UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Produção de biodiesel mediante o processo de Hidroesterificação da biomassa das microalgas *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata*.

Ángel Almarales Arceo

Orientadores: Prof. Dr. Donato A. G. Aranda Prof. Dr. Roberto T. Abdala Díaz

> Rio de Janeiro, Brasil Maio 2012

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

Produção de biodiesel mediante o processo de Hidroesterificação da biomassa das microalgas *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata*.

Ángel Almarales Arceo

Tese de Doutorado submetida ao Corpo Docente da Coordenação do Programa de Pós-graduação da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro como requisito parcial à obtenção do grau de Doutor em Ciências em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Orientadores: Prof. Dr. Donato A. G. Aranda Prof. Dr. Roberto T. Abdala Díaz

Produção de biodiesel mediante o processo de Hidroesterificação da biomassa das microalgas Scenedesmus dimorphus e Nannochloropsis oculata.

Ángel Almarales Arceo

Tese submetida ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Doutor.

Aprovada por:

Orientador Prof. Dr. Donato Alexandre Gomes Aranda

Prof. Dr. Roberto T Abdala Díaz

Prof. Dr. Luis Antonio d´Ávila

Profa. Dra. Andréa Medeiros Salgado

Profa. Dra. Roseli Martins de Souza

Dra. Yordanka Reyes Cruz

Dr. Nelson Furtado

Arceo, Ángel Almarales

Produção de biodiesel mediante o processo de Hidroesterificação da biomassa das microalgas *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata-*/Ángel Almarales Arceo-Rio de Janeiro-2012.

Tese (Doutorado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos). Universidade Federal do Rio de Janeiro-UFRJ, Escola de Química-EQ-2012.

XV, 204 f.:Il

Orientadores: Prof. Dr. Donato A. G. Aranda Prof. Dr. Roberto T. Abdala Díaz

1- Hidroesterificação da biomassa de microalgas. 2- *Scenedesmus dimorphus e Nannochloropsis oculata*. 3- Catalisadores heterogêneos. I. Aranda, Donato Alexandre Gomes (orientador), Abdala, Roberto T Díaz (orientador). II. Produção de biodiesel mediante o processo de Hidroesterificação da biomassa das microalgas *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata*

RESUMO

O processo de hidroesterificação para a produção de Biodiesel a partir de matérias-primas não convencionais, como a biomassa de microalgas, é aqui apresentado, uma vez que pode se tratar de alternativas sustentáveis, economicamente, ambientalmente e ecologicamente, para o derivado de petróleo (Diesel). O Biodiesel estudado neste trabalho é um dos principais produtos obtidos a partir da hidroesterificação da biomassa de microalgas (Scenedesmus dimorphus e Nannochlropsis oculata). O Biodiesel foi obtido a partir da esterificação dos ácidos graxos de Scenedesmus dimorphus e Nannochlropsis oculata (produto de uma reação de hidrólise) com metanol. Foram utilizados como catalisadores o óxido de nióbio em pó (Nb₂O₅, NP), óxido de nióbio suportado em alumina (Nb₂O₅/Al₂O₃, NS) e óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico (H₃PO₄/Nb₂O₅, NIF). Todos os materiais foram caracterizados através das seguintes técnicas: difratrometria de raios X, termogravimetria, volumetria de nitrogênio, quimissorção com amônia, espectroscopia IV, microscopia eletrônica de varredura. As reações foram conduzidas em um reator autoclave (batelada) devidamente fechado, onde os reagentes foram misturados sob agitação constante, sendo 700rpm para hidrólise e 500rpm para esterificação. Nas reações de hidrólise foram observados os efeitos da concentração de biomassa (5, 12.5 e 20%), da temperatura (250, 275 e 300°C) e da concentração de catalisador (0, 10 e 20%) sobre a conversão e a taxa inicial da reação. Nas reações de esterificação foram observados os efeitos da razão molar metanol/ácido graxo (1.2; 2.1 e 3), da temperatura (150, 175 e 200°C) e da concentração de catalisador (0, 10 e 20%) sobre a conversão e a taxa inicial da reação. Todos os dados foram observados segundo o planejamento experimental (fatorial 2³ com 3 pontos centrais) traçado e analisado pelo programa Statistic 6.0. As concentrações de ésteres foram monitoradas, nos tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos, por medidas titulométricas de acidez. Os produtos gerados foram submetidos a análises por cromatografia gasosa. As condições avaliadas como ótimas em termos de conversão (%) para as reações de hidrólise, para o NP (88.86%), para o NS (92.00%) e NIF (95.45%), foram observadas na concentração de biomassa 20%, conduzida a 300°C com 20% de catalisador e para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microlaga Nannochloropsis oculata com NP (86.03%), com NS (93.55) e com NIF (95.43%), foram observadas a razão molar metanol/ácido graxo 3, conduzida a 200°C com 20% de catalisador. O melhor desempenho catalítico foi obtido com o catalisador de óxido de nióbio impregado em ácido fosfórico, sendo coerente com os resultados das análises de acidez, empregando quimissorção com amônia. A qualidade do biodiesel sintetizado foi avaliada de acordo aos padrões de qualidade geralmente usados como referência, o padrão americano (ASTM) e o padrão europeo (EN14214). Além dos requerimentos da ANP. A maioria dos parâmetros ficou dentro dos limites impostos pelas normas (ASTM) e (EN 14214).

ABSTRACT

Hydroesterification process has been presented biodiesel production from no traditional raw materials, like microalgae biomass. This process can be treated as sustainable alternative, economically, environmentally and ecologically, for diesel from petroleum. Biodiesel studied in this work is the main product got from the biomassa hydroesterification (Scenedesmus dimorphus e Nannochlropsis oculata). Biodiesel was obtained from esterification of Scenedesmus dimorphus and Nannochlropsis oculata fatty acids (product of a hydrolysis reaction) with methanol. Were used as catalyst of niobium oxide powder (Nb₂O₅, NP), niobium oxide supported on alumina (Nb₂O₅/Al₂O₃, NS) and niobium oxide impregnated with phosphoric acid (H₃PO₄/Nb₂O₅, NIF). All materials were characterized through the following techniques: X-ray diffraction, thermogravimetry, nitrogen volumetry, ammonia chemisorption and scanning electron microscopy. The reactions were converted in an autoclave reactor properly closed, where the reagents were mixed under constant mix at 700rpm for hydrolysis and 500rpm for esterification. In the hydrolysis reactions, the effects of the biomass concentration (5, 12.5 and 20%), temperature (250, 275 and 300°C) and catalyst concentration (0, 10 and 20% w/w) over the conversion and the rate of the reaction were observed. All the data were treated according to experimental design (factorial 2³ with 3 central points) designed and analyzed by the program Statistic 6.0. The concentrations of ethers were monitored, in the times 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 and 60 minutes, as measured by acidity. The products were evaluated by gas chromatography. The optimum conditions found in the conversion (%) for the hydrolysis reactions of NP (88.86%), by NS (92.00%) and NIF (95.45%), were observed in the biomass concentration 20%, lead at 300°C with 20% of catalyst. For esterification of fatty acids of Nannochloropsis oculata with NP (86.03%), NS (93.55%) and NIF (95.43%), were observed the molar ratio methanol: fat acid 3, lead at 200°C with 20% of catalyst. The best catalytic performance was obtained with the niobium oxide impregnated with phosphoric acid, consistent with the results of acidity analyses employing ammonia chemisorptions teste. The quality of the biodiesel synthesized was tested according to the American Standard (ASTM), European Standard EN 14214 and the Braziliam norm ANP. Most of the parameters satisfied the limits imposed by the standards (ASTM) and EN 14214.

DEDICATORIA

A minha família, por toda a dedicação a minha educação e criação, por acreditarem nos meus sonhos, incentivando-me a não desistir deles, ficando sempre do meu lado e, principalmente por me amarem tanto!

AGRADECIMENTOS

- À minha família, por ter me dado todo amor e amizade que me fortaleceram até agora;
- Agradeço aos meus orientadores e professores: Donato Aranda e Roberto Abdala, pela orientação e dedicação em solucionar todas as dificuldades encontradas no decorrer da elaboração desta tese. Agradeço principalmente pela contribuição científica e profissional do professor Donato a meu país;
- Aos colegas, técnicos, técnicas, mestrandos e alunos do GREENTEC – Laboratório de Tecnologias Verdes, que além de me receberem com muito carinho me ajudaram na execução de análises técnicas utilizadas nesta tese;

Enfim, a todos aqueles que de alguma forma contribuíram para a realização deste trabalho, os meus sinceros agradecimentos.

EPIGRAFE

No começo havia microalgas, mas não havía petróleo. Então, das microalgas veio o petróleo. Hoje, as microalgas ainda estão aquí, mas o petróleo vai se esgotar rápido. No futuro não haverá petróleo, mas ainda haverá microalgas. Assím, não faz sentido verificar se podemos outra vez começar o petróleo a partir das microalgas? Isto é o que estamos tentando fazer: desenvolver o potencial de recomeçar a geração do petróleo a partir das microalgas.

LISTA DE ABREVIATURAS

NP	-	Nióbio puro
NS	-	Nióbio suportado
NIF	-	Nióbio impregnado em fosfórico
RM	-	Razão molar
С	-	Concentração do catalisador
Т	-	Temperatura
CB	-	Concentração de Biomassa
ASTM	-	Sociedade Americana de Testes e Materiais
EN	-	Norma europea
RANP	-	Resolução Agencia Nacional de Petróleo
DAG	-	Diacilglicerol
TGA	-	Triacilglicerol
SAFA	-	Ácidos Graxos Saturados
MUFA	-	Ácidos Graxos Moniinsaturados
PUFA	-	Ácidos Graxos Poliinsaturados
PNPB	-	Programa Nacional de Produção e uso de Biodiesel
CNPE	-	Conselho Nacional de Política Energética
TSS	-	Sólidos Totais Suspendidos
TG	-	Termogravimetria
DRX	-	Difração de raios-X
MEV	-	Microscopia Eletrônica de Varredura
PNPB	-	Programa Nacional de Produção e Uso de Biodiesel
BET	-	Brunauer-Emmett-Teller
CNH	-	Análise Elementar
LHHW	-	Mecanismo de Langmuir-Hinshelwood Hougen-Watson
ER	-	Mecanismo Elev-Rideal

CFPP - Ponto de entupimento de filtro a frio

INDICE DE FIGURAS

Figura 1.1- Figura 1.2-	Evolução do preço do barril de petróleo – em US\$ Esquema de produção de biodiesel a partir de microalgas combinado com o processo de	9
C	produção de açúcar	14
Figura 2.1-	Estrutura dos diferentes lipídeos encontrados nas microalgas	25
Figura 2.2-	Representação das vias metabólicas em algas verdes relacionadas à produção de	
	biocombustíveis. Fonte: Adaptado de Beer et al. (2009)	27
Figura 2.3-	Cultivos de microalgas em tanques de recirculação	33
Figura 2.4-	Sistemas de Cultivo de Algas em sistemas fechados em Almería, Espanha	35
Figura 2.5-	Sistemas de Cultivo de Algas em sistemas fechados em Israel	36
Figura 2.6-	Projeção de consumo do petróleo. Fonte: EPE	39
Figura 2.7-	Estimativa para a produção de biodiesel por microalgas. Fonte: Mata, 2009	42
Figura 2.8-	Consumo de Diesel e participação do biodiesel Fonte: EPE	43
Figura 2.9-	Desenho esquemático (a) e micrografia da microalga Scenedesmus dimorphus (b) Fonte:	
	Algae Resource Database	51
Figura 2.10-	Imagem ampliada da microalga Nannochloropsis oculata. Fonte: SOARES, 2010	52
Figura 2.11-	(a) Estrutura do H-Nb ₂ O _{5.} (losangos) NbO ₆ na forma octaedrica, (●) Nb em sítio tetraédrico,	
	(b) Projeção da estrutura paralela do T-Nb ₂ O ₅ no plano [001]; (O) oxigênio, (\circ, \bullet) Nb no sítio	
	tetraédrico. Fonte: NOWAK et al., 1999	55
Figura 2.12-	Estrutura do nióbio isopoliácido (H ₈ Nb ₆ O ₁₉). Fonte: USHIKUBO et al., 1996	56
Figura 2.13-	Superfície do óxido de nióbio mostrando a vacância do oxigênio. Fonte: USHIKUBO, 1996	57
Figura 2.14-	Natureza química e espécies nióbio na catálise heterogênea. Fonte: ZIOLEK, 2003	58
Figura 2.15-	Estruturas cristalinas da alumina. Fonte: CASTEL, 1990	64
Figura 2.16-	Classificação dos oxi-hidróxidos de alumínio. Fonte: CASTEL, 1990	65
Figura 2.17-	Superfície das aluminas antes (a) e após (b) a ativação segundo o Modelo de Peri, sendo que,	
	(+) denota uma subcamada de Al ³⁺ . Fonte: PERI, 1965	66
Figura 2.18-	Configurações do grupo OH na superfície da alumina com suas respectivas cargas residuais	
	(sOH), de acordo com o modelo de Knözinger- Ratnasamy. Fonte: CASTEL, 1990	67
Figura 2.19-	Configurações das hidroxilas na superfície de uma δ -alumina no modelo de Busca–Lorenzelli	<i>c</i> 0
	(B-L), com base nas freqüências dos estiramentos nOH. Fonte: LAMBERT <i>et al.</i> , 2000	68
Figura 2.20-	(a) Interação dipolo-dipolo entre as hidroxilas na g-alumina no modelo de Peri; (b) uma	
	representação da interação dipolo-dipolo na configuração geminal das nidroxitas	60
Eigung 2 21	negligenciada no modelo 1-M. Fonte: LAMBERT <i>et al.</i> , 2000	00
Figura 2.21-	Us tres tipos de estado da superfície de uma gibsita. Fonte: YANG <i>et al.</i> , 2007	09
Figura 2.22-	CHISTI, 2008, SCHENK <i>et al.</i> , 2008.	78
Figura 2.23-	Processo de Hidroesterificação	90
Figura 2.24-	Fluxograma do Processo de Hidroesterificação. Tecnologia USDA	84
Figura 2.25-	Área total para uma planta de produção de biodiesel (Hidroesterificação)	85
Figura 2.26-	Variação da temperatura da terra: 1000-2100. Fonte: (PORTAL IPCC)	86
Figura 2.27-	Projeção da mudança da temperatura na superfície terrestre. Fonte: (PORTAL IPCC)	87
Figura 2.28-	Esquema geral do conceito de uma Biorrefinaria Aquática. Fonte: REE e ANNEVELINK, 2007	90
Figura 3.1-	Reator autoclave	94
Figura 3.2-	Cultivador de filme descendente utilizado no cultivo de Scenedesmus dimorphus	95
Figura 3.3-	Fotobioreator utilizado no cultivo de Nannochloropsis oculata	95
Figura 3.4-	Pasta resultante após a centrifugação (a) e alga liofilizada (b)	96
Figura 3.5-	Metodologia geral de obtenção do concentrado de ácidos graxos	101
Figura 4.1-	Termogramas sobrepostas dos catalisadores usados	113

Figura 4.2-	Difratograma do óxido de nióbio calcinado a 300 °C/ 2 horas	114	
Figura 4.3-	Difratogramas de raios X das misturas de óxido de nióbio e óxido de Alumínio calcinado a		
e	300 °C/2 horas	114	
Figura 4.4-	Difratograma de Raios X do H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅	115	
Figura 4.5-	Espectro de IV do Nb ₂ O ₅	116	
Figura 4.6-	Espectro de IV do 20% Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₂	116	
Figura 4.7-	Espectro de IV do H_2PO_4/Nb_2O_5	117	
Figura 4.8-	a) Micrografia eletrônica de varredura do catalisador Nb ₂ O ₅ : Espectro do mapeamento na		
8	linha K α do Nh. O e C existentes na: c) região 1 d) região 2	118	
Figura 4 9-	Micrografias eletrônicas de varredura do catalisador Nb ₂ O ₅ após hidrólise da biomassa de S		
i iguiu ii>	Dimorphus e N $Oculata$	118	
Figura 4 10-	Microscopia e maneamento do catalisador Nb $_{2}O_{2}/Al_{2}O_{2}$ por EDS	120	
Figura 4.10-	Microscopia e mapeamento do ácido fosfórico suportado em nióbio por EDS	120	
Figura 4.17-	Isotermas de adsorção-dessorção do óxido de nióbio	120	
Figura 4.12-	Distribuição de poros do óxido de nióbio por adsorcão de nitrogênio	121	
Figura 4.15	Isotermas de adsorcão-dessorcão das misturas óxido de nióbio-alúminas preparadas com	14	
1 Iguia 4.14-	diferentes teores de nióbio	123	
Figure 4 15	Distribuição de poros des misturas nicíbio alúmina preparadas com diferentes teores de	1 44	
11guia 4.15-	nichio	122	
Figure 4 16	litobio	122	
Figure 4.10-	Distribuição da poros do óvido da pióbio impregnado com ácido fosfórico.	12.	
Figura 4.17-	Crometograme de élec de Nannechleronsis equilata	12.	
Figura 4.16-	Cromatograma da biomassa da Nannochlaronsis oculata após bidrálisa a avtração con	12.	
Figura 4.19-	cionatogrania da biomassa de <i>Nunnochtoropsis oculata</i> apos indionise e extração con	12	
Eigenera 4 20	nexano.	120	
Figura 4.20-	Cromatograma dos acidos graxos oblidos da midronse in situ da <i>Scenedesmus atmorphus</i> .		
	Identificação: C 12:0 (8.55 min), C14:0 (10.07 min), C10:0 (25.22 min), C10:1 (28.70 min), C18:0 (46.00 min), C18:1 (50.28 min), C18:2 (58.50 min), C18:2 (60.28 min)	100	
E'	C18:0 (46.09 min), $C18:1$ (50.28 min), $C18:2$ (58.50 min), $C18:3$ (60.28 min)	120	
Figura 4.21-	Sequencia de trabalho para a obtenção de acidos graxos: (a) produto apos hidrolise, (b)	12	
F : (22	extração com hexano, (c) evaporação do solvente, (d) concentrado de acidos graxos	13	
Figura 4.22-	Grafico de valores observados versus preditos para a hidrolise da biomassa de <i>N.oculta</i> com	10	
F : (2 2	Nb ₂ O ₅	134	
Figura 4.23-	Gráfico de valores observados versus preditos para a hidrólise da biomassa de <i>N.oculta</i> com		
	Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	134	
Figura 4.24-	Gráfico de valores observados versus preditos para a hidrólise da biomassa de N.oculta com		
	H_3PO_4/Al_2O_3	134	
Figura 4.25-	Superfície de resposta da hidrólise da biomassa de Nannochloropis oculata, utilizando		
	catalisador Nb ₂ O ₅ . a) Conv vs T,CB b) Conv vs C,CB c) Conv vs C,T	135	
Figura 4.26-	Superfície de resposta da hidrólise da biomassa de Nannochloropis oculata, utilizando		
	catalisador Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃ . a) Conv vs T,CB b) Conv vs C,CB c) Conv vs C,T	135	

Figura 4.27-	Superfície de resposta da hidrólise da biomassa de Nannochloropis oculata, utilizando
	catalisador H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅ . a) Conv vs T,CB b) Conv vs C,CB c) Conv vs C,T 136
Figura 4.28-	Avaliação do efeito da temperatura na hidrólise da biomassa de N. oculata (CB5) 137
Figura 4.29-	Avaliação do efeito da temperatura na hidrólise da biomassa de N. oculata (CB20) 137
Figura 4.30-	Avaliação do efeito dos catalisadores na hidrólise da biomassa de N. oculata (CB5/T250) 138
Figura 4.31-	Avaliação do efeito dos catalisadores na hidrólise da biomassa de N. oculata (CB5/T300) 138
Figura 4.32-	Avaliação do efeito dos catalisadores na hidrólise da biomassa de N. oculata (CB20/T250) 138
Figura 4.33-	Avaliação do efeito dos catalisadores na hidrólise da biomassa de N. oculata (CB20/T300) 138
Figura 4.34-	Avaliação do efeito da CB na hidrólise da biomassa de <i>N. oculata</i> (C0)
Figura 4.35-	Avaliação do efeito da CB na hidrólise da biomassa de <i>N. oculata</i> (C20NP)
Figura 4.36-	Avaliação do efeito da CB na hidrólise da biomassa de <i>N. oculata</i> (C20NS)
Figura 4.37-	Avaliação do efeito da CB na hidrólise da biomassa de <i>N. oculata</i> (C20NIF)
Figura 4.38-	Gráfico de valores observados versus preditos para a esterificação dos ácidos graxos de
C	<i>N.oculata</i> com NP
Figura 4.39-	Gráfico de valores observados versus preditos para a esterificação dos ácidos graxos de
8	N oculata com NS
Figura 4 40-	Gráfico de valores observados versus preditos para a esterificação dos ácidos graxos de N
i iguiu 1.10	<i>aculata</i> com óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico
Figura 4 41-	Superfície de resposta da esterificação dos ácidos gravos de Nannochloronis oculata
1 Igula 4.41-	utilizando cotalicador Nh Q a) Cony ve PM Th) Cony ve T C a) Cony ve C PM
Eiguro 4 42	Superfície de respecte de esterificação des écidos graves de Nannochlavonis equilata
Figura 4.42-	superficie de resposta da esterificação dos acidos graxos de <i>Natinocidoropis oculata</i> , utilizendocetelisedor Nh O (A1 O c) Convus DM T h) Convus T C c) Convus C DM 142
Eiguro 4 42	utilizandocatalisadol N0 ₂ 0 ₅ /Al ₂ 0 ₃ a) Colly vs Kivi,1 b) Colly vs 1,C C) Colly vs C, Kivi
Figura 4.45-	superficie de l'esposia da esterificação dos acidos graxos de <i>Natinocidoropsis oculara</i> , utilizendo estelicador Nh O (H DO a) Conv ve DM T h) Conv ve T C a) Conv ve C DM 144
Eiguno 4 44	utilizatido catalisador NO_2O_5/H_3PO_4 . a) Collv vs Rivi, I d) Collv vs I, C c) Collv vs C, Rivi 144
Figura 4.44-	Avanação do ereno da temperatura na esternicação dos acidos graxos de <i>N. oculdia</i>
Eigung 4 45	(KMI1.2/CU)
Figura 4.45-	Avanação do eleito da temperatura na esternicação dos acidos graxos de N . <i>oculata</i>
Element 4.46	(KNI3/CU)
Figura 4.40-	Avanação do efeito dos catansadores na esterificação dos acidos graxos de <i>IV. oculata</i> (RM
E' 4 47	1.2/1150)1111111111111111111111111111111
F1gura 4.4/-	Avaliação do efeito dos catalisadores na esterificação dos acidos graxos de <i>N. oculata</i> (RM
E' 4.40	1.2/1200)146
Figura 4.48-	Avaliação do efeito dos catalisadores na esterificação dos acidos graxos de N. oculata (RM
E' 4.40	3/1150
F1gura 4.49-	Avaliação do efeito dos catalisadores na esterificação dos acidos graxos de <i>N. oculata</i> (RM
D : 4.50	3/1200)
Figura 4.50-	Avaliação do efeito da razao molar na esterificação dos acidos graxos de <i>N. oculata</i> (CO) 14/
Figura 4.51-	Avaliação do efeito da razao molar na esterificação dos acidos graxos de <i>N. oculata</i>
	(C20NP)
Figura 4.52-	Avaliação do efeito da razão molar na esterificação dos ácidos graxos de N. oculata
	(C20NS)
Figura 4.53-	Avaliação do efeito da razão molar na esterificação dos ácidos graxos de N. oculata
	(C20NIF)
Figura 4.54-	Curvas de avanço das reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga
	Nannochloropsis oculata com os catalisadores utilizados
Figura 4.55-	Constantes cineticas da reação modelada pelo mecanismo de Eley Rideal (ER) 152
Figura 4.56-	Constantes cineticas da reação modelada pelo mecanismo de LHHW 152
Figura 4.57-	Correlação entre as constantes cinéticas k e a conversão da hidrólise dos ácidos
	graxos da microalga Nannochloropsis oculata

INDICE DE TABELAS

Tabela 1.1-	Comparação de algumas fontes de biodiesel. Fonte: CHISTI, 2007 1		
Tabela1.2-	Eficiência fotossintética das microalgas. Fonte: Adaptado de Miguel Gutierrez, 2009		
Tabela 1.3-	Sequestro de carbono por microalgas. Fonte: FUPEF, 2009		
Tabela 1.4-	Fontes de Produção de oxigênio na natureza. Fonte: MARGALEF, 2009		
Tabela 1.5-	Conteúdo de óleo de algumas microalgas. Fonte: CHISTI, 2007 14		
Tabela 1.6-	Composição química do óleo de algumas microalgas		
Tabela 2.1-	Alguns produtos obtidos de microalgas. Fonte: BARBOSA, 2003		
Tabela 2.2-	Composição química de algumas microalgas. Fonte: BECKER, 1994		
Tabela 2.3-	Conteúdo lipídico e produtividade de diferentes espécies de microalgas. Fonte: CHISTI 2007; MENG <i>et al.</i> , 2009: RODOLEI <i>et al.</i> , 2009: MATA <i>et a</i>], 2010		
Tabela 2.4-	Comparativo entre os dos principais sistemas de produção de microalgas. Fonte: ADAPTADO DE PULZ (2001): MATA, (2010)		
Tabela 2.5-	Comparação entre fotobiorreatores e tanques de recirculação. Baseado em: Biodiesel from Microalgae (CHISTI 2007)		
Tabela 2.6-	Comparação das propriedades do biodiesel do óleo de microalga, diesel convencional e padrão ASTM para biodiesel		
Tabela 2.7-	Comparação entre diferentes fontes de matéria-prima para a produção de biodiesel e superfície necessária para a produção Fonte: HERNANDES <i>et al.</i> 2009; CHISTI 2007 4		
Tabela 2.8-	Composição típica das microalgas <i>Scenedesmus dimorphus</i> e <i>Nannochloropsis oculata</i> . Fonte: BECKER, 1994, BILLER, 2011		
Tabela 2.9-	Espécies de nióbia aguoso na faixa de pH de 14.5 a 0.55. Fonte: NOWAK <i>et al.</i> 1999		
Tabela 2.10-	Procedimento de extração e rendimento de extração de algumas microalgas		
Tabela 2.11-	Composição da fração lipídica das microalgas de acordo com o solvente extrator. Fonte: MOLINA et al 1999		
Tabela 2.12-	Momento dipolar e constante dielétrica de alguns solventes. Fonte: SOLOMONS 2005		
Tabela 3.1-	Níveis para o planejamento fatorial 2^3 - Processo de Hidrólise		
Tabela 3.2-	Níveis para o planejamento fatorial 2^3 - Processo de Esterificação		
Tabela 3.3-	Matriz de planejamento fatorial 2^3 para as reações de Hidrólise da biomassa algal 10		
Tabela 3.4-	Matriz de planejamento fatorial 2 ³ para as reações de Esterificação dos ácidos graxos de microalgas		
Tabela 3.5-	Força Motriz 11		
Tabela 3.6-	Determinação do Termo de adsorção geral: $(1+K_AP_A+K_BP_B+K_RP_R+K_SP_S+K_TP_T)^n$		
Tabela 3.7-	Fator Cinético (f _c) 112		
Tabela 3.8-	Expoente de adsorção (n) 112		
Tabela 4.1-	EDS do óxido de nióbio 11		
Tabela 4.2-	Composição elementar das biomassas sobre diferentes tratamentos 11		
Tabela 4.3-	Volumetria de nitrogênio e quimissorção de amônia para os catalisadores estudados 12-		
Tabela 4.4-	Composiçao bioquímica das matérias primas 12		
Tabela 4.5-	Composição dos ácidos graxos (%) presentes nos óleos de Scenedesmus e Nannochloropis,		
Tabela 4.6-	determinados por cromatografia gasosa		
Tabela 4.7-	Composição dos ácidos graxos presentes na microalga <i>Scenedesmus dimorphus</i> a diferentes temperaturas e concentração de biomassa 20%.		
Tabela 4.8-	Resultados do planejamento fatorial 2 ³ para as reações de hidrólise da biomassa de <i>Nannochloropsis oculata</i> com NP (Nb ₂ O ₅)		
Tabela 4.9-	Resultados do planejamento fatorial 2^3 para as reações de hidrólise da biomassa de <i>Nannochloropsis oculata</i> com NS (Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃)		
Tabela 4.10-	Resultados do planejamento fatorial 2^3 para as reações de hidrólise da biomassa de Nannochloropsis oculata com NIF (H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅)		
Tabela 4.11-	Efeitos das interações nas reações de hidrólise da biomassa de Nannochloropsis oculata 133		
Tabela 4.12-	Modelos de regressão para as reações de hidrólises da biomassa de <i>N.oculata</i>		

Resultados do planejamento fatorial 2 ³ para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga <i>Nannochloropsis oculata</i> com NP	140
Resultados do planejamento fatorial 2 ³ para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga <i>Nannochloropsis oculata</i> com NS.	140
Resultados do planejamento fatorial 2 ³ para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga <i>Nannochloropsis oculata</i> com NIF.	141
Efeitos das interações nas reações de esterificação dos ácidos graxos de <i>Nannochloropsis</i>	
oculata	141
Modelos de regressão para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga	
Nannochloropsis oculata	141
Resultados experimentais do estudo cinético com o catalisador Nb ₂ O ₅	148
Resultados experimentais do estudo cinético com o catalisador Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	148
Resultados experimentais do estudo cinético com o catalisador H_3PO_4/Nb_2O_5	148
Equações das constantes k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , k_5 e k_6 para cada modelo assumido	150
Resultados do estudo cinético da esterificação dos ácidos graxos da microalga	
Nannochloropsis oculata. Constante de velocidade k, mol/ gcat min	151
Resultados da caracterização do biodiesel	163
	Resultados do planejamento fatorial 2^3 para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga <i>Nannochloropsis oculata</i> com NP

SUMARIO

INDICE DE FIGURAS	••••
INDICE DE TABELAS	
CAPITULO 1 INTRODUCÃO	
1 1 IUSTIFICATIVA	•••
1 2 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS	
1 3 ESTRUTURA DO TRABALHO	,
CAPITILO 2 DEVISSÃO RIBLIOCE A FICA	•••••
2 1 CONSIDED & CÕES GED AIS SORDE AS ADI ICA CÕES DIOTECNOI ÓGICAS	••••
DAS MICROALGAS	
2.2 CLASSIFICAÇÃO DAS MICROALGAS	
2.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA	
2.3.1 Composição da fração lipídica de microalgas	
2.4 AMBIENTES DE CRESCIMENTO	
2.5 SISTEMA DE CULTIVOS DE MICROALGAS	
2.5.1 Sistemas abertos "tanques de recirculação"	••••
2.5.2 Sistemas fechados "fotobiorreatores"	
2.6 MICROALGAS COMO MATERIA PRIMA PARA BIOCOMBUSTIBLES:	
IMPORTANCIA NO CENARIO ATUAL	
2.7 MICROALGAS COMO MATERIA-PRIMA PARA A PRODUÇÃO DE	
BIODIESEL	•••••
2.8 MATÉRIA-PRIMA: ESPÉCIES DE MICROALGAS PROPOSTAS	
2.8.1 Scenedesmus dimorphus	
2.8.2 Nannochloropsis oculata	
2.9 CATALISADORES SÓLIDOS ÁCIDOS A BASE DE ÓXIDO DE NIÓBIO	
2.9.1 Catalisador de óxido de nióbio. Conceitos fundamentais referentes ao nióbio.	•••
2.9.1.1 As reservas de nióbio e suas aplicações	•••
2.9.1.2 Estrutura da nióbia	•••
2.9.1.3 Propriedades ácidas da nióbia	•••
2.9.1.4 Aplicações catalíticas da nióbia	•••
2.9.2 Considerações sobre a alumina	••
2.9.2.1 Informações gerais	
2.9.2.2 Morfologia da alumina	•••
2.9.2.3 Aplicações catalíticas	••••
2.9.3 Considerações sobre o óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico	•••
2.10 EXTRAÇÃO DE ÓLEO DAS MICROALGAS.	
2.11 TECNOLOGIAS DE OBTENÇÂO DE BIODIESEL A PARTIR DE	
MICROALGAS	
2.11.1 Transesterificação in situ	•••••
2.11.2 Liquefação	••••
2.11.3 Hidroesterificação	
2.12 VANTAGENS AMBIENTAIS, TECNOLÓGICAS, SOCIAIS E ECONÔMICAS	
2.12.1. Aspecto ambiental	••••
2.12.2 Aspecto tecnológico	••••
2.12.3 Aspecto social	
2.12.4 Aspecto econômico	••••
2.13 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL DE MICROALGAS	
2.13 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL DE MICROALGAS CAPITULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS	
2.13 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL DE MICROALGAS CAPITULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS	••••
2.13 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL DE MICROALGAS CAPITULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS	••••
2.13 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL DE MICROALGAS CAPITULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS 3.1 MATERIAIS 3.2 MATERIAS PRIMAS 3.3 OBTENCÃO DA BIOMASSA ALGAL	••••
2.13 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL DE MICROALGAS CAPITULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS 3.1 MATERIAIS 3.2 MATERIAS PRIMAS 3.3 OBTENÇÃO DA BIOMASSA ALGAL 3.4 PREPARAÇÃO DOS CATALISADORES	•••• ••••
 2.13 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL DE MICROALGAS CAPITULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS	•••• •••• •••

3.5.2. Termogravimetria
3.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)
3.5.4 Difratometria de Raios X (DRX)
3.5.5 Volumetria de nitrogênio
3.5.6 Quimissorção de amônia
3.6 HIDRÓLISE DA BIOMASSA ALGAL- OBTENÇÃO DO CONCENTRADO DE
ÁCIDOS GRAXOS
3.6.1 Purificação do "concentrado de ácidos graxos" da microalga Nannochloropsis
oculata
3.7 ESTERIFICAÇÃO-GERAÇÃO DE ÉSTERES METÍLICOS
3.8 MÉTODOS ANALÍTICOS
3.8.1 Determinação do conteúdo de lipídeos totais
3.8.2 Determinação percentual de ácidos graxos livres
3.8.3 Determinação do índice de acidez – Titulometria de Neutralização
3.8.4 Análise Elementar
3.9 CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL
3 10 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTADÍSTICA
3 10 1 Matriz de planejamento
3 10 2 Análise estatística do planejamento
3 11 MODEL AGEM CINÉTICA DA REACÃO
$\mathbf{DITII} \mathbf{O} \mathbf{I} \mathbf{DESUI} \mathbf{T} \mathbf{A} \mathbf{D} \mathbf{O} \mathbf{S} \mathbf{E} \mathbf{D} \mathbf{S} \mathbf{O}$
A 1 ANÁLISES TÉDMICA
4.1 ANALISES TERMICA
4.2 DIFKATOWETKIA DE KAIOS A
4.5 CARAC I ERIZAÇAO MEDIAN I E INFRA VERMELHO (IV)
4.4 MICKOSCOPIA ELEI KONICA DE VARREDURA (MEV)
4.5 CARACTERIZAÇÃO POR VOLUMETRIA DE NITROGENIO
4.6 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL
4.7 CARACTERIZAÇÃO QUIMICA DA BIOMASSA DE Scenedesmus dimorphus
Nannochloropsis oculata
4.8 HIDROLISE E ESTERIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE Scenedesmus dimorphus
4.8.1 Hidrolise da biomassa de Scenedesmus dimorphus
4.8.2 Perfil de ésteres metilicos.
4.9 HIDROESTERIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE Nannochloropsis oculata
4.9.1 HIDROLISE DA BIOMASSA DE Nannochloropsis oculata
4.9.1.1 Matriz de planejamento
4.9.1.1.1 Análise estatística do planejamento
4.9.1.1.1.1 Influência da temperatura (T)
4.9.1.1.1.2 Influência da concentração de catalisador (C)
4.9.1.1.1.3 Influência da concentração de biomassa (CB)
4.9.2 ESTERIFICAÇÃO
4.9.2.1 Matriz de planejamento
4.9.2.1.1 Análise estatística da reação
4.9.2.1.1.1 Influência da temperatura (T)
4.9.2.1.1.1.2 Influência da concentração de catalisador (C)
4.9.2.1.1.1.3 Influência da razão molar metanol/ácido graxo (RM)
4.10 MODELAGEM CINÉTICA
4.10.1 Determinação das constantes cinéticas
4.11 CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL DA MICROALGA Nannochloropsis
oculata
4.11.1 Glicerina livre e total
4.11.2 Teor de éster
4.11.3 Ponto de fulgor
4.11.4 Teor de metanol e etanol
4.11.5 Densidade
4.11.6 Viscosidade cinemática a 40 °C

4.11.7 Índice de iodo	159
4.11.8 Ponto de entupimento de filtro á frio	159-161
4.11.9 Estabilidade à oxidação a 110 °C	161-162
4.11.10 Água e sedimentos.	162
4.11.11 Índice de acidez	162
CAPITULO 5 CONCLUSSÕES	164-166
CAPITULO 6 SUGESTÕES	167
CAPITULO 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	168-195

CAPITULO 1 INTRODUÇÃO 1.1 JUSTIFICATIVA

O esgotamento das reservas mundiais de combustíveis fósseis em associação com o aumento dos preços destes (> US\$135/barril em julho de 2008) Figura 1.1, atingiram o setor de energia e produção do Brasil, provocou um debate sobre o investimento em pesquisa e desenvolvimento de novas fontes de energia para diversificar a matriz energética de Brasil. No entanto, outros fatores podem haver estimulado este fenômeno, como: o estabelecimento de um preço para o CO_2 de origem industrial derivados das medidas para reduzir as emissões de gases de efeito estufa, a instabilidade no preço do petróleo e o fato de contar com novas matérias primas que não comprometam a produção de alimentos.



Figura 1.1- Evolução do preço do barril de petróleo-em US\$

Nesse sentido, uma das possíveis fontes de energia renováveis são os biocombustíveis (biodiesel e bioetanol), a partir de microalgas. As microalgas apresentam características promissoras como matéria-prima potencial para a produção de biocombustíveis, especialmente o biodiesel, considerando que desde a década de 50 (Primeiro projeto da cultura de massa no MIT. E.U.A.) e oficialmente desde os anos 70 (Programa de Espécies Aquáticas: Biodiesel a partir de algas. NREL. E.U.A.) e até a data, continua-se constantemente trabalhando em diferentes países (E.U.A., Israel, Espanha, Nova Zelândia, Austrália, Alemanha, Holanda, etc.) para aperfeiçoar os benefícios e minimizar os inconvenientes associados à produção de biocombustíveis usando algas como matéria-prima. Atualmente, países com economias emergentes como a China e Índia trabalham no desenvolvimento de tecnologias para a produção e comercialização de biodiesel de

microalgas, conscientes de que as atuais fontes não subministraram a energia requerida para o crescimento econômico planificado (KHAN, 2009; LI, 2011).

Ainda com todas estas vantagens, falta muito por fazer neste tema como reiteram os renomados pesquisadores Yusuf Chisti e John R. Benemann relacionados a necessidade de novos trabalhos sobre engenharia genética e engenharia metabólica em fotobiorreatores para reduzir os custos de produção. Eles mencionaram que os custos de cultivo de microalgas em diferentes desenhos (reatores de realimentação rápida) são relativamente maiores do que em tanques de recirculação. No entanto, eles também indicam que a biomassa produzida comparativamente em reatores de realimentação rápida é 3-5 vezes maior e livre de contaminação que nos tanque de recirculação. Portanto, um alto investimento inicial para reatores de realimentação rápida poderia ser recuperado durante um período definido de tempo, dependendo dos objetivos da produção, especialmente considerando que a maioria desses projetos em escala industrial (ainda pilotos) estão estrategicamente desenhados para aproveitar os co-produtos resultantes de outros processo tecnológicos (por exemplo, absorver o CO_2 emitido por algumas industrial) e os subprodutos da biomassa restante (por exemplo, o bioetanol, pigmentos, proteínas, vitaminas, aminoácidos essenciais), operando sob o modelo de biorrefinaria.

O combustível denominado biodiesel apresenta vantagens quanto à produção e utilização já conhecidas. Estas vantagens poderão ser ampliadas, pelo aproveitamento da grande biodiversidade que o país apresenta, pois as muitas espécies de microalgas que podem ser usadas para produzir biodiesel. Essa diversificação pode garantir a continuidade da produção de biodiesel especialmente por fazer a salvaguarda de quebras de safra, perdas sazonais, etc.

Como matérias-primas para a produção de biodiesel, vêm sendo empregadas espécies vegetais; porém, como as microalgas já demonstraram potencialidades para a produção de biodiesel, e várias vantagens em relação aos vegetais superiores, deveriam ser consideradas como possíveis fontes de matéria-prima. O cultivo de microalgas para a produção de biomassa é largamente aceito como uma provável opção ecocompatível para a geração de biocombustíveis.

Levando-se em conta todos os óleos combustíveis consumidos como biodiesel nos Estados Unidos, serão necessários 0.53 bilhões m³ de biodiesel anualmente de acordo com o consumo atual. Óleos de culturas, óleos residuais de cozinha e gorduras animais não podem realisticamente satisfazer a demanda (CHISTI, 2007). Claramente, cultura de oleaginosas não podem substituir eficientemente os combustíveis derivados de petróleo no futuro. Este cenário muda dramaticamente se microalgas são usadas para produzir biodiesel (CHISTI, 2007); segundo ele, entre 1 e 3% da área de cultivo nos Estados Unidos, seriam suficientes para produzir biomassa algal que satisfizesse 50% do óleo combustível necessário.

Os rendimentos de óleo de microalgas apresentados na Tabela 1.1 são baseados na produtividade de biomassa obtida em fotobiorreatores. O rendimento de biodiesel por hectares é de cerca de 80% do rendimento dos óleos originados de culturas oleaginosas, conforme dados apresentados na mesma tabela.

CULTURA	RENDIMENTO DE ÓLEO (L/ha)	ÁREA NECESSÁRIA PARA CULTIVO (ha)
Milho	172	1540
Soja	446	594
Cânola	1190	223
Côco	2689	99
Palma	5950	45
Microalgas	136,92	2

Tabela 1.1- Comparação de algumas matérias primas usadas para produzir biodiesel.

Fonte: CHISTI, 2007.

Atualmente as microalgas têm sido investigadas para produzir diferentes biocombustíveis incluindo biodiesel, bio-óleo, biogás de síntese e bio-hidrogênio. As vantagens da utilização de microalgas são as seguintes (BRENNAN e OWENDE, 2010):

- a) São consideradas como um sistema biológico muito eficiente para a coleta de energia solar para a produção de componentes orgânicos; (Tabela 1.2).
- b) podem produzir durante todo o período do ano;
- c) embora crescem em meio aquoso, precisam de menos água do que plantas terrestres, portanto, reduzem a carga sobre as fontes de água doce;
- d) Seu cultivo pode ser feito em água marítima ou salobra e em terras não usadas na agricultura e, portanto, não incorre na degradação dos solos, minimizando os impactos ambientais associados, ao mesmo tempo em que não comprometem a produção de alimentos, forragens e outros produtos derivados de culturas;
- e) Logo, é preferível que as biomassas utilizadas proporcionem uma ótima produtividade em lipídeos e com o uso de uma menor superfície do terreno;
- f) muitas espécies apresentam teor de óleo na faixa de 20-50% do peso de biomassa seca;
- g) têm um potencial de crescimento rápido, sendo capaz de dobrar sua biomassa em períodos tão curtos quanto 3.5h;

- h) as microalgas são as principais responsáveis pela absorção do CO₂ atmosférico nos oceanos (BORGES, 2007). Conforme pode ser observado na Tabela 1.3, as microalgas têm capacidade de absorver até 15 vezes mais CO₂ que as florestas. Uma parte do CO₂ absorvido é transferida para o fundo oceânico num processo conhecido como "bomba biológica" (LALLI, 1993; BORGES, 2007). Desta forma, o seqüestro de carbono poderia impedir que o acúmulo de gases do efeito estufa fosse ainda maior. A biofixação de CO₂ usando organismos fotossintéticos parece ser o caminho para frear os efeitos do aquecimento global (DEMIRBAS, 2011).
- i) em relação à manutenção e melhoria da qualidade do ar, a produção de biomassa de microalgas pode produzir mais da metade do oxigênio da natureza (Tabela 1.4).
- j) nutrientes para o cultivo de microalgas (especialmente nitrogênio e fósforo) podem ser obtidos a partir de águas residuais, tendo neste caso dupla funcionalidade: captura de CO₂ e tratamento de efluentes; além de se poder fazer reciclagem dos mesmos (RÖSCH, 2012; WU, 2012).
- k) o cultivo de algas não exige a aplicação de herbicidas ou pesticidas;
- podem produzir uma série de outros produtos valiosos além do óleo, tais como proteínas e carboidratos que podem ser utilizados como alimento para animais ou fertilizantes, ou fermentados para produzir etanol, metanol, ou outros produtos com maior valor agregado;
- m) sua composição bioquímica pode ser modulada por diferentes condições de crescimento, sendo induzidas a produzirem altas concentrações de componentes de grande importância comercial e o rendimento de óleo pode ser significativamente melhorado (HUANG, 2010);
- n) tem capacidade fotobiológica de produzir bio-hidrogênio.

	PRODUÇÃO DE BIOMASSA (t há ⁻¹ ano ⁻¹)	EFICIÊNCIA FOTOSSINTÉTICA (%)
Ecossistema terrestre	6	0.15
Ecossistema aquático	3	0.07
Florestas	10-40	0.25-1
Culturas agrícolas	20	0.5
Milho (grão)	15	0.4
Milho (planta)	50	1.2
Cana de açúcar	60	1.5
Microalgas	>100	> 2.5

 Tabela 1.2- Eficiência fotossintética das microalgas.

Fonte: Adaptado de Miguel Gutierrez, 2009.

ESPÉCIE DE MICROALGA	PRODUTIVIDADE DE CARBONO (t há ⁻¹ ano ⁻¹)	CO ₂ EQUIVALENTE (t há ⁻¹ ano ⁻¹)
Chlorella sp	182	667.94
Spirulina sp	107	392.69
Scenedesnus oblíquos	102.7	376.91
Spirulina platensis	44	161.48
Botryococcus braunni	42.80	157.08
Nannochloropsis oculata	32	117.44
Tetraselmis strain	27.37	100.45

 Tabela 1.3- Seqüestro de carbono por microalgas

Fonte: FUPEF, 2009.

Tabela 1.4- Fonter	de Produção de o	oxigênio na natureza
	3	0

ORIGEM	PRODUÇÂO (%)
Bosques e florestas	24.9
Estepes, campos e pastos	9.1
Áreas cultivadas	8.0
Regiões desérticas	3.0
Árvores (total)	45
Algas marinhas	54.7
Algas de água doce	0.3
Algas (total)	55

Fonte: MARGALEF, 2009.

Considerando-se que as microalgas crescem extremamente rápido e que algumas espécies são muito ricas em óleo, elas parecem ser a fonte potencial de biodiesel capaz de substituir completamente o diesel fóssil. As microalgas praticamente dobram e algumas vezes até triplicam sua biomassa em 24 horas. Durante a fase exponencial de crescimento, o tempo de duplicação da biomassa é de praticamente 3.5 h.

O conteúdo de óleo das microalgas pode exceder 80% do peso seco da biomassa (SPOLAORE *et al.*, 2006). Níveis de óleo de 20-50% são comuns (Tabela 1.5). A produtividade de óleo que é definida como a massa de óleo produzida por unidade de volume da cultura de microalgas/dia, depende da taxa de crescimento algal e do conteúdo de óleo da biomassa. Microalgas com alta produtividade de óleo são ideais para a produção de biodiesel (CHISTI, 2007). Dependendo da espécie, as microalgas produzem diferentes tipos de lipídios, hidrocarbonetos e outros lipídios complexos (BANERGEE *et al.*, 2002; METZGER & LARGEAU, 2005; GUSCHIMA & HARWOOD, 2006; BUCY *et al.*, 2012).

Potencialmente, o óleo produzido de organismos heterotróficos, em vez de microalgas, crescendo em uma fonte natural de carbono orgânico tal como açúcar, pode ser usado para fazer

biodiesel (RATLEDGE & WYNN, 2002). Entretanto, produção heterotrófica não é tão eficiente quanto à produzida por microalgas que são organismos fotossintetizantes (TABERNERO, 2011).

A produção de óleo a partir de microalgas é uma atividade de alto custo, podendo ter seu custo reduzido ao se usar um meio de cultivo de baixo custo, bem como uma fonte de CO_2 resultante do processo de fermentação da cana-de-açúcar (Figura 1.2) (LOHREY, 2012).



Figura 1.2- Esquema de produção de biodiesel a partir de microalgas combinado com o processo de produção de açúcar. Fonte: LOHREY, 2012.

Os óleos encontrados nas microalgas possuem características físico-químicas similares aos de óleos vegetais e por isto elas são consideradas como matéria-prima potencial para a produção de biodiesel (FAO, 1997). No entanto, algumas espécies contêm ácidos graxos poliinsaturados de cadeia longa que podem trazer problemas nas propriedades do biodiesel (BUCY, 2012).

 Tabela 1.5- Conteúdo de óleo de algumas espécies de microalgas.

MICROALGA	CONTEÚDO DE ÓLEO (% de peso seco)
Botryococcus braunii	25-75
<i>Chlorella</i> sp.	28-32
Dunaliella primolecta	23
Isochrysis sp.	25-33
Nannochloropsis sp.	31-68
Neochloris oleoabudans	35-54
Nitzschia sp.	45-47
Phaeodactylum tricornutum	20-30
Schizochytrium sp.	50-77
Tetraselmis sueccica	15-23

Na Tabela 1.6 pode-se verificar que os óleos extraídos das microalgas apresentam composição em ácidos graxos semelhante às dos óleos vegetais (TEIXEIRA & MORALES, 2006; KAUR, 2012). Sabe-se que entre os óleos vegetais, a composição em ácidos graxos varia e, desse modo variam também as suas propriedades físico-químicas (por exemplo, a estabilidade à oxidação), o mesmo ocorrerá com o óleo extraído de diferentes espécies de microalgas e de condições variadas de cultivo (KAUR, 2012).

MICROALGA	PRINCIPAIS ÁCIDOS GRAXOS
Dunaliella salina ^a	C14:0/ C14:1/ C16:0/ C16:3/ C16:4/ C18:2/C18:3
Isochrysis sp ^a	C14:0/ C14:1/C16:0/C16:1/ C18:1/ C18:3/ C18:4/ C22:6
Nannochloris sp ^a	C14:0/ C14:1/ C16:0/ C16:1/ C16:3/ C20:5
Nitzschia sp ^a	C14:0/ C14:1/ C16:0/ C16:1/ C16:3/ C20:6
<i>Chlorella^b</i>	C14:0/C16:0/C18:0/C16:1/C18:1/C22:1/C16:2/C16:3/C16:4/C18:2/C18:3
<i>Scenedesmus</i> ^b	C14:0/C16:0/C18:0/C20:0/C22:0/C24:0/C16:1/C18:1/C20:1/C16:2/C16:3
	/C16:4/C18:2/C18:3/C18:4/C22:2
Desmodesmus ^b	C14:0/C16:0/C18:0/C20:0/C22:0/C16:1/C18:1/C16:2/C16:3/C16:4/C18:2/
	C18:3/C18:4/C20:2
	^a TEIXEIRA & MORALES, 2006, ^b KAUR, 2012,

Tabela 1.6- Composição química do óleo de algumas microalgas.

Todos os elementos discutidos anteriormente bem como a necessidade de conhecer e desenvolver tecnologias de produção de biodiesel de uma forma economicamente viável a partir de novas matérias primas, garantindo a permanência do Brasil no cenário mundial do biodiesel, são motivações que justificam o caráter inovador e a importância do presente trabalho de tese.

1.2 OBJETIVOS GERAIS E ESPECÍFICOS

O objetivo geral deste trabalho é o estudo da síntese de ésteres metílicos (biodiesel) a partir da biomassa das microalgas *Scenedesmus dimorphus e Nannochloropsis oculata* através do processo de hidroesterificação (processo de esterificação antecedido pelo processo de hidrólise), como uma possível alternativa tecnológica aos processos convencionais visando o processamento de novas matérias-primas e processos reacionais que favoreçam a permanência do biodiesel na matriz energética mundial.

Os objetivos específicos deste trabalho consistem em:

- Sintetizar catalisadores a base de óxido de nióbio (Nb₂O₅, Nb₂O₅/Al₂O₃, H₃PO₄/Nb₂O₅) com elevada atividade catalítica nas reações de hidrolise e esterificação da biomassa de *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropis oculata*;
- Caracterizar a morfologia e textura dos catalisadores sintetizados mediante Termogravimétrica, Difratometria de Raios X, Microscopia Eletrônica de Varredura, Volumetria de Nitrogênio, Quimissorção de Amônia e Espectroscopia na Região do Infravermelho;
- Estudar a hidrólise in situ da biomassa liofilizada de Scenedesmus dimorphus e Nannochloropsis oculata, visando eliminar o processo de extração do óleo;
- Avaliar a geração de ácidos graxos a partir da otimização do processo de hidrólise da biomassa de *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata*, utilizando como catalisadores, óxido de nióbio (Nb₂O₅), óxido de nióbio suportado em alumina (Nb₂O₅/Al₂O₃) e óxido de nióbio impregnado em ácido fosfórico (H₃PO₄/Nb₂O₅). Avaliando os efeitos da temperatura reacional (T), concentração de biomassa (CB) e quantidade de catalisador (C);
- Avaliar a geração de ésteres metílicos a partir da esterificação dos ácidos graxos obtidos como produtos de hidrólise, utilizando como catalisadores (Nb₂O₅, Nb₂O₅/Al₂O₃ e H₃PO₄/Nb₂O₅. Avaliando os efeitos da temperatura reacional (T), razão molar metanol/ácido graxo (RM) e quantidade de catalisador (C).
- Realizar um estudo experimental da cinética da reação de esterificação dos ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis oculata* para a produção de biodiesel, para definir o mecanismo e a etapa controladora da reação, permitindo interferir nela e maximizar a conversão final.
- Utilizar métodos analíticos, estabelecidos pelos padrões geralmente usados como referencia (ASTM), (EN 14214) e a resolução RANP nº 42/2004 para a caracterização do biodiesel obtido com os diferentes catalisadores.

ESTRUTURA DO TRABALHO

A estrutura desta dissertação está descrita abaixo:

- Capítulo 1: Apresenta a justificativa que levou ao desenvolvimento deste trabalho, tendo em vista a crescente demanda mundial por combustíveis de baixa emissão de gases de efeito estufa o qual exige a exploração de novas matérias primas (microalgas) e tecnologias (hidroesterificação) de menor custo e ecologicamente compatíveis. Além do mais, apresenta os objetivos gerais, e específicos do trabalho;
- Capítulo 2: Neste capítulo estão relacionadas as abordagens bibliográficas realizadas sobre o tema, baseados em aspectos tais como: a biotecnologia das microalgas, produtividade em lipídeos, sistemas de cultivo e tecnologias para a produção de biomassa microalgal com suas respectivas vantagens e desvantagens, importância e vantagens das microalgas no cenário mundial obviamente associada a sua enorme potencialidade para produzir biodiesel, assim como as matérias-primas selecionadas. No final, são discutidos os diferentes métodos utilizados na extração do óleo das microalgas, e a tecnologia escolhida pra a produção de biodiesel.
- Capítulo 3: Estão descritos os materiais e metodologias utilizadas no desenvolvimento desta tese;
- Capitulo 4: Estão relatados os resultados discutidos e comentados, onde são levados em consideração alguns estudos previamente realizados sobre o tema;
- Capítulo 5: Estão descritas as conclusões evidenciadas sobre o tema;
- Capítulo 6: Novos estudos são sugeridos a fim de se obter maior explanação e compreensão sobre o assunto;
- Capítulo 8: São relatadas fontes de pesquisas, entre artigos consultados, revistas, sites e livros utilizados como fundamentação teórica para esta tese.

CAPITULO 2 REVISSÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 CONSIDERAÇÕES GERAIS SOBRE AS APLICAÇÕES BIOTECNOLÓGICAS DAS MICROALGAS.

As microalgas são microrganismos heterogêneos, usualmente microscópicos, unicelulares, coloniais ou filamentosos, coloridos e fotoautotróficos. Filogeneticamente, podem ser procarióticos ou eucarióticos (OLAIZOLA, 2003).

O cultivo de microalgas está crescendo gradativamente no mundo inteiro. A biomassa produzida destina-se às mais diversas aplicações como, produção de proteína unicelular, lipídeos, carotenóides, clorofila, enzimas, ésteres, antibióticos, hidrocarbonetos e vitaminas (RICHMOND, 1988; BECKER, 1994; PULZ e GROSS, 2004; RICHMOND, 2004).

A biotecnologia de microalgas também demonstrou versatilidade em outros setores, podendo atuar no tratamento de efluentes, biorremediando metais pesados, nitrogênio e fósforo que podem causar eutrofização quando descartados diretamente nos rios. A biomassa obtida nessa biorremoção pode servir como fonte de matéria-prima para produção de ração, fertilizantes, e até mesmo ser utilizada na indústria de química fina.

Num sentido amplo e do ponto de vista da biotecnologia, o termo microalga refere-se a aqueles microrganismos que contêm clorofila *a* e outros pigmentos, capaz de realizar fotossíntese aeróbica. De acordo com este critério, cianobactérias ou algas-verdes-azuis, de estrutura celular procariótica contida no Reino Monera, são tradicionalmente consideradas dentro do Grupo de microalga. Na verdade, algumas dessas cianobactérias, tais como a Spirulina, constituíam uma das principais contribuições para a biotecnologia de microalgas. Porém o termo microalga não tem sentido taxonômico e compreende organismos com dois tipos celular: cianobactérias. procariotas de estrutura e as restantes classificadas no Reino Protoctista com a estrutura da célula eucariótica. Apesar das grandes diferenças morfológicas, os dois tipos de microalgas fisiologicamente são semelhantes, com um metabolismo fotossintético semelhantes aos de organismos do Reino Plantae.

O uso da fotossíntese para a produção primária de energia, produtos químicos e alimentos através do cultivo em massa de microalgas, tornou-se uma opção atraente a partir do conhecimento que constitui um meio eficaz de conversão de energia solar e biomassa. De acordo com a sua versatilidade metabólica, determinada pela espécie e as condições de cultivo, as microalgas representam uma fonte única para obter por métodos biotecnológicos um amplo espectro de produtos, tais como proteínas, pigmentos, vitaminas,

ácidos graxos poliinsaturados, polissacarídeos, enzimas e substâncias com atividade probiótica. (MULLER-FEUGA *et al.*, 2004; SHIMIZU e LI, 2006; BUCY, 2012).

O interesse no estudo científico desses organismos começou em 1890, quando o microbiologista holandês Beijerinck estabeleciu culturas puras da microalga de água doce *Chlorella vulgaris*. No início do século passado, Warburg (1919) obtiveram em escala de laboratório *Chlorella* em culturas densa, e sugeriu a sua utilização em pesquisas sobre mecanismos de fotossíntese.

No entanto, as origens da biotecnologia de microalgas data da segunda Guerra Mundial, quando cientistas alemães começaram a desenvolver a produção em massa de lipídios e proteínas. Pouco tempo depois começaram experiências similares no Japão, Israel e nos Estados Unidos. A partir dessas iniciativas, o crescimento de microalgas aumentou consideravelmente e, hoje, existem empresas em diferentes países do mundo para a produção biotecnológica de alimentos, produtos farmacêuticos e de energia (PULZ GROSS, 2004; SPOLAORE *et al.*, 2006).

As microalgas, desde o ponto de vista biotecnológico, são um grupo de microrganismos pouco estudado. Dentre as dez mil espécies de microalgas que se acredita existirem, pouco mais de mil linhagens são mantidas em coleções ao redor do mundo, apenas algumas centenas foram investigadas por seu conteúdo químico e somente uma pequena quantidade tem sido cultivada em escala industrial. Por serem pouco exploradas, representam rica oportunidade para novas descobertas (ZAHNER e FIEDLER, 1995; OLAIZOLA, 2003).

A biotecnologia de microalgas na atualidade envolve só um pequeno setor dentro da campo da biotecnologia e é definida como "*a integração dos conhecimentos da Ficologia, relacionados com a fisiologia do crescimento das microalgas, com as descobertas mais recentes da biologia celular e molecular, da engenharia química, da aqüicultura e outras disciplinas a fins, para usos comerciais específicos*" (OLAIZOLA, 2003). Em termos gerais, consiste no cultivo de microalgas, em condições controladas de modo a aproveitar em seguida, a biomassa.

O processo pode ser dividido em três etapas básicas:

(1) identificação do metabólito de interesse e as espécies que produzem e/ou acumularem as concentrações adequadas,

 (2) o estabelecimento de um processo de produção em larga escala de cultivo, de processamento de biomassa de algas e de recuperação do metabolito;

(3) comercialização do produto (OLAIZOLA, 2003; WIJFFELS, 2005).

A segunda etapa combina o domínio dos fatores que influenciam o crescimento das microalgas (radiação e temperatura, tempo de permanência, agitação, concentração de oxigênio dissolvido, pH, fontes de carbono, nitrogênio, fósforo e interações bióticas), com requisitos para a concepção de um biorreator adequado (PULZ, 2001; FEUGA MULLER *et al.*, 2004; KIM e LEE, 2005; CHEN, 2011).

Atualmente, a proposta é desenvolver inúmeras aplicações de microalgas em vários campos da tecnologia, sistemas de cultura de massa, livres ou imobilizados, vivos ou processados, alguns em operação comercial completa (LEE, 2001; WALKER *et al.*, 2005; CHEN *et al.*, 2005). O mercado da biomassa de microalgas dominadas pela *Chlorella* e *Spirulina* representa cerca de 5000 toneladas por ano (base seca) e pressupõe vendas de 1.25×10^9 USD por ano (PULZ e GROSS, 2004).

As microalgas além de serem consideradas, a critério de numerosos pesquisadores, como uma importante fonte de alimentos funcionais e suplementos nutricionais (PULZ *et al.*, 2000, SHIMIZU e LI, 2006; SPOLAORE *et al.*, 2006), são apresentadas atualmente como uma matéria-prima praticamente inexplorada para a produção de biocombustíveis (biodiesel, etanol e hidrogênio) com amplas possibilidades de serem inseridas sob o modelo de biorrefinaria (HUANG, 2010; AMARO, 2011; LAM, 2012). Outras espécies são bem conhecidas quanto ao potencial de cultivo e quanto aos compostos que sintetizam. Na Tabela 2.1 são apresentados alguns destes compostos obtidos das microalgas e suas aplicações.

Logo, devido a essa diversidade de produtos existentes na biomassa microalgal, esta é utilizada pelo homem para o fornecimento de suplementos alimentares, obtenção de fármacos, produção de biocombustíveis (VENKATESAN, 2006), uso da biomassa microalgal, juntamente com o efluente de lagoas de estabilização, na agricultura, piscicultura, entre outros (SOUSA, 2007; MATA *et al.*, 2010; LI, 2012).

As microalgas podem utilizar tanto carbono inorgânico (CO_2) quanto orgânico (glucose, acetato, etc) para a formação de ácidos graxos e, conseqüentemente, lipídeos, sendo a quantidade destes em cada célula diferente entre espécies.

	PRODUTO	APLICAÇÕES	
Biomassa	Biomassa	"health foods" Alimentos funcionais Aditivos alimentares	
		Condicionador do solo	
Corantes e antioxidantes	Xantofilas (astaxantina e cantaxantina) Luteína Beta-carotenos Vitamina Ce E	Aditivos alimentares Cosméticos	
Ácidos graxos	Ácido araquidônico- ARA Ácido eicosapentanóico-EPA Ácido docosahexaenóico- DHA Ácido gama-linolénico-GCA Ácido linolênico-LA	Aditivos alimentares	
Enzimas	Superóxido dismutase-SOD Fosfoglicerato quinase-PGK Luciferase e Luciferina Enzima de restrição	"health food" Pesquisa Medicina	
Polímeros	Polissacarídeos Amido Ácido poli-beta- hidroxibutirico-PHB	Aditivos alimentares Cosméticos Medicina	
Produtos especiais	Peptídeos Toxinas Isótopos Aminoácidos Esteróis	Pesquisa Medicina	
Fonte: BARBOSA, 2003.			

 Tabela 2.1- Alguns produtos obtidos de microalgas.

As microalgas possuem um teor lipídico que pode variar entre 1% e 70%, mas sob certas condições algumas espécies podem atingir 90% do peso seco (CHISTI, 2007; MATA *et al.*, 2010; HUANG *et al.*, 2010). O conteúdo de óleo em microalgas pode atingir 75% em peso em relação à biomassa seca, mas associado com baixa produtividade, como em *Botryococcus braunii*, por exemplo. Algas mais comuns (*Chlorella, Crypthecodinium, Cylindrotheca, Dunaliella, Isochrysis, Nannochloris, Nannochloropsis, Neochloris, Nitzschia, Phaeodactylum, Porphyridium, Schizochytrium, Tetraselmis*) têm níveis de óleo entre 20% e 50%, mas produtividades maiores podem ser atingidas (MATA *et al.*, 2010). Os avanços tecnológicos

sugerem que a produção industrial de biodiesel de microalgas podem ser frutífera no futuro próximo (HUANG *et al.*, 2010; TABERNERO, 2011; AMARO, 2011; ATABANI, 2012).

2.2 CLASSIFICAÇÂO DAS MICROALGAS.

O termo "microalgas" é utilizado para dar nome a diversos grupos diferentes de organismos vivos. Elas variam desde os pequenos organismos unicelulares até os multicelulares, sendo, antigamente, consideradas plantas simples. As microalgas também incluem os organismos com estrutura molecular procariótica e estrutura molecular eucariótica, que, mesmo sendo estruturalmente e morfologicamente diferentes entre si, são fisiologicamente parecidos e possuem um metabolismo parecido com o das plantas (LOURENÇO, 2006; HUANG *et al.*, 2010). O termo microalgas não tem valor taxonômico, engloba microrganismos unicelulares com clorofila *a* e outros pigmentos fotossintéticos, os quais são capazes de realizar a fotossíntese e sua caracterização sistemática implica na consideração de uma série de critérios (HOEK, C. V, 1995). As microalgas são organismos microscópicos, coloniais ou filamentosos, coloridos, fotoautotróficos, procarióticos e eucarióticos (OLAIZOLA, 2003).

Os exemplos de microalgas procarióticos são cianobactérias (Cyanophyceae) e as microalgas eucarióticas são algas verdes (Chlorophyta) e diatomáceas (Bacillariophyta) (RICHMOND, 2004). As microalgas estão presentes em todos os ecossistemas existentes na terra, representando uma variedade grande de espécies que vivem em condições extremas. Estima-se que mais de 50.000 espécies existam, mas somente um número limitado, de aproximadamente 30.000, já foram estudadas e analisadas (RICHMOND, 2004).

Conforme (ARREGONDO-VEGA, 1995), as microalgas são produtores primários que armazenam energia solar para convertê-la em energia biológica, sendo as microalgas a base de inúmeras cadeias tróficas nos ambientes aquáticos. As microalgas são principalmente encontradas no meio marinho e água doce, sendo consideradas responsáveis por pelo menos 60% da produção primária da Terra (CHISTI, 2007). Uma das características relevantes das microalgas é a capacidade destes micro-organismos transformarem o dióxido de carbono presente na atmosfera e a luz solar em várias formas de energia, através do processo de fotossíntese. Através deste processo, são produzidos polissacarídeos, proteínas, lipídeos e hidrocarbonetos (CHISTI, 2007).

Segundo REVIERS (2006), atualmente as microalgas estão classificadas em 11 divisões distintas: Cyanophyta, Glaucophyta, Rodophyta, Cryptophyta, Euglenozoa, Cercozoa, Haptophyta, Dinophyta, Ochroophyta, Streptophyta e Chlorophyta.

A classificação bioquímica das microalgas esta fundamentada em características como natureza e localização dos pigmentos (clorofilas, ficobilinas, carotenos e carotenóides), dos carboidratos de reserva (amido) e da disposição dos tilacoides, sistema de membranas situado no interior dos plastídios, que contem pigmentos (FRANCESCHINI *et al.*, 2010).

predominam Ouatro classes quantitativamente fitoplanctôn marinho: no Bacillariophyceae (diatomáceas), Dinophyceae (dinoflagelados), Prymnesiophyceae (cocolitoforídeos) e Cryptophyceae (criptomônadas) (YONEDA, 1999). Ao longo da plataforma continental brasileira também são freqüentes, além destas, algas verdes das classes Prasinophyceae e Chlorophyceae (BRANDINI et al., 1997). As diatomáceas e os dinoflagelados são encontrados tanto em regiões costeiras quanto oceânicas, enquanto os cocolitoforídeos são mais comuns em águas oceânicas e as criptomônadas em regiões costeiras (PARSONS et al., 1984).

2.3 COMPOSIÇÃO QUÍMICA.

Toda alga é composta por alguns componentes como proteínas, hidrato de carbono, lipídios e ácidos nucléicos (Tabela 2.2). As porcentagens destes componentes variam de alga para alga, sendo encontrados alguns tipos de microalgas com cerca de 40% de sua massa total composta por lipídios (sendo que, se cultivada de maneira correta, chega-se a níveis de 85%), característica esta que permite extrair, vantajosamente, este óleo e converté-lo em biodiesel.

MICROALGAS	PROTEINAS	CARBOIDRATOS	LIPÍDIOS
Scenedesmus oblíquus	50-56	10-17	12-14
Scenedesmus quadricauda	47	-	1.9
Scenedesmus dimorphus	8-18	21-52	16-40
Chlorella vulgaris	51-58	12-17	14-22
Chlorella pyrenoidosa	57	22	2
Spirogyra sp	6-20	33-64	11-21
Dunaliella bioculata	49	4	8
Dunaliella salina	57	32	6
Euglena gracilis	39-61	14-18	14-20
Prymnesium parvum	28-45	25-33	22-38
Tetraselmis maculata	52	15	3
Porphyridium cruentum	28-39	40-57	9-14
Spirulina platenses	46-63	8-14	4-9
Spirulina maxima	60-71	13-16	6-7
Anabaena cilindrica	43-56	25-30	4-7

Tabela 2.2- Composição química das microalgas

Fonte: BECKER, 1994.

2.3.1 Composição da fração lipídica de microalgas

Os lipídeos caracterizam um conjunto de substâncias químicas que, ao contrário das outras classes de compostos orgânicos, não são caracterizadas por algum grupo funcional comum, e sim pela sua alta solubilidade em solventes orgânicos e baixa solubilidade em água (SOLOMONS, 2005). Os azeites e gorduras são substâncias de origem vegetal ou animal, que consistem predominantemente em misturas de ésteres, oriundos da mistura de ácidos graxos com a glicerina, estes chamados de triacilgliceróis (MORETTO, 1998).

Os lipídeos são um dos principais macronutrientes categorizados geralmente como sendo neutros ou polares. Os lipídeos polares incluem além dos fosfolipídeos e glicolipídeos, predominantemente na maioria das microalgas na composição total dos lipídeos. A classe típica dos lipídeos complexos é formada por fosfolipídeos, glicolipídeos, ceramidas, cerebrosídeos e gangliosídeos. Os lipídeos neutros são aqueles que não contêm grupos carregados, isto inclui triacilgliceróis, glicerídeos, carotenóides, esteróis e uma escala limitada dos hidrocarbonetos de alto peso molecular que aparecem naturalmente no óleo de alguns peixes, microalgas e sementes (MOLINA *et al.*, 1999; HUANG, 2010).

Triacilgliceróis são geralmente considerados como produto de estocagem energética, enquanto que glicolipídeos são estruturas lipídicas presentes na parede celular. Os lipídeos são tipicamente compostos por triacilgliceróis, glicolipídeos, fosfolipídeos, lipoproteínas e ácidos graxos contendo entre 12 e 22 carbonos, podendo ser saturados e poliinsaturados (MOLINA *et al.*, 1999). Na Figura 2.1 podem ser observadas algumas estruturas químicas encontradas nos lipídeos das microalgas.



Figura 2.1- Estrutura dos diferentes lipídeos encontrados nas microalgas.

Todos os lipídeos constituem-se de carbono, hidrogênio e oxigênio em suas moléculas. E algumas classes possuem fósforo, nitrogênio e às vezes, enxofre (PETROWICZ, 2007; BOBBIO & BOBBIO, 1995).

De acordo com BOBBIO & BOBBIO (1995) os lipídios podem ser classificados como:

- Simples (Compostos que por hidrólise total dão origem a ácidos graxos e álcool): Como óleos e gorduras, que são ésteres de ácido graxo e glicerol (*glicerídeos*), e as ceras, que são ésteres de ácidos graxos e mono-hidroxiálcoois de alto peso molecular geralmente de cadeia linear.
- Compostos (Contém outros grupos na molécula, além de ácidos graxos e álcool): Como fosfolipídios, que são ésteres de ácidos graxos e que contém molécula de ácido fosfórico e um composto nitrogenado, as ceras, que são ésteres de ácidos graxos e mono-hidroxiálcoóis de ácidos graxos, carboidratos e uma base nitrogenada, e os sulfolipídios, de estrutura pouco conhecida e que possuem enxofre na molécula.
- Derivados (Em sua maioria, obtidos por hidrólise de lipídios simples e compostos): como ácidos graxos, alcoóis (glicerol, alcoóis de cadeia linear de alto peso molecular, esteróis), hidrocarbonetos, vitaminas lipossolúveis, pigmentos, compostos nitrogenados (colina, serina, esfingosina e aminoetanol).

As microalgas produzem mais óleo do que algumas oleaginosas (palma, mamona e girassol), em torno 15 a 40% de óleo em peso seco, sendo promissora alternativa de produção de óleo pelo rápido crescimento e acúmulo considerável. O óleo (triacilglicerídeos), estocado no citosol, pode ser estimado como 64% do total da fração lipídica, e pode ser extraído por uma variedade de métodos (HUANG *et al.*, 2010; CHEN *et al.*, 2009; AMIN, 2009).

Os ácidos graxos nas microalgas correspondem à maior fração lipídica e, em algumas espécies, os poliinsaturados (PUFA's) representam entre 25 e 60% dos lipídios totais (RADMANN & COSTA, 2008). A Tabela 2.3 mostra o conteúdo e a produtividade de lipídeos em algumas microalgas.

Para HUANG *et al.*, (2010) dentre as vantagens em produzir óleo de microalgas estão á similaridade dos ácidos graxos em relação aos óleos vegetais, a quantidade de óleo produzida, o pouco tempo de crescimento e a composição singular das microalgas. Dentre as desvantagens, alguns lipídeos possuem menor valor para combustíveis em relação ao diesel e o custo do cultivo pode ser caro em relação às fontes já implantadas.

,	PERCENTUAL LIPÍDIOS %	PRODUTIVIDADE		
ESPECIE		DE LIPÍDIOS mg/L/dia	VOLUMETRICA g/L/dia	ESPACIAL g/m²/dia
Botryococcus braunii	25-75	-	0.02	3.0
Chaetoceros muelleri	34	22	0.07	-
Chaetoceros calcitrans	15-40	18	0.04	-
Chlorella vulgaris	5-58	11-40	0.02-0.20	0.57-0.95
Chlorella sp.	10-48	42	0.02-2.5	1.61–16.47/25
Dunaliella salina	6-25	116	0.22-0.34	1.6-3.5/20-38
Dunaliella primolecta	23	-	0.09	14
Dunaliella tertiolecta	17-71	-	0.12	-
Dunaliella sp.	18-67	34	-	-
Euglena gracilis	14-20	-	7.70	-
Isochysis galbana	7-40	-	0.32-1.60	-
Isochysis sp.	7-33	38	0.08-0.17	-
Nannochloropsis o.	23-29	84-142	0.37-0.48	-
Nannochloropsis sp.	12-53	37-90	0.17-1.43	1.9–5.3
Pavlova salina	31	49	0.16	-
Pavlova lutheri	35	40	0.14	-
Scenesdesmus o	11-55	-	0.004-0.74	-
Scenesdesmus Dimorphus	19-21	41-54	0.03-0.26	2.43-13.52
Spirulina platensis	4-16	-	0.06-4.3	1.5-14.5/24-51
Spirulina maxima	4-9	-	0.21-0.25	25
Tetraselmis suecica	8-23	27-36	0.12-0.32	19
Tetraselmis sp.	12-15	43	0.30	-

 Tabela 2.3- Conteúdo lipídico e produtividade de diferentes espécies de microalgas (% em peso seco de biomassa).

Fonte: CHISTI 2007; MENG et al., 2009; RODOLFI et al., 2009; MATA et al., 2010.

O maior estímulo químico ocorre pelos nutrientes, salinidade e pH, e o maior estímulo físico pela temperatura e a intensidade de luz. Os fatores químicos e físicos, a fase de crescimento e a forma de cultivo afetam a quantidade de TAG e a composição de ácidos graxos (HU *et al.*, 2008; DUNSTAN *et al.*, 1993).

A formação de cada composto dentro da célula algal é regulada por complexos mecanismos metabólicos. Em microalgas verdes, como mostrado na Figura 2.2, por exemplo, o complexo sistema coletor de luz ligado à clorofila e ao carotenóide captura energia solar na forma de fótons. Esta energia é utilizada pelo fotossistema II na oxidação catalítica da água, formando prótons, elétrons e molécula de O2. Os elétrons com baixo potencial são transferidos através da cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos que levam à redução da ferredoxina para a formação de NADPH. Um gradiente eletroquímico é formado por causa da liberação de prótons após a oxidação da água para o lúmen do tilacóide, o qual é utilizado para conduzir a
produção de ATP via ATP sintase. Os produtos fotossintéticos NADPH e ATP são os substratos para o ciclo de Calvin-Benson, onde o CO2 é fixado em moléculas de 3 átomos de carbono que são assimilados em açúcares, amido, lipídeos, ou outras moléculas exigidas para o crescimento celular. O substrato para a hidrogenase, H+ e e– , são supridos tanto via cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos como via fermentação do carboidrato (amido) armazenado (BEER *et al.*, 2009).



Figura 2.2- Representação das vias metabólicas em algas verdes relacionadas à produção de biocombustíveis. Fonte: Adaptado de Beer *et al.* (2009).

A formação de cada composto dentro da célula algal é regulada por complexos mecanismos metabólicos. Em microalgas verdes, como mostrado na Figura 2.2, por exemplo, o complexo sistema coletor de luz ligado à clorofila e ao carotenóide captura energia solar na forma de fótons. Esta energia é utilizada pelo fotossistema II na oxidação catalítica da água, formando prótons, elétrons e molécula de O2. Os elétrons com baixo potencial são transferidos através da cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos que levam à redução da ferredoxina para a formação de NADPH. Um gradiente eletroquímico é formado por causa da liberação de prótons após a oxidação da água para o lúmen do tilacóide, o qual é utilizado para conduzir a produção de ATP via ATP sintase. Os produtos fotossintéticos NADPH e ATP são os substratos para o ciclo de Calvin-Benson, onde o CO2 é fixado em moléculas de 3 átomos de carbono que são assimilados em açúcares, amido, lipídeos, ou outras moléculas exigidas para o crescimento celular. O substrato para a hidrogenase, H+ e e-, são supridos tanto via cadeia de transporte de elétrons fotossintéticos como via fermentação do carboidrato (amido) armazenado (BEER *et al.*, 2009).

As propriedades do biodiesel são fortemente dependentes das características do ácido graxo que compõe a cadeia do triglicerídeo e que dá origem ao metil ou etil éster. As propriedades mais influenciadas incluem a qualidade da ignição (número de cetano, por exemplo), as propriedades de fluxo a frio e estabilidade oxidativa. Embora a saturação e o perfil dos ácidos graxos das microalgas não parecem ter muito impacto sobre a obtenção de biodiesel a partir da reação de transesterificação, eles afetam as propriedades do combustível. Por exemplo, óleos saturados produzem um biodiesel com alta estabilidade oxidativa e alto número de cetano, mas propriedades indesejáveis a baixas temperaturas. Entretanto, ácidos graxos poliinsaturados são muito susceptíveis à oxidação, possuindo problemas de instabilidade quando armazenado por muito tempo (HU *et al.*, 2008; BUCY, 2012).

O método mais eficiente para acumular lipídeo em microalga é limitar a disponibilidade de nitrogênio. Isso não só aumenta a produção de ácidos graxos como os converte em triglicerois (TAG), que são mais úteis para produção de biodiesel. Quando o nitrogênio se torna um recurso escasso e vira um fator limitante para o crescimento, as células param de proliferar, mas permanece a fixação de CO_2 , que depois são convertidos de glicose para uma forma de armazenamento menos redutora, ácidos graxos e depois TAG. Isso pode ser explicado pelo fato de que o nitrogênio é essencial para síntese de proteínas e ácidos nucléicos, e sua falta leva a célula a não ter mais substrato para se multiplicar, contando, no entanto, com todo o aparto já desenvolvido para fixação de CO_2 .

Um longo e completo trabalho empreendido de 1978 a 1996 no US National Renewable Energy Laboratory (NREL) patrocinado pelo Office of Fuels Development, uma divisão do US Deparment of Energy, denominado "The Aquatic Species Program" (ASP) fez uma pesquisa profunda sobre este tópico. Foi concluído que não há nenhum tipo de microalgas que possa ser considerado como o melhor em termos de rendimento de óleo para biodiesel. Entretanto, o trabalho afirma que as diatomáceas e as microalgas verdes são as mais promissórias.

2.4 AMBIENTES DE CRESCIMENTO.

As microalgas são capazes de viver nas mais diversas condições. Podem ser encontradas em corpos de água, tanto doces como salgada, e em lugares terrestres úmidos. No entanto, seu crescimento depende de um conjunto de fatores químicos, físicos e biológicos. Os fatores biológicos estão relacionados às taxas metabólicas da espécie em questão, e à possível influência de outros tipos de organismos sobre o desenvolvimento da mesma. Já os fatores físico-químicos são a iluminação, salinidade do meio, disponibilidade de alimento e temperatura.

A composição bioquímica da biomassa das microalgas não é determinada somente pela natureza de cada espécie algal, dependendo também de fatores como, intensidade luminosa, temperatura, pH, nutrientes e agitação (MIAO e WU, 2004). Pesquisas relacionadas com a interação entre intensidade luminosa, temperatura, agitação e concentração de nutrientes podem contribuir para a otimização do cultivo, pois o crescimento de microalgas deriva-se de diversas reações bioquímicas e biológicas (DUARTE, 2001).

O pH do meio também é importante no processo de cultivo, variando de neutro a alcalino para a maioria das espécies de microalgas (RAVEN, 1990). Quando se trata de meio de cultura sintético, o alto custo dos nutrientes pode representar fator limitante para a produção. No caso de cultivos em meios de cultura alternativos (resíduos industriais ou agrícolas), os fatores limitantes para a produção de biomassa restringem-se à luz, temperatura e agitação da cultura.

A luz é fundamental para o crescimento microalgal, pois atua como a principal fonte de energia no processo de produção de biomassa (LACAZ-RUIZ, 1996). A luminosidade induz a atividade enzimática, influenciando a síntese de proteína (RUYTERS, 1984; UMINO, SATOH e SHIRAIWA, 1991). O excesso de luz também pode provocar efeito letal nas células pela formação de peróxido de hidrogênio (substância tóxica para as microalgas) na presença de oxigênio. Tal reação é denominada foto-oxidação ou morte fotoxidativa.

A baixa intensidade luminosa induz a formação de lipídeos polares, particularmente aos lipídeos polares de membrana associados aos cloroplastos, por outro lado à alta intensidade luminosa diminui a quantidade de lipídeos polares ocorrendo aumento no estoque de lipídeos neutros (TAG's). Em condições de estresse há acúmulo de elétrons e oxigênio reativo (radicais livres) que causam inibição da fotossíntese e dano aos lipídios da membrana celular, proteínas e outras macromoléculas (HU *et al.*, 2008).

A fotossíntese de microalgas é afetada pela limitação de nutrientes (KOLBER, ZENH e FALKOWSKI, 1988). Assim, é possível afirmar que a velocidade de crescimento e a produtividade estão diretamente relacionadas com as exigências nutricionais, pH, agitação, temperatura e luz (intensidade e duração da irradiação luminosa) (TROTTA, 1981; JOHN e FLYNN, 2000; CARLOZZI e SACCHI, 2001; BABEL, TAKIZAWA e OZAKI, 2002; KAYOMBO *et al.*, 2003; TUKAJ *et al.*, 2003).

A temperatura é um dos fatores que mais afetam a taxa metabólica dos organismos, e deve ser escolhida conforme a espécie estudada e a finalidade do cultivo. A constância da temperatura, a baixa variabilidade (< 0.5°C) proporciona estabilidade ao cultivo, e conseqüente previsibilidade. Espécies tropicais podem ser cultivadas sob temperaturas entre 20 e 25°C, as de ambiente temperado entre 10 e 20°C e as de ambientes polares até 5°C. Geralmente, opta-se pela temperatura de 20°C, tolerável a todas, embora não favoreça o crescimento ótimo necessariamente (LOURENÇO, 2006).

MAEDAL *et al.*, (1995) estudaram a resistência de microalgas a altas temperaturas. A espécie *Chlorella* mostrou crescimento favorável à 35°C e declínio à 45°C. O máximo de produtividade da *I. galbana* está entre 25-30°C, sendo temperaturas em torno de 18°C prejudiciais à produtividade (RENAUD *et al.*, 2002; JUNIOR *et al.*, 2006).

A agitação da cultura torna-se muito importante para otimizar todos os fatores essenciais relacionados à produção de biomassa de microalgas. A agitação da cultura, em meio líquido, mantém as células em suspensão evitando que algumas células fiquem depositadas no fundo do fotobiorreator e outras permaneçam na superfície recebendo luz em excesso. Além disso, a agitação evita a foto-oxidação pela eliminação do oxigênio supersaturado no meio (RICHMOND *et al.*, 1993).

Vários elementos químicos são importantes no crescimento e na produtividade do fitoplâncton marinho. Dentre os nutrientes mais necessários podem ser citados: carbono, hidrogênio, oxigênio, nitrogênio, fósforo, enxofre, potássio, magnésio e silício (JUNIOR *et al.*, 2006; LOURENÇO, 2006).

Usualmente, o cultivo de microalgas ocorre em tanques abertos com pequena profundidade visando assegurar adequada incidência de luz solar. O cultivo de microalgas em sistemas abertos, tem como benefício a luminosidade natural sem custos. No entanto, há o risco de contaminação por outros organismos que pode ser controlada com agitação e aumento do pH. Além disso, esses sistemas estão sujeitos a alterações de clima, luz e temperatura (BARCLAY, MEAGER e ABRIL, 1994; CHEN, 1997).

2.5 SISTEMAS DE CULTIVOS DE MICROALGAS

O sucesso da produção de biodiesel a partir de microalgas inclui a identificação das condições de cultivo para uma alta produtividade de óleo, o desenvolvimento de sistemas de cultivos eficientes e econômicos, assim como de sistemas de separação e colheita da biomassa algal e do óleo (CHEN, 2011).

A produção de biomassa algal requer insumos básicos: energia, CO_2 , água e nutrientes minerais. A energia pode vir de radiação luminosa (solar ou artificial) ou de ligações químicas de compostos orgânicos (principalmente carboidratos) (HUANG *et al*, 2010). A radiação solar é um recurso natural gratuito, mas variam com o ciclo diário (em média, dez horas de luz por dia, variando ainda o ângulo de ataque do fluxo luminoso sobre a superfície terrestre), estação do ano (equinócio tem radiação média uniforme, solstício tem radiação média concentrada em um hemisfério) e latitude (equador é, em geral, mais iluminado), fatores esses que limitam a produção de biomassa algal. Para contornar as limitações do crescimento algal em luz natural, pode-se socorrer à iluminação artificial. Ela possibilita produção diária contínua, pois assume o papel da radiação solar durante a noite ou complementa-a conforme as variações se instalam. No entanto, requer um gasto considerável com energia (para acender as lâmpadas, por exemplo) e, geralmente, a energia elétrica advém de fontes fósseis, o que compromete a sustentabilidade da produção de uma biomassa "verde". A geração de eletricidade por termoeletricidade (seja pelo aquecimento do vapor de água direto de uma caldeira empregando carvão ou um reator nuclear) apenas transforma uma forma de energia que já estava contida na Terra (carvão, combustíveis fósseis, elementos radioativos) em eletricidade, que é então transformada novamente em ondas eletromagnéticas (luz e calor) nas lâmpadas (de filamento ou vapor de metal). Já para uma geração hidroelétrica ou puramente solar, é aproveitada uma parcela da radiação solar que banha a Terra (o calor do sol faz funcionar o ciclo da água, quere abastecer as hidroelétricas) e, nesse caso, pode-se pensar ainda em um pouco de produção de biomassa algal sustentável sem o emprego de fontes petrogênicas.

Podemos ainda pensar em um caso particular de co-geração, em que alguma outra biomassa residual seja queimada para produzir calor, que alimenta uma turbina a vapor e produz eletricidade, e assim iluminaria uma produção de algas à noite (LOHREY, 2012). Em suma, o conceito da produção de biomassa por luz artificial não é um caso a se descartar simplesmente por empregar eletricidade, deve-se, contudo, observar o ciclo de produção e de vida do produto e atentar para a fonte de eletricidade usada, possibilidade de empregar co-geração ou, até mesmo, descartar a produção diária continua.

Optando-se pela luz artificial, um ponto importante na engenharia do processo é escolher a fonte luminosa adequada para a variedade de alga empregada, isto é, escolher a lâmpada certa. Isso se faz pela análise de dois espectros eletromagnéticos: o de absorção dos pigmentos clorofilianos e acessórios da alga e o de emissão/radiação dos elementos da lâmpada (filamento ou vapor metálico subpressurizado).

Os principais pigmentos clorofilianos das algas são clorofilas A e B (algas verdes), C (algas pardas) e D (algas vermelhas), que, com pequena variação, absorvem bem nas faixas do azul e vermelho (420-450 nm e 643-690 nm). Além desses pigmentos principais, há também pigmentos secundários que auxiliam no seqüestro de fótons e transporte de elétrons, presentes nas algas, como alfa- e beta-caroteno, fucoxantanol e ficoeritrina. Todos absorvem em torno do azul e violeta. Assim, uma lâmpada ideal emitiria toda a energia que consome somente nesses comprimentos de onda, sem desperdícios. Não é assim, porém, pois a lâmpada de filamento de tungstênio, por exemplo, emite mais ondas infravermelhas (calor) que visíveis, e mesmo nas

visíveis, emite uma luz pseudo-branca com uma distribuição ascendente de intensidade para comprimentos de onda crescentes; as lâmpadas de LED branco e vapor de mercúrio têm pico em violeta, azul e verde. Deve-se combinar o espectro de radiação da fonte luminosa com o de absorção da alga para evitar perdas, o que implica, por exemplo, no desenvolvimento de lâmpadas quase-monocromáticas específicas para essa aplicação.

As algas podem fixar CO_2 do ar atmosférico (0.04% ou 380 ppm), de gases industriais de descarga ou até de carbonatos solúveis (Na₂CO₃ e NaHCO₃). Elas suportam até 150.000 ppmv (partes por milhão por volume) de CO₂.

As tecnologias de produção de biomassa algal podem ser classificadas quanto à origem da energia utilizada e vias metabólicas percorridas em: autotrófica, heterotrófica e mixotrófica. A produção autotrófica utiliza radiação luminosa, primordialmente solar; heterotrófica utiliza substrato orgânicos, principalmente carboidratos, e destes a glicose; a produção mixotrófica utiliza as duas fontes.

A produção autotrófica pode ser distinguida ainda pelo tipo de reator empregado para crescimento da cultura, e os dois abordados neste texto são: o cultivo em tanques de recirculação e em fotobiorreatores fechados.

2.5.1 Sistemas abertos "tanques de recirculação"

Este tipo de tecnologia (Figura 2.3) se usa desde 1950 e existe uma ampla experiência em sua engenharia (GOUVEIA *et al.*, 2009; GOUVEIA e OLIVEIRA, 2009; ILLMAN *et al.*, 2000; MANDAL e MALLICK, 2009; YOO *et al.*, 2010). As maiores instalações de produção de biomassa baseadas neste método, ocupam áreas de uns 440.000 m² (SPOLAORE *et al.*, 2006).

Os sistemas abertos se compõem de um circuito de canais por onde circula o cultivo e a mistura mediante uma roda de paletas (paddlewheel) que mantêm homogêneos os nutrientes e os microorganismos. O fluxo é guiado ao redor do sistema por defletores (baffles) dispostos nos canais. Usualmente são construídos de cimento ou terra compactada e recobertos com plástico branco que melhora a captação luminosa pelas algas.

Durante o dia, o cultivo é alimentado de forma continua pela parte inicial, onde a roda de paletas começa a gerar o fluxo. A retirada de rejeitos e microorganismos se realiza pela parte traseira da roda. O sistema de roda que gera a circulação possui um tempo de operação de 24 h, para evitar desta maneira a sedimentação do cultivo.

O resfriamento do sistema se logra simplesmente por evaporação, sendo este aspecto uma das vantagens que possui sobre outras tecnologias, no entanto, a perda de água pode ser significativa. Devido ao intercambio gasoso que realiza este tipo de sistema com a atmosfera, o uso de dióxido de carbono é muito menos eficiente que no caso de fotobiorreatores (MATA *et al.*, 2010).

A produtividade pode-se afetar pela contaminação com outras espécies de algas não desejadas ou com microorganismos que se desenvolvem neste meio. De forma geral, a concentração de biomassa em raceways permanece em níveis baixos devido a que o cultivo está deficientemente misturado e os feixes luminosos não podem penetrar na "zona oticamente escura".

A geração de biomassa a partir de microalgas e a extração de óleo para produzir biodiesel têm sido estudadas e avaliadas de forma extensa nos tanques de recirculação. Estes sistemas são menos caros que os fotobiorreatores devido ao menor custo de construção e operação, mas a produção de biomassa também é menor.



Figura 2.3- Cultivos de microalgas em tanques de recirculação

No cultivo em tanques de recirculação, podem ser utilizados containeres naturais, como lagos ou poças, e artificiais. Águas naturais são extremamente economicamente inviáveis: são águas que podem ter fins mais nobres (alimentação, higiene, indústria, agricultura), não podem ser controladas quimicamente e termicamente e a colheita da biomassa é quase, se não toda, impossível. Os containeres naturais podem ser feitos por lona em covas na terra ou concretizada ou construídos especificamente para esse fim utilizando concreto encerado e impermeabilizado. São geralmente rasos, ovais, em circuito fechado, com recirculação e agitação, em produção contínua (não em batelada), em que os insumos são acrescentados logo após o "pedalinho" de agitação e a colheita é feita imediatamente antes.

Podem ser utilizados aeradores de CO₂ submersos. Comparados aos fotobiorreatores fechados, os lagos de cultivo aberto são a opção mais barata de construção em larga escala. Eles

apresentam vantagens: não competem por terra agricultável e podem ser construídos em terras com produção marginal, requerem menos consumo energético para manutenção, operação e limpeza e podem retornar um balanço energético favorável.

No entanto, suas desvantagens são limitantes: por serem abertos, estão susceptíveis à contaminação de outras espécies de algas e protozoários e baixa produtividade de biomassa. O cultivo em monocultura é possível pela manutenção de um ambiente extremo, mas somente algumas espécies são úteis, como *Chlorella* (super nutrição), *Dunaliella salina* (alta salinidade), *Spirulina* (alcalinidade). No entanto, uma produção por período muito longo acaba sendo contaminada e por isso, essa não é a forma mais indicada para obtenção de compostos puros a partir de alga para indústria farmacêutica, de cosméticos ou alimentícia. Além disso, a contaminação diminui o crescimento da variedade desejada e impossibilita o controle absoluto do sistema de produção.

A produção de biomassa é deficiente por vários motivos: perda por evaporação (que aumenta com o declínio da umidade relativa do ar, temperatura, insolação etc.), flutuação de temperatura no meio (temperatura geral e gradiente de temperatura na água), deficiência na distribuição e transferência de CO_2 (perdas para atmosfera, dissolução de um gás na água pelo tampão H₂CO₃), agitação e recirculação ineficientes e penetração luminosa (comumente uma fina barreira de algas se forma na superfície e impede penetração de luz logo abaixo). A penetração de luz pode ser contornada utilizando sistemas inclinados que promovem a formação de uma barreira fina e descontínua.

2.5.2 Sistemas fechados "fotobiorreatores"

A diferença dos sistemas abertos, os fotobiorreatores permitem o cultivo de uma única espécie de microalga durante um tempo prolongado. São idôneos para produzir uma grande quantidade de biomassa algal (CHEN, 2011).

Os cultivos são realizados em sistemas fechados, em painéis de forma plana ou em forma de serpentinas, espirais ou cilindros, construídos com tubos de plástico, vidro ou policarbonato. Nos fotobiorreatores é possível controlar as condições de cultivo (quantidade de nutrientes, temperatura, iluminação, pH etc.). Isto implica uma elevada produtividade, viabilizando a produção comercial de uma serie de compostos de elevado valor agregado (NICHOLS, B. W, 1965; TEIXEIRA, C, 2007; ABALDE, J., *et al.*, 1995).

O cultivo de microalgas se caracteriza por apresentar diversas vantagens, dentro das quais se destacam: o cultivo de microalgas é um sistema biológico eficiente na utilização de energia solar para produzir matéria orgânica, fato que possibilita maiores rendimentos anuais de biomassa (maior produtividade); sua natureza unicelular assegura uma biomassa com a mesma composição bioquímica, variando as condições ambientais do cultivo (luz, temperatura e nutrientes), por exemplo, muitas espécies podem ser induzidas a sintetizar e acumular altas concentrações de proteínas, carboidratos, lipídios, etc. Os cultivos podem desenvolve-se tanto em água salgada como em água doce.

O desafio para produzir biodiesel a partir de microalgas é lograr baixos custos de produção e uma elevada produtividade em biomassa. As microalgas apresentam elevadíssimas produtividades em biomassa seca, representando menor gasto de área para o cultivo; a produção de biomassa é continua, o meio de cultivo aquoso pode se reaproveitar como fonte de carbono pode ser utilizada o CO_2 residual de processos de combustão (BIANCHINI, 2006).

O valor alcançado de produtividade diária máxima em biomassa de *Spirulina*, de $25g/m^2$.dia, corresponde a 92 t/ha.ano, que em relação à produtividade media dos cultivos tradicionais é cerca de 2.7 vezes superior. Nas Figuras 2.4 e 2.5 se apresentam cultivos na Espanha e Israel.



Figura 2.4-Sistemas de Cultivo de Algas em sistemas fechados em Almería. Espanha



Figura 2.5- Sistemas de Cultivo de Algas em sistemas fechados em Israel

Os fotobiorreatores fechados foram desenhados justamente para superar as limitações dos sistemas abertos. Seu ponto forte principal é a baixa contaminação exterior, o que possibilita cultura e obtenção de monoculturas e compostos para farmácia e alimentação. Também podem ser utilizados para variedades mais sensíveis, que de outra forma sucumbiriam num ambiente selvagem, em competição ou contaminado. Os fotobiorreatores fechados produzem biomassa de forma mais densa, o que reduz os custos de colheita, mas ainda assim sua montagem e manutenção é mais cara que o cultivo aberto. Podem ser classificados quando ao formato em: planos, tubulares ou verticais (tubulares em coluna).

Em geral, fotobiorreatores são reatores transparentes de plástico ou vidro, arranjados em conjunto horizontalmente, verticalmente ou inclinados, com recirculação, agitação e aeração. Os fotobiorreatores fechados planos possuem grande área exposta e um fino meio de cultura, o que cria camadas finas de algas, absorve bastante luz solar, possui alta eficiência fotossintética. São indicados para cultura em massa. Os fotobiorreatores fechados tubulares têm limitação no comprimento do reator, por causa do efeito de acumulação de gases no tubo.

Os fotobiorreatores fechados em coluna são os mais proveitosos, segundo indica a literatura, pois apresenta a melhor mistura, melhor taxa de transferência de gás carbônico, e mais controlável meio de crescimento, são de baixo custo, compactos e fácil de operar. São aerados de baixo para cima e iluminado de fora para dentro ou até mesmo por fibra óptica (internamente).

Diversos parâmetros, dos sistemas abertos e fechados, são comparados na Tabela 2.4. Os custos de um fotobiorreator são mais elevados do que os de tanques, mas a eficiência e o rendimento da biomassa são maiores. Outras vantagens do uso deste sistema fechado em relação

ao sistema aberto são: redução de contaminação, redução de perdas por evaporação, menor ocupação de espaço, e um maior controle das trocas gasosas entre o cultivo e o ar atmosférico. Além disso, a produtividade de biomassa (kg.m⁻³.d⁻¹) em um fotobiorreator é treze vezes maior comparado a um cultivo em lagoa aberta (SUH; LEE, 2003; CHISTI, 2007; UGWU; AOYAGI; UCHIYAMA, 2008).

PARÂMETROS	TANQUES DE RECIRCULAÇÃO	FOTOBIORREATORES
Custo de implantação	Baixo	Alto
Custo de operação	Baixo	Alto
Risco de contaminação	Extremadamente alto	Baixo
Controle das espécies	Difícil	Fácil
Evaporação da cultura	Alta	Insignificante
Eficiência de utilização da luz	Baixa	Alta
Qualidade da biomassa	Baixa	Alta
Reprodutibilidade dos parâmetros	Difícil	Fácil
Controle do processo	Difícil	Fácil
Padronização	Muito difícil	Possível
Ação de chuvas	Afeta a produção	Insignificante
Start-Up	6-8 semanas	2-4 semanas
Produtividade de biomassa	Baixa	3 a 5 vezes > lagoa

T I I A 4	α		1	• • •	• ,	1	1~	1	• 1	1
Toholo 7/1	1 omnorativo	antra oc	doc	nrincingi	c cictamac	do	nroduceo	do	microal	and
1 aucia 4.4-	COMDATALIYO	CHUC US	uos	DITICIDAL	ร รารเตกาสร	uc	DIQUUCAU	uc	microai	1200
										~

Fonte: ADAPTADO DE PULZ (2001); MATA, (2010).

Um estudo comparativo publicado (CHISTI, 2007) corrobora as vantagens da produção de microalgas em fotobiorreatores, em detrimento aos tanques de recirculação. A Tabela 2.5 compara os métodos de produção de biomassa de microalgas para os dois tipos de sistemas. Essa comparação tem como base de cálculo a produção de 100 t de biomassa para os dois sistemas. Considera-se que os dois sistemas adsorvem quantidades idênticas de CO₂, desprezando-se as quantidades perdidas à atmosfera. Os métodos de produção são comparados para combinações ótimas de produtividade e concentração de biomassa que já foram relatadas para os dois tipos de sistemas.

A produtividade volumétrica de fotobiorreatores é 13 vezes maior que taques. Se considerada a produtividade por área, a produtividade no primeiro caso é 100%. As necessidades de área também favorecem aos fotobiorreatores, que é aproximadamente 30% inferior, assumindo uma produtividade igual entre os dois equipamentos.

Os custos de separação também é uma vantagem dos fotobiorreatores: como o inoculo é 30 vezes mais concentrado que nos tanques de recirculação, a separação da biomassa da água é facilitada (MOLINA GRIMA, BELARBI *et al.*, 2003).

Variável	Fotobiorreator	Tanques de Recirculação
Produção de biomassa (Kg)	100.000	100.000
Produtividade volumétrica (Kg/m ³ .dia)	1.535	0.117
Produtividade por área	$0.048^{\rm a}$	0.035^{b}
$(Kg/m^2.dia)$	0.072^{c}	
Concentração de biomassa (kg/m^3)	4	0.14
Taxa de diluição (1/dia)	0.384	0.250
Área requerida (m^2)	5.681	7.828
Rendimento de óleo (m ³ /ha)	136.9 ^d	99.4 ^d
Consumo anual de CO ₂ (Kg)	188.356	188.356
Geometria do sistema	132 unidades de	978 m ² /tanque com 12
	tubos de 80 m, com 0.06	m de largura, 82 m de
	m de diâmetro, em	comprimento e 0.30 m
	paralelo	de profundidade
Número de sistemas	6	- 8

Tabela 2.5- Comparação entre fotobiorreatores e tanques de recirculação.

Baseado em: Biodiesel from Microalgae (CHISTI, 2007).

^a Baseado na área do estabelecimento, ^b baseado na área do tanque, ^c baseado na área projetada dos tubos do fotobiorreator, ^d baseado em 70% em peso de óleo na biomassa, ^e baseado em 30% em peso de óleo na biomassa.

Para as implementações detalhadas na Tabela 2.7, o custo estimado de produção para cada quilograma de biomassa é US \$ 2.95 e US\$ 3.80 para fotobiorreatores e tanques de recirculação, respectivamente. Esses valores não contabilizam os custos do fornecimento do CO₂. A metodologia utilizada para estimar estes custos foi previamente descrita (MOLINA GRIMA, BELARBI *et al.*, 2003). Se a capacidade anual de produção de biomassa ultrapassar 10.000 toneladas, os custos de produção por kilograma se reduzem para US\$ 0.47 e US\$ 0.60, para fotobiorreatores e tanques de recirculação, respectivamente (CHISTI, 2007).

2.6 MICROALGAS COMO MATERIA PRIMA PARA BIOCOMBUSTIVEIS: IMPORTANCIA NO CENARIO ATUAL.

Em 2002, pela primeira vez em uma conferência das Nações Unidas (World Summit on Sustainable Development), se fez explícita a referência de que a energia deve ser considerada como uma necessidade básica humana, entre outras bem especificadas dentro das diretrizes para a sustentabilidade do planeta, que ficaram conhecidas como "Objetivo do Milênio". Com a matriz energética baseada em combustíveis fósseis, a população mundial saltou, em um século, dos 1.5 bilhão para quase 7 bilhões de habitantes. Entretanto, prover energia para a continuidade do acelerado desenvolvimento, com inclusão das populações mais carentes, representa um desafio nunca antes enfrentado pela humanidade (ANDRADE, 2009).

Durante o século passado, os combustíveis fósseis dominaram o cenário energético mundial e, ainda hoje, respondem por 60% do consumo de energia do planeta (ANÁLISE ENERGIA, 2009). Contudo, apesar das fontes ainda disponíveis de recentes descobertas pontuais como a da camada pré-sal, no Brasil, quando se considera o consumo mundial, baseado em 80 milhões de barris/dia, estima-se que as reservas mundiais de petróleo poderão estar exauridas ainda neste século (RATHMANN *et al.*, 2007). Sejam precisas ou não as estimativas, diante do crescimento populacional e das demandas atuais e futuras de consumo (Figura 2.6), elas representam um desafio, cuja perspectiva direciona para uma urgente busca de suprimento energético a partir de fontes renováveis (ATABAN1, 2012).



Figura 2.6- Projeção de consumo do petróleo. Fonte: EPE

O consumo de energia no mundo deverá crescer de 57% no período entre 2002 e 2025 (US DEPARTMENT OF ENERGY, 2005). Em países de economias emergentes como o Brasil, o projetado crescimento econômico implicará no dobro da demanda energética atual, em 2025. Como a maior parte de toda a energia consumida no mundo ainda provém do petróleo, do carvão e do gás natural, que são fontes limitadas e consideradas geradoras de poluição, a substituição, mesmo parcial, dos combustíveis fósseis, por energias renováveis e mais ecocompatíveis vem sendo perseguida há algumas décadas (SHUCHARDT, 1998; ATABANI, 2012).

Mesmo que, tecnicamente, a necessidade de suprimento de energia no Brasil, dentro de curto prazo, aponte para a intensificação das matrizes nuclear e hidroelétrica, as ocorrências, em nível mundial, de impactos ambientais de grande monta relacionadas a essas fontes energéticas geram resistências (ANÁLISE ENERGIA, 2009). Em vista disso e, sobretudo para suprir a demanda de energia no setor de transporte, o Brasil, nas ultimas três décadas, buscou

alternativas aceitáveis, o que tem levado ao desenvolvimento tecnológico baseado no uso da biomassa renovável como matéria-prima. Dois biocombustíveis oxigenados (biodiesel e etanol) receberam maior atenção como possíveis substitutos do petróleo, devido a suas propriedades e características ambientais menos agressivas que as dos combustíveis fósseis (ANDRADE, 2009).

O etanol tem sido produzido no Brasil a partir da cana de açúcar e usado em carros, em total ou parcial substituição (25%), misturado à gasolina. A produção brasileira atual de álcool é de 22.5 bilhões de L/ano. O Brasil ocupa a segunda posição mundial como produtor de álcool, mas a previsão é de um aumento da atual oferta para 53 bilhões de L/ano por volta de 2017 (EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA-MME, 2008), o que representa um incremento de 60% na capacidade atual das usinas e uma ampliação de mais do triplo das áreas de cultivo de cana de açúcar no país. Entretanto, se vencidos os entraves técnicos para a produção de etanol de segunda geração, o Brasil tem a capacidade de duplicar a atual produção com base apenas no uso dos excedentes de bagaço e palha da cana de açúcar, sem ampliar tanto a área plantada.

Os diferentes tipos de biodiesel são ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de fontes renováveis, tais como diversos óleos vegetais, ou gorduras animais, por conversão de triglicerídeos em ésteres, via transesterificação, pirólise ou micro-emulsificação. Entretanto, o processo mais comum de produção de biodiesel é por transesterificação (FUKUDA *et al.*, 2001), que requer uma reação catalisada, química ou enzimaticamente, envolvendo um óleo e um álcool, formando alkil-ésteres de ácidos graxos (biodiesel) e glicerol (co-produto). Metanol e o etanol são os alcoóis mais utilizados nessa reação, não apenas por seu mais baixo custo, como também por suas vantagens físico-químicas, tais como a de ter uma cadeia mais curta e ser mais polar (ZHANG *et al.*, 2003).

Visando ao alcance mais rápido dos objetivos sociais, econômicos e ambientais relacionados à produção de biocombustíveis, o governo brasileiro introduziu oficialmente na matriz energética brasileira, através do Programa de produção e uso do Biodiesel (PNPB). A lei nº11.097 fixa o valor de 5% em v/v, como percentual mínimo obrigatório de adição do biodiesel ao óleo diesel comercializado ao consumidor final, no prazo de oito anos, a partir de sua publicação. Antes do alcance desse prazo, estabelece níveis intermediários, a partir dos 2% (obrigatório desde 2008) de uma parcial substituição do diesel, permitindo a ampliação paulatina, segundo autorizações de Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), com base, sobretudo, na disponibilidade de oferta da matéria-prima e na capacidade industrial para a produção do biodiesel no país. Os 5% de mistura ao diesel resultam no consumo mínimo de 2.4 bilhões de litros do combustível/ano.

O Brasil consome 40 bilhões de litros de diesel por ano, importando entre 15 a 17% deste montante, cujo custo superou dois bilhões de dólares em 2007(ANP, 2007). A mistura do biodiesel ao diesel, (Lei nº 11.097/2005), de 2%, 3%, 5%, até limites comprovadamente seguros do ponto de vista técnico (20%), além dos benefícios econômicos e sociais, por envolver o esperado desenvolvimento na agricultura familiar com o fornecimento de parte da matériaprima, agrega importantes ganhos ambiental pela redução de emissões de gases de efeito estufa. Assim, a possibilidade de emprego de combustíveis de origem agrícola em misturas com diesel (Bx onde o x indica a percentagem da mistura) é bastante atrativa, por se constituir em fonte renovável e por permitir a redução da dependência de importação do diesel (ANP, 2007).

Em função de sua grande biodiversidade e das condições edafo-climáticas, o potencial do Brasil como fonte de biocombustíveis é mundialmente reconhecido, pelo fato de ser um dos maiores potenciais de matérias-primas renováveis do planeta (ORNL, 2008). Em vista da segurança da regulação do setor pelo governo e da garantia de escoamento da produção, as previsões de aumento do uso desse biocombustível na matriz energética brasileira são amplas. Estima-se com base na capacidade instalada de produção, uma grande ampliação das áreas de plantio para obtenção de matéria-prima, desde que a obtenção de biocombustíveis de primeira geração ainda inclui tecnologias de fertilizantes e pesticidas, cujos efeitos (IRIAS *et al.*, 2004; BUSCHNELLI *et al.*, 2008; IRIAS, 2008; SCARLAT *et al.*, 2008) poderão determinar poluição, perdas de habitats, de biodiversidade e, em alguns casos, competição com a produção de alimentos (LIEBREICH *et al.*, 2008; OECD, 2006; ORNL, 2008).

Segundo fontes governamentais, o Brasil dispõe de 90 milhões de ha de terras agriculturáveis, não se incluindo neste total os biomas Amazônia, Pantanal e a Mata Atlântica (PETROBRAS, 2007).

Diante das estimativas de produção de biocombustíveis, envolvendo a necessidade de extensão de uso de terras agriculturáveis para a produção de matérias-primas, é importante considerar as possíveis conseqüências ambientais da parcial substituição dos combustíveis fósseis por biocombustíveis de primeira geração, mesmo que sejam oriundos de cultivos em áreas degradadas, cujo uso diminui, em relação às áreas com cobertura vegetal compacta, o retorno de CO₂ seqüestrado em nível do solo para atmosfera. Risco maior decorre de práticas agrícolas inadequadas, resultando na lixiviação de nutrientes e/ou pesticidas, que poderão poluir os corpos de água.

As vantagens ambientais, como a redução das emissões de hidrocarbonetos e monóxido de carbono (SHARP *et al.*, 2000; CARDONE *et al.*, 2002), bem como SOx (AL-WIDYAN *et al.*, 2002), tornam o biodiesel, em princípio, comparativamente mais eco-compatível que o

diesel fóssil. Entretanto a necessidade de expansões das culturas de oleaginosas para o fornecimento do óleo envolve riscos ainda não devidamente avaliados no Brasil.

RIGHELATO e SPRACKLEN, (2007) estimaram que a substituição de 10% de petróleo e diesel fóssil por biocombustíveis requererá 43% e 38% da área atualmente utilizada com agricultura, respectivamente nos Estados Unidos e na Europa. Apesar de teóricos, esses dados dão uma indicação dos riscos para os ecossistemas e para a biodiversidade.

Outra questão, também de interesse ambiental, é a determinação do quanto o biodiesel, apesar de mais ambientalmente amigável que o diesel (YANG *et al.*, 2000; HAAS *et al.*, 2006) pode ser ecocompatível do ponto de vista toxicológico.

2.7 MICROALGAS COMO MATERIA-PRIMA PARA A PRODUÇÃO DE BIODIESEL.

A vantagem econômica da substituição do diesel por biodiesel está atrelada à necessidade de importação de diesel pelo Brasil. Entretanto, atualmente, o alto custo de óleo extraído de oleaginosas, é o maior obstáculo para a sua ampla comercialização. Usualmente, o preço de produção de biodiesel é 50 a 60% mais alto que o diesel (ANP, 2007). A crescente demanda mundial por combustíveis de baixa emissão de gases de efeito estufa exige a exploração de matérias primas de menor custo e ecologicamente compatíveis. Encontrar um substituto ao mesmo tempo ecocompatível, baixo custo e passível de criar postos de trabalho, é a finalidade que se descortina com o uso das microalgas como matéria-prima para a produção de biodiesel. A biomassa de microalgas é aquela que apresenta a possibilidade de produção de biodiesel que permitirá a substituição total do diesel (cerca de 40 bilhões de litros por ano) e de modo ambientalmente sustentável (TEIXEIRA *et al.*, 2010). As estimativas para a produção de biodiesel por microalgas mostram-se na Figura 2.7.



Figura 2.7- Estimativa para a produção de biodiesel por microalgas Fonte: MATA, 2009.

Com as atuais fontes de matérias primas utilizadas no Brasil e no mundo para a produção de biodiesel, torna-se impossível dar conta do crescimento esperado para este bicombustível segundo mostra-se na Figura 2.8.



Figura 2.8- Consumo de Diesel e participação do biodiesel Fonte: EPE.

No caso de Brasil, é estimado (PÉREZ, 2007) que, para a produção dos 29.5 milhões de ton de biodiesel, necessários para a substituição de todo o diesel utilizado em transporte no país por ano, considerando a soja como matéria-prima, seria necessária a ampliação do cultivo atual em 63 milhões de hectares, enquanto que, utilizando-se microalgas cultivadas em fotobiorreatores como matéria-prima, poderia utilizar para a mesma produção, apenas 55 ha.

Pesquisadores compararam as propriedades de um biodiesel obtido a partir de microalgas com a norma padrão de qualidade para biodiesel e diesel. O biodiesel de microalga atendeu a parâmetros de qualidade, como: flash point, ponto de solidificação, ponto de filtração à frio e acidez. No entanto a viscosidade foi mais alta que a faixa ASTM, conforme mostra a Tabela 2.6.

PROPRIEDADE	BIODIESEL DO ÓLEO DE MICROALGA	DIESEL	PADRÃO ASTM
Densidade (Kg/L)	0.864	0.838	0.86-0.90
Viscosidade (mm ² /s à 40°C)	5.2	1.9- 4.1	3.5-5.0
Flash point (°C)	115	75	Min 100
Ponto de solidificação (°C)	-12	-50 a -10	-
Ponto de filtração à frio (°C)	-11	-3.0 (max -6.7)	verão max 0
			inverno max < -15
Acidez (mg KOH/g)	0.374	max 0.5	max 0.5
Aquecimento (MJ/kg)	41	40 - 45	-
Taxa H/C	1.81	1.81	-

 Tabela 2.6- Comparação das propriedades do biodiesel do óleo de microalga, diesel convencional e padrão ASTM para biodiesel.

A idéia de usar microalgas como fonte de combustível não é nova (GAVRIESCU e CRISTI, 2005). A pesar de ainda não se ter comprovada, para diferentes ambientes e espécies, a rentabilidade e eficiência no uso de microalgas como matéria-prima para o biodiesel, a possibilidade de utilizá-las com esta finalidade foi recentemente demonstrada (BELARBI *et al*, 2000; SANCHEZ MIRÓN *et al.*, 2003; DEMIRBAS, 2011; KROHN *et al.*, 2011; AHMAD, 2011).

Por manipulação das condições de cultivo (nutrientes, por exemplo), muitas espécies podem ser induzidas a sintetizar e acumular altas concentrações de determinados triglicerídeos (TG), ultrapassando 50% de seu peso seco. A produtividade em óleo (massa de óleo produzida por unidade de volume da cultura de microalgas/dia) depende da taxa de crescimento algal e do conteúdo de óleo da biomassa. Por tanto, a seleção de espécies e condições de cultivo para as espécies selecionadas, em função da quantidade e qualidade do óleo produzido, constitui-se, em etapa importante para a inovação, que consiste na produção de biomassa algal como matéria-prima para biocombustíveis (BANERGEE *ET al.*, 2002; METZGER e LARGEAU, 2005; GUSCHINA HARWOOD, 2006; CHEN, 2011).

A geração de biomassa produzida fotossinteticamente (BANERGEE *et al.*, 2002; FEDEROV *et al.*, 2005; GAVRILESCU e CHISTI, 2005; SPOLAORE *et al.*, 2006; KAPDAN *et al*, 2006) é a base de todos os combustíveis dependentes da energia solar (bio-H₂, bio-metano, biodiesel e BTL-biomass to liquid); entretanto, quanto mais crescem a demanda e a capacidade de produção desses biocombustíveis, mais eles necessitam de terras agriculturáveis. Com a incidência solar e a escassez de água, especialmente na região de semi-árido, mesmo com o uso de espécies adaptadas, os custos envolvidos na atividade agrícola poderiam inviabilizar a utilização destas terras para o cultivo de oleaginosas e impedir a inclusão da agricultura familiar, como prevê o PNPB.

Em contraste, o uso de sistemas de cultivos de microalgas provê novas oportunidades de desenvolvimento econômico ambientalmente compatível, especialmente nas zonas semi-áridas, onde se pode implantar uma agroindústria de altíssima eficiência de conversão solar e produtividade em biomassa, com o mínimo uso de água, desde que sistemas de cultivos bem desenhados previnem a evaporação e permite o reuso, com reaproveitamento também de nutrientes. Além de, comparativamente, requerer um muito menor gasto em água, o cultivo de microalgas, possibilita a produção de uma maior quantidade de biomassa por área de cultivo e mais óleo vegetal do que a maioria das oleaginosas (PEREZ, 2007). O cultivo de microalgas para finalidades energéticas ou de sustentabilidade ambiental, é defendido em função das seguintes características:

- As microalgas usam a energia do sol para converter água e CO₂ em biomassa, gerando biocombustíveis potenciais (SHIMIZU, 2003; LORENZ e CYSEWSKI, 2003; METZGER e LARGEAU, 2005; SPOLAORE *et al.*, 2006). Considerando que até 90% do peso da microalga é proveniente do consumo de CO₂ o cultivo de microalgas também serviria como uma fonte fixadora deste gás, limpando o ar. Estima-se que cada tonelada de biomassa algal produzida em determinado tempo, consome 2 toneladas de CO₂ através da fotossíntese. Isso representa 10 a 20 vezes mais do que absorvido pelas culturas oleaginosas (BROWN e ZEILER, 1993). Além disso, esses organismos fotossintetizantes são normalmente usados em ações de bioremediação (MALLICK, 2002; SURESH e RAVISHANKAR, 2004; KALIN *et al.*, 2005; MUÑOZ e GUIEYSSE, 2006) e como fixadores de nitrogênio (VAISHAMPAYAN *et al*, 2001), de modo que a sua cultura alcançaria outros objetivos além da produção de biomassa geradora do biodiesel.
- As microalgas se reproduzem rapidamente. Durante a fase exponencial de crescimento, o tempo de duplicação da biomassa é de praticamente 3.5 h (SPOLAORE, 2006). Em relação ao rendimento em óleo de microalgas é pelo menos quinze vezes maior que de palma, que é a oleaginosa de maior produtividade (PEREZ, 2007). A extração do óleo de microalgas é simples e pode ser realizada por ultra-som, ou com hexano, exatamente como na indústria alimentícia. Os teores de lipídios e triglicerídeos dependem das condições de cultura, sendo que, desde os anos 1940, foram relatados porcentuais bastante elevados, de 70 a 85% em lipídios (FAO, 1997). Porém, da mesma forma que em outros vegetais, nas microalgas, a composição em ácidos graxos varia sob condições

diversas de cultivo (depressão de nutrientes, salinidade e pH do médio de cultura) e, por conseguinte, variam também as suas propriedades físico-químicas como por exemplo, a estabilidade à oxidação (HU *et al.*, 2008). De acordo com (TEIXEIRA e MORALES, 2006), resultados promissores vêm sendo obtidos em relação ao aumento no teor de lipídios na biomassa de microalgas, variando-se as condições do cultivo: *Chlorella* cultivada em diferentes regimes de luz (NICHOLS, 1965); *Naviculla pelliculosa*, em escassez de sílica (COOMBS *et al.*, 1967); *Dunaliella tertiolecta* em diferentes concentrações de cloreto de sódio no médio, chegando a ter 57% de seu peso seco em TG (TAKAGI *et al.*, 2006). Além disso, os TG podem ter a sua composição em ácidos graxos diferenciada, dependendo de fatores como intensidade de luz, temperatura, e isso influenciam na qualidade do bicombustível produzido, como por exemplo, no índice de iodo e na viscosidade, no caso do biodiesel;

- Os custos estimados de produção de microalgas ainda são altos. O custo estimado de produção para cada quilograma de biomassa é US \$2.95 e US\$ 3.80 para fotobiorreatores e tanques de recirculação, respectivamente (CABRAL BORGES, 2010). Esses valores não contabilizam os custos do fornecimento do CO₂. Se a capacidade anual de produção de biomassa ultrapassar 10.000 toneladas, os custos de produção por kilograma reduzem para US\$ 0.47 e US\$ 0.60, para fotobiorreatores e tanques de recirculação, respectivamente, por causa da escala econômica (CHISTI, 2007). Entretanto, comparativamente em relação aos óleos vegetais, os custos de produção de biodiesel, a partir de microalgas podem ser minimizados, considerando-se o valor relativamente baixo para a colheita e transporte (FAO, 1997), o menor consumo de água (SHEEHAN *et al.*, 1998), comparados aos de cultivo de plantas, além do fato do cultivo poder ser realizado em condições não adequadas para a produção de culturas convencionais (FAO, 1997).
- Historicamente, as microalgas, quando em maiores volumes, têm sido produzidas em tanques (raceways). Entretanto, dados de literatura indicam que a produção em fotobiorreatores, além de possibilitar cultural unialgais, provê, em relação aos raceways, uma produção 1000 vezes maior em biomassa/ha, desde que a produtividade volumétrica de biomassa em biorreatores seja 13 vezes maior que em raceways e de 1.5 vezes maior em rendimento em óleo em m³/ha. (CHISTI, 2007). Por outro lado, a perda de água da cultura para recuperação da biomassa é um processo muito mais barato, justamente porque as culturas em reatores são cerca de 30 vezes mais concentrados. Portanto, o uso de fotobiorreatores para o cultivo das microalgas já significa um avanço

tecnológico, com reflexos no preço do produto, e deveria ser utilizado, ao menos, para a produção de inoculo com volumes apropriados para promover rápido crescimento das culturas em tanques abertos, o que promoveria um mais rápido crescimento das algas, diminuindo os riscos de contaminação.

As microalgas podem ser a fonte renovável de biodiesel capaz de alcançar a demanda global de óleos combustíveis, desde que já demonstram potencialidade como matéria-prima (CHISTI, 2007; PEREZ, 2007). Considerando uma média de 35% de lipídios na microalga seca, e um rendimento de extração de óleo de 90%, seriam necessários 257 t de microalgas/dia para substituir todo o diesel consumido no país (40 bilhões de L/ano). O problema do uso das microalgas como matéria-prima para biodiesel reside na seleção de espécies promissoras, suas condições ótimas de cultivo, adaptação e crescimento das culturas (inoculo) em fotobioreatores e, sobretudo, a redução dos custos de produção.

As dificuldades em relação à produção de microalgas para biocombustíveis são identificar cepas com alto teor de TG e de crescimento rápido, fáceis de colher e desenvolver um sistema de cultivo com custo apropriado.

YOO *et al.*, (2010) estudaram a produção de biodiesel e o uso de CO_2 (10%) pelas microalgas *B. braunii*, *C. vulgaris* e *Scenedesmus* sp. e concluíram que a *Scenedesmus* sp. é mais apropriada para absorver CO_2 enquanto que a *B. braunii* é melhor para produzir biodiesel por ser rica em lipídio e possuir boa proporção de oléico (44.9%)

A Tabela 2.7 compara a quantidade de óleo produzido por fontes convencionais e por microalgas e a área requerida para a produção.

PRODUTO AGRÍCOLA	ÓLEO PRODUZIDO (L/HA)	ÁREA PARA PRODUÇÃO (M HA)
Milho	172	1540
Soja	446	594
Girassol	952	248
Canola	1190	223
Jatropha	1892	140
Coco	2689	99
Palma	5950	45
Microalga ^a	136,9	2
Microalga ^b	58,7	4.5

Tabela 2.7- Comparação entre diferentes fontes de matéria-prima para a produção de biodiesel e superfície necessária para a produção.

^a 70% de óleo em peso seco de biomassa; ^b 30% de óleo em peso seco de biomassa. HERNANDES, *et al.*, 2009; CHISTI, 2007b

No entanto, um dos primeiros esforços realizados para a utilização de microalgas para a geração de biocombustíveis foi o estudo feito pelo *Aquatic Species Program*, sendo grande parte desta pesquisa realizada entre 1978-1982. Estes estudos centraram-se no uso de microalgas para a produção de hidrogênio. No entanto, no começo 1980 o programa mudou essa ênfase para outros combustíveis, em especial o biodiesel (SHEEHAN, 1998).

A produção de biodiesel a partir de óleo de microalgas tem sido demonstrada na literatura utilizando a rota convencional (NAGLE, 1990; MIAO, 2006; ATABANI, 2012), que envolve a extração dos lipídios da biomassa de microalgas seguindo sua conversão em biodiesel e glicerol. Desta forma, foram realizados experimentos com três solventes para a extração dos lipídeos da microalga, sendo: 1-butanol, etanol e 2-propanol, sendo o solvente mais eficiente para a extração o 1-butanol (eficiência de 90%), seguido por 2-propanol e etanol. Os ésteres metílicos de ácidos graxos foram obtidos por meio da utilização de 0.6 mol.L⁻¹ de ácido clorídrico em metanol durante 1 hora a 70°C, chegando a conversão de 68% em monoalquil éster (NAGLE, 1990).

Encontra-se ainda na literatura, a utilização de métodos integrados para a produção de biodiesel a partir de óleo de microalgas, utilizando a espécie *Chlorella protothecoides*, em meio heterotrófico. O cultivo heterotrófico proposto resultou no acúmulo de lipídeoos de 55% nas células, sendo estes lipídeos extraídos com n-hexano em extrator do tipo soxhlet. O melhor rendimento dos metil ésteres derivados de ácido graxo foram obtidos com razão molar 56:1 (álcool:óleo), a temperatura de 30°C, com tempo de reação de 4 horas (MIAO, 2006).

Outros autores alcançaram êxito com sistemas heterogêneos para tal produção (UMDU, 2009). Estes, por sua vez, procuraram avaliar o efeito do MgO e CaO suportado em Al₂O₃ como catalisador da reação de transesterificação do óleo da microalga *Nannocloropsis oculata*. Estes autores obtiveram conversão de 97.5%, utilizando uma razão molar de 30:1 (álcool:óleo) a 50°C por 4 horas de reação, utilizando como catalisador 2% (em relação a massa do óleo) CaO suportado em Al₂O₃.

Mais recentemente, processos como a liquefação da biomassa de microalgas com e sem catalisador têm sido utilizados com êxito para a obtenção de ácidos graxos de microalgas com bons rendimentos (BILLER, 2011; HEILMANN, 2011; TOOR, 2011).

No entanto, (TAKAYUKI TAKESHITA, 2011) ao avaliar a competitividade, o papel e impacto do biodiesel microalgal no século XXI, usando o modelo do sistema energético mundial, considera-se que ainda quando o biodiesel de microalgas pode entrar no mercado energético mundial, quatro fatores estão limitando seu desenvolvimento. Primeiramente, a competitividade do biodiesel de microalgas diminui na medida em que aumenta a severidade no

cumprimento das regulações dos gases de efeito estufa, porque os preços do CO_2 não são atrativos. Posteriormente, a produção em grande escala de microalgas significaria a utilização de grandes quantidades de CO_2 e, portanto para cobrir essas demandas seria necessária a produção de CO_2 de fontes não renováveis. Porém, o meio Oriente, África podem se converter nos lidere da produção e exportação de biodiesel de microalgas.

Outro aspecto a ser considerado é que a participação do biodiesel de microalgas no mercado energético mundial pode ter um significativo impacto sobre o subministro e a estrutura do consumo de energia, porque além de substituir uma fonte de energia se necessitará satisfazer as demandas de CO_2 que exige a produção de microalgas. Finalmente, as mudanças nos custos de produção e rendimentos de lipídeos das microalgas têm um grande impacto sobre a competitividade do biodiesel de microalgas. Isso implica, que esforços nas áreas de pesquisa e desenvolvimento deveram ser feitos visando melhorar os custos de produção, para que o biodiesel de microalgas poda disputarem uma parcela significativa do mercado energético mundial.

No entanto, para avaliar o verdadeiro valor das microalgas como uma fonte alternativa de energia, todas as formas de portadores energeticos derivados delas têm que ser tomadas em consideração (TAKAYUKI TAKESHITA, 2011).

2.8 MATERIAS PRIMAS. ESPÉCIES DE MICROALGAS PROPOSTAS

A seleção da matéria-prima é a decisão mais importante a ser tomada, já que o custo da mesma representa entre 60 a 80% do custo total de produção do biodiesel (TEIXEIRA & MORALES, 2006; ATABANI, 2012). Estudos têm mostrado que apesar do alto custo do processo de produção de biodiesel utilizando microalgas, para substituir o diesel de petróleo, essa atividade é possível desde que se encontrem organismos que apresentem altíssimos níveis de conversão da luz solar em biomassa e que se desenvolva uma tecnologia de cultivo com minimização de custos. (CHEN, 2011).

Estudos realizados em tanques, ao longo de um ano, mostraram uma eficiência elevada (superior a 90% na utilização do CO_2 e alta produtividade em biomassa- de $50g/m^2$.dia. No entanto, esta produtividade não era mantida ao longo dos meses do ano, devido à diminuição da temperatura local, problema que pode ser contornado com controle de temperatura. As dificuldades portanto são: encontrar cepas com alto teor de TG, com crescimento rápido, de fácil separação e um sistema de cultivo com custo apropriado.

De acordo com TEIXEIRA & MORALES (2006) resultados promissores vem sendo obtidos em relação ao aumento no teor de lipídios na biomassa de microalgas: *Chlorella* cultivada em diferentes regimes de luz (NICHOLS, 1965); *Navioua pelliculosa*, em estarvação

de silício (COOMBS *et al.*, 1967); *Dunaliella tertiolecta* em diferentes concentrações de cloreto de sódio no meio, chegando a ter 57% de seu peso em TG (TAKAGI & KARSENO YOSHIDA, 2006). Além disso, os TG podem ter a sua composição em ácidos graxos variada, dependendo de fatores como intensidade de luz, temperatura, e isto influencia na qualidade do biodiesel produzido, como por exemplo, no índice de iodo e na viscosidade. Em relação ao sistema de cultivo, é necessário um aumento da produtividade em biomassa, sem acarretar aumento de custos de instalação e operação.

No contexto do estudo aqui tratado, uma variedade ideal teria as seguintes qualidades: ter alta produtividade de lipídeo, ser forte e capaz de sobreviver à tensão de cisalhamento comum em fotobiorreatores, ser capaz de dominar e prevalecer sobre variedades selvagens em cultivo aberto, ter alta capacidade de retenção de CO₂, exigir poucos nutrientes, ser tolerante a uma larga faixa de temperatura, prover co-produtos de alto valor, ter um ciclo de crescimento e produção rápido, ter alta eficiência fotossintética e mostrar características de auto-floculação.

Até o momento, não há variedade que atinjam satisfatoriamente todas as exigências. Há estudos na utilização das espécies do próprio local de produção, que naturalmente prevalecem sobre outras variedades e dominam o ambiente, mas nem sempre essas variedades são as mais indicadas para a obtenção de biocombustíveis, de forma que talvez manipulação genética seja necessária. A engenharia genética e de controle de metabolismo podem influenciar a produção de biocombustíveis por microalgas, mas essa área de pesquisa ainda está em fase inicial.

2.8.1. Scenedesmus dimorphus

Esta microalga pertence à divisão *Chlorophyta*, Clase Chlorophyceae, Ordenm Chlorococcales, família *Scenedesmaceae* e pode encontrar se sozinha ou em duplas formando cenobios. *Scenedesmus* foi selecionada pela capacidade de suportar as elevadas concentrações de nutrientes que contém as águas residuais, por ter atividade metabólica elevada, capacidade de resistir variações ambientais severas e ser um gênero comum em águas residuais. Além de já apresentar dados descritos, e ser de fácil obtenção (LOPES, 2004).

Esta alga tem um conteúdo de lipídeos entre 16-40% (Tabela 2.8). Segundo, pesquisadores, *Scenedesmus* é um alga muito promissória para futuras pesquisas, Figura 2.9. Esta cepa deve ser constantemente agitada mediante seu crescimento porque sedimenta com facilidade. A temperatura para seu crescimento ótimo oscila entre 30-35 °C. *Scenedesmus dimorphus* pode crescer sem dificuldade em qualquer intensidade de luz. A diferença de *Botryococcus, scenedesmus* pode ser isolada de uma grande variedade de fontes comuns, tais como águas residuais.



Figura 2.9- Desenho esquemático (a) e micrografia da microalga *Scenedesmus dimorphus* (b) Fonte: Algae Resource Database

2.8.2 Nannochloropsis oculata

BORGES (2005) avaliou o potencial de absorção de CO₂ de dez espécies diferentes de microalgas. A *Nannochloropsis oculata* foi apontada como melhor opção, devido à sua maior produção e conteúdo lipídico. Essa microalga, que tipicamente tem de 2 a 4μ m de diâmetro, é amplamente distribuída nos oceanos. Microalgas do gênero *Nannochloropsis* também se destacam por serem produtoras de um importante ácido graxo poliinsaturado essencial, o ácido eicopentanoico (BROWN *et al.*, 1997; LOURENÇO, 2006; ZITTELLI et al., 1999; ZOU *et al.*, 2000). A microalga *Nannochloropsis oculata* (Figura 2.10) pertence à divisão *Ochrophyta*, da classe *Eustigmatophycea*e, que compreende oito gêneros e quinze espécies, todas unicelulares cocóides ou coloniais, com distribuição na água doce, no solo úmido e no mar, predominantemente planctônicas. A sua parede celular é rígida e composta de polissacarídeos; a estrutura química do seu produto de reserva não é conhecida, mas sabe-se que não se trata do amido. Por sua facilidade de cultivo, tamanho pequeno, velocidade de crescimento e alto teor de lipídeos (Tabela 2.10) esta microalga é uma promissória matéria prima para a obtenção de biodiesel (ZITELLI, RODOLFI & TREDECI, 2004; LOURENÇO, 2006; SOARES, 2010; DOAN, 2011; MOAZAMI, 2012).



Figura 2.10- Imagem ampliada da microalga *Nannochloropsis oculata*. Fonte: SOARES, 2010.

 Tabela 2.8- Composição típica das microalgas Scenedesmus dimorphus e Nannochloropsis oculata.

% EM RELAÇÃO AO PESO SECO DE BIOMASSA				
	Lipídeos	Proteínas	Carboidratos	
Scenedesmus dimorphus ^a	16-40	8-18	21-52	
Nannochloropsis oculata ^b	32	57	8	
Fonte: ^a BECKER, 1994, ^b BILLER, 2011.				

2.9 CATALISADORES SÓLIDOS ÁCIDOS A BASE DE ÓXIDO DE NIÓBIO

A habilidade de sólidos ácidos poderem ser utilizados como catalisadores esta relacionada á natureza de sua superfície, mais especificamente ao caráter ácido de seus sítios ácidos. Esses sítios podem exibir natureza ácida de Bronsted e de Lewis, os quais influenciam de forma particular as transformações (BRUNNER; CORMA, 1997). Vários estudos disponíveis na literatura buscam estabelecer uma relação entre as propriedades ácidas dos sólidos usados como catalisadores os mecanismos e seletividades das reações. No entanto, em função de uma caracterização incompleta dos catalisadores, existem diferentes pontos de vistas sobre a influência da força e da natureza dos sítios ácidos na catálise. Talvez a complexidade no estudo de catalisadores sólidos ácidos, quando comparados aos líquidos ácidos, seja que nos primeiros a quantidade de sítios, a natureza e a forca ácida diferem em cada região do sólido (CORMA, 1997).

2.9.1 Catalisador de óxido de nióbio. Conceitos fundamentais referentes ao nióbio.

Como metal puro, o nióbio é mole e dúctil, sua estrutura cúbica de corpo centrada permite um fácil deslizamento das suas camadas. Suas propriedades químicas são semelhantes às do tântalo, tais como:

- Alta resistência à corrosão por ácidos minerais, com exceção do ácido fluorídrico; (BATAMACK *et al*, 1996)
- Alta resistência ao ataque pela maior parte das substâncias orgânicas e
- Reage com oxigênio e nitrogênio em temperaturas acima de 300 °C.

2.9.1.1 As reservas de nióbio e suas aplicações

O óxido de nióbio pode ser obtido a partir de dois processos distintos:

1) Do processamento da columbita-tantalita – a Columbita é uma mistura isomórfica entre a niobita - (Fe, Mn) (Nb,Ta)₂O₆ e a tantalita (FeMn)(TaNb)₂O₆ . É o processo mais difundido, em que o óxido de nióbio é obtido como subproduto do tântalo.

2) Do pirocloro, cuja fórmula química é $(Ca,Na)_2(Nb,Ti,Ta)_2O_6(OH,F,O)$ – Este processo é utilizado exclusivamente pela Companhia Brasileira de Metalurgia e Mineração (CBMM), sendo o mais empregado atualmente e responsável por mais de 90 % da produção mundial.

Com o início da exploração, na década de 1950, o nióbio tornou-se abundante e ganhou importância no desenvolvimento de novos materiais. Assim, ligas de nióbio foram desenvolvidas para utilização nas indústrias tanto espacial quanto nuclear e, também, para fins relacionados à supercondutividade. Citando algumas importantes utilizações do Nb₂O₅, temos:

superligas de níquel empregadas como componentes em turbinas de aviões; fios de liga nióbiotitânio supercondutores, utilizados na fabricação de equipamentos de ressonância magnética para diagnósticos médicos; microliga na fabricação de automóveis, podendo ser utilizada para a exploração de óleo e gás; liga leve na fabricação de jóias, por seu brilho levemente azulado quando polido; nanomateriais, dispositivos optoeletrônicos e catalisadores (TAVARES, 2006).

O óxido de nióbio (V) é um sólido insolúvel, de cor branca, sendo estável ao ar e podendo ser muitas vezes descrito como anfótero; no entanto, é mais caracterizado como inerte. Sua estrutura é extremamente complicada e apresenta um amplo polimorfismo (NOWAK et al, 1999).

2.9.1.2 Estrutura da nióbia

O pentóxido de nióbio (Nb₂O₅) apresenta uma estrutura que envolve um octaedro NbO₆ ligado pelas bordas e cantos. A estrutura NbO₂ só existe quando a razão do oxigênio é mantida próxima a dois, por exemplo, um óxido de composição NbO_{2.09} apresenta linhas de difração de raios X que são características do pentóxido, mesmo que contenha somente um pequeno excesso de oxigênio. Reduzindo o Nb₂O₅ (1300 – 1700 °C) se produz o monóxido de nióbio (NbO), de cor cinza, uma estrutura cúbica que apresenta condutividade metálica, as linhas de difração de raios X começam aparecer no NbO_{1.04}, enquanto que os óxidos NbO_{0.94} e NbO_{0.87} mostram linhas de raios X características do metal (NOWAK et al, 1999). O pentóxido hidratado, mais conhecido como ácido nióbio, é obtido a partir de um precipitado branco com indeterminada quantidade de água, isso acontece quando os complexos solúveis do metal são hidrolisados ou quando a solução de nióbia é acidificada. Em solução aquosa existem diferentes tipos de espécies iônicas do óxido de nióbio como: $[NbO_2-(OH)_4 -^3, Nb_6O_{19} -^8, HxNb_6O_{19} -^{(8-x)}, sendo x=1,2 ou 3, e Nb_{12}O_{36} -^{12}]$. Estas espécies presentes são determinadas em função do pH da solução e da concentração do óxido de nióbio, como mostra a Tabela 2.9 (TAVARES, 2006).

pH da solução	Espécies		
>14.5	NbO ₂ -(OH) ₄ ³⁻		
14.5	$Nb_6O_{19}^{-8}$		
11.5	$H_x Nb_6 O_{19}^{(8-x)}$		
6.5	$Nb_{12}O_{36}^{-12}$, $Nb_2O_5.nH_2O$		
3.65	Nb ₁₂ O ₃₆ ⁻¹² , Nb ₂ O ₅ . <i>n</i> H ₂ O		
0.55	Nb ₂ O ₅ .nH ₂ O		

Tabela 2.9- Espécies de nióbia aquoso na faixa de pH de 14.5 a 0.55. Fonte: NOWAK *et al*, 1999.

O óxido de nióbio amorfo aumenta o grau de cristalinidade e forma fases mais estáveis de Nb₂O₅ entre 300 e 1000 °C. Os resultados de JEHNG et al (1991) mostraram uma diminuição muito grande da área específica do óxido de nióbio em função do aumento da temperatura, devido à formação de grandes cristalitos de Nb₂O₅.

Como unidade estrutural o óxido de nióbio amorfo Nb₂O₅.*n*H₂O possui o octaedro distorcido (NbO₆), o pentaedro (NbO₇) e o hexaedro (NbO₈), esse começa a cristalizar em baixa temperatura, a chamada forma **T**, do alemão *tief* para baixo, ou g, a aproximadamente 500 °C, mas, a cristalização ocorre mais rapidamente em altas temperaturas, até aproximadamente 830 °C, quando ocorre à transição **M** ("temperatura-média") ou b, e a forma começa a tomar aparência (NOWAK, I et al, 1999).

Existe também uma fase intermediária, a fase **TT**-Nb₂O₅ (300 - 500 °C) que possui uma célula unitária pseudohexagonal com um defeito constitucional de um átomo de oxigênio por célula unitária, e a forma pentagonal (tetragonal e bipirâmide) com seis ou sete átomos de oxigênio coordenados ao átomo de Nb. Essa transição continua mais rapidamente a altas temperaturas (1000 °C) e aquecida por 4 horas quando ocorre a completa conversão. Até que acima 1000 °C ocorre a terceira transformação, a forma **H** ou a, que é a forma mais estável termodinamicamente. Essas transições polimórficas acontecem lentamente, são irreversíveis, e em temperaturas que ainda não estão bem definidas (NOWAK *et al*, 1999; JEHNG *et al*, 1991).

A forma **H** da nióbia (Figura 2.11-a) apresenta uma estrutura que consiste na formação de blocos de octaedro NbO₆ (3x4 e 3x5) que dividem o canto com o octaedro do seu próprio bloco e a borda com o octaedro em outro bloco. Um dos 28 átomos em cada célula unitária está presente em um sítio tetraédrico, onde ocorre a junção do bloco. A forma **T**, visualizada na Figura 2.11-b, apresenta uma estrutura totalmente diferente, a célula unitária contém 42 átomos de oxigênio posicionados (grandes círculos abertos). Oito íons da nióbia estão presentes como um octaedro distorcido e outros oito íons como uma bipirâmide pentagonal (NOWAK *et al*, 1999; JEHNG *et al*, 1991).

Muitas estruturas do pentóxido de nióbio podem ser agrupadas em baixas e em altas temperaturas, porém o comportamento da cristalização depende do material de partida utilizado, de impurezas que podem estar presentes ou alguma interação com outros componentes. A forma como ocorrem essas interações, afeta as propriedades físicas (mobilidade) e químicas (redutibilidade e acidez) do sistema catalítico contendo nióbia (NOWAK *et al*, 1999).



Figura 2.11- (a) Estrutura do H-Nb₂O_{5.} (losangos) NbO₆ na forma octaedrica, (●) Nb em sítio tetraédrico, (b) Projeção da estrutura paralela do T-Nb₂O₅ no plano [001]; (O) oxigênio, (○,●) Nb no sítio tetraédrico Fonte: NOWAK *et al.* 1999.

2.9.1.3 Propriedades ácidas da nióbia

Diferentes pesquisadores (JEHNG *et al.*, 1990; DENG *et al.*, 1996; MAURER *et al*, 1992) descobriram que a interação do óxido de nióbio com suportes de superfícies básicas resulta na formação de uma estrutura altamente distorcida, enquanto que a interação com superfícies ácidas resulta na formação de grupos NbO₆, NbO₇ e NbO₈. A atividade catalítica da superfície do óxido de nióbio depende do processo de preparação e também está relacionada à ligação Nb=O. Numa reação de adição, por exemplo, o número de coordenação dos átomos de

nióbio influencia os sítios ácidos e, portanto, a acidez, porém, a relação entre a estrutura e a reatividade ainda não está totalmente esclarecida.

O óxido de nióbio hidratado (ácido nióbico - Nb₂O₅.nH₂O) tem uma alta força ácida (Ho= -5,6 ~ -8,2) e apresenta sobre sua superfície sítios ácidos de Lewis, cujo número aumenta com o aumento da temperatura de pré-tratamento acima de 500°C, e sítios ácidos de Bronsted, que são mais abundantes a 100°C e diminuem em alta temperatura.

A Figura 2.12 mostra a estrutura do óxido de nióbio como um possível isopoliácido de composição $H_8Nb_6O_{19}$, apresentando oito prótons sobre oito faces triangulares de um octaedro formado por seis átomos de nióbio. Esses prótons são estáveis e é essa característica que aumenta a força acida do óxido de nióbio (USHIKUBO *et al.*, 1996).



Figura 2.12- Estrutura do nióbio isopoliácido (H₈Nb₆O₁₉) Fonte: USHIKUBO *et al.*, 1996.

Segundo diferentes trabalhos realizados por (JEHNG *et al.*, 1990; DENG *et al.*, 1996; USHIKUBO *et al.*, 1996) o processo de desidratação altera imediatamente a estrutura octaédrica distorcida NbO₆ devido à remoção da água coordenada, mas não perturba, apenas distorce um pouco a estrutura octaédrica NbO₆. Se a distorção fosse forte, ou seja, alta distorção da estrutura octaédrica NbO₆, a ligação estabelecida seria Nb=O a qual está associada com sítios ácidos de Lewis. Já uma distorção leve da estrutura octaédrica, com grupos NbO₇ e NbO₈, só apresenta ligações do tipo Nb-O e estas estão associadas aos sítios ácidos de Bronsted.

Existem, de acordo com USHIKUBO (1996), comportamentos diferentes para a adsorção de água, metanol e etileno sobre uma superfície ordenada do óxido de nióbio (Nb₂O₅), ou sobre uma superfície com defeitos. Os defeitos de formação produzidos pelas vacâncias de oxigênio

representam uma importante função na adsorção de moléculas na superfície do óxido, por exemplo: a água e o metanol são adsorvidos associativamente, e o etileno é fracamente adsorvido na superfície do óxido ordenado à temperatura ambiente, porém, na superfície do óxido com defeito a adsorção de água e metanol acontece de forma dissociativa e torna-se forte a adsorção de etileno. Portanto a vacância do oxigênio, representada na Figura 2.13, está relacionada com a origem da acidez do óxido de nióbio (SILVA *et al.*, 2000).



Figura 2.13- Superfície do óxido de nióbio mostrando a vacância do oxigênio Fonte: USHIKUBO, 1996.

Outro ponto importante para a avaliação das propriedades ácidas é a escolha da base, pois, segundo o conceito fundamental da teoria de Bronsted, a transferência do próton é do ácido para a base, e dependendo do tipo de base e da reação, muitos sítios ácidos deixam de ficar acessíveis na superfície. A água pode ser utilizada como base, pois ela satisfaz muitos requisitos, dentre estes, é uma molécula pequena, capaz de acessar facilmente todos os sítios ácidos. As reações com água são quantitativas e equilibradas, e as espécies formadas podem ser mais facilmente identificadas e sua concentração determinada (BATAMACK *et al.*, 1996).

De acordo com (BATAMACK *et al.*, 1996) existem íons H_3O^+ e espécies $H_2O...OH$, e ocorre um aumento contínuo na concentração de íons H_3O^+ com o número de moléculas de água. Por exemplo, numa hidratação completa 50 % dos sítios ácidos do óxido de nióbio ficam ionizados, com isso apenas um de cada dois sítios ácidos é forte. Tal fato é atribuído ao completo efeito de diluição e ao sinergismo entre sítios ácidos de Bronsted e de Lewis, presentes no ácido nióbico.

Enfim, o pentóxido de nióbio hidratado, $Nb_2O_5.nH_2O$ (ácido nióbico), exibe, consideravelmente, uma alta força na presença de vapor de água, e por todas as propriedades já apresentadas, ele vem sendo estudado e utilizado como catalisador ácido em reações de desidratação, alquilação, condensação e hidratação (OKAZAKI *et al.*, 1990).

É importante ressaltar que o Brasil detém a maior reserva de nióbio do mundo, e o desenvolvimento de tecnologias que utilizem esse elemento é crucial para um melhor aproveitamento e valorização do mesmo.

2.9.1.4 Aplicações catalíticas da nióbia

O interesse em aplicações da nióbia na área catalítica vem crescendo consideravelmente em vários grupos de pesquisas (NOWAK *et al.*, 1999; TANABE *et al.*, 2003; TANABE *et al.*, 1995; ZIOLEK *et al.*, 2003; SUN *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2000; USHIKUBO *et al.*, 2000; WEISSMAN, 1996; ICHIKUNI *et al.*, 1996; BRAGA *et al.*, 2005). Isso se deve ao avanço tecnológico, como as técnicas espectroscópicas, bem como físicas e químicas.

Desde a última década, vem crescendo o interesse em óxido de nióbio com estrutura mesoporosa, preparada só com nióbio ou sob a forma de um óxido misto, contendo, por exemplo: nióbio e molibdênio; nióbio e alumínio; nióbio e tungstênio, assim como outros catalisadores como: sulfetos, nitretos e carbetos à base de nióbia (Figura 2.14) (ZIOLEK, 2003; SUN *et al.*, 2007; SILVA *et al.*, 2000; SHIKUBO, 2000; WEISSMAN, 1996; ICHIKUNI *et al.*, 1996; BRAGA *et al.*, 2005; BRAYNER *et al.*, 2000; SANTOS *et al.*, 1999; GEANTET *et al.*, 1996).

Os compostos de nióbio exibem propriedades especiais, as quais nenhum de seus vizinhos na tabela periódica possui, como: estabilidade e forte interação do suporte com o metal, que são características importantes para um catalisador (TANABE, 2003; TANABE *et al.*, 1995; ZIOLEK, 2003; SUN *et al.*, 2007).

Mas, também exibem pontos desfavoráveis que são as baixas mobilidades de oxigênio e redutibilidade, além do ponto de fusão muito elevado (1512°C). No entanto, para a catálise o mais importante é a temperatura Tamman, na qual os átomos começam a difundir para a superfície.



Figura 2.14- Natureza química e espécies nióbio na catálise heterogênea Fonte: ZIOLEK, 2003.

Para a nióbia a temperatura Tamman é 620 °C, valor não muito elevado, se comparado às temperaturas de reações catalíticas típicas entre 200 e 600 °C (ZIOLEK, 2003).

Outra característica da nióbia importante para a catálise é sua acidez, que é muito dependente da temperatura de calcinação. Depois de calcinado a 400°C, na maioria das vezes, o óxido de nióbio forma sítios ácidos de Bronsted, porém, sob elevadas temperaturas de calcinação aumenta relativamente o número de sítios ácidos de Lewis. Segundo (ZIOLEK, 2003), os sítios de Lewis estão presentes em todos os sistemas de óxido de nióbio suportados, mas os sítios de Bronsted são limitados aos sistemas Nb₂O₅/Al₂O₃ e Nb₂O₅/SiO₂.

O óxido de nióbio e os óxidos mistos de nióbio, incluindo Nb₂O₅-SiO₂, Nb₂O₅-Al₂O₃ e Nb₂O₅ zeólita, têm apresentado resultados interessantes, como a atividade catalítica de Mo-Ni/Nb₂O₅-Al₂O₃ para remoção de enxofre e nitrogênio do gás-óleo mostrou-se muito mais efetiva que o Mo-Ni/Al₂O₃. Isto em função da presença do nióbio no suporte que teria aumentado a acidez da superfície (WEISSMAN, 1996).

Na reação de hidrocraqueamento do cumeno o catalisador Mo/Nb₂O₅ mostrou-se 60 vezes mais efetivo que o Mo/Al₂O₃ (SANTOS *et al.*, 1999). GEANTET *et al.*, (1996) relatam que sulfetos de nióbio exibem alta atividade catalítica em reações de craqueamento e isomerização, pois a atividade intrínseca do NbS₃ é maior do que a de MoS₂.

Quando óxidos diferentes são misturados, materiais com diferentes propriedades ácidas podem ser formados. De acordo com o ponto de vista de (VÉDRINE *et al.*, 1996), que resumiram trabalhos já publicados sobre misturas de óxidos, há três diferentes propostas para explicar a acidez dos óxidos mistos: a primeira é que óxidos mistos podem existir como uma solução sólida, neste caso, o óxido em maior quantidade, porcentagem mássica, impõe seu próprio ambiente de cátions ao óxido em menor quantidade, e se a carga do cátion em menor quantidade for menor que a do cátion em maior quantidade aparece a acidez, especificamente, a acidez de Bronsted, formada em função do balanço dos cátions. A segunda proposta diz que sítios ácidos de Lewis e de Bronsted podem ser formados se no óxido misto, o óxido em menor quantidade preservar o seu número de coordenação ao redor dos íons do óxido em maior quantidade. E, finalmente, a terceira proposta sugere que a acidez aparece no limite onde dois óxidos estão em contato, uma espécie de fronteira.

Após a realização desse trabalho eles mostraram que um óxido misto Nb₂O₅/Al₂O₃, com uma razão molar de 1:1, apresentou propriedades ácidas maiores que a nióbia e a alumina separadamente.

(WACHS *et al*, 2000) descreveram a estrutura e reatividade dos óxidos metálicos do grupo V, inclusive comparando as propriedades físicoquímicas do Nb₂O₅ e V₂O₅. A redutibilidade do Nb₂O₅ é mais difícil que a do V₂O₅, sendo que a área específica do Nb₂O₅ utilizado foi menor (1.9 m²/g) que a do V₂O₅ (3.5 m²/g). Através de experimentos de

quimissorção de metanol a 100°C, foi constatado que o Nb₂O₅ mesmo com uma área específica menor, tem cinco vezes mais sítios ativos em sua superfície que o V₂O₅, isto devido à diferença de morfologia na superfície de ambos os óxidos. Segundo esses autores o método de preparação (oxalato, alcoóxidos ou álcalis) não afeta a estrutura molecular das espécies de nióbia na superfície, mas pode afetar sua dispersão, ou seja, sua densidade superficial. Por exemplo, catalisadores suportados em nióbia possuem em sua superfície sítios das espécies Nb (+5), os quais podem estar presentes de forma isolada (NbO₄) ou na forma polimerizada mono-oxo (NbO₆). No entanto, (SCHMAL *et al.*, 2003), preparando catalisadores suportados Nb₂O₅/Al₂O₃, verificaram que a natureza do precursor de nióbio influencia significativamente a distribuição da nióbia sobre a alumina. Os resultados mostraram que quando o precursor utilizado é o complexo de oxalato de amônia e nióbia, há a formação de multicamadas de nióbia sobre a alumina, de forma homogênea, porém, quando o precursor utilizado é apenas oxalato de nióbio ocorre a formação de ilhas de nióbia sobre a superfície da alumina.

Portanto, a natureza do precursor afeta significativamente a redução das espécies de nióbia. Com base nos resultados os autores concluíram que a adição de óxido de nióbio diminuiu a fração dos sítios ácidos de Lewis (LAS-do inglês Lewis Acid Sites) e aumentou a fração dos sítios ácidos de Bronsted (BAS-do inglês Bronsted Acid Sites), isso ocorreu independentemente do tipo de precursor utilizado.

YANGCHENG *et al.*, (2004) prepararam um catalisador suportado Nb₂O₅/ α - Al₂O₃ para emprego na hidratação de óxido de etileno, produzindo monoetileno glicol. Os resultados apresentados foram melhores que os obtidos com a zeólita HZSM-5 e outros catalisadores sólidos. Este catalisador suportado exibiu uma excelente estabilidade, não havendo desativação após 1000 horas de teste, característica muito importante quando comparada à de outros catalisadores já conhecidos, como o ácido sulfúrico e outros convencionais.

Em trabalho posterior (LI *et al.*, 2005) estudou o efeito do MgAl₂O₄ na acidez do catalisador suportado Nb₂O₅/ α -Al₂O₃ e também na reação de hidratação de óxido de etileno, e verificou que a modificação da α - Al₂O₃ com MgAl₂O₄ leva a um aumento na basicidade e na resistência mecânica do suporte. Esse material mostrou-se menos ácido que a α -Al₂O₃ pura e a acidez do catalisador triplo Nb₂O₅/ MgAl₂O₄/ α -Al₂O₃ diminui com o crescente aumento de MgAl₂O₄, sendo muito mais fraco que a de Nb₂O₅ puro. Apesar dessas alterações, o desempenho do catalisador ainda foi muito bom, havendo apenas uma redução, na seletividade para o produto monoetileno glicol (de 100 % para 90,6 %), porém, a estabilidade permaneceu excelente durante teste de 1000 horas.

REHIM *et al.*, (2006) estudaram reações ácido-base, desidratação de isopropanol a 180 °C, isomerização do 1-buteno a 75 °C e desalquilação do cumeno a 450 °C, utilizando como catalisador uma alumina suportada em nióbia. Os resultados de adsorção de piridina, analisada por infravermelho, mostraram que sítios fracos ácidos de Lewis foram criados pela adição de nióbia na superfície da alumina, ao mesmo tempo em que fortes sítios de Lewis foram cobertos. Os diferentes comportamentos observados nas reações ácido-base ocorreram em função do tipo de reação frente ao nióbio, por exemplo: a diminuição da atividade catalítica da reação de desidratação do isopropanol foi causada pela diminuição da concentração de sítios básicos, determinada por quimissorção de CO. A atividade na isomerização do 1-buteno também diminuiu, porém, neste caso, o principal fator foi a diminuição da concentração dos sítios ácidos de Lewis associados à alumina, pois a adição de nióbia altera as vizinhanças dos sítios da alumina. Por outro lado, a criação de sítios de Bronsted pela adição de nióbia aumentou a atividade da reação de desalquilação do cumeno, sendo que sítios associados à espécie tridimensional da nióbia parecem mais efetivos para essa reação.

BARROS *et al.*, (2008) impregnaram a nióbia em uma zeolita ZSM-5, a fim de atribuir novas propriedades a esse material. De acordo com os resultados obtidos, os autores mostraram que a adição do pentóxido de nióbio diminuiu o volume de poros e a área específica da zeólita, porque o pentóxido de nióbio poderia ter bloqueado os canais e cavidades da ZSM-5. Os resultados de adsorção de piridina, monitorados por infravermelho, indicaram a presença de sítios ácidos de Bronsted e de hidrogênio. Os resultados indicaram a presença de uma monocamada de nióbio na superfície da ZSM-5. Resultado muito semelhante tinha sido obtido por ALMEIDA *et al.*, (2011) ao estudar a esterificação de ácidos graxos com alcoóis na presença de catalisadores à base de nióbio e de óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico para a produção de Biodiesel. Os resultados mostraram que houve perda de área após a impregnação. Esta diminuição na área específica se deve, provavelmente, a ligação dos íons PO4³⁻ ao nióbio com formação de espécie fosfato que seriam responsáveis pelo aumento do diâmetro de poro (REGUERA *et al.*, 2004).

Outros estudos (TANABE, 2003; NOWAK & ZIOLEK, 1999; TITHER, 2001) listam várias aplicações de interesse industrial, nos quais catalisadores contendo nióbio demonstram melhor desempenho do que sistemas catalíticos tradicionais. Nesse contexto, o nióbio apresentase como potencial substituto de catalisadores homogêneos não só devido à sua acentuada acidez, como também pelo fato de ser matéria-prima nacional. Por conseguinte, a aplicação do ácido nióbico é de grande importância econômica e estratégica para o Brasil.

LIMA (2007) testou o uso do óxido de nióbio em pó na hidroesterificação do óleo de mamona e soja para produção de biodiesel. As reações foram conduzidas em um reator autoclave (batelada), onde os reagentes foram misturados sob agitação constante. Nas reações de hidrólise foram observados os efeitos da razão molar água/óleo (5, 10 e 20), da temperatura (250, 275 e 300 °C) e da concentração de catalisador (0, 10 e 20 %) sobre a conversão e a taxa inicial da reação. Nas reações de esterificação foram observadas os efeitos da razão molar metanol/ácido graxo (1.2; 2.1 e 3), da temperatura (150, 175 e 200 °C) e da concentração de catalisador (0, 10 e 20%) sobre a conversão e a taxa inicial da reação. As concentrações de ácidos graxos e ésteres, foram monitoradas, nos tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos, por medidas titulométricas de acidez. Os produtos gerados foram submetidos a análises por cromatografia gasosa e viscosidade. As condições avaliadas como ótimas em termos de conversão (%) após 1 hora de reação, para as reações de hidrólise, para o óleo de mamona (82.30 %) e de soja (84.32 %), foram observadas na razão molar água/óleo 5, conduzida a 300°C com 20 % de catalisador e para as reações de esterificação dos ácidos graxos de mamona (87.24 %) e soja (92,24 %), foram observadas a razão molar metanol/ácido graxo 3, conduzida a 200°C com 20 % de catalisador. Pôde-se observar então uma elevada conversão no processo de hidroesterificação, utilizando como catalisador o óxido de nióbio, que acelerou a conversão em um pequeno intervalo de tempo (30 minutos).

Vale ressaltar que o ácido nióbico, por ser um catalisador heterogêneo, pode-se utilizar no desenvolvimento de processos catalíticos alternativos que trariam um grande impacto na melhora dos processos em termos econômicos e ambientais (DE LA CRUZ, 2004), pois, os catalisadores heterogêneos reduzem os gastos do processo devido à possibilidade de regeneração do catalisador para posterior reutilização, reduzindo os problemas de corrosão e formação de sal, minimizando a produção de efluentes com a remoção apenas física do processo.

Após toda a abordagem apresentada sobre aplicações catalíticas da nióbia, fica evidente o grande potencial que esse material possui sozinho ou com outros óxidos, e como catalisador mássico ou suporte. No entanto, a compreensão do mecanismo das reações ainda contém muitas lacunas a serem preenchidas, em função da dificuldade da própria caracterização da nióbia.

2.9.2 Considerações sobre a alumina

2.9.2.1 Informações gerais

A alumina é hoje um dos produtos inorgânicos puros fabricados em maior escala, e embora sua produção ainda esteja mais voltada para a produção do alumínio na forma metálica, sua aplicação em outras áreas vem crescendo consideravelmente. O desenvolvimento de pesquisas em materiais cerâmicos à base de óxido de alumínio (alumina) tem se intensificado
nas últimas décadas, principalmente, pelo baixo custo e por suas características físicas e químicas. O objetivo das pesquisas atuais é explorar as aplicações potenciais da alumina, que ainda não são aproveitadas integralmente (MISRA, 1986).

A primeira aplicação prática da alumina ocorreu no início do século XX, como isolante para velas de ignição e equipamentos de laboratório, depois vieram as aplicações na eletrônica e engenharia mecânica, isto levando em consideração apenas sua alta resistência mecânica (CONSTANTINO *et al.*, 2002). Nos últimos anos, as aplicações que mais têm despertado o interesse são: material para revestimento (blindagem), instrumentos cirúrgicos, azulejos resistentes à abrasão, pigmentos, e o uso como catalisadores e suportes, este em função de suas diferentes estruturas cristalinas (ANSELL *et al.*, 1997; AUROUX *et al.*, 2003; BAUMANN *et al.*, 2005; CASTEL, 1990; CASTRO *et al.*, 2003; OIKAWA *et al.*, 2004; TETTENHORST *et al.*, 1980; SANTOS *et al.*, 2000).

2.9.2.2 Morfologia da alumina

Apesar da aparente simplicidade da fórmula Al_2O_3 , as características da alumina dependem de uma série de fatores, como; forma cristalina, impurezas e microestrutura. Os estudos já realizados indicam a existência de sete fases cristalográficas principais, que são: alfa, gama, delta, eta, theta, kappa e chi (Figura 2.15), dependendo do precursor e da temperatura na qual o tratamento térmico é realizado.

A α -Al₂O₃ é um óxido de alumínio completamente anidro, preparada a partir dos hidróxidos de alumínio, ou oxi-hidróxidos, acima de 1200 °C, se a temperatura aplicada for menor, então se tem as chamadas aluminas de transição, cada uma com suas respectivas propriedades. O aquecimento de uma gibbsita, por exemplo, a 150 °C gera boemita mi crocristalina, e a 400 °C resulta na série de aluminas gama, que inclui os tipos chi (c), eta (h) e gama (g). Em temperaturas mais altas, cerca de 1000 °C, é formada a série de aluminas delta (d); esta contém muito poucos grupos OH e inclui as variedades kapa (k), theta (q) e delta (d), são muito mais cristalinas que as aluminas da variedade gama (g). As g e h-aluminas raramente são encontradas em fases puras, são conhecidas como aluminas ativadas e são as mais importantes cataliticamente, devido às suas propriedades de quimissorção distintas (CASTEL, 1990; SANTOS *et al.*, 2000).

As aluminas de transição são estabilizadas pelas baixas energias de superfície, e a mais abordada pela literatura é a g- Al_2O_3 , uma forma policristalina com alta área específica, apresentando propriedades estruturais e aplicações muito diversificadas, principalmente, na área da catálise (CASTEL, 1990; CASTRO *et al.*, 2003; OIKAWA *et al.*, 2004; TETTENHORST *et al.*, 1980; SANTOS *et al.*, 2000; CIOLA, 1981).



Figura 2.15- Estruturas cristalinas da alumina Fonte: CASTEL, 1990.

De modo geral o termo alumina é, normalmente, utilizado para designar o conjunto de sólidos iônicos obtidos pelo aquecimento das formas amorfas e cristalinas de $Al(OH)_3$ e AlO(OH). A existência de um grande número de oxihidróxidos de alumínio, diferentes entre si química e fisicamente, foi um fator determinante no desenvolvimento dos vários tipos de alumina (Figura 2.16), que estão atualmente no mercado, pois, a estrutura de uma determinada alumina depende do seu grau de hidroxilação (CASTEL, 1999; SANTOS *et al.*, 2000).

As aluminas totalmente hidroxiladas correspondem aos trihidróxidos $(Al(OH)_3)$ e têm como formas cristalinas a bayerita, a gibbsita e a nordstrandita. Em determinadas condições que impedem a incorporação de hidroxilas, ou sob tratamento térmico, são formados os oxihidróxidos, a boemita e a diáspora. A pseudo-boemita, um oxi-hidróxido pouco cristalino com água em excesso, é formada em substratos planares. Outras formas de alumina são discutidas, porém, não se sabe ao certo se realmente são fases diferentes, ou seja, novas fases; ou apenas distorções do retículo cristalino pela presença de impureza, ou água adsorvida (CASTEL, 1990).



Figura 2.16- Classificação dos oxi-hidróxidos de alumínio Fonte: CASTEL, 1990.

2.9.2.3 Aplicações catalíticas

Nas últimas décadas, houve um aumento do interesse no uso de hidróxidos e oxihidróxidos, como precursores das aluminas de transição empregadas como suportes ou catalisadores. Enquanto suporte catalítico, a alumina é muito utilizada, em função de ser um material de baixo custo e estruturalmente estável, podendo ser preparada com uma grande variedade de volume de poros e distribuição dos diâmetros de poros (CASTEL, 1990; TETTENHORST *et al.*, 1980; SANTOS *et al.*, 2000).

Na área acadêmica, as aluminas puras são amplamente utilizadas há muito tempo, como catalisadores para reações que envolvem a ativação de ligações, por exemplo, hidrogênio-hidrogênio, carbono-hidrogênio e carbono-carbono. Isso evidencia as propriedades químicas da superfície da alumina, que permitem utilizar este material como catalisador em uma série de reações ácido-base, como: isomerização e epoxidação de olefinas, halogenação de aromáticos, desidratação de alcoóis, entre outras (IZUMI, 1997; CASTEL, 1990; CASTRO *et al.*, 2003; OIKAWA *et al.*, 2004; TETTENHORST *et al.*, 1980; SANTOS *et al.*, 2000; CIOLA, 1981).

Um fato importante a ser discutido sobre as aluminas é em relação às questões energéticas dos grupos iônicos presentes em sua superfície, onde a terminação do cristalito é realizada pelos grupos OH.

Há alguns modelos discutindo a existência de diferentes freqüências de estiramento OH, observados pela espectroscopia na região do infravermelho, quando aluminas de transição são expostas à água (LAMBERT *et al.*, 2000; PERI, 1965).

O modelo de Peri (1965), por exemplo, propôs que a g-alumina tem um plano (100) completamente hidroxilado e os íons Al³⁺ estão localizados em uma camada logo abaixo, em sítios octaédricos. A desidroxilação com a remoção aleatória de pares OH foi investigada através

de simulações matemáticas, no início, sem a criação de sítios defeituosos, mas com uma subseqüente formação de defeitos por íons Al^{3+} expostos e íons O^{2-} . Com base nas discussões matemáticas, Peri (1965) identificou espécies na superfície, cujas concentrações eram interdependentes e controladas pela temperatura de ativação da alumina (Al^{+3}), e cinco tipos de grupos OH⁻ cercados por O²⁻ observados por espectroscopia na região do infravermelho.

A Figura 2.17 apresenta a proposta de Peri para os cinco sítios que apareceram após a desidroxilação da δ -alumina a temperaturas entre 600 e 700° C. O grupo OH no sítio **A**, por exemplo, tem quatro óxidos adjacentes e, por isso foi considerado o mais básico, devido ao efeito indutivo dos óxidos, sendo aquele que apresentou o maior número de onda. Seguindo o mesmo raciocínio, o sítio **E** é o mais ácido.



Figura 2.17- Superfície das aluminas antes (a) e após (b) a ativação segundo o Modelo de Peri, sendo que, (+) denota uma subcamada de Al³⁺. Fonte: PERI, 1965.

O outro modelo descrito na literatura foi o proposto por Knözinger e Ratnasamy (LAMBERT *et al.*, 2000), que além de explicar os dados de infravermelho, foi coerente com outros dados químicos e espectroscópicos da época. Os resultados obtidos por Knözinger-Ratnasamy indicaram cinco configurações de grupos OH diferentes na superfície das aluminas (Figura 2.18) e, como estes grupos teriam cargas diferentes, deveriam ter propriedades diferenciadas. A freqüência de vibração foi relacionada à carga residual do grupo OH (sOH) correspondendo à soma da carga do ânion com a carga do cátion, dividida pelo número de coordenação do cátion.

A banda de mais alto número de onda, de acordo com as leituras no infravermelho foi a 3800 cm⁻¹, que corresponde à configuração **Ib**, de carga residual mais negativa, e a banda de 3700 cm⁻¹ corresponde à configuração **III**.

De acordo com isso, as intensidades relativas das bandas de OH variam de acordo com o tipo de alumina estudada, pois, dependem consideravelmente da distribuição na superfície do material (CASTEL, 1990).



Figura 2.18- Configurações do grupo OH na superfície da alumina com suas respectivas cargas residuais (sOH), de acordo com o modelo de Knözinger- Ratnasamy Fonte: CASTEL, 1990.

Os modelos de Knözinger-Ratnasamy (K-R), Tsyganenko–Mardilovich (TM) e Busca– Lorenzelli (B-L) ajudaram a elucidar algumas lacunas sobre as propriedades reativas da alumina. Esses modelos demonstraram a sensibilidade da utilização do infravermelho, ao realizar as medidas dos primeiros vizinhos da hidroxila (OH-Al), e do segundo vizinho, em que o número de anions em volta dos íons Al³⁺ (OH-Al-X) independe se X é um íon óxido ou outro OH.

No modelo B-L (figura 2.19) três vizinhos foram inclusos na representação, porque, para algumas configurações era importante determinar se o íon Al^{3+} estava adjacente ou não a uma vacância de sítio catiônico. Estes sítios poderiam estar presentes de qualquer forma, de acordo com a quantidade de Al_2O_3 , ou seja, uma disposição OH-Al-X-Al era completamente diferente de OH-Al-X- (LAMBERT *et al.*, 2000).

Esta distinção não foi considerada para os grupos II e III no modelo K-R, talvez porque na época não havia muitas possibilidades para fundamentar as discussões, que pudessem explicar que devido à alta diversidade estrutural dessas espécies suas bandas eram mais largas.



Figura 2.19- Configurações das hidroxilas na superfície de uma δ-alumina no modelo de Busca–Lorenzelli (B-L), com base nas freqüências dos estiramentos nOH Fonte: LAMBERT *et al.*, 2000.

Outro fato, que não foi considerado por esses modelos, fora as interações dipolo-dipolo (Figura 2.20), sendo que estas se mostraram importantíssimas no modelo de Peri. O modelo T-M, na realidade, enfatizou que pares OH geminais (OH-Al-OH) poderiam ser encontrados em alguma face, mas, determinava que as interações dipolo-dipolo fossem ignoradas, sem nenhuma justificativa (LAMBERT *et al.*, 2000).



Figura 2.20- (a) Interação dipolo-dipolo entre as hidroxilas na g-alumina no modelo de Peri;
(b) uma representação da interação dipolo-dipolo na configuração geminal das hidroxilas negligenciada no modelo T-M. Fonte: LAMBERT *et al.*, 2000.

Na realidade, ainda há muito a ser discutido, principalmente, a nível nanométrico, mas apesar das discordâncias e questionamentos, há um consenso entre os pesquisadores, de que a adsortividade e as propriedades reativas da alumina são governadas pelas hidroxilas da superfície, ou seja, as espécies OH.

Estudos realizados por calorimetria da dissolução em alta temperatura da alumina (BAGWELL *et al.*,1999; BAGWELL *et al.*, 2001) mostraram que a diferença de entalpia entre as fases alfa e gama, com áreas semelhantes, diminui com o aumento das áreas, o que implica numa menor energia livre de superfície para a gama alumina. Os resultados experimentais não

apresentaram uma diferença significativa na energia de superfície entre os polimorfos hidratados. Os pesquisadores justificaram tal fato em função da adsorção das moléculas de água, que segundo eles, cobriam os defeitos da superfície da alumina ao se ligarem aos íons de coordenação incompleta. Ainda segundo esses trabalhos a molécula de água poderia se adsorver de duas maneiras na superfície da alumina: a primeira, em um processo de quimissorção, existindo como íons hidroxila ligados a Al³⁺ em várias configurações e também poderiam existir moléculas de água quimissorvidas através de pontes de hidrogênio; a segunda seria através de um processo de fisissorção, dependendo da temperatura e da pressão parcial da água.

YANG *et al.*, (2007) corroborou as conclusões anteriores. Segundo este, a diferença de acidez na superfície de uma alumina reflete a diferença de sua composição química e que os íons alumínio afetam, consideravelmente, a acidez, enquanto que os íons óxidos afetam a alcalinidade da superfície. A Figura 2.21 apresenta os três estados da superfície de uma gibsita: o primeiro obtido através da adsorção física da água, o segundo por adsorção química e o terceiro com as pontes de oxigênio (YANG *et al.*, 2007).



Figura 2.21- Os três tipos de estado da superfície de uma gibsita Fonte: YANG *et al.*, 2007.

Comparando os três tipos de oxi-hidróxido de alumínio, pôde-se compreender que a diferença fundamental da morfologia da superfície poderia ser atribuída aos tipos e à combinação de uma ou duas hidroxilas ligadas aos íons alumínio. Quanto mais hidroxilas ligadas ao alumínio, maior a acidez dessa superfície, e quanto mais oxigênios maior a basicidade (YANG *et al.*, 2007).

Peri (1965) já havia divulgado um estudo de adsorção de amônia na δ -alumina por infravermelho, no qual ele fez questionamentos e toda uma discussão dos prováveis tipos de sítios ácidos (Bronsted e Lewis) existentes na alumina. No entanto, a literatura diverge muito quanto ao mecanismo de ação das aluminas como catalisador, alguns pesquisadores defendem a idéia de que somente sítios de Bronsted participam do processo reacional, enquanto outros

acham que os sítios de Lewis são os ativos, e há ainda quem acredita que a atividade é dada em função da acidez total.

Compreender as reações na superfície das aluminas é complexo, porque envolve uma série de fatores como: cinética de hidratação, transformação de fase, inclusão de impurezas, etc. No entanto, é muito importante estabelecer mecanismos reacionais para aperfeiçoar as reações industriais de muitos processos.

2.9.3 Considerações sobre o óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico

O uso de catalisadores ácido-base cria problemas ambientais (efluentes prejudiciais ao ambiente, corrosão, dificuldade de reciclagem do catalisador) ou problemas químicos (reações secundárias). Conseqüentemente, o uso dos catalisadores sólidos ácidos ou básicos tem vantagens como: a fácil separação do meio, ausência de problemas de corrosão e podem ser reutilizados (LOTERO, 2005). A escolha da catálise ácida ou básica depende da matriz energética escolhida. Óleos com alto teor de ácidos graxos livres, como óleo de palma, gordura animal ou óleo de microalgas, produzem alta quantidade de sabão quando a reação de transesterificação é catalisada por base. Neste caso a catálise ácida é a mais adequada, pois possibilita a obtenção dos ésteres tanto pela transesterificação dos triésteres, como pela esterificação dos ácidos graxos livres e isso aumenta o rendimento em relação à catálise básica.

Alguns catalisadores ácidos incluindo zeólitas, resinas de troca iônica, misturas de óxidos metálicos, e Cs-trocado com polioxometalato (POM) (CsxH₃-_xPW₁₂O₄₀), têm sido reportados como ativos para reações de transesterificação ou esterificação (LOPÉZ, 2005; MACEDO, 2006; LOPEZ, 2007; NARASIMHARAO, 2007). No entanto, catalisadores com poros pequenos, como as zeólitas, não são adequados para produção de biodiesel, porque há limitações quanto a difusão das grandes moléculas de ácidos graxos. Resinas de troca catiônica possuem sítios ácidos fortes e ativos, entretanto apresentam baixa estabilidade térmica. Os catalisadores do tipo $CsxH_{3-x}PW_{12}O_{40} x = 2.0-2.3$, têm alta atividade para esterificação, mas a separação destes do meio reacional é problemática. POMs mostraram alta atividade catalítica, entretanto são inadequados para reações de esterificação devido a sua alta solubilidade em meio polar, o que resulta em problemas de separação. Além disso, possuem baixo número de sítios ácidos acessíveis devido a sua baixa área específica (1-10 m²g⁻¹). Óxido de tântalo foi avaliado na reação de esterificação do ácido láurico com etanol na temperatura de refluxo do álcool, e a conversão do ácido após três horas foi inferior a 40% (XU, 2008). A atividade catalítica de catalisadores de nióbio foi avaliada na esterificação do ácido acético com vários alcoóis (OKASAKI, 1993). Na reação do ácido acético com 1-butanol conversões superiores a 90% foram alcançadas. Na reação do ácido acético com 1-decanol a conversão em éster, após 2h de

reação foi de 27.1 com o catalisador calcinado a 300° C (OKASAKI, 1993). Óxido de nióbio e óxido de nióbio impregnado com ácidos minerais foram utilizados como catalisadores na reação de esterificação de ácidos graxos com metanol a temperatura de 160° C e as conversões em ésteres foram inferiores a 57%.

CARVALHO *et al*, (2006), avaliaram as propriedades texturais, ácidas e catalíticas de materiais a base de nióbio na produção de biodiesel, usando (refluxo, 351K e 2h de reação), via transesterificação etílica do óleo de soja. Os autores encontraram que apesar do H₃PO₄/Nb₂O₅ gerar um aumento da densidade de sítios ácidos em relação à nióbia não impregnada, os materiais se mostraram cataliticamente inativos para a produção de biodiesel, provavelmente, pela força e quantidade de sítios ácidos insuficiente dos materiais.

Dando continuidade a esses estudos (BASSAM, 2009) avaliou a atividade catalítica em reações de esterificação do ácido láurico com os alcoóis butílico, isobutílico e isopentílico dos seguintes materiais: óxido de nióbio e do óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico. Os resultados demonstraram que a atividade catalítica do óxido de nióbio (Nb₂O₅.n H₂O) foi aumentada após a impregnação com ácido fosfórico. Foi possível obter rendimentos superiores a 70% nas reações de esterificação do ácido láurico com alcoóis (C₄ e C₅) a pressão ambiente. Os catalisadores se apresentaram promissores para a esterificação de ácidos graxos com alcoóis para a produção de biodiesel.

ZHEN-CHEN *et al*, 2010 ao estudar catalisadores de nióbio impregnados com ácido fosfórico na reação de desidratação do sorbitol obtiveram resultados muito importantes, relacionado a que a impregnação com fosfórico pode evitar a cristalização do óxido de nióbio e porém o fosfato amorfo formado pode manter áreas superficiais relativamente altas, ainda a temperaturas de calcinação elevadas. Outro resultado importante foi o rendimento da reação, 100% quando utilizado o catalisador de nióbio impregnado com fosfórico calcinado a 400°C.

Recentemente, (MENDELSSOLM *et al.*, 2010) utilizaram óxido de nióbio impregnado em H_3PO_4 e H_2SO_4 como catalisadores heterogêneos para a produção de ésteres metílicos, a partir da esterificação de ácido oléico e a transesterificação de óleo de soja com metanol. Rendimentos acima de 70% foram obtidos para as reações de esterificação do ácido oléico e 40% na transesterificação do óleo de soja. Segundo (TANABE, 2003) a acidez do óxido de nióbio calcinado a 300°C é equivalente á 70% da encontrada no ácido sulfúrico. No entanto, a impregnação com ácidos minerais incrementa a fortaleza ácida a 90% da encontrada para o ácido sulfúrico.

2.10 EXTRAÇÃO DE ÓLEO DAS MICROALGAS

A extração do óleo das microalgas é um tópico polêmico atualmente debatido em virtude de seu alto custo e pode determinar a sustentabilidade do biodiesel de microalgas (HALIM, 2012). De acordo com (PÉREZ, 2007), há 5 métodos bem conhecidos para extrair o óleo das sementes oleaginosas, e estes métodos também devem aplicar-se bem para as microalgas:

1. <u>Prensagem</u>: processo simples que consiste em usar uma prensa para extrair cerca de 75% de óleos das microalgas. A extração do óleo é realizada comprimindo as microalgas contidas em determinado volume aplicando pressão mecânica adequada. Muitos fabricantes comerciais de óleos vegetais usam uma combinação de pressão mecânica e de solventes químicos para extrair o óleo.

2. <u>Extração por solventes:</u> o óleo de microalgas pode ser extraído usando produtos químicos como benzeno e o éter etílico; entretanto, um produto químico popular para a extração por solvente é n-hexano, que é de baixo custo. A desvantagem em usar solvente para a extração do óleo são os perigos inerentes envolvidos na manipulação dos produtos químicos. O benzeno é classificado como cancerígeno; os solventes químicos apresentam perigo de explosão. A extração por solvente com hexano pode ser usada isoladamente ou em conjunto com o método de prensagem de óleo. Depois que o óleo foi extraído, a polpa restante pode ser misturada ao ciclohexano para extrair o óleo remanescente. O óleo dissolve-se no ciclohexano, e a polpa é filtrada da solução. O óleo e o ciclohexano são separados por destilação. Estes 2 estágios (prensagem e solvente juntos podem extrair mais de 95% do óleo total contido nas microalgas e ainda existe a possibilidade de reaproveitamento do solvente.

3. <u>Extração fluído supercrítico</u>: este método pode extrair quase 100% de todo o óleo. Entretanto, necessita de equipamento especial para o confinamento e a aplicação de pressão. Neste processo é utilizado CO_2 , que é liquefeito sob pressão e aquecido ao ponto supercrítico em que tem as propriedades de um líquido e do gás. Este fluido líquido atua então como poderoso solvente para extração do óleo.

4. <u>Extração enzimática</u>: esse processo usa enzimas para degradar a parede celular da microalga, liberando o óleo para o meio aquoso. O custo deste processo é estimado ser mais elevado do que a extração por hexano.

5. <u>Choque osmótico:</u> é uma redução repentina na pressão osmótica, que pode causar a ruptura das paredes das células das microalgas em solução. O choque osmótico é usado para liberar componentes celulares, tais como óleo, proteínas, etc.

Para obter de resultados confiáveis na extração de lipídeos de microalgas é necessário o conhecimento das principais classes lipídicas presentes e seus constituintes. O método para

extração deve ser rápido, eficiente e delicado, a fim de reduzir a degradação dos lipídeos e triacilgliceróis. Na extração, os solventes devem ser baratos, voláteis (para serem removidos posteriormente), de baixa toxicidade, puros, imiscível em água e seletivos, ou seja, que não sejam extratores de compostos indesejáveis (MOLINA *et al.*, 1999).

Folch e colaboradores (1957) desenvolveram um método usando uma mistura de clorofórmio e metanol (2:1 v/v), seguida pela adição de solução salina de KCl, visando uma melhor separação das fases lipídicas e aquosa. Bligh & Dyer (1959) modificaram o método de Folch e propuseram um método rápido para extração e purificação de lipídeos totais utilizando clorofórmio:metanol:água (2:1:0.8 v/v). Bligh & Dyer é um método bastante estudado e conhecido pelos pesquisadores da área para determinação de lipídeos totais. Os métodos de Folch e Bligh & Dyer são métodos de extração a frio para que a qualidade da fração lipídica não seja afetada.

O método de extração de Bligh & Dyer, utilizando clorofórmio: metanol (2:1 v/v) para amostras secas foi aplicado em uma grande variedade de materiais como tecido animal ou vegetal e micro-organismos com as microalgas (ZHU *et al.*, 2002). Para o procedimento de extração dos lipídeos de microalgas não é necessária a homogeneização da amostra e a obtenção da fração lipídica é conduzida durante 2 horas na temperatura ambiente (MOLINA *et al.*,1999). A extração dos lipídeos de microalgas é normalmente realizada por processos como prensagem mecânica, a extração por solventes, fluídos supercríticos, utilizando-se enzimas, choque osmótico e extração ultra-sônica assistida. A extração utilizando o processo de prensagem é uma das opções mais simples. Neste processo, é utilizada uma prensa de forma a extrair uma grande porcentagem de óleo, através da compressão das microalgas contidas em um determinado volume de biomassa (PÉREZ, 2007).

A extração por solvente pode ser realizada isoladamente ou em conjunto com o método de prensagem, buscando, assim, um maior rendimento de óleo (PÉREZ, 2007). Em geral, são encontradas na literatura uma ampla variedade de solventes e métodos para a extração dos lipídeos das microalgas. O etanol foi usado na extração dos lipídeos da microalga *Phaeodactylum tricornutum* (MEDINA *et al.*, 2007). Grima e colaboradores (1994) realizaram a extração dos lipídeos da microalga *Isochrysis galbana* na presença dos solventes clorofórmio:etanol:água 1:2:0.8 (v/v), hexano:etanol 1:2.5 (v/v) e 1:0.9 (v/v), butanol, etanol, etanol:água 1:1 (v/v) e hexano:isopropanol 1:1.5 (v/v) . Variando a temperatura e tempo de extração foi constatado que na presença de clorofórmio:etanol:água 1:2:0.8 (v/v) ocorreu um aumento no teor do lipídeo de acordo com o aumento da temperatura .

Para a extração dos lipídeos da microalga *Botryococcus braunii* (OH *et al*, 1998) foram utilizados diferentes solventes como clorofórmio:metanol (2:1 v/v), hexano:isopropanol (3:2 v/v), dicloroetano/metanol (1:1 v/v), dicloroetano/etanol (1:1 v/v) e acetona/diclorometano (1:1 v/v) obtendo o melhor rendimento de 28 % na presença de clorofórmio:metanol (2:1 v/v). O etanol é um solvente bom para extração, porém, extra-i alguns contaminantes como açúcares, aminoácidos, sais, proteínas hidrofóbicas e pigmentos que não são desejáveis na composição dos lipídeos.

Um dos métodos mais utilizados na literatura para este fim é o equipamento de soxhlet, que apresenta algumas vantagens em relação aos outros métodos como estar em constante contato com a amostra, o solvente estar sempre sendo renovado, metodologia simples e sem posterior procedimento para obtenção do óleo. O equipamento de soxhlet também foi utilizado para extração do óleo da *Chlorella prototecoides* na presença de hexano como solvente extrator e sob um tempo de 10 horas e temperatura de 60°C (WU *et al*, 2006). O método de soxhlet é sem dúvida o mais utilizado para extração de óleos devido a sua grande eficiência apresentada perante as matrizes vegetais e animais.

Conforme algumas referências encontradas na literatura, podem ser observadas outras proporções de solventes e tempos utilizados para o processo de extração dos lipídeos de microalgas (Tabela 2.10).

Microalga	oalga Tipo de Solvente		Lipídeos extraídos (%)	
Botryococus sp.	Clorofórmio: metanol (1:1)	3 x 20	11.5	
Scenedemus sp.	Clorofórmio: metanol (1:1)	3 x 20	11.1	
Chlorella vulgaris	Clorofórmio: metanol (1:1)	3 x 20	9.5	
<i>Oedogonium</i> sp.	Hexano: éter (1:1)	1440	9.4	
<i>Spirogyra</i> sp.	Hexano: éter (1:1)	1440	7.3	

 Tabela 2.10- Procedimento de extração e rendimento de extração de algumas microalgas.

Lipídeos polares como fosfolipídeos e glicolipídeos requerem solventes polares, tais como etanol ou metanol, para enfraquecer ligações de hidrogênio que os mantêm. Em microalgas, a fração lipídica pode sofrer alterações em sua composição de acordo com a polaridade do solvente utilizado para sua extração (Tabela 2.11) (MOLINA *et al.*, 1999).

Solvente	Componentes extraídos			
Clorofórmio	hidrocarbonetos, carotenóides, clorofila, esteróis, triacilgliceróis,			
	ceras, aldeídos e ácidos graxos			
Acetona	diacilglicerois, cerebrosídeos e sulfolipídeos			
Metanol	fosfolipídeos e glicolipídeos			
Hexano	hidrocarbonetos, Triacilgliceróis e ácidos graxos			

Tabela 2.11- Composição da fração lipídica das microalgas de acordo com o solvente extratorFonte: MOLINA *et al.*, 1999.

A solubilidade dos lipídeos pode ser prevista qualitativamente pela análise estrutural das moléculas que compõem a fração. Há dois tipos de associações que ocorrem para os lipídeos: i) forças de Van der Waals nos lipídeos apolares (triacilgliceróis); ii) ligações de hidrogênio e forças eletrostáticas nos lipídeos polares (fosfolipídeos e glicolipídeos). Os triacilgliceróis por estarem ligados por forças de Van der Waals, podem ser extraídos com solventes apolares como hexano e de média polaridade como o clorofórmio (NELSON, 1991).

As propriedades como o momento dipolar (μ) e a constante dielétrica (ϵ) podem ser levadas em consideração para o melhor entendimento dos componentes extraídos das frações lipídicas, que por conseqüência podem ser afetados de acordo com a polaridade de cada solvente (Tabela 2.12). De acordo com o conceito de polaridade uma molécula apolar é aquela em que a posição média de todos os centros das cargas positivas, coincide com o centro das negativas (μ =0). Numa molécula polar existe uma separação de cargas, ou seja, os centros não coincidem (μ ≠0) (SOLOMONS, 2005).

Solvente	Fórmula	μ	3
Hexano	$C_{6}H_{14}$	0	1.89
Ciclohexano	$C_{6}H_{12}$	0	2.02
Benzeno	C_6H_6	0	2.28
Tolueno	C ₆ H ₅ CH ₃	0.36	2.38
Clorofórmio	CHCl ₃	1.01	4.81
Dietiléter	$C_2H_5OC_2H_5$	1.15	4.34
Diclorometano	CH_2Cl_2	1.60	9.08
Etanol	C ₂ H ₅ OH	1.69	24.3
Metanol	CH ₃ OH	1.70	32.6
Etilenoglicol	HOCH ₂ CH ₂ OH	2.28	37.5
Acetona	CH ₃ COCH ₃	2.88	20.7
Água	H_2O	1.85	78.5

 Tabela 2.12- Momento dipolar e constante dielétrica de alguns solventes.

 Fonte: SOLOMONS 2005.

Para a obtenção do biodiesel a partir de microalgas vários passos estão envolvidos no processo como: o cultivo, a colheita, extração dos lipídeos (rompimento da parede celular), e a

reação de síntese do biodiesel (transesterificação) (OH *et al.*, 2010). Na produção de biodiesel o rompimento da parede celular para extração dos lipídeos é um aspecto que deve ser considerado (TAKEDA,1988).

TAKEDA (1993) classifica as microalgas de acordo com a composição dos sacarídeos da parede celular. OKUDA (2002) discute a diversidade das camadas celulares, por exemplo, as divisões de Clorophyta, Rhodophyta, Ochrophyta apresentam parede celular celulósica; Prymnesiophyta têm parede celular composta por CaCO₃, quitina e celulose; microalgas da espécie Diatomáceas apresentam sílica em volta de suas células; Euglenophyta apresentam uma película de proteína e Cyanobactérias têm parede de mureína (peptídeoglicano) com camada externa lipopolissacarídica. Dessa forma dependendo da microalga deverão ainda ser realizados investimentos em tecnologias de ultrasonicação, homogenização por alta pressão, moagem, presença de solventes orgânicos, microondas e outros procedimentos visando à quebra de parede celular.

O processo de desidratação das microalgas é comumente aplicado para aumentar o tempo de conservação desses micro-organismos. Muitos métodos são aplicados, por exemplo, em espécies como *Chlorella, Scenedesmus e Spirulina* como o *spray-drying, drum-drying e sun-drying*. Devido ao alto teor de água no interior dessas células, o *spray drying* não demonstra ser muito efetivo e é economicamente inviável para produtos de baixo valor, como biodiesel e proteínas (MATA *et al.*, 2010).

Para a extração dos lipídeos com solvente normalmente utiliza-se a biomassa liofilizada, sendo a liofilização um eficiente método que reduz qualquer tipo de degradação da matériaprima. A ruptura da parede celular por choque osmótico é utilizado para liberar componentes celulares de organismos, como o óleo (OH *et al.*, 2010).

As microondas, que quebram as células usando o choque de ondas de alta freqüência, foram sugeridas recentemente como uma técnica para a extração de óleos vegetais (CRAVOTTO, 2008; VIROT, 2008). A ultrasonicação rompe a parede e a membrana da célula devido a uma cavitação. O efeito foi amplamente utilizado para romper células microbianas e a parede celular da diatomácea *Chaetoceros gracilis* (PERNET, 2003). As técnicas de quebra da parede celular são utilizadas para permitir uma melhor penetração do solvente no interior da célula. Embora nenhuma técnica padrão exista, a ultrassonicação parece ser um dos métodos mais comuns para assegurar acesso livre aos solventes e a subseqüente extração os lipídeos (PERNET, 2003).

Para a extração dos lipídeos das microalgas *Chlorella vulgaris*, *Scenedesmus* sp. e *Botryococcus* sp., foram aplicadas as técnicas de trituração, autoclave, choque osmótico, microondas e ultrassonicação anteriormente à adição de solvente clorofórmio:metanol (2:1 v/v), visando o rompimento da parede celular. Neste caso, a utilização de micro-ondas e a trituração aumentaram significativamente a quantidade de lipídeos extraídos (OH *et al.*, 2010).

Na extração dos lipídeos de algumas microalgas, o auxilio com equipamentos para quebrar a parede celular, quando comparados com os métodos convencionais (extração por solvente), melhoraram o poder de extração do óleo. Por exemplo, na presença de microondas e ultrassom, os tempos da extração foram reduzidos e os rendimentos foram aumentados entre 50-500% em massa. No caso da microalga marinha Crypthecodinium cohnii, o ultrassom proporcionou um aumento no rendimento de 4.8% em soxhlet para um resultado considerável 25.9% de óleo (WANG et al., 2008). Conseqüentemente, a quebra e uso de solvente apropriados proporcionam um aumento na quantidade de lipídeos extraídos (OH et al., 2010). No método de extração por fluído supercrítico, utiliza-se o CO₂. O gás é submetido à pressão até que se liquefaça, em seguida é aquecido ao seu ponto supercrítico, onde apresenta propriedades tanto de líquido quanto de gás. A extração de óleo acontece, pois este fluído líquido atua como solvente. A extração dos lipídeos a partir de amostras liofilizadas da microalga Chlorella vulgaris foi estudada por MENDES e colaboradores (1995), que foram submetidas a CO₂ supercrítico a temperaturas de 40 e 55 °C e pressões de 20 e 35 MPa. Os rendimentos de extração dos lipídeos foram aumentados de acordo com o aumento da pressão. Esse método de extração também foi aplicado em espécies de microalgas como a Spirulina platensis (FIORENTINI et al., 2006).

Uma tecnologia ideal para a extração dos lipídeos das microalgas necessita ser não só específica aos lipídeos a fim de minimizar a coextração de compostos não lipídicos (tais como proteínas e hidratos de carbono), mas também tem que ser seletiva para acilglicerois (FAJARDO *et al.*, 2007; MEDINA *et al.*, 1998). A tecnologia escolhida deve ser eficiente (tanto em termos de tempo como de energia), não reativa com os lipídeos, relativamente de baixo custo (tanto em termos de capital de custo como em termos de custo de funcionamento) e segura (KATES, 1986). Além disso, seria economicamente vantajoso se a tecnologia de extracção de lípidos seleccionada, podesse ser aplicada diretamente á matéria-prima relativamente úmida (HALIM *et al.*, 2011).

2.11 TECNOLOGIAS DE OBTENÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DE MICROALGAS

O processo de produção de biodiesel é feito em termos gerais, pelos estágios elementares indicados na Figura 2.22. A água, nutrientes, CO_2 e luz são fornecidos aos sistemas de cultivo (aberto, fechado ou híbrido) para a produção da biomassa de microalgas ricas em lipídios. O CO_2 fornecido pode ser proveniente do ar ambiente, ou também os sistemas de cultivo podem ser acoplados á fluxos ricos neste gás, procedentes de emissões industriais, tais como os de usinas de energia elétrica.

A biomassa produzida é separada das águas residuais e os nutrientes são reciclados para o estágio inicial de produção da biomassa. Os óleos são extraídos a partir da pasta de microalgas, sendo depois transformado em biodiesel e glicerina geralmente mediante a transesterificação (alcalina ácida ou enzimática). Este esquema conceitual pode incluir medidas adicionais que permitam inserir a produção de biodiesel como uma etapa no processo integral de aproveitamento da biomassa algal (CHISTI, 2008, SCHENK *et al.*, 2008).



Figura 2.22- Esquema conceitual do processo de produção de biodiesel a partir de microalgas. Fonte: CHISTI, 2008, SCHENK *et al.*, 2008.

2.11.1 Transesterificação in situ

O preço da matéria prima para a produção de biodiesel tem influência direta no custo final deste bicombustível, em geral, cerca de 70-80% do custo é proveniente da matriz utilizada para a produção (SHI H., 2008). A fim de reduzir o custo, uma série de esforços tem sido realizados, como a seleção de matérias primas de menor valor agregado ou simplificação de processos.

Estudos recentes sobre a produção de biodiesel a partir de microalgas têm sido focados no desenvolvimento de uma alternativa tecnológica chamada de extração simultânea e transesterificação. O processo também conhecido como transesterificação direta ou transesterificação in situ combina a extração e a transesterificação numa só etapa. O método envolve a adição do catalisador ácido e o metanol puro á biomassa de microalgas geralmente na forma de pô seco. O metanol extrai os lipídeos da microalga que são transesterificados na presença do catalisador para a produção dos ésteres metílicos de ácidos graxos (WAHLEN *et al.*, 2011).

A utilização de fluidos supercríticos, bem como o processo de produção que apresente redução das unidades de processamento, aponta como alternativas aos processos convencionais, com o intuito de reduzir os custos finais. (MACÍAS-SÁNCHEZ, 2005). Estas reações apresentam-se como um método seguro e rápido, sem causar danos ambientais e, ainda, necessitando menos energia no processo global. Tendo em vista que o custo do equipamento ainda é mais elevado, este processo é compensado pela rapidez da reação, melhor rendimento e menor custo de purificação do biodiesel obtido (KUSDIANA DANDA, 2001).

Segundo alguns autores a transesterificação não catalítica com álcool supercrítico, ou seja, alcoóis submetidos a extremas pressões e temperatura podem apresentar vantagens em relação ao método convencional (CAO, 2005), como por exemplo, a ausência de procedimentos de remoção dos resíduos de catalisador e produtos saponificados após a reação, bem como ausência do pré-tratamento do óleo vegetal para eliminação de água e ácidos graxos livres, pois este método não é sensível a estes contaminantes (KASTEREN J.M.N, 2007).

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

A transesterificação utilizando metanol no estado supercrítico poderia, portanto, ajudar na simplificação do processo de conversão, reduzindo potencialmente o custo do processo global, minimizando conseqüentemente os custos do produto final (KASTEREN, 2007). Este método também pode ser considerado vantajoso para uso com microalgas, tendo em vista a dificuldade da extração e purificação do óleo destas.

A alcoólise direta do óleo da biomassa comparada à rota convencional vem sendo apresentada com valores maiores de rendimentos de biodiesel (HARRINGTON, 1985). A aplicação do processo de transesterificação in situ utilizando catalisadores homogêneos ácidos para a produção de biodiesel a partir da biomassa não é um método atual. Esta metodologia já foi avaliada em 1985, utilizando como matéria-prima sementes de girassol (HARRINGTON, 1985). Usando o método in situ os autores, obtiveram um aumento no rendimento em biodiesel de até 20% em relação ao processo convencional. Essa melhora foi atribuída por estes autores a melhor acessibilidade do ácido utilizado na reação ao óleo da biomassa (HARRINGTON, 1985).

Devido ao conteúdo em ácidos graxos livres nos lipídios das microalgas, a catálise é considerada viável como rota de síntese para conversão a monoésteres alquilicos. A transesterificação in situ também foi estudada por outros autores (SILER-MARINKOVIC, 1998). Na ocasião estes investigaram dois níveis de temperatura e varias condições de reação, como por exemplo: o álcool, a razão molar, a concentração do ácido e o tempo de reação. Sob as condições estudadas, o melhor rendimento em monoésteres metílicos foi de 98.2%, obtido em uma proporção molar de metanol:óleo de 300:1, concentração de ácido de 100% e tempo de reação de 1 hora. O uso de ácido na transesterificação in situ também foi estudado para a conversão em monoésteres etílicos de ácidos graxos de soja e de ácidos graxos livres e óleo de farelo de arroz por (EHIMEN, 2009), no entanto os valores não foram satisfatórios.

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

Recentemente foi publicado um estudo avaliando as principais condições operacionais da transesterificação in situ de microalgas (EHIMEN, 2010). Neste, foram consideradas as seguintes variáveis: volume de metanol (20, 40, 60, 80, 100 mL) em relação à biomassa (15g), temperatura (23, 30, 60, 90 ⁰C), tempo de reação (entre 1 e 12 horas) e a agitação do meio reacional (sem agitação, agitando na primeira hora, agitando com intervalos de 1 hora e agitação constante, todos em 500 rpm).

Além disso, o efeito da umidade da biomassa da microalga no processo de conversão também foi estudado. Os melhores resultados da transesterificação in situ foram encontrados quando foi utilizado 60 mL de metanol com 15 g de biomassa microalgal, a temperatura de 60 ⁰C, chegando a 92% de conversão com 1 hora de reação e agitação constante (EHIMEN, 2010).

Em relação à umidade estes mesmos autores puderam observar que esta variável afetou negativamente o processo, sendo que o valor limite para inibir a reação foi encontrado acima de 31.7%. Chegaram à conversão de 81.7% com 0.7% (base seca) de umidade. Desta forma o processo de secagem da biomassa não pode ser negligenciado, sendo observados melhores valores de conversão quando se utiliza amostras completamente secas. A investigação do teor de umidade para o processo de transesterificação in situ da biomassa microalgal é importante, uma vez que sua secagem é um dos passos determinantes na economia do processo de produção de biodiesel de microalgas. Avalia-se que cerca de até 30% do total dos custos de produção estejam associados a este parâmetro (BECKER, 1994).

2.11.2 Liquefação

O precipitado derivado da centrifugação das microalgas, com alto teor de umidade, poder ser usado como matéria-prima para a liquefação (FAO, 1997). A liquefação hidrotérmica direta em condições subcríticas da água é uma tecnologia que pode ser empregada para converter biomassa úmida a combustíveis líquidos. A liquefação é feita em solução alcalina a uma temperatura de aproximadamente 300°C, à pressão de 10MPa, sem hidrogênio e/ou monóxido de carbono (MINOWA, YOKOYAMA *et al.*, 1995) e com a utilização de uma autoclave de aço inoxidável , com mistura mecânica. A autoclave é carregada com o precipitado das microalgas, seguido da introdução de nitrogênio para purgar o ar residual. A reação é iniciada com o aquecimento da autoclave a uma temperatura fixa e elevada pressão de nitrogênio. A temperatura é mantida constante por um período de 5 a 60 minutos, sendo em seguida resfriada (AMIN, 2009).

A reação é extraída com diclorometano para separar as frações. O extraído do diclorometano é filtrado da mistura de reação, sendo o solvente residual em seguida filtrado e evaporado a 35°C, sobre pressão reduzida, remanescendo um material viscoso marrom escuro. A fase aquosa resultante depois da extração com diclorometano (fração insolúvel) é lavada com água e filtrada do solvente insolúvel (MINOWA, YOKOYAMA *et al.*, 1995).

O resultado da liquefação das microalgas é um óleo pesado, com rendimentos de 30 a 44%, com a composição de 73% de carbono, 9% de hidrogênio, 5% de nitrogênio, 13% de oxigênio. O poder calorífico é de 34.7 kJ/g, e sua viscosidade é de 860 cps (FAO, 1997).

Um estudo relatou um rendimento em óleo de aproximadamente 37% (base orgânica) por liquefação hidrotérmica direta a 300°C e 10 MPa, a partir de *dunaliella tertiolecta*, com teor de umidade de 78.4%. O óleo extraído na reação com temperatura de 340°C e tempo de residência de 60 minutos obteve uma viscosidade de 150 a 330 mPas e poder calorífico de 36 KJ/g ((MINOWA, YOKOYAMA *et al.*, 1995). Em outro estudo, o óleo foi recuperado de

Botryococcus braunni, com um rendimento máximo em óleo de 64%, em base seca, obtido por liquefação a 300°C, catalisado com carbonato de sódio (AMIN, 2009).

Recentemente (P. BILLER *et al.*, 2011) estudaram o processo hidrotérmico das biomassas de *Chlorella* e *Nannochlorospsis* oculata usando catalisadores heterogêneos (Co/Mo/Al₂O₃ e Pt/Al₂O₃). Os resultados mostraram que sobre condiçoes hidrotérmicas, a produtividade do óleo é incrementada ligeramente quando são utilizados catalisadores heterôgeneos. No entanto, o valor calorífico e o nível de de-oxigenação aumentam acima do 10%.

(HEILMANN, 2011) ao estudar a carbonização hidrotérmica de microalgas conseguiu isolar ácidos graxos, carvão, nutrientes e água rica em nutrientes. Com o alto conteúdo lipídico da microalga pesquisada (*N. oculata*), 92% de ácidos graxos foram isolados por extração com solvente da fração carbonosa e 8% por extração do filtrado. A reação foi feita a 200°C, concentração de biomassa de 7.5%, durante 2 horas.

Todos estes resultados indicam que os ácidos graxos derivados do processo hidrotérmico de microalgas podem ser uma fonte promissória de biocombustíveis líquidos (HEILMANN, 2011).

2.11.3 Hidroesterificação

Um dos maiores problemas encontrados na produção de biodiesel pelo método da transesterificação está na aquisição das matérias-primas, que devem ser de baixa acidez e baixo teor de umidade o que restringe o método a uma pequena gama de matérias-primas, sendo estas na sua maioria de custo elevado. Outro agravante deste processo está no fato de ser desenvolvido na presença de catalisadores alcalinos homogêneos, que apesar de favorecerem elevados rendimentos, provocam a formação de sabão no produto formado e a difícil separação entre o éster e o glicerol.

Os trabalhos realizados até então, buscando-se a produção de um biodiesel oriundo de microalgas, apontaram como major dificuldade para uma produção economicamente viável, o alto custo de produção da biomassa seca e da extração do óleo. Ambos os aspectos podem ser resolvidos mediante a utilização do processo de hidroesterificação

O processo de hidroesterificação (hidrólise seguida de esterificação) se insere neste contexto como uma alternativa ao processo convencional de produção de biodiesel, Figura 2.23.

$\begin{array}{c} \text{Triglicerideo} & \clubsuit \\ O \\ H_2 C - O - C - R_1 \\ 0 \\ HC - O - C - R_2 \\ 0 \\ H_2 C - O - C - R_3 \end{array}$	Água ⇒ 3 H ₂ O	Acido Graxo $+$ O $HO - C - R_1$ O $HO - C - R_2$ O $HO - C - R_3$	Glicerol H ₂ C - OH HC - OH H ₂ C - OH	Hidrólise
Ácido Graxo – O HO – Č – R ₁	- Metanol ⊏ CH ₃ OH	⇒ Biodiesel $H_3C - O - C - R_1$	+ Água H ₂ O	Esterificação

Figura 2.23- Processo de Hidroesterificação.

A hidrólise ácida favorece a completa transformação dos triacilglicerídeos, presentes no óleos de baixa acidez em ácidos graxos livres, que podem ser esterificados para formar ésteres (biodiesel). Pode também ser realizada a partir de qualquer matéria-prima, independente do teor de ácidos graxos livres e da umidade encontrados.

No Brasil existem pelo menos três fábricas que desenvolvem esse processo de hidrólise. Estas fábricas obtêm perto de 99% de conversão. A hidrólise aumenta a acidez da matéria-prima descartando a necessidade da remoção de ácidos graxos realizada no refino.

Após a hidrólise o processo de esterificação pode ser realizado com os ácidos graxos formados. O glicerol não sofre qualquer alteração por parte de interações com o metanol ou com o biodiesel, uma vez que é removido ao final do processo de hidrólise. A esterificação gera então o biodiesel e como subproduto a água, que pode ser reutilizada no processo de hidrólise, fechando o ciclo (Figuras 2.24 e 2.25).





Uma planta de grande porte para a produção de biodiesel através da transesterificação apresenta custos em torno de US\$ 70/ton (capacidade elétrica, vapor, produtos químicos e trabalho) de biodiesel (DEDINI/BALLESTRA & CROWN IRON, 2007). No processo de hidroesterificação (hidrólise seguida de esterificação) na ausência de catalisadores homogêneos e ácidos inorgânicos de lavagem, os custos de operação ficam em torno de US\$ 35/ton. Em uma planta de biodiesel de 100.000 toneladas/ano este processo está em torno de US\$ 3.5 milhões/ano.



Figura 2.25- Área total para uma planta de produção de biodiesel (Hidroesterificação).

Atualmente o mercado conta com uma elevada gama de matérias-primas, que podem ser usadas e transformadas em biodiesel de qualidade com rendimentos bastante elevados (98%). O processo de transesterificação não pode ser eficientemente aplicado a materiais brutos. Aproximadamente 80% dos custos de gastos de produção do biodiesel são atribuídos aos custos com matérias-primas.

Estudos do processo de hidroesterificação são dificilmente encontrados na literatura. LIMA (2007) estudando o processo de hidroesterificação dos óleos de mamona e soja obteve as maiores conversões, para a esterificação do ácido graxo de mamona (87.24%) e para o ácido graxo de soja (92.24%), na presença de catalisador (20%), temperatura (200°C) e maior razão molar (3). CHENARD, *et al.*, (2009) estudaram este mesmo processo com óleo de pinhão manso puro e misturado com óleo de mamona, obtendo conversões de 86.60% e 88.35% respectivamente.

2.12 VANTAGENS AMBIENTAIS, TECNOLÓGICAS, SOCIAIS E ECONÔMICAS

A crescente demanda mundial por combustíveis de baixa emissão de gases de efeito estufa exige a exploração de novas matérias primas e tecnologias de menor custo e ecologicamente compatíveis. Encontrar um substituto ao mesmo tempo verdadeiramente ecocompatível, barato e passível de criar postos de trabalho, é a finalidade que se descortina com o uso das microalgas como matéria-prima para a produção de biodiesel. (ANDRADE *et al.*, 2009).

2.12.1 Aspecto ambiental

A questão ambiental é a verdadeira força motriz da produção de combustíveis limpos. O consumo de combustíveis fósseis derivados do petróleo apresenta um impacto significativo na qualidade do meio ambiente. A poluição do ar, as mudanças climáticas, os derramamentos de óleo e a geração de resíduos tóxicos são resultados do uso e da produção desses combustíveis. A poluição do ar das grandes cidades é, provavelmente, o mais visível impacto da queima dos derivados de petróleo. Tal poluição é decorrente principalmente da emissão de gases tais como CO_2 , CO, NO_x e SO_x (HOLANDA, 2004) (SHAHID e JAMAL, 2008).

O efeito da maior concentração desses gases na atmosfera é um agravamento do efeito estufa de forma que a temperatura média da Terra tende a aumentar trazendo graves conseqüências para a humanidade (Figura 2.26). Segundo relatório do Painel Intergovernamental sobre Mudanças Climáticas, a temperatura média do planeta subirá de 1.8 a 4°C até 2100, provocando um aumento do nível dos oceanos, inundações e ondas de calor mais freqüentes (RICHARDS, 2007).



Figura 2.26- Variação da temperatura da terra: 1000-2100. Fonte: (PORTAL IPCC)

As projeções das mudanças climáticas futuras (Figura 2.27) mostram que é previsto um aquecimento global no século 21, esperado como o maior na terra, sendo mais alto em latitudes norte, e menos intenso sobre o oceano sul e partes do norte do oceano Atlântico.

O IPCC (Intergovernmental Panel on Climate Change) analisou as projeções em dois cenários B1 e A1B (PORTAL IPCC). O primeiro descreve um mundo convergente com a mesma população global, com introdução de tecnologias eficientes limpas e renováveis. O segundo cenário descreve um mundo futuro de crescimento econômico muito rápido, com introdução rápida de novas e mais eficientes tecnologias, no sistema de energia com contrapeso através de todas as fontes (fontes fósseis intensivas e fontes de energia não fósseis).

O crescimento econômico (provocado pelo consumo de combustíveis fósseis derivados do petróleo) apresenta um impacto significativo na qualidade do meio ambiente. A poluição do ar, as mudanças climáticas, os derramamentos de óleo e a geração de resíduos tóxicos são resultados do uso e da produção desses combustíveis.



Figura 2.27- Projeção da mudança da temperatura na superfície terrestre Fonte: (PORTAL IPCC)

No Brasil, o 4º relatório do IPCC revela os impactos causados pelas mudanças climáticas. No nordeste, as áreas semi-áridas e áridas vão sofrer uma redução dos recursos hídricos. A vegetação semi-árida provavelmente será substituída por uma vegetação típica da região árida. Nas florestas tropicais, é provável a ocorrência de extinção de espécies. Além disso, a recarga estimada dos lençóis freáticos irá diminuir dramaticamente em mais de 70%

(comparado aos índices de 1961-1990 e previsões para década de 2050). As chuvas irão aumentar no sudeste com impacto direto na agricultura e no aumento da freqüência e da intensidade das inundações nas grandes cidades como Rio de Janeiro e São Paulo (PORTAL WWF).

No futuro, o nível do mar, a variabilidade climática e os desastres provocados pelas mudanças climáticas devem ter impactos nos mangues. De 38 a 45% das plantas do cerrado correm risco de extinção se a temperatura aumentar em 1.7°C em relação aos níveis da era préindustrial. Hoje, o planeta já está 0.7°C mais quente que na época pré-industrial (PORTAL WWF). Na Amazônia, eventos climáticos extremos altamente inusitados já foram relatados, como a seca de 2005. Grandes perdas de biodiversidade ocorrerão com um aquecimento de 2.0°C a 3.0°C acima dos níveis pré-industriais (PORTAL WWF). Dessa forma, o consumo de combustíveis fósseis derivados do petróleo tem um significativo impacto na qualidade do meio ambiente, motivando a busca por fontes renováveis e menos poluidoras. Para superar o desafio de atender à crescente demanda por energia, de forma sustentável, é necessário buscar alternativas energéticas que levem à produção de combustíveis de segunda e/terceira geração (utilização da biomassa lignocelulósica de rejeitos e utilização da biomassa algal, respectivamente), o que reduziria em muitos os riscos ambientais. Já é tecnicamente possível produzir etanol de celulose em escala industrial, e microalgas como matéria-prima para a geração de biocombustíveis, restando apenas a otimização dos custos, possível de se conseguir com os avanços tecnológicos (ANDRADE, 2009).

O cultivo de microalgas como matéria-prima requer, comparativamente às plantações, um menor gasto em água, provendo uma maior biomassa por área de cultivo e mais óleo vegetal por unidade de biomassa seca. Além de possibilitar novas oportunidades de desenvolvimento econômico ambientalmente compatível e um mínimo uso de espaço. A biomassa algal pode ser base de tecnologias alternativas de produção de energia de segunda e de terceira geração. O uso de microalgas como matéria-prima para biocombustíveis é convergente:

Com o PNPB (Plano Nacional de Produção u Uso do Biodiesel), engloba-se em suas bases a busca da sustentabilidade econômica, ambiental e social. Uma vez demonstrada a viabilidade técnica de obtenção de óleo a partir das microalgas, a um custo menor do que o da produção do óleo de oleaginosas está se alcançando a viabilidade econômica; considerando que o cultivo de microalgas não exige grandes áreas de cultivo, não compete com a produção de alimento, possibilita a reutilização da água e o reaproveitamento da biomassa, após da extração do óleo, além de seqüestrar o CO₂, estará assegurada a viabilidade ambiental; com o fato dos cultivos de microalgas poderem ser implantados em áreas semiáridas, provendo emprego e renda, alcança-se também a viabilidade social. (ANDRADE, 2009).

Com o PAC (Programa de Aceleração do Crescimento) da Ciência e Tecnologia, que tem em suas prioridades os biocombustíveis, gerando inovação que leve ao desenvolvimento. Inovações na tecnologia promovem a economia de energia e água nos processos produtivos;

Com as exigências de Lei dos Países importadores. No mundo atual os negócios confrontam uma série de regulações ambientais e sociais, diretivas regionais e acordos internacionais, além de um aumento de demanda por produtos mais competitivos e ecocompatíveis, que possam levar ao desenvolvimento sustentável (ANDRADE, 2009).

Além da produção de biodiesel, outros produtos biológicos a partir de microalgas podem ser ambientalmente sustentáveis, economicamente eficientes e rentáveis, se combinados com processos, tais como águas residuais (WU *et al.*, 2012). Na verdade, vários estudos demonstraram o uso de microalgas para a produção de produtos de valor combinado com aplicações ambientais (DEMIRBAS, 2011; HARUN, 2011).

2.12.2 Aspecto tecnológico

Uma das grandes vantagens tecnológicas na produção de biodiesel a partir de microalgas é que ela pode ser concebida como parte de uma estratégia integral de aproveitamento da biomassa de algas.

As algas têm características para ser matéria-prima para a produção sustentável de biocombustíveis avançados e produtos químicos verdes. No entanto, a produção de biocombustíveis avançados e bioprodutos a partir de algas, devem superar alguns desafios na comercialização, em questões específicas de produção em larga-escala. Uma grande parte da pesquisa de algas em todo o mundo está focada no desenvolvimento de tecnologias economicamente viáveis de colheita e otimização do refino dos produtos finais.

A composição da biomassa das algas é dependente das espécies selecionadas e do ambiente no qual as células são cultivadas. Algumas espécies têm uma grande preferência por lipídeos como material de armazenamento e outros se tornam ricos em amido e açúcares.

Dependendo da composição dos hidrocarbonetos e do açúcar, a biomassa pode ser processada para biodiesel por transesterificação, ou biogasolina e biojetfuel através de hidrocraqueamento ou processados para etanol, através de fermentação ou pirólise térmica (formação de gás de síntese).

Subprodutos dessas reações podem ser usados como matéria-prima nas linhas de processamento ou fluxo de produção da indústria química atual em operação.

Recentemente foram desenvolvidos novos tipos de sistemas de produção de algas que podem ser diretamente integrados a uma biorefinaria existente ou usinas de eletricidade movidas a gás ou carvão mineral que tornam todo o processo viável.

Biorefinarias são semelhantes às refinarias de petróleo no conceito, no entanto, biorefinarias usam matéria prima renovável ou insumos biológicos sustentáveis (diferente das que usam petróleo e outros combustíveis fósseis) para produzir combustíveis de transporte, produtos químicos, aquecimento/resfriamento e eletricidade.

Um sistema integrado implica não só que a biomassa de algas alimenta diretamente a biorefinaria, mas também a direta utilização dos efluentes e gases de exaustão exaustores (por exemplo, gás de síntese, metano, calor, o dióxido de carbono, esgoto, etc) pela biorefinaria ou usina de energia em nossos novos sistemas de produção de algas. Isto abre o caminho para uma produção robusta em massa de biocombustíveis a partir das algas e de produtos químicos finais com custos compatíveis aos sistemas atuais.

A idéia geral do conceito de Biorrefinaria Aquática (aplicável a microalgas) é o processamento de biomassa algal para obtenção de produtos e subprodutos de valor agregado, calor e energia. A utilização da biomassa aquática oferece a possibilidade de um significativo aumento na disponibilidade de biomassa doméstica para processamento em biorrefinarias, devendo ser considerada especialmente por regiões com oferta limitada de biomassa. O esquema do processamento em uma Biorrefinaria aquática é representado na Figura 2.28.



Figura 2.28- Esquema geral do conceito de uma Biorrefinaria Aquática Fonte: REE e ANNEVELINK, 2007.

Em resumo, bio-refinarias à base de algas é uma realidade completamente possível de ser implementada.

2.12.3 Aspecto social

Como o cultivo de microalgas é uma proposta relativamente nova e poucos dados existem sobre o assunto, o impacto social de um projeto de microalgas, no que tange à oferta de postos de trabalho, é algo ainda a ser estabelecido com segurança (ANDRADE, 2009). O governo associou a produção de biodiesel a um selo social, prevendo que, pelo menos 1/3 da produção de biomassa possa envolver trabalhadores de baixa renda e grupos familiares. O cultivo de microalgas, ao se ampliar para suprir as demandas de biodiesel poderá efetivamente empregar mão-de-obra não especializada, no trabalho da biodigestão da biomassa e na obtenção do óleo.

O controle dos sistemas de cultivo e da produção terá que ser feito por técnicos especializados. Como uma formação específica é esperada desses técnicos, a empresa voltada para a produção do biodiesel pode propor ou dividir responsabilidades, por cursos técnicos de formação. Dessa forma a proliferação dos cultivos será mais rápida, considerando-se, nesta previsão, a produção de óleo a custos mais baixos. Cursos profissionalizantes de pós-graduação serão requeridos para formar pessoal capaz de inovações tecnológicas que levem ao progresso da atividade, com barateamento de custos (ANDRADE, 2009).

Sempre que se fala sobre o aspecto social das microalgas está associado ao fato da geração de emprego. No entanto, muito pouco é dito sobre o enorme potencial delas na alimentação e saúde humana, elementos intimamente relacionados com o aspecto social.

As propriedades nutritivas das algas marinhas são conhecidas há anos, mas sabe-se menos sobre as virtudes alimentares das microalgas. Estas são extremamente ricas em vitaminas e oligoelementos e possuem um teor elevado de proteínas. A composição em ácidos graxos de algumas espécies é ótima, com elevado teor de Omega-3 e têm a mesma quantidade de hidratos de carbono de outras espécies vegetais.

2.12.4. Aspecto econômico

Os trabalhos realizados até então, buscando-se a produção de um biodiesel oriundo de microalgas, apontaram como major dificuldade para uma produção economicamente viável, o alto custo de produção da biomassa seca e da extração do óleo. No entanto, acredita-se que, as vantagens econômicas no processo de produção de microalgas devem ser baseadas no custo de produção de biomassa. Com economia de escala, os preços da biomassa algal podem ser competitivos (a partir de 2006, o custo do óleo vegetal mais barato já eram 35% maior que petrodiesel), desde que a microalga produzida em sistemas apropriados, possa render, em óleo, 50 a 70% do peso úmido da biomassa (CRISTI, 2007).

É possível ainda, diminuir os custos de produção do biodiesel a partir das microalgas, utilizando-se processos de biorefinaria, através do qual, cada componente da biomassa, após da retirada do óleo, pode ser utilizado para a produção de outros subprodutos. Estudos recentes (CABRAL BORGES, 2010) sobre um modelo de biorrefinaria que utiliza o processamento de microalgas como matéria prima e que considera que as unidades utilizariam o CO₂ emitido por chaminés industriais para o crescimento da cultura, logo, as unidades de cultivo devem se adjacentes às fontes de emissões, aponta a uma redução importante dos custos com equipamentos, energia e logística.

Além disso, as microalgas podem gerar aproximadamente 5.3 vezes mais energia por área por ano, quando comparado ao bioetanol proveniente da cana de açúcar (álcool e bagaço), totalizando uma geração de 871.59 GJ.ha⁻¹.ano, sendo o bioetanol 163.9 GJ.ha⁻¹.ano. (CARVALHO, 2010).

Em geral, as dificuldades associadas com a produção de biodiesel a partir de microalgas são bem conhecidas. DELRUE, (2012), conclui que um dos desafios-chave não é a produção de óleo (para o biodiesel) a partir de microalgas, mas microalgas produzem altas concentrações de óleo e, portanto, como otimizar a colheita e extração do óleo a partir delas. No entanto, para LEE, (2011); ATABANI, (2012) o biodiesel de microalgas requer para seu desenvolvimento, um forte apoio econômico governamental.

2.13 CARACTERÍSTICAS DO BIODIESEL DE MICROALGAS

O biodiesel das microalgas não é significativamente diferente do biodiesel produzido dos óleos de plantas oleaginosas. Entretanto, algumas diferenças podem existir (CHISTI, 2007; BUCY, 2012):

1. As microalgas produzem muitos poli-insaturados, que podem apresentar um problema da estabilidade, já que níveis elevados desses ácidos graxos tendem a diminuir a estabilidade do biodiesel. Porém os poli-insaturados também têm o ponto de congelamento muito mais baixo que os mono-insaturados ou saturados; assim, o biodiesel de microalgas deverá ter propriedades muito melhores para clima frio do que o biodiesel de oleaginosas. Já que uma das atuais desvantagens do biodiesel é o seu desempenho relativamente pobre em baixas temperaturas, parece promissor que o biodiesel de microalgas melhore bem este desempenho.

2. A diferença mais significativa é, entretanto, referente ao rendimento do óleo extraído das microalgas para produzir biodiesel. De acordo com algumas estimativas, o rendimento em óleo de microalgas é cerca de 200 vezes maior que o rendimento obtido com a mais produtiva entre as plantas oleaginosas (CHISTI, 2007).

Mesmo com tudo parecendo perfeito, Alguns pesquisadores apresentam ressalvas à produção de biodiesel de algas. Um deles é a falta de testes reais feitos com biodiesel de algas em carros. O outro é que o cultivo em lagoas abertas é extremadamente arriscado, pois a água deve estar em uma temperatura exata, além do dióxido de carbono que deve ser bombeado nas lagoas e há um alto risco de contaminação. No entanto, existem exemplos de utilização de biodiesel de microalgas com sucesso, menção especial para a petroleira BP e a produtora de óleo MARTEK BIOSCIENCES CORPORATION. Elas vão trabalhar juntas na produção em larga escala de biodiesel de algas a partir da fermentação de algas microbianas. A petroleira investirá cerca de US\$ 10 milhões no projeto.

Outro bom exemplo foi concretizado em dezembro de 2008 quando uma companhia aérea dos Estados Unidos fez o primeiro teste de vôo com biodiesel proveniente de uma combinação de derivados de algas e óleo de pinhão manso como combustível em um Boeing 737, sem tripulantes a bordo. A demonstração do vôo com o bicombustível teve a finalidade de testar uma nova geração de combustíveis, mas com uma produção sustentável que poderá ajudar as empresas a diminuir os custos de petróleo e reduzir a emissão do carbono que contribuirá para um ambiente mais limpo e acrescentará novos empregos na economia.

A vantagem que teremos no futuro por esta situação é que o óleo de microalgas não precisa competir com as oleaginosas alimentícias que hoje são usadas na produção do biodiesel, como é o caso do óleo de soja no Brasil e o óleo de canola na Europa, em suma poderão suprir em grande parte a necessidade mundial de biodiesel. Porém, no futuro próximo a demanda de biodiesel produzido a partir de algas crescerá substancialmente.

CAPITULO 3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 MATERIAIS

Todas as reações de hidroesterificação foram realizadas no laboratório GREENTEC da Escola de Química/UFRJ, em um reator tipo autoclave (Parr Instruments Inc. - Modelo 4842), de aço inoxidável, com volume útil de 300 mL e pressão máxima de trabalho de 3.000 psi. Este reator tem controlador de temperatura e pressão. Também agitação e manta externa para aquecimento (Figura 3.1).



Figura 3.1- Reator autoclave.

Outros materiais foram utilizados, tais como: Balanças analíticas e semi-analíticas, Estufa, Utensílios diversos como béqueres, erlenmeyers, buretas, espátulas, funis de separação. Os compostos químicos utilizados foram: Álcool metílico 99.9% (Tédia Brasil), Solução alcoólica de fenolftaleína (10%), Solução 0.25N de NaOH, Clorofórmio (p.a), Óxido de nióbio (Nb₂O₅), cedido pela CBMM, com área superficial 142.50 m²/g, Ácido fosfórico (MERK) e Alumina (Al₂O₃) do tipo γ -Alúmina, fornecida pela Fabrica Carioca de Catalisadores (FCC), com área especifica de 188.44 m²/g.

3.2 MATERIAS PRIMAS

biomassas Foram utilizadas as das microalgas Scenedesmus dimorphus е Nannochloropsis oculata, cultivadas a partir da coleção de cultivos microalgais do Departamento de Ecologia da Universidade de Málaga. A colheita das mesmas se realizou na fase exponencial do crescimento e o crescimento celular foi acompanhado mediante medição de peso seco. Para a seleção das microalgas tive-se em conta a disponibilidade de biomassa, o teor de lipídeos e o sistema de cultivo utilizado. Scenedesmus dimorphus foi cultivada a céu aberto e sobre residual líquido suíno no cultivador do tipo filme descendente (Figura 3.2). No entanto, Nannochloroposis oculata foi cultivada num fotobioreactor tubular (Figura 3.3).



Figura 3.2- Cultivador de filme descendente utilizado no cultivo de *Scenedesmus dimorphus*



Figura 3.3- Fotobioreator utilizado no cultivo de Nannochloropsis oculata.

3.3 OBTENÇÃO DA BIOMASSA ALGAL

A suspensão algal de *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata* foi coletada na fase exponencial de crescimento, lavou-se exaustivamente com água comum e concentrou-se em uma centrífuga de fluxo continuo (ALFA LAVAL) até aproximadamente um 10% de sólidos. A pasta resultante, (Figura 3.4 a) foi submetida a um aquecimento intensivo a 100°C durante três minutos para desativar a enzima clorofilase e posteriormente, foi liofilizada. O pó verde escuro com conteúdo de umidade de 7% foi conservado em sacolas plásticas para sua posterior utilização (Figura 3.4 b)



Figura 3.4- Pasta resultante após a centrifugação (a) e alga liofilizada (b).

3.4 PREPARAÇÃO DOS CATALISADORES

Os catalisadores mistos alumina-nióbia (denominados X%NbAl), em que X representa a porcentagem em massa de nióbia (Nb) em relação à massa de alumina (Al), foram preparados com três composições: 5%NbAl, 12.5%NbAl, 20%NbAl, isso com o objetivo de obter catalisadores mais ativos que aluminas e nióbias puras, buscando um efeito sinérgico entre os dois óxidos.

Foi empregado o método de impregnação úmida que consiste em impregnar o suporte como uma solução de algum composto da espécie catalítica. Primeiramente, prepara-se uma solução do composto de uma concentração apropriada para obter grãos ou cristalitos do tamanho desejado na superfície. A proporção adequada de promotor também é dissolvida na solução. Tanto o composto que gera a espécie ativa como o promotor devem-se decompor facilmente a temperaturas não muito elevadas. Em seguida, coloca-se o suporte formando uma suspensão, sob agitação em um evaporador rotativo BioVera-RV06-ML, para evaporar suavemente (60-80°C) a água até se obter a deposição dos solutos sobre o suporte. O sólido é seco na estufa a 110°C (12h) e calcinado a 300°C (2h), com taxa de aquecimento de 10°C.min⁻¹ sob fluxo de ar (60mL.min⁻¹). Evapora-se até quase a secagem, obtendo-se a precipitação de todo o soluto sobre o suporte. O suporte antes de ser utilizado foi calcinado por 1 hora a 300°C para remoção de água e possíveis materiais orgânicos indesejáveis.

A impregnação do óxido de nióbio se deu como descrito por Santos (1990). Preparou-se uma suspensão na qual se adicionou 3 mL de solução aquosa de 1 mol/L de ácido fosfórico para cada grama de óxido de nióbio. Essa suspensão permaneceu sob agitação por 48 h, para posterior centrifugação, secagem e calcinação. Já o óxido de nióbio, cedido pela CBMM, foi apenas calcinado a uma temperatura de 300° C por duas horas.

3.5 CARACTERIZAÇÃO DOS CATALISADORES

A caracterização dos catalisadores foi realizada no Laboratório (GREENTEC), Laboratório de Termoanálise e Reologia da Escola de Química/UFRJ e no Laboratório de Serviço Central de Apoio à Pesquisa (SCAI) da Universidade de Málaga na Espanha.

3.5.1 Composição Química

Para determinação da composição química dos catalisadores foi utilizada a técnica de fluorescência de raios X (FRX). Foi utilizado um espectrômetro da marca BRUKER modelo S4 Explorer, dotado de tubo gerador de raios X de ródio (Rh). Para realização das análises, as amostras calcinadas eram prensadas em forma de pastilha.

3.5.2. Termogravimetria (TG)

A análise termogravimétrica (TG) é uma técnica usada para se estudar o caminho detalhado das alterações que o aquecimento pode provocar nas substâncias, objetivando estabelecer a faixa de temperatura, nas quais o material adquire composição química definida ou temperatura, em que se inicia algum processo de decomposição, sinterização, mudança de fase, etc. Assim as curvas de variação de massa em função da temperatura, obtidas a partir de uma termobalança, permitem chegar a algumas conclusões sobre a composição e estabilidade dos compostos intermediários e sobre a composição do composto formado após aquecimento (SILVA et al, 2006; BROWN, 1988).

As curvas de TG deste trabalho foram obtidas em uma termobalança, modelo 92-16.18 (Setaram) no Laboratório SCAI da Universidade de Málaga. As análises de TG dos catalisadores foram efetuadas sob fluxo de argônio com 20 % de oxigênio, e a faixa de temperatura estudada foi da temperatura ambiente (25 °C) até 700 °C, com uma taxa de aquecimento de 5°C /min.

3.5.3 Microscopia Eletrônica de Varredura (MEV)

Uma imagem de MEV consiste em uma análise da topografia da superfície da amostra. Esta é obtida por reflexão de feixe de elétrons pela superfície da amostra e, para isso, é necessário que essa superfície seja condutora. As amostras de materiais não condutores necessitam de recobrimento com uma fina camada de um metal condutor e pouco suscetível à oxidação, geralmente, utiliza-se o ouro (MANNHEIMER, 2002; MALISKA 2006).

O uso de microscópicos eletrônicos modernos, com poder de resolução da ordem de nanômetros permite, por exemplo: determinar um diâmetro médio, no caso de partículas esféricas; medir o tamanho de determinadas partículas; visualizar partículas metálicas nos suportes; etc. No caso específico da caracterização de catalisadores, para se estimar o tamanho das partículas, é necessário que sejam preparadas várias amostras do mesmo catalisador, e obter um número suficiente de fotos que representem a distribuição das partículas na amostra. As

ampliações devem permitir um aumento final entre 5 e 10^5 vezes, mas só devem ser computadas as partículas que estejam na distância focal correta e isentas de astigmatismo (MANNHEIMER, 2002; MALISKA 2006).

Pequenas quantidades dos catalisadores em pó foram colocadas, cuidadosamente, sobre uma fita de carbono adesiva, esta fixada na superfície de um porta-amostra de aço inox, própria do equipamento; a seguir, este porta-amostra foi levado até a câmara, onde por *sputtering*, houve a deposição direta de um filme de ouro sobre os pós. Finalmente, o porta-amostras foi levado ao MEV para proceder as análises de cada amostra.

O equipamento utilizado foi um microscópio eletrônico de varredura da marca JEOL, modelo JMS 5310, pertencente ao Laboratório de microscopia da COPPE/UFRJ.

3.5.4 Difratometria de Raios X (DRX)

A técnica de difração de raios X, baseada na Lei de Bragg, foi empregada para a identificação das fases cristalinas presentes nos pós dos materiais em estudo. O equipamento utilizado foi um difratômetro de raios X da marca Rigaku modelo Miniflex, instalado no Laboratório de Tecnologias de Hidrogênio da Universidad Federal do Rio de Janeiro. As condições estabelecidas para a obtenção dos difratogramas foram: radiação CuK α (30 kV e 15 mA), varredura com passo angular de 0.05° e intervalos de 5° < 2 θ < 90°.

3.5.5 Volumetria de nitrogênio

O estudo do fenômeno de adsorção é feito com o objetivo de se obter informações sobre a área específica e a estrutura porosa de um sólido, através da construção de uma isoterma de adsorção. A área específica, ou seja, a área de superfície total do sólido por unidade de massa é o parâmetro crucial a ser determinado, pois é na superfície que toda reação catalítica se processa. O estudo da estrutura porosa de um catalisador, as determinações do diâmetro e do volume poroso são importantes, porque estão relacionados à área total do sólido (SILVA *et al.*, 2006; LOWELL *et al.*, 1979; BARRICHELLO *et al.*, 1995).

Essa técnica está fundamentada na adsorção física das moléculas do gás, variando a pressão do gás N₂ injetado sobre a amostra. Através dos dados da pressão relativa e do volume de N₂ adsorvido foram obtidas as isotermas de adsorção e de dessorção do gás. As curvas foram obtidas em um equipamento da marca MICROMERITICS, modelo Tristar 3000, pertencente ao Laboratório GREENTEC/UFRJ. Inicialmente, foi pesada em uma célula de vidro, uma massa do pó em estudo (aproximadamente 0.2 g), em seguida essa célula, contendo o material, foi submetida a um tratamento térmico a 300 °C, por 2 horas sob vácuo, para remoção de impurezas adsorvidas na superfície do material. O valor da área específica foi calculado pela equação de BET (SILVA, 2006), cujo modelo é o mais aceito para interpretar as isotermas de adsorção e de
dessorção, a partir da formação de uma monocamada do gás adsorvido na superfície externa e nos poros das partículas. Tal cálculo foi efetuado pelo próprio software do equipamento. Para a determinação da distribuição de tamanhos de poros foi utilizado o método proposto por Barret, Joyner e Halenda (BJH), também utilizado pelo próprio software do equipamento, cujos cálculos envolvidos baseiam-se na equação de Kelvin e são válidos para diferentes formatos de poros (SILVA *et al.*, 2006; ROUQUEROL *et al.*, 1998).

3.5.6 Quimissorção de amônia

A adsorção de amônia por pulsos é uma das técnicas mais conhecidas para se determinar a acidez total de um material. Neste trabalho, a acidez total foi calculada utilizando tal técnica, ou seja, injetando volumes conhecidos de gás amônia até a completa saturação do material.

As análises de acidez total foram realizadas em um aparelho da marca CHEMBET, modelo 3000, disponível no Laboratório SCAI da Universidade de Málaga. Em uma célula de quartzo, própria do equipamento, foi inserida uma pequena quantidade de lã de vidro, apenas para segurar o pó, depois foi pesada uma quantidade do pó em estudo (aproximadamente 0.15 g). Essa célula foi acoplada ao equipamento e submetida a um tratamento térmico a 200 °C por 1 hora, passando hélio (130 mL/min) para ajudar a arrastar as impurezas.

Após o tratamento térmico, monitorou-se a temperatura da célula, através de um termopar interno, até que atingisse 60°C, isto mantendo a vazão de hélio. A seguir, foram iniciadas as injeções de amônia passando pelo material, efetuadas com o uso de uma microseringa de vidro (5000 mL), e registradas através de um detector de condutividade térmica (TCD). A liberação da quantidade de amônia de cada injeção, não adsorvida pelo material, foi registrada como uma curva pelo próprio software do equipamento.

As injeções foram repetidas até não ser mais registrada adsorção de amônia pelo material, o que foi feito através das comparações das áreas ou das alturas dos picos registrados. Ainda foi possível comparar as medidas de saturação com uma medida, em branco, realizada logo no início do experimento, ou seja, uma injeção sem passar por dentro da célula (passando somente pelo by-pass), o que tornou possível conhecer a área ou a altura do pico de gás amônia correspondente aos 5000 μ L.

3.6 HIDRÓLISE DA BIOMASSA ALGAL- OBTENÇÃO DO CONCENTRADO DE ÁCIDOS GRAXOS

Para a produção dos ácidos graxos (reações de hidrólise) foram utilizadas como matérias-primas, as biomassas secas das microalgas estudadas, e como agente hidrolisante água destilada. Depois de estudar diferentes concentrações de biomassa, temperaturas e concentração de catalisador, foi obtida como melhor condição para a hidrólise: 20% de concentração de

biomassa(CB), 20% de concentração de catalisador (C), 300°C de temperatura (T) e 1 hora de reação. Esta condição foi mantida fixa para a produção de ácidos graxos. Em um experimento típico conduzido com 20% de sólidos, 100 g de biomassa seca foi ressuspensa em 400 mL de água destilada, com agitação constante no reator mencionado na seção 3.1. Depois de uma hora, o reator foi resfriado. O produto foi filtrado e o filtrado que tinha um pH próximo a 5 foi acidificada até pH 2 com a adição de 25 mL de HCl 6N. Isso provoca a precipitação de um sólido marrom (presumivelmente ácido húmico) que não se dissolve em benzeno ou hexano e que foi descartado. O filtrado foi extraído com igual volume de hexano, a fase orgânica foi separada e secada com sulfato de sódio anidro. A remoção do solvente forneceu 2.08 g de um semi-sólido marrom. A parte sólida que ficou da filtração, foi exaustivamente lavada com água destilada e secada. Este sólido pesou 31.3 g (31.3% da massa inicial de biomassa) e foi tratada com três porções de hexano. A Filtração e remoção por rotaevaporação forneceu 14.65 g de um óleo preto e 17.75 g de um material carbonoso. Ambos os extratos foram juntos fornecendo um total de 16.73 g de um concentrado de ácidos graxos (16.68% da massa inicial de biomassa). Na Figura 3.5 representa o esquema geral do procedimento.

Este procedimento foi repetido inúmeras vezes com o intuito de fornecer as quantidades necessárias para a realização do planejamento experimental proposto e para minimizar as variações que normalmente são observadas entre um lote e outro de biomassa (HEILMANM, 2011).



Figura 3.5- Metodologia geral de obtenção do concentrado de ácidos graxos.

3.6.1 Purificação do "concentrado de ácidos graxos" da microalga Nannocloropsis oculata

A purificação dos ácidos graxos extraídos foi feita de acordo com CARVALHO (2010). Foi feita uma coluna cromatográfica com uma suspensão de aproximadamente 15 gramas de sílica gel em 30 mL de éter de petróleo. Então, aproximadamente 1mL de óleo foi pesado e diluído em 3 mL de clorofórmio. Depois as amostras foram colocadas no topo da coluna e foram passados 125 mL dos seguintes eluentes: 10% éter etílico em éter de petróleo (fração Itriacilglicerídeos), 25% éter etílico em éter de petróleo (fração II- diacilglicerídeos), 100% éter etílico (fração III- monoacilglicerídeos). Os reagentes utilizados foram recuperados para serem reutilizados.

3.7 ESTERIFICAÇÃO – GERAÇÃO DE ÉSTERES METÍLICOS

Nas reações de esterificação, os reagentes, ácidos graxos de *Nannochloropsis oculata* (ácido palmítico, MM= 256.4 g/mol) e metanol, foram adicionados ao copo do reator juntamente com o catalisador, quando este foi utilizado. O catalisador foi previamente calcinado (a 300°C por 1 hora) segundo descrito por SANTOS *et al.* (2005). A agitação (500rpm) foi mantida

constante, pois como observado por RODRIGUES *et al.*, 2005 e CARVALHO *et al.*, 2005, acima destas rotações não foram encontradas acréscimos de conversões significativas. A temperatura foi fixada e mantida constante em 200°C. O progresso da reação foi avaliado segundo medidas do índice de acidez (%) das alíquotas amostrais retiradas nos tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos. Mesmo sabendo-se que 80% do óleo vegetal é convertido a biodiesel nos primeiros 10 a 20 minutos de contato entre os reagentes (VELJKOVIC *et al.*, 2006) e MARCHETTI *et al.*, 2006). Os tempos de reação para todos os experimentos foram fixados em 60 minutos, pois, segundo descrito por RODRIGUES *et al.*, (2006) e FURUTA *et al.*, (2004) apesar de tempos superiores a 20 minutos não provocarem aumentos significativos na conversão reacional, podem favorecer a observação da cinética da reação como um todo, uma vez que se tratam de reações pouco conhecidas. Como na reação de esterificação não há formação de glicerol, o produto foi diretamente submetido a secagem para a retirada da água e do metanol residual. Quando utilizado o catalisador, o mesmo pode ser recuperado por filtração. O produto final da reação foi submetido a análises cromatográficas para a avaliação do perfil e conteúdo de ésteres de ácidos graxos obtidos.

3.8 MÉTODOS ANALÍTICOS

3.8.1 Determinação do conteúdo de lipídeos totais

Cerca de 500 mg de biomassa devidamente pesada em balança analítica, foram macerados em cadinho de porcelana com 30 ml de clorofórmio. Após a maceração foram adicionados 10 ml de metanol à mistura, que foi transferida para um tubo plástico de 50 ml. Em seguida, adicionou-se cerca de 12 ml de solução aquosa de NaCl a 1% ao tubo, cujo conteúdo foi transferido para um funil de extração e submetido a vigorosa agitação para separação de fases. A fase lipídica verde (inferior) foi filtrada para remover partículas e a solução recolhida em balão previamente pesado, de onde o solvente foi removido por meio de rotaevaporação. O balão contendo os lipídeos foi transferido para um dessecador para resfriamento; imediatamente após sua retirada efetuo-se a pesagem para determinação da massa do analito. A massa obtida dividida pela massa de amostra utilizada resulta no teor de lipídeos extraídos das células (g.g⁻¹ de biomassa seca) (BRUM, ARRUDA & REGITANO. D' ARCE, 2009; RANJAN, PATIL & MOHOLKAR, 2010; SHENG-YI *et al.*, 2009).

3.8.2 Determinação percentual de ácidos graxos livres

Os produtos obtidos nas reações de hidrólise da biomassa algal foram analisados segundo o teor de ácidos graxos na amostra com o intuito de prever, de maneira qualitativa e quantitativa, o quanto de triglicerídeo pode ser transformado em ácido graxo e assim, observar o desempenho da reação nas condições reacionais avaliadas. O método de analise desenvolvido consistiu em preparar os ésteres metílicos a partir dos ácidos graxos do óleo de microalgas, através de uma metanólise conforme metodologia descrita por YOO *et al.*, (2010), utilizando 2mL de metanol com 5% de HCL à 75°C por 10 minutos em banho Maria. Esta etapa foi realizada em frasco fechado para evitar evaporação.

Depois, a fase contendo os ácidos graxos metilados foi separada com a adição de 2mL de água destilada e 2mL de hexano P.A. A fase superior de hexano foi recolhida com pipeta automática e transferida para frasco de vidro, seguidamente colocado em estufa à 60°C para a evaporação do solvente e concentração da amostra.

Após a metanólise determina-se o percentual de ésteres metílicos de ácidos graxos, por Cromatografia Gasosa mediante o método EN 14103. Foi necessária a diluição da amostra em Heptano na proporção de 0.05:1 (m/m). Em seguida 1µL desta amostra foi injetada no cromatógrafo Shimadzu, modelo GC-2010 com Injetor split/splitless, detector de ionização de chama (FID), coluna Carbowax (30m x 0.32mm x 0.25µm), marca Quadrex, com as seguintes condições: 200°C isotérmico, Injetor: 250°C, Detector: 250°C, Pressão de gás de arraste:: 1.9 mL/min. As análises foram realizadas durante 30 min.

Os teores dos ésteres metílicos dos ácidos graxos (EMAG) são expressos em porcentagens de área no total de ésteres metílicos. Para o percentual de ácidos graxos utilizou- se a Equação 3.1, que converte o teor de ésteres em ácidos graxos:

$$\hat{A}cidos \ Graxos \ (\%) = \frac{PM_{ac.graxo}}{PM_{ester}} \ x \ \acute{E}ster(\%)$$
 (Equação 3.1)

Onde: Ácidos Graxos (%) é o percentual do acido graxo; $PM_{ac,graxo}$ é o peso molecular do ácido graxo; $PM_{éster}$ é o peso molecular do respectivo éster; e Éster (%) é o percentual do éster.

3.8.3 Determinação do índice de acidez – Titulometria de Neutralização

O índice de acidez favorece a determinação das conversões reacionais e do conteúdo de ácidos graxos livres presentes nos produtos formados. O método de titulação por neutralização proporcionou a determinação das quantidades de hidróxido de potássio necessárias para neutralizar os ácidos graxos livres, presentes em solução. Neste método aproximadamente 1g de amostra foi coletado nos diferentes tempos reacionais (esterificação), e a este foi adicionada 3 gotas de NaOH 0.01mol/L, 1mL de fenolftaleína e 25mL de Etanol P.A, em um elemeyer. Esta solução foi titulada contra uma solução de NaOH 0.25mol/L padronizada. O volume gasto nesta titulação foi inserido na equação abaixo, a qual proporcionou a determinação do conteúdo de ácidos graxos (%) presentes na reação.

Onde MA é a massa da amostra (g) e V é o volume (mL) de NaOH 0.25mol/L gasto na titulação. Observe que durante a titulação foi utilizado como agente titulante o NaOH e no momento da realização do cálculo foi necessário a utilização do valor 7.05. Este valor é produto da multiplicação da concentração do NaOH (0.00025mol/mL), pela a massa do ácido oléico (282g/mol) por 100. No caso da esterificação, a conversão foi calculada através da utilização de um branco, segundo a equação:

Conversão Esterificação =
$$\eta$$
 (%) = [(ABCO-AA)/(ABCO)] x 100 (Equação 3.3)

Onde ABCO é a acidez do branco (%) e AA é a acidez da amostra (%) titulada naquele determinado tempo. Este branco se trata de uma amostra da mistura reacional, retirada antes do início de cada reação, no momento da preparação dos reagentes, o qual continha uma mistura homogênea dos reagentes utilizados, no caso da hidrólise corresponde á acidez do óleo da microalga e água com ou sem catalisador; e no caso da esterificação trata-se dos ácidos graxos das microalgas em estudo e metanol com ou sem catalisador.

Com o intuito de se obter valores de acidez, para as reações de hidrólise, que mais se aproximassem do valor real da reação, foi necessária a utilização da equação a baixo, uma vez que a água utilizada como reagente hidrolisante favorece a diluição das amostras. Neste estudo, a acidez determinada no momento da coleta das alíquotas, foi chamada de acidez aparente, pois nestas alíquotas havia a presença da água utilizada como reagente e, para a nova acidez calculada, agora com a correção da água presente em excesso, foi dado o nome de acidez verdadeira (AV), sendo o valor desta correspondente à conversão obtida no processo:

Conversão Hidrólise=
$$\eta(\%) = AV(\%) = (At) \times ((((AS - AU) \times 100)/AS)/100) + (At) (Equação 3.4)$$

Onde, AS é a acidez do seco, que se trata do produto final da reação após ser submetido à lavagem e secagem; AU é a acidez da última alíquota retirada na curva cinética, ou seja, a acidez do tempo de 60 minutos e At é a acidez da alíquota no tempo t, medida durante a curva cinética.

Esse procedimento foi considerado necessário devido à dificuldade de se encontrar tempo hábil para a extração com hexano, evaporação do hexano, lavado do produto, purificação dos ácidos graxos e em seguida retirar a água e assim medida a acidez verdadeira.

3.8.4 Análise Elementar

O teor de C (carbono), H (hidrogênio), N (nitrogênio) e S (enxofre) medido em percentagem em relação ao peso da amostra foi analisado mediante análise elementar (CNH) utilizando o equipamento "Elemental Analyzer Perkin-Elmer 2400 CHN". As amostras avaliadas foram as matérias primas antes e depois da reação de hidrólise.

A técnica de análise se sustenta na combustão completa da amostra, em condições ótimas 950 a 1300 °C e atmosfera de oxigênio puro, para converter os elementos antes mencionados em gases simples (anidrido carbônico, nitrogênio, água e anidrido sulfuroso). Estes gases, depois de ser separados por cromatografia ou infravermelho, são medidos e processados considerando o peso da amostra e os dados proporcionados pela amostra padrão, obtendo-se de este modo o teor porcentual de cada elemento na amostra.

3.9 CARACTERIZAÇÂO DO BIODIESEL

A partir dos métodos analíticos aplicados na avaliação da qualidade do biodiesel podemse obter informações importantes a respeito da seleção da matéria prima, do processo fabril e do armazenamento, bem como do desempenho do biodiesel como combustível e da qualidade das suas emissões (PINHEIRO e COSTA FERREIRA, 2009).

O produto final do processo de hidroesterificação foi submetido á caracterização conforme os padrões internacionais (ASMT), (EN 14214) e as especificações da resolução nº42 da ANP para o biodiesel B100.

3.10 PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA

O planejamento experimental é uma ferramenta estatística que tem sido amplamente utilizada nas mais diversas áreas de pesquisa. Pode ser utilizada tanto para melhorar o desempenho de processos já existentes quanto para o desenvolvimento de novos processos. Possui uma grande variedade de aplicações, dentre as quais podemos citar (CALADO, 2003; MONTGOMERY, 2001):

- Avaliação de diferentes materiais, permitindo a seleção do mais adequado;
- Seleção de parâmetros para o projeto de um processo;
- Otimização de processos, além da identificação de problemas decorrentes destes processos;
- Determinação de parâmetros de forma a melhorar o desempenho de produtos;
- Obtenção de melhores produtos.

A aplicação do planejamento de experimentos pode gerar benefícios como: Redução de custos; menor variabilidade do processo; redução do tempo para desenvolver o processo e aumento da produtividade.

O objetivo de sua utilização é a obtenção de modelos empíricos relacionando as variáveis envolvidas no processo, através da realização da quantidade mínima possível de experimentos.

Na presente tese, para estudar o efeito conjunto das variáveis do processo sobre a variável de resposta (conversão da reação), foi aplicado um planejamento fatorial envolvendo 3 variáveis. Em cada variável foram usados dois níveis de trabalho -1 e +1. O nível -1 corresponde aos menores valores das variáveis independentes e o nível +1 corresponde aos valores máximos dessas variáveis. O planejamento fatorial foi completado realizando 3 replicatas no ponto central, para um total de 11 experimentos a realizar para cada catalisador utilizado.

Para o tratamento estatístico dos resultados, a conversão do produto formado, no caso da hidrólise, composto predominantemente de ácidos graxos e no caso da esterificação, composto predominantemente por ésteres, foi calculada em relação ao conteúdo de ácidos graxos (Conversão - %) presentes no meio reacional durante um período de tempo de 60 minutos para a hidrólise e entre 5 e 60 minutos para a esterificação. Este resultado foi considerado como sendo a resposta quantitativa do sistema - conversão (η).

Estas variáveis foram analisadas pela cromatografia gasosa com o fim de prever, de maneira qualitativa e quantitativa, o quanto de triacilglicerídeo pode ser transformado em ácido graxo e quanto de ácidos graxos pode-se transformar em éster e assim, acompanhar o desempenho das reações.

3.10.1. Matriz de planejamento

Para determinar as melhores condições experimentais para as reações de hidrólise e esterificação, o efeito de algumas variáveis do sistema reacional como: concentração de biomassa (CB) para as reações de hidrólise e razão molar (RM) metanol/ácido graxo, para as reações de esterificação; temperatura reacional (T) e quantidade de catalisador (C), foram investigados através do uso da metodologia de planejamento experimental (MONTGOMERY, 2001). Um planejamento fatorial envolvendo 3 variáveis foi utilizado para estudar o efeito conjunto desses fatores sobre a variável de resposta. Os níveis utilizados para cada variável são descritos na Tabela 3.1 para as reações de hidrólise e na Tabela 3.2 para as reações de esterificação.

Variáveis	Nível Inferior (-1)	Ponto Central (0)	Nível Superior (+1)
CB (%)	5	12.5	20
T (°C)	250	275	300
C (% m/m)	0	10	20

Tabela 3.1- Níveis para o planejamento fatorial 2³- Processo de Hidrólise.

Em relação à concentração da biomassa, o menor nível foi escolhido por considerar que o mesmo representa um valor razoável em termos de lipídios, uma vez que não existem ainda estudos que delimitem bem estas quantidades. A temperatura mínima foi empregada por ter sido a menor temperatura na qual se observou formação de ácido graxo e a maior temperatura, foi limitada em 300°C para a não ocorrência de aumento de pressão, comum em processos de hidrólise.

Tabela 3.2- Níveis para o planejamento fatorial 2³- Processo de Esterificação.

Variáveis	Nível Inferior (-1)	Ponto Central (0)	Nível Superior (+1)
RM (mol)	1.2	2.1	3.0
Τ (⁰ C)	150	175	200
C (% m/m)	0	10	15

Já no processo de esterificação, a razão molar metanol/ácido graxo foi de 1.2, por estar próximo à razão-molar estequiométrica (1 mol de ácido graxo : 1 mol de metanol) e de 3.0 por estar representando um excesso de metanol. Ambas foram escolhidas com base em estudos previamente realizados em laboratório (GONÇALVES *et al.*, 2007). A temperatura variou de 150 a 200, pois como relatado por FURUTA *et al.*, (2004) e CARVALHO *et al.*, (2005), o processo de esterificação ácida requer elevadas temperaturas para que possa ocorrer, sobretudo na ausência de catálise homogênea. Pode ser observado que a variável quantidade de catalisador (C) foi realizada como nível inferior igual a zero, para ambos os processos. Este nível foi utilizado com o intuito de avaliar o desempenho da reação na ausência de catalisador, uma vez que não existem, na literatura, estudos de hidrólise de triacilglicerídeos em batelada e esterificação de ácidos graxos provenientes de hidrólise, sob estas condições. A partir destes limites foi possível realizar a montagem da matriz de planejamento, segundo suas variáveis reais e escalonadas (entre parênteses) para cada tipo de reação realizada: hidrólise (Tabela 3.3) e esterificação (Tabela 3.4).

Experimentos	CB (%)	T (°C)	C (% m/m)
1	5 (-1)	250 (-1)	0 (-1)
2	20 (+1)	250 (-1)	0 (-1)
3	5 (-1)	300 (+1)	0 (-1)
4	20 (+1)	300 (+1)	0 (-1)
5	5 (-1)	250 (-1)	20 (+1)
6	20 (+1)	250 (-1)	20 (+1)
7	5 (-1)	300 (+1)	20 (+1)
8	20 (+1)	300 (+1)	20 (+1)
9 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)
10 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)
11 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)

Tabela 3.3- Matriz de planejamento fatorial 2^3 para as reações de Hidrólise da biomassa algal.

Tabela 3.4- Matriz de planejamento fatorial 2³ para as reações de Esterificação dos ácidos graxos de microalgas.

Experimentos	RM (mol)	T (°C)	C (% m/m)
1	12 (-1)	150 (-1)	0 (-1)
2	3.0 (+1)	150 (-1)	0 (-1)
3	1.2 (-1)	200 (+1)	0 (-1)
4	3.0 (+1)	200 (+1)	0 (-1)
5	1.2 (-1)	150 (-1)	15 (+1)
6	3.0 (+1)	150 (-1)	15 (+1)
7	1.2 (-1)	200 (+1)	15 (+1)
8	3.0 (+1)	200 (+1)	15 (+1)
9 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)
10 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)
11 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)

Realizada a combinação entre variáveis independentes com os seus respectivos níveis tem-se um planejamento experimental constituído de 11 experimentos. Os experimentos 9 a 11 corresponderam às triplicatas do ponto central (níveis zero) definido pelo planejamento.

A avaliação estatística dos efeitos principais e de interação, bem como a adequação das respostas obtidas dos planejamentos fatoriais e modelos matemáticos, se realizara mediante o programa STATISTICA, versão 7.0.

3.10.2 Análise estatística do planejamento

Para o tratamento estatístico dos resultados, a conversão do produto formado, no caso da hidrólise, composto predominantemente de ácidos graxos e no caso da esterificação, composto predominantemente por ésteres, foi calculada em relação ao conteúdo de ácidos graxos (Conversão - %) presentes no meio reacional durante um período de tempo (entre 5 e 60 minutos) para a esterificação e de 60 minutos para a hidrólise. Este resultado foi considerado como sendo a resposta quantitativa do sistema - conversão (η). A avaliação estatística dos

efeitos principais e de interação, bem como a adequação das respostas obtidas dos planejamentos fatoriais e modelos matemáticos, foi realizada com auxílio do programa STATISTICA, versão 7.0. Sabendo que a forma quantitativa de se prever os efeitos que as variáveis aleatórias causam no sistema reacional pode ser representada através de uma equação matemática (ou modelo de regressão). Tem-se também que em geral essa determinação é iniciada com a predição de um modelo linear, devido à busca por modelos matemáticos mais simples que permitam uma descrição adequada do sistema. Se caso este modelo não representar adequadamente o sistema em estudo, modelos mais complexos como os modelos quadráticos ou cúbicos podem ser propostos. A equação matemática utilizada para o planejamento fatorial com três fatores foi dada por:

<u>Para a hidrólise</u>

 $\eta = \beta_0 + \beta_1 CB + \beta_2 T + \beta_3 C + \beta_4 CB^*T + \beta_5 CB^*C + \beta_6 T^*C + \beta_7 CB^*T^*C + \varepsilon \quad (Equação 3.5)$ *Para a esterificação*

 $\eta = \beta_0 + \beta_1 RM + \beta_2 T + \beta_3 C + \beta_4 RM^*T + \beta_5 RM^*C + \beta_6 T^*C + \beta_7 RM^*T^*C + \epsilon (Equação 3.6)$

É importante ressaltar que o planejamento foi analisado com as variáveis aleatórias na forma codificada (entre -1 e +1). Isto se tornou necessário devido o fato das variáveis utilizadas no planejamento serem de diferentes ordens de grandeza, como por exemplo 250°C de temperatura e 0% de catalisador.

3.11 MODELAGEM CINÉTICA DA REAÇÃO

Adicionada à análise estatística da reação, a qual favoreceu a avaliação de um modelo empírico que, com precisão, pudesse predizer o processo reacional, foi realizada também uma análise da cinética da reação. Para a reação de esterificação, foi considerada a modelagem cinética proposta por Fogler (1992), onde a reação bimolecular, sobre catalisadores heterogêneos, ocorre na ausência de inibidores:

 $aA + bB \leftrightarrow cC + dD$

Neste caso, A representa o ácido graxo, B o metanol, C o éster e D a água formada.

A cinética das catálises heterogênea e homogênea é diferente. Na catálise heterogênea, além da reação química, estão envolvidas outras 6 etapas (FOGLER, 1992):

1. Difusão dos reagentes do seio do fluido até a superfície do catalisador (externa)

2. Difusão dos reagentes da superfície externa para o interior dos poros. Nesta etapa, ocorre a aproximação dos reagentes em relação aos sítios ativos do catalisador, onde ocorrerá a adsorção química.

3. Adsorção química ou física. A adsorção pode ser química ou física, de acordo com a natureza das ligações estabelecidas entre o adsorvente e o adsorbato. Se as ligações são fracas, sem

modificações na natureza química da espécie adsorvida, então ocorre uma fisissorção; se são ligações químicas, então o fenômeno é uma quimissorção. De qualquer forma, uma ou mais substâncias reagentes ficam presas à superfície do catalisador, nos sítios ativos do catalisador.

4. Reação. Na maioria dos casos de cinética heterogênea, esta etapa é a controladora da cinética química (etapa lenta).

5. Dessorção. Processo inverso ao de adsorção. Os produtos formados durante a reação são difundidos dos sítios ativos do catalisador.

6. Difusão dos produtos do interior dos poros para a superfície externa

7. Difusão dos produtos da superfície externa para o seio do fluido. Enquanto as etapas 1, 2, 6 e
7 são de natureza física, as etapas 3, 4 e 5 são de natureza química e dependem fundamentalmente da natureza do sólido utilizado como catalisador.

A expressão da taxa global de reação das reações heterogêneas inclui termos que levam em conta a transferência de massa entre as fases, além do termo correspondente à cinética química em si. A formulação da equação levará, além da reação, aos fenômenos de adsorção e dessorção, o que é freqüentemente feito na catálise heterogênea com o conjunto de formulações do modelo geral de Langmuir-Hinshelwood Hougen-Watson (LHHW) (HOUGEN & WATSON, 1959). Para cada modelo proposto para a observação do fenômeno cinético reacional foram consideradas hipóteses propostas por LHHW. São elas:

- Para o equilíbrio, o número de sítios adsorvidos é fixo.
- Apenas uma entidade adsorvida pode ser ligada em cada sítio ativo superficial.
- A adsorção é energeticamente idêntica em todos os centros ativos e é independente da presença ou ausência de espécies adsorvidas na sua vizinhança. (Equivale a considerar o mesmo calor de adsorção para todos os centros ativos da superfície, independente da abertura superficial).
- Não há interação entre as moléculas adjacentes adsorvidas; as reações que ocorrem nos sítios ativos são reversíveis.

Dois mecanismos têm sido propostos, obtidos do conjunto de formulações do modelo geral de LHHW, que tentam descrever o conjunto de transformações químicas e físicas que ocorrem na catálise heterogênea:

- Mecanismo de Langmuir-Hinshelwood Hougen-Watson (LHHW), (HOUGEN & WATSON, 1959; YANG & HOUGEN, 1950).
- Mecanismo Eley-Rideal, (ELEY & RIDEAL, 1940)

Mecanismo LHHW: Este mecanismo propõe que a reação de esterificação consiste em 5 etapas: nas duas primeiras ocorre a adsorção dos reagentes nos sítios ativos; na etapa 3 ocorre

a reação química na superfície e os produtos ficam adsorvidos; nas etapas 4 e 5 ocorre a dessorção dos produtos.

O Mecanismo de Eley-Rideal: consta de 3 etapas, e sugere que não ocorre adsorção dos dois reagentes, só de um (álcool), ocorrendo a reação na fase líquida.

LIMA (2007) estudou a cinética da reação de hidrólise e esterificação do óleo de soja e mamona, catalisada pelo óxido de nióbio (Nb₂O₅), as melhores conversões encontradas nas reações, foram observadas com 20% de catalisador.

Baseado no modelo geral LHHW, obtiveram expressões matemáticas para as equações de taxa de reação para catálise heterogênea, com a combinação de três termos: termo cinético, termo potência e termo de adsorção: (HOUGEN & WATSON, 1959; YANG & HOUGEN, 1950).

Nas Tabelas (3.5-3.8) a seguir, se definem cada fator da equação anterior, os que dependem da etapa controladora, se ocorre dissociação ou não do reagente limitante, e a quantidade de reagentes e produtos envolvidos na reação. Estas expressões matemáticas podem se usadas para os dois mecanismos anteriores.

Etapa Controladora	$A \leftrightarrow R$	$A \leftrightarrow R + S$	$A + B \leftrightarrow R$	$\mathbf{A} + \mathbf{B} \leftrightarrow \mathbf{R} + \mathbf{S}$
Adsorção de A	$P_A - (P_R/K)$	$P_A - (P_R P_S / K)$	$P_A - (P_R/KP_B)$	$P_A - (P_R P_S / K P_B)$
Adsorção de B	0	0	$P_B - (P_R/KP_A)$	$P_B - (P_R P_S / K P_A)$
Dessorção de R	$P_A - (P_R/K)$	$P_A/P_S - (P_R/K)$	$P_A P_B - (P_R/K)$	$P_A P_B / P_S - (P_R / K)$
Reação Química	$P_A - (P_R/K)$	$P_A - (P_R P_S / K)$	$P_A P_B - (P_R/K)$	$P_A P_B - (P_R P_S/K)$
Reação homogênea	$P_A - (P_R/K)$	$P_A - (P_R P_S / K)$	$P_A P_B - (P_R/K)$	$P_A P_B - (P_R P_S/K)$

Tabela 3.5- Força Motriz

Tabela 3.6- Determinação do Termo de adsorção geral: $(1+K_AP_A+K_BP_B+K_RP_R+K_SP_S+K_TP_T)^n$

Etapa Controladora	$A \leftrightarrow R$	$A \leftrightarrow R + S$	$A + B \leftrightarrow R$	$A + B \leftrightarrow R + S$
Adsorção de A	$K_A P_R / K$	$K_A P_R P_S / K$	$K_A P_R / K P_B$	$K_A P_R P_S / K P_B$
K _A P _A é substituído por				
Adsorção de B	0	0	K_BP_R / KP_A	$K_BP_R P_S / KP_A$
K _B P _B é substituído por				
Dessorção de R	KK _R P _A	KK_RP_A/P_S	$KK_RP_AP_B$	$KK_RP_AP_B/P_S$
K _R P _R é substituído por				
Adsorção de A com	$(K_{\rm A}P_{\rm R}/{\rm K})^{1/2}$	$(K_{A}P_{R}P_{S}/K)^{1/2}$	$(K_A P_R / K P_B)^{1/2}$	$(K_A P_R P_S / K P_B)^{1/2}$
dissociação de A				
K _A P _A é substituído por				
Quando A não é adsorvido	0	0	0	0
K _A P _A é substituído por				
(similar para B, R ou S)				

T - Intermediário formado

Etapa controladora			f_c	-
Adsorção de A			k _A	
Adsorção de B			k _B	
Dessorção de R			k _R K	
Adsorção de A com dissoc	ciação de A		k _A	
Reação homogênea			k	
Quar	ndo a etapa o	controladora é a	reação química	
	$A \leftrightarrow R$	$A \leftrightarrow R + S$	$A + B \leftrightarrow R$	$A + B \leftrightarrow R + S$
Sem dissociação	kK _A	kK _A	kK _A K _B	kK _A K _B
Com dissociação de A	kK _A	kK _A	kK _A K _B	kK _A K _B
Sem adsorção de B	kK _A	kK _A	kK _A	kK _A
Sem adsorção de B e dissociação de A	kK _A	kK _A	kK _A	kK _A

Tabela 3.7- Fator Cinético (f_c)

Tabela 3.8- E	Expoente de	adsorção ((n).
	inpoence de	aaborgao (

Etapa Controladora	$A \leftrightarrow R$	$A \leftrightarrow R + S$	$A + B \leftrightarrow R$	$A + B \leftrightarrow R + S$
Adsorção de A sem dissociação	1	1	1	1
Dessorção de R	1	1	1	1
Adsorção de A, com dissociação	2	2	2	2
Reação química sem dissociação de A	1	2	2	2
Reação química com dissociação de A	2	2	3	3
Reação química sem dissociação de A	-	-	1	2
(Sem adsorção de B)				
Reação química com dissociação de A	-	-	2	2
(Sem adsorção de B)				
(Sem adsorção de B) Reação química com dissociação de A (Sem adsorção de B)	-	-	2	2

Onde:

(- r_A): Taxa de reação, mol gcat⁻¹ min⁻¹ P_{A, B, R, S}: Pressão parcial de cada componente (A, B, R e S), atm k : Coeficiente cinético, mol gcat⁻¹ min⁻¹

K : Constante de equilíbrio da reação, adimensional

K : Constante de equinorio da reação, administorial $K_{A, B, R, S}$: Constate de adsorção de cada componente (A, B, R e S), atm⁻¹ $k_{A, B, R}$: Coeficiente cinético de cada componente (A, B e R), mol gcat⁻¹ min⁻¹ atm⁻¹

CAPITULO 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 ANÁLISES TÉRMICA

Os primeiros experimentos realizados foram os termogravimétricos, pois através deles ter-se-ia uma avaliação do comportamento de cada material, quando estes foram submetidos ao processo de tratamento térmico. Observam-se, na Figura 4.1 as curvas correspondentes às perdas de massa em função do aumento da temperatura.

Conforme se pode observar, a faixa de temperatura para estudo variou da temperatura ambiente (25 °C) até 700 °C. A análise realizada mostrou que as perdas de massa dos catalisadores são inversamente proporcionais à conversão. O seja, o catalisador mais estável termicamente foi também o que teve maiores conversões nas reações de hidrólise e esterificação. Sendo o mais estável o catalisador impregnado com ácido fosfórico. As massas finais foram 89, 90,6 e 93% para Nb₂O₅, Nb₂O₅/Al₂O₃ e H₃PO₄/ Nb₂O₅ respectivamente.



Figura 4.1- Termogramas sobrepostas dos catalisadores usados

4.2 DIFRATOMETRIA DE RAIOS X

O difratograma de raios X obtido com o óxido de nióbio calcinado a 300 °C, sempre por 2 horas, mostra a presença de uma estrutura amorfa, conforme é possível observar na Figura 4.2. Não há evidências da formação de uma rede cristalina definida, porque tais materiais são amorfos aos raios X.



Figura 4.2- Difratograma do óxido de nióbio calcinado a 300 °C/2 horas.



Figura 4.3- Difratogramas de raios X das misturas de óxido de nióbio e óxido de Alumínio calcinado a 300 °C/2 horas.

As análises de difratometria de raios X dos óxidos mistos forneceram resultados interessantes. A Figura 4.3 mostra os difratogramas das três misturas após serem secas e peneiradas, comparadas com os materiais puros. Observa-se que o Nb₂O₅ apresenta baixa cristalinidade, estando o pico mais intenso em $2\theta = 22.74^{\circ}$ característico da fase TT ou T (Ko e Weissman, 1990). Analisando a figura observa-se que os difratogramas referentes às misturas possuem picos característicos de uma γ -alumina. O perfil de DRX da γ -Al₂O₃ apresenta picos característicos de uma γ -alumina. O perfil de DRX da γ -Al₂O₃ apresenta picos de uma bohemita. A presença de 5, 12.5 e 20% p/p de Nb₂O₅ em Al₂O₃ não modifica o perfil de DRX do

produto, em relação à alumina. Nestas concentrações, o óxido de nióbio encontra-se totalmente disperso, não sendo possível a identificação do mesmo por DRX.

A análise por difração de Raios-X (Figura 4.4) do H₃PO₄/Nb₂O₅, indica que o material continua sendo amorfo. O difratograma obtido é praticamente o mesmo que do Nb₂O₅. De acordo com relatos anteriores (ZHEN-CHEN TANG, 2010) esperava-se que o perfil fosse diferente, porque o decrescimento drástico observado na área superficial sugeria a formação do fosfato de nióbio (KUROSAKI, A, 1987). No entanto, este resultado é muito interessante porque este fosfato amorfo impede a cristalização do Nb₂O₅. Porém, o catalisador de nióbio impregnado em ácido fosfórico se preparado na relação molar certa pode conservar a fase amorfa e conseqüentemente um área superficial relativamente alta, incluso a elevadas temperaturas (ZHEN-CHEN TANG, 2010).



Figura. 4.4- Difratograma de Raios X do H₃PO₄/Nb₂O₅.

4.3 CARACTERIZAÇÃO MEDIANTE INFRAVERMELHO (IV)

Os espectros de IV dos catalisadores estão apresentados nas Figuras 4.5, 4.6 e 4.7. Em todas as amostras analisadas os espectros apresentaram bandas de absorção com picos em 3400 cm⁻¹ e 1635 cm⁻¹, que correspondem às vibrações de estiramento e flexão dos grupos OH, presentes em água adsorvida e água coordenada (PRIYA *et al.*, 1997 e HAO *et al.*, 2004).

O espectro na região do infravermelho do Nb₂O₅ mostra uma banda centrada em torno de 3400cm^{-1} , uma banda em torno de 1640 cm^{-1} devido a água adsorvida pelo catalisador e uma banda forte e larga em torno de 620 cm^{-1} referente ao estiramento da ligação Nb-O-Nb (BRANDÃO, 2009; PEREIRA, 2004). A impregnação com ácido fosfórico levou a um material que apresentou no espectro de infravermelho uma banda aparentemente localizada em 1100 cm⁻¹

devido, provavelmente, a vibração axial assimétrica da espécie fosfato ou polifosfato, além das bandas presentes no óxido de nióbio (BRANDÃO, 2009; PEREIRA, 2004).



Figura 4.5- Espectro de IV do Nb₂O₅



Figura 4.6- Espectro de IV do 20% Nb₂O₅/Al₂O₃





4.4 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

As micrografias obtidas por MEV foram efetuadas visando ampliar as informações de caracterização, uma alternativa para avaliar a textura dos materiais. Conforme se observa na Figura 4.8, as imagens mostram que os estados de aglomeração do óxido de nióbio predominaram até mesmo após da calcinação (300°C). Este material foi analisado por espectroscopia de energia dispersiva, EDS considerando o mapeamento da linha Kα dos elementos Nb, O e C. Duas regiões ((c), (d)), foram analisadas quanto á presença destes elementos. Observou-se a incidência de altas concentrações de Nb em ambas as regiões. Em (d) vê-se uma baixa concentração de Al. Tabela 4.1.

Tabela 4.1-	EDS	do	óxido	de	nióbio.
-------------	-----	----	-------	----	---------

Regiões	C (%)	O (%)	Al (%)	Nb (%)
4 200x_pt1	35.49	17.76	-	46.75
4 200x_pt2	34.16	16.62	0.11	49.10







Na Figura 4.9 estão representadas as micrografias eletrônicas correspondentes á catalisador de nióbio após reação de hidrólise de ambas as biomassas estudadas. Pode-se observar a perda da aparência original do catalisador como conseqüência do aumento do teor de carbono. Conforme, o tratamento térmico aumenta de 90°C para 300°C, o conteúdo de carbono diminui como mostra o análise elementar realizado para cada amostra. Tabela 4.2.



Nannochloropsis oculata. 300°C

11 40 SEI

10µm

Figura 4.9- Micrografias eletrônicas de varredura do catalisador Nb₂O₅ após hidrólise da biomassa de *S. Dimorphus* e *N. Oculata.*

20kV

X2,500

10 40 SEI

20kV

X1.000

10µm

Nannochloropsis oculata. 90°C

Experimentos	% C	% H	% N	% S
Biomassa S.dimorphus	42.60	7.003	7.985	0.568
Scenedesmus dimorphus. 90°C	52.68	6.517	4.641	0.278
Scenedesmus dimorphus. 300°C	49.71	4.420	8.505	0.386
Biomassa N. oculata	46.77	7.517	8.455	0.444
Nannochloropsis oculata. 90°C	63.50	7.549	7.141	0.376
Nannochloropsis oculata. 300°C	61.08	6.090	7.196	0.268

Tabela 4.2- Composição elementar das biomassas sobre diferentes tratamentos.

A Figura 4.10 mostra o mapeamento dos elementos analisados no catalisador 20%Nb₂O₅/Al₂O₃. O mapeamento do Al mostrou partículas muito pequenas e aglomeradas no sólido, mas com alta concentração de Al. O mapeamento do Nb mostrou partículas maiores e não muito bem dispersas. No entanto, a imagem é coerente com a concentração que representa. Os resultados do Eds e fluorescência de Raios-X mostraram que os materiais impregnados possuem ás concentrações desejados.



Figura 4.10- Microscopia e mapeamento do catalisador Nb₂O₅/Al₂O₃ por EDS.

A micrografia eletrônica de varredura, Figura 4.11, referente ao catalisador H_3PO_4/Nb_2O_5 , mostrou a formação de um pó compacto constituído de micropartículas de formato regular. Observa-se que a imagem é praticamente a mesma, o seja que a impregnação foi ótima. Os resultados de fluorescência de Raios-X mostraram que o material impregnação possui 9% de P_2O_5 e 91% de Nb_2O_5 , o que demonstra também que houve uma impregnação efetiva no material. Este material foi analisado por espectroscopia de energia dispersiva (EDS), considerando o mapeamento da linha K α dos elementos P, Nb e O.



Figura 4.11- Microscopia e mapeamento do ácido fosfórico suportado em nióbio por EDS.

4.5 CARACTERIZAÇÃO POR VOLUMETRIA DE NITROGÊNIO

A área específica e a porosidade são duas propriedades importantes na catálise heterogênea, pois, enquanto a área específica influência na quantidade dos sítios ativos em um catalisador sólido, a geometria e o volume de poros controlam os fenômenos de transporte, podendo determinar a seletividade nas reações catalíticas.

Conforme pode ser visualizado na Figura 4.12, o óxido de nióbio calcinado a 300°C possui isoterma que se assemelha à do tipo IV, ou seja, um material contendo mesoporos. O gráfico da distribuição porosa, apresentado na Figura 4.13 é coerente com esta discussão.



Figura 4.12- Isotermas de adsorção-dessorção do óxido de nióbio.



Figura 4.13- Distribuição de poros do óxido de nióbio por adsorção de nitrogênio.

Os resultados obtidos por volumetria de nitrogênio dos catalisadores contendo diferentes teores de Nb (Figura 4.14) mostraram isotermas parecidas às da alumina pura. As distribuições de poros das misturas podem ser visualizadas na Figura 4.15. Nota-se que ás mesmas apresentam uma boa distribuição de poros (de 90 a 120 Å), superior á do óxido de nióbio.



Figura 4.14- Isotermas de adsorção-dessorção das misturas óxido de nióbio-aluminas preparadas com diferentes teores de nióbio.



Figura 4.15- Distribuição de poros das misturas nióbio-alumina preparadas com diferentes teores de nióbio.

O catalisador H₃PO₄/Nb₂O₅ apresenta valores de área superficial específica de 55.98 m² g⁻¹. O perfil da isoterma da Figura 4.16 sugere um material poroso com isotermas do tipo IV, segundo classificação da IUPAC. É interessante observar que a impregnação do óxido de nióbio com ácido fosfórico provoca uma diminuição da área BET do óxido de nióbio, possivelmente devido à aglomeração das partículas, corroborando os dados de microscopia eletrônica de varredura e à ligação dos íons PO4³⁻ ao nióbio com formação de espécie fosfato que seriam responsáveis pelo aumento do diâmetro de poro (REGUERA, F. M, 2004) e pela formação de novos sítios ácidos (MENDELSSOLM K, 2010). Observa-se ainda, pela distribuição de poros, detalhe na Figura 4.17, que houve modificação significativa na distribuição do diâmetro de poros após a impregnação.



Figura 4.16- Isotermas de adsorção-dessorção do óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico.



Figura 4.17- Distribuição de poros do óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico.4.6 DETERMINAÇÃO DA ACIDEZ TOTAL

A Tabela 4.3 apresenta os valores obtidos de área específica, volume e diâmetro dos poros, e acidez total dos catalisadores estudados, podendo-se observar que entre eles os resultados do catalisador 20%Nb₂O₅/Al₂O₃ e H₃PO₄/Nb₂O₅ se destacam dos demais, sendo coerente com o comportamento deles no processo de hidroesterificação (seção 4.9). Os dois

materiais apresentaram valores de acidez total, expressivos e semelhantes (esses já corrigidos por suas respectivas áreas específicas).

Estes fatos sugerem que a introdução do ácido fosfórico e alumina elevam a densidade de sitos ácidos daquelas amostras em relação ao Nb_2O_5 puro. Isto pode ser confirmado pelos resultados de densidade de sítios ácidos desses materiais, expressos em µmols de NH_3 quimissorvido por grama de catalisador, apresentados na Tabela 4.3. Esses estão de acordo com aqueles estudados por (OTZ, E, 2006) para o caso do fosfórico e por (BOTELHO DA SILA, 2010) para o nióbio suportado em alumina.

Área	Dp	Vp	Acidez	Acidez/Área
(m ² /g)	(A)	$(\mathrm{cm}^{3}/\mathrm{g})$	(µmol/g)	(µmol/m ²)
142.5089	49.4236	0.15	307	<u>2.15</u>
188.44	109.14	0.55	185	0.98
188.1805	91.760	0.49	480	2.55
183.6333	101.4851	0.46	498	2.71
181.7720	100.5927	0.45	508	<u>2.79</u>
55.9856	88.2468	0.11	164	2.92
	Área (m ² /g) 142.5089 188.44 188.1805 183.6333 181.7720 55.9856	ÁreaDp(m²/g)(A)142.508949.4236188.44109.14188.180591.760183.6333101.4851181.7720100.592755.985688.2468	ÁreaDpVp(m²/g)(A)(cm³/g)142.508949.42360.15188.44109.140.55188.180591.7600.49183.6333101.48510.46181.7720100.59270.4555.985688.24680.11	ÁreaDpVpAcidez(m²/g)(A)(cm³/g)(µmol/g)142.508949.42360.15307188.44109.140.55185188.180591.7600.49480183.6333101.48510.46498181.7720100.59270.4550855.985688.24680.11164

Tabela 4.3- Volumetria de nitrogênio e quimissorção de amônia para oscatalisadores estudados.

É importante ressaltar que as reações de esterificação foram efetuados a 200°C e, conseqüentemente, participam da reação os sítios ácidos suficientemente fortes para permanecerem ativos a essa temperatura. De acordo com os resultados de determinação dos sítios ácidos, encontrados por (BOTELHO DA SILVA, 2010) para catalisadores a base de nióbio é muito provável que nesta temperatura existam tanto sítios ácidos de Bronsted quanto de Lewis, justificando seu melhor desempenho.

4.7 CARACTERIZAÇÃO QUÍMICA DA BIOMASSA DE Scenedesmus dimorphus e Nannochloropsis oculata

O Conhecimento dos componentes químicos das microalgas permite usá-las de forma correta e rentável (ABALDE *et al.*, 1995). A fim de avaliar o potencial da biomassa de *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata* para obtenção de biodiesel, realizou-se a sua caracterização bioquímica. Foi considerada a determinação dos lipídeos totais, como os componentes macromoleculares principais para esta finalidade, além da identificação de outras substâncias presentes na biomassa algal.

A Tabela 4.4 mostra os componentes químicos obtidos das biomassas estudadas. O teor de lipídios da biomassa de *N. oculata* (22.38%) foi maior do que a biomassa de *S. dimorphus*. No entanto, apesar do conteúdo de lipídios da biomassa de *Scenedesmus* ser considerado muito baixo para a produção de biodiesel (~12%), foi utilizada para estudar o comportamento desta alga no processo de hidroesterificação. Ambas as biomassas, destacam-se por ter altos conteúdos de proteínas como componentes principais, do ponto de vista quantitativo na biomassa. Também, evidenciou-se a presença de quantidades importantes de carboidratos.

	1 9 1	-	
% EM RELAC	ÇÃO AO PESO SE	CO DE BIOMASS	SA
	Lipídeos	Proteínas	Carboidratos
Scenedesmus dimorphus	12.58 ± 0.08	$49.90{\pm}~0.01$	21.36 ± 0.15
Nannochloropsis oculata.	$22.38{\pm}0.05$	$52.84{\pm}~0.01$	24.78 ± 0.15

Tabela 4.4- Composição bioquímica das matérias primas.

As Figuras 4.18 e 4.19 mostram os cromatogramas obtidos a partir do óleo da microalga *Nannochloropsis oculata* extraído com hexano e após reação de hidrólise. Neles pode ser observado que, mesmo depois da extração com hexano, o óleo contém ácidos graxos livres (AG) e triglicerídeos (TG). Contrariamente, quando se realiza a hidrólise e posterior extração com hexano, só são observados picos na área correspondentes aos ácidos graxos. Este resultado poderia ser a explicação para os baixos rendimentos obtidos por vários pesquisadores á estudar a transesterificação in situ da biomassa de microalgas (CARVALHO, 2010; UMDU, 2009; VIÊGAS, 2010).



Figura 4.18- Cromatograma do óleo de Nannochloropsis oculata extraído com hexano.



Figura 4.19- Cromatograma da biomassa de *Nannochloropsis oculata* após hidrólise e extração con hexano.

Os altos valores de acidez dos óleos de microalgas são uma limitante para a produção de biodiesel mediante o processo tradicional de transesterificação (SÁNCHEZ, 2011). As matériasprimas utilizadas nesta reação apresentaram em sua composição (medidas de acidez) uma alta quantidade de ácidos graxos livres, sendo o óleo de *S. dimorphus* com 3.75% e o óleo de *N. oculata* 4.78% e a sua composição (medida cromatográfica) descrita na Tabela 4.5. Com estes valores de acidez, seria ineficiente a utilização do processo de catálise básica, devido à formação de sabão.

	Scenedesmus dimorphus	Nannochloropsis oculata
Ácidos graxos	Composição (% área normalizada)	Composição (% área normalizada)
Miristato	1.77	0.905
Laurato	13.59	19.1650
Palmitato	34.91	44.7885
Palmitoleato	3.31	0.9919
Estearato	6.02	9.7806
Oleato	26.24	15.9865
Linoleato	-	1.4578
Linolênato	-	0.0416
Araquidato	5.87	1.1675
Behenato	2.24	0.1505
Lignocerato	0.68	2.9543
Gadólico	2.62	-
Erúcico	2.52	-

Tabela 4.5- Composição dos ácidos graxos (%) presentes nos óleos de Scenedesmus eNannochloropis, determinados por cromatografia gasosa.

Como conseqüência da origem distinta de cada éster, estes apresentam propriedades diferentes. Em geral, para compostos saturados e insaturados temos o seguinte comportamento (Tabela 4.6) das propriedades dos combustíveis dos quais serão derivados.

 Tabela 4.6- Variação das propriedades do combustível de acordo com os ácidos graxos do qual derivam.

Propriedades	Saturado	Monoinsaturado	Poliinsaturado
Número de cetano	Alto	Médio	Baixo
Ponto de congelamento	Alto	Médio	Baixo
Estabilidade	Alta	Média	Baixa
Emissão de NOx	Redução	Aumento médio	Aumento grande
Lubricidade	Baixa	Média	Alta
Viscosidade	Aumenta com o comprimento da cadeia e com o grau de		
	saturação		
Calor de combustão	Aumenta com o au	mento da cadeia do éste	er
Pontos de névoa e	Diminuem com o a	umento da ramificação	do éster
fluidez			

Fonte: (GONÇALVES J.A.; 2007)

Com base na composição química discutida para ambas as microalgas e na Tabela 4.6, pode-se esperar que o biodiesel obtido apresente alto índice de cetano, sendo que esta propriedade aumenta com o grau de saturação e o tamanho da cadeia hidrocarbônica do produto (KANOTHE, 2009). Espera-se, também, que os ésteres metílicos derivados destas microalgas apresentem estabilidades oxidativas altas, já que aproximadamente 60% de seus componentes são ésteres graxos saturados. Este produto ainda poderá apresentar problema de fluxo a frio, caracterizado pela cristalização de ésteres graxos saturados (CUNHA, 2009).

A viscosidade do biodiesel aumenta com o comprimento da cadeia carbônica e com o grau de saturação (KANOTHE, 2009) e tem influência no processo de queima na câmara de combustão do motor. Assim, quando se avalia o perfil graxo dos ésteres obtidos das microalgas em estudo, pode-se prever que este deverá apresentar alta viscosidade, sendo que mais de 60% são derivados de ácidos graxos saturados. Estas e outras propriedades relacionadas com a qualidade do biodiesel de microalgas obtido serão discutidas de forma, mas aprofundada na Seção 4.11.

4.8 HIDROLISE E ESTERIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE Scenedesmus dimorphus

A microalga *Scenedesmus dimorphus* é apontada por diversos autores como uma das microalgas em potencial para a produção em larga escala visando à obtenção de óleo para produção do biodiesel (MANDAL *et al*, 2009.; YOO, 2010.; DEMIRBAS, 2010). No entanto, métodos eficientes e economicamente viáveis para a obtenção de biodiesel a partir das microalgas ainda são um dos entraves para o desenvolvimento desta linha de pesquisa. Outro

dos fatores mais importantes no processo econômico para a produção de biodiesel a partir de microalgas é o custo e a eficiência do método de extração (HALIM, 2012). Neste sentido, a aplicação da hidrólise in situ da biomassa desta alga pode ser uma opção a considerar. Esta técnica tem sido utilizada com sucesso em diferentes óleos vegetais como o óleo de soja e mamona (LIMA, 2007). No entanto estudos deste processo em biomassa de microalgas são escassos.

4.8.1 Hidrólise da biomassa de S. dimorphus

Para a realização da hidrólise in situ da biomassa algal, foram preparadas suspensões algais de 5 e 20%, e hidrolisadas a uma temperatura de 250 e 300°C durante uma hora de reação. Devido ao teor de lipídeos desta biomassa ser aproximadamente 12% (peso seco) não se observou, uma fase oleosa definitiva conforme ao esperado. Por isso, foi necessário fazer uma extração com hexano para recolher os ácidos graxos resultantes da hidrólise. Uma melhor separação de fases foi observada quando é utilizada uma concentração de biomassa de 20% e temperatura de 300°C. Este resultado é lógico, tendo em vista que a composição da parede celular desta alga é rica em celulose. Porém, uma maior temperatura favorece a ruptura da parede celular. Além disso, a suspensão a 20% contém maior teor de lipídeos. A combinação destes fatores leva à ocorrência da hidrólise, sendo observados os picos característicos dos componentes graxos que majoritariamente contém Scenedesmus dimorphus, como o ácido palmítico e oléico (Figura 4.20). Em contrapartida, quando foram utilizados 5% da biomassa algal não foi detectada, mediante a cromatografia gasosa, a ocorrência de qualquer hidrólise em nenhuma das temperaturas estudadas. Porém, foi realizada a metanólise dos mesmos visando obter os perfis dos ésteres metílicos. Este resultado é muito interessante, pois permite a utilização do processo de hidroesterificação in situ da biomassa algal, com as respectivas vantagens econômicas deste fato.



Figura 4.20- Cromatograma dos ácidos graxos obtidos da hidrólise in situ da *Scenedesmus dimorphus*. Identificação: C 12:0 (8.55 min), C14:0 (10.07 min), C16:0 (25.22 min), C16:1 (28.70 min), C18:0 (46.09 min), C18:1 (50.28 min), C18:2 (58.50 min), C18:3 (60.28 min).

4.8.2 Perfil de ésteres metílicos

Conforme apresentado na Tabela 4.7 quando se utiliza 20% de concentração algal e 250°C, já é possível obter o perfil lipídico da microalga estudada através da análise dos ésteres em cromatografia gasosa. No entanto, a 250°C, não foi possível obter o cromatograma dos ácidos graxos como ocorreu a 300°C. Pode-se observar que a 300°C, o conteúdo dos ésteres se incrementa e se fazem mais característicos os principais ácidos graxos presentes nas amostras, C:16 (ácido palmítico) e C18:1(ácido oléico).

	ÁC	CIDOS GRA	XOS (%)		
SAFA	250 °C	300 °C	MUFA	250 °C	300 °C
Laúrico	3.98	13.59	Palmitoléico	5.55	3.31
Mirístico	2.32	1.77	Oléico	19.94	26.24
Palmítico	26.83	34.91	Gadólico	14.66	2.62
Esteárico	18.67	6.02	Erúcico	ND	2.52
Araquídico	0.81	5.87	SOMA	40.15	34.69
Behênico	4.44	2.24	PUFA	250 °C	300 °C
Lignocérico	ND	0.68	Linoleico	0.92	ND
SOMA	57.05	65.08	Linolênico	1.83	ND
			SOMA	2.75	ND

Tabela 4.7- Composição dos ácidos graxos presentes na microalga Scenedesmus dimorphus a
diferentes temperaturas e concentração de biomassa 20%.

ND: Não Detectado; SAFA:Saturated Fatty Acid; MUFA:Monoinsaturated Fatty Acid; PUFA:Poliinsaturated Fatty Acid

Segundo dados da Tabela 4.7 a espécie estudada apresentou altos teores de SAFA e MUFA, e teores reduzidos de PUFA. Observa-se que dentre os SAFA's destaca-se o C:16 (ácido palmítico). O valor variou entre 26.83 a 34.91 % para as reações a 250-300°C, respectivamente.

Esses resultados foram compatíveis aos encontrados em trabalhos anteriores, onde o ácido palmítico foi determinado como predominante (COLLA *et al.*, 2004; DESHNIUM *et al.*, 2000; OLGUÍN *et al.*, 2001). Segundo (MAKULLA, 2000), a microalga *S. obliquus* apresenta conteúdos de ácido palmítico (C16:0) entre 35.86 e 43.06%.

Essa quantidade de ácidos graxos saturados para *Scenedesmus dimorphus* também foi observada por YOO, (2010) quando estudou o perfil lipídico das microalgas, *Chlorella vulgaris, Scenedesmus sp* e *Botryococcus braunni*. Nesse trabalho os pesquisadores obtiveram 36.3% do ácido palmítico para *Scenedesmus sp*. Valor quase igual á obtido em nosso estudo.

O ácido mirístico C14:0 apresentou maior quantidade em todas as amostras variando entre 1.77-2.32 %. Segundo a literatura, a percentagem de C14:0 em microalgas de água doce não ultrapassa 1 %. (PETKOV, 2007).

A alta quantidade encontrada de ácidos graxos saturados deve-se ao fato desta alga ser cultivada a céu aberto. Nestas condições, a cultura esta exposta a altas temperaturas e altas intensidades luminosas, dois fatores que influenciam diretamente sobre a acumulação de ácidos graxos com um elevado perfil de saturação (GARIBAY HERNÁNDEZ *et al*, 2009). No entanto, o tipo e quantidade de lipídeos produzidos também dependem da espécie e da magnitude destas variáveis (ARREDONDO & VÁZQUEZ-DUHALTH, 1991; THOMPSON, 1996; ANDERSEN, 2005; GUSCHINA & HARWOOD, 2006; HU *et al.*, 2008; RODOLFI *et al.*, 2009).

Em relação aos MUFA's a microalga *Scenedesmus dimorphus* apresentou altos teores, com destaque para o C18:1 (ácido oléico) com 26.24%. Além disso, é verificado que embora em pequena quantidade, o C22:1 (ácido Erúcico) foi obtido na reação desenvolvida a 300°C. Em quanto aos PUFA's observou-se baixos teores para as duas temperaturas estudadas.

Sob o ponto de vista quantitativo e qualitativo não ocorreu variação no perfil graxo para a *Scenedesmus dimorphus* quando comparado com a literatura. Segundo PETKOV e GARCIA, (2007) a microalga *Scenedesmus dimorphus* contêm os mesmos ácidos graxos de outras espécies do gênero. Em todos os casos, nenhum ácido graxo incomum foi observado. No entanto, a presença do ácido lignocérico na reação desenvolvida a 300°C, confirma a rigidez da parede celular desta alga. Note-se que a 250°C não foi detectada a sua presença. O seja, a 250°C ainda a parede celular parece estar intacta porque o ácido lignocérico forma-se como resultado da ruptura da parede celular. Dessa forma, dependendo da microalga deverão ser realizados investimentos em tecnologias de ultrasonicação, homogeneização por alta pressão, moagem, presença de solventes orgânicos, microondas e outros procedimentos visando à quebra da parede celular.

Na cromatografia gasosa, foram detectados compostos não identificados com os padrões disponíveis e segundo a literatura, pode ser atribuído até mesmo a presença de hidrocarbonetos com alto peso molecular, como os encontrados nas microalgas *Botryococus Braunii e Dunaliella tertiolecta* (TSHUKAHARA, 2005).

Ainda, quando o ácido palmítico e o ácido oléico foram os constituintes dominantes nesta alga, ácidos considerados os ideais para a produção de biodiesel de grande qualidade conforme mencionado nos trabalhos de (MIAO e WU, 2006 e XU *et al.*, 2006), a quantidade de lipídeos na biomassa é muito pequena (~12%) para se desenvolver um estudo cinético do processo de hidroesterificação e de caracterização do biodiesel obtido da mesma. Por estes motivos, se decidiu fazer tais estudos só para a biomassa de *Nannochloropsis Oculata*, muito mais rica em lipídeos.

4.9 HIDROESTERIFICAÇÃO DA BIOMASSA DE Nannochloropsis oculata.

Como pode ser observado na Figura 4.21, a microalga *N. Oculata* contém maior quantidade de lipídeos. Este fato, combinado com uma alta temperatura de trabalho e uma adequada concentração do catalisador, permite a separação dos ácidos graxos da biomassa algal, diferentemente do observado com *Scenedesmus dimorphus*.



(c)

(d)



Figura 4.21- Seqüência de trabalho para a obtenção de ácidos graxos: (a) produto após hidrólise, (b) extração com hexano, (c) evaporação do solvente, (d) concentrado de ácidos graxos.

4.9.1 HIDRÓLISE DA BIOMASSA DE Nannochloropsis oculata

4.9.1.1 Matriz de planejamento

A matriz do planejamento foi gerada, pelo software STATISTICA, versão 7.0, na forma randomizada. A partir deste planejamento, os experimentos foram executados no laboratório. Nas Tabelas 4.8, 4.9 e 4.10 foram apresentados os dados experimentais obtidos para o planejamento fatorial para as reações de hidrólise da biomassa de *Nannochloropsis oculata* para os catalisadores de óxido de nióbio, óxido nióbio suportado em alumina e óxido nióbio impregnado em ácido fosfórico, respectivamente.

Ε	CB (%)	T (oC)	C (% m/m)	η (%)
1	5 (-1)	250 (-1)	0 (-1)	47.09
2	20 (+1)	250 (-1)	0 (-1)	48.84
3	5 (-1)	300 (+1)	0 (-1)	50.76
4	20 (+1)	300 (+1)	0 (-1)	74.34
5	5 (-1)	250 (-1)	20 (+1)	50.12
6	20 (+1)	250 (-1)	20 (+1)	69.08
7	5 (-1)	300 (+1)	20 (+1)	84.37
8	20 (+1)	300 (+1)	20 (+1)	<u>88.86</u>
9 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	67.4
10 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	66.8
11 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	66.06

Tabela 4.8- Resultados do planejamento fatorial 2³ para as reações de hidrólise da biomassa de *Nannochloropsis oculata* com NP (Nb₂O₅).

E=experimento, CB=concentração de biomassa, T=temperatura, C=quantidade de catalisador, η =conversão.

Tabela 4.9- Resultados do planejamento fatorial 2³ para as reações de hidrólise da biomassa de *Nannochloropsis oculata* com NS (Nb₂O₅/Al₂O₃).

E	CB (%)	T (°C)	C (% m/m)	η (%)
1	5 (-1)	250 (-1)	0 (-1)	47.09
2	20 (+1)	250 (-1)	0 (-1)	48.84
3	5 (-1)	300 (+1)	0 (-1)	50.76
4	20 (+1)	300 (+1)	0 (-1)	74.34
5	5 (-1)	250 (-1)	20 (+1)	60.67
6	20 (+1)	250 (-1)	20 (+1)	85.69
7	5 (-1)	300 (+1)	20 (+1)	83.01
8	20 (+1)	300 (+1)	20 (+1)	<u>92.86</u>
9 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	69.89
10 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	68.96
11 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	68.45

Tabela 4.10- Resultados do planejamento fatorial 2³ para as reações de hidrólise da biomassa de *Nannochloropsis oculata* com NIF (H₃PO₄/Nb₂O₅).

		1		2 37
Е	CB (%)	T (°C)	C (% m/m)	η (%)
1	5 (-1)	250 (-1)	0 (-1)	47.09
2	20 (+1)	250 (-1)	0 (-1)	48.84
3	5 (-1)	300 (+1)	0 (-1)	50.76
4	20 (+1)	300 (+1)	0 (-1)	74.34
5	5 (-1)	250 (-1)	20 (+1)	65.43
6	20 (+1)	250 (-1)	20 (+1)	72.89
7	5 (-1)	300 (+1)	20 (+1)	84.56
8	20 (+1)	300 (+1)	20 (+1)	<u>95.45</u>
9 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	71.54
10 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	71.29
11 (C)	12.5 (0)	275 (0)	10 (0)	70.09

4.9.1.1.1 Análise estatística do planejamento

Na Tabela 4.11 podem ser observados claramente os efeitos principais que apresentaram maior influência (sendo esta positiva) na hidrólise da biomassa da microalga *Nannochloropsis oculata*, em ordem decrescente, a temperatura (T), seguida da concentração de catalisador (C) e por ultimo a concentração da biomassa (CB).

Fatores		EFEITC)
	Nb ₂ O ₅	Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅
(1) Temperatura	20.800	27.230	30.275
(2) Concentração de catalisador	17.850	12.740	11.765
(3) Concentração de Biomassa	12.195	2.490	1.640
Interações			
1*2	1.840	10.895	12.234
2*3	6.215	14.945	10.815
R ²	0.992	0.9801	0.993

 Tabela 4.11- Efeitos das interações nas reações de hidrólise da biomassa de Nannochloropsis oculata.

Os modelos de regressão, obtidos através dos valores dos coeficientes de regressão calculados para as conversões obtidas nas reações de hidrólise da biomassa algal para os três catalisadores em estudo, são apresentados na Tabela 4.12.

Tabela 4.12- Modelos de regressão para as reações de hidrólises da biomassa de *N.oculata*.

Hidrólise	Modelos
Nb ₂ O ₅	64.88+6.09CB+10.4T+8.92C+3.10T*C-4.53CB*T*C
Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	72.8+13.61T+6.37C- 5.44CB*T+7.47CB*C-6.23T*C
H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₃	72.95+15.13T+5.88C-3.12CB*T+5.40CB*C-4.71T*C+3.98CB*T*C

A adequação destes modelos pode ser qualitativamente observada, através da proximidade dos dados à linha reta, mostrados nas figuras dos valores observados versus preditos, para a hidrólise da biomassa algal com óxido de nióbio (Figura 4.22), óxido de nióbio suportado sobre alumina (Figura 4.23) e nióbio impregnado com fosfórico (Figura 4.24). Isso somente é possível quando os valores dos desvios-padrões dos parâmetros estão numa ordem de grandeza inferior aos mesmos. Se essa proximidade ocorre, o ajuste, do modelo predito aos dados obtidos experimentalmente, é satisfatório (CALADO & MONTGOMERY, 2003).



Figura 4.22- Gráfico de valores observados versus preditos para a hidrólise da biomassa de *N.oculta* com Nb₂O₅.



Figura 4.23- Gráfico de valores observados versus preditos para a hidrólise da biomassa de *N.oculta* com Nb₂O₅/Al₂O₃.



Figura 4.24- Gráfico de valores observados versus preditos para a hidrólise da biomassa de $N.oculta \text{ com } H_3PO_4/Nb_2O_5.$

A adequação destes modelos aos dados puderam também ser constatada através da observação dos coeficientes de determinação (R^2), os quais se mantiveram próximos de 1 (em
torno de 99%). O resíduo obtido, neste caso, foi em torno de 1%. Os desvios-padrões dos parâmetros e dos modelos (das variáveis que apresentaram p<0.05) se mostraram numa ordem de grandeza muito abaixo do valor do parâmetro (em torno de 1% do valor do parâmetro).

Para verificar o comportamento da interação entre os fatores temperatura, concentração de biomassa e concentração de catalisador, foram graficadas as superfícies de resposta (surface plot). As Figuras 4.25, 4.26 e 4.27 mostram que, para os três catalisadores a interação entre a temperatura e a concentração do catalisador produz um aumento significativo na conversão, seguida pela interação entre temperatura e concentração de biomassa.



Figura 4.25- Superfície de resposta da hidrólise da biomassa de *Nannochloropis oculata*, utilizando catalisador Nb₂O₅. a) Conv vs T,CB b) Conv vs C,CB c) Conv vs C,T.



Figura 4.26- Superfície de resposta da hidrólise da biomassa de *Nannochloropis oculata*, utilizando catalisador Nb₂O₅/Al₂O₃. a) Conv vs T,CB b) Conv vs C,CB c) Conv vs C,T.



Gráfico 4.27- Superfície de resposta da hidrólise da biomassa de *Nannochloropis oculata*, utilizando catalisador H₃PO₄/Nb₂O₅. a) Conv vs T,CB b) Conv vs C,CB c) Conv vs C,T.

Como o efeito de interação foi significativo, os efeitos principais devem ser interpretados conjuntamente.

Para as três reações de hidrólises tem-se que:

- Elevando a temperatura aumenta-se a conversão da reação, porém esse efeito é muito mais pronunciado na presença de catalisador;
- Na ausência de catalisador a conversão da reação é diminuída, sendo este efeito mais claro na menor concentração de biomassa.
- Na presença de catalisador não há diferença quando diminuída a concentração de biomassa;

As maiores conversões, para a hidrólise da biomassa de *N. oculata* com Nb₂O₅ (88.86%), Nb₂O₅/Al₂O₃ (92.00%) e H₃PO₄/Nb₂O₅ (95.45%), foram obtidos na presença de catalisador (20%), na maior temperatura (300°C) e na maior concentração de biomassa (20). No entanto, valores de conversão interessantes de 84.37%, 83.01% e 84.56% para os catalisadores de nióbio, nióbio suportado e nióbio impregnado respectivamente, foram obtidos nas mesmas condições de temperatura e concentração de catalisador, porém na menor concentração de biomassa (CB 5).

4.9.1.1.1.1 Influência da temperatura (T)

Como pode ser observada através da análise estatística, a temperatura foi a variável de maior influência na conversão reacional (Tabela 4.11).

Observando os dados experimentais descritos nas Figuras 4.28 e 4.29, podemos constatar que nas condições apresentadas (CB5, sem catalisador), a temperatura de 250°C, favoreceu um aumento pequeno da conversão. Na temperatura de 300°C, houve aumentou maior da conversão, sendo que este efeito pode ser observado em todas as reações de hidrólises.

Quando avaliada a condição de maior concentração de biomassa (CB20, sem catalisador) há um drástico aumento da conversão.



Figura 4.28- Avaliação do efeito da temperatura na hidrólise da biomassa de *N*. *oculata* (CB5).



Figura 4.29- Avaliação do efeito da temperatura na hidrólise da biomassa de *N*. *oculata* (CB20).

MINAMI *et al.* (2006) realizaram estudos de hidrólise do óleo de canola em água supercrítica. Em seu trabalho foram constatadas as influências da temperatura e do tempo na conversão reacional. Os experimentos de hidrólise supercrítica foram realizados durante 60 minutos e 20 Mpa, observou-se que quando avaliadas diferentes temperaturas (250 a 320°C), as temperaturas menores (250 e 270°C) favoreceram uma elevada conversão (90%), porém em um grande intervalo de tempo (reação lenta). Entretanto, a taxa de formação de ácidos graxos aumentou gradativamente com o aumento da temperatura (320°C).

LEÃO (2007) tinha reportado comportamentos semelhantes aos obtidos neste estudo quando analisou a hidroesterificação dos óleos de soja e mamona, utilizando nióbio como catalisador. As melhores conversões, para esse estudo foram 83.07% e 86.08% para o óleo de mamona e soja respectivamente.

ALENEZI *et al.*, (2009) em seus estudos sob a hidrólise do óleo de girassol em condições subcríticas avaliaram a influência da temperatura reacional no processo. Os autores encontraram que a produção de ácidos graxos incrementa-se drasticamente com o incremento da temperatura.

Existem na literatura poucos trabalhos relacionados com este tópico e menos ainda relacionados com a utilização de biomassa de microalgas. Porém, a realização de comparações que conduzam á melhor interpretação dos resultados torna-se difícil. No entanto, quando comparados os resultados, com os obtidos mediante a transesterificação in situ da biomassa de *Nannochloropis oculata* estes são superiores.

4.9.1.1.1.2 Influência da concentração de catalisador (C)

A concentração do catalisador foi a segunda variável de maior influência na conversão. Em todas as condições avaliadas (Figuras 4.30 a 4.33) a influência do catalisador é nítida, com o favorecimento de altas conversões às maiores temperaturas e quando se utilizou a maior concentração do catalisador (C20). Sendo que os catalisadores de nióbio suportado e nióbio impregnado em ácido fosfórico mostraram as melhores conversões sendo coerente com os resultados encontrados na seção 4.6. Certamente, a utilização do suporte de alumina e a impregnação com fosfórico resultou no aumento das propriedades ácidas dos catalisadores em relação ao óxido de nióbio sem tratamento.

Ainda quando as conversões sem a utilização do catalisador são altas a 300°C, se preferiu a utilização dos mesmos, tendo em vista que quando se trabalha com microalgas pequenas quantidades no produto final são importantes e além disso foi observado uma melhor aparência do concentrado de ácidos graxos, principalmente quando se utiliza o catalisador suportados em alumina.



Figura 4.30- Avaliação do efeito dos catalisadores na hidrólise da biomassa de *N. oculata* (CB5/T250).



Figura 4.32- Avaliação do efeito dos catalisadores na hidrólise da biomassa de *N. oculata* (CB20/T250).



Figura 4.31- Avaliação do efeito dos catalisadores na hidrólise da biomassa de *N. oculata* (CB5/T300).



Figura 4.33- Avaliação do efeito dos catalisadores na hidrólise da biomassa de *N. oculata* (CB20/T300).

Os Gráficos antes mencionados mostram também que à temperatura de 300°C, a conversão final (aos 60 minutos) foi 34.04% (para a hidrólise com Nb₂O₅), 33.01% (para a hidrólise com Nb₂O₅/Al₂O₃) e 34.89% (para a hidrólise com H₃PO₄/Nb₂O₅) maior quando utilizado 20% do catalisador na menor concentração de biomassa (CB5), sendo esta diferença

muito maior do que aquela observada na maior concentração de biomassa (CB20). As conversões observadas nessas condições foram de 88.86, 92.00 e 95.45% para as hidrólises com óxido de nióbio puro, suportado com alumina e impregnado com fosfórico, respectivamente.

4.9.1.1.1.3 Influência da concentração de biomassa (CB)

Os melhores resultados, em termos de conversão após 60 minutos, foram obtidos quando utilizada concentração de biomassa de 20, concentração de catalisador de 20% e temperatura de 300°C, para os três catalisadores utilizados. Este efeito pode ser melhor observado quando avaliada a influência da concentração de biomassa (variável que apresentou o terceiro maior efeito estatístico na conversão reacional) coadjuvada à temperatura (300°C) na ausência de catalisador (Figura 4.34), onde a concentração de biomassa (20) favoreceu um aumento nas conversões aos 60 minutos de reação, em relação à concentração de biomassa (5). Certamente, tal condição apresenta o maior teor de lipídeo e a menor quantidade de água. Acima desta concentração de biomassa o manuseio da biomassa torna-se quase impossível pela formação de uma pasta de algas difícil de ser agitada.



Figura 4.34- Avaliação do efeito da CB na hidrólise da biomassa de *N. oculata* (C0).



Figura 4.35- Avaliação do efeito da CB na hidrólise da biomassa de *N. oculata* (C20NP).



Figura 4.36- Avaliação do efeito da CB na hidrólise da biomassa de *N. oculata* (C20NS).



Figura 4.37- Avaliação do efeito da CB na hidrólise da biomassa de *N. oculata* (C20NIF).

Na presença de 20% de catalisador (Figuras 4.35 a 4.37), a menor concentração de biomassa (5) proporcionou praticamente a mesma conversão, sendo de 84.37% para a hidrólise com Nb₂O₅, que para a maior concentração de biomassa 20% (88.86%). Para os demais catalisadores a diferença foi maior, muito perto de 100%. Sendo assim a condição ideal é aquela que se utiliza o menor excesso de água (CB20). Certamente, o excesso de água favoreceu o deslocamento do equilíbrio termodinâmico, no entanto, diminui a velocidade de reação ao diluir o sistema.

4.9.2 ESTERIFICAÇÃO

4.9.2.1 Matriz de planejamento

Nas Tabelas 4.13, 4.14 e 4.15 são apresentados os dados experimentais obtidos para o planejamento fatorial para das reações de esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* com Nióbio puro, nióbio suportado e nióbio impregnado com acido fosfórico, respectivamente.

	C	C	-	
Ε	RM (%)	T (°C)	C (% m/m)	η (%)
1	1.2 (-1)	150 (-1)	0 (-1)	40.67
2	3 (+1)	150 (-1)	0 (-1)	62.56
3	1.2 (-1)	200 (+1)	0 (-1)	68.34
4	3 (+1)	200 (+1)	0 (-1)	86.72
5	1.2 (-1)	150 (-1)	20 (+1)	80.12
6	3 (+1)	150 (-1)	20 (+1)	60.56
7	1.2 (-1)	200 (+1)	20 (+1)	82.86
8	3 (+1)	200 (+1)	20 (+1)	86.03
9 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	62.6
10 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	62.87
11 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	63.05

Tabela 4.13- Resultados do planejamento fatorial 2³ para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis oculata* com NP.

Tabela 4.14- Resultados do planejamento fatorial 2³ para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis oculata* com NS.

	\mathcal{O}	0	1	
Ε	RM (%)	T (°C)	C (% m/m)	η (%)
1	1.2 (-1)	150 (-1)	0 (-1)	45.76
2	3 (+1)	150 (-1)	0 (-1)	47.98
3	1.2 (-1)	200 (+1)	0 (-1)	48.74
4	3 (+1)	200 (+1)	0 (-1)	86.78
5	1.2 (-1)	150 (-1)	20 (+1)	85.01
6	3 (+1)	150 (-1)	20 (+1)	89.99
7	1.2 (-1)	200 (+1)	20 (+1)	91.04
8	3 (+1)	200 (+1)	20 (+1)	<u>93.55</u>
9 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	69.13
10 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	70.04
11 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	69.32

Ε	RM (%)	T (°C)	C (% m/m)	η (%)
1	1.2 (-1)	150 (-1)	0 (-1)	44.23
2	3 (+1)	150 (-1)	0 (-1)	62.87
3	1.2 (-1)	200 (+1)	0 (-1)	68.05
4	3 (+1)	200 (+1)	0 (-1)	86.45
5	1.2 (-1)	150 (-1)	20 (+1)	80.48
6	3 (+1)	150 (-1)	20 (+1)	60.09
7	1.2 (-1)	200 (+1)	20 (+1)	82.42
8	3 (+1)	200 (+1)	20 (+1)	<u>95.43</u>
9 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	69.04
10 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	68.95
11 (C)	2.1 (0)	175 (0)	10 (0)	68.67

Tabela 4.15- Resultados do planejamento fatorial 2³ para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis oculata* com NIF.

4.9.2.1.1 Análise estatística da reação

Como se pode observar claramente na Tabela 4.16 os efeitos principais que apresentaram maior influência (sendo esta positiva) na esterificação dos ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis oculata*, em ordem decrescente, a temperatura (T), seguida da concentração de catalisador (C) e depois da razão molar metanol/ácido graxo (RM).

Tabela 4.16 -	Efeitos das	s interações nas	reações	de esterificaçã	ão dos ác	idos graz	xos de
		Nannochl	oropsis o	culata.			

Fatores	EFEITO					
	Nb ₂ O ₅	Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅			
(1) Temperatura	20.0100	32.58250	21.1700			
(2) Concentração de catalisador	12.8200	12.84250	14.2050			
(3) Razão molar	5.9700	11.9375	7.4150			
Interações						
1*2	4.8050	8.33750	8.2900			
2*3	0.876	0.2454	0.8434			
\mathbf{R}^2	0.9272	0.9887	0.98553			

Os modelos de regressão, obtidos através dos valores dos coeficientes de regressão calculados para as conversões obtidas nas reações de esterificação dos ácidos graxos de *Nannochloropsis oculata*, foram apresentados na Tabela 4.17.

 Tabela 4.17- Modelos de regressão para as reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga Nannochloropsis oculata.

Hidrólise	Modelos
Nb ₂ O ₅	η=68.76+10Τ
Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	η=72.48+5.96RM+6.4T+16.29C+4.16RM*T-4.09RM*C-4.02T*C-4.78RM*T*C
H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅	n=71.51+3.70RM+10.58T+7.10C+4.14RM*T-5.55RM*C+ 4.2RM*T*C

A adequação destes modelos (por exemplo, para o tempo de 60 minutos) pode ser qualitativamente observada, através da proximidade dos dados à linha reta, mostrados nos gráficos dos valores observados versus preditos (Figuras 4.38 a 4.40).



Figura 4.38- Gráfico de valores observados versus preditos para a esterificação dos ácidos graxos de *N.oculata* com NP.



Figura 4.39- Gráfico de valores observados versus preditos para a esterificação dos ácidos graxos de *N.oculata* com NS.



Figura 4.40- Gráfico de valores observados versus preditos para a esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* com óxido de nióbio impregnado com ácido fosfórico.

A adequação destes modelos aos dados pôde também ser constatada através da observação dos coeficientes de determinação (\mathbb{R}^2), os quais se mantiveram próximos de 1 (em torno de 99%) em todos os tempos de reação. O resíduo obtido neste caso foi em torno de 1%. Os desvios-padrões dos parâmetros e dos modelos (das variáveis que apresentaram p<0,05) se mostrou numa ordem de grandeza muito abaixo do valor do parâmetro (em torno de 1% do valor do parâmetro).

As superfícies de resposta do planejamento de experimentos com os três catalisadores utilizados são mostradas nas Figuras 4.41, 4.42 e 4.43, onde se observam os efeitos de cada variável sobre a conversão. Sendo, a interação entre a temperatura e a concentração do catalisador ao igual que nas reações de hidrólise as de maior efeito.



Figura 4.41-Superfície de resposta da esterificação dos ácidos graxos de *Nannochloropis oculata*, utilizando catalisador Nb₂O₅. a) Conv vs RM,T b) Conv vs T,C c) Conv vs C, RM.



Figura 4.42- Superfície de resposta da esterificação dos ácidos graxos de *Nannochloropis oculata*, utilizando catalisador Nb₂O₅/Al₂O₃ a) Conv vs RM,T b) Conv vs T,C c) Conv vs C, RM



Figura 4.43- Superfície de resposta da esterificação dos ácidos graxos de *Nannochloropsis oculata*, utilizando catalisador Nb₂O₅/H₃PO₄. a) Conv vs RM,T b) Conv vs T,C c) Conv vs C, RM

Como o efeito de interação foi significativo, os efeitos principais devem ser interpretados conjuntamente.

Para ambas reações de esterificação tem-se que:

- Elevando a temperatura aumenta-se a conversão final da reação, porém esse efeito é muito mais pronunciado na presença de catalisador e na maior razão molar;
- Na ausência de catalisador a conversão da reação é diminuída, sendo este efeito mais claro na maior razão molar;
- As maiores conversões, para a esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* com Nb₂O₅ (86.03%), Nb₂O₅/Al₂O₅ (93.55%) e para H₃PO₄/Nb₂O₅ (95.43%), foram obtidos na presença de catalisador (20%), na maior temperatura (200°C) e na maior razão molar (3).

4.9.2.1.1.1 Influência da temperatura (T)

O efeito da temperatura sob a conversão dos ácidos graxos é muito importante para as reações heterogêneas (SHI, 2011).

Para as reações de esterificação dos ácidos graxos de *N.oculata*, a temperatura foi, estatisticamente, a variável de maior influência na conversão reacional, sendo esta influência positiva (Tabela 4.16). Da mesma forma que nas reações de hidrólise, a temperatura de 200°C (na ausência de catalisador) favoreceu o aumento da conversão reacional, levando à formação mais acelerada (em torno de 25 minutos) dos ésteres metílicos em altas conversões, este efeito pode ser observado em todas as reações de esterificação. Quando avaliada a condição de maior razão molar (RM3, sem catalisador) esse aumento intenso da conversão ocorre em um menor tempo (aproximadamente 20 minutos). Figuras 4.44 e 4.45.

MARCHETTI *et al.*, (2006) em seus estudos de esterificação de óleos residuais de fritura avaliaram a influência da temperatura reacional no processo, quando fixada a quantidade de catalisador em 2%, a razão molar em 6.128 e variada a temperatura em 30, 45 e 55°C. Estes resultados os levaram a concluir que a temperatura apresenta influência positiva significativa na conversão desses ácidos graxos em ésteres.



Figura 4.44- Avaliação do efeito da temperatura na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (RM1.2/C0).





SONG *et al.*, (2010) estudaram a esterificação do ácido oléico em metanol subcrítico utilizando como catalisador acetato de zinco. Eles avaliaram a influência da temperatura, pressão, tempo de reação e razão molar oléico: metanol. O melhor resultado na conversão (95%) foi obtido á maior temperatura estudada; 220°C, 6 MPa, razão molar metanol: ácido oléico 4:1 e 1% de concentração de catalisador. O mesmo comportamento tinha sido observado por BERRIOS *et al.*, (2010) ao estudar a esterificação e transesterificação do óleo de fritura para a produção de biodiesel.

4.9.2.1.1.1.2 Influência da concentração de catalisador (C)

A concentração do catalisador foi a segunda variável que apresentou maior influência na conversão reacional da esterificação dos ácidos graxos.

Como citado por SANTOS *et al.*, (2006) os catalisadores foram calcinados antes de ser utilizados no processo de esterificação, sendo que a calcinação favoreceu o aumento do caráter ácido dos catalisadores, o qual desencadeou um aumento na conversão dos ácidos graxos, em apenas 25 minutos de reação, conduzidas em baixa temperatura. Isso, leva a reação catalítica a um nível de conversão igual ou semelhante à reação com catalisador homogêneo (80%) (SANTOS, 2005).





Figura 4.46- Avaliação do efeito dos catalisadores na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (RM 1.2/T150).



Figura 4.48- Avaliação do efeito dos catalisadores na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (RM 3/T150.



Figura 4.47- Avaliação do efeito dos catalisadores na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (RM 1.2/T200).



Figura 4.49- Avaliação do efeito dos catalisadores na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (RM 3/T200).

Nas reações conduzidas a 200°C, na maior razão molar (3), não foram observadas diferenças tão pronunciadas entre as reações sem catalisador e na presença de catalisador (Figuras 4.49), confirmando a sobreposição da ação da temperatura sobre a ação do catalisador. No entanto, um valor máximo de conversão foi obtido próximo de 20 minutos de reação especificamente para o catalisador de nióbio impregnado com ácido fosfórico.

Segundo CARVALHO *et al.*, (2005) bons resultados na conversão de processos de esterificação podem ser obtidos por catalisadores que possuem sítios bastante ácidos, como é o caso dos catalisadores utilizados neste trabalho, quem, além disso, possuem uma estrutura molecular que favorece a sua maior estabilidade térmica e a ocorrência de menores problemas relacionados à difusão. Estes sítios ácidos foram incrementados com a preparação dos catalisadores de nióbio suportado em alumina e de nióbio impregnado com acido fosfórico.

Aos 30 minutos reacionais foi possível observar, em todas as reações conduzidas na presença de catalisador, a formação de um *plateau*. Este efeito é como descrito por JOÃO *et al.*,

(2006) observado em reações que, ao alcançarem o seu máximo de conversão, apresentam equilíbrio termodinâmico.

4.9.2.1.1.1.3 Influência da razão molar metanol/ácido graxo (RM)

Em todas as reações de esterificação dos ácidos graxos de *N.oculata* (Figuras 4.51 a 4.53) as maiores conversões encontradas foram na temperatura de 200°C, razão molar 3 e 20% de catalisador.



Figura 4.50- Avaliação do efeito da razão molar na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (C0).



Figura 4.52- Avaliação do efeito da razão molar na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (C20NS).



Figura 4.51- Avaliação do efeito da razão molar na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (C20NP).



Figura 4.53- Avaliação do efeito da razão molar na esterificação dos ácidos graxos de *N. oculata* (C20NIF).

O comportamento dos ácidos graxos da microalga *N.oculata* em relação à esterificação é muito semelhante à dos óleos vegetais convencionais e demonstram que esta microalga assim como outras, constituem uma fonte para a obtenção do biodiesel praticamente inexplorada. Os maiores problemas encontrados para a conversão dos ácidos graxos das microalgas em seus respectivos ésteres estão associados à purificação dos mesmos, em especial à remoção das altas quantidades de carbono que se gera na própria reação de hidrólise. No entanto, segundo

(HEILMANM. S.M, 2011) os triglicerídeos não contribuem à formação do carvão, eles são hidrolisados a ácidos graxos e adsorvidos sobre o carvão produzido na reação.

5.5 MODELAGEM CINÉTICA

O estudo cinético das reações de esterificação, utilizando os catalisadores (Nb₂O₅, Nb₂O₅/Al₂O₃, H₃PO₄/Nb₂O₅), foi realizado mediante aplicação das condições operacionais que otimizaram a conversão no planejamento de experimentos: razão ácidos graxos:álcool 1:3, 20% de catalisador, 200°C de temperatura, 400 rpm de agitação e tomando alíquotas nos tempos 5, 10, 15, 20, 30, 45 e 60 min. Os resultados estão dispostos nas tabelas 4.18, 4.19 e 4.20. Entanto que as curvas de avanço das reações para cada catalisador se mostram na figura 4.56.

Tabela 4.18- Resultados experimentais do estudo cinético com o catalisador Nb₂O₅.

PARÂMETROS	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	45 min	60 min
Conversão, (%)	18.58	35.81	60.21	66.10	69.08	73.71	82.91	86.03
Conteúdo de éster, (%)	17.25	33.25	55.91	61.38	64.14	68.44	76.99	79.89
Acidez, (%)	39.35	28.29	18.03	16.53	15.91	15.83	10.31	8.20

PARÂMETROS	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	45 min	60 min
Conversão, (%)	48.72	66.05	70.69	74.80	78.13	82.57	88.89	93.55
Conteúdo de éster, (%)	48.04	66.98	69.29	73.75	77.04	81.42	87.65	94.87
Acidez, (%)	24.53	15.30	9.43	7.39	6.68	5.63	5.69	4.85

Tabela 4.19- Resultados experimentais do estudo cinético com o catalisador Nb₂O₅/Al₂O₃.

Tabela 4.20- Resultados experimentais do estudo cinético com o catalisador H₃PO₄/Nb₂O₅.

PARÂMETROS	5 min	10 min	15 min	20 min	25 min	30 min	45 min	60 min
Conversão, (%)	58.29	75.68	84.99	88.25	89.75	91.39	92.68	95.43
Conteúdo de éster, (%)	58.04	75.35	84.62	87.87	89.36	90.99	92.28	95.84
Acidez, (%)	29.36	17.54	11.34	8.73	7.68	6.24	5.94	3.56

Como confirmam os dados das tabelas acima e a Figura 4.54, o comportamento das reações de esterificação foi semelhante para os três catalisadores. Altas conversões são observadas nos primeiros 20 minutos de reação, sendo que a reação catalisada com nióbio impregnado em ácido fosfórico atinge 88% de conversão. Este valor é maior que os valores finais obtidos para o catalisador de óxido de nióbio puro aos 60 minutos. Aos 30 minutos reacionais foi possível observar, em todas as reações conduzidas na presença de catalisador, a formação de um *plateau*. Este efeito é, como descrito por JOÃO *et. al.* (2006) observado em reações que, ao alcançarem o seu máximo de conversão, apresentam equilíbrio termodinâmico.



Figura 4.54- Curvas de avanço das reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga Nannochloropsis oculata com os catalisadores utilizados.

4.10.1 Determinação das constantes cinéticas

Seis modelos cinéticos assumindo o mecanismo de reação e a etapa controladora foram obtidos a partir da Equação 3.7 (seção 3.11), estes modelos foram:

- Modelo 1: Reação reversível, sem dissociação do triglicerídeo, mecanismo: Eley Rideal, etapa controladora: reação química.
- Modelo 2: Reação reversível, sem dissociação do triglicerídeo, mecanismo: Eley Rideal, etapa controladora: adsorção dos reagentes.
- Modelo 3: Reação reversível, sem dissociação do triglicerídeo, mecanismo: Eley Rideal, etapa controladora: dessorção dos produtos.
- Modelo 4: Reação reversível, sem dissociação do triglicerídeo, mecanismo: LHHW, etapa controladora: reação química.
- Modelo 5: Reação reversível, sem dissociação do triglicerídeo, mecanismo: LHHW, etapa controladora: adsorção dos reagentes.
- Modelo 6: Reação reversível, sem dissociação do triglicerídeo, mecanismo: LHHW, etapa controladora: dessorção dos produtos.

A metodologia aplicada para a definição dos modelos cinéticos foi a desenvolvida por TAPANES *et al.* (2008). A seguir será detalhado o procedimento utilizado e os resultados obtidos:

Substituição na Equação 3.7 dos termos cinético, potencial e de adsorção, obtidos das tabelas 3.5, 3.6, 3.7 e 3.8 segundo as condições assumida em cada modelo.

Mediante as simplificações correspondentes, considerando que não existem produtos no início da reação, ou seja, que $C_{R0} = C_{S0} = 0$, e conhecendo que para um reator em batelada se cumpre que: (-r_A) = $C_{Ao}(dXa/dt)$, se obtém para cada modelo a equação de taxa de reação como função da conversão. Estas equações resultaram semelhantes para todos os modelos, podendo-se escrever como:

$$(dXa/dt) = \frac{k_1 + k_2 X_A + k_3 X_A^2}{k_4 + k_5 X_A + k_6 X_A^2}$$
(Equação 4.1)

Nesta equação, $\mathbf{k_1}$, $\mathbf{k_2}$, $\mathbf{k_3}$, $\mathbf{k_4}$, $\mathbf{k_5}$ e $\mathbf{k_6}$ são funções da constante de equilíbrio, das constantes de reação de cada componente e das concentrações iniciais de A e B (C_{Ao} e C_{Bo}). A equação 4.2 foi obtida matematicamente para todos os modelos assumidos, variando apenas as constantes $\mathbf{k_1}$ até $\mathbf{k_6}$, como se mostra na Tabela 4.21.

Etapa controladora	Mecanismo de Eley Rideal	Mecanismo LHHW
Reação Química	Modelo 1: $k_1 = k K_B C_{Bo}$ $k_2 = -k K_B (C_{Ao} + C_{Bo})$ $k_3 = k K_B C_{Ao} (1-1/K)$ $k_4 = (1+K_B C_{Bo})^2$ $k_5 = 2C_{Ao} (1+K_B C_{Bo}) (K_R+K_S-K_B)$ $k_6 = C_{Ao}^2 (K_R+K_S-K_B)^2$	Modelo 4: $k_1 = k_B K_A K_B C_{Bo}$ $k_2 = -k K_A K_B (C_{Ao} + C_{Bo})$ $k_3 = k K_A K_B C_{Ao} (1-1/K)$ $k_4 = (1 + K_A C_{Ao} + K_B C_{Bo})^2$ $k_5 = 2C_{Ao} (1 + K_A C_{Ao} + K_B C_{Bo}) (K_R + K_S - K_A - K_B)$ $k_6 = C_{Ao}^2 (K_R + K_S + K_A + K_B)^2$
Adsorção de B	Modelo 2: $k_1 = k_B K C_{Bo}$ $k_2 = -k_B (C_{Ao} + C_{Bo})$ $k_3 = k_B C_{Ao} (K-1)$ $k_4 = K$ $k_5 = K(K_R C_{Ao} + K_S C_{Ao} - 1)$ $k_6 = C_{Ao}(K_B - KK_R - KK_S)$	Modelo 5: $k_1 = k_B K C_{Bo}$ $k_2 = -k_B K (C_{Ao} + C_{Bo})$ $k_3 = k_B C_{Ao} (K-1)$ $k_4 = K C_{Ao} (K-1)$ $k_5 = KC_{Ao} (K_R C_{Ao} + K_S C_{Ao} - K - 2K_A C_{Ao})$ $k_6 = C_{Ao}^{2} (K_B + KK_A - KK_R - KK_S)$
Dessorção de S	Modelo 3: $k_1 = k_S K C_{Bo}$ $k_2 = -k_S (C_{Ao} + C_{Bo})$ $k_3 = k_S C_{Ao} (K-1)$ $k_4 = K K_S C_{Bo}$ $k_5 = 1 + K_B C_{Bo} - K K_S (C_{Ao} + C_{Bo})$ $k_6 = C_{Ao} (K K_S - K_B)$	Modelo 6: $k_1 = k_S K C_{Bo}$ $k_2 = -k_S K (C_{Ao} + C_{Bo})$ $k_3 = k_S C_{Ao} (K-1)$ $k_4 = K K_S C_{Ao} C_{Bo}$ $k_5 = C_{Ao} (1 + K_A C_{Ao} + K_B C_{Bo} - KK_S (C_{Ao} + C_{Bo}))$ $k_6 = C_{Ao}^{2} (K_R KK_S - K_A - K_B)$

Tabela 4.21- Equações das constantes k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , k_5 e k_6 para cada modelo assumido.

 $C_{Ao} = 0.835 \text{ e } C_{Bo} = 18.48 \text{ mol.L}^{-1}$

Para determinar as constantes cinéticas, a Equação 4.1 foi rearranjada da seguinte forma:

dt =
$$\frac{k_4 + k_5 X_A + k_6 X_A^2}{k_1 + k_2 X_A + k_3 X_A^2}$$
 dXa (Equação 4.2)

Integrando-se analiticamente a Equação 4.2, utilizando-se o software Maple, foi encontrada a seguinte expressão:

$$t = \frac{2 k_{6} k_{1}}{k_{3}} \frac{k_{5} - k_{6} k_{2} / k_{3}}{2 k_{3}} * \log (k_{1} + k_{2} X_{A} + k_{3} X_{A}^{2}) + \frac{2 k_{6} k_{1} / k_{3} - k_{2} k_{5} / k_{3}^{2}}{\sqrt{4 k_{1} k_{3} - k_{2}^{2}}} * \arctan \left[\frac{k_{2} + 2 k_{3} X_{A}}{\sqrt{4 k_{1} k_{3} - k_{2}^{2}}} \right]$$
(Equação 4.3)

Substituindo as expressões das constates k_1 , k_2 , k_3 , k_4 , k_5 e k_6 (Tabela 4.21) na Equação 4.3 foram obtidas as seis equações cinéticas. Mediante estas equações cinéticas e os resultados experimentais de t vs X_A das Tabelas 4.18 a 4.20 e utilizando o modelo de regressão não-linear do software Statistica 7.0, foram determinadas as constantes cinéticas de cada modelo. As constantes de velocidade k são apresentadas na Tabela 4.22.

È necessário ressaltar que para a análise de adequabilidade dos modelos avaliados foi considerado, primeiramente, o realismo físico dos parâmetros estimados pela regressão nãolinear. Isto implica dizer que modelos nos quais foram obtidos valores negativos para os parâmetros k, k_B, k_R, K_A, K_B, K_C e K_D são descartados, a menos que o próprio modelo considerasse insignificante o parâmetro negativo. A partir desta designação, algorítmos de convergência disponíveis no software Statistica foram testados para um mesmo modelo, dos quais o Hooke-Jeeves e Quase-Newton foram o que melhor conseguiram minimizar os valores de Loss Function (LF), que é a diferença ao quadrado entre os valores do tempo de reação experimental e os calculados. Esta propriedade estatística possibilita o programa buscar valores para os parâmetros a serem estimados até encontrar os melhores valores para os mesmos, ou seja, os que apresentam menor mínimo quadrado (LF).

*				e		
Etana controladora	A un o stars	LH	HW	Eley Rideal		
Ειαρά controladora	Amosira	k	$R^{2}(\%)$	k	$R^{2}(\%)$	
Reação Química	Nb_2O_5	4.663	92.37	8.008431	89.53	
(k =k)	Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	4.928	98.60	18.99258	98.60	
	H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅	0.015	85.40	11.69511	85.40	
Adsorção do reagente	Nb_2O_5	0.227	92.37	0.683	92.37	
$(k = k_B)$	Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	0.1594	98.60	0.127	98.60	
	H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅	-	-	0.0028	85.40	
Dessorção do produto	Nb ₂ O ₅	2.013	92.37	0.227	92.37	
$(k = k_R)$	Nb ₂ O ₅ /Al ₂ O ₃	3.192	98.60	0.159	98.60	
	H ₃ PO ₄ /Nb ₂ O ₅	-	-	-	-	

 Tabela 4.22- Resultados do estudo cinético da esterificação dos ácidos graxos da microalga

 Nannochloropsis oculata. Constante de velocidade k, mol/ gcat min

As figuras 4.55 e 4.56 mostram os resultados obtidos na Tabela 4.22. Um aumento da constante cinética k indica maior velocidade de reação e conseqüentemente maior conversão de



ácidos graxos a biodiesel. Para ambos os modelos a menor constante de velocidade foi obtida para o catalisador de óxido de nióbio, sendo compatível com seu desempenho catalítico.

Figura 4.55- Constantes cineticas da reação modelada pelo mecanismo de Eley Rideal (ER).





Como se pode observar na Figura 4.57, que correlaciona os valores das constantes de velocidade com a conversão, ambos os modelos cinéticos só conseguem explicar os resultados obtidos com o catalisador de óxido de nióbio puro e óxido de nióbio suportado em alumina. O seja, os valores da constante de reação para estes dois catalisadores são coerentes com os resultados obtidos na conversão de ácidos graxos a ésteres, sendo que a reação catalisada com Nb₂O₅/Al₂O₃ é mais rápida que a reação catalisada por Nb₂O₅. Porém valores mais elevados de conversão foram obtidos. No entanto, os modelos cinéticos estudados não podem explicar o

comportamento do catalisador de H₃PO₄/Nb₂O₅. Na reação catalisada por este catalisador obtiveram-se os melhores resultados na conversão, no entanto, valores baixos e incoerentes de constante de reação foram observados. Ainda foi obtido, no caso do modelo Eley Rideal um valor de k maior que o obtido para a reação com Nb₂O₅, mas muito menor que o obtido para a reação desenvolvida com Nb₂O₅/Al₂O₃, contrariamente ao comportamento observado no desempenho das conversões. Este resultado poderia ser explicado pelo fato do catalisador de nióbio impregnado em ácido fosfórico manter ainda características de um catalisador homogêneo e, porém seu comportamento não pode ser explicado através dos modelos heterogêneos.

Segundo CHENG *et al.*, (2012), a cinética da reação de esterificação pode variar com o catalisador usado e com as condições de reação ou processamento (batelada ou continuo). Correntemente, 4 modelos cinéticos são utilizados para descrever a reação de esterificação, eles são: o modelo pseudo homogêneo (P-H), o modelo Langmuir-Hinshelwood (L-H), o modelo Eley-Rideal (E-R) e o modelo Popken (P-P). Os últimos três modelos tem ao menos um termo de adsorção (LIU *et al.*, 2006; HALIM *et al.*; 2009; TESSER *et al.*, 2010; XIAO *et al.*, 2010). O modelo P-P tem sido adotado pela maioria dos autores para descrever a esterificação porque é similar á reações homogêneas sem o termo de adsorção envolvido em qualquiera das espécies presentes no sistema reacional (BERRIOS *et al.*, 2007; GANGADWALA *et al.*, 2003; LEE *et al.*, 2002; POPKEN *et al.*, 2000; TESSER *et al.*, 2005; SU *et al.*, 2008).

Para estudar a cinética da reação de esterificação utilizando o catalisador óxido de nióbio impregnado em ácido fosfórico possivelmente teria sido uma boa opção a utilização do modelo pseudo homogêneo sem efeitos de transferência de massa, isso é necessário para eliminar as limitações de transferência externas e internas que são relatadas como a causa das discrepâncias entre o comportamento experimental e os resultados do modelo de simulação (BHAT *et al.*, 2005).

Numa primeira análise pode-se dizer que a reação química é a etapa controladora para os três catalisadores avaliados. Resultados semelhantes tinham sido obtidos por SHI *et al.*, (2011); SONG *et al.*, (2010) quando estudaram a esterificação com metanol de óleos ácidos catalisados por membranas sulfonadas e a esterificação do ácido oléico com metanol utilizando acetato de zinco como catalisador, respectivamente.



Figura 4.57- Correlação entre as constantes cinéticas k e a conversão da hidrólise dos ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis oculata*.

4.11 CARACTERIZAÇÃO DO BIODIESEL DA MICROALGA Nannochloropsis oculata

Para introduzir novos combustíveis automotivos na matriz energética é preciso estabelecer padrões de qualidade de forma a garantir a segurança do consumidor, salvaguardar o motor e avalizar a qualidade das emissões da queima. Estes parâmetros estão associados a características químicas do combustível, que podem ser avaliadas através de métodos físico-químicos de análise. Desta forma, procura-se conquistar a confiança do mercado e da indústria automotiva, garantindo o sucesso do novo combustível (PINHEIRO, 2009).

A Austria foi o primeiro país a definir e aprovar os padrões de qualidade para biodiesel, aplicados a ésteres metílicos de colza. Subseqüentemente, padrões de qualidade foram sendo estabelecidos em outros países. Atualmente o padrão de qualidade americano, elaborado pela ASTM (*American Society of Testing and Materials*), através da norma ASTM D6751, e o estabelecido na União Européia através da norma EN 14214 do Comitê Europeu de Normalização (*Comité Européen de Normalisation* - CEN) figuram como os mais conhecidos e são geralmente usados como referência ou base para outros padrões (KNOTHE, 2005).

A qualidade do biodiesel pode sofrer variações conforme as estruturas moleculares dos seus ésteres constituintes ou devido à presença de contaminantes oriundos da matéria prima, do processo de produção ou formadas durante a estocagem do biodiesel (PINHEIRO, 2009). As estruturas moleculares dos ésteres podem variar tanto no tamanho da cadeia carbônica, quanto na quantidade e posição das insaturações ou mesmo devido à presença de agrupamentos na cadeia. Dependendo da eficiência do processo de produção do biodiesel, podem estar presentes

em maior ou menor quantidade: glicerina livre, glicerídeos não reagidos, sabões, álcool residual resíduos de catalisadores e água. A absorção de umidade e os processos de degradação oxidativa durante o armazenamento do biodiesel contribuem para a presença de água, peróxidos e ácidos carboxílicos de baixa massa molecular.

O estudo de caracterização foi feito com os ésteres metílicos obtidos das melhores condições definidas no processo de esterificação para os diferentes catalisadores, discutidos na seção 4.9.2 e testada de acordo com as normas brasileiras, Americana e Européia. Na tabela 4.23, são mostrados os parâmetros exigidos por cada norma. Os parâmetros teor de éster, conteúdo de metanol, viscosidade cinemática, valor ácido, conteúdo de triglicerídeos, diglicerídeos, monoglicerídeos, glicerol livre e ponto de fulgor dependem do grau de refinamento do óleo (etapa de pré-tratamento), do processo de hidroesterificação (conversão) e da qualidade da etapa de purificação. Outros parâmetros como a estabilidade à oxidação, índice de iodo e ponto de entupimento de filtro a frio, dependem da natureza do óleo. O limite para cada parâmetro é mostrado na Tabela 4.23.

4.11.1 Glicerina livre e total

A glicerina é um co-produto da reação de hidrólise de óleos e gorduras. A determinação da glicerina residual serve como parâmetro para avaliar a eficiência do processo de purificação do biodiesel. Altas concentrações de glicerina no biodiesel provocam problemas de armazenamento, pois quando o biodiesel é misturado com o diesel de petróleo, observa-se a separação da glicerina nos tanques de estocagem. Problemas como formação de depósitos, entupimento dos bicos injetores do motor e emissões de aldeídos também estão relacionados com a alta concentração da glicerina no biodiesel.

A glicerina livre residual pode ser facilmente eliminada através de lavagens do biodiesel. Embora seja praticamente insolúvel no biodiesel, a glicerina pode ser encontrada dispersa na forma de gotículas. Tanto no Brasil, quanto na Europa e nos Estados Unidos, o teor máximo permitido de glicerina livre no biodiesel é de 0.02% massa. Por tanto, os resultados obtidos para os três lotes estudados ficaram dentro dos limites impostos. Tabela 4.23. Este fato pode ser explicado pela própria natureza do processo de hidroesterificação, no qual a glicerina é separada na etapa de hidrólise e, além disso, porque o biodiesel obtido foi lavado várias vezes antes de ser caracterizado.

A glicerina combinada, que inclui mono-, di- e triglicerídeos, é proveniente da reação incompleta dos glicerídeos, logo, este é um importante parâmetro que pode ser utilizado para avaliar a eficiência da conversão de óleos e gorduras em biodiesel. Dependendo da concentração em que podem estar presentes no biodiesel, os glicerídeos não reagidos podem aumentar a

viscosidade do combustível e, conseqüentemente, reduzir a eficiência da combustão, provocando entupimento do filtro de combustível e formação de depósitos em partes do motor como pistões, válvulas e bicos injetores. Os resultados de nosso estudo mostraram para os três lotes, valores de diglicerídeos acima do limite, sendo que o lote obtido com o catalisador de nióbio puro teve os piores resultados, o qual é coerente com a menor conversão observada para este catalisador (~86%), se comparado com os outros.

A soma da concentração da glicerina livre com a glicerina combinada é denominada como glicerina total. No entanto, os altos valores de diglicerídeos não comprometeram os valores finais obtidos de glicerina total. Em todos os lotes os valores ficaram abaixo do limite máximo de 0.25%, estabelecidos pelas normas, brasileira e européia, enquanto nos Estados Unidos o limite é de 0.24% massa.

4.11.2 Teor de éster

O teor de ésteres metílicos no biodiesel é um parâmetro previsto nas normas EN 14214, ASTM e na RANP nº 42/2004, cuja porcentagem mínima exigida de éster é de 96.5% massa. Segundo os resultados apresentados na Tabela 4.23, nenhum dos lotes caracterizados atingiu a porcentagem mínima exigida. No entanto, os resultados ficaram muito perto do limite, sendo que os melhores resultados foram obtidos para os catalisadores de nióbio suportado em alumina e nióbio impregnado com ácido fosfórico. Para estes catalisadores os resultados são muito semelhantes e coerentes com os desempenhos catalíticos na reação de esterificação e com os melhores resultados observados para eles no referente à acidez total, conforme foi discutido na seção 4.6.

O incremento no conteúdo de ácidos graxos saturados (C16:0) e monoinsaturado (C18:1) é observado tanto em microalgas de água doce como de água salgada (RONCARATI, A. *et al.*, 2004 ; MANSOUR, M.P. *et al.*, 2003) e serão os responsáveis pelo comportamento das diferentes propriedades do biodiesel sintetizado neste trabalho. Resultados coerentes com esta discussão foram obtidos por KAUR, (2012) ao caracterizar várias espécies de microalgas com potencial para produzir biodiesel.

4.11.3 Ponto de fulgor

O ponto de fulgor é a temperatura mínima onde é observada a liberação de vapores de um líquido, em quantidade suficiente para formar uma mistura inflamável com o ar. Para o biodiesel, os valores de ponto de fulgor são, consideravelmente, mais elevados que os valores encontrados para o diesel mineral. Para o biodiesel puro o valor do ponto de fulgor encontra-se próximo aos 170 °C, porém, mínimas quantidades de álcool adicionadas ao biodiesel ocasionam um decréscimo bastante significativo neste valor. Este comportamento torna o ponto de fulgor um parâmetro muito importante quanto à segurança no armazenamento e no transporte, principalmente quando o biodiesel é obtido pela rota metílica que, além de altamente inflamável, apresenta elevada toxicidade. Quanto aos valores de ponto de fulgor permitidos para o biodiesel, a norma ASTM D6751 (método analítico ASTM D93) é a mais restritiva dos três parâmetros de qualidade de biodiesel que estão sendo analisados, fixando um valor mínimo de 130 °C, enquanto a norma EN 14214 (método analítico EN ISO 3679) estabelece o valor de 120 °C e a RANP nº 42/2004 o valor de 100 °C. Na tabela 4.23, estão apresentaram-se os valores obtidos para este parâmetro. Pode-se observar que para os três lotes, valores ligeiramente superiores aos exigidos pelas três normas foram obtidos. Pode ser verificado também, que ainda pequenas quantidades de metanol influenciam neste parâmetro, sendo que o lote que contém maiores teores de metanol mostra o menor valor no ponto de fulgor.

4.11.4 Teor de metanol e etanol

O teor de álcool no biodiesel pode ser utilizado também para avaliar o processo de purificação do biodiesel. A concentração de álcool é determinada pelo método cromatográfico EN ISO 14110, indicado pela norma EN 14214, para determinação de metanol no biodiesel, e pela RANP nº 42/2004, para determinação tanto de metanol como de etanol. Na norma EN 14214 é estabelecido o limite máximo de metanol de 0.20% massa. RANP nº 42/2004, tanto o teor de metanol como de etanol é fixado em 0.20% massa. No entanto, a determinação de álcool ser dispensada no caso de valores de ponto de fulgor superiores a 130 °C é importante ressaltar que os valores ficaram muito abaixo do teor fixado, sinônimo de uma boa purificação do biodiesel.

4.11.5 Densidade

A densidade do biodiesel está diretamente ligada com a estrutura molecular das suas moléculas. Quanto maior o comprimento da cadeia carbônica do alquiléster, maior será a densidade, no entanto, este valor decrescerá quanto maior forem o número de insaturações presentes na molécula. A presença de impurezas também poderá influenciar na densidade do biodiesel como, por exemplo, o álcool ou substâncias adulterantes.

Comparado com o diesel mineral, o biodiesel apresenta maior densidade. Dentre os padrões de qualidade apresentados, a norma ASTM não considera relevante a densidade do biodiesel como parâmetro de qualidade. Tanto para a resolução brasileira, como para a norma européia, os métodos de análise da densidade do biodiesel são os mesmos comumente aplicados aos derivados de petróleo. A norma européia estabelece valores de densidade entre 860 a 900 kg m⁴, com determinação através dos métodos EN ISO 3675, que utiliza hidrômetros de vidro, e EN ISO 12185, que emprega densímetros digitais. A RANP nº 42/2004, fixa uma faixa de valores de

densidade entre 850 a 900 kg/m³. Nesta resolução, além dos métodos indicados pela norma européia, são estabelecidos os métodos ASTM D1298 e NBR 7148 (hidrômetros de vidro) e os métodos ASTM D4052 e NBR 14065 (decímetros digitais).

A resolução brasileira estabelece ainda que o biodiesel produzido tenha um prazo máximo de um mês, a contar da data de certificação, para ser comercializado. Passado este prazo, deve ser realizada uma nova análise da massa específica a 20°C, onde, havendo diferença inferior a 3.0 kg/m³ em relação ao valor do certificado, deverão ser novamente analisados o teor de água, o índice de acidez e a estabilidade à oxidação a 110 °C. Caso a diferença seja superior a 3.0 kg/m³, deverão ser reavaliados todos os parâmetros de qualidade da resolução. Os resultados do presente estudo ficaram dentro dos limites, sendo 871.9, 874.1 e 882.3 g/m³ para as reações com Nb₂O₅, Nb₂O₅/Al₂O₃ e H₃PO₄, respectivamente. Sendo coerentes com os resultados reportados para esta microalga por BUCY, (2012).

4.11.6 Viscosidade cinemática a 40 °C

A viscosidade do biodiesel aumenta com o comprimento da cadeia carbônica e com o grau de saturação (KNOTHE, 2005) e tem influência no processo de queima na câmara de combustão do motor. Alta viscosidade ocasiona heterogeneidade na combustão do biodiesel, devido à diminuição da eficiência de atomização na câmara de combustão, ocasionando a deposição de resíduos nas partes internas do motor.

Estes contaminantes podem, portanto, ser monitorados indiretamente através da determinação da viscosidade cinemática a 40 °C. A norma EN 14214 (método analítico EN ISO 3104) estabelece um intervalo aceitável de viscosidade de 3.5 a 5.0 mm²/s, enquanto a norma ASTM D6751 (método analítico D 445) permite um intervalo pouco mais amplo, de 1.9 a 6.0 mm/s. A RANP nº 42/2004, além dos métodos analíticos já citados, recomenda também o método ABNT NBR 10441. A faixa de viscosidade permitida pela RANP nº 42/2004 é de 3.0 a 6.0 mm²/s.

Os resultados da viscosidade obtidos para os três lotes (Tabela 4.23) estão dentro do intervalo permitido para as três normas e são uma confirmação do perfil graxo obtido e da eficiência do processo de hidroesterificação. Ainda quando os maiores valores de ácidos graxos obtidos foram saturados, não são ácidos de cadeia longa. Além disso, a hidrólise ácida como etapa previa á esterificação, seguida de uma boa etapa de purificação, faz com que as quantidades de contaminantes como sabões residuais, bem como os glicerídeos não reagidos (mono-, di- e triglicerídeos) sejam minimizados ao máximo. Quando a etapa de purificação dos ácidos graxos não é realizada eficientemente, valores altos de viscosidade são obtidos. Isso

sugere que os hidrocarbonetos da alga foram convertidos parcialmente em materiais insolúveis como o carbono (DOTE *et al.*, 1995).

HEILMANM (2011), ao estudar a carbonização hidrotérmica de microalgas, tinha observado que após a hidrólise da biomassa, os ácidos graxos são adsorvidos dentro do carbono originado no processo, porém é necessária uma etapa de purificação para a remoção deste carbono. Esta purificação fará com que a viscosidade final de biodiesel seja adequada.

BUCY, (2012) ao avaliar a viscosidade do biodiesel obtido das microalgas *Nannochloropsis oculata, Nannochloropsis sp* e *Isochrysis galbana* tinha observado valores de 4.528, 3.304 e 3.174 mm²/s. No entanto, estes valores foram obtidos prévia remoção dos ácidos graxos de cadeia longa, ácido eicosapentanoico (EPA) e docosahexaenoico (DHA).

4.11.7 Índice de iodo

O valor de iodo de um óleo vegetal ou gordura animal é quase idêntico à dos ésteres metílicos correspondentes (KNOTHE *et al.*, 2005). O numero de insaturações não tem apenas efeito nos valores de densidade e de viscosidade dos biodiesels, mas também é de grande importância na estabilidade oxidativa dos biodiesels como será explicado adiante. As normas EN 14214 e RANP nº 42/2004 adotaram o índice de iodo (método analítico EN ISO 1411) para determinar o número de insaturações. O método baseia-se no tratamento da amostra com halogênios em excesso, que se adicionarão às duplas ligações. Os halogênios não reagidos são então titulados como tiossulfato de sódio e o resultado expresso como gramas de iodo que reagem com as insaturações em 100 g de amostra. O valor máximo aceito na norma EN 14214 é de 120 g I/100 g. A RANP nº 42/2004 solicita o registro do resultado da análise. O limite de 120 g de I₂/100 g exigida pelo padrão de biodiesel na Europa exclui várias fontes promissórias, tais como soja, girassol, bem como óleo de sementes de uva, de servir como matérias-primas para a produção de biodiesel (MITTELBACH e REMSCHMIDT, 2004).

Quanto mais insaturações estejam presentes no óleo, quanto maior será o valor de iodo (KNOTHE, 2002; KNOTHE *et al.*, 1997. ; KYRIAKIDIS e KATSILOULIS, 2000; LIN *et al.*, 2006). O valor de iodo do biodiesel obtido da microalga *Nannochloropsis oculata* ficou na faixa compreendida entre 20-25 g $I_2/100$ g, valor considerado baixo, se comparado com o limite 100 g $I_2/100$ g imposto pela norma européia. Resultado esperado tendo em conta o perfil majoritariamente saturado dos ésteres presentes no biodiesel obtido desta microalga.

4.11.8 Ponto de entupimento de filtro a frio

A baixa temperatura, o biodiesel tende a solidificar-se parcialmente ou a perder sua fluidez, levando à interrupção do fluxo do combustível e entupimento do sistema de filtração, ocasionando problemas na partida do motor. A partir deste comportamento, foram elaborados

três ensaios de laboratório: ponto de névoa (*cloud point* - CP), que é a temperatura do combustível em um processo de resfriamento, onde se observa formação dos primeiros cristais (método ASTM D2500); ponto de entupimento de filtro a frio (*cold-filter plugging point* - CFPP), que é a temperatura em que o combustível perde a filtrabilidade quando resfriado (método EN ISO 116/método similar americano: LTFT - *low temperature flow test* - ASTM D 4539); ponto de fluidez (*pour point* - PP), que é a temperatura em que o combustível perde sua fluidez quando sujeito a resfriamento sob determinadas condições de teste (método EN ISO 3016).

Estas informações são de grande importância para avaliar a aplicabilidade do combustível em regiões de clima frio. Quanto maior for o tamanho da cadeia e/ou o caráter saturado das moléculas do biodiesel, mais alto serão os valores destes parâmetros. É de se esperar, portanto, que o biodiesel originário da microalga *Nannochloropsis oculata* apresente valores elevados, devido ao seu alto teor de ácidos graxos saturados.

Na Europa, os valores de CFPP devem ser estabelecidos por cada país em função do seu clima. Nos Estados Unidos, o valor de CP é dependente da sazonalidade do clima (KNOTHE, 2006). No Brasil, excetuando biodiesel puro de mamona, é estabelecida a determinação do ponto de entupimento de filtro a frio para o biodiesel, conforme os métodos ABNT NBR 14747, EN ISO 116 e ASTM D6371. O valor máximo de 19 °C estabelecido na Resolução brasileira é aplicável para as regiões Sul, Sudeste, Centro-Oeste e para o estado da Bahia, devendo ser anotado para as demais regiões

A Tabela 4.23 mostra o CFPP para os biodieseis sintetizados. O biodiesel da microalga *Nannochloropsis oculata*, tem pobres propriedades de fluxo a frio (13-17°C de CFPP), caracterizado pela cristalização de ésteres graxos saturados (CUNHA, 2009). Se o biodiesel desta microalga é resfriado, os ésteres metílicos de ácido esteárico, láurico e palmítico são os primeiros em cristalizar e, portanto, constituíram uma parte importante no material recuperado dos filtros (MITTELBACH e REMSCHMIDT, 2004). Além demais, apresenta ésteres metílicos de ácidos graxos de cadeia longa como beénico (C22:0) e lignocérico (C24:0), relacionados com propriedades ruins do biodiesel nas baixas temperaturas (WU *et al.*, 2005). As propriedades a baixa temperatura dependem principalmente do teor de ésteres saturados e o efeito da composição de ésteres insaturados pode ser considerada desprezível (GONZÁLEZ-GÓMEZ *et al.*, 2002; IMAHARA *et al.*, 2006).

Valores similares tinham sido reportados por BUCY, (2012) ao estudar as propriedades físico-químicas dos biodieseis sintetizados a partir de *Nannochloropsis oculata*, *Nannochloropsis sp* e *Isochrysis galbana*. Fato que está estreitamente relacionado com o

predomínio do conteúdo de ésteres derivados do ácido palmítico e esteárico. Conhecidos como os responsáveis pelas pobres propriedades do combustível á frio (GRABOSKI, 1998).

4.11.9 Estabilidade à oxidação a 110 °C

A estabilidade à oxidação é um dos grandes problemas que afectam o uso do biodiesel por causa de seu conteúdo de ésteres metílicos poliinsaturados (KNOTHE, 2006). A estabilidade oxidativa do biodiesel está diretamente relacionada com o grau de insaturação dos alquilésteres presentes, como também, com a posição das duplas ligações na cadeia carbônica. A concentração de alquilésteres com alto grau de insaturação varia de acordo com a matéria prima utilizada na produção do biodiesel. Quanto maior o número de insaturações, mais susceptível está a molécula à degradação tanto térmica quanto oxidativa, formando produtos insolúveis que ocasionam problemas de formação de depósitos e entupimento do sistema de injeção de combustível do motor (KNOTHE, 2005; Mc CORMICK *et al.*, 2007; PARK *et al.*, 2008). Antioxidantes naturais dos óleos vegetais promovem uma maior estabilidade à oxidação (ex.: tocoferóis), no entanto, estes podem ser perdidos durante o processo de refino ou por degradação térmica.

A alta temperatura e a exposição ao ar são fatores importantes que afetam a estabilidade do biodiesel, contudo, esta é significativamente afetada quando estes dois fatores estão presentes ao mesmo tempo. A presença de água no biodiesel pode também promover a oxidação (oxidação hidrolítica), no entanto, em menor extensão.

A viscosidade, o índice de peróxido e, principalmente, o período da indução de Rancimat são parâmetros que podem ser utilizados para o monitoramento da degradação oxidativa do biodiesel durante o período de estocagem. O método Rancimat é aceito como padrão na norma EN 14214 e na RANP nº 42/2004, para análise da estabilidade oxidativa do biodiesel (método EN 14112), com valor mínimo de período de indução de 6 h. No entanto, é bem conhecido que é muito difícil de atingir este limite para o biodiesel derivado de matérias primas comuns, a menos que antioxidantes sejam adicionados ao biodiesel.

Neste método, uma amostra do alquiléster (biodiesel) é mantida em um vaso de reação, a temperatura de 110 °C e sob um fluxo de ar. Neste momento começam a se formar os peróxidos, que são os principais produtos formados na primeira etapa de oxidação do biodiesel. Com o processo de oxidação continuada, são formados compostos orgânicos voláteis, entre eles, ácidos orgânicos de baixa massa molecular. Estes compostos são transportados pelo fluxo de ar para outro recipiente contendo água destilada, onde a presença dos ácidos orgânicos é então detectada pelo aumento da condutividade no sistema. O tempo decorrente até a detecção dos ácidos orgânicos é denominado de período de indução.

A estabilidade à oxidação diminui com o aumento do conteúdo de ésteres metílicos poliinsaturados (KNOTHE, 2005; Mc CORMICK *et al.*, 2007; PARK *et al.*, 2008). Portanto, óleos ricos em ácidos saturados como o óleo de *Nannochlropsis oculata*, tendem a dar ésteres metílicos com alta estabilidade à oxidação. Os biodiesels obtidos sobre passaram o limite mínimo de seis horas (Tabela 4.23), em todos os casos o valor obtido foi acima de 10 h. No entanto, para o caso do biodiesel obtido com o catalisador de H₃PO₄/Nb₂O₅ o valor foi mais baixo, seguramente influenciado pelas propriedades oxidantes do ácido fosfórico.

4.11.10 Água e sedimentos

A água, além de promover a hidrólise do biodiesel resultando em ácidos graxos livres, também está associada à proliferação de micro-organismos, corrosão em tanques de estocagem com deposição de sedimentos. Como o biodiesel apresenta certo grau de hidroscopicidade, o teor de água deverá ser monitorado durante o armazenamento. Apenas a norma ASTM D6751 adotou o método ASTM D2709 para determinação de água e sedimento por centrifugação, estipulando um valor máximo permitido de 0.05% volume. Tanto a RANP nº 42/2004 quanto a norma EN 14214 adotaram o método coloumétrico (Karl Fischer) EN ISO 12937, com maior sensibilidade para determinar o teor de água, fixando a concentração máxima aceitável de água no biodiesel em 500 mg/kg. A norma brasileira também indica o método ASTM D6304. Para os três lotes estudados os valores ficaram abaixo da concentração máxima aceitável como resultado de um eficiente secado das amostras antes de serem analisadas.

4.11.11 Índice de acidez

O monitoramento da acidez no biodiesel é de grande importância durante a estocagem, na qual a alteração dos valores neste período pode significar a presença de água. Segundo Knothe, este método não apresenta boa reprodutibilidade e recomenda o método ASTM D974, que se baseia na titulação em sistema não aquoso, utilizando solução de KOH em isopropanol como titulante e p-naftolbenzoina como indicador. Conforme o autor trata-se do método mais indicado para análise de biodiesel. Os métodos adotados pela RANP nº 42/2004 são os mesmos indicados pelas normas americana e européia, além do método de titulação potenciométrica ABNT NBR 14448. Todas as normas descritas acima estabeleceram limites máximos de acidez de 0.5 mg de KOH/g. Após uma segunda esterificação e secado os biodiesels analisados tiveram valores de acidez próximos das normas. Sendo que o melhor valor foi obtido para o catalisador mais ativo (H₃PO₄/Nb₂O₅).

				BRASIL	UE	EUA
CARACTERÍSTICA	E	BIODIESI	EL	RANP n° 42/2004	EN 14214	ASTM D6751
Aspecto	Nh O	Nb ₂ O ₅ /	H ₃ PO ₄ /	Límpido e isento		
	10205	Al_2O_3	Nb_2O_5	de impurezas		
Densidade (kg/m ³)	871	874	882	850-900 a 20 °C	860-900 a 15 °C	
Viscosidade cinemática a 40 °C (mm ² /s)	4.97	4.58	4.8	3.0-6.0	3.5-5.0	1.9-6.0
Ponto de fulgor, mín (°C)	134	137	138	100	120	130
Ponto de entupimento de filtro a frio, (°C)	13	15	17	19	Por região	
Teor de água (mg/kg)	350	345	350	500	500	500
Teor de éster, min (% massa)	79.89	94.87	95.84	96.5	96.5	
Índice de acidez, máx (mg KOH/g)	4.2	3.3	2.1	0.50	0.5	0.5
Glicerina livre, máx(% massa)	0.00	0.00	0.00	0.02	0.02	0.02
Glicerina total, máx (% massa)	0.09	0.067	0.068	0.25	0.25	0.24
Monoglicerídeos (% massa)	0.008	0.025	0.025	Anotar	0.8 (máx)	
Diglicerídeos (% massa)	0.528	0.410	0.413	Anotar	0.2 (máx)	
Triglicerídeos (% massa)	0.089	0.00	0.00	Anotar	0.2 (máx)	
Metanol ou Etanol, máx (% massa)	0.126	0.003	0.002	0.20	0.20	
Índice de iodo (g $I_2/100$ g)	24.74	20.24	25.04	Anotar	120 (máx)	
Estabilidade à oxidação a 110 °C, (h)	15.56	18.77	11.61	6	6	

 Tabela 4.23- Resultados da caracterização do biodiesel.

CAPITULO 5 CONCLUSÕES

Diante dos resultados apresentados e das discussões realizadas nos capítulos anteriores, as principais conclusões deste trabalho são:

- 1) As biomassas das microalgas Scenedesmus dimorphus e Nannochloropsis oculata apresentaram perfis lipídicos adequados para a produção de biodiesel. Os ácidos graxos majoritariamente encontrados para ambas as biomassas foram o ácido palmítico, esteárico e oléico. Estes ácidos graxos de cadeia média (C16 e C18) são considerados os ideais para a produção de biodiesel de grande qualidade e constituem o parâmetro que de forma mais direta e precisa avalia o potencial das microalgas como substrato para a produção de biodiesel, uma vez que nem todos os compostos solúveis nos solventes orgânicos utilizados na extração podem ser convertidos em biodiesel. No entanto, o conteúdo lipídico da biomassa de Scenedesmus dimorphus limitou a sua avaliação no processo de hidroesterificação. Para que uma biomassa de microalgas possa ser utilizada no processo de hidroesterificação deve ter como mínimo 20% de lipídeos, para facilitar a liberação dos ácidos graxos na etapa de hidrólise e porque a concentração de biomassa é um fator limitante no processo, uma vez que acima de 20% o manuseio da mesma torna-se difícil pela formação de uma pasta de microalgas que impede a agitação eficaz do sistema.
- 2) A utilização de catalisadores a base de óxido de nióbio (suportados em alumina ou impregnados com ácido fosfórico) apresentaram resultados superiores no processo de hidroesterificação da biomassa de microalgas ao do catalisador de óxido de nióbio puro, devendo-se ressaltar, que o melhor desempenho catalítico tem uma relação direita com o aumento das características ácidas adquiridas por tais catalisadores logo depois de serem suportados ou impregnados, sendo 2.79 e 2.92 µmol/m² para o catalisador de óxido de nióbio suportado em alumina e óxido de nióbio impregnado em ácido fosfórico, respectivamente. Tanto na reação de hidrólise como na reação de esterificação as conversões foram superiores á 90% para estes dois catalisadores.
- 3) Nas condições experimentais utilizadas neste trabalho podemos concluir que a introdução do ácido fosfórico e alumina, no meio reacional do Nb₂O₅ diminuem o valor de área específica deste material. No entanto, influencia positivamente em outras propriedades texturais como o diâmetro de poros, importante no controle dos fenômenos de transporte, podendo determinar a seletividade nas reações catalíticas.

- 4) A metodologia de impregnação do óxido de nióbio com ácido fosfórico foi mais efetiva que a impregnação com alumina. Isso foi constatado mediante a microscopia eletrônica de varredura (MEV) e pelos resultados na conversão final. Enquanto o catalisador impregnado em ácido fosfórico se observa como uma estrutura única, homogênea o catalisador suportado em alumina se observa com ilhas de nióbia sobre a superfície da alumina.
- 5) A atividade catalítica do óxido de nióbio foi aumentada após a impregnação com ácido fosfórico. Estes fatos sugerem que a introdução do ácido fosfórico eleva a densidade de sítios ácidos da amostra em relação ao Nb₂O₅ não impregnado. Isto foi confirmado pelos resultados de densidade de sítios ácidos desses materiais, expressos em µmols de NH₃ quimissorvido por grama de catalisador. Foi possível obter rendimentos superiores a 90% nas reações de esterificação dos ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis oculata* para a produção de biodiesel.
- 6) Os três catalisadores utilizados apresentaram conversões gradativas significativas em um pequeno tempo reacional de 15 minutos paras as reações conduzidas na maior razão molar e de 25 minutos, para as conduzidas na menor razão molar. Estes se apresentaram de fácil separação dos produtos, além de ser ativos em um pequeno excesso de reagente e não necessitar de pré-calcinação para o processo de hidrólise. Características essas que favorecem uma considerável redução nos custos (menor tempo e menor gasto de energia) de execução do processo. Após o tempo de maior cinética química, a conversão se manteve praticamente constante, efeito este justificado pela termodinâmica de equilíbrio da reação.
- 7) Os modelos empíricos gerados a partir da análise estatística dos planejamentos fatoriais, traçados para cada processo, se apresentaram satisfatórios, podendo assim constatar que não somente a temperatura (variável de maior efeito estatístico), mas também a concentração do catalisador, seguido da razão molar apresentaram influências positivas significativas em ambos processos reacionais.
- 8) As variáveis que apresentaram maior influência (sendo esta positiva) na hidrólise da biomassa da microalga *Nannochloropsis oculata*, em ordem decrescente, foram temperatura (T), seguida da concentração de catalisador (C) e por ultimo a concentração da biomassa (CB). As maiores conversões foram obtidas a T=300⁰C, C=20% e CB=20%.
- As variáveis que apresentaram maior influência (sendo esta positiva) na esterificação dos ácidos graxos da microalga *Nannochloropsis oculata*, em ordem decrescente, foram

temperatura (T), seguida da concentração de catalisador (C) e por ultimo a razão molar (RM) álcool: ácidos graxos. As maiores conversões foram obtidas a T=200⁰C, C=20% e RM=20%.

- 10) Através do estudo cinético heterogêneo, foi possível constatar também, que as constantes cinéticas das reações de esterificação conduzidas na presença dos catalisadores de nióbio suportado em alumina e nióbio impregnado com ácido fosfórico foram muito maiores que aquelas realizadas na presença de óxido de nióbio puro.
- 11) Conforme ao esperado a qualidade do biodiesel da microalga Nannochloropsis oculata é fortemente dependente da composição de ácidos graxos da mesma. A maioria dos parâmetros de qualidade do biodiesel ficaram dentro dos limites estabelecidos pelas normas Americana (ASTM D6751), européia (EN 14214) e brasileira (RANP nº 42/2004) e foram coerentes com o perfil lipídico obtido para esta microalga. Parâmetros de qualidade importante para um biodiesel como estabilidade á oxidação, índice de iodo, viscosidade, ponto de fulgor e glicerol livre tiveram valores comparáveis com qualquer biodiesel obtido de fontes convencionais. O teor de éster ficou perto do valor exigido pelas normas, no entanto foi semelhante aos valores reportados para a reação de esterificação e para esta microalga na literatura especializada.

De posse destas constatações assume-se que o processo de hidroesterificação (hidrólise seguida de esterificação) vem a ser uma promissora alternativa ao processo convencional de produção de biodiesel. Uma vez que quando realizada na presença de catalisadores apropriados, pode favorecer elevadas conversões reacionais, menor tempo de reação, menor gasto de energia, assim como facilidades na separação do catalisador do produto formado e na separação entre os ácidos graxos e o glicerol. E principalmente a diminuição da viscosidade dos óleos de microalgas. Trazendo como vantagem o fato de poder ser realizado com matérias-primas de alta acidez, eliminando os impasses observados com a especulação nos preços de mercado das matérias primas utilizados em processos de produção de biodiesel.

CAPÍTULO 6 SUGESTÕES

Fica como sugestão para novos trabalhos:

- Avaliação de outros métodos de extração e purificação do concentrado de ácidos graxos;
- A realização de um estudo da viabilidade econômica da utilização do processo de hidroesterificação em comparação com o processo de transesterificação convencional;
- Avaliação do processo de hidroesterificação utilizando catalisadores enzimáticos; principalmente na etapa de hidrólise;
- * Estabelecer o método potenciométrico para o acompanhamento da cinética de hidrólise.

Enfim, o processo de hidroesterificação se trata de uma nova rota tecnológica e, por isso, trabalhos que enfoquem este tema ainda se encontram em fase inicial. Em decorrência disto, existem muitas possibilidades para o desenvolvimento de trabalhos que envolvam este tema.

CAPITULO 7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ABALDE, J. et al. **Microalgas: cultivo e aplicaciones**.. 210p. (Monografías n.26). España: Universidade da Coruña, 1995.

AHMAD A.L., N.H. MAT YASIN, C.J.C. DEREK, J.K. LIM. Microalgae as a sustainable energy source for biodiesel production: A review. Renewable and Sustainable Energy Reviews 15 584–593, 2011.

AIDAR, E.; GIANESELLA-GALVÃO, S.M.F.; SIGAUD, T.C.S. *et al.* Effects of light quality on growth, biochemical composition and photosynthetic production in *Cyclotella caspia* Grunow and *Tetraselmis grasilis* (Kylin) Butcher. J. Exp. Mar. Biol. Ecolo., v. 180, p. 175-187, 1994.

ALLINGER, N.; CAVA, M. P.; JONG, D. C. de; JOHNSON, C. R.; LEBEL, N. A.; STEVENS, C. L. **Química orgânica**. Rio de Janeiro: Livros Técnicos e Científicos, 961p. V. 2, 1976.

AL-WIDYAN, M., TASHTOUSH, G., ABU-QUDAIS, M. Utilization of ethyl eser of waste vegetable oils as fuel in diesel engines. Fuel Process. Technol. 76:91-103, 2002.

AMARO A HELENA M, A. CATARINA GUEDES B, F. XAVIER MALCATA. Advances and perspectives in using microalgae to produce biodiesel. Applied Energy 88 3402–3410, 2011.

AMIN, S. **Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae**. Energy Conversion ans Management. V.50, n.7, p.1834-1840, 2009.

ANALISE ENERGIA ANUARIO. Disponível em: <u>www.analise.com</u>. 233pp, 2009.

ANDERSEN RA Algal Culturing Techniques. Phycological Society. Elsevier Academic Press. Amsterdam. pp. 578, 2005.

ANDRADE et al. **Diálogos & Ciência.** Revista da Rede de Ensino FTC. Ano III, n.11, dez, 2009.

ANDRADE, M.R.; COSTA, J.A.V. Cultivo da microalga *Spirulina platensis* em fontes alternativas de nutrientes. Ciênc. Agrotec., Lavras, v. 32, n. 5, p. 1551-1556, set./out., 2008.

ANDRADE, R.;. VERA, A.; CÁRDENAS, C.; MORALES, A. Biomass production of microalga *Scenedesmus* sp.with wastewater from fishery. Rev. Téc. Ing. Univ. Zulia. Vol. 32, N° 2, 126 - 134, 2009.

ANP-AGÊNCIA NACIONAL DE PETRÒLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEIS. **Dados Estatísticos**. <u>HTTP://www.anp.gov.br</u>, 2007.

ANSELL, S.; KRISHNAN, S.; WEBER, J. K. R.; FELTEN, J.J.; NORDINE, P.C.; BEO, M.A.; PRICE, D.L.; SABOUNGI, M. L. **Structure of liquid aluminum oxide**. Physical Review Letters, v. 78, n. 3, p. 464-466, 1997.

Aquatic phototrophs: efficient alternatives to land-based crops for biofuels. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19: 235-240, 2004.

ARREDONDO BO & VÁZQUEZ-DUHALT R. Aplicaciones biotecnológicas en el cultivo de microalgas. *Ciencia y Desarrollo*. 17: 99-111, 1991.

ARREGONDO-VEGA, B. O. **Crescimento autotrófico y mixotrófico de la microalga marina** *Porphyridium cruentun*. Tese de Doutorado. Faculdade de Farmácia, Universidade de Santiago de Compostela, Santiago de Compostela, 1995.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO ALUMÍNIO (ABAL). Alumínio para futuras gerações: a indústria brasileira do alumínio e o desenvolvimento sustentável. São Paulo: ABAL, 2000. Disponível em: http://www.abal.org.br/manuais/html/pdf/futuras_geracoes_parte2.pdf>. Acesso em: 01 mar, 2012.

ASSOCIAÇÃO BRASILEIRA DO ALUMÍNIO (ABAL). **O alumínio**: história. São Paulo: ABAL, s.d. Disponível em:< http://www.abal.org.br/aluminio/historia.asp>. Acesso em: 01 mar, 2012.

ATABANI A.E; A.S. SILITONGA; IRFAN ANJUM BADRUDDIN; T.M.I. MAHLIA; H.H. MASJUKI; S. MEKHILEF. A comprehensive review on biodiesel as an alternative energy resource and its characteristics. Renewable and Sustainable Energy Reviews 16 2070–2093, 2012.

AUROUX, A., GERVASINI, A. Infrared spectroscopic study of the acidic character of modified alumina surfaces. Adsorption Science & Technology, v. 21, n. 8, p. 721-737, 2003.

BAGWELL, R. B.; MESSING, G. L. Effect of seeding and water vapor on the nucleation and growth of alpha-Al2O3 from gamma- Al₂O₃. Journal of the American Ceramic Society, v. 82, n. 4, p. 825-832, Apr. 1999. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 07 mar, 2012.

BAGWELL, R. B.; MESSING, G. L.; HOWELL, P. R. The formation of alpha-Al₂O₃ from theta-Al2O3: The relevance of a "critical size" and diffusionalnucleation or "synchroshear? Journal of Materials Science, v. 36, n. 7, p. 1833-1841, Apr. 2001. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 07 mar, 2012.

BANCO NACIONAL DO DESENVOLVIMENTO ECONÔMICO E SOCIAL. **Nióbio.** Disponível em: <u>http://www.bndes.gov.br/conhecimento</u> Acesso em: 01 de janeiro, 2012.

BANERGEE, A., SHARMA, R., CHISTI, Y., BANERGEE, U.C. Bothryococuus braunii: a renewable source of hydrocarbons and others chemicals. Crit. Rev. Biotechnol., 22:245-279, 2002.

BARRICHELLO, N. J.; FARO Jr., A. da C. **Caracterização de catalisadores**. Rio de Janeiro:. 111p. Instituto Brasileiro de Petróleo, 1995.

BARROS, I. C. L.; BRAGA, V. S.; PINTO, D. S.; MACEDO, J. L. de; FILHO, G. N. R.; DIAS, J. A.; DIAS, S. C. L. Effects of niobium addition on ZSM-5 studied by thermal and

spectroscopy methods. Microporous and Mesoporous Materials, v. 109, p. 485-493, 2008. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 16 nov, 2011.

BASSAN, I.; NASCIMENTO, D.R., LACHTER, E.R. **Esterificação de ácidos graxos com** alcoóis na presença de catalisadores de nióbio. 5° congresso brasileiro de pesquisa e desenvolvimento em petróleo e gás. 12 a 22 Outubro. Fortaleza, 2009.

BATAMACK, P.; VINCENT, R.; FRAISSARD, J. The acidity of niobic studied by 1H broad-line NMR at 4K and 1H MAS NMR at room temperature: comparison with other solid acids. Catalysis Today, v.28, n. 1-2, p. 31-39, 1996. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 26 dezembro, 2011.

BAUMANN, T.F.; GASH, A.E.; CHINN, S.C.; SAWVEL, A.M.; MAXWELL, R.S.; SATCHER, J. H. Synthesis of high-surface-area alumina aerogels without the use of alkoxide precursors. Chemistry of Materials, v. 17, n.2, p. 395-401, 2005.

BEER, L. L.; BOYD, E. S.; PETERS, J. W.; POSEWITZ, M. C. Engineering algae for biohydrogen and biofuel production. **Current Opinion in Biotechnology**, v.20, p.264-271, 2009.

BECKER, E.W. **Microalgae: biotechology and microbiology**. Cambridge studies in biotechnology. Cambridge: Cambridge University Press; 239pp, 1994.

BELARBI, E-H; MOLINA GRIMA, E; CHISTI, Y. A process for height yield and scaleable recovery of high purity eicosapentaenoic acid esters from microalgae and fish oil. Enzyme Microb. Technol. 26: 516-529, 2000.

BELITZ, H. D.; GROSCH, W. **Química de los alimentos**. 2^{da} edição. Zaragoza: Acribia, p.75 - 131 e 153-154, 1985.

BEN-AMOTZ A, TORNABENE TG & THOMAS WH. Chemical profile of selected species of microalgae with emphasis on lipids. *J. Phycol.* 21: 72-81, 1985.

BERRIOS M.; M.A. MARTÍN, A.F.CHICA, A. MARTÍN. Study of esterification and transesterification in biodiesel production from used frying oils in a closed system. Chemical Engineering Journal 160) 473–479, 2010.

BERRIOS, M., SILES, J., MARTIN, A., MARTIN, M.A. A kinetic study of the esterification of free fatty acids (FFA) in sunflower oil. Fuel 86 (15), 2383–2388, 2007.

BHAT, J., MUNISWARAN, P.K.A., MURTY, V.R.C. External mass transfer effects duping the hydrolysis of rice bran oil in immobilized lipase packed bed reactor. Chemical and Biochemical Engineering Quarterly 19 (1), 57–61, 2005.

BIANCHINI, R. Microalgas, produtos e aplicações. Ciência Rural, ISSN 0103-8478 versão impressa. v.36 n.6 Santa Maria nov./dez, 2006.

BILLER, R. RILEY, A.B. ROSS. Catalytic hydrothermal processing of microalgae: Decomposition and upgrading of lipids. Bioresource Technology 102 4844-4848, 2011.
BOBBIO, F.O.; BOBBIO, P.A. Introdução à química de alimentos. 2° edição. Livraria Varela, 223p, São Paulo, 1995.

BORGES, L. do V. Caracterização do poetencial de absorção do dióxido de carbono atmosférico por microalgas utilizadas na aqüicultura para geração de um mecanismo de desenvolvimento limpo (MDL). 57f. Dissertação de Mestrado, Departamento de Oceanografia. FURG, Rio grande, RS, Brasil, 2005.

BORGES, LUCÉLINA et al. Potencial de absorção de carbon por species de microalgas usadas na aquicultura: primeiros passos para o desenvolvimento de um "mecanismo de desenvolvimento limpo". Atlântica, Rio Grnde, v.1, n.29. p.35-46, 2007.

BOTELHO DA SILVA, J. **Síntese, caracterização e avaliação de compostos de nióbio como catalisador ácido em reação modelo.** Tese de doutorado. Instituto nacional de Pesquisas Espaciais. URL do documento original:<u>http://urlib.net/8JMKD3MGP7W/37J5PMB</u>, (2010).

BOUGARAN, G.; LE DÉAN, L.; LUKOMSKA, E. *et al.* **Transient initial phase in continuous culture of** *Isochrysis galbana affinis Tahiti*. Aquatic Living Resources, v. 16, p. 389-394, 2003.

BRAGA, V. S.; DIAS, J. A.; DIAS, S. C. L.; MACEDO, J. L. **Catalyst materials based on Nb₂O₅ supported on SiO₂-Al₂O₃: preparation and structural characterization**. Chemical Materials, v.17, n. 3, p.690-695, Feb. 2005. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 11 set, 2011.

BRANDÃO, R.F.; QUIRINO, R. L.; MELLO, V. M.; TAVARES, A. P.; PERES, A. C.; GUINHOS, F. ; RUBIM, J. C.; SUAREZ, P. A. Z., Synthesis, Characterization and use of Nb2O5 based Catalysts in Producing Biofuels by Transesterification, Esterification and Pyrolysis, J. Braz. Chem. Soc, 20, 954-966, 2009.

BRANDINI, F.P.; LOPES, R.M.; GUTSEIT, K.S.; SPACH, H.L. E SASSI, R. **Planctonologia na plataforma continental do Brasil: diagnose e revisão bibliográfica**. MMA, CIRM, FEMAR. 196 p, 1997.

BRAYNER, R.; RODRIGUES, J.A.J.; CRUZ, G. M. Synthesis and molding of niobium oxynitrides with macropores generation: reactivity and stability in cyclohexane dehydrogenation. Catalysis Today, v.57, n. 3-4, p. 219-223, 2000. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 11 set, 2011.

BRENNAN, L. OWENDE, P. Biodiesel from microalgae. A review of tevhmologies for production, processing, and extractions of biodiesel and co-products. Renewable and Sustainable Energy Reviews, 14 (2): 557-577, 2010.

BRIAN J. KROHN, CLAYTON V. MC NEFF, BINGWEN YAN, DANIEL NOWLAN. **Production of algae based biodiesel using the continuous catalytic Mcgyan process**. Bioresource Technology, 102 94–100, 2011.

BROWN, L. M. & ZEILER, K. G. Aquatic biomass and carbón dioxide trapping. Energy Conversion and Management, 34:1005-10013, 1993.

BROWN, M. E. Introduction to thermal analysis: techniques an applications. New York: Springer, 280p, 1988.

BROWN, R.; JEFFREY, S.W.; VOLKMAN, J.K.; DUNSTAN, G.A. Nutrtional properties of microalgae for mariculture. Aquaculture. Australia, 51, 315-331, 1997.

BRUM, A, A.S.; ARRUDA, L.F.; REGITANO-D`ARCE, M.A.B. Metodos de extração e qualidade da fração lipídica de matérias primas de origem vegetal e animal. Química Nova. Brasil: 32, n 4. 849-854, 2009.

BRUNNER, E. Characterization of solid acids by spectroscopy. Catalysis Today, v. 38, p. 361-376, 1997. Disponivel em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 02 de fevereiro, 2012.

BUCY HARRISON B; BAUMGARDNER MARC E; ANTHONY J. MARCHESE. Chemical and physical properties of algal methyl ester biodiesel containing varying levels of methyl eicosapentaenoate and methyl docosahexaenoate. Algal Research, Article in Press, 2012.

BUSCHINELLI, C. C. de A., RAMOS, N. P., BATISTA, E. R., OLIVEIRA, H. M. T. de, VASCONCELOS, E. B. C., RODRIGUES, G. S., RODRIGUES, I. A. IRIAS, L. J. M (Org). **Desenvolvimento Sustentável**. Itatiba, S.P: Berto Editora p. 245-265, 2008.

CABRAL BORGES, FERNANDA. **Proposta de um modelo conceitual de Biorrefinaria com estrutura descentralizada**. Dissertação de Maestrado. Universidade Federal do Rio Grande do Sul. Porto Alegre. 2010.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D.C., Planejamento de Experimentos usando o Statistica, E-papers, Rio de Janeiro, Brasil, 2003.

CAMPOS, V.B.; BARBARINO, E.; LOURENÇO, S.O. **Crescimento e composição química de dez espécies de microalgas marinhas em cultivos estanques**. Ciência Rural, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 339-347, 2010.

CAO, W. ; H,; ZHANG, J. Preparation of biodiesel from soybean oil using supercritical methanol and co-solvent. Fuel 84, p. 347-351, 2005.

CARDONE, M., PRATI, M. V., ROCCO, V., SEGGIANI, M., SENATORE, A., VITOLO, S. Brassica carinata as na alternative oil orop for the production of biodiesel in Italy: engine performance and regulated and unregulated exhaust emissions. Environmental Science & Technology, 36: 4656-4662, 2002.

CARIOCA, J.O.B.; HILUY FIALHO, J.J.; LEAL, M.R.L.V. *et al.* **The hard choice for alternative biofuels to diesel in Brazil**. Biotechnol Adv., v. 27, n. 6, p. 1043-1050, 2009.

CARVALHO JÚNIOR, RUI MIGUEL DE. Desenvolvimento e Análise Energética do Processo de Obtenção do Biodiesel de Microalga por Metanólise *in situ*. Dissertação (Mestrado em Engenharia) Curitiba. Universidade Federal do Paraná, 2010.

CARVALHO, C.E.G. DE., BORGES , L.E.P., WAUKE, F.T., SCOFIELD, C.F., ARAUJO, L.R.R., GONZALEZ ,W.A. Avaliação das propriedades texturais, ácidas e catalíticas de

materiais a base de nióbio. 17º CBECIMat- Congresso Brasileiro de Engenharia e Ciência dos Materiais, 15 a 19 de Novembro, Foz do Iguaçu, PR, Brasil, 2006.

CARVALHO, L. G.; BRITTO, P. P.; MATOVANELLI, R.; CAMACHO, L.; ANTUNES, O.A. C.; ARANDA, D. G. A. **Esterificação do ácido graxo de palma via catálise heterogênea**. Anais do 13° Congresso Brasileiro de Catálise e 3° Congresso de Catálise do Mercosul. v. 4, p. 1-4. Uberlândia – Brasil, 2005.

CASTEL, B. Les alumines et leurs applications. Paris: Nathan, 74p,1990.

CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; SANTOS, J.C.; AGUIAR, C.L. Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. Química Nova, V. 27, n. 1, p. 146-156, 2004.

CASTRO, R. H. R.; GOUVÊA, D. Efeito do íon Mn como aditivo na transição de fase da alumina. Cerâmica, v. 49, p. 55-60, 2003.

CHEN CHUN-YEN; KUEI-LING YEH; RIFKA AISYAH; DUU-JONG LEE; JO-SHU CHANG. Cultivation, photobioreactor design and harvesting of microalgae for biodiesel production: A critical review. Bioresource Technology 102 71–81, 2011.

CHEN, W.; ZHANG, C.; SONG, L. *et al.* A high throughput Nile red method for quantitative measurement of neutral lipids in microalgae. Journal of Microbiological Methods, v. 27, n. 1, p. 41-47, 2009.

CHENARD. G.D; ALMARALES. A.A, PEREZ. L; ARANDA. D.G.A., **Hidroesterificación del aceite de Jatropha Curcas puro y mezclado com aceite Rícino para la producción de biodiesel**, 6° Congresso Brasileiro de plantas Oleaginosas, Óleos e Gorduras e Biodiesel. Montes Claros, 28 de Agosto, 2009.

CHENG YU; YAOHUI FENG; YANBIAO REN; XUAN LIU; AORAN GAO; BENQIAO HE; FENG YAN; JIANXIN LI. **Comprehensive kinetic studies of acidic oil continuous esterification by cation-exchange resin in fixed bed reactors**. Article in Press. Bioresource Technology, (2012).

CHEUNG, P.C.K. Temperature and pressure effects on supercritical carbon dioxide extraction of n-3 fatty acids from red seaweed. Food Chemistry, v. 65, p. 399-403, 1999. CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae beats bioethanol. Trends in Biotechnology, v. 26, n. 3, p. 126-131, 2008.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. Biotecnology Advances 25: 294-306, 2007.

CHU, W.; ECHIZEN, T.; KAMIYA Y.; OKUHARA, T. **Gas-phase hydration of ethene over tungstena-zirconia.** Applied Catalysis A: General, v. 259, n. 1, p. 99-205, 2004. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: jan, 2012.

CIOLA, R. **Fundamentos da catálise**. São Paulo: Editora Moderna e EDUSP, 297p, 1981. COHEN Z **Products from microalgae**. *In:* Handbook of microalgal mass culture. Richmond A (ed.) CRC Press pp. 421- 454, 1986. COLLA, L. M.; BERTOLIN, T. E.; COSTA, J. A. V. Fatty acids profile of *Spirulina platensis* grown under different temperatures and nitrogen concentrations. Zeitschrift fur Naturforschung, Tübingen, v. 59c, p. 55-59, 2004.

COMPANHIA BRASILEIRO DE METALURGIA E MINERAÇÃO. **Nióbio.** Disponível em: http://www.cbmm.com.br> Acesso em: 16 de janeiro, 2012.

CONSTANTINO, V. R. L.; ARAKI, K.; SILVA, D. DE O.; OLIVEIRA, W. **Preparação de compostos de alumínio a partir da bauxita: considerações sobre alguns aspectos envolvidos em um experimento didático**. Química Nova, v. 25, n. 3, p. 490-498, 2002.

COOMBS, J., DARLEY, W. M., HOLM-HANSEN, O., VOLCANI, B. E. Studies on the Biochemistry and Fine Structure of Silica Shell Formation in Diatoms. Plant Physiology, 42: 1601-1606, 1967.

CORMA, A., GARCIA, H. Organic reactions catalyzed over solid acids. Catalysis Today, v. 38, p. 257-308, 1997.

CORMA, A.; GARCÍA, H. **Organic reactions catalyzed over solid acids**. Catalysis Today, V. 38, n. 3, p. 257-308, 1997.

COSTA, J.A.V.; RADMANN, E.M.; CERQUEIRA, V.S. *et al.* **Perfil de ácidos graxos das microalgas chlorella vulgaris e chlorella minutissima cultivadas em diferentes condições**. Alim. Nutr., Araraquara, v. 17, n. 4, p. 429-436, out./dez, 2006.

CULLITY, B. D. Elementes of x-ray diffraction. New York: Addison- Wesley, 514p. 1959.

CUNHA, D. C.; CREXI, V. T.; PINTO, LA. A, A. Winterização de óleo de pescado via solvente. Ciência e Tecnologia de Alimentos. (s.i). v. 29. P-207-213. 2009.

D´OCA, M.G.M.; VIÊGAS, C.V.; MACHADO, D.O. **Extração de óleo da microalga** *Chlorella pyrenoidosa visando à produção de biodiesel*. In: XVI Encontro de Química da Região Sul (16-SBQSul) FURB, Blumenau, Santa Catarina, 2008.

DARIO, M., **Recuperação de glicerina oriunda do processo de produção de biodiesel – Um processo quimúrgico**, Monografia de graduação em química bacharelado. Universidade Federal de Mato Grosso. Mato Grosso-Brasil, 2006.

DELRUE F.; P.-A. SETIER; C. SAHUT; L. COURNAC; A. ROUBAUD; G. PELTIER; A.-K. FROMENT. An economic, sustainability, and energetic model of biodiesel production from microalgae. Bioresource Technology. Article in Press, 2012.

DEMIRBAS AYHAN. Biodiesel from oilgae, biofixation of carbon dioxide by microalgae: A solution to pollution problems. Applied Energy 88 3541–3547, 2011.

DEMIRBAS AYHAN. Use of algae as biofuel sources. Energy Conversion and Management 51 2738–2749, 2010.

DENG, H. T.; KERNS, K. P.; CASTLEMAN Jr., A. W. Formation, structures, and reactivities of niobium oxide cluster ions. Journal Physical Chemistry, v. 100, n. 32, p.

13386-13392, Aug. 1996. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 12 dezembro, 2011.

DEPARTMENT OF ENERGY'S AQUATIC SPECIES PROGRAM. **Biodiesel from algae.** National Renewable Energy Laboratory, Golden CO; Report NREL/TP-580-24190, 328 p. <u>www.nrel.gov/docs/legosti/fy98/24190.pdf</u>. Acceso em: 28 fevereiro, 2012.

DERNER, R. B., S. OHSE, M. VILLELA, S. M. de CARVALHO e R. FETT. Microalgas, produtos e aplicacoes. Ciencia Rural n. 36, v. 6, p. 1959 -1967, 2006.

DESHNIUM, P.; PAITHOONRANGSARID, K.; SUPHATRAKUL, A.; MEESAPYODSUK, D.; TANTICHAROEN, M.; CHEEVADHANARAK, S. Temperature-independent and dependent expression of desaturase genes in filamentous cyanobacterium *Spirulina platensis* strain C1 (*Arthospira* sp. PCC 9438). FEMS Microbiology Letters, Birmingham, v. 184, p. 207-213, 2000.

DISMUKES GC, CARRIERI D, BENNETTE N, ANANYEV GM & POSEWITZ MC (2008) DOAN THI THAI YEN; BALASUBRAMANIAN SIVALOGANATHAN; JEFFREY PHILIP OBBARD. Screening of marine microalgae for biodiesel feedstock. Biomass and Bioenergy 35 2534-2544, 2011.

DOTE Y, SAWAYAMA S, YOKOYAMA S. Liquefaction of hydrocarbon-rich microalga. National Institute for Resources and environment 16-3 Onogawa, Tsukuba, Ibaraki 305. Japan, 1995.

DUERR, E. O., MOLNAr, A., SATO, V. Cultured microalgae as aquaculture feeds. J.Mar.Biotechnology, 7:65-70, 1998.

DUFOSSE, L.; GALAUPA, P.; YARONB, A. *et al.* Microorganisms and microalgae as sources of pigments for food use: a scientific oddity or an industrial reality? Trends in Food Science & Technology, v. 16, p. 389–406, 2005.

DUNSTAN, G.A., VOLKMAN, J.K., BARRETT, S.M. *et al.* Changes in the lipid composition and maximisation of the polyunsaturated fatty acid content of three microalgae grown in mass culture. J. Appl. Phycol., v. 5, p. 71-83, 1993.

EHIMEN, E.A.; SUN, Z.F.; CARRINGTON, C.G. Variables affecting the in situ transesterification of microalgae lipids. Fuel, v. 89, p. 677–684, 2010.

ELEY, D. D.; RIDEAL, E. K. **Parahydrogen Conversion on Tungsten**. Nature, v. 146, n. 40, p. 401-402, 1940.

EMPRESA DE PESQUISA ENERGÉTICA-MME, <u>www.epe.gov.br</u>; Ministério de Minas e Energia, <u>WWW.mme.gov.br</u>

FÁBREGAS, J.; FERRÓN, L.; GAMALLO, Y. *et al.* Improvement of growth and cell productivity by aeration rate in cultures of the marine microalga *Dunaliella tertiolecta*. Bioresource Technology, v. 48, p. 107-111, 1994.

FAJARDO AR, CERDAN LE, MEDINA AR, FERNANDEZ FGA, MORENO PAG, GRIMA EM. Lipid extraction from the microalga Phaedactylum tricornutum. European Journal of FAO. Renewable biological system for alternative sustainable energy production. Serie Title: FAO Agricultural Services BULLETIN, 128, 1997.

FAO. **Renewable biological systems for alternative sustainable energy production**. Acesso em http://www.fao.org/docrep/w7241e/w7241e00.htm#Contents, em fevereiro, 2012.

FAZELI, M.R.; TOWGHI, H.; SAMADI, N. *et al.* Effects of salinity on β -carotene production by *Dunaliella tertiolecta* DCCBC26 isolated from the Urmia salt lake, north of Iran. Bioresour. Technol., v. 97, n. 18, p. 2453-2456, 2006.

FEDEROV, A. S., KOSOUROV, S., GHIRARDI, M. L., SEIBERT, M. Continous H_2 photoproduction by Chlamydomonas reinhardtii using a novel two-stage, sulfate-limited chemostat system. Appl. Biochem.Biotecnol.121124: 403-412, 2005.

FERREIRA, M.; MASEDA, A.; FÁBREGAS, J. *et al.* Enriching rotifers with "premium" microalgae. Isochrysis aff. galbana clone T-ISO. Aquaculture, v. 279, p. 126–130, 2008.

FIDALGO, J.P.; CID, A.; TORRES, E. *et al.* Effects of nitrogen source and growth phase on proximate biochemical composition, lipid classes and fatty acid profile of the marine microalga *Isochrysis galbana*. Aquaculture, v. 166, p. 105–116, 1998.

FIGUEIRA, S.R. Os programas de álcool como combustíveis nos EUA, no Japão e na União Européia e as possibilidades de exportação do Brasil. 2005. 246 p. Tese (Doutorado em Economia Aplicada)-USP/ESALQ, Piracicaba, 2005. Disponível em: http://www.teses.usp.br/teses. Acesso em: 01 jan, 2012.

FOGLER, H.S. Elements of chemical reaction Engineering. 2nd Edition. New Jersey: Hall International series, 1992. 338p.

FOUGRET, C.M.; ATKINS, M. P.; HOLDERICH, W. F. Influence of the carrier on the catalytic performance of impregnated phosphoric acid in the hydration of ethylene. Applied Catalysis A: General, V. 181, n. 1, p. 145-156, 1999. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 25 maio, 2011.

FOUGRET, C.M.; HOLDERICH, W. F. **Ethylene hydration over metal phosphates impregnated with phosphoric acid**. Applied Catalysis **A**: General, V. 207, n. 1, p. 295-301, 2001. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 25 maio, 2011.

FRANCESCHINI, I.M.; BURLIGA, A.L.; REVIERS, B.; PRADO, J.F.; REZIG, S.H. Algas: uma abordagem filogenetica, taxonomica e ecologica. 332p. Artmed, Porto Alegre, 2010.

FUKUDA, H., KONDO, A., NODA, H. **Biodiesel fuel production by transesterification of oils**. Journal of Bioscience and Bioengineering, 92: 405-416, 2001.

FUPEFF. Congresso Internacional de Bioenergia. Curitiba. Anais. Curitiba, 2009.

FURUTA, S.; MATSUHASHI, H.; ARATA, K. **Biodiesel fuel production with solid superacid catalysis fixed bed reactor under atmospheric pressure**. Catalysis Communications. v. 5, p. 721–723. Saitana – Japan, 2004.

GANGADWALA, J., MANKAR, S., KIENLE, A., STEIN, E., MAHAJANI, S. Esterification of acetic acid with butanol in the presence of ion-exchange resins as catalysts. Industrial & Engineering Chemistry Research 42 (10), 2146–2155, 2003.

GAO, C.; XIONG, W.; Zhang, Y. *et al.* **Rapid quantitation of lipid in microalgae by timedomain nuclear magnetic resonance**. Journal of Microbiological Methods, v. 75, p. 437-440, 2008.

GATENBY CM, ORCUTT DM, KREEGER DA, PARKER BC, JONES VA & NEVES RJ Biochemical composition of three algal species proposed as food for captive freshwater mussels. *J. Appl. Phycol.* 15:1-11, 2003.

GAVRILESCU, M.; CHISTI Y. Biotechnology- a sustainable alternative for chemical Industry. Biotechnol. Adv., 23: 471-499, 2005.

GEANTET, C.; AFONSO, J.; BREYSSE, M.; ALLALI, N.; DANOT, M. Niobium sulfides as catalysts for hydrotreating reactions. Catalysis Today, v.28, n. 1-2, p. 23-30, 1996. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 22 out, 2011.

GILL, I.; VALIVETY, R. Polyunsaturated fatty acids, part 1: occurrence, biological activities and applications. Trends in Biotechnology, n. 15, p. 401-409, 1997.

GONÇALVES, J.A.; ROCHA, L. L.L.; DOMINGOS, A. K.; JORDÃO, R.G.; JORDÃO. A.P.G.; ARANDA, D.A.G. **Influência do tamanho da cadeia carbônica e do grau de insaturação dos ácidos graxos na esterificação sobre ácido nióbico para a produção de biodiesel**. Tese de Mestrado da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro-RJ, 2007.

GONZÁLEZ L., CAÑIZALES R. Y BAENA S. "Efficiency of Ammonia and Phosphorus Removal from a Colombial Agroindustrial Wastewater by the Microalgae *Chlorella vulgaris* and *Scenedesmus dimorphus*". Bioresource Technology Vol.60 259-262, 1997.

GOUVEIA L & OLIVEIRA AC Microalgae as raw material for biofuels production. *J. Ind. Microbiol. Biotechnol.* 36: 269-274, 2009.

GOUVEIA, L., MARQUES, A.E., DA SILVA, T.L., REIS, A. Neochloris oleabundans UTEX #1185: a suitable renewable lipid source for biofuel production. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 36, 821–826, 2009.

GOUVEIA, L., OLIVEIRA, A.C. Microalgae as a raw material for biofuels production. J. Ind. Microbiol. Biotechnol. 36, 269–274, 2009.

GRABOSKI M; R. McCORMICK. Combustion of fat and vegetable oil derived fuels in diesel engines. Progress in Energy and Combustion Science 125–164, 1998.

GRIMBLE, G.K.; KEOHANE, P.P.; HIGGINS B.E. *et al.* Effect of peptide chain length on amino acid and nitrogen absorption from two lactalbumin hydrolysates in the normal human jejunum. Clinical Sci., v. 71, p. 65-69, 1986.

GROSSMAN A & TAKAHASHI H Macronutrient utilization by photosynthetic eukaryotes and the fabric of interactions. Annu. Rev. Plant Physiol. Plant Mol. Biol. 52: 163-210, 2001.

GUAN, W.; GAO, K. Light histories influence the impacts of solar ultraviolet radiation on photosynthesis and growth in a marine diatom, Skeletonema costatum. Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology, v. 91, p. 151-156, 2008.

GUNSTONE, F. D. Enzymes as biocatalysts in the modification of natural Lipids. Journal of the Science of Food and Agriculture, V.79, n. 12, p. 1535 - 1549, 1999.

GUSCHINA, I. A., HARWOOD, J. L. Lipids and lipid metabolism in eukaryotic algae. Prog. Lipid. Res. 45: 160-186, 2006.

HAAS, M. J., MCALOON, A. J., YEE, W.C., FOGLIA, T. A. A process model to estimate biodiesel production cost. Bioresource Technology, 97: 671-678, 2006.

HALIM R, et al. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. Biotechnol Adv 30 709-732, 2012.

HALIM R, GLADMAN B, DANQUAH MK, WEBLEY PA. **Oil extraction from microalgae for biodiesel production**. Bioresource Technology;102(1):178–85, 2011.

HALIM, S.F.A., FERNANDO, W.J.N., KAMARUDDIN, A.H. Continuous biosynthesis of biodiesel from waste cooking palm oil in a packed bed reactor: optimization using response surface methodology (RSM) and mass transfer studies. Bioresource Technology 100 (2), 710–716, 2009.

HAO, Y., LI, J., YANG, X. WANG, X. e LU, L. **Preparation of ZrO₂-Al₂O₃ composite membranes by sol-gel process and their characterization**. Materials Science & Engineering A, v. 367, p. 243-247, 2004.

HARRIGTON, K.J. ; DARCY-EVANS, C. A comparison of conventional and in situ methods of tranesterification of seed oil from a series of sunflower cultivars. Journal American Oil Chemical Society; v. 62, 1009-1013, 1985.

HARRIGTON, K.J. ; DARCY-EVANS, C. **Transesterification in situ of sunflower seed oil**. Ind Eng Chem Prod Res Dev; v.24, 314-318, 1985.

HARRISON, P.J.; BERGES, J.A. Marine cultire media: In: algal culturing techeniques. Elsevier/Academic Press, 21-33p. San Diego, 2005.

HARUN RAZIF; MICHAEL DAVIDSON; MARK DOYLE; RAJPRATHAB GOPIRAJ; MICHAEL DANQUAH; GARETH FORDE. Technoeconomic analysis of an integrated microalgae photobioreactor, biodiesel and biogas production facility. Biomass and Bioener gy 35 741-747, 2011.

HARUN, R.; SINGH, M.; FORDE, G.M. *et al.* Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. Renew Sustain Energy, v. 14, n. 3, p. 1037-104, 2009.

HARWOOD, J.L.; GUSCHINA, I.A. Review: **The versatility of algae and their lipid metabolism**. Biochimie, v. 91, p. 679 -684, 2009.

HEILMANN STEVEN M., JADER LINDSEY R., HARNED LAURIE A., SADOWSKY MICHAEL J., SCHENDEL FREDERICK J., LEFEBVRE PAUL A., VON KEITZ MARC G., VALENTAS KENNETH J.. Hydrothermal carbonization of microalgae II. Fatty acid, char, and algal nutrient products. Applied Energy 88 3286–3290, 2011.

HERNÁNDEZ, A.G.; VÁZQUEZ-DUHALT, R.; SAAVEDRA, M.P.S. *et al.* Biodiesel a partir de microalgas. Biotecnología, v. 13, n. 3, p. 38-61, 2009.

HERRERO, M.; CIFUENTES, A.; IBAÑEZ, E. Sub and supercritical fluid extraction of functional ingredients from different natural sources: Plants, food-by-products, algae and microalgae. A review. Food Chemistry, v. 98, p. 136–148, 2006.

HODAIFA, G.; MARTINEZ, M.E.; SÁNCHEZ, S. Use of industrial wastewater from oliveoil extraction for biomass production of Scenedesmus obliquus. Bioresource Technology, v. 99, p. 1111–1117, 2008.

HODGSON, P.A.; HENDERSON, R.J.; SARGENT, J.R. *et al.* **Patterns of variation in the lipid class and fatty acid composition of** *Nannochloropsis oculata* **Eustigmatophyceae during batch culture: I. The growth cycle**. J. Appl. Phycol., v. 3, p. 169–181, 1991.

HOEK, C. V. Algae: an introduction to phycology. London: Cambridge University, 1995.

HOUGEN, O. A. and WATSON, K. M. Chemical Process Principles Part there Kineticsandcatalysis.NewYork:JohnWiley,1959.HTTP://www.biodiesel.gov.br/docs/ArtigobiodieselGINCOB-UFRGS.pdf>.Acessoem:março, 2011.

HU, G., SOMMERFELD, M. JARVIS, E. GHIRARDI, M., POSEWITZ, M. SEIBERT, M., DARZINS, A. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. The Plant Journal, 54: 621-639, 2008.

HUANG, G.; CHEN, F.; WEI, D. **Biodiesel production by microalgal biotechnology**. Applied Energy, v. 87, p. 38–46, 2010.

HUNTLEY ME & REDALJE DG. CO₂ mitigation and renewable oil from photosynthetic microbes: a new appraisal. *Mitigation and Adaptation Strategies for Global Change*. 12: 573-608, 2007.

ICHIKUNI, N.; SHIRAI, M.; IWASAWA, Y. **Surface structures and catalytic properties of supported niobium oxides**. Catalysis Today, v.28, n. 1-2, p. 49-58, 1996. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 22 out, 2011.

ILKER O" ZTU" RK, SIBEL IRMAK, ARIF HESENOV, OKTAY ERBATUR. Hydrolysis of kenaf (Hibiscus cannabinus L.) stems by catalytical thermal treatment in subcritical water. Biomass and Bioenergy 3 4 1578-1585, 2010.

ILLMAN, A.M., SCRAGG, A.H., SHALES, S.W. Increase in *Chlorella* strains calorific values when grown in low nitrogen medium. Enzyme Microb. Technol. 27, 631–635, 2000.

IRIAS, L. J. M. (org). IRIAS, L. J., GEBLER, L., PALHARES, J. C. P., ROSA, M. F., RODRIGUES, G. S. **Desenvolvimento Sustentável** Itatiba: Berto Editora, p221-232, 2004.

IRIAS, L. J. M. Economia da Agroenergia. In: PÂNTANO FILHO, R., ROSA, D. DOS S., 2008.

IZUMI, Y. **Hydration/hydrolysis by solid acids**. Catalysis Today, V. 33, n. 4, p. 371-409, 1997. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 24 dec, 2011.

JAAKKO, **Poyry Tecnologia**. Disponível em: http://www.poyry.com/ Acesso em: 05 de janeiro, 2012.

JACOB-LOPES, E.; SCOPARO, C.H.G.; FRANCO, T.T. **Rates of CO₂ removal by** *Aphanothece microscopica Nägeli* in tubular photobioreactors. Chemical Engineering and Processing, v. 47, p. 1365–1373, 2008.

JEHNG, J.M.; WATCHS, I. E. **Structural chemistry and Raman spectra of Niobium oxides**. Chemical Materials, v.3, n. 1, p.100-107, 1991. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 11 janeiro, 2012.

JEHNG, L. M.; WACHS, L. E. The molecular structures and reactivity of supported niobium oxide catalysts. Catalysis Today, v.8, n. 1, p. 37-55, 1990. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 01 de janeiro, 2012.

JOHN SHEEHAN, ET AL. A look back at the U.S. department of Energys aquatic species program: biodiesel from algae. Unided State of America. National Renewable Energy laboratory. 328p, 1998.

JUNIOR, A.M.M.; NETO, E.B.; KOENING, M.L. *et al.* **Composição química de microalgas em cultivo semi-intensivo:** *Chaetoceros gracilis* **,** *Isochrysis galbana* **e** *Thalassiosira weissflogii*. Revista Ciência Agronômica, v. 37, n. 2, p. 142-148, 2006.

KAÇKA, A.; DÖNMEZ, G. Isolation of *Dunaliella spp.* from a hypersaline lake and their ability to accumulate glycerol. Bioresource Technology, v. 99, p. 8348–8352, 2008.

KALIN, M., WHEELE, W. N., MEINRATH, G. The removal of uranium from mining waste water using algal microbial biomass. J. Environ. Radioact, 78: 151-177, 2005.

KALITA, D. **Hydrocarbon plant—New source of energy for future**. Renewable and Sustainable Energy Reviews, v. 12, p. 455–471, 2008.

KANOTHE, GERHARD. Improving biodiesel fuel properties by modifying fatty ester composition. Energy & Environmental Science, (s.i). n.2. p. 759-766, 2009.

KNOTHE, G. Dependence of biodiesel fuel properties on the structure of fatty acid alkyl esters. Fuel Process. Technol. 86, 1059–1070, 2005.

KNOTHE, G.; Fuel Process. Technol., 86, 1059, 2005.

KNOTHE, G.; SHARP, C. A.; RYAN, T.W. **Exhaust emissions of biodiesel, petrodiesel, neat methyl ester, and alkanes in a new technology engine**, Energy Fuels, (s.i), n. 20, p. 403-408, 2006.

KAPDAN, I. K., KARGI, F. **Bio-hydrogen production from waste materiais**. Enzyme Microb. Technol. 38: 569-582, 2006.

KASTEREN, J.M.N.; NISWORO, A.P.; A process model to estime the cost of industrila scale biodiesel fro waste cooking oil by supercritical transesterification; Resources, Conservation and Recycling, 2007.

KAUR SIMRAT, MANAS SARKAR, RAVI B. SRIVASTAVA, HEMANTA K. GOGOI AND MOHAN C. KALITA. Fatty acid profiling and molecular characterization of some freshwater microalgae from India with potential for biodiesel production. New Biotechnology. Volume 29, Number 3, 2012.

KAZANSKY, V. B. Solvation as a main factor that determines the strength os liquid superacids and selectivity of the acid-catalyzed reactions of olefins. Catalysis Today, v. 73, n. 1-2, p. 127-137, 2002. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 25 dec, 2011.

KROHN, BRIAN J.; CLAYTON, V. MCNEFF.; BINGWEN YAN, DANIEL NOWLAN. **Production of algae-based biodiesel using the continuous catalytic Mcgyan process**. Bioresource Technology 102 94–100, 2011.

KUSDIANA, DANDAB; SAKA, SHIRO. Kinetics of transsterification in tapeseed oil to biodiesel fuel as treated I supercritical methanol. Fuel, n. 80, 693-698, 2001.

LADOMMATOS, N.; PARSI, M.; KNOWLES, A. The effect of fuel cetane improver on diesel pollutant emissions, Fuel. (s.i), n. 75, p. 8-14, 1996.

LALLI, CU., PARSONS, T. **Biological Oceanography: An introduction**. Oxford, Butterworth & Heinermann Ltda. 301p., 1993.

LAM MAN KEE; KEAT TEONG LEE. Microalgae biofuels: A critical review of issues, problems and the way forward. Biotechnology Advances 30 673–690, 2012.

LAMBERT, J. F.; CHE, M. **The molecular approach to supported catalysts synthesis: state of the art and future challenges**. Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, v. 162, n. 1-2, p. 5-18, 2000. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 07 mar, 2012.

LANÇAS, F.M.; VILEGAS, J.H.Y.; NOSSACK, A.C. *et al.* Novas aplicações de sistemas SFE "HOME MADE" II. Plantas da América do Sul. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 17, n. 4, p. 418-422, 1997.

LAPUERTA, MARGIN; RODRIGUEZ-FERNÁNDEZ, JOSÉ; MORA, EMILIO FONT. Correlation for the estimation of the cetane number of biodiesel fuels and implications on the iodine number. Energy Policy. (s.i). n. 37. P-4337-4344, 2009.

LAURENÇO, S. de O. Cultivo de Microalgas Marinhas: Princípios e Aplicaçoes. Brasil: RiMa, 2006.

LEE D.H. Algal biodiesel economy and competition among bio-fuels. Bioresource Technology 102 43–49, 2011.

LEE, J.Y.; YOO, C.; JUN, S.Y. *et al.* Comparison of several methods for effective lipid extraction from microalgae. Bioresource Technology, v. 101, p. 75–77, 2010.

LEE, M.J., CHIU, J.Y., LIN, H.M. Kinetics of catalytic esterification of propionic acid and n-butanol over Amberlyst 35. Industrial & Engineering Chemistry Research 41 (12), 2882-2887, 2002.

LI et al. Biofuels from microalgae. Biotechnology Progress, Vol. 24, p.815-820, 2008.

LI FEN WUA; PEI CHUNG CHEN; AI PING HUANG; CHI MEI LEE. The feasibility of biodiesel production by microalgae using industrial wastewater. Bioresource Technology. Article in Press, 2012.

LI Q, DU W & LIU D. **Perspectives of microbial oils for biodiesel production**. Appl. Microbiol. Biotechnol. 80: 749-756, 2008.

LI YUAN-GUANG; XU LING; HUANG YING-MING; WANG FENG; GUO CHEN; LIU CHUN-ZHAO. Microalgal biodiesel in China: Opportunities and challenges. Applied Energy 88 3432–3437, 2011.

LI, Y.; YAN, S.; YUE, B.; YANG, W.; XIE, Z.; CHEN, Q.; HE, H. Selective catalytic hydration of ethylene oxide over niobium oxide supported on alumina. Applied Catalysis A: General, v. 272, n. 1-2, p. 305-310, 2004. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 14 mar, 2011

LIEBREICH, M., RODRIGUEZ, R., BOYLE, H. RAMOS. C. Food prioe inoreases: is it fair to blame biofuels? Research Note. <u>www.newenergyfinance.com</u>. New Energy Finance: pp 1-3, 2008.

LIMA, L. L., **Produção de Biodiesel a partir da Hidroesterificação dos Óleos de Mamona e Soja.** Tese de Mestrado. Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2007. Lipid Science Technology;109:120–6, 2007.

LIU, Y.J., LOTERO, E., GOODWIN, J.G. A comparison of the esterification of acetic acid with methanol using heterogeneous versus homogeneous acid catalysis. Journal of Catalysis 242 (2), 278–286, 2006.

LÔBO, IVON PINHEIRO; FERREIRA, SERGIO LUIS COSTA. **Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos**. Química Nova. São Paulo. V. 32, n. 6, p. 1596-1608, 2009.

LOHREY CHRISTIAN; KOCHERGIN VADIM. **Biodiesel production from microalgae: Co-location with sugar mills**. Bioresource Technology. Article in Press, 2012.

LOPÉZ, D.E.; GOODWIN, J.G., Jr.; BRUCE, D.A.; LOTERO, E. **Transesterification of triacetin with methanol on solid acid and base catalysts**, Appl.Cat. A; Gen., 295, 97-105, 2005.

LOPEZ, D.E.; SUWANNAKARN, K.; BRUCE, D.A.; GOODWIN, J.G. Jr., Esterification and transesterification on tungstated zirconia: Effect of calcination temperature, J.Catal., 247, 43, 2007.

LORENZ, R. T., CYSEWSKI, G. R. Commercial potential for Haematococcus microalga as a natural source of astaxanthin. Trends Biotechnol. 18: 160-167, 2003.

LOTERO, E.; LIU, Y.; LOPEZ, D. E.; SUWANNAKARN, K.; BRUCE, D. A.; GOODWIN JR, J. C. Synthesis of Biodiesel via Acid Catalysis, Ind. End. Chen. Res., 44, 5353, 2005.

LOWELL, S.; SHIELDS, J. Powder surface area and porosity.. 462p. New York: John Wiley, 1979.

MACEDO, C.C.S.; ABREU, F.R.; TAVARES, A.P.; ALVES M.B.; ZARA, L.F.; RUBIM, J.C.; SUAREZ, P.A.Z., New heterogeneous metal-oxides based catalyst for vegetable oil trans-esterification, J. Braz. Chen. Soc., 17, 1291-1296, 2006.

MACÍAS-SÁNCHEZ, M.D. et al. **Supercritical fluid extration of carotenoids and chlorophyll a from Nannochloropsis gadiata**. Journal of Food Engineering, No 66, p. 245-251, 2005.

MACÍAS-SÁNCHEZ, M.D.; MANTELL, C.; RODRÍGUEZ, M. *et al.* Comparison of supercritical fluid and ultrasound-assisted extraction of carotenoids and chlorophyll a from *Dunaliella salina*. Talanta, n. 77, p. 948–952, 2009.

MAEDAL, M K.; OWADAI, N. K.; OMATA, K. *et al.* CO₂ fixation from the flue gas on coal-fired thermal power plant by microalgae. Energy Convers. Mgmt, v. 36, n. 6-9, p. 717-720, 1995.

MAKULLA, A. Fatty acid composition of *Scenedesmus obliquus*: correlation to dilution rates. Limnology, [S.I.], v. 30, p. 162-168, 2000.

MALISKA, A. M. **Microscopia eletrônica de varredura**. Apostila (Usuários de MEV): Florianópolis, 97p. Apostila (Usuários de MEV). Universidade Federal de Santa Catarina, 2006

MALLICK, N. Biotechnological potential of immobilized algae for wastewater N, P, and metal removal: a review. Biometals, 15: 377-390, 2002.

MANDAL, S., MALLICK, N. Microalga *Scenedesmus obliquus* as a potential source for biodiesel production. Appl. Microbiol. Biotechnol. 84, 281–291, 2009.

MANNHEIMER, W. A. **Microscopia dos materiais**: **uma introdução**. São Paulo: Sociedade Brasileira de Microscopia e Microanálise. 226p, 2002.

MANSOUR, M.P. et al. The effect of growth phase on the lipid class, fatty acid and sterol composition in the marine dinoflagellate, Gymnodinium sp. in batch culture. Phytochemistry 63, 145–153, 2003.

MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U., ERRAZY, A. F. Heterogeneous esterifications of oil with high amount of free fatty acids. Fuel. Bahía Blanca-Argentina, 2006.

MARQUES, F. **FAPESP lança programa para impulsionar pesquisa em bioenergia**. Pesquisa FAPESP, n. 149, p. 20-25, jul, 2008.

MARTÍNEZ-FERNÁNDEZ, E.,; SALMÓN, H.; SOUTHGATE, A.P.C. The nutritional value of seven species of tropical microalgae for black-lip pearl oyster (*Pinctada margaritifera*, *L.*) larvae. *Aquaculture*, v. 257, p. 491–503, 2006.

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

MAURER, S. M.; KO, E. I. **Structural and acidic characterization of niobia aerogels**. Journal of Catalysis, v. 135, n. 1, p. 125-134, May 1992. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 25 dezembro, 2011.

McCORMICK, R.L. et al. Herring, Impact of biodiesel source material and chemical structure on emissions of criteria pollutants from heavy-duty engine, Environmental Science & Technology, (s.i), n. 35, p. 1742-1747, 2001.

MENDELSSOLM K, DE PIETRE, LUIZ C. P. ALMEIDA, RICHARD LANDERS, RITA C.G. VINHAS, FERNANDO J. LUNA. H_3PO_4 and H_2SO_4 treated niobic acid as heterogeneous catalyst for mathyl ester production. Reac Kinet Mech Cat. 99:269-280, 2010.

MENDES, R.L.; REIS, A.D.; PEREIRA, A.P. *et al.* Supercritical CO2 extraction of linolenic acid (GLA) from the cyanobacterium *Arthrospira* (*Spirulina*)*maxima*: experiments and modeling. Chemical Engineering Journal, v. 105, p. 147–152, 2005.

MENG X, YANG X, XU X, ZHANG L, NIE Q & XIAN M Biodiesel production from oleaginous microorganisms. Renewable Energy. 34: 1-5. 2009.

METZGER, P., LARGEAU, C. Bothryococuus braunii a rioh surce for hydrocarbons and related esther lipids. Appl. Microbial. Biotechnol. 66: 486-496, 2005.

MIAO, X.; WU, Q. **Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil**. Bioresource Technology, v. 97, 841-846, 2006.

MINAMI, E.; SAKA, S. Kinetics of hydrolisis and methyl esterifications for biodiesel productions in two-step supercritical methanol process. Fuel. V. 85. p. 2479 - 2483. Kioto – Japão, 2006.

MINOWA, T., et al. Oil production from algal cells of dunaliella tertiolecta by direct thermochemical liquefaction. Fuel. V.74, n.12, p.1735-1738, 1995.

MISRA, C. Industrial alumina chemicals. Washinton, D. C.: America Chemical Society,. 165p, 1986.

MOAZAMI NASRIN; ALIREZA ASHORI; REZA RANJBAR; MEHRNOUSH TANGESTANI; ROGHIEH EGHTESADI; ALI SHEYKHI NEJAD. Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of *Nannochloropsis*. Biomass and Bioenergy 39 449-4 53, 2012.

MOLINA GRIMA, E., et al. **Recovery of microalgal biomass and metabolites: process options and economics**. Biotechnology Advances. V.20, n.7-8, p.491-515, 2003.

MONTGOMERY, D.C. **Design and Analysis of Experiments.** 5ta ed, Unided States of America: Jonh Wiley & Sons, Inc, 2001.

MUÑOZ, R.; GUIEYSSE, B. Algal-bacterial process for the treatment of hazardous contaminants: a review. Water Res. 40: 2799-2815, 2006.

NAGLE, N.; LEMKE, P. **Production of methyl ester fuels from microalgae**. Applied Biochemistry Biotechnology, v. 24/25, 355-361, 1990.

NARASIMHARAO,K.; BROWN, D.R.; LEE,A.F.; SIRIL, P.F.; WILSON,K., Structureactivity relations in Cs-doped heteropolyacid catalysts for biodiesel production J.Catal. 248, 226, 2007.

NICHOLS, B. W. Light induced changes in the lipids of *Chlorella vulgaris*. Biochimica Biophysica Acta (BBA) - Lipids and Lipid Metabolism, 106, n.2, 274-9, 1965.

NIEVES, M.; VOLTOLINA, D.; PIÑA, P. Growth and biomass production of *Tetraselmis* suecica and *Dunaliella tertiolecta* in standard medium added with three products of zeolitic nature. Aquacultural Engineering, v. 32, p. 403-410, 2005.

NOWAK, I.; ZIOLEK, M. Niobium compounds: preparation, characterization, and application in heterogeneous catalysis. Chemical Reviews, v. 99, n. 12, p. 3603-3624, Dec. 1999. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 05 fevereiro, 2012.

OECD-Organization for Economic Co-operation and Development. Agricultural Market Impacts of Future Growth in the Production of Biofuels. OECD Document No.AGR/CA/APM(2005)24/FINAL. Paris, 2006.

OHSE, S.; DERNER, R.B.; OZÓRIO, R.A. *et al.* **Produção de biomassa e teores de carbono, hidrogênio, nitrogênio e proteínas em microalgas**. Cienc. Rural, v.39, n. 6, p. 1760- 1767, 2009.

OIKAWA, T.; OOKOSHI, T.; TSUNEHIRO, T. A new heterogeneous olefin metathesis catalyst composed of rhenium oxide and mesoporous alumina. Microporous and Mesoporous Materiais, v. 74, n. 1-3, p. 93-103, 2004.

OKASAKI, S; WAD, N., Surface properties and catalytic activities of amorphous niobium phosphate and a comparison with those of H₃PO₄-treated niobium oxide. Catalysis Today, 16, 349-359, 1993.

OKAZAKI, S.; KUROSAKI, A. Acidic properties and catalytic activities of niobic acid treated with phosphoric acid. Catalysis Today, v.8, n. 1, p. 113- 122, 1990. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 11 dezembro, 2012.

OLAIZOLA, M. Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace. Biomolecular Engineering, 20, 459, 2003.

OLGUÍN, E.; GALICIA, S.; ANGULO-GUERRERO, O.; HERNÁNDEZ, E. The effect of low light flux and nitrogen deficiency on the chemical composition of *Spirulina* sp. (*Arthospira*) gown on digested pig waste. Bioresource Technology, Essex, v. 77, p. 19-24, 2001.

ONO, E.; CUELLO, J.L. Feasibility assessment of microalgal carbon dioxide sequestration technology with photobioreactor and solar collector. Biosystems Engineering, v. 95, n. 4, p. 597-606, 2006.

ORNL-Oak Ridge National Laboratory. **Biofuel Feedstock Assessment**. <u>http://www.ornl.gov.2008</u>.

OTZ, EVANDRO PECLAT. **Transesterificação de óleo de soja via catálise heterogênea**. Dissertação (Mestrado em Ciências em Química)-Instituto Militar de Engenharia, Rio de Janeiro, 2002.

OZGUL-YUCEL, S.; S.; TURKAY, S. Variables affecting the yields of the methyl esters derived from the in-situ esterification of rice bran oil. Journal American Oil Chemical Society; v. 79: 611-614, 2002.

PARSONS, T.R.; TAKAHASHI, M.; HARGRAVE, B. Biológical Oceanographic Processes. 3 Ed. Oxford: Pergamon Press, 1984.

PASSOS, R.; BEIRAO, L.; PALAVRA, A. et al. Astaxanthin from the yeast *Phaffia rodozyma*. Supercritical carbon dioxide and organic solvents extraction. Journal of Food technology, v. 4, n. 1, p. 59-63, 2006.

PEREIRA, C. C. M.; LACHTER, E. R. Alkylation of toluene and anisole with 1-octen-3-ol over niobium catalysts, Appl.Catal. A: Gen. 266, 67-72, 2004

PÉREZ M, PIAD R, MILIAN G, LAURENCIO M, DE MANCILHA IM, DAS GRAÇAS, DE ALMEIDA JB. Enzymatic extract of *Bacillus licheniformis* E-44 to produce a hydrolyzed of Saccharomyces cerevisiae as probiotic in animal. Proceedings of the International Conference on Enzyme Technology RELATENZ'2005; Sept 20-23; Varadero, Cuba, 2005.

PÉREZ, HOMERO E. B. **Biodiesel de Microalgas**, Instituto de Pesquisas Energéticas e Nucleares – IPEN, 1-19, 2007.

PERI, J. B. A model for the surface of δ-alumina. The Journal of Physical Chemistry, v. 69, n. 1, p. 220-230, 1965.

PERI, J. B. Infrared and gravimetric study of the surface of δ -alumina . The Journal of Physical Chemistry, v. 69, n. 1, p. 211-219, 1965.

PERNET, F.; TREMBLAYB, R.; DEMERSC, E. *et al.* Variation of lipid class and fatty acid composition of *Chaetoceros muelleri* and *Isochrysis* sp. Grown in a semicontinuous system. Aquaculture, v. 221, p. 393–406, 2003.

PETKOV, G.; GARCIA, G.; Which are fatty acids of the green alga *Chlorella*?. Biochemical Systematics and Ecology, 35, 281, 2007.

PETKOWICZ, C.L.O. **Bioquímica – aulas práticas**. 7º edição. UFPR, 188p. Paraná, 2007. PETROBRAS BIOCOMBUSTIVEIS. **Comunicação Institucional do Abastecimento da Petrobras.** Setprint Gráfica e Editora. 44pp, 2007.

PINHEIRO LÔBO IVON; COSTA FERREIRA SÉRGIO LUIS. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. *Quim. Nova*, Vol. 32, No. 6, 1596-1608, 2009.

PONIS, E.; PROBERT, I.; VÉRON, B. *et al.* Nutritional value of six Pavlovophyceae for Crassostrea gigas and Pecten maximus larvae. Aquaculture, v. 254, p. 544–553, 2006.

POPKEN, T., GOTZE, L., GMEHLING, J. Reaction kinetics and chemical equilibrium of homogeneously and heterogeneously catalyzed acetic acid esterification with methanol and methyl acetate hydrolysis. Industrial & Engineering Chemistry Research 39 (7), 2601–2611, 2000.

PRIYA, G. K., PADMAJA, P., WARRIER, K. G. K. DAMODARAN, A. D. e ARULDHAS, G. **Dehydroxylation and high temperature phase formation in sol-gel boehmite characterized by Fourier transform infrared spectroscopy**. Journal of Materials Science Letters, v. 16, p. 1584-1587, 1997.

PULZ, O. e GROSS, W. Valuable products from biotechnology of microalgae. Applied Microbiology and Biotechnology. v.65, n.6, p.635-648, 2004.

QIN, S.; LIU, G.; HU, Z.Y. The accumulation and metabolism of astaxanthin in *Scenedesmus obliquus* (Chlorophyceae). Process Biochemistry, v. 43, p. 795–802, 2008.

R. ALENEZIA; G.A. LEEKEA; R.C.D. SANTOSA; A.R. KHAN. Hydrolysis kinetics of sunflower oil under subcritical water conditions. Chemical Engineering Research and Design 87 867–873, 2009.

RADMANN, E.M.; COSTA, J.A.V. Conteúdo lipídico e composição de ácidos graxos de microalgas expostas aos gases CO₂, SO₂ e NO. Quim. Nova, v. 31, n. 7, p. 1609-1612, 2008.

RANJAN, A.; PATIL, C.; MOHOLKAR, V.S. Mecanistic assessment of microalgal lipid extraction. Industrial & Enginnering Chemistry Research. India, 49, 2979-2985, 2010.

RATHMANN, R., BENEDETTI, O., PLÁ, J. A., PADULA, A. D. Biodiesel: uma alternative estratégica na matriz energética brasileira, 2007.

REE, R. V; ANNEVELINK, B. Status Report Biorefinery 2007. Agrotechnology and Food Sciences Group. Wagenongen: November, 2007.

REGUERA, F. M.; ARAUJO, L. R.R.; PICARDO, M. C.; BELLO, F.O.; SCOFIELD, C. F.; PASTURA, N. M. R.; GONZALEZ, W. A., **The use of niobium based catalysts for liquid fuel production**, Mat. Res, 7, 343-48, 2004.

REHIM-ABDEL, M. A.; SANTOS, A. C. dos; CAMORIM, V. L. L.; FARO Jr., A. da C. **Acid-base reactions on alumina-supported niobia**. Applied Catalysis A: General, v. 305, n. 2, p. 211-218, 2006. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 16 nov, 2011.

RENAUD, S. M.; LUONG-VAN, T.; LAMBRINIDIS, G. *et al.* Effect of temperature on growth, chemical composition and fatty acid composition of tropical Australian microalgae grown in batch cultures. Aquaculture, v. 211, p. 195-214, 2002.

REVIERS, B. **Biologia e filogenia das algas**. Traducao: Iara Maria Franceschini. 280 p. Porto Alegre: Artmed, 2006.

RICHMOND, A. **Handbook of microalgal culture:biotechnology and applied phycology.** Oxford: Blackwell Science, 2004.

RIGHELATO, R., SPRACKLEN, D. V. Carbon mitigation by biofuels or by saving and restoring forests? <u>www.sciencemag.org/cgi/content/full/317/5840/902/DC1</u>. Science, 317:902, 2007.

RITTNER, H., **Óleo de palma: Processamento e utilização**. 1^{ra} edição. São Paulo, p. 311- 320, 1996.

RODOLFI, L.; ZITTELLI, C.G.; BASSI, N. *et al.* Microalgae for oil: strain selection, induction of lipid synthesis and outdoor mass cultivation in a low cost photobioreactor. Biotechnol. Bioeng., v. 102, n. 1, p. 100-112, 2009.

RODRIGUES, B. W.; CONSTANTINO, A. M. ; CARVALHO, L. G. ;PINTO, P. P. B.; ZOTIN, F. M. Z.; ARANDA, D.G. A. **Esterificação de ácido graxo de palma utilizando catalisadores heterogêneos**. In. Anais do 13° Congresso Brasileiro de Catálise e 3° Congresso de Catálise do Mercosul. v.4. Uberlândia-Brasil,2005.

RONALD HALIM, MICHAEL K. DANQUAH, PAUL A. WEBLEY. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. Biotechnology Advances. Article in press, 2012.

RONCARATI, A. et al. Fatty acid composition of different microalgae strains (Nannochloropsis sp., Nannochloropsis oculata (Droop) Hibberd, Nannochloris atomus Butcher and Isochrysis sp.) according to the culture phase and the carbon dioxide concentration. J. World Aquacu. Soc. 35, 401–411, 2004.

RÖSCH CHRISTINE, SKARKA JOHANNES, WEGERER NADJA. Materials flow modeling of nutrient recycling in biodiesel production from microalgae. Bioresource Technology 107 191–199, 2012.

ROSENBERG JN, OYLER GA, WILKINSON L & BETENBAUGH MJ. A green light for engineered algae: redirecting metabolism to fuel a biotechnology revolution. *Curr. Opin. Biotechnol.* 19:430-436, 2008.

ROUND, F. E. **Biologia das algas**. 2° ed. Guanabara Dois, Rio de Janeiro, 1983. SAJILATA, M.G.; SINGHAL, R.S.; KAMAT, M.Y. **Fractionation of lipids and purification of c-linolenic acid (GLA) from** *Spirulina platensis*. Food Chemistry, v. 109, p. 580–586, 2008.

SANCHES MIRÓN, A., CERÓN GARCIA, M-C., CONTRERAS GÓMEZ, A., GARCIA CAMACHO, F., MOLINA GRIMA, E., CHRISTI, Y. Shear stress tolerant and biochemical characterization of Phaeodactylum tricornutum in quasi steady-state continous culture in outdoor photobioreactors. Biochem. Eng. J. 16: 287-297, 2003.

SÁNCHES, S.; MARTINEZ, M.E.; ESPINOLA, F. Biomass production and biochemical variability of marine microalga *Isochrysis galbana* em relation to culture medium. Biochemical Engineering Journal, v. 6, p. 13-18, 2000.

SANCHEZ E.; K. OJEDA; M. EL-HALWAGI; V. KAFAROV. Biodiesel from microalgae oil production in two sequential esterification/transesterification reactors: Pinch analysis of heat integration. Chemical Engineering Journal 176–177 211–216, 2011.

SANTOS, A.C.B. dos.; GRANGE, P.; FARO Jr., A.C. Effect of support sulphidation on the hydrocracking activity of niobia-supported nickel and molybdenum catalysts. Applied Catalysis A: General, v.178, n. 1, p. 29-38, 1999. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 22 out, 2011.

SANTOS, C. A. P. **Álcool gel: a revolução**. Household & Cosméticos, V. 8, n. 45, 2007. Disponível em: http://www.freedom.inf.br/artigos_tecnicos/20020409/89_90.asp. Acesso em: 24 dec, 2011).

SANTOS, G.M.; MACEDO, R.V.T.; ALEGRE, R.M. Influência do teor de nitrogênio no cultivo de *spirulina maxima* em duas temperaturas – parte I: alteração da composição da biomassa. Ciênc. Tecnol. Aliment., v. 23, p. 17-21, 2003.

SANTOS, P. S.; SANTOS, H.S.; TOLEDO, S. P. **Standard transition aluminas: electron microscopy studies**. Materials Research, v. 3, n. 4, p. 104-114, 2000. Disponível em: http://www.scielo.br. Acesso em: 06 mar, 2012.

SAQIB SOHAIL TOOR, LASSE ROSENDAHL, ANDREAS RUDOLF. **Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies.** Energy, 36 2328-2342, 2011.

SARAIVA, I. J. **Case study: produção de etanol**. In: _____. Custos e impactes ambientais no projecto de processos químicos. Coimbra, Portugal: DEQFCTUC, 2003. Cap. 6. Disponível em: http://www.eq.uc.pt/ines/seminario/ciappq08.html. Acesso em: 01 jan, 2012.

SCARLAT, N., DALLEMAND, J. F., PINILLA, F. G. Impact on agricultural land resources of biofuelsproduction and use in the European Union. International Conference and Exhibition on Bioenergy. University of Minho, Guimarães, Portugal. 10pp, 2008.

SCHMAL, M.; MENDES, F.M.T.; PEREZ, C.A.; SOARES, R.R.; NORONHA, F.B. **Ammonium complex of niobium as a precursor for the preparation of Nb₂O₅/Al₂O3.** Catalysis Today, v.78, n. 1-4, p.449-458, 2003. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 14 mar, 2011.

SHACKELFORD, J. F. Introduction to materials science for engineers. New York: MacMillan, 600, 1992.

SHAKEEL A. KHAN; RASHMI, MIR Z; HUSSAIN, S. PRASAD; U.C. BANERJEE **Prospects of biodiesel production from microalgae in India**. Renewable and Sustainable Energy Reviews 13 2361–2372, 2009.

SHARP, C. A., HOWELL, S. A., JOBE, J. The effets of biodiesel fuels on transient emissions from modern diesel engines. Part II Unregulated emissions and chemical characterization. SAE Technical Paper. 1-1968, 2000.

SHEEHAN, J., CAMOBRECO, V., DUFFIELD, J., GRABOSKI, M., SHAPOURI, H. **An overview of biodiesel and petroleum diesel life cycles**. Report of National Renewable Energy Laboratory (NREL) and US-Department of Energy (DOE). Task No. BF886002, 1998.

SHENG-YI, C.; CHIEN-YA, K.; MING-TA, T.; SEOW-CHI. N, O.; CHIUN-HSUN, C.; CHIH-SHENG, L. Lipid accumulation and CO₂ utilization of Nannochloropsis oculata in response to CO₂ aeration. Bioresource Tehnology. Taiwan, 100, 883-838, 2009.

SHI WENYING; BENQIAO HE; JIANXIN LI. Esterification of acidified oil with methanol by SPES/PES catalytic membrane. Bioresource Technology 102 5389–5393, 2011.

SHI, H; BAO, Z. Direct preparation of biodiesel from rapeseed oil leached by twophase solvent extration. Bioresource Technology; v.99:9025-9028, 2008.

SHIMIZU, Y. Microbial metabolism. Curr.Opin.Microbiol., 6: 236-243, 2003.

SHREVE, R. N.; BRINK Jr., J. A. Indústria de processos químicos. Rio de Janeiro: Guanabara Dois, 717p. 140, 1980.

SHUCHARDT, U., SERCHELI, R., VARGAS, M. Transesterification of vegetable oils: a review. J.Braz. Chem. Soc., 9: 199-210, 1998.

SILVA, C. L. T. DA; CAMORIM, V. L. L.; ZOTIN, J. L.; PEREIRA, M. L. R. D.; FARO Jr., A. da C. Surface acidic properties of alumina-supported niobia prepared by chemical vapour deposition and hydrolysis of niobium pentachloride. Catalysis Today, v.57, n. 3-4, p. 209-217, 2000. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 22 out, 2011.

SILVA, J. B.; RODRIGUES, J. A. J.; NONO, M. C. A. Caracterização de materiais catalíticos. São José dos Campos: INPE, 66p. (INPE-15252-PUD/198), 2006.

SOARES, D. Avaliação do crescimento celular e da produtividade de lipídeos de microalgas marinhas em diferentes regimes de cultivo. 107f. Disertassao de Mestrado, Departamento de Bioquímica e Biología Molecular, UFPR, Curitiba, PR, Brasil, 2010.

SONG CHENGCAI; YONGQIN QI; TIANSHENG DENG; XIANGLIN HOU; ZHANGFENG QIN. Kinetic model for the esterification of oleic acid catalyzed by zinc acetate in subcritical methanol. Renewable Energy 35 625–628, 2010.

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

STEVEN M. HEILMANM, LINDESEY R. JADER, LAURIE A. HARNED, MICHAEL J. SADOWSKY, FREDERICK J. SCHENDEL, PAUL A. LEFEBRE, MARC G. VON KEITZ, KENNETH J. VALENTAS. Hydrothermal carbonization of microalgae II. Fatty acid, char, and algal nutrient products. Journal of Applied Energy 88 3286–3290, 2011.

STEVEN M. HEILMANN, H. TED DAVIS, LINDSEY R. JADER, PAUL A. LEFEBVRE, MICHAEL J. SADOWSKY, FREDERICK J. SCHENDEL, MARC G. VON KEITZ, KENNETH J. VALENTAS. Hydrothermal carbonization of microalgae. Biomass and Bioeergy. 3 4875-882, 2010.

SU, C.H., FU, C.C., GOMES, J., CHU, I.M., WU, W.T. A heterogeneous acidcatalyzed process for biodiesel production from enzyme hydrolyzed fatty acids. Aiche Journal 54 (1), 327–336, 2008.

SUN, Q.; FU, Y.; YANG, H.; AUROUX, A.; SHEN, J. Dehydration of methanol t imethyl ether over Nb₂O₅ and NbOPO₄ catalysts: microcalorimetric ant FT-IR studies. ;Journal of Molecular Catalysis A: Chemical, v. 275, n. 1-2, p. 183-193, Sept. 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 20 set, 2011.

SURESH, B.; RAVISHANKAR, G. A. Phytoremediation a novel and promising approach for environmental clean-up. Crit.Rev.Biotechnol., 24: 97-124, 2004.

TABERNERO ANTONIO; MARTÍN DEL VALLE EVA M., GALÁN MIGUEL A. Evaluating the industrial potential of biodiesel from a microalgae heterotrophic culture: Scale-up and economics. Biochemical Engineering Journal, Article in Press, 2011.

TAKAGI, M.; KARSENO, YOSHIDA, T. Effect of salt concentration on intracelular accumulation of lipids and triacylgliceris In marine microalgae Dunaliella cell. Journal of Bioscience and Bioengeneering, 101(3): 223-226, 2006.

TAKAYUKI TAKESHITA. Competitiveness, role, and impact of microalgal biodiesel in the global energy future. Applied Energy 88 3481–3491, 2011.

TANABE, K. **Catalytic application of niobium compounds**. Catalysis Today, v.78, n. 1-4, p. 65-77, 2003. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 04 de janeiro 2012.

TANABE, K.; OKASAKI, S. Various reactions catalyzed by niobium compounds and materials. Applied Catalysis A: General, v.133, n. 2, p. 191- 218, 1995. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 02 de janeiro, 2012.

TAPANES, NEYDA de la CARIDAD. **Produção de biodiesel a partir da transesterificação de óleo de pinhão manso (***jatropha curcas* **lin): estudo teórico e experimental.** Tese de doutorado. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2008.

TAVARES, E. Nióbio- a riqueza que o Brasil precisa. Revista Deciframe. Disponível em: http://www.mamore.net/port/niobio.htm> Acesso em: 02 dejaneiro, 2012.

TEIXEIRA, C. Um Novo Sistema de Cultivo de Microalgas para a Produção de Biodiesel. INT. Rio de Janeiro, 2007

TEIXEIRA, C.M.; MORALES. M.E. **Microalgas como matéria prima para a produção de biodiesel**. Anais do I Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia do Biodiesel. P.91-96, 2006

TESSER, R., CASALE, L., VERDE, D., DI SERIO, M., SANTACESARIA, E. Kinetics and modeling of fatty acids esterification on acid exchange resins. Chemical Engineering Journal 157 (2-3), 539–550, 2010.

TESSER, R., DI SERIO, M., GUIDA, M., NASTASI, M., SANTACESARIA, E. Kinetics of oleic acid esterification with methanol in the presence of triglycerides. Industrial & Engineering Chemistry Research 44 (21), 7978–7982, 2005.

TETTENHORST, R.; HOFMANN, D. A. Crystal chemistry of boehmite. Clays and Clay Minerals, v. 28, n. 5, p. 373-380, 1980.

THOMPSON JR GA Lipids and membrane function in green algae. Biochim Biophys Acta. 1302: 17-45, 1996.

TONON, T.; HARVEY, D.; LARSON, T.R. *et al.* Long chain polyunsaturated fatty acid production and partitioning to triacylglycerols in four microalgae. Phytochemistry, v. 61, p. 15-24, 2002.

TOOR, S.S.; ROSENDAHL, L.; RUDOLF, A. Hydrothermal liquefaction of biomass: A review of subcritical water technologies. Energy 36 2328e2342, 2011.

TSHUKAHARA, K.; SAWAYAMA, S.; Liquid fuel production using microalgae. Official Of Japan Petroleum Institute, 48 (5), 251, 2005.

TZOVENIS, I.; FOUNTOULAKI, E.; DOLAPSAKIS, N. *et al.* Screening for marine nanoplanktic microalgae from Greek coastal lagoons (Ionian Sea) for use in mariculture. J. Appl. Phycol., v. 21, p. 457-469, 2009.

U.S. DEPARTMENT OF ENERGY. **International Energy Outlook**. Energy Information Administration. Washington, D.C., USA, 2005.

UMDU, E.; TUNCER, E. M.; SEKER, E. Transesterification of Nannochloropsis oculata microalga's lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts. Bioresource Technology 100 2828–2831, 2009.

USHIKUBO, T. Recent topics of research and development of catalysis by niobium and tantalum oxides. Catalysis Today, v.57, n. 3-4, p. 331-338, 2000. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 11 set, 2011.

USHIKUBO, T.; KOIKE, Y.; WADA, K.; XIE, L.; WANG, D.; GUO, X. Study of the structure of niobium oxide by X-ray absorption fine structure and surface science techniques. Catalysis Today, v. 28, n. 1-2, p. 59-69, 1996. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 12 janeiro, 2012.

VAISHAMPAYAN, A., SINHA, R. P., HADER, D. P., DEY, T., GUPTA, A. K., BHAN, U., RAO, A. L. **Cyanobacterial biofertilizers in rice agricultura**. BotRev., 67: 453-516, 2001.

VALENZUELA-ESPINOZA, E.; MILLÁN-NÚÑEZ, R.; NÚÑEZ-CEBRERO, F.; Protein, carbohydrate, lipid and chlorophyll *a* content in *Isochrysis* aff. *galbana* (clone TIsso) cultured with a low cost alternative to the f/2 medium. Aquacultural Engineering, v. 25, p. 207–216, 2002.

VÁZQUEZ-DUHALT R & GREPPIN H. Growth and production of cell constituents in batch cultures of *Botryococcus sudeticus*. Phytochem. 26:885-889, 1987.

VÉDRINE, J.C.; COUDURIER, G.; OUQOUR, A.; PRIES DE OLIVEIRA, P.G.; VOLTA, J.C. Niobium oxide based materials as catalysts for acidic and partial oxidation type reactions. Catalysis Today, v. 28, n. 1-2, p. 3-15, 1996. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 22 out, 2011.

VELJKOVIC['], V.B.; LAKIC[']EVIC['], S.H.; STAMENKOVIC['], O.S.; TODOROVIC['], Z.B.; LAZIC['], M.L. **Biodiesel production from tobacco (Nicotiana tabacum L.) seed oil with a high content of free fatty acids**. p. 1-5. Fuel. Leskovac -Serbia and Montenegro, 2006.

VIEIRA, L. L. C **Extração e caracterização dos lipídeos da microalga** *Chlorella pyrenoidosa* **visando à produção de ésteres graxos**. Tese de Mestrado. Universidade Federal do Rio Grande - Escola de Química e Alimentos - Programa de pós-graduação em Química Tecnológica e Ambiental, 2010.

WACHS, I. E.; BRIAND, L. E.; JEHNG, J.M.; BURCHAM, L.; GAO, X. Molecular structure and reactivity of the group V metal oxides. Catalysis Today, v.57, n. 3-4, p. 323-330, 2000. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 14 mar, 2011.

WAHLEN BD, WILLIS RM, SEEFELDT LC. Biodiesel production by simultaneous extraction and conversion of total lipids from microalgae, cyanobacteria, and wild mixedcultures. Bioresource Technology;102:2724–30, 2011.

WEISSMAN, J. G. Niobia-alumina supported hydroprocessing catalysts: relationship between activity and support surface acidity. Catalysis Today, v.28, n. 1-2, p. 159-166, 1996. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 22 out, 2011.

WILLIS, W. M.; LENCKI, R. E.; MARANGONI, A. G. Lipid modification strategies in the production of nutritionally functional fats and oils. Criticals Reviews in Food Science and Nutrition, Cleveland, v. 38, p. 639-674, 1998.

WOODS, V.B.; FEARON, A.M. Dietary sources of unsaturated fatty acids for animals and their transfer into meat, milk and eggs: A review. Livestock Science, v. 126, p. 1–20, 2009. WORLD BANK. Annual Review of Development effectiveness. ISBN 0-8213-6303-4 http://www.publications.worldbank.org/.2004.

WU LI FEN; PEI CHUNG CHEN; AI PING HUANG; CHI MEI LEE **The feasibility of biodiesel production by microalgae using industrial wastewater.** Bioresource Technology. Article in Press, 2012.

XIAO, Y., GAO, L.J., LV, J.H., XIAO, G.M. Kinetics of the transesterification reaction catalyzed by solid base in a fixed-bed reactor. Energy & Fuels 24, 5829–5833, 2010.

XU, H.; MIAO, X.; WU, Q. **High quality biodiesel production from a microalga** *Chlorella protothecoides* **by heterotrophic growth in fermenters.** Journal of Biotechnology, v. 126, p. 499–507, 2006.

XU, L.; YANG, X.; YU, X.; GUO, Y.; MAYNURKADER. Preparation of mesoporous polyoxometalate-tantalum pentoxide composite catalyst for efficient esterification of fatty acid, Catalysis Communications, 9, 1607–1611, 2008.

YANG, K, H. and HOUGEN, O. A. Determination of Mechanism of Catalyzed Gaseous Reactions. Chemical Engineering Progress, v. 46, n. 3, p.146-157, 1950.

YANG, L, LAI, C-T., SHIEH, W. K. Biodegradation of dispersed diesel fuel under high salinity condition. Water Research, 34: 3303-3314, 2000.

YANG, X.; SUN, Z.; WANG, D.; FORSLING, W. Surface acid-base properties and hydration/dehydration mechanisms of aluminum (hydr)oxides. Journal of Colloid and Interface Science, v. 308, n. 2, p. 395–404, Apr. 2007. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 04 fev, 2012.

YONEDA, N.T. **Plâncton**. Centro de Estudos do Mar, Universidade Federal do Paraná. Pontal do Paraná, PR. 29p, 1999.

YOO, C., JUN, S.Y., LEE, J.Y., AHN, C.Y., OH, H.M. Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. Bioresource Technol. 101, S71–S74, 2010.

YOO, C.; JUN, S.Y.; LEE, J.Y. Selection of microalgae for lipid production under high levels carbon dioxide. Bioresource Technology, v. 101, p. 71-74, 2010.

ZHANG, Y., DUBE, M. A., MCLEAN, D. D., KATES, M., **Biodiesel production from waste cooking oil: 1- Process desing and technological assessment**. Bioresource technology, 89: 1-16, 2003.

ZHEN-CHEN, T, DING-HUA YU, PENG SUN, HENG LI AND HE HUANG. Phosphoric Acid Modified Nb₂O₅: A Selective and Reusable Catalyst for Dehydration of Sorbitol to Isosorbide. Bull. Korean Chem. Soc., Vol. 31, No. 12 3679, 2010.

ZIOLEK, M. Niobium – containing catalysts – the state of the art. Catalysis Today, v.78, n. 1-4, p. 47-64, 2003. Disponível em: http://www.sciencedirect.com. Acesso em: 23 novembro, 2011.

ZITTELLI, G.C.; LAVISTA, F.; BASTIANINI, A.; RODOLFI, N.; VINCENZINI, M.; TREDECI, M.R. **Production of eicosapentaenoic acid by Nannochloropsis sp. Cultures in outdoor tubular photobioreactors**. Journal of Biotechnology. Ttaly, 70, 299-312, 1999.

ZITTELLI, G.C.; RODOLFI, L.; TREDECI, M.R. Industrial production of microalgal cellmass and secondary products-species of high potential. Mass cultivation of *Nannochloropsis* in closed systems. In RICHMOND, A. Handbook of Microalgal Culture: Biotechnology and Applied Phycology. Oxford: Blackwell Publishing. P.298-303, 2004.

ZOU, N.; ZHANG, C.; COHEN, Z.; RICHMOND, A. Production of cell mass and eicosapentaenoic acid (EPA) in ultrahigh cell density cultures of *Nannochloropsis sp.* (*Eustigmatophyceae*). European Journal of Phycology. 35: 2, 127-133, 2000.