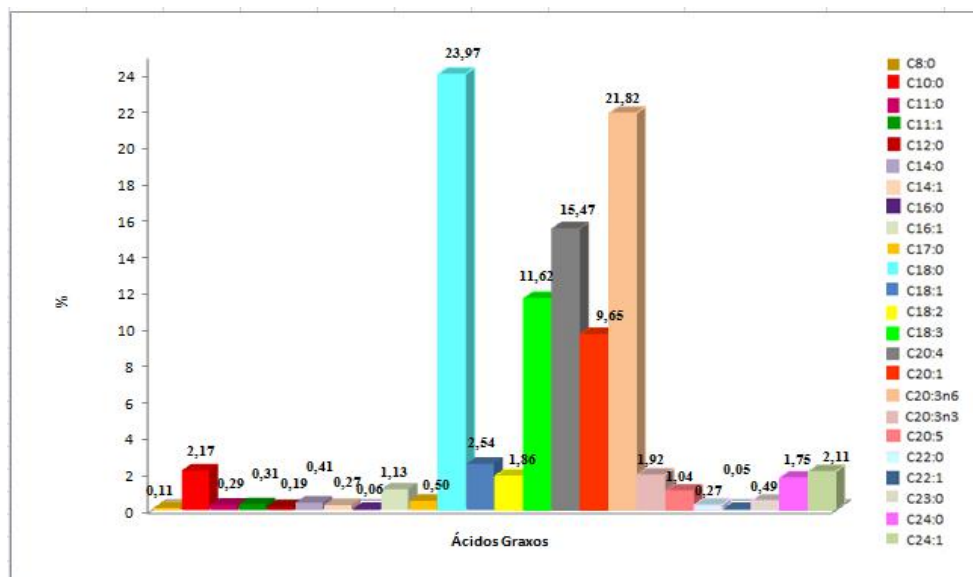
Ácidos Graxos	Estrutura	Composição %
Ácido Caprílico	8:0	0,11
Ácido Cáprico	10:0	2,17
Ácido Undecanóico	11:0	0,29
Ácido Undecilênico	11:1	0,31
Ácido Laurico	12:0	0,19
Ácido Mirístico	14:0	0,41
Ácido Miristoléico	14:1	0,27
Ácido Palmítico	16:0	0,06
Ácido Palmitoléico	16:1	1,13
Ácido Heptadecanóico	17:0	0,50
Ácido Esteárico	18:0	23,97
Ácido Oléico	18:1	2,54
Ácido Linolêico	18:2	1,86
Ácido Linolênico	18:3	11,62
Ácido Araquidônico	20:4n6	15,47
Ácido Gadolínico	20:1	9,65
Ácido Cis-8,11,14-Eicosanóico	20:3n6	21,82

Ácido Cis-11,14,17-Eicosanóico	20:3n3	1,92
Ácido Eicosapentanóico	20:5	1,04
Ácido Behenico	22:0	0,27
Ácido Erucico	22:1n9	0,05
Ácido Tricosanóico	23:0	0,49
Ácido Lignocérico	24:0	1,75
Ácido Nervônico	24:1	2,11

Fonte: O próprio autor

Segundo o perfil lipídico, apenas 4,83% dos ácidos graxos correspondem à fração C10 – C16, tipicamente utilizada para a produção de querosene de aviação. O restante, os mais de 95%, se encontram na faixa do biodiesel, mostrando que a microalga *Scenedesmus sp.* possui um alto potencial para a produção do biocombustível.

Figura 39. Perfil lipídico do óleo bruto da microalga *Scenedesmus sp.*



Fonte: O próprio autor

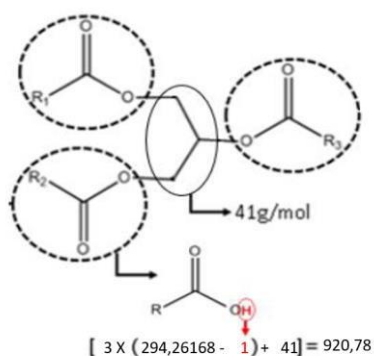
## 4.2 – Cálculo da massa molar média do óleo bruto (MM<sub>OB</sub>)

Com os resultados do perfil graxo do óleo, foi possível calcular a massa molar média do mesmo, utilizando a metodologia previamente descrita. O valor médio para um ácido graxo presente óleo foi de 294,26 g/mol, enquanto o encontrado para a MM<sub>OB</sub> foi de 920,78 g/mol, conforme Tabela 16 e Figura 40.

Tabela 16. Cálculo da massa molar média do óleo bruto de *Scenedesmus* Sp.

Ácidos Graxos	Estrutura	MM (g/gmol)	Composição %	Contribuição
Ácido Caprílico	8:0	144,2	0,11%	0,1586376
Ácido Cáprico	10:0	172,3	2,17%	3,738259
Ácido Undecanóico	11:0	186,3	0,29%	0,5402613
Ácido Undecilênico	11:1	184,3	0,31%	0,5713207
Ácido Laurico	12:0	200,3	0,19%	0,3806156
Ácido Mirístico	14:0	228,4	0,41%	0,9363498
Ácido Miristoléico	14:1	226,4	0,27%	0,6112206
Ácido Palmítico	16:0	256,4	0,06%	0,1538592
Ácido Palmitoléico	16:1	254,4	1,13%	2,8750816
Ácido Heptadecanóico	17:0	270,5	0,50%	1,352295
Ácido Esteárico	18:0	284,5	23,97%	68,1912942
Ácido Oléico	18:1	282,5	2,54%	7,1751444
Ácido Linolêico	18:2	280,5	1,86%	5,2170396
Ácido Linolênico	18:3	278,5	11,62%	32,3600732
Ácido Araquidônico	20:4n6	304,5	15,47%	47,099962
Ácido Gadolínico	20:1	310,5	9,65%	29,96711
Ácido Cis-8,11,14-Eicosanóico	20:3n6	306,5	21,82%	66,887028
Ácido Cis-11,14,17-Eicosanóico	20:3n3	306,5	1,92%	5,885568
Ácido Eicosapentanóico	20:5	302,5	1,04%	3,146416
Ácido Behenico	22:0	340,6	0,27%	0,9196038
Ácido Erucico	22:1n9	338,6	0,05%	0,169284
Ácido Tricosanóico	23:0	354,6	0,49%	1,7376429
Ácido Lignocérico	24:0	368,6	1,75%	6,45134
Ácido Nervônico	24:1	366,6	2,11%	7,7362728
<b>Média ponderada</b>				<b>294,26168</b>

Figura 40. Representação esquemática do cálculo da  $MM_{OB}$



Fonte: O próprio autor

### 4.3 – Saponificação

Como mencionado na metodologia, a medição e quantificação dos resultados foi feita somente após a acidulação. No entanto, apesar da não realização de testes para verificação da formação dos sais (sabão), um bom indício de que a reação de fato estava produzindo sabão pode ser observado na Figura 41. Uma vez que as moléculas dos sais formados na reação possuem uma parte polar, onde há concentração de cargas (carbonila e o íon  $\text{Na}^+$ ) e parte apolar (longa cadeia graxa), elas atuam como surfactantes, ou tensoativos. Os surfactantes diminuem a tensão superficial entre dois fluidos. No caso da reação, o sabão produzido no meio, que está em constante agitação e o contato com o ar, acaba gerando a formação de bolhas, fenômeno típico observado no dia a dia quando utiliza-se algum surfactante (detergente, sabonete, etc.).

Figura 41. Geração de sabão no meio reacional



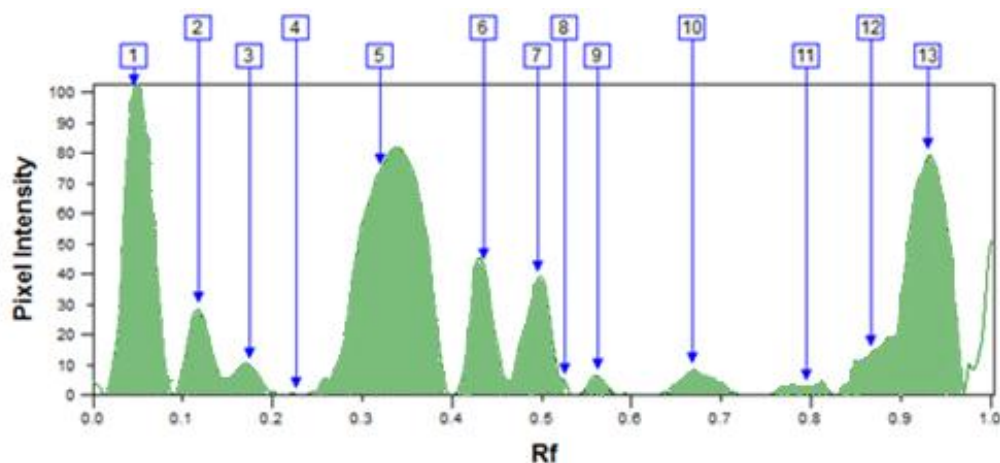
Fonte: O próprio autor

### 4.4 – Acidulação e cromatografia em camada delgada

Primeiramente foi realizada uma análise apenas do óleo bruto da *Scenedesmus* sp., de modo a quantificar e categorizar os compostos presentes no fluido. Os resultados estão na Figura 42, bem como na Tabela 17. É possível observar a elevada quantidade de outros compostos químicos que não são passíveis de

conversão em biodiesel por transesterificação ou esterificação, mostrando a necessidade de propor e avaliar outras rotas tecnológicas para produzir este biocombustível. Por esta razão, neste trabalho foi proposta e avaliada a rota saponificação – acidulação – esterificação para a produção de biodiesel.

Figura 42. Cromatografia em camada delgada do óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp.



1-Carotenóides, 2- Éster de esterol; 3 e 4 - Ésteres graxos; 5- Ácidos graxos; 6 e 7 – Triglicerídeos e diglicerídeos; 8- Esterol; 9-11- Pigmentos; 12- Monoglicerídeos; 13- Lipídeos polares (Fosfolipídios)

Fonte: O próprio autor

Onde os principais compostos identificados são: 1 – carotenoides; 5 – ácidos graxos; 6,7 – glicerídeos e 13 – compostos polares. O restante se divide em fosfolipídios, clorofilas e outros insaponificáveis, como apresentado na Tabela 17.

Tabela 17. Composição química do óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp.

Componentes Lipídicos	Composição (%)
Carotenoides	21
Fitoesteróis	3,6
Clorofilas	2,3
Fosfolipídios	2,5
Ácidos Graxos Livres	30,2
Glicerídeos	40,3
<b>∑Não Graxos (insaponificáveis)</b>	<b>29,5</b>
<b>∑Graxos (saponificáveis)</b>	<b>70,5</b>

Fonte: O próprio autor

A composição de 29,5% de insaponificáveis no óleo bruto é cerca de 10 e 20 vezes superior à quantidade de insaponificáveis descrita na literatura para os óleos de soja e arroz, respectivamente (Gunstone & Padle 2007). Para a produção de biodiesel esta fração não é interessante, uma vez que eles não são passíveis de se transformarem em sabão, primeira etapa da rota, porém, sob um aspecto econômico, a alta composição de carotenoides pode ser vista positivamente (Himmel *et al.*, 2007). Os carotenoides possuem diversos benefícios para a saúde humana, como prevenção contra problemas cardíacos, câncer, catarata, entre diversos outros, além terem elevado potencial antioxidante. Cada vez mais essa classe de composto é comercializada na indústria de alimentos, sendo seu valor agregado bastante elevado (Azeredo, 2012).

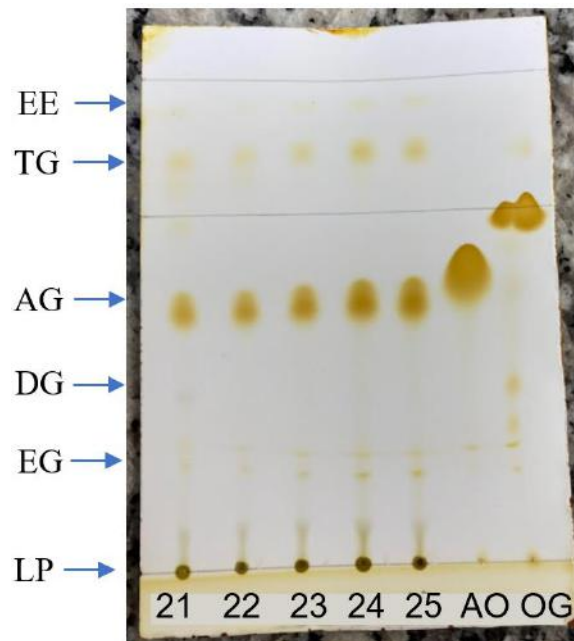
Dentre os outros insaponificáveis, destacam-se: as clorofilas, pigmentos que permitem a absorção de luz pela microalga, componente vital para o processo fotossintético; fitoesteróis, que atuam de maneira similar ao colesterol nas células de mamíferos, regulando a fluidez e permeabilidade da membrana, e que também são de interesse da indústria de alimentos, sendo comercializados como suplementos há décadas (Patterson *et al.*, 2006); e fosfolipídios, principais constituintes da membrana plasmática celular.

Evidentemente, os 70,5% de fração saponificável mostra, mais uma vez, a capacidade para a utilização desta espécie de microalga para produção de biodiesel. Como dito anteriormente, a produção do biocombustível através da transesterificação em meio básico, a mais utilizada industrialmente, requer que a quantidade de ácidos graxos livres no meio seja baixa, impossibilitando, ou próximo disso, o uso desta metodologia para este óleo. A transesterificação em meio ácido poderia ser utilizada, no entanto, apesar da ocorrência de reações paralelas de esterificação no meio, ela 'deixaria' de transformar uma boa porção da matéria-prima, também não se mostrando como uma alternativa interessante para este óleo bruto. A hidroesterificação é outro candidato possível, porém, devido a quantidades similares de ácidos graxos e glicerídeos, o sistema poderia ter o equilíbrio pouco favorecido no sentido da hidrólise, reduzindo o rendimento do método. Assim, a rota saponificação – acidulação – esterificação se mostra promissora para o óleo bruto em questão.

Como dito anteriormente, todas as amostras em questão passaram pela análise da cromatografia em camada delgada. Na Figura 43 é possível observar a placa de sílica, mostrada na Figura 38, após o tratamento com iodo. Na Figura 44 está a interface do *software* CLIQS, utilizado para a quantificação dos compostos; é possível observar a distinção das diferentes amostras, bem como a marcação das manchas, cálculo do R<sub>f</sub> e quantificação ('volume') dos componentes.



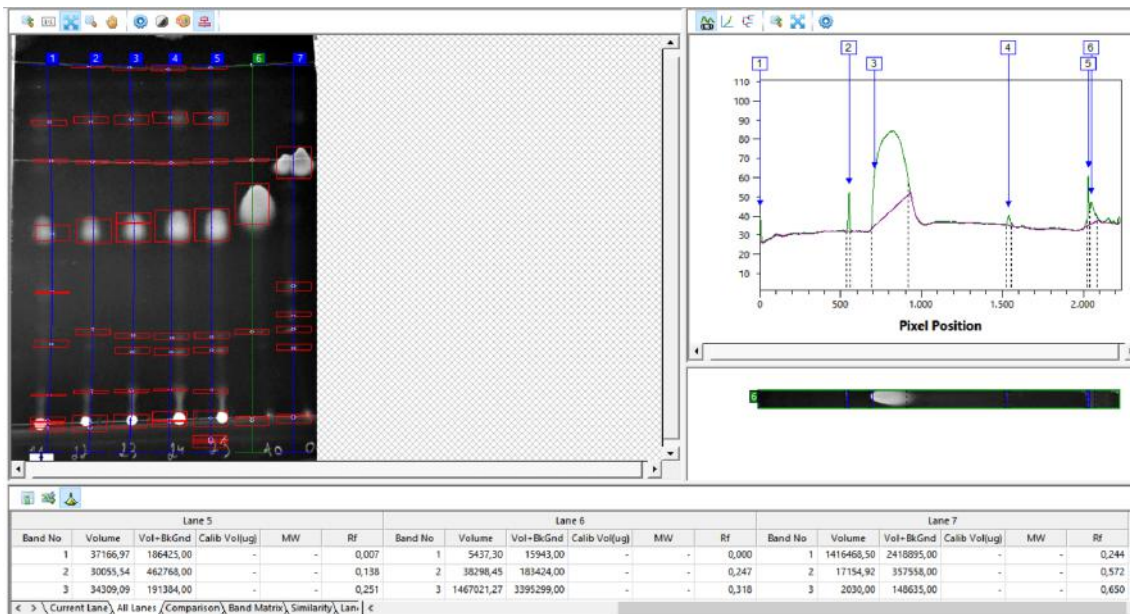
Figura 43. Exemplo de placa após eluição e revelação com iodo



Fonte: O próprio autor

Onde: EE: Esteróis; TG: Triglicerídeos; AG: Ácidos graxos; DG: Diglicerídeos; EG: Ergosteróis; LP: Lípídeos polares; 21 – 25: Número das amostras; AO: Ácido oleico; OG: Óleo de girassol.

Figura 44. Interface do software CLIQS



Fonte: O próprio autor

Nas diferentes amostras analisadas, partindo das condições de saponificação apresentadas anteriormente, buscou-se aquela com a maior composição de ácidos graxos livres. Baseado nos valores referentes ao óleo bruto, o valor

máximo para o parâmetro giraria em torno de 70%. Os resultados para a composição de ácidos graxos livres, bem como as condições experimentais, se encontram na Tabela 18.

Tabela 18. Resultados (%) de ácidos graxos

Ponto	Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Razão (1:)	Ácidos Graxos Livres (%)
1	80	60	4	61,32
2	100	60	4	64,95
3	80	120	4	68,16
4	90	60	3	63,00
5	80	90	3	66,17
6	90	90	4	65,81
7	90	90	4	66,27
8	90	60	5	66,61
9	100	120	4	70,72
10	100	90	3	65,97
11	100	90	5	67,84
12	90	60	3	62,68
13	90	120	5	71,71
14	90	120	3	71,77
15	80	90	5	63,86
16	90	90	4	66,17
17	90	90	4	66,15
18	90	90	4	66,94
19	80	120	4	68,09
20	80	60	4	62,16
21	90	120	3	69,88
22	90	60	5	66,46
23	100	120	4	69,77
24	100	60	4	65,12
25	80	90	5	64,89
26	80	90	3	66,01
27	100	90	3	65,77
28	100	90	5	67,59
29	90	120	5	69,95
30	90	90	4	67,18

*Fonte: O próprio autor*

Como dito anteriormente, idealmente os valores chegariam próximos aos 70% de ácidos graxos livres, o que significaria uma transformação completa, ou quase disso, da fração saponificável. Como apresentado na Tabela 18, os resultados de fato chegaram próximo ao valor, especialmente para algumas condições, discutidas em mais detalhes a seguir, mostrando que as reações de saponificação e acidulação foram realizadas com sucesso. Alguns valores deram acima dos 70,5%, em teoria o máximo possível; esses valores caem dentro da incerteza, do programa CLIQS ( $\pm 5\%$ ), não invalidando as medições realizadas.

## 4.5 – Metodologia de Box-Behnken

Com os resultados da composição de ácidos graxos livres (Tabela 18), foi possível realizar o tratamento dos dados em um *software* estatístico, o programa utilizado foi o 'Minitab'. Nas Tabelas 19 e 20 se encontram os principais parâmetros estatísticos derivados da metodologia. O R<sup>2</sup> do modelo foi próximo dos 95%, mostrando que a regressão utilizada descreve bem a resposta, ou seja, o modelo se ajusta bem aos dados.

Tabela 19. Sumário do modelo

S	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> (ajustado)	R <sup>2</sup> (previsto)
0,735853	94,68%	92,28%	87,13%

Fonte: O próprio autor

Para determinar se a associação entre a resposta e cada termo do modelo é estatisticamente significativa, é fundamental analisar o p-valor, a fim de avaliar a hipótese nula. A hipótese nula implica a não existência entre uma associação entre a variável avaliada e a resposta ao fenômeno. Geralmente um nível de significância ( $\alpha$ ) de 0,05 é utilizado em trabalhos estatísticos, esse valor indica um risco de 5% de se concluir que existe uma associação quando na realidade não existe associação real (SELLKE *et al.*, 2001). Para um p-valor menor ou igual a  $\alpha$ , a associação é estatisticamente significativa, ou seja, há uma associação real entre a variável medida e a resposta, enquanto para p-valor menor que o nível de significância, a associação não é estatisticamente significativa. Como é possível observar na Tabela 20, apenas efeitos de interação, mais especificamente temperatura \*tempo e razão\*razão não contribuem para a resposta do problema. Todos os efeitos principais, ou seja, tempo, temperatura e razão, contribuem, de forma independente para a formação sabão e, conseqüentemente, de ácidos graxos.

Tabela 20. Coeficientes do modelo estatístico

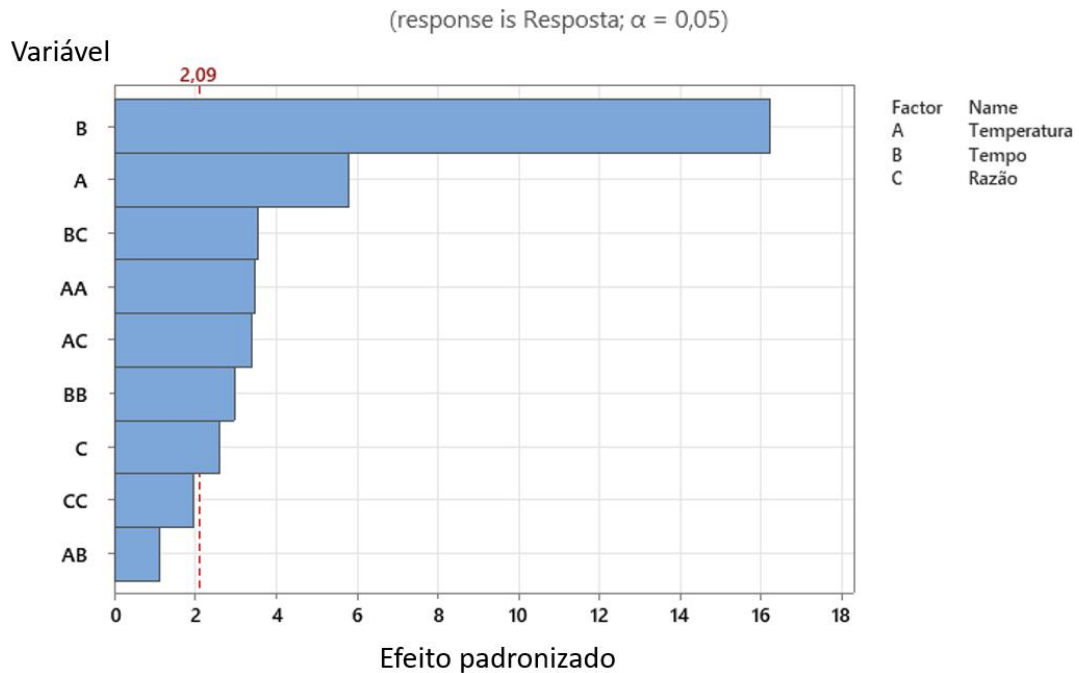
Termo	Coef	Coef Erro padrão	t-Valor	p-Valor
Constante	66,42	0,3	221,1	<0,01
Temperatura	1,068	0,184	5,81	<0,01
Tempo	2,983	0,184	16,22	<0,01
Razão	0,479	0,184	2,6	0,02
Temperatura*Temperatura	-0,938	0,3	-3,46	0,002
Tempo*Tempo	0,807	0,3	2,98	0,007
Razão*Razão	1	0,3	1,96	0,064
Temperatura*Tempo	-0,296	0,3	-1,14	0,268
Temperatura*Razão	1	0,3	3,42	0,003
Tempo*Razão	-0,922	0,3	-3,55	0,002

Fonte: O próprio autor

No Diagrama de Pareto (Figura 46), é possível observar com mais clareza o que está descrito na Tabela 20. Nota-se que o tempo é, por muito, o principal fator

que afeta o modelo, seguido pela temperatura. A razão por si só, apesar de ser estatisticamente significativa, é o parâmetro que menos influencia o resultado, mostrando que uma razão 1:3 já é suficiente, ou próximo disso, de transformar todos os saponificáveis em sabão.

Figura 45. Diagrama de Pareto

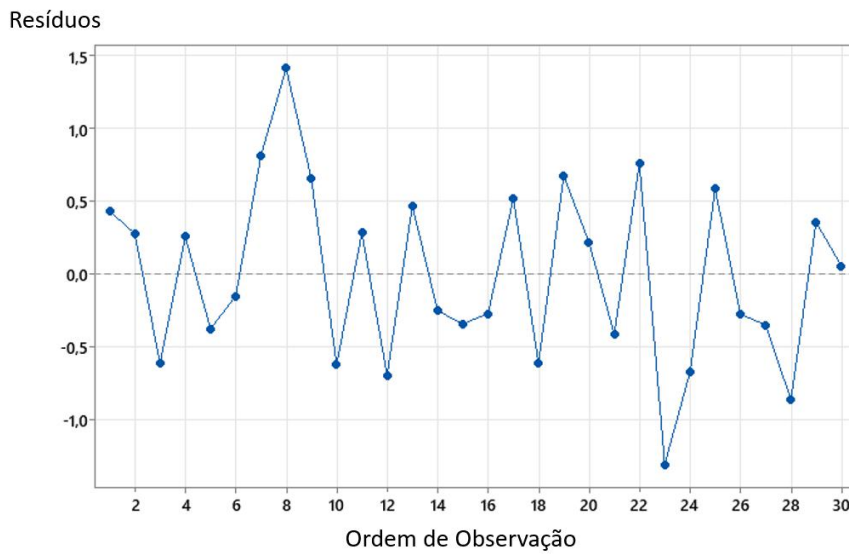


Fonte: O próprio autor

Os efeitos de interação, termos quadráticos no modelo, também apresentam sua relevância, porém, são fatores que influenciam pouco se comparado a temperatura e, principalmente, ao tempo.

Outro interessante fator a ser observado é o gráfico de resíduos (erros) versus ordem, para verificar o pressuposto de que as variáveis são independentes umas das outras. Variáveis independentes não mostram tendências nem padrões quando exibidos em ordem temporal. Padrões nos pontos podem indicar que variáveis possam estar correlacionadas, e, portanto, não sendo independentes. De maneira ideal, os pontos no gráfico de resíduos versus ordem devem cair aleatoriamente em torno da linha central. Como pode ser observado na Figura 46, este é o caso do modelo do presente trabalho, provando novamente a proficiência do modelo.

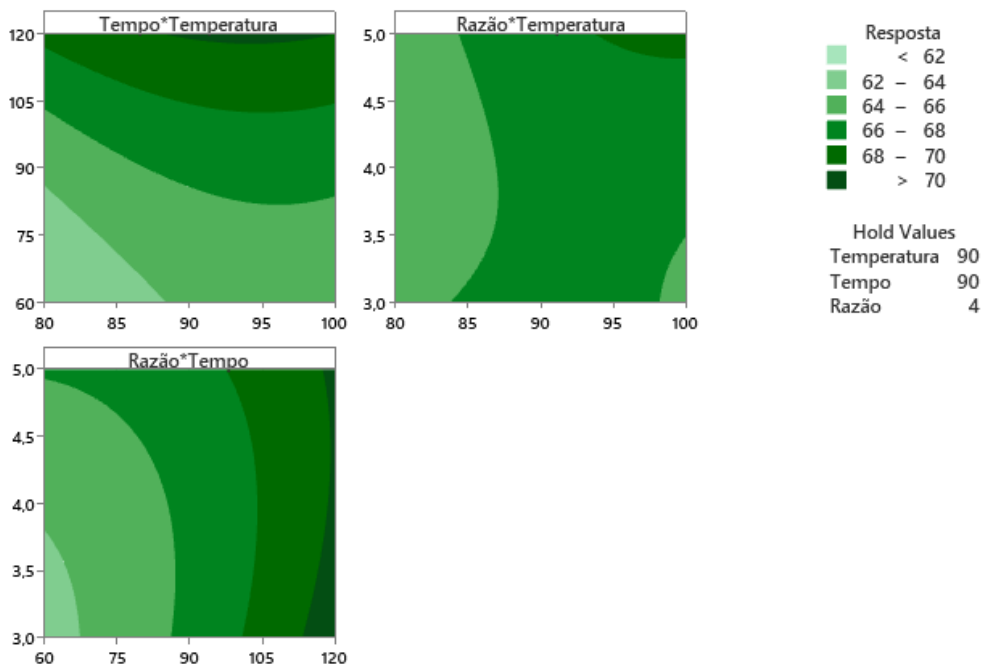
Figura 46. Gráfico de resíduos *versus* ordem



Fonte: O próprio autor

Os gráficos de contorno são ferramentas poderosas e fundamentais para a otimização das condições seguindo a metodologia superfície de resposta. Um gráfico de contorno representa a relação entre a resposta do fenômeno e duas variáveis contínuas. Ele mostra uma visão bidimensional, na qual os pontos que têm o mesmo valor de resposta estão ligados para produzir linhas de contorno. A Figura 47 mostra os gráficos de contorno para o modelo em questão, onde as áreas mais escuras representam resultados mais fortes, ou seja, maior composição de ácidos graxos.

Figura 47. Gráficos de contorno

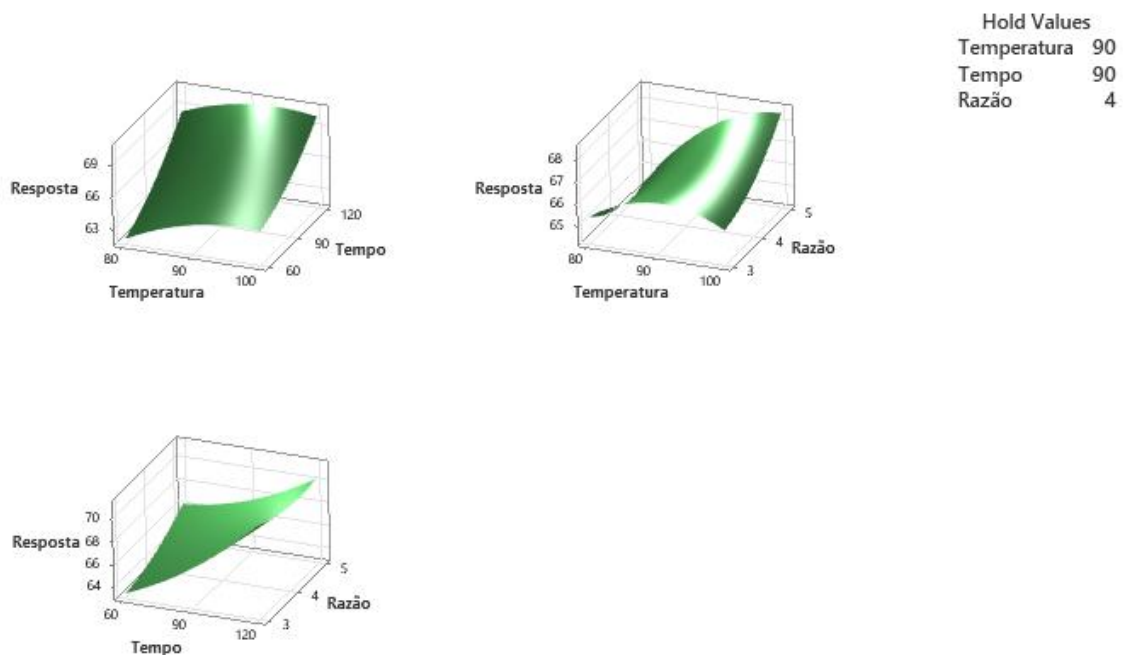


Fonte: O próprio autor

É possível observar que, na interação tempo\*temperatura, os maiores valores se encontram na faixa dos 120 min, sendo a temperatura próxima de 90 °C suficiente para produzir as maiores conversões. Observando o gráfico razão\*tempo, novamente nota-se a importância de tempos mais longos na reação, no entanto, os diferentes valores para a razão se encontram todos na mesma faixa, mostrando que a razão 1:3 já seria suficiente para conversão total. No gráfico razão\*temperatura, nota-se que quase todo ele está na mesma região, apesar de valores mais altos para ambos os fatores resultarem em área mais escura, a baixa influência da razão, bem como da interação de ambas, é pouco significativa para o modelo final.

Outra ferramenta poderosa na análise estatística, é o uso dos gráficos de superfície (Figura 48). Eles exibem a relação tridimensional entre duas variáveis e a resposta, sendo as variáveis plotadas nos eixos 'x' e 'y', e a resposta no eixo 'z'. O resultado é uma superfície uniforme, que, apesar de mais difícil visualização e compreensão que os gráficos de contorno, acabam representando as mesmas explicações. É possível pensar nos gráficos de superfície como gráficos tridimensionais de contorno.

Figura 48. Gráficos de superfície



Fonte: O próprio autor

As discussões para estes gráficos são às mesmas já mencionadas anteriormente, uma vez que os gráficos de contorno e de superfície são referentes ao mesmo fenômeno, assim, resultando nas mesmas dinâmicas.

Realizadas as análises, o programa retornou a melhor condição para a realização dos experimentos, condição esta especificada na Tabela 21.

Tabela 21. Condições ótimas para realização da saponificação

Temperatura (°C)	Tempo (minutos)	Razão (1:)
94,3	118,2	3,3

*Fonte: O próprio autor*

Mais resultados e gráficos referentes à análise estatística e a metodologia de Box-Behnken podem ser encontrados no Apêndice I.

#### 4.6 – Condição ótima

Com a condição ótima catalogada, foram realizadas novas reações seguindo os parâmetros de temperatura, tempo e razão. Como mencionado anteriormente, as reações foram realizadas em triplicata, utilizando um volume maior. Novamente, foi realizada a análise de cromatografia em camada delgada, e, os resultados para a composição de ácidos graxos livres das amostras, frente ao óleo bruto, podem ser encontrados na Tabela 22.

Tabela 22. Resultados da cromatografia em camada delgada para as condições ótimas

Amostra	Ácidos graxos livres (%)
1	70,1
2	70,6
3	70,2

*Fonte: O próprio autor*

Considerou-se que a rota obteve sucesso na conversão dos lipídeos, uma vez que o valor de ácidos graxos livres se aproximou do máximo esperado para o óleo bruto. O procedimento para determinação do índice de acidez (IA) também foi realizado em triplicata, e os resultados são apresentados na Tabela 23.

Tabela 23. Resultados para o índice de acidez

Amostra	IA (mg de NaOH/g)
1	135,8
2	138,9
3	137,5
<b>Média</b>	<b>137,4</b>

*Fonte: O próprio autor*

São resultados expressivos do índice de acidez, muito superiores àqueles estabelecidos pela ANP, que estabelece 1% ácido oleico para amostras de óleo bruto de oleaginosas e 0,3% para óleos refinados. Assim, pode-se perceber que houve uma contundente produção de ácidos graxos na amostra, passíveis de serem transformados em biodiesel.



## 5. – CONCLUSÃO

### 5.1 – Conclusões

Através da realização de análises de cromatografia em camada delgada foi possível identificar e quantificar as diferentes classes lipídicas presentes no óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp. Os resultados foram fundamentais para visualizar o aumento da concentração de ácidos graxos, atrelada a diminuição dos lipídeos, mostrando que ocorre a transformação de um grupo para o outro.

A comparação dos resultados e a análise estatística, utilizando método de superfície de resposta, através da metodologia de Box-Behnken, foram essenciais para elucidação das condições ótimas da reação. Além disso, foi possível provar que esta é uma metodologia que descreve com sucesso o fenômeno em questão, bem como a mesma foi capaz de elucidar as interações e a importância entre elas para a produção de sabão.

As condições ótimas para a realização da saponificação do óleo bruto de microalgas ficaram próximas a 95 °C, 2 horas de reação e razão óleo:água/base (1:3). Após 120 minutos de reação, à temperatura supracitada, foi possível observar conversão total, ou próximo a isso, dos compostos saponificáveis em sabão. A razão de 1:3, condição mínima testada no presente estudo, também se mostrou eficaz, não sendo limitante no processo.

Com a obtenção dos resultados finais, ficou evidenciado o elevado potencial do óleo bruto da microalga *Scenedesmus* sp. na produção de biodiesel seguindo a rota saponificação – acidulação – esterificação. Uma vez que a quantidade de ácidos graxos livres presentes nas amostras é significativa (aprox. 70%).

Para produção em larga escala da rota proposta, seria necessário incluir uma etapa de extração do material insaponificável, posterior à saponificação. Esta extração pode ser realizada com hexano, cujo solvente pode ser recuperado e reutilizado no processo. Desta forma o produto obtido na etapa de acidulação seria praticamente 100% formado por ácidos graxos, passíveis de esterificação.

Assim, pode-se concluir que foi possível desenvolver uma estratégia para obtenção de ácidos graxos passíveis de serem transformados em biodiesel a partir da rota saponificação – acidulação, cumprindo o objetivo proposto. O método desenvolvido, além de apresentar baixa complexidade experimental, foi testado e otimizado para atingir as melhores condições no que se refere a produção de ácidos graxos a partir do óleo bruto da microalga. Além disso, todas as técnicas de caracterização e quantificação, bem como a metodologia de Box-Behnken, foram complementares, além de terem sido ferramentas fundamentais na condução das conclusões deste estudo.

## 5.2 – Sugestões para trabalhos futuros

- Estudo que inclua a última etapa da rota (esterificação), chegando de fato ao biodiesel e medindo os parâmetros físico-químicos do mesmo, avaliando se estão de acordo com os padrões da ANP;
- Inclusão de uma etapa de remoção dos insaponificáveis após a realização da saponificação, de modo a alcançar uma solução nas condições ideais com menos 'impurezas' e, assim, maximizar ainda mais a composição de ácidos graxos;
- Avaliação econômica em pequena, média e larga escalas para a produção do biodiesel utilizando a rota proposta no presente trabalho;
- Análise da rota proposta utilizando como matéria-prima óleos brutos provindos de outras espécies de microalgas, de modo a avaliar se as condições ótimas são similares às do presente trabalho e examinar qual espécie resulta em uma solução com maior composição de ácidos graxos passíveis de serem transformados em biodiesel.

## Referências Bibliográficas

Atabani, A. E.; Silitonga, A. S.; Badruddin, I.A.; Mahlia, T. M. I.; Masjuki, H. H.; Mekhilef, S. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*. 2012, 16, 2070.

ANP. ANUÁRIO ESTATÍSTICO BRASILEIRO DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS 2021. Disponível em: <https://www.gov.br/anp/pt-br/centrais-de-conteudo/publicacoes/anuario-estatistico/arquivos-anuario-estatistico-2021/anuario-2021.pdf>. Acesso em 12 janeiro 2022

Tomei, J.; Upham, P. Argentinean soybased biodiesel: An introduction to production and impacts. *Energy Policy* 2009, 37, 3890.

Canakci, M.; Sanli, H. Biodiesel production from various feedstocks and their effects on the fuel properties. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* 2008, 35, 431.

Bankovic-Ilic, I. B.; Stamenkovic, O. S.; Veljkovic, V. B. Biodiesel production from non-edible plant oils. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2012, 16, 3621.

Gui, M. M.; Lee, K. T.; Bhatia, S. Feasibility of edible oil vs. non-edible oil vs. waste edible oil as biodiesel feedstock. *Energy* 2008, 33, 1646.

Rincón, L. E., Jaramillo, J. J., & Cardona, C. A. Comparison of feedstocks and technologies for biodiesel production: An environmental and techno-economic evaluation. *Renewable Energy*, 69, 479–487. 2014.

MENEGHETTI, Simoni; MENEGHETTI Mario Roberto; BRITO, Yariadner. A Reação de Transesterificação, Algumas Aplicações e Obtenção de Biodiesel. *Rev. Virtual Quim*, Maceió, v. 1, n. 5, p. 63-73, 17 jan. 2013. Disponível em: <https://sistemas.eel.usp.br/docentes/arquivos/1285870/52/ReacaodeTransterificacao.BioDiesel.pdf>. Acesso em: 05 janeiro 2022.

US Department of Agriculture. "Soybeans & Oil Crops". Economic Research Service. 2022.

Andersen, Robert A. *The Microalgal Cell*. Oxford, UK: John Wiley & Sons, Ltd: 1–20. (12 de abril de 2013).

MORSLED, Mahbub et al. Rubber seed oil as a potential source for biodiesel production in Bangladesh. *Fuel*. Bangladesh, p. 2981-2986. maio 2011.

Scott, S. A.; Davey, M. P.; Dennis, J. S.; Horst, I.; Howe, C. J.; Lea– Smith, D. J.; Smith, A. G.; *Curr. Opin. Biotechnol.* 2010, 21, 277.

Starckx, Senne. A place in the sun - Algae is the crop of the future, according to researchers in Geel Flanders Toda. 31 outubro 2012.

Ratha SK, Prasanna R (February 2012). "Bioprospecting microalgae as potential sources of "Green Energy"—challenges and perspectives". *Applied Biochemistry and Microbiology*. 48 (2): 109–125.

Cardozo, Karina H.-M.; Thais, Guaratini; Marcelo P., Barros; Vanessa R., Falcão; Angela P., Tonon; Norberto P., Lopes; Sara, Campos; Moacir A., Torres; Anderson O., Souza; Pio, Colepicolo; Ernani, Pinto (2006-06-29). "Metabolites from algae with economical impact". *Comparative Biochemistry and Physiology C*. 146 (1–2): 60–78.

National Renewable Energy Laboratory. A Look Back at the U.S. Department of Energy's Aquatic Species Program—Biodiesel from Algae. 1998. Disponível em: <https://www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf>. Acesso em 14 fevereiro 2022;

Huntley, M. E.; Redalje, D. G.; Mitig. *Adapt. Strategies Glob. Change* 2006, 12, 57

Schuchardt, U.; Sercheli, R.; Vargas, R.M. Transesterification of Vegetable Oils: a Review. *Journal of the Brazilian Chemical Society* 1998, 9, 199.

Ramos, L. P., Silva, F. R., Mangrich, A. S., Cordeiro, C. S. Tecnologias de Produção de Biodiesel. *Revista Virtual de Química* 2011, 3, 385.

Cordeiro, C. S.; Silva, F. R.; Wypych, F.; Ramos, L. P. Catalisadores heterogêneos para a produção de monoésteres graxos (biodiesel). *Química Nova* 2011, 34, 477.

SCHROEDER, Luiza. Obtenção de ácidos graxos de biomassa úmida de microalgas através de saponificação. 2013. 90 f. Dissertação (Mestrado) - Curso de Engenharia e Ciência dos Materiais, Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2013.

SILVA, Rochele et al.. Estudo da conversão do óleo de soja em biodiesel em função do tempo, utilizando a metodologia TDSP. In: *Simpósio Nacional de Biocombustíveis*, 6, 2013, Canoas. Anais... Rio Grande do Sul: UFRGS, 2013. p 1- 4.

Baskar, G.; Aiswarya, R. Trends in catalytic production of biodiesel from various feedstocks. *Renewable and Sustainable Energy Reviews* 2016, 57, 496.

Sakai, T.; Kawashima, A.; Koshikawa, T. Economic assessment of batch biodiesel production processes using homogeneous and heterogeneous alkali catalysts. *Bioresource Technology* 2009, 100, 3268.

Hattori, H. Solid Base Catalysts: Generation of Basic Sites and Application to Organic Synthesis. *Applied Catalysis A: General* 2001, 222, 247.

Mootabadi, H.; Salamatinia, B.; Bhatia, S.; Abdullah, A. Z. Ultrasonic-assisted biodiesel production process from palm oil using alkaline earth metal oxides as the heterogeneous catalysts. *Fuel* 2010, 89, 1818.

Barakos, N.; Pasiyas, S.; Papayannakos, N. Transesterification of triglycerides in high and low quality oil feeds over an HT2 hydrotalcite catalyst. *Bioresource Technology* 2008, 99, 5037..

Alonso, D. M.; Mariscal, R.; Moreno-Tost, R.; Poves, M. D.; Granados, M. Potassium leaching during triglyceride transesterification using K/γ-Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> catalysts. *Catalysis Communication* 2007, 8, 2074

VINEYARD, Paula. ESTUDO E CARACTERIZAÇÃO DO PROCESSO DE FABRICAÇÃO DE SABÃO UTILIZANDO DIFERENTES ÓLEOS VEGETAIS. Mauá: Escola de Engenharia Mauá, 2015.

Umdu, E. S.; Tuncer, M.; Seker, E. Transesterification of nannochloropsis oculata microalgas lipid biodiesel on Al<sub>2</sub>O<sub>3</sub> supported CaO and MgO catalysts. *Bioresource Technology* 2009, 100, 2828.

Narasimharao, K.; Mohapatra, S. K.; Misra, M. Quintinite as a bifunctional heterogeneous catalyst for biodiesel synthesis. *Applied Catalysis A: General* 2011, 393, 36.

LUIZ HENRIQUE ANDRADE LAGE, RAFAEL TEIXEIRA GONÇALVES, ULISSES ANDRADE DE OLIVEIRA, WILLIAM ARGOLO SALIBA. ANÁLISE DOS PROCESSOS DE TRANSESTERIFICAÇÃO E HIDROESTERIFICAÇÃO NA PRODUÇÃO DE BODIESEL – jan 2019.

WEI, Wei et al. Biocatalytic synthesis of ultra-long-chain fatty acid sugar alcohol monoesters. *Green Chemistry*. [S.L.], p. 3475-3489. abr. 2015.

Karmoker, J.R.; Hasan, I.; Ahmed, N.; Saifuddin, M.; Reza, M.S. "Development and Optimization of Acyclovir Loaded Mucoadhesive Microspheres by Box - Behnken Design". *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences*. 18 – 2019.

Determinação do Índice de Acidez em Óleos Vegetais – Ministerio da Agricultura – 2016 – Disponível em: <https://www.gov.br/agricultura/pt-br/assuntos/laboratorios/credenciamento-e-laboratorios-credenciados/legislacao-metodos-credenciados/arquivos-metodos-da-area-pov-iqa/it-pov-034-rev01-determinacao-do-indice-de-acidez-em-oleos-vegetais.pdf> - Acesso em: 20 fevereiro 2022.

Miguel J. Dabdoub e João L. Bronzel. Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. 27 fevereiro 2009..

Chavanne, C. G.; *Bull. Soc. Chim.* 1943, 10, 52.

Chavanne, C. G.; pat. BE 422,877, Bélgica 1938.

Kent, S. M.; US Pat. 2,562,218 1951.

Root, F. B.; US Pat. 2,559,466 1951.

SGS. BODIESEL POLICIES AND MARKETS: SUCCESS STORIES AROUND THE WORLD. Disponível em: <https://www.gov.br/mme/pt->

br/assuntos/secretarias/petroleo-gas-natural-e-biocombustiveis/abastecebrasil/subcomites/SGSINSPIREABICOMProjectBiodieselPoliciesandMarketsV2.pdf. Acesso em 18 janeiro 2022.

AMERICAN JOBS CREATION ACT OF 2004 – Disponível em: <https://www.govinfo.gov/content/pkg/CRPT-108hrpt755/html/CRPT-108hrpt755.htm>. Acesso em 09 janeiro 2022.

LEI Nº 11.097, DE 13 DE JANEIRO DE 2005. Disponível em: [http://www.planalto.gov.br/ccivil\\_03/\\_ato2004-2006/2005/lei/l11097.htm#:~:text=LEI%20N%C2%BA%2011.097%2C%20DE%2013%20DE%20JANEIRO%20DE%202005.&text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20introdu%C3%A7%C3%A3o%20do,2002%3B%20e%20d%C3%A1%20outras%20provid%C3%AAs](http://www.planalto.gov.br/ccivil_03/_ato2004-2006/2005/lei/l11097.htm#:~:text=LEI%20N%C2%BA%2011.097%2C%20DE%2013%20DE%20JANEIRO%20DE%202005.&text=Disp%C3%B5e%20sobre%20a%20introdu%C3%A7%C3%A3o%20do,2002%3B%20e%20d%C3%A1%20outras%20provid%C3%AAs). Acesso em 27 janeiro 2022.

JAIN, S.; SHARMA, M. P. STABILITY OF BODIESEL AND ITS BLENDS: A REVIEW. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, v.14: p. 667-678, 2010.

*Chemical & Metallurgical Engineering* 1943, May 50, 225.

Otto, R. B.; *Bol. Instituto de Óleos* 1945, 92.

Paulo A. Z. Suarez Simoni M. Plentz Meneghetti. 70º aniversário do biodiesel em 2007: evolução histórica e situação atual no Brasil. 2007.

Patente, E. J. S.; BR Pat. PI 8007957, Brasil, 1980.

Patente, E. J. de S.; *Biodiesel Uma aventura tecnológica num país engraçado*, Unigráfica: Fortaleza, 2003.

Pinho, D. M. M.; Suarez, P. A. Z. *Do Óleo de Amendoim ao Biodiesel- Histórico e Política Brasileira para o Uso Energético de Óleos e Gorduras*. 2016.

Pousa G. P. A. G.; Santos A. L. F.; Suarez, P. A. Z. History and policy of biodiesel in Brazil. *Energy Policy* 2007, 35, 5393

MEDIDA PROVISÓRIA Nos 214, DE 13 DE SETEMBRO DE 2004. Disponível em:

<http://imagem.camara.gov.br/Imagem/d/pdf/DCD01OUT2004.pdf#page=236>.

Acesso em 12 fevereiro 2022.

Pinho, D. M. M.; Suarez, P. A. Z. *A Hidrogenação de Óleos e Gorduras e suas Aplicações Industriais*. *Revista Virtual de Química* 2013, 5, 47.

EIA. U.S. Bioenergy Statistics. Disponível em: <https://www.ers.usda.gov/data-products/u-s-bioenergy-statistics/>. Acesso em 26 dezembro 2021.

EIA. Annual Energy Review. Disponível em: <https://www.eia.gov/totalenergy/data/annual/>. Acesso em 28 dezembro 2021.

IEA. *Global biofuel production in 2019 and forecast to 2025*. IEA, Paris. 2019. Disponível em: <https://www.iea.org/data-and-statistics/charts/global-biofuel-production-in-2019-and-forecast-to-2025>. Acesso em 27 janeiro 2022.

Associação dos Produtores de Biocombustíveis da Indonésia (Aprobi). Bulletins. Disponível em: <https://www.aprobi.or.id/bulletin/>. Acesso em 02 janeiro 2022.

Ministério de Minas e Energia - Análise de Conjuntura dos Biocombustíveis – Ano 2020. Disponível em: [https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-615/NT-EPE-DPG-SDB-2021-03\\_Analise\\_de\\_Conjuntura\\_dos\\_Biocombustiveis\\_ano\\_2020.pdf](https://www.epe.gov.br/sites-pt/publicacoes-dados-abertos/publicacoes/PublicacoesArquivos/publicacao-615/NT-EPE-DPG-SDB-2021-03_Analise_de_Conjuntura_dos_Biocombustiveis_ano_2020.pdf). Acesso em 18 janeiro 2022

Ramos, L. P.;\* Kothe, V.; César-Oliveira. M. A. F.; Muniz-Wypych, A. S.; Nakagaki, S.; Krieger, N.; Wypych, F.; Cordeiro, C. S. Biodiesel: Matérias-Primas, Tecnologias de Produção e Propriedades Combustíveis. 9 dezembro 2016.

Moretto, E.; Fett, R. Tecnologia de óleos e gorduras vegetais. Rio de Janeiro: Varela, 1989.

OECD-FAO. Agricultural Outlook 2020-2029. Disponível em: <https://www.oecd-ilibrary.org/sites/3aeb7be3-en/index.html?itemId=/content/component/3aeb7be3-en#:~:text=Global%20ethanol%20production%20is%20projected,vary%20from%20country%20to%20country>. Acesso em 07 janeiro 2022

Kochepka, D. M.; Dill, L. P.; Couto, G. H.; Krieger, N.; Ramos, L. P. Production of fatty acid ethyl esters from waste cooking oil using Novozym 435 in a solvent-free system. *Energy Fuels* 2015, 29, 8074.

Ma, F.; Hanna, M. A. Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology* 1999, 70, 1.

Mota, C. J. A.; Silva, C. X. A.; Gonçalves, V. L. C. Gliceroquímica: novos produtos e processos a partir da glicerina de produção de biodiesel. *Química Nova* 2009, 32, 639.

Karpagam, R.; Raj, K. J.; Ashokkumar, B.; Varalakshmi, P. Characterization and fatty acid profiling in two fresh water microalgae for biodiesel production: Lipid enhancement methods and media optimization using response surface methodology. *Bioresource Technology* 2015, 188, 177.

Kalayasiri, P.; Jeyashoke, N.; Krisnangkura, K. Survey of seed oils for use as diesel fuels. *Journal of America's Oil Chemists' Society* 1996, 73, 471.

## APÊNDICE I – Parâmetros Estatísticos

Abaixo encontram-se parâmetros e gráficos mais detalhados da metodologia Box-Behnken.

Tabela 24. Coeficientes codificados do método

Termo	Coef	EP Coef	T-Valor	P-Valor	VIF
Constante	66,420	0,300	221,10	0,000	
Temperatura	1,068	0,184	5,81	0,000	1,00
Tempo	2,983	0,184	16,22	0,000	1,00
Razão	0,479	0,184	2,60	0,017	1,00
Temperatura*Temperatura	-0,938	0,271	-3,46	0,002	1,01
Tempo*Tempo	0,807	0,271	2,98	0,007	1,01
Razão*Razão	0,531	0,271	1,96	0,064	1,01
Temperatura*Tempo	-0,296	0,260	-1,14	0,268	1,00
Temperatura*Razão	0,890	0,260	3,42	0,003	1,00
Tempo*Razão	-0,922	0,260	-3,55	0,002	1,00

Fonte: O próprio autor

Tabela 25. Sumário da metodologia de Box-Behnken

S	R <sup>2</sup>	R <sup>2</sup> (ajustado)	R <sup>2</sup> (previsto)
0,735853	94,68%	92,28%	87,13%

Fonte: O próprio autor

Tabela 26. Análise de variância

Origem	DF	Adj SS	Adj MS	F-Valor	P-Valor
Modelo	9	192,569	21,397	39,52	0,000
Linear	3	164,306	54,769	101,15	0,000
Temperatura	1	18,254	18,254	33,71	0,000
Tempo	1	142,385	142,385	262,95	0,000
Razão	1	3,667	3,667	6,77	0,017
Quadrático	3	14,416	4,805	8,87	0,001
Temperatura*Temperatura	1	6,499	6,499	12,00	0,002
Tempo*Tempo	1	4,808	4,808	8,88	0,007
Razão*Razão	1	2,079	2,079	3,84	0,064
Interações Duplas	3	13,847	4,616	8,52	0,001
Temperatura*Tempo	1	0,702	0,702	1,30	0,268
Temperatura*Razão	1	6,337	6,337	11,70	0,003
Tempo*Razão	1	6,808	6,808	12,57	0,002
Erro	20	10,830	0,541		
Falta de Ajuste	3	4,635	1,545	4,24	0,021



Erro Puro	17	6,194	0,364
Total	29	203,399	

Fonte: O próprio autor

Abaixo, equação da regressão do modelo (unidades não codificadas).

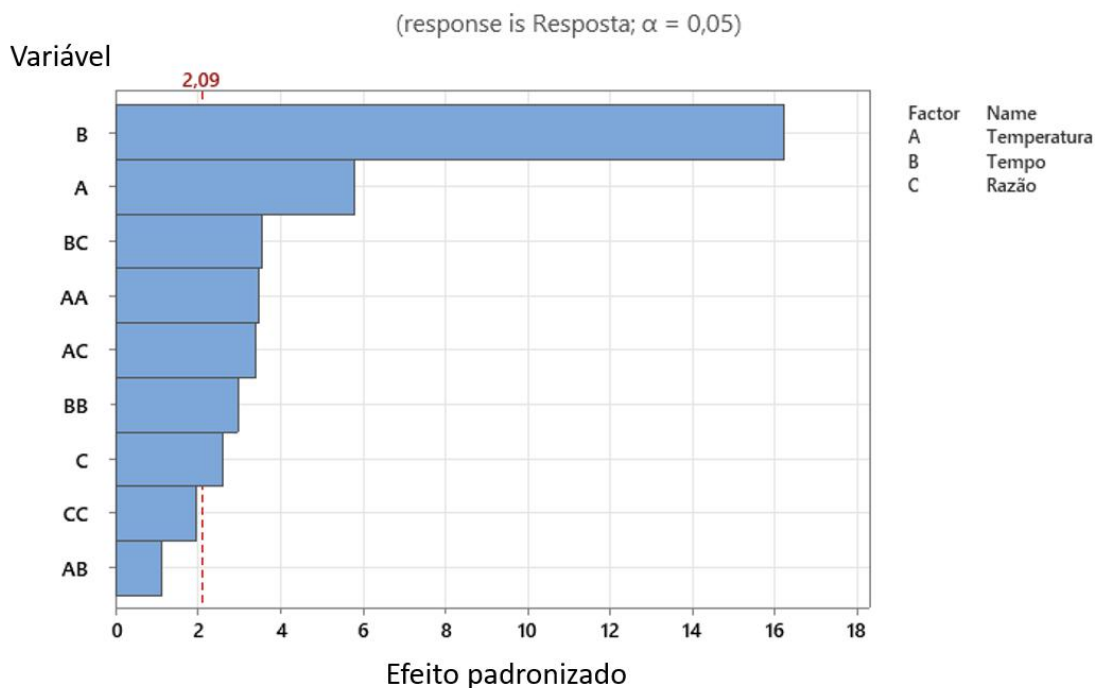
$$\begin{aligned}
 \text{Resposta} = & -1,3 + 1,528 \text{ Temperatura} + 0,150 \text{ Tempo} \\
 & - 9,01 \text{ Razão} \\
 & - 0,00938 \text{ Temperatura*Temperatura} \\
 & + 0,000897 \text{ Tempo*Tempo} \\
 & + 0,531 \text{ Razão*Razão} \\
 & - 0,000988 \text{ Temperatura*Tempo} \\
 & + 0,0890 \text{ Temperatura*Razão} \\
 & - 0,03075 \text{ Tempo*Razão}
 \end{aligned}$$

Tabela 27. Ajustes (fits) e diagnósticos para observações incomuns

Obs	Resposta	Fit	Erro	Erro Padrão	
8	71,710	70,297	1,413	2,43	R
23	69,880	71,184	-1,304	-2,24	R

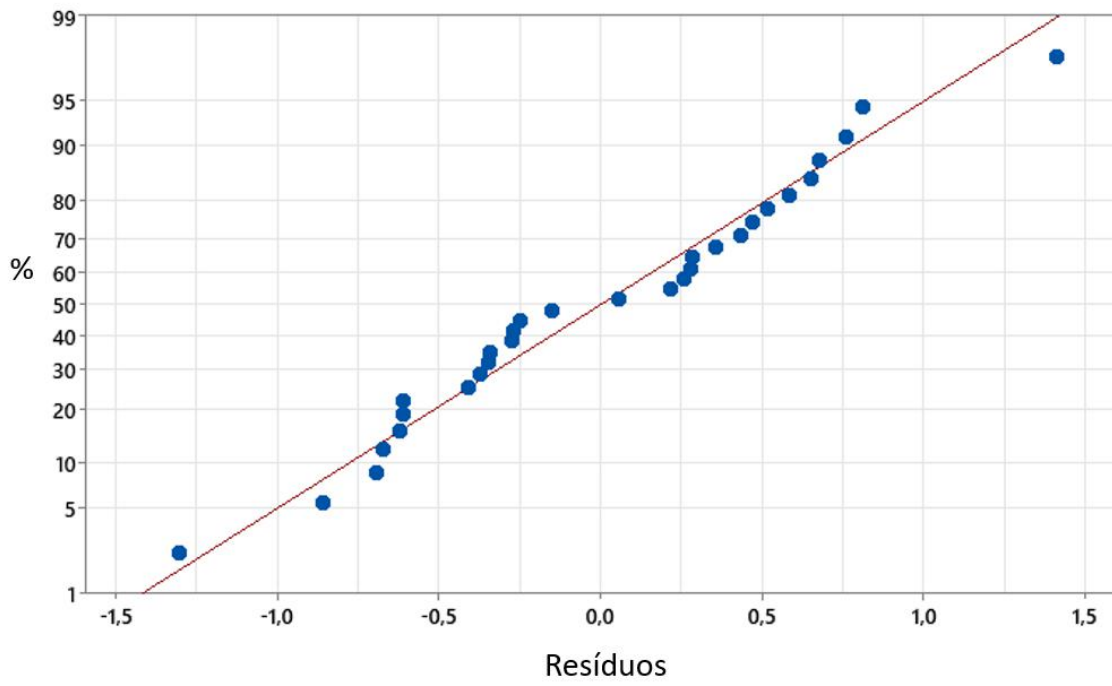
Fonte: O próprio autor

Figura 49. Diagrama de Pareto



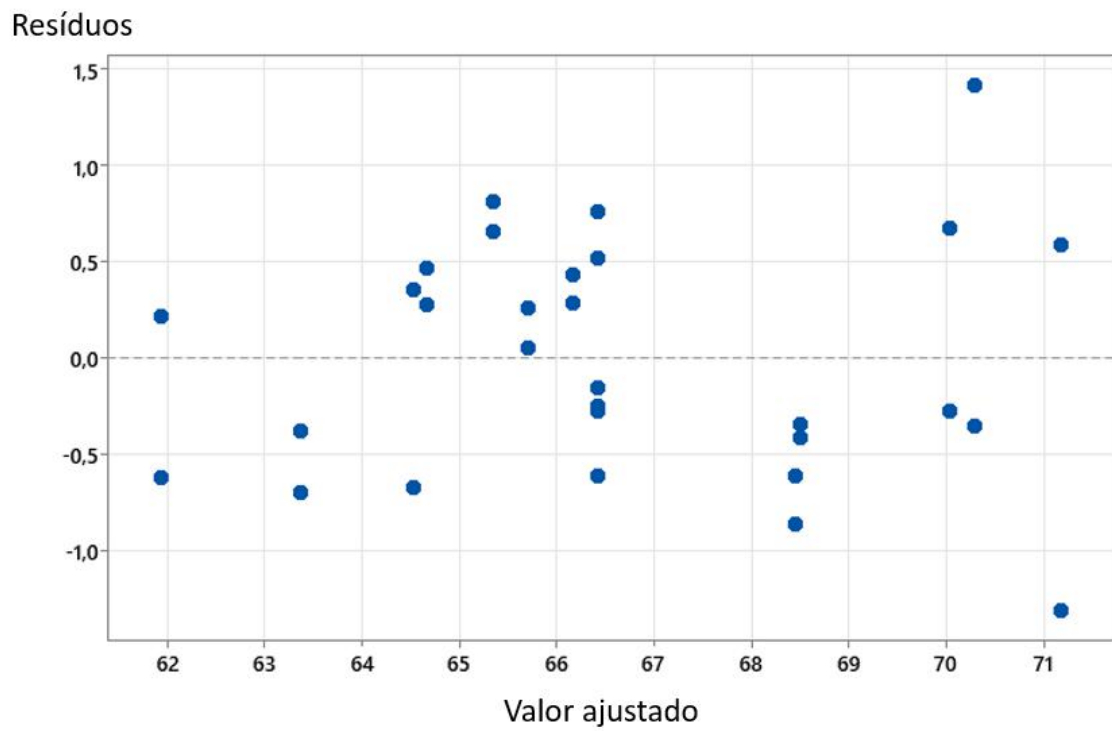
Fonte: O próprio autor

Figura 50. Gráfico de probabilidade normal



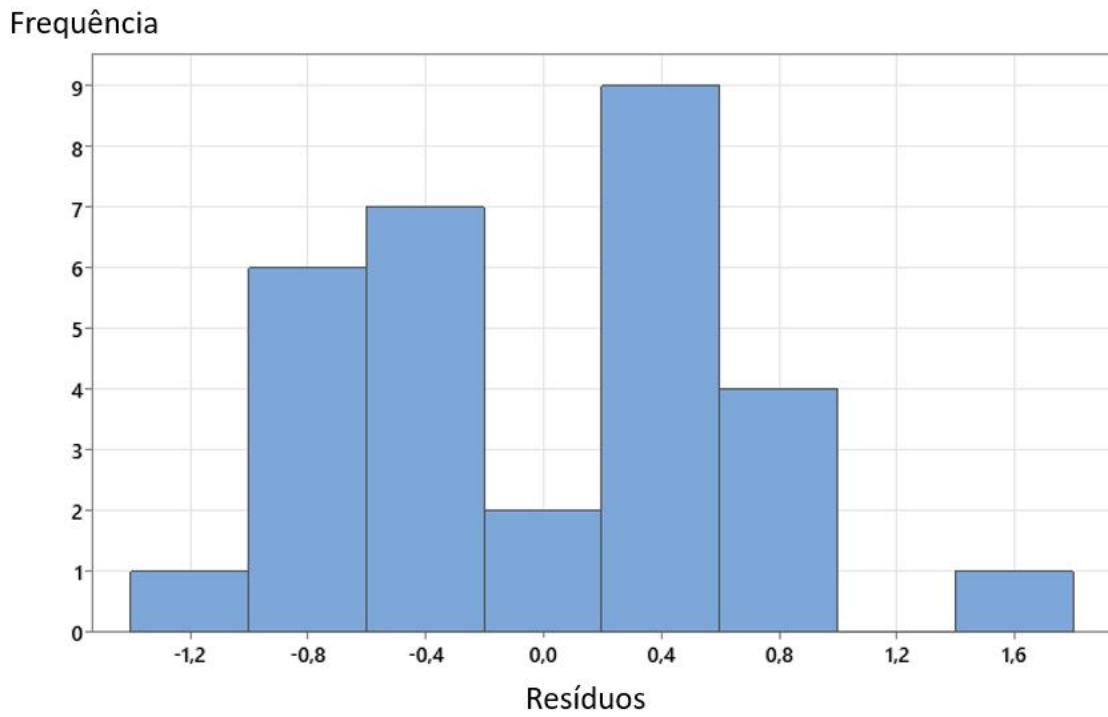
Fonte: O próprio autor

Figura 51. Gráfico versus fit



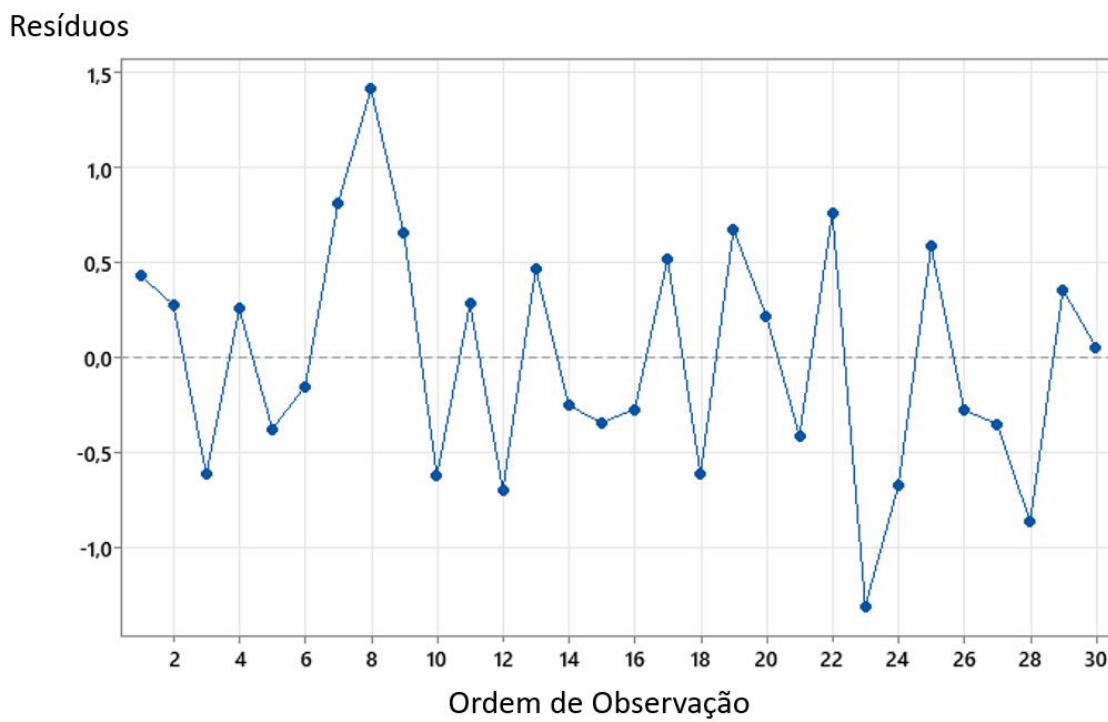
Fonte: O próprio autor

Figura 52. Histograma



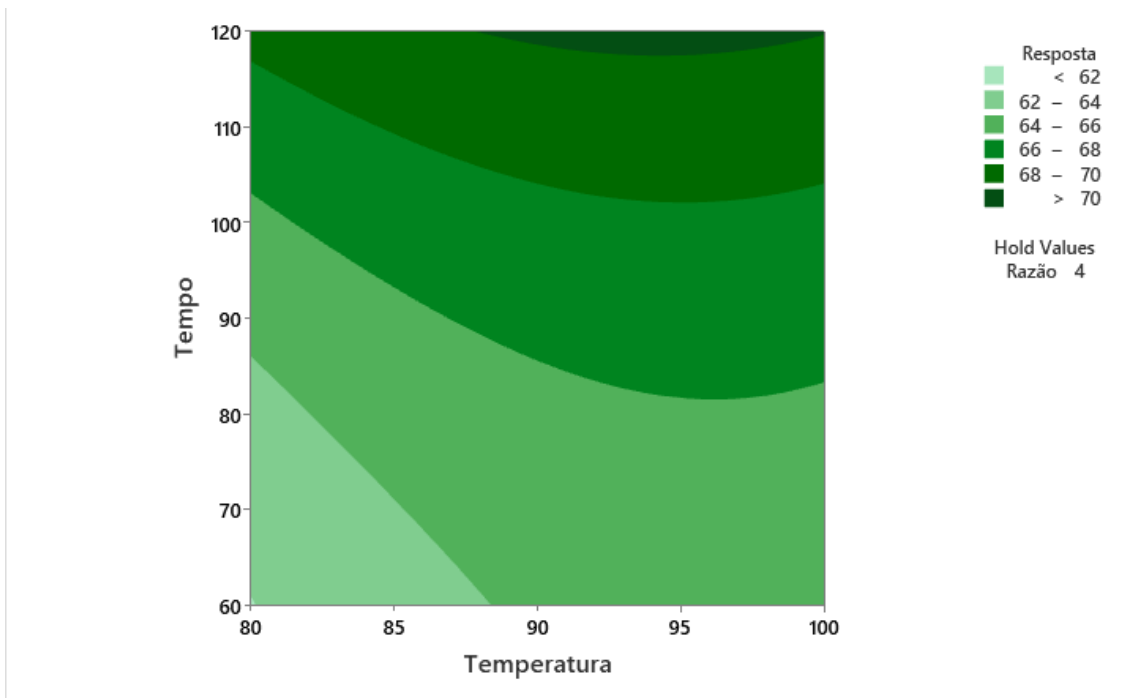
Fonte: O próprio autor

Figura 53. Gráfico versus ordem



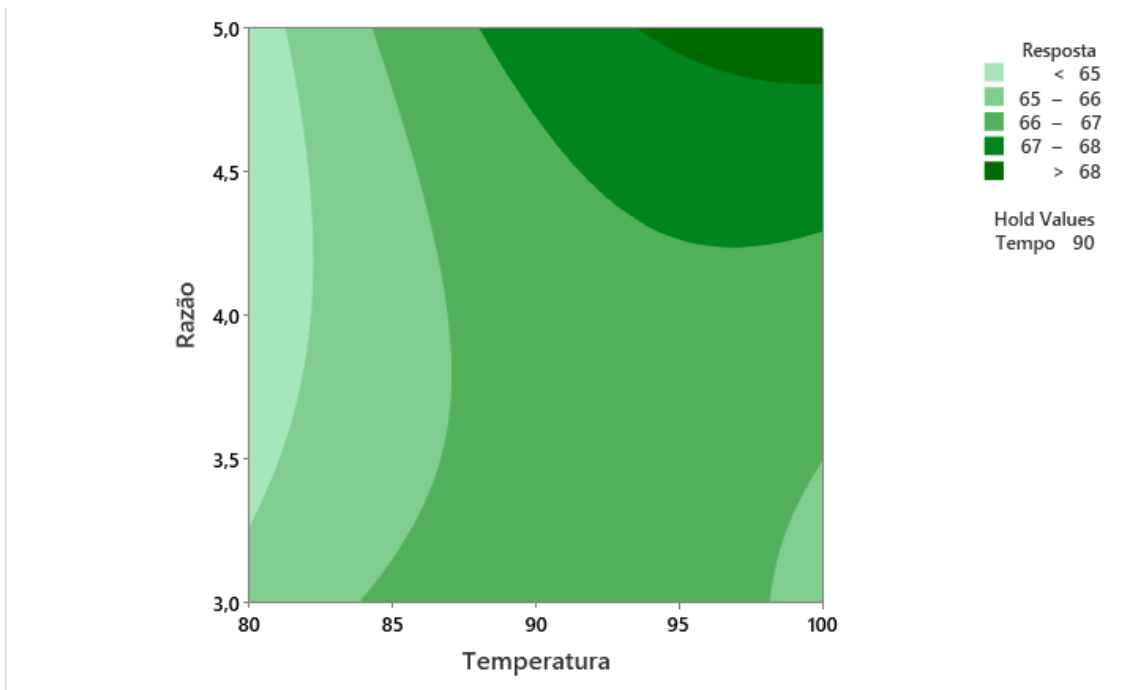
Fonte: O próprio autor

Figura 54. Gráfico de contorno tempo x temperatura



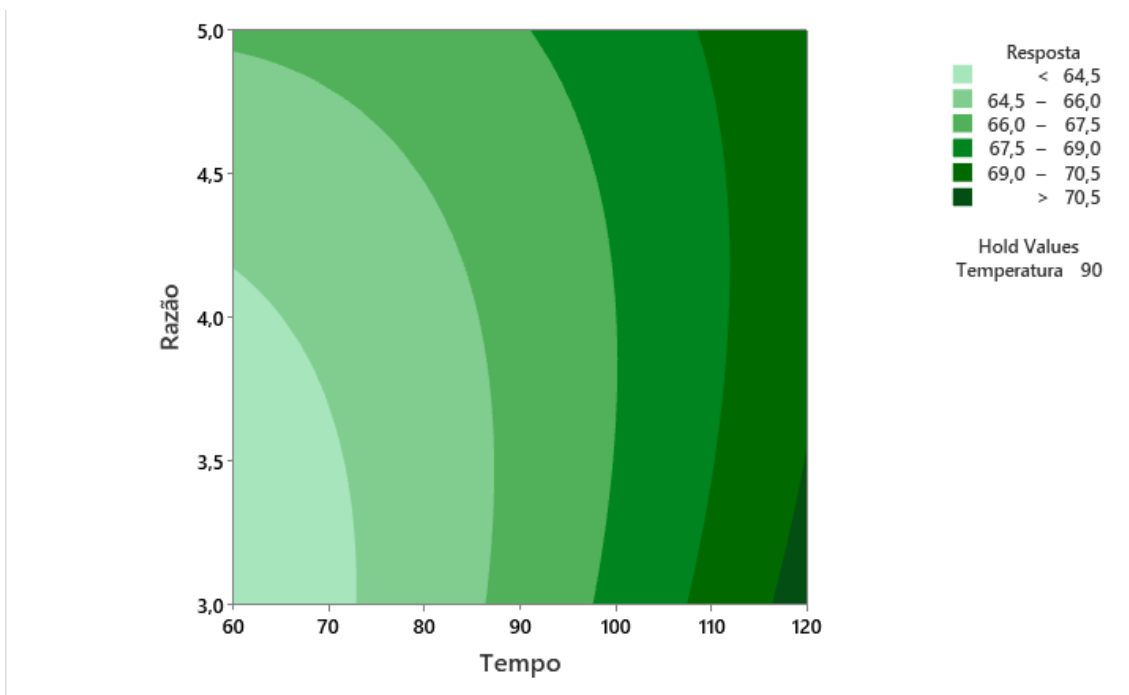
Fonte: O próprio autor

Figura 55. Gráfico de contorno razão x temperatura



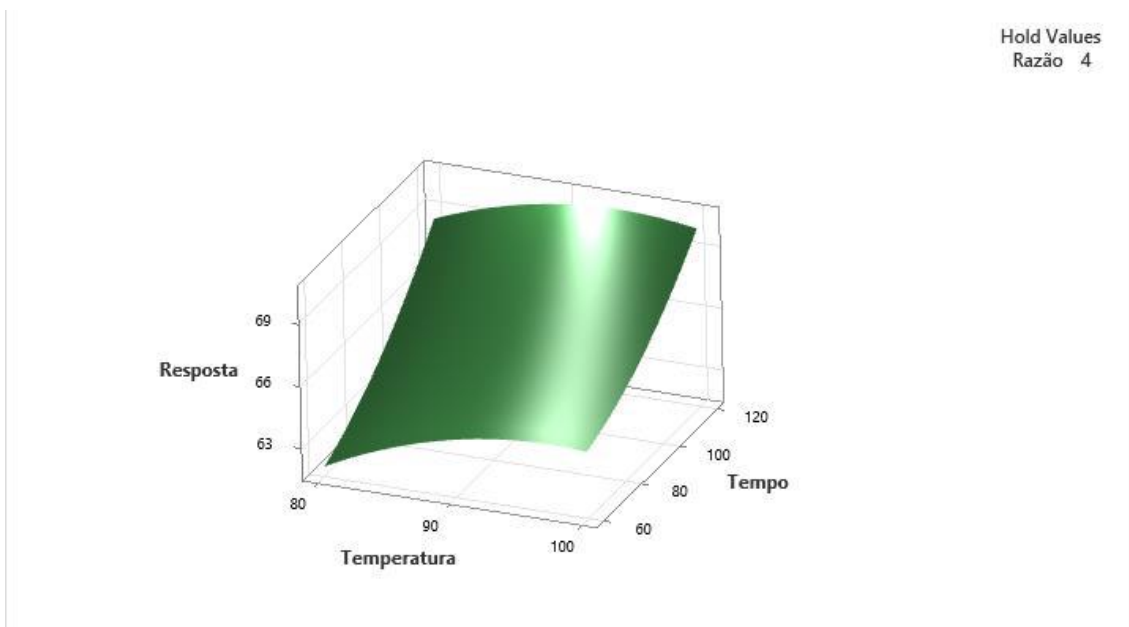
Fonte: O próprio autor

Figura 56. Gráfico de contorno razão x tempo



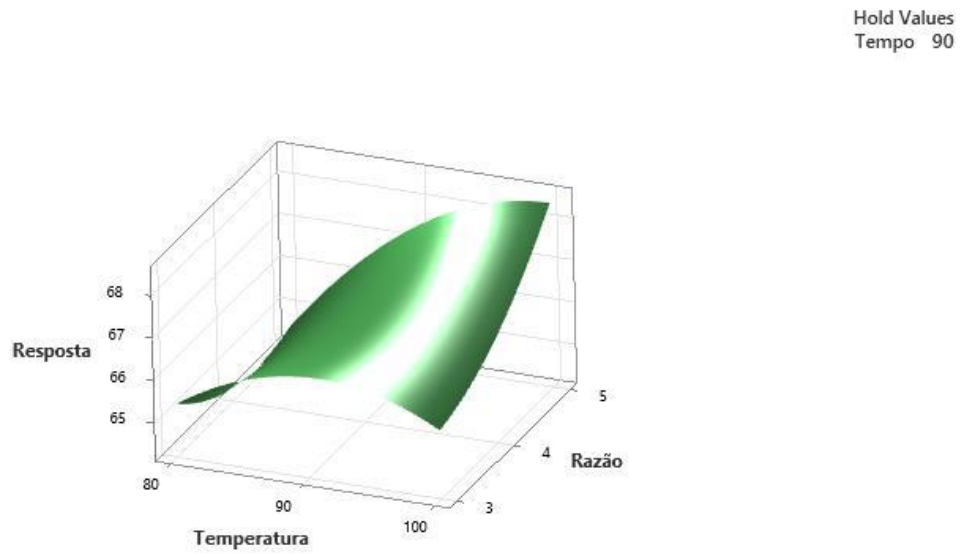
Fonte: O próprio autor

Figura 57. Gráfico de superfície tempo-temperatura



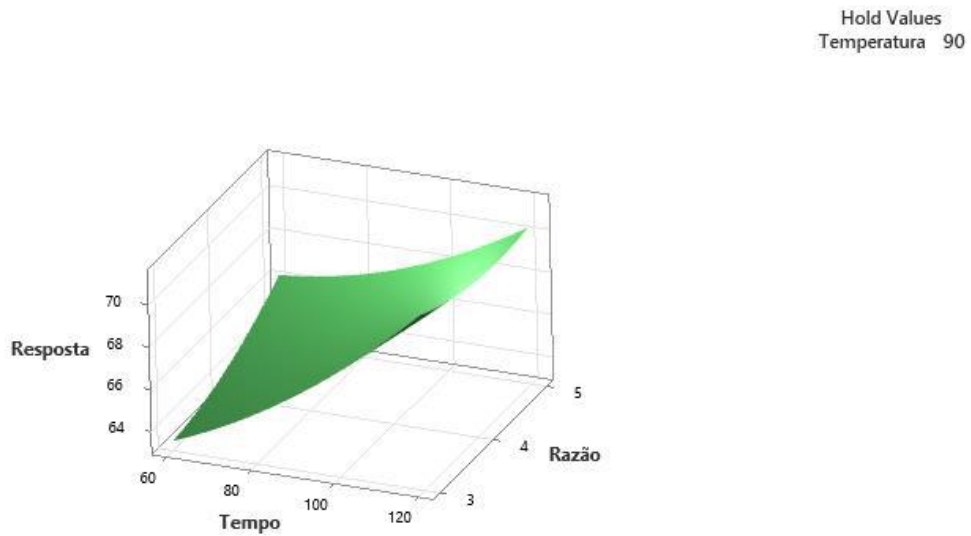
Fonte: O próprio autor

Figura 58. Gráfico de superfície temperatura-razão



Fonte: O próprio autor

Figura 59. Gráfico de superfície tempo-razão



Fonte: O próprio autor