

CENTRO PAULA SOUZA
Etec “CEL. FERNANDO FEBELIANO DA COSTA”
Curso Técnico em Química

Anna Júlia Chiaranda
Isabella Paschoal
Leticia Ramiro Marçal
Maria Letícia Natividade

PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DO ÓLEO DE MICROALGAS

Piracicaba

2024

Anna Júlia Chiaranda
Isabella Paschoal
Leticia Ramiro Marçal
Maria Letícia Natividade

PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DO ÓLEO DE MICROALGAS

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Curso Técnico em Química da ETEC Cel. Fernando Febeliano da Costa, orientado pelo Prof. Ulisses Ap. Camargo Rosa, como requisito parcial para obtenção do título de Técnico em Química.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Josinei Venâncio Cordeiro – Coordenador de Área

Prof. Ulisses Ap. C. Rosa – Presidente da Banca

Prof. Dr. Felisberto Gonçalves Santos Junior – Examinador

Piracicaba

2024

DEDICATÓRIA

Dedicamos este trabalho ao nosso professor orientador Ulisses Aparecido Camargo Rosa, por todo incentivo, ajuda e paciência com o grupo.

AGRADECIMENTOS

Demonstramos nossa apreciação e agradecimentos a todos os profissionais e colegas do curso de Técnico em Química da Escola Técnica "CEL. FERNANDO FEBELIANO DA COSTA", por todo o suporte que nos ofereceram durante a execução de nosso projeto.

Agradecemos à empresa do município de Charqueada – SP *Science in Agrochemicals*, pela colaboração com o trabalho e fornecimento da cepa de microalgas.

Agradecemos ao Auxiliar Docente da escola ETEC “Cel. Fernando Febeliano da Costa” Técnico em Química André Luís Cera por disponibilizar seu tempo para que conseguíssemos realizar o projeto corretamente e com segurança.

RESUMO

Este Trabalho de Conclusão de Curso teve como objetivo avaliar o potencial das microalgas na produção de biodiesel, analisando a viabilidade técnica e econômica deste biocombustível alternativo e sustentável. A pesquisa foi conduzida utilizando uma abordagem experimental, com a utilização de diferentes espécies de microalgas em condições distintas.

Os resultados bibliográficos mostraram que as microalgas possuem um alto teor de lipídios, tornando-as uma fonte promissora para a produção de biodiesel em alta escala. Porém, decorrente das análises laboratoriais, infere-se que a produção em escalas menores é dificultada. A análise econômica indicou que, apesar dos altos custos iniciais de cultivo e extração, a produção de biodiesel de microalgas em macroescala pode se tornar plenamente viável e competitiva com o avanço das tecnologias de produção e a economia.

As conclusões deste estudo sugerem que as microalgas têm um grande potencial como fonte sustentável de biodiesel (energia verde), contribuindo para a redução da dependência de combustíveis fósseis e diminuição das emissões de gases de efeito estufa, porém é inviável realizá-la em escala laboratorial.

Palavras-chave: Biocombustíveis. Biodiesel. *Chlorella*. Energia Verde. Microalgas. *Raphidocelis subcapitata*. Sustentabilidade.

ABSTRACT

This course completion work aims to evaluate the potential of microalgae in the production of biodiesel, analyzing the technical and economic viability of this alternative and sustainable biofuel. The research was conducted using an experimental approach, using different species of microalgae under different conditions.

The bibliographical results showed that microalgae have a high lipid content, making them a promising source for large-scale biodiesel production. However, from laboratory analyses, it appears that production on a smaller scale is difficult. The economic analysis indicated that, despite the high initial costs of cultivation and extraction, the macro-scale production of biodiesel from microalgae can become fully viable and competitive with the advancement of production technologies and the economy.

The conclusions of this study suggest that microalgae have great potential as a sustainable source of biodiesel (green energy), contributing to reducing dependence on fossil fuels and reducing greenhouse gas emissions, but it is unfeasible to carry it out on a laboratory scale.

Keywords: Biofuels. Biodiesel. *Chlorella*. Green Energy. Microalgae. *Raphidocelis subcapitata*. Sustainability.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 01 - Ilustração de Lagoa de Raceway.....	20
Figura 02 – Fotobiorreator.....	21
Figura 03 - Ilustração de crescimento vertical.....	21
Figura 04 - Reação de transesterificação.....	24
Figura 05 - Fluxograma de produção de Biodiesel.....	25
Figura 06 - Reação de craqueamento.....	25
Figura 07 - Reação de transesterificação.....	30
Figura 08 - Visão do microscópio na lente 40X e 10X respectivamente.	33
Figura 09 - Preparação do meio de cultura.....	34
Figura 10 - Autoclavagem dos materiais.....	35
Figura 11 - Vertedura dos meios de cultura.....	35
Figura 12 - Placas de cultivo dentro da capela.....	36
Figura 13 - Extração no aparelho Soxhlet.....	37
Figura 14 - Quantidade de microalgas recebidas.....	38
Figura 15 - Placa de Petri após 02 semanas de cultivo.....	39
Figura 16 - Incubadora para D.B.O.....	41

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	10
1.1. Justificativas	10
1.2. Hipóteses	10
1.3. Problematização.....	11
2. OBJETIVOS	12
2.1. Objetivo geral	12
2.2. Objetivos específicos	12
3. DESENVOLVIMENTO	13
3.1. Referencial teórico	13
3.1.1. Microalgas	13
3.1.2. Diesel	16
3.1.3. Biodiesel.....	18
3.1.4. Processos de cultivo das microalgas e obtenção do Biodiesel	18
3.1.5. Lagoas de cultivo de microalgas e seus tipos	19
3.1.6. Obtenção do biodiesel.....	22
3.1.7. Reação de transesterificação	23
3.1.8. Craqueamento ou Pirólise	25
3.1.9. Comparativo com outras fontes de biodiesel.....	27
3.1.10. Microalga espécie <i>Raphidocelis subcapitata</i>	28
3.1.11. Microalga espécie <i>Chlorella</i>	28
3.2. Metodologia.....	29
3.2.1. Método de Soxhlet	29
3.2.2. Método de Transesterificação	30
3.3. Materiais e reagentes	32
3.3.1. Materiais.....	32
3.3.2. Reagentes	32
3.4. Procedimento experimental.....	33
3.4.1. Cultivo	33
3.4.2. Extração do óleo	36
3.5. Resultados e discussões.....	38
4. CONCLUSÃO	42
REFERÊNCIAS.....	43

1. INTRODUÇÃO

1.1. Justificativas

O biodiesel proveniente de microalgas é um tema crucial e promissor devido a várias razões fundamentais. Primeiramente, o crescente interesse em fontes renováveis de energia e a necessidade de reduzir as emissões de gases de efeito estufa tornam imperativo o desenvolvimento de fontes de biocombustíveis sustentáveis. As microalgas apresentam um potencial significativo nesse contexto, pois possuem altas taxas de crescimento e elevada capacidade de produção de óleos ricos em ácidos graxos, que podem ser convertidos em biodiesel de alta qualidade.

Algumas das vantagens do uso desse tipo de biodiesel incluem o fato de que as algas não são muito usadas como fonte de alimento, como é visto acontecendo com o milho, soja, entre outras fontes de óleos vegetais. Assim, o uso das algas pode ser uma solução para se produzir biodiesel em larga escala, já que pode minimizar bastante o impacto sobre a produção de alimento. (FOGAÇA, 2014).

As microalgas apresentam um alto rendimento, podendo ter em sua composição altos teores de óleo, podendo chegar a 80 % de óleo por peso seco. Elas podem produzir pelo menos 30 vezes mais energia por hectare do que as culturas terrestres. Em condições favoráveis, pode-se produzir 137.000 litros de óleo de microalga por hectare por ano. (FOGAÇA, 2014).

1.2. Hipóteses

É essencial analisar as condições e potencialidades das algas como alternativa para a produção de biocombustíveis. As algas apresentam um bom rendimento lipídico e podem ser cultivadas em áreas menores em comparação com outras matérias-primas do mesmo setor. Além disso, têm a vantagem de poderem ser cultivadas em ambientes de água salgada ou doce, sem gerar impactos significativos na agricultura, como ocorre com a soja, por exemplo.

No entanto, apesar do potencial promissor das microalgas para a produção de biodiesel, existem desafios tecnológicos e econômicos que precisam ser abordados, como otimização do cultivo, eficiência de extração de óleo e viabilidade econômica em larga escala. Investigar essas questões e explorar o potencial das microalgas

como fonte de biodiesel pode contribuir significativamente para a pesquisa e desenvolvimento de alternativas energéticas sustentáveis e ecologicamente viáveis.

O biodiesel de algas vem despontando como uma alternativa energética, pois além de serem renováveis, as algas têm grande produtividade e não são usadas. O petróleo, por não ser renovável, polui muito o meio ambiente e suas principais fontes situam-se em zonas de conflito (Oriente Médio), o que gera tensões políticas e econômicas, bem como ocasiona muitas oscilações em seus preços. Dessa forma, torna-se cada vez maior a necessidade de se pesquisar e viabilizar fontes alternativas para produção de combustíveis. (FOGAÇA, 2014).

1.3. Problematização

No caso do biodiesel de microalgas, o maior obstáculo é a matéria prima, seja a obtenção ou o cultivo. Isso se deve, pois, o custo da biomassa é mais dispendioso do que para vegetais terrestres (por exemplo, a soja). Há diversos obstáculos para se manter as espécies: é necessário que haja o controle da acidez do meio de cultivo, fornecer adequadamente os nutrientes, manter a temperatura e luz constante demandadas por cada espécie.

Os métodos de extração também são custosos, muitas vezes com alto consumo de solventes, e ainda há muita dificuldade em se desidratar a alga para a devida extração.

Somando os fatores citados acima, entra em conjunto a dificuldade em se produzir em pequena escala, já que é necessária uma grande quantidade de microalgas para garantir uma quantidade suficiente de óleo para a produção do biodiesel. Isso afeta o avanço e o desenvolvimento das pesquisas, tornando todo o processo muito caro, pois no cenário mundial atual a produção de biodiesel a partir de microalgas ainda está na fase de estudos.

2. OBJETIVOS

2.1. Objetivo geral

Produzir biodiesel a partir do óleo extraído de microalgas.

Verificar a viabilidade técnica e econômica da produção de biodiesel de microalgas em escala laboratorial.

2.2. Objetivos específicos

Investigar por meio de estudos bibliográficos a viabilidade técnica, econômica e ambiental da produção de biodiesel a partir de microalgas.

Cultivar no laboratório a espécie de microalga escolhida, e extrair seu óleo.

Desenvolver, de acordo com as metodologias mais adequadas, o biodiesel, utilizando-se o óleo extraído.

Realizar testes e análises laboratoriais para determinar a qualidade do biodiesel produzido.

3. DESENVOLVIMENTO

3.1. Referencial teórico

3.1.1. Microalgas

As algas utilizadas para a produção de biodiesel são as unicelulares, conhecidas como microalgas. Em sua definição, são microrganismos que vivem em meios aquáticos ou úmidos como lagos, rios, oceanos e solos, e que possuem clorofila ou outro pigmento fotossintético, sendo então capazes de efetuar o processo de fotossíntese oxigênica, onde o gás carbônico é convertido em oxigênio e energia para a espécie (AGROENERGIA, 2016). Podem ser procarióticas (cianobactérias) ou eucarióticas, sendo estas classificadas em algas verdes, algas vermelhas ou diatomáceas.

As microalgas são um grupo de organismos extremamente heterogêneos e seus critérios para classificação são muito diversificados. Precisam ser organismos pequenos, preferencialmente microscópicos, unicelulares, porém, podendo ser colonial com pouca ou nula diferenciação celular, coloridos, que vivam em meio aquático (com exceções, podem estar presentes em folhas ou caules de outras plantas ou formar líquens em simbiose com fungos), sendo fotoautotróficos (obtendo seus próprios nutrientes com a ajuda da luz do sol), mas não necessariamente o tempo todo (OLAIZOLA, 2003).

Devido a sua grande diversidade, as microalgas há muito tempo vêm sendo utilizadas em diversas aplicações, atuando na indústria farmacêutica como suplementos nutritivos, na indústria alimentícia, e indústria química. Além dessas aplicações ambientais que envolvem a biofertilização nas produções agrícolas, atuação na biorremediação de sistemas aquáticos contaminados, e por possuírem grande capacidade de produção de óleos, as microalgas estão sendo amplamente aplicadas em processos de obtenção de biocombustíveis.

As vantagens da utilização da biomassa de microalgas são diversas. Elas possuem elevadas taxas de produtividade, em comparação com outras culturas convencionais, pois o cultivo não demanda áreas extensivas de produção, ele pode ser feito em áreas não agricultáveis e acontece muito rapidamente, pois os ciclos de crescimento das algas são completos em poucos dias. As espécies necessitam basicamente de água (tal qual não demanda grande pureza, podendo ser doce,

salgada, salobra ou até mesmo residual), luz solar, dióxido de carbono (CO₂), e nutrientes simples. O crescimento pode ser acelerado com a adição de nutrientes específicos e aeração controlada (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010), além do mais, não há sazonalidade para o cultivo, colheita ou processamento.

A biomassa das microalgas é composta basicamente por três macromoléculas: proteínas, carboidratos e lipídios. Para a produção de biodiesel, são utilizados como matéria prima os lipídios, extraídos das microalgas, e eles garantem um rendimento próximo a 100 %, tornando a produção muito eficiente (MONÇÃO, 2015). As espécies podem ser induzidas a acumular lipídios para aumentar o rendimento do óleo. O conteúdo lipídico varia de 1 a 70 % em peso seco, podendo atingir até 90 %, conforme a tabela abaixo (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Tabela 01 - Comparação de espécies de microalgas

Espécies de microalgas marinhas e de água doce	Conteúdo lipídico (% de peso seco de biomassa)	Produtividade lipídica (mg/L/dia)
<i>Botryococcus braunii</i>	25,0–75,0	--
<i>Chaetoceros muelleri</i>	33,6	21,8
<i>Chlorella emersonii</i>	25,0–63,0	10,3–50,0
<i>Chlorella protothecoides</i>	14,6–57,8	1214
<i>Chlorella sorokiniana</i>	19,0–22,0	44,7
<i>Chlorella vulgaris</i>	5,0–58,0	11,2–40,0
<i>Chlorella</i> sp.	10,0–48,0	42,1
<i>Chlorococcum</i> sp.	19,3	53,7
<i>Dunaliella salina</i>	6,0–25,0	116,0
<i>Dunaliella</i> sp.	17,5–67,0	33,5
<i>Nannochloris</i> sp.	20,0–56,0	60,9–76,5
<i>Nannocloropsis oculata</i> .	22,7–29,7	84,0–142,0
<i>Nannocloropsis</i> sp.	12,0–53,0	37,6–90,0
<i>Neochloris oleoabundans</i>	29,0–65,0	90,0–134,0
<i>Pavlova salina</i>	30,9	49,4
<i>Pavlova Lutero</i>	35,5	40,2
<i>Cenadesmus</i> sp.	19,6–21,1	40,8–53,9
<i>Thalassiosira pseudonana</i>	20,6	17,4
<i>Tetraselmis suecica</i>	8,5–23,0	27,0–36,4
<i>Tetraselmis</i> sp.	12,6–14,7	43,4

Fonte: Adaptado de MATA et al, 2010.

De acordo com a tabela 01, o teor de conteúdo lipídico em peso seco pode atingir 75 %, como é visto na espécie *Botryococcus braunii*, porém esse valor está atrelado a uma baixa produtividade, o que inviabiliza a utilização desse espécime. Em espécies mais comuns, os valores variam de 10 a 50 % de óleo, mas em compensação a produtividade é mais alta, sendo a maior delas observada na espécie *Chlorella protothecoides*.

A espécie *Chlorella*, a primeira utilizada nos estudos de produção de biodiesel, é uma ótima opção para esse uso. Entretanto, é necessário considerar outros importantes fatores para se escolher a espécie mais adequada. Tais fatores envolvem a capacidade das microalgas de se desenvolverem considerando as condições ambientais e nutricionais disponíveis ou específicas, a composição dos ácidos graxos na biomassa, e as condições de coleta, extração e purificação do óleo (MATA; MARTINS; CAETANO, 2010).

Paralelamente ao estudo da utilização das microalgas para produzir o biodiesel, também é investigada a eficiência das macroalgas, espécies pluricelulares de algas, para o mesmo objetivo. Porém, há muitas controvérsias ao se discutir sobre sua aplicação, já que diferentemente das microalgas, as macroalgas apresentam baixas quantidades de óleo em sua extração e este óleo não é apropriado para este uso. Apesar disso, ainda trazem vantagens econômicas e ambientais sobre outras fontes de produção de biomassa, pois os métodos de cultivo e extração de óleos e lipídios são os mesmos aplicados para as microalgas. Portanto, mesmo não sendo uma alternativa muito interessante, não se pode descartar totalmente a possibilidade de usá-las como matéria prima para biocombustíveis.

Pesquisas apontam que o Brasil possui condições edafoclimáticas¹ e de diversidade de espécies, excepcionalmente favoráveis para que as microalgas se tornem uma das maiores fontes de biocombustível no país. Segundo o Coordenador de Inovações em Tecnologias Setoriais do Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovação e Comunicações (MCTIC) Rafael Menezes: “O Brasil tem área, sol e água e uma grande diversidade de algas que podem atender a diversas demandas”. (AGROENERGIA, 2016).

¹ Relativo ao solo e clima, definido por fatores como relevo, umidade do ar, tipo de solo, temperatura, entre outros.

O principal fator que preocupa a viabilidade na utilização desses microrganismos é sua baixa eficiência fotossintética, em comparação com outros vegetais aquáticos. As microalgas possuem centros de captação de luz solar, que funcionam como “antenas”, onde os pigmentos (como a clorofila) absorvem a energia luminosa, que é usada para produzir energia e carboidratos por meio da fixação de CO₂. Ao serem expostas a uma grande quantidade de luz, essas antenas ficam saturadas e não conseguem absorver eficientemente os fótons, prejudicando a transferência de elétrons e a fixação de carbono. Para aumentar a taxa de fotossíntese é possível modificar geneticamente o tamanho dessas antenas de captação, diminuindo ou aumentando a quantidade de pigmentos, de forma a melhorar a fixação de carbono e produzir maior quantidade de moléculas orgânicas, como os carboidratos, que são transformados em proteínas, aminoácidos e, principalmente, em óleos (ALISSON, 2014).

Portanto, sabendo da facilidade de se cultivar, e o fato de que as microalgas não são utilizadas como fonte direta de alimento, nem abastecimento, e sua capacidade de sequestrar carbono da atmosfera, ajudando no controle dos gases do efeito estufa (GEE), essa é uma alternativa de matéria prima altamente viável e atraente para a produção de biodiesel.

3.1.2. Diesel

O diesel é um combustível pouco volátil e inflamável obtido através do petróleo, utilizado principalmente em motores a diesel, como de caminhões e de algumas caminhonetes. É conhecido por sua alta eficiência energética, e por conta disso ele também possui aplicações na geração de energia. Porém, por ele ser um combustível fóssil, quando queimado o diesel libera poluentes no ar, como os gases de efeito estufa, sendo eles, principalmente, o dióxido de carbono (CO₂) e monóxido de nitrogênio (NO), e também materiais particulados.

Esses gases liberados contribuem para problemas ambientais, como a formação de chuva ácida e agravamento do aquecimento global. Logo, esse tipo de combustível fóssil precisa ser substituído por combustíveis biodegradáveis, que venham de fontes renováveis e não sejam poluentes. Dessa forma, os biodieseis são

a melhor opção para a redução da emissão gases poluentes e utilização de recursos energéticos renováveis.

Criado no final do século XIX, pelo engenheiro mecânico Rudolf Diesel, em 1893, o combustível diesel ganhou popularidade devido sua eficiência no consumo de combustível e sua aplicação em veículos comerciais e industriais. Ao longo do tempo, o diesel passou por melhorias tecnológicas e se tornou uma fonte importante de energia para caminhões, ônibus, trens e embarcações. Mas também passou por desafios relacionados a poluição, levando a regulamentações mais rigorosas. (Conheça a..., s.d.).

O óleo diesel é um combustível oleoso, obtido pela destilação fracionada do petróleo. Em outras palavras ele é desenvolvido a partir do refino do petróleo bruto. O refino do petróleo é baseado na diferença da temperatura de ebulição (T.E) entre os componentes da mistura. No caso do diesel, sua separação ocorre quando atingida a temperatura de 220 °C a 380 °C. (Produção..., 2024).

E ele é composto por hidrocarbonetos com cadeias de 8 a 16 carbonos e, em menor proporção, nitrogênio, enxofre e oxigênio, podendo mudar a proporção do enxofre. Por conta dessas mudanças de proporção de enxofre ele pode apresentar diferentes composições e tipos, como por exemplo:

- Óleo diesel A: Resultado do processo de refino de petróleo, mas sem a adição de biodiesel;

- Óleo diesel B: É o diesel A, porém com a adição de biodiesel;

- S10: diesel que apresenta 10 mg de enxofre por kg de óleo;

- S50: apresenta 50 mg de enxofre por kg de óleo;

- S500: apresenta 500 mg de enxofre por kg de óleo;

- S1800: apresenta 1800 mg de enxofre por kg de óleo.

Sendo o S10 e o S500 os mais comuns. (DIAS, s.d.).

Atualmente o óleo diesel é produzido no Brasil pela Repar (Refinaria Presidente Getúlio Vargas), no Paraná, com capacidade para processar até 1,6 bilhões de litros por ano (A Petrobrás..., 2023).

3.1.3. Biodiesel

O biodiesel é um combustível biodegradável, produzido a partir de fontes renováveis, como óleos vegetais e gordura animal. Além de não ser tóxico, é pouco poluente, reduz gases de efeito estufa e contribui para a diversificação das matrizes energéticas. Por conta desses fatores, ele é uma alternativa mais sustentável em comparação aos combustíveis fósseis.

O biodiesel também pode ser misturado ao diesel convencional em diferentes proporções. A produção de biodiesel promove a utilização de espécies oleaginosas, como a soja e o óleo de palma, além de outros tipos de biomassas, como as microalgas. Também há avanços na utilização de resíduos, como cascas de frutas (como a laranja e a banana) e óleos de cozinha usados.

Os biocombustíveis são feitos a partir da matéria orgânica transformada em óleos, gorduras e gases que reagem com um álcool primário, metanol ou etanol, gerando dois produtos: o éster e a glicerina. (Biocombustíveis..., 2022)

A história do biodiesel se dá no início do século XX, quando Rudolf Diesel usou óleo de amendoim para alimentar um motor em 1900. O desenvolvimento moderno ganhou destaque nas décadas de 1970 e 1980, impulsionado pela crise energética. O Brasil foi pioneiro com o Programa Nacional do Álcool (Proálcool), enquanto políticas de mistura de biodiesel ao diesel convencional surgiram globalmente no século XXI, visando reduzir emissões de gases tóxicos e promover fontes de energias sustentáveis. (BRASIL, 2006).

Porém o setor de biodiesel está em constante evolução, buscando aprimorar eficiência e sustentabilidade.

3.1.4. Processos de cultivo das microalgas e obtenção do Biodiesel

Cultivos de Microalgas

As microalgas são unicelulares e se reproduzem por mitose. Cada célula se divide em duas células idênticas, resultando em crescimento exponencial. As microalgas crescem usando o mesmo fenômeno fotossintético das plantas. Absorve dióxido de carbono (CO_2) da atmosfera e energia do Sol e os converte em oxigênio. Como resultado, vários tipos de metabólitos, como proteínas, carboidratos, lipídios e,

em menor extensão, carotenoides, clorofila e vitaminas, se acumulam (Cultivo..., 2023).

Em sistemas abertos, as culturas são desenvolvidas principalmente em tanques (cilíndricos, retangulares com fundo oval, ou tipo canal), tanto em ambientes abertos (ao ar livre) quanto em ambientes fechados (dentro de casa). São chamados de sistemas abertos porque parte da cultura (a superfície) está em contato com a atmosfera. Normalmente, os sistemas abertos são sistemas simples nos quais as culturas são desenvolvidas em condições naturais com pouco ou nenhum controle sobre os parâmetros ambientais (luz, temperatura, pH, taxa de umidade etc.). Os tanques geralmente são rasos e feitos de concreto, fibra de vidro, policarbonato, etc. Em maior escala, muitas empresas utilizam tanques com fundo de terra cobertos com material plástico. Os sistemas abertos requerem pouco investimento e são relativamente fáceis de operar. No entanto, existem algumas limitações. (DERNER, 2006).

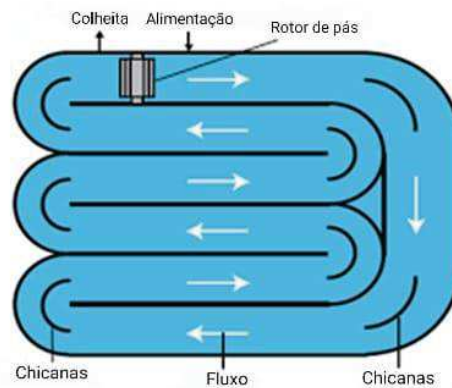
3.1.5. Lagoas de cultivo de microalgas e seus tipos

As lagoas de crescimento são mais comumente usadas para a produção de microalgas. Este método requer grandes áreas de cultivo e a produção depende de luz natural, que varia conforme a época e região. A vantagem da utilização de tanques é que são fáceis de operar e, dependendo da espécie, altamente produtivos.

1. Lagoa de Raceway:

O sistema consiste em uma lagoa com canal de circulação fechado no qual o caldo de microalgas circula e é constantemente misturado por meio de uma roda de pás. A cultura de algas é continuamente alimentada na frente da roda de pás e colhida após passar por todo o ciclo. As lagoas adutoras são mais baratas, mas produzem menos biomassa por unidade de área em comparação com os fotobiorreatores (MUNIZ, s.d.).

Figura 01 - Ilustração de Lagoa de Raceway.



Fonte: (JORQUERA et al, 2012).

2. Fotobiorreatores:

Sistemas fechados, comumente chamados de fotobiorreatores (“PBRs”), fornecem altas taxas de iluminação superficial para cultivo com o objetivo de alcançar alta biomassa e produtividade volumétrica.

Um fotobiorreator tubular consiste em uma série de tubos transparentes chamados coletores solares. Neste sistema, o caldo de algas, acionado por uma bomba mecânica ou por uma bomba de transporte pneumático, é distribuído de forma a garantir a penetração da luz para maximizar o crescimento das algas.

Ao contrário dos tanques, a superfície da cultura em um fotobiorreator não entra em contato com a atmosfera, por isso é chamado de sistema fechado. Diferentes tipos de fotobiorreatores são usados para o cultivo de microalgas. No entanto, os mais comuns são cilindros verticais, placas planas verticais ou horizontais e fotobiorreatores tubulares (bobinas verticais ou horizontais) feitos de plástico, vidro ou tubos de policarbonato. (DERNER, 2006).

As culturas podem ser monitoradas em fotobiorreatores, permitindo o controle das condições de cultivo (densidade celular ou biomassa, concentrações de nutrientes, temperatura, valores de pH, etc.). Outras vantagens incluem o controle das condições hidrostáticas da cultura (fluxo de ar e água, dissolução de gases, etc.), redução da suscetibilidade à contaminação e utilização eficiente dos nutrientes do meio. Por apresentarem altos custos de instalação e operação, os fotobiorreatores foram desenvolvidos com o objetivo de produzir biomassa rica em produtos de alto

valor comercial, que são utilizados como matéria-prima nas indústrias farmacêutica, alimentícia e cosmética. (DERNER, 2006).

Figura 02 – Fotobiorreator.

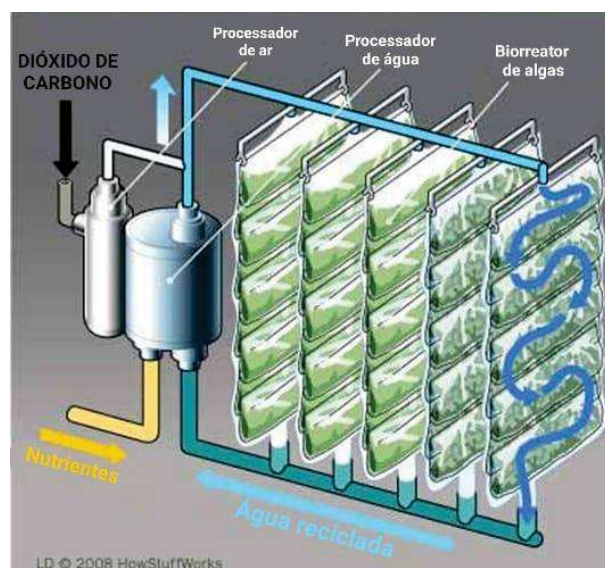


Fonte: (Fotobiorreatores, s.d.).

3. Crescimento Vertical:

O crescimento vertical é outro método desenvolvido por empresas de biocombustível para cultivar microalgas de forma mais eficaz e rápida do que em lagoas abertas. Nesse método, as microalgas são colocadas em sacos plásticos transparentes para que fiquem expostas à luz solar de ambos os lados. Os sacos são empilhados e cobertos para protegê-los da chuva e da poluição. Uma maior exposição à luz solar aumenta a produtividade das algas e, portanto, produção de óleo (MATTHIENSEN, 2022).

Figura 03 - Ilustração de crescimento vertical.



Fonte: Adaptado de (NEWMAN, s.d.).

Comparando os três tipos de produção de microalgas podemos dizer que no processo de cultivo, a lagoa Raceway é mais eficiente economicamente porque os custos de construção e operação são inferiores aos dos fotobiorreatores. Porém, o fotobiorreator apresenta maior rendimento de biomassa, pois o rendimento da lagoa Raceway pode ser afetado por contaminação microbiana ou erros de mistura das lâminas, não fornecendo assim a quantidade necessária de luz.

Considerando os estudos, pode-se analisar que ainda são necessárias pesquisas e melhorias para viabilizar em escala industrial o processo de obtenção de biodiesel derivado de microalgas. Em especial, a etapa de extração precisa ser otimizada e sua relação custo-benefício avaliada, pois inviabiliza o processo devido ao seu alto custo. Os avanços biotecnológicos são importantes para pesquisar as necessidades das microalgas e alcançar condições ideais de cultivo.

3.1.6. Obtenção do biodiesel

O biodiesel é um combustível renovável produzido a partir de óleo vegetal ou gordura animal, na maioria das plantas utilizando o processo metílico (propílicos ou etílicos). A produção de biodiesel requer principalmente três reagentes: óleo ou gordura, um catalisador e álcool (geralmente metanol ou etanol). A transesterificação é a etapa que converte óleos ou gorduras em ésteres de ácidos graxos que formam o biodiesel. Um subproduto da produção de biodiesel é a glicerina, (utilizada principalmente na produção de sabonetes, cosméticos e produtos farmacêuticos). Catalisadores alcalinos, ácidos ou enzimáticos são utilizados na produção de biodiesel. A proporção molar de óleo vegetal ou gordura/álcool e a temperatura de reação têm grande influência na reação de transesterificação. Na obtenção do biodiesel, os métodos de separação, recuperação e purificação estão diretamente relacionados à sua qualidade. O biodiesel de qualidade aceitável também deve ter limites de contaminação satisfatórios, bom desempenho de combustão, de modo que a integridade do motor e a segurança do transporte não sejam afetadas, e estabilidade química durante o armazenamento. (TEBAS et al, 2017).

O óleo extraído de microalgas para produção de biodiesel é caracterizado por suas propriedades únicas em comparação com outras matrizes vegetais. Comparado a outras opções de biocombustíveis, o biodiesel derivado de microalgas, além de

diversos benefícios ecológicos, também apresenta elevada compatibilidade físico-química com as propriedades do diesel derivado de petróleo (por exemplo, número de cetano, viscosidade cinemática). Destaca-se por ser possível utilizá-lo em motores a diesel sem incorrer em custos elevados para ajustes adicionais. O cultivo de microalgas para produção de biodiesel tem se mostrado vantajoso em diversos aspectos, como rápida troca e proliferação celular, e não requer expansão em larga escala para cultivo devido ao seu tamanho microscópico. Composição celular com consumo intensivo de dióxido de carbono e rico teor de óleo.

O cultivo de microalgas para produção de biodiesel mostra-se benéfico em vários aspectos, pois conforme afirma Kochem (2010), esses organismos são microscópicos em tamanho e crescem rapidamente devido à sua estrutura unicelular, sua simplicidade, o que desencadeia a rápida substituição populacional desses organismos devido à suas características microscópicas. Não implica grandes extensões ao seu cultivo; o alto consumo de dióxido de carbono e a composição celular rica em óleo permitem maior aproveitamento da biomassa, pois maiores taxas de fotossíntese permitem a produção de carboidratos complexos, facilitando o crescimento e a multiplicação dessas criaturas. Além disso, deve sublinhar-se que este modelo agrícola não afeta a indústria alimentar porque não cria concorrência por terras aráveis. (Agroenergia..., 2016).

3.1.7. Reação de transesterificação

O biodiesel é produzido pela transesterificação de óleos vegetais e gorduras animais (triglicerídeos) com álcoois primários de cadeia curta (geralmente metanol). Produção de ésteres monoalquílicos a partir de ácidos graxos de cadeia longa e glicerol. Os óleos vegetais produzidos a partir de ácidos graxos de cadeia curta, como o ácido láurico², garantem melhor desempenho do processo devido à sua interação mais eficaz com transesterificações e catalisadores. Esse processo produz glicerina, subproduto nobre e de alto valor agregado. Depois de purificado, possui valor de mercado superior ao do biodiesel para aplicações nos setores farmacêutico e químico. (JARDINE, 2021).

² Ácido láurico ou ácido dodecanoico; um ácido graxo de fórmula $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}\text{COOH}$.

Para ser utilizado, o biodiesel deve ser de alta pureza, isento de quaisquer vestígios de glicerina, água, catalisador residual ou excesso de álcool, e deve passar pelas etapas de purificação necessárias.

Figura 04 - Reação de transesterificação.



Fonte: (JARDINE, 2021).

A reação de transesterificação deve ser realizada em reator agitado. Muita agitação pode causar a formação de sabão, criando uma emulsão difícil de separar. As temperaturas do processo podem ser à temperatura ambiente ou até 70°C, portanto não há liberação de álcool por evaporação. Quanto maior a temperatura, menor o tempo de reação. A uma temperatura de 45°C, o processo dá bons rendimentos. (JARDINE, 2021).

Uma mistura de álcool e catalisador deve ser preparada e adicionada ao óleo pré-aquecido (para sistemas de aquecimento). O tempo de reação varia dependendo das matérias-primas, álcool e catalisador. Porém, se a mistura retornar à cor original após o escurecimento, a reação é considerada completa.

Para separar o produto resultante, a mistura deve ser decantada. A fase superior corresponde ao produto principal, o biodiesel. A fase inferior contém glicerina (um subproduto da reação), resíduo do catalisador, excesso de álcool que não reagiu, água, sabões formados durante a reação e alguns vestígios de ésteres e glicerídeos.

O biodiesel resultante deve ser lavado para remover resíduos de catalisador. Também é possível lavá-lo com água quente para remover impurezas. Se o catalisador utilizado for básico, a lavagem com água ácida (solução de ácido clorídrico – HCl – a 0,5 %) neutralizará o catalisador. A fase aquosa pode ser separada

do éster por decantação e subsequente secagem e remoção de água por aquecimento.

Figura 05 - Fluxograma de produção de Biodiesel.

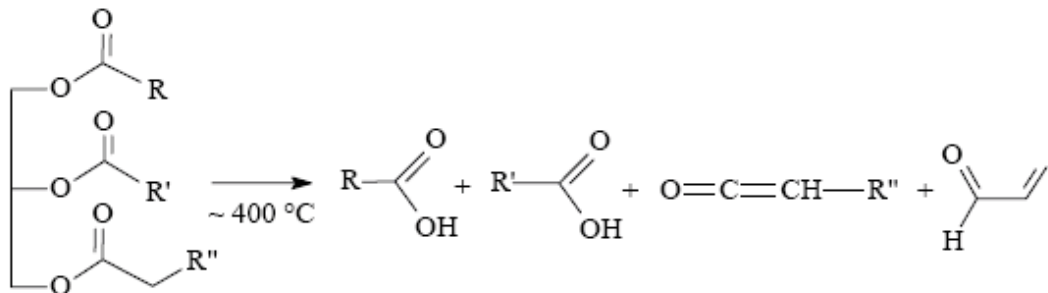


Fonte: (JÚNIO et al, 2019)

3.1.8. Craqueamento ou Pirólise

O craqueamento é um processo que é realizado a altas temperaturas, geralmente acima de 350 °C, resultando na quebra das moléculas do óleo vegetal, conhecidas como triglicerídeos (moléculas maiores), em hidrocarbonetos (moléculas menores), deixando o óleo vegetal com propriedades muito semelhantes às do diesel de petróleo, utilizando catalisadores para acelerar a quebra das moléculas.

Figura 06 - Reação de craqueamento.



Fonte: (JARDINE, 2021).

Essa queima resulta em misturas compostas por hidrocarbonetos saturados, insaturados ou aromáticos: cetonas, aldeídos e ácidos carboxílicos. Estes últimos são compostos oxigenados que os tornam indesejáveis à utilização do biocombustível, pois deixam o produto ácido e podem levar os motores que o utilizam à corrosão. (JARDINE, 2021).

O combustível obtido pelo craqueamento de óleos e gorduras não é considerado biodiesel pela nomenclatura internacional. A Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (Embrapa) adotou o termo Ecodiesel para combustíveis obtidos a partir da pirólise dos triglicerídeos. Mas o termo mais utilizado é biodiesel craqueado, diferenciando assim do obtido pela rota da transesterificação. (JARDINE, 2021).

3.1.9. Comparativo com outras fontes de biodiesel

Tabela 02 - Comparativo entre outras fontes de Biodiesel

Fontes de óleo	Teor de óleo de semente (% de óleo em peso em biomassa)	Rendimento de óleo (L de óleo / ha. ano)	Uso da terra (m³ ano / kg de biodiesel)	Produtividade de biodiesel (kg de biodiesel / ha. ano)
Milho	44	172	66	151
Cânhamo	33	363	31	321
Soja	18	636	18	562
Purgueira	28	741	15	656
Camelina	42	915	12	809
Canola	41	974	12	862
Girassol	40	1.070	11	946
Mamona	48	1.307	9	1.156
Óleo de Palma	36	5.366	2	4.747
Microalga (baixo teor óleo)	30	58.700	0,2	51.927
Microalga (médio teor de óleo)	50	97.800	0,1	86.515
Microalga (alto teor de óleo)	70	136.900	0,1	121.104

Fonte: Adaptado de (SUAREZ, 2009).

3.1.10. Microalga espécie *Raphidocelis subcapitata*

A clorofícea *Raphidocelis subcapitata*, também conhecida como *Pseudokirchneriella subcapitata*, faz parte grupo taxonômico Sphaeropleales, caracterizado pelas espécies mais comuns encontradas em água doce. É uma espécie amplamente utilizada na área das pesquisas, principalmente para bioensaios ecotoxicológicos como espécie bioindicadora, pois apresenta elevada taxa de crescimento e sensibilidade a diversas substâncias, diferentemente de outras espécies de microalga. (SUZUKI et al, 2018).

A espécie apresenta aparência helicoidal torcida, meia-lua, e seu comprimento varia entre 8 e 15 μm e sua largura varia entre 1,9 e 4 μm . É uma alga imóvel, com parede celular rígida, e grande parte de seu volume é composto por um único e grande cloroplasto, tendo o resto do volume preenchido por citoplasma. (MACHADO; SOARES, 2024).

3.1.11. Microalga espécie *Chlorella*

A microalga *Chlorella* pode ser a mais conhecida e utilizada nos dias de hoje, tendo a maior parte de suas aplicações voltadas para a área de suplementação alimentar, e outra grande parte para o estudo de sua viabilidade para produção de biodiesel.

A espécie começou a ser amplamente utilizada no cenário da Segunda Guerra Mundial, já que o Japão, principalmente, conseguiu avançar em estudos sobre o cultivo e propriedades da alga, atestando uma alta taxa de crescimento e elevada concentração de proteínas, lipídeos e vitaminas da espécie, indicando-a como uma possível fonte de alimento. (História..., s.d.). Desde então, a microalga é um alimento amplamente consumido, sendo facilmente encontrada em lojas de suplementação alimentar.

São algas unicelulares, em formato esférico, e são imóveis, ou seja, não possuem flagelos. O diâmetro varia entre 2 μm e 10 μm . Em sua composição média, apresentam cerca de 20 % de gordura, 45 % de proteínas, 20 % de carboidrato e 10% de minerais e vitaminas. (JARENKOW, 2014).

3.2. Metodologia

3.2.1. Método de Soxhlet

O aparelho Soxhlet funciona por meio de extração de lipídios e sólidos insolúveis em água que estão presentes na composição de um material (amostra). A extração é feita por meio do contato do material com um solvente orgânico, e depois o óleo deve ser separado do mesmo, sendo que o método de separação depende de cada material e objetivo.

A vantagem do Soxhlet é que o solvente entra em ebulição por meio de um aquecimento apropriado e em uma condição que o composto vai sofrer a extração de forma rica e sem perda dos materiais a serem analisados. O líquido é absorvido pelo cartucho feito de papel filtro e as partes sólidas não são empurradas para o balão. Para analistas de laboratório, o uso do Soxhlet é inteiramente importante para se chegar a uma amostra mais concentrada e com uma porção considerável para estudo e análise. (Saiba..., 2018).

Procedimentos:

De acordo com a metodologia proposta por Carvalho (2002), segue as etapas:

1. Pesar em balança analítica em torno de 2 a 5 gramas de amostra finamente moída em um cartucho de Soxhlet previamente preparado com papel filtro e tampado com algodão (anotar o peso).
2. Preencher o cartucho com algodão, até cobrir toda a amostra. Manipular o cartucho e o algodão com uma pinça (ou com luvas).
3. Secar em estufa a 105 °C, por 02 horas.
4. Pegar com tenaz um balão de fundo chato com boca esmerilhada e já com pérolas de ebulição, previamente seco a 105 °C por no mínimo 02 horas e resfriado em dessecador por 20-30 minutos, e pesar.
5. Colocar o cartucho dentro do extrator de Soxhlet.
6. Conectar o extrator de Soxhlet ao balão e adicionar 250 mL de éter de petróleo. Observação: o solvente orgânico éter de petróleo é o etoxietano, cuja fórmula simplificada é $\text{CH}_3\text{CH}_2\text{-O-CH}_2\text{CH}_3$.

7. Conectar o conjunto ao condensador.
8. Ligar a chapa aquecedora e manter em aquecimento por longo período (ideal 8 horas após início da fervura, com velocidade de gotejamento de 4 a 5 gotas por segundo).
9. Retirar o conjunto cuidando para remover o máximo de éter do balão antes.
10. Colocar o balão na estufa a 105°C, por 1h.
11. Resfriar em dessecador e pesar o balão.

Cálculos:

$$\text{LIPÍDIOS (\%)} = \frac{\text{PL} \times 100}{\text{P}}$$

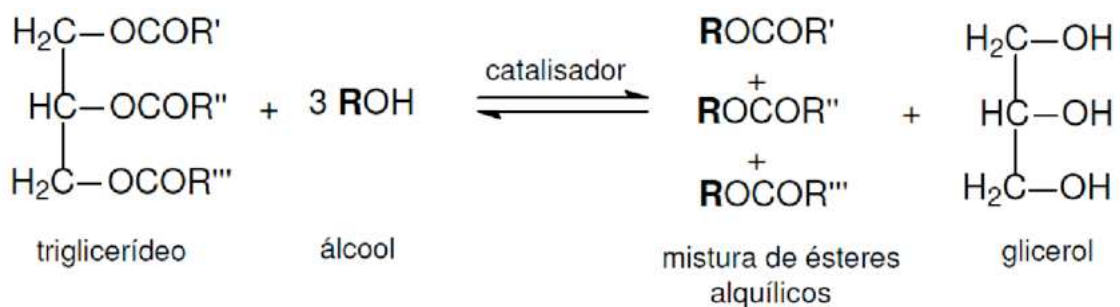
PL = Peso do balão com gordura – Peso do balão antes da extração

P = Peso da amostra

3.2.2. Método de Transesterificação

A transesterificação é uma reação química, que quebra as moléculas maiores do óleo vegetal, os triglicerídeos, em moléculas menores de ésteres monoalquílicos de ácido graxo (biodiesel) a partir de um agente transesterificante (álcool primário) e um catalisador, ácido ou básico. Além do biodiesel, a reação gera um subproduto com alto valor de mercado: a glicerina ou glicerol. (JARDINE, 2021). Segue a reação:

Figura 07 - Reação de transesterificação.



Fonte: (SANTOS et al, 2015.)

Durante todo o processo, deve-se ter muito cuidado para que não ocorra a reação de saponificação (formação de sabões). A utilização de álcoois anidros é interessante, já que a água é uma grande causadora dessa reação. Além disso, os catalisadores ácidos são mais indicados para evitar esse fenômeno, porém eles são menos eficientes em relação aos catalisadores básicos, que são os mais utilizados na transesterificação, por serem mais viáveis economicamente e acelerarem a reação em aproximadamente 4 mil vezes a mais do que os ácidos. Destacam-se o hidróxido de sódio (NaOH) e o hidróxido de potássio (KOH). (JARDINE, 2021).

Sabendo-se o álcool e o catalisador mais adequados para a espécie de microalga selecionada, transforma-se o óleo em éster (biodiesel) a partir das seguintes etapas, propostas por Jardine (2021):

1. Purificação do óleo: aquecimento em temperatura controlada e constante para evaporação da água presente.
2. Preparação da mistura de álcool e catalisador
3. Adição da solução de álcool e catalisador no óleo pré-aquecido.
4. Homogeneização em banho térmico (temperatura constante) e sob agitação (utilizando-se um agitador térmico). O tempo da reação é variável, então deve-se manter as condições até a mistura voltar à sua coloração inicial.
5. Inserção da mistura em funil de decantação e repouso.
6. Separação das fases. Fase superior: biodiesel bruto, fase inferior: glicerina/glicerol e resíduos de reagentes.
7. Purificação dos ésteres e produto final (biodiesel).

3.3. Materiais e reagentes

3.3.1. Materiais

- Aparelho Soxhlet – marca RBRVIDROS
- Autoclave Vertical – marca PRISMATEC, modelo CS
- Balança Analítica – marca Marte, modelo AS 510
- Capela de Fluxo Unidirecional Vertical – marca IDEOXIMA, modelo ORG 1040
- Centrífuga Baby Centrifuge – marca FANEM, modelo 206
- Copo béquer de 100 mL
- Filtro de papel para café
- Garrafa de vidro para autoclave
- Lâmina e lamínula de vidro para microscópio
- Manta Aquecedora, marca NOVA, modelo NI 1012
- Microscópio Óptico Binocular – marca NOVA, modelo 170i
- Pipeta de Pasteur
- Placas de Petri
- Tubos de ensaio; diâmetro de 17 mm

3.3.2. Reagentes

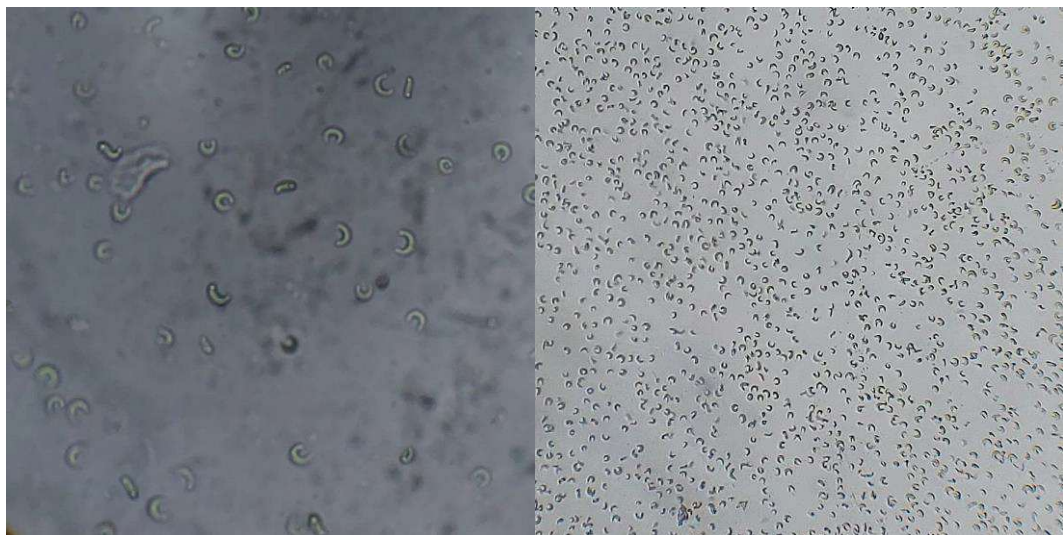
- Meio de cultura Nutrient Agar ISO – marca KASVI
- Solvente hexano (C₆H₁₄) P.A. – Pureza 98,5 %

3.4. Procedimento experimental

3.4.1. Cultivo

Foi recebido pelo grupo duas amostras de microalgas da mesma cepa *Raphidocelis subcapitata*, em dois meios diferentes: meio sólido e meio líquido. Para dar início aos procedimentos laboratoriais, foram montadas lâminas com a espécie em meio líquido para serem observadas no microscópio óptico monocular, nas lentes 4X, 10X e 40X, possibilitando a confirmação de que a espécie estava correta e permitindo maior tomada de conhecimento sobre seu tamanho e aspectos.

Figura 08 - Visão do microscópio na lente 40X e 10X respectivamente.



Fonte: Autoria própria (2024)

Em seguida, o total do líquido, de aproximadamente 20 mL, foi dividido entre 3 tubos de ensaio, e estes foram centrifugados por 20 minutos sob velocidade de 3600 rpm (valor máximo de rotação por minuto), obtendo-se em cada tubo uma concentração de microalgas no fundo e um sobrenadante incolor. Os meios centrifugados e o meio sólido foram armazenados na geladeira e embrulhados em papel alumínio para impedir a entrada de luz.

Com intenção de proliferar a espécie, foi preparado o meio de cultivo. O meio utilizado foi o ágar, seguindo a proporção indicada no rótulo de 23 gramas de ágar para 1 litro de água potável. Após ser preparado em chapa aquecedora, o meio foi distribuído entre 3 garrafas de vidro, já que é preciso que o líquido se limite à metade da garrafa. Em seguida, foram selecionadas 30 placas de Petri, que foram

embrulhadas dentro e fora com jornal. As garrafas com o meio e as placas foram levadas para a autoclave por 20 minutos à 120 °C, e aguardou-se um tempo para o resfriamento dos mesmos. Com os materiais já autoclavados, iniciou-se o processo de vertedura do meio nas placas. Para isso, utilizou-se o fluxo laminar, previamente limpo com “álcool 70” (álcool 70 °GL) e esterilizado com luz UV, e o bico de Bunsen. Após todo o meio ser vertido para as placas, e este já estar rígido e em temperatura ambiente, foram feitas as estrias utilizando-se o concentrado de microalgas (o sobrenadante foi removido previamente com auxílio pipeta de Pasteur) em todas as placas. As mesmas foram embrulhadas em plástico filme e colocadas lado a lado dentro de uma capela com a luz acesa constantemente, e aguardou-se o desenvolvimento da espécie.

Figura 09 - Preparação do meio de cultura.



Fonte: Autoria própria (2024)

Figura 10 - Autoclavagem dos materiais.



Fonte: Autoria própria (2024)

Figura 11 - Vertedura dos meios de cultura.



Fonte: Autoria própria (2024)

Com intervalo de 01 (uma) semana (07 dias), voltou-se a analisar a situação do desenvolvimento, e o resultado foi insatisfatório. Por faltar pouco tempo para a finalização do projeto deste TCC, foi necessário buscar outras alternativas para obtenção de uma amostra de microalga. Desse modo, foram comprados 196 g de

microalga em pó da espécie *Chlorella*, em uma loja de suplementos alimentares, e os próximos procedimentos foram efetuados utilizando-a.

Figura 12 - Placas de cultivo dentro da capela.



Fonte: Autoria própria (2024)

3.4.2. Extração do óleo

A extração do óleo de microalgas foi realizada por intermédio do método de Soxhlet, adotando como solvente o hexano. Em primeira tentativa, o cartucho foi preparado utilizando-se papel filtro quantitativo, que foi remendado com grampeador para ficar no formato ideal. Pesou-se 10 g de microalga em pó, e a mesma foi colocada no cartucho. Dentro do balão de fundo redondo adicionou-se 230 mL de hexano e 03 cacos de porcelana pequenos, e com tudo montado, o aparelho foi ligado na temperatura máxima. O procedimento foi feito corretamente e seguindo o roteiro, porém, por conta das microalgas estarem em partículas muito pequenas, a amostra vazou do cartucho, causando um entupimento do aparelho Soxhlet, sendo necessário então remover toda a amostra e o solvente e realizar a lavagem das vidrarias.

Nas próximas tentativas, ao invés de utilizar o papel filtro quantitativo, optou-se pelo papel filtro de café comum em dupla camada (2 folhas), um pouco de algodão por cima da amostra, e barbante para manter os cartuchos bem fechados e evitar vazamentos. Além disso, foram pesados 30 g de amostra em cada extração, para

agilizar o processo, e manteve-se os 230 mL de hexano. Em cada troca de cartucho, a temperatura foi mantida em média para prolongar o tempo de contato entre a amostra e o solvente, possibilitando uma extração mais eficiente de óleo, com refluxos mais espaçados. O tempo mínimo de cada vez foi de 02 (duas) horas, com no mínimo 30 refluxos. Os cartuchos usados foram armazenados, e o hexano com o óleo foi sendo reservado em um frasco de vidro âmbar. O processo foi repetido 05 (cinco) vezes, obtendo-se, portanto, aproximadamente 1,1 L de hexano misturado com óleo. A mistura verde-escura foi transferida para um funil de decantação grande, para que após alguns dias o óleo extraído pudesse ser observado como sobrenadante do hexano. Porém, os resultados não foram satisfatórios, e, dessa forma, não foi possível avançar com os procedimentos práticos.

Figura 13 - Extração no aparelho Soxhlet.

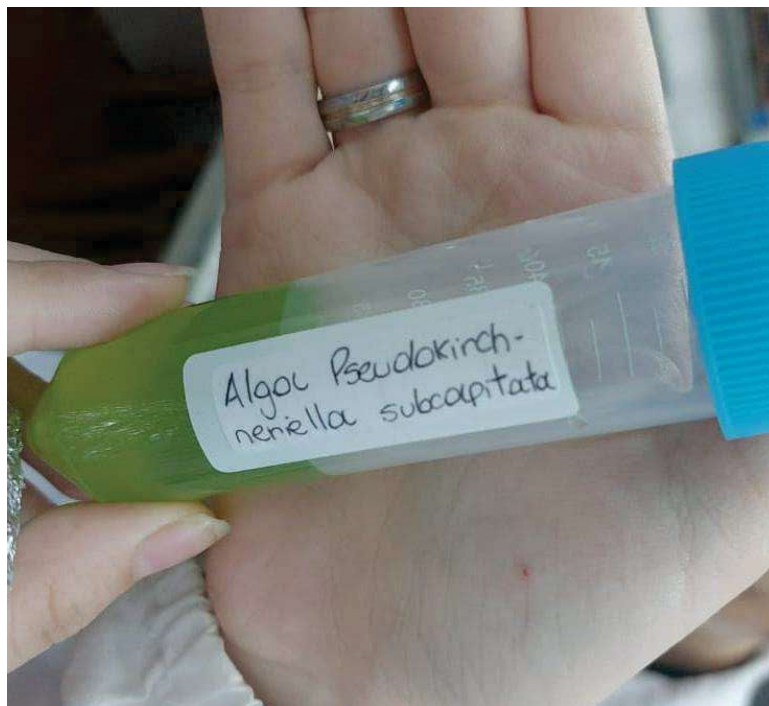


Fonte: Aatoria própria (2024)

3.5. Resultados e discussões

A partir das microalgas fornecidas pela empresa *Science in Agrochemicals*, do município de Charqueada - SP, realizou-se a tentativa de cultivo dentro do laboratório da escola técnica ETEC “Cel. Fernando Febeliano da Costa”, para a multiplicação da quantidade da amostra recebida, que para as finalidades desejadas, não seriam suficientes. Os procedimentos foram realizados corretamente, seguindo todas as normas de segurança microbiológicas. Entretanto, por ausência de equipamento (incubadora de D.B.O) adequado para o cultivo, a temperatura demandada para que as microalgas se desenvolvessem não pôde ser atingida, apesar das condições de iluminação estarem corretas. Dessa maneira, não foi possível cultivá-las, dentre as 30 placas de Petri onde foram colocadas as amostras, apenas 02 (duas) apresentaram pequenos pontos de crescimento das algas. Logo, além de não se replicarem, boa parte da cepa foi perdida ao ser colocada nas placas.

Figura 14 - Quantidade de microalgas recebidas.

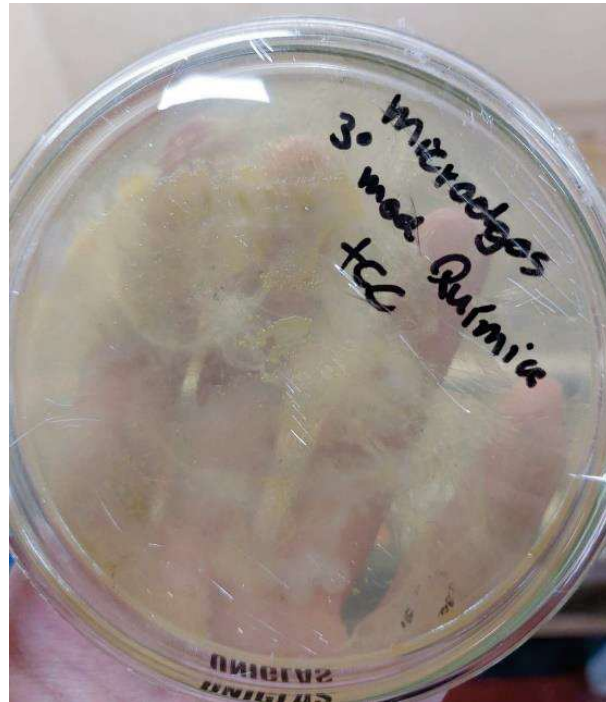


Fonte: Autoria própria (2024)

Além do mais, posteriormente o grupo verificou, por meio do microscópio óptico, que de fato não havia nenhuma microalga nas placas. E, com as observações, surgiu também uma hipótese de que possivelmente, durante algum ponto do

processo, as placas ou a amostra tivessem sido contaminadas, já que alguma espécie sem ser a microalga acabou se desenvolvendo, como é visto na figura 15.

Figura 15 - Placa de Petri após 02 semanas de cultivo.



Fonte: Autoria própria (2024)

Com base nesse contratempo, que tomou 02 (duas) semanas do grupo, decidiu-se adquirir as amostras de microalgas já prontas para extração do óleo. Elas foram compradas em uma loja de suplementos alimentares em forma de pó, sem conhecimento da procedência. O procedimento de extração do óleo foi feito corretamente, através da montagem de cartuchos de filtro de café em dupla camada e algodão, e com a utilização de hexano como solvente no aparelho de laboratório Soxhlet. Todo o óleo possível da amostra foi extraído, porém não em quantidade suficiente para a produção de biodiesel. Diante do alto custo de compra de mais amostras e escassez de aparelhagem adequada, buscou-se uma alternativa distinta para alcançar o resultado desejado. Houve uma conversa com a Divisão de Produtividade Agroindustrial e Alimentos (DVPROD) - Laboratório de Biologia de Sistemas Regulatórios do Centro de Energia Nuclear para Agricultura (CENA/USP) para uma possível colaboração, solicitando uma oportunidade de realizar o cultivo nos

laboratórios da instituição. No entanto, não foi possível realizá-lo, por motivos de burocracia.

Utilizando-se a microalga *Chlorella* em pó, foi feita uma tentativa de extração de seu óleo, pelo método de Soxhlet e com o uso do solvente hexano. Porém, mesmo utilizando uma grande quantidade de microalgas (aproximadamente 150 gramas), o resultado não foi satisfatório, considerando que a quantidade de óleo obtida foi extremamente pequena, inviabilizando assim a produção de biodiesel, que seria o objetivo seguinte. Mesmo que se obtivesse 10 mL de óleo, por exemplo, essa quantidade seria muito reduzida até se obter o produto final, considerando que após a extração do óleo é necessário purificá-lo quimicamente para remover todo hexano, e nesse processo há perda de amostra. Além disso, na reação de transesterificação apenas uma parcela do óleo se torna biodiesel, sendo a outra parcela glicerol. Desse modo, em um ato de concordância entre todos os membros do grupo, decidiu-se finalizar os procedimentos práticos.

Afora outras dificuldades encontradas pelo grupo, como na utilização do solvente hexano, que além de ser extremamente volátil, é também uma substância cancerígena e tóxica. Acima do fator de perigo, foi necessário utilizar-se uma grande quantidade de solvente para uma menor quantidade de amostra, apresentando uma desproporção entre a quantidade de hexano utilizada para a quantidade de óleo obtido. Além de outros fatores como a falta de tempo, fazendo assim, a redução do período em que a amostra ficou em contato com o solvente durante o processo de extração, o que pode ter contribuído também para a pouca quantidade do óleo extraído. A incerteza da procedência da microalga, que continha até mesmo em sua embalagem um aviso de que poderia estar contaminada por outros componentes, também pode ter afetado negativamente o processo.

Em uma conversa com a Divisão de Produtividade Agroindustrial e Alimentos (DVPROD) - Laboratório de Biologia de Sistemas Regulatórios do Centro de Energia Nuclear para Agricultura (CENA/USP), hipóteses foram levantadas para determinar o(s) motivo(s) para a falha no cultivo. A primeira delas baseia-se na escolha do meio utilizado (Ágar-ágar), que pode ter sido equivocada, pois esse meio não possui todos os nutrientes necessários para o desenvolvimento adequado das espécies. A escolha pela utilização deste meio foi por conta de recomendação do próprio laboratório que disponibilizou a cepa para o grupo, visto que nessa empresa o cultivo sempre é

próspero com a utilização do meio de cultura Ágar-ágar. Sabendo disso, a segunda delas é a de maior possibilidade de ser concreta. Ela baseia-se em apontar que o fator de falha foi a falta de equipamentos corretos ou indispensáveis, no caso, a incubadora D.B.O., pois ela consegue manter temperatura correta e iluminação constantes.

Figura 16 - Incubadora para D.B.O.



Fonte: TECNAL (2024).

4. CONCLUSÃO

Conclui-se, com base em estudos científicos teóricos e práticas realizadas, que requerem altos desembolsos e aparelhagens adequadas para que a produção da biomassa das microalgas, referente ao biodiesel, se suceda com êxito. Portanto, é fato que em questões técnicas e econômicas, essa alternativa acaba sendo, de certa forma, inviabilizada. Porém, em quesito ambiental, o uso das microalgas é extremamente interessante e sustentável. E sabendo-se da grave situação climática hoje enfrentada, não se deve descartar esta promissora opção, sendo necessário que haja maiores investimentos em pesquisas e estudos para que o uso das microalgas se torne mais viável podendo então ser amplamente propagada e instalada em diversos países.

Ambientalmente, a substituição parcial do óleo diesel (de origem fóssil) por biodiesel oferece diversas vantagens, visto que o biodiesel é um combustível renovável, biodegradável e capaz de reduzir consideravelmente as emissões de gases de efeito estufa (GEEs), portanto, seria necessária uma produção em grande escala industrial para se obter as devidas quantidades dessa biomassa (algas) visando a extração do óleo, principal objeto do biodiesel (reação de transesterificação).

O cultivo da espécie *Raphidocelis Subcapitata* foi corretamente executado, portanto, por razões maiores tais como, falta de aparelhagem adequada e meio de cultivo impróprio, foi falho. Se executado em laboratório melhor equipado, o cultivo provavelmente seria bem sucedido, e o restante dos procedimentos também poderiam ser melhor executados, possibilitando assim a produção de uma quantidade de óleo suficiente para a reação de transesterificação.

Constata-se, portanto, que a produção de biodiesel, principalmente em escalas laboratoriais, demanda bastante recursos, o que pode torná-la inviável em muitos casos. Dentre os desafios enfrentados pelo grupo, destacam-se a falta de equipamentos adequados e a falta de verba. Em síntese, o maior empecilho foi o ato de se adquirir as microalgas, pois há muitos entraves e burocracias dentro das empresas e universidades para o fornecimento, e o preço das mesmas no mercado são muito elevados. As alternativas mais adequadas para isso seriam a coleta das microalgas em esgotos e corpos hídricos, porém, nesses casos, as espécies não são puras, o que talvez dificultaria ou impossibilitaria a confiabilidade do produto.

REFERÊNCIAS

AGROENERGIA em revista: Microalgas. EMBRAPA AGROENERGIA, edição 10, 2016. Disponível em: <https://www.embrapa.br/busca-de-publicacoes/-/publicacao/1060364/agroenergia-em-revista-microalgas>. Acesso em: 02 dez. 2023.

ALISSON, Elton. **Microalgas transgênicas são mais eficientes na fotossíntese, indica estudo.** FAPESP, 2014. Disponível em: <https://agencia.fapesp.br/microalgas-transgenicas-sao-mais-eficientes-na-fotossintese-indica-estudo/20031>. Acesso em: 02 dez. 2023.

A Petrobras produz 5,8 milhões de litros de diesel de origem renovável. Poder 360, 2023. Disponível em: <https://www.poder360.com.br/energia/petrobras-produz-58-mi-de-litros-de-diesel-de-origem-renovavel/>. Acesso em: 01 dez. 2023.

Biocombustíveis: como são feitos, exemplos e mais! TOTVS, 2022. Disponível em: <https://www.totvs.com/blog/gestao-para-rotas/biocombustiveis/>. Acesso em: 01 dez. 2023.

BRASIL. Ministério da Educação. **Biodiesel.** Brasília, 2006.

CARVALHO et al. (2002); INSTITUTO ADOLFO LUTZ (2008). **A metodologia de Soxhlet.** Disponível em: <https://lume-re-demonstracao.ufrgs.br/composicaoalimentos/lipideos/soxhlet.php>. Acesso em: 25 mar. 2024.

Conheça a história do motor a diesel. Welp Combustíveis, s.d. Disponível em: <https://welpcombustiveis.com.br/diversos/historia-do-motor-a-diesel/>. Acesso em: 16 jun. 2024.

DERNER, R. B. et al. **Microalgas, produtos e aplicações.** Ciência Rural, v. 36, n. 6, p. 1959–1967, dez. 2006.

DIAS, Diogo L. **Óleo diesel.** Brasil Escola, s.d. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/oleo-diesel.htm>. Acesso em: 01 dez. 2023.

FOGAÇA, Jennifer R. V. **Biodiesel de Algas.** Brasil Escola. Disponível em: <https://brasilecola.uol.com.br/quimica/biodiesel-algas.htm>. Acesso em: 30 nov. 2023.

Fotobiorreatores. Schott, s.d. Disponível em: <https://www.schott.com/pt-br/especializa%C3%A7%C3%A3o/aplicacoes/fotobiorreatores>. Acesso em: 29 mai. 2024.

História da Chlorella: origem e características. Purachlorella, s.d. Disponível em: <https://purachlorella.com.br/historia-da-chlorella/>. Acesso em: 29 mai. 2024.

JARDINE, José G. **Craqueamento.** Embrapa Agroenergia, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agroenergia/biodiesel/tecnologia/craqueamento#:~:text=O%20processo%20de%20craqueamento%2C%20tamb%C3%A9m,petr%C3%B3leo%2C%20d%C3%A3o%20origem%20ao%20biodiesel>. Acesso em: 25 mar. 2024.

JARDINE, José G. **Transesterificação**. Embrapa Agroenergia, 2021. Disponível em: <https://www.embrapa.br/agencia-de-informacao-tecnologica/tematicas/agroenergia/biodiesel/tecnologia/transesterificacao>. Acesso em: 31 mai. 2024.

JARENKOW, André. **Estudo da produção e extração de lipídeos na microalga *Chlorella* sp.** lume.ufrgs.br, 2014. Disponível em: <http://hdl.handle.net/10183/109166>. Acesso em: 29 mai. 2024.

JORQUERA, O.; KIPERSTOK, A.; SALES, E. A.; EMBIRUÇU, M. & Ghirardi, M. L. (2012). **Comparative energy life-cycle analyses of microalgal biomass production in open ponds and photobioreactors**. *Bioresource Technology*, 101(4), 1406-1413.

JÚNIO, Samuel dos S.; SILVA, Karla K. B.; SILVA, Albede P. **COMPARATIVO DA QUALIDADE DO SERVIÇO DE ATENDIMENTO AO PÚBLICO PRESTADO POR SERVIDORES TERCEIRIZADOS E EFETIVOS - PALÁCIO RIO MADEIRA E DETRAN/RO NA VISÃO DO CIDADÃO**. Pesquisa, Inovação e Tecnologia no Estado de Rondônia (pp.79-92), 2019. 10.35170/ss.ed.9786580261185.07.'

KOCHEM, L. H. 2010. 47f. **Caracterização de Fotobiorreator Air-lift para Cultivo de Microalgas**. Monografia. Engenharia Química – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Porto Alegre.

MACHADO, Manuela D.; SOARES, Eduardo V. **Características da microalga *Raphidocelis subcapitata*: fisiologia e aplicações**. *Appl Microbiol Biotechnol* **108**, 219, 2024. Disponível em: <https://doi.org/10.1007/s00253-024-13038-0>. Acesso em: 28 mai. 2024.

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

MATTHIENSEN, A.; MICHELON, W. **Produção de microalgas em sistema semiaberto: estrutura e funcionamento de tanques semicirculares (raceway tanks)**. Concórdia: Embrapa Suínos e Aves, 2022. ISSN: 0100-8862. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/doc/1151835/1/final10047.pdf>. Acesso em: 16 jun. 2024.

MONÇÃO, Maxwell. **O Futuro Verde: Microalgas e Biotecnologia**. Instituto de Microbiologia de Paulo Goés, 2015. Disponível em: <https://www.microbiologia.ufrj.br/portal/index.php/pt/destaques/novidades-sobre-a-micro/364-o-futuro-verde-microalgas-e-biotecnologia>. Acesso em: 02 dez. 2023.

MUNIZ, Ricardo. **Cultivo de microalgas para a produção de biocombustível**. Unicamp, 2023. Disponível em: <https://www.unicamp.br/unicamp/noticias/2023/04/03/cultivo-de-microalgas-para-producao-de-biocombustivel#:~:text=As%20microalgas%20s%C3%A3o%20unicelulares%20e,biocompostos%20presentes%20dentro%20das%20c%C3%A9lulas>. Acesso em: 16 jun. 2024.

NEWMAN, Stefani. **Como funciona o biodiesel de algas**. HowStuffWorks, s.d. Disponível em: <https://science.howstuffworks.com/environmental/green-science/algae-biodiesel3.htm>. Acesso em: 31 mai. 2024.

OLAIZOLA, M. **Commercial development of microalgal biotechnology: from the test tube to the marketplace**. *Biomolecular Engineering*, v. 20, n. 4-6, p. 459–466, jul. 2003.

Produção de biodiesel - Saiba tudo sobre o processo de craqueamento. Disponível em: <https://www.cpt.com.br/noticias/producao-de-biodiesel-saiba-tudo-sobre-o-processo-de-craqueamento>. Acesso em: 25 mar. 2024.

Produção de diesel. TRR São José, 2024. Disponível em: <https://trrsaojose.com.br/producao-de-diesel/>. Acesso em: 16 jun. 2024.

Saiba como funciona o Soxhlet e sua importância na extração de lipídeos. PROLAB, 2018. Disponível em: <https://www.prolab.com.br/blog/equipamentos-aplicacoes/saiba-como-funciona-o-soxhlet-e-sua-importancia-na-extracao-de-lipideos/>. Acesso em: 25 mar. 2024.

SANTOS, Alcides L., et al. **AVALIAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DE ÓLEO RESIDUAL DE CASTANHA-DOBRASIL (*Bertholletia excelsa* H.B.K.) E SUA CONVERSÃO EM BIODIESEL**. Enciclopédia Biosfera, 2015. doi: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_064. Acesso em: 21 mai. 2024.

SUAREZ, Paulo A. Z. et al. **Biocombustíveis a partir de óleos e gorduras: desafios tecnológicos para viabilizá-los**. *Química Nova*, 2009. v. 32, n. 3, pp. 768-775. Disponível em: <https://doi.org/10.1590/S0100-40422009000300020>. Acesso em: 28 abr. 2024.

SUZUKI, S., YAMAGUCHI, H., NAKAJIMA, N. et al. ***Raphidocelis subcapitata* (*Pseudokirchneriella subcapitata*) fornece uma visão sobre a evolução do genoma e adaptações ambientais em Sphaeropleales**. *Sci Rep* 8, 8058 (2018). Disponível em: <https://doi.org/10.1038/s41598-018-26331-6>. Acesso em: 28 mai. 2024.

TEBAS, S. O. G.; et al. **Obtenção de Biodiesel**. p. 100-104. São Paulo: Blucher, 2017. ISSN 2359-1757, DOI 10.5151/SEQUFES2016-023.

TECNAL. **INCUBADORA TE-371/240L**, s.d. Disponível em: https://tecnal.com.br/pt-BR/produtos/detalhes/13267_incubadora. Acesso em: 20 jun. 2024.