



UNIVERSIDADE FEDERAL DO ESPÍRITO SANTO
CENTRO UNIVERSITÁRIO NORTE DO ESPÍRITO SANTO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ENERGIA

DAIANA GALINA

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO TEMPO NA
TRANSESTERIFICAÇÃO DIRETA DA *Nannochloropsis oculata* PARA
PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

SÃO MATEUS - ES

2018

DAIANA GALINA

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO TEMPO NA
TRANSESTERIFICAÇÃO DIRETA DA *Nannochloropsis oculata* PARA
PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energia, do Centro Universitário Norte do Espírito Santo, da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito para a obtenção do título de Mestre em Energia, na área de eficiência energética.

Orientador: Prof. Dr. Rodrigo Randow de Freitas

Co-orientador: Prof. Dr. Paulo Sérgio da Silva Porto

SÃO MATEUS - ES

2018

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)
(Divisão de Biblioteca Setorial do CEUNES - BC, ES, Brasil)

Galina, Daiana, 1993-
G156a Análise da influência da temperatura e do tempo na transesterificação direta da *Nannochloropsis oculata* para produção de biodiesel / Daiana Galina. – 2018.
71 f. : il.

Orientador: Rodrigo Randow de Freitas.
Coorientador: Paulo Sérgio da Silva Porto.
Dissertação (Mestrado em Energia) – Universidade Federal do Espírito Santo, Centro Universitário Norte do Espírito Santo.

1. Biodiesel. 2. *Nannochloropsis oculata*. I. Freitas, Rodrigo Randow de. II. Porto, Paulo Sérgio da Silva. III. Universidade Federal do Espírito Santo. Centro Universitário Norte do Espírito Santo. IV. Título.

CDU: 620.9

Elaborado por Filipe Briguiet Pereira - CRB-6 ES-000863/O

DAIANA GALINA

**ANÁLISE DA INFLUÊNCIA DA TEMPERATURA E DO TEMPO NA
TRANSESTERIFICAÇÃO DIRETA DA *Nannochloropsis oculata*
PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Energia da Universidade Federal do Espírito Santo, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Energia.

Aprovada em 06 de agosto de 2018.

COMISSÃO EXAMINADORA



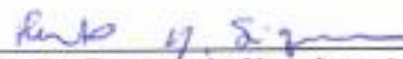
Prof. Dr. Rodrigo Randow de Freitas
Universidade Federal do Espírito Santo
Orientador



Prof. Dr. Paulo Sérgio da Silva Porto
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Daniel da Cunha Ribeiro
Universidade Federal do Espírito Santo



Prof. Dr. Renato do Nascimento Siqueira
Instituto Federal do Espírito Santo

AGRADECIMENTOS

À Deus por estar presente em todas as etapas da minha vida. Por me conceder o dom da vida.

À minha família por todo apoio, confiança e amor incondicional.

Aos meus amigos por todos os momentos de descontração, por todo aprendizado e por se tornarem minha segunda família.

Ao meu orientador Prof. Dr. Rodrigo Randow de Freitas e co-orientador Prof. Dr. Paulo Sérgio da Silva Porto, por todas as contribuições, incentivos e por acreditarem no presente trabalho.

À CAPES (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pela concessão da bolsa de estudo.

À empresa TANAC por fornecer amostra gratuita do reagente TANFLOC.

LISTA DE FIGURAS

| | |
|--|----|
| Figura 1 - Diferentes tipos de uso energético para a biomassa microalgal. | 17 |
| Figura 2 - Microalga da espécie <i>Nannochloropsis oculata</i> | 18 |
| Figura 3 - Evolução da produção de biodiesel no Brasil de 2007 a 2016. | 23 |
| Figura 4 - Capacidade nominal e produção real de biodiesel B100, segundo grandes regiões (mil m ³ / ano) em 2016. | 24 |
| Figura 5 - Distribuição percentual das reservas de petróleo. | 25 |
| Figura 6 - Representação da transesterificação metílica do triglicerídeo. | 26 |
| Figura 7 - Gráfico das matérias primas utilizadas na produção do biodiesel (B100) de 2007 até 2016. | 27 |
| Figura 8 - Produtividade lipídica de diferentes matérias primas. | 28 |
| Figura 9 - Fluxograma das etapas da metodologia experimental. | 33 |
| Figura 10 - Fluxograma das etapas de duplicação desenvolvidas no estudo. | 35 |
| Figura 11 - A) Desenho esquemático do reator. B) Desenho esquemático do funil de separação contendo as duas fases da reação de transesterificação. | 36 |
| Figura 12 - Gráfico do número de citações por ano. | 40 |
| Figura 13 - Percentual da contribuição das diferentes áreas de pesquisa. | 41 |
| Figura 14 - Gráfico do número de publicações por país. | 42 |
| Figura 15 - Mapas da localização dos autores, no qual círculos vermelhos representam a localização e linhas vermelhas os trabalhos realizados em coautoria. | 43 |
| Figura 16 - Cultivo de microalgas com volume de 8 L. | 48 |
| Figura 17 - Biomassa de microalgas retida no papel filtro. | 49 |
| Figura 18 - Característica da água de cultivo após filtração da biomassa. | 50 |
| Figura 19 - Aparato experimental para promover aquecimento e agitação durante a reação. | 51 |
| Figura 20 - Funil de separação contendo as duas fases obtidas após a reação de transesterificação. | 52 |
| Figura 21 - Fórmula estrutural da molécula de metil éster (C ₁₇ H ₃₄ O ₂). | 54 |
| Figura 22 - Fórmula estrutural da molécula de metanol (CH ₃ OH). | 55 |
| Figura 23 - Espectro no infravermelho da amostra de biodiesel. | 55 |
| Figura 24 - Comparação entre os resultados de FTIR do biodiesel obtido na literatura por Ruschel (2014) e do obtido neste trabalho. | 57 |

| | |
|---|----|
| Figura 25 - Superfície de resposta para o rendimento do extrato rico em biodiesel em função da temperatura e do tempo. | 61 |
| Figura 26 - Superfície de contorno da variável resposta rendimento do extrato rico em biodiesel em função da temperatura e do tempo. | 62 |

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|----|
| Tabela 1 - Teor de lipídicos de alguns gêneros de microalgas. | 19 |
| Tabela 2 - Composição dos principais ácidos graxos encontrados na microalga da espécie <i>Nannochloropsis oculata</i> | 20 |
| Tabela 3 - A evolução da porcentagem mínima obrigatória de adição de biodiesel ao diesel comercial de 2008 até 2018. | 22 |
| Tabela 4 - Concentração dos componentes das soluções de fosfato, nitrato e silicato utilizados no cultivo. | 34 |
| Tabela 5 - Variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial 3^2 | 37 |
| Tabela 6 - Matriz do planejamento fatorial 3^2 | 37 |
| Tabela 7 - Resultado do rendimento mássico do extrato rico em biodiesel seguindo o planejamento fatorial 3^2 | 53 |
| Tabela 8 - Efeitos da temperatura (X1) e do tempo (X2) sobre o rendimento do extrato rico em biodiesel. | 59 |

SUMÁRIO

| | | |
|-----------|---|-----------|
| 1 | INTRODUÇÃO | 13 |
| 1.1. | Problema de pesquisa | 14 |
| 1.2. | Justificativa..... | 14 |
| 2 | OBJETIVOS | 15 |
| 2.1. | Objetivo principal | 15 |
| 2.2. | Objetivos específicos | 15 |
| 3 | CONTEXTUALIZAÇÃO..... | 16 |
| 3.1. | Microalgas..... | 16 |
| 3.2. | <i>Nannochloropsis oculata</i> | 18 |
| 3.3. | Biodiesel | 20 |
| 3.4. | Bibliometria..... | 28 |
| 3.5. | Planejamento experimental e análise estatística | 30 |
| 4 | METODOLOGIA..... | 32 |
| 4.1. | Revisão bibliométrica | 32 |
| 4.2. | Obtenção dos parâmetros de produção do biodiesel..... | 32 |
| 4.3. | Método experimental | 33 |
| 4.3.2. | Extração da biomassa | 35 |
| 4.3.3. | Produção do biodiesel..... | 35 |
| 4.3.4. | Caracterizações..... | 38 |
| 4.3.4.1. | Índice de acidez..... | 38 |
| 4.3.4.2. | Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)..... | 39 |
| 4.4. | Análise estatística | 39 |
| 5. | RESULTADOS E DISCUSSÃO | 40 |
| 5.1. | Revisão bibliométrica | 40 |
| 5.2. | Resultados experimentais..... | 48 |
| 5.2.1. | Cultivo das microalgas | 48 |

| | |
|---|-----------|
| 5.2.2. Extração da biomassa | 48 |
| 5.2.3. Produção de biodiesel | 50 |
| 5.2.4. Caracterizações..... | 53 |
| 5.2.4.1. Índice de acidez..... | 54 |
| 5.2.4.2. Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)..... | 54 |
| 5.3. Análise estatística | 58 |
| 6. CONCLUSÕES | 63 |
| 7. TRABALHOS FUTUROS | 64 |
| 8. REFERÊNCIAS | 65 |

RESUMO

Os biocombustíveis apresentam diversas vantagens, tendo o biodiesel um grande potencial para substituir o diesel de petróleo. Apesar do biodiesel produzido a partir de microalgas possuir várias vantagens ambientais, o mesmo apresenta dificuldades para ser implementado na matriz energética de diversos países devido ao seu elevado custo associado às muitas etapas do processo de produção. Deste modo, se fazem necessários estudos de aperfeiçoamento, ou até mesmo eliminação, de algumas etapas de produção a fim de tornar este processo economicamente viável. O presente trabalho tem como objetivo principal analisar a influência das variáveis temperatura e tempo na produção do biodiesel via transesterificação direta de biomassa de microalgas da espécie *Nannochloropsis oculata*, identificando as condições que proporcionam rendimento máximo do extrato rico em biodiesel. Foi realizado o cultivo de microalgas em laboratório, seguido da extração e secagem da biomassa. A transesterificação direta da biomassa microalgal foi conduzida seguindo o planejamento fatorial 3^2 , que teve como variável resposta o rendimento mássico do extrato rico em biodiesel. O biodiesel de maior rendimento foi caracterizado quantitativamente quanto ao índice de acidez e qualitativamente por meio da espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR). Por meio do método experimental realizado no presente estudo, foi possível cultivar microalgas da espécie *Nannochloropsis oculata* e, a partir da biomassa obtida, produzir biodiesel através da reação de transesterificação direta. A formação de biodiesel foi verificada por meio da análise de FTIR que apontou a presença de ésteres no produto final. Por meio da análise estatística, foi possível identificar os parâmetros significativos para esse modelo. Os pontos de rendimento máximo encontrados foram obtidos nas condições 70°C e 60 min e 110°C e 60 min.

Palavras-chave: biodiesel, transesterificação direta, *Nannochloropsis oculata*

ABSTRACT

Biofuels have several advantages, having the biodiesel a great potential to replace petroleum diesel. Although biodiesel produced from microalgae has several environmental advantages, it presents difficulties to be implemented in the energy matrix of several countries due to its high cost associated to the many stages of the production process. In this way, studies of improvement, or even elimination, of some stages of production are necessary in order to make this process economically viable. The present study has as main objective to analyze the influence of temperature and time variables on biodiesel production through direct transesterification of microalgae biomass of the species *Nannochloropsis oculata*, identifying the conditions that provide maximum yield of the extract rich in biodiesel. The microalgae were cultured in the laboratory, followed by the extraction and drying of the biomass. The direct transesterification of the microalgal biomass was carried out following the factorial design 3^2 , whose response variable was the mass yield of the biodiesel rich extract. The higher yield biodiesel was quantitatively characterized in terms of acidity index and qualitatively by Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR). By means of the experimental method carried out in the present study, it was possible to cultivate microalgae of the species *Nannochloropsis oculata* and, from the obtained biomass, to produce biodiesel through the direct transesterification reaction. The formation of biodiesel was verified by means of the FTIR analysis, indicating the presence of esters in the final product. Through the statistical analysis, it was possible to identify the significant parameters for this model. The maximum yield points found were obtained under conditions 70°C and 60min and 110°C and 60min.

Keywords: biodiesel, direct transesterification, *Nannochloropsis oculata*

1 INTRODUÇÃO

O uso massivo de combustíveis fósseis tem ocasionado diversos problemas ambientais e energéticos ao longo dos anos, justificando assim as diversas pesquisas na área de combustíveis alternativos. Com isso, vários fatores são responsáveis por aumentar os níveis de produção dos biocombustíveis, como a busca pela redução da dependência do petróleo e dos preços elevados do mesmo e a diminuição dos problemas climáticos e ambientais (MENDES, 2008).

Os biocombustíveis são produzidos a partir de biomassa renovável, podendo ser empregados diretamente ou mediante alterações em motores a combustão interna ou para outro tipo de geração de energia. Desta forma, os biocombustíveis podem substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil. Exemplos de biocombustíveis são o biodiesel, o etanol e outras substâncias estabelecidas em regulamento pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) (ANP, 2016).

Quando comparado aos combustíveis fósseis, os biocombustíveis emitem menos poluentes durante o processo de combustão e sua síntese consiste em um processo mais limpo. Assim, configura-se o biodiesel como um biocombustível bastante promissor, pois se trata de uma alternativa para substituição do óleo diesel, sendo que sua queima pode emitir em média 48% menos monóxido de carbono, 47% menos material particulado e 67% menos hidrocarbonetos quando comparada a queima do diesel de petróleo (ANP, 2015).

Considerando as fontes de matérias-primas utilizadas, o biodiesel pode ser classificado em primeira, segunda e terceira geração. Quando de primeira geração, utiliza-se uma fonte comestível como, por exemplo, o óleo de soja. Já os de segunda e terceira geração são obtidos a partir de plantas não comestíveis e resíduos (SILVA, 2014).

A fim de eliminar possíveis conflitos entre produção de biomassa e o setor alimentício, pesquisas estão em desenvolvimento e incluem modelos que evitam o uso massivo de terras para o cultivo da matéria-prima. Um exemplo que se enquadra neste contexto é o aproveitamento da biomassa proveniente das microalgas (ARCEO, 2012).

As microalgas apresentam um enorme potencial para suprir a crescente demanda de energia prevista para as próximas décadas, pois possuem várias

vantagens quando comparadas com as culturas terrestres tradicionais na produção de biocombustíveis. O cultivo de microalgas não demanda de terras e água de qualidade e apresenta consumo de água menor do que o das plantas terrestres, podendo também reutilizar água residual em seu crescimento. Além disso, as microalgas fotossintetizantes apresentam uma alta eficiência na conversão da luz solar em biomassa, fazendo com que a produtividade seja muito maior do que as obtidas pelas principais culturas terrestres (AZEREDO, 2012; ORTENZIO *et al.*, 2015).

A maioria das espécies de microalgas apresenta crescimento mais rápido que as plantas terrestres, possibilitando maior rendimento de biomassa. A capacidade de remoção do CO₂ do meio ambiente por esses organismos durante a fotossíntese consiste em um processo bastante eficaz de remoção deste gás da atmosfera. As microalgas do gênero *Nannochloropsis* atraem cada vez mais o interesse de pesquisadores devido sua alta taxa de acumulação de biomassa e alto teor de lipídios (MAL *et al.*, 2014; PROCÓPIO, 2014).

1.1. Problema de pesquisa

O biodiesel produzido a partir de microalgas ainda não apresenta valores competitivos no mercado. Isto se deve ao custo elevado de algumas etapas da produção, comprovando a necessidade de aperfeiçoar cada operação unitária inerente ao processo, na tentativa de tornar a produção de biodiesel a partir de microalgas economicamente viável (ARCEO, 2012).

Uma das etapas que apresenta elevado custo é a extração do óleo que antecede a produção de biodiesel a partir de microalgas.

1.2. Justificativa

Um método que tem se tornado promissor na redução do custo final do biodiesel é a transesterificação direta das microalgas, que elimina a etapa de extração do óleo. Este método simplifica a produção e reduz as unidades de processamento e, conseqüentemente, custo global do processo (LI *et al.*, 2011).

O presente estudo se justifica pela necessidade de investigar a possibilidade da remoção da etapa de extração do óleo na produção do biodiesel de microalgas da espécie *Nannochloropsis oculata*.

2 OBJETIVOS

2.1. Objetivo principal

O presente estudo tem como objetivo principal analisar a influência das variáveis temperatura e tempo na produção do biodiesel via transesterificação direta de biomassa de microalgas da espécie *Nannochloropsis oculata*, identificando as condições que proporcionam rendimento máximo do extrato rico em biodiesel.

2.2. Objetivos específicos

- Realizar uma revisão bibliométrica sobre produção de biodiesel a partir de microalgas do gênero *Nannochloropsis*;
- Realizar o cultivo de microalgas e extração da biomassa.
- Realizar a transesterificação direta da biomassa microalgal seguindo o planejamento fatorial 3^2 e calcular o rendimento mássico do extrato rico em biodiesel obtido em cada experimento.
- Caracterizar o biodiesel de maior rendimento quantitativamente quanto ao índice de acidez e qualitativamente através da análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).
- Realizar uma análise estatística do planejamento fatorial a fim de estudar a influência da temperatura e do tempo no rendimento mássico do extrato rico em biodiesel.

3 CONTEXTUALIZAÇÃO

3.1. Microalgas

As microalgas são definidas como organismos unicelulares microscópicos que habitam diversos ambientes, em sua maioria, marinhos. Possuem enorme capacidade de produzir biomassa por unidade de área e tempo. Outra característica é que algumas espécies são capazes de armazenar grandes quantidades de óleo (AZEREDO, 2012).

Quanto ao metabolismo, as microalgas podem ser autotróficas, heterotróficas e mixotróficas. No metabolismo autotrófico, utilizam a fotossíntese como fonte energética, logo o meio de cultivo demanda nutrientes e luz para sobrevivência das microalgas. No heterotrófico é necessário fornecer nutrientes para que o metabolismo ocorra na ausência de luz. No regime mixotrófico, atuam o metabolismo heterotrófico e autotrófico simultaneamente (MORAIS, 2011).

A biossíntese de lipídios das microalgas é afetada por fatores químicos e físicos. Como fatores químicos, pode-se citar a disponibilidade de nutrientes, a salinidade e o pH do meio de cultura. Já em relação aos físicos, tem-se a intensidade luminosa e a temperatura (AZEREDO, 2012).

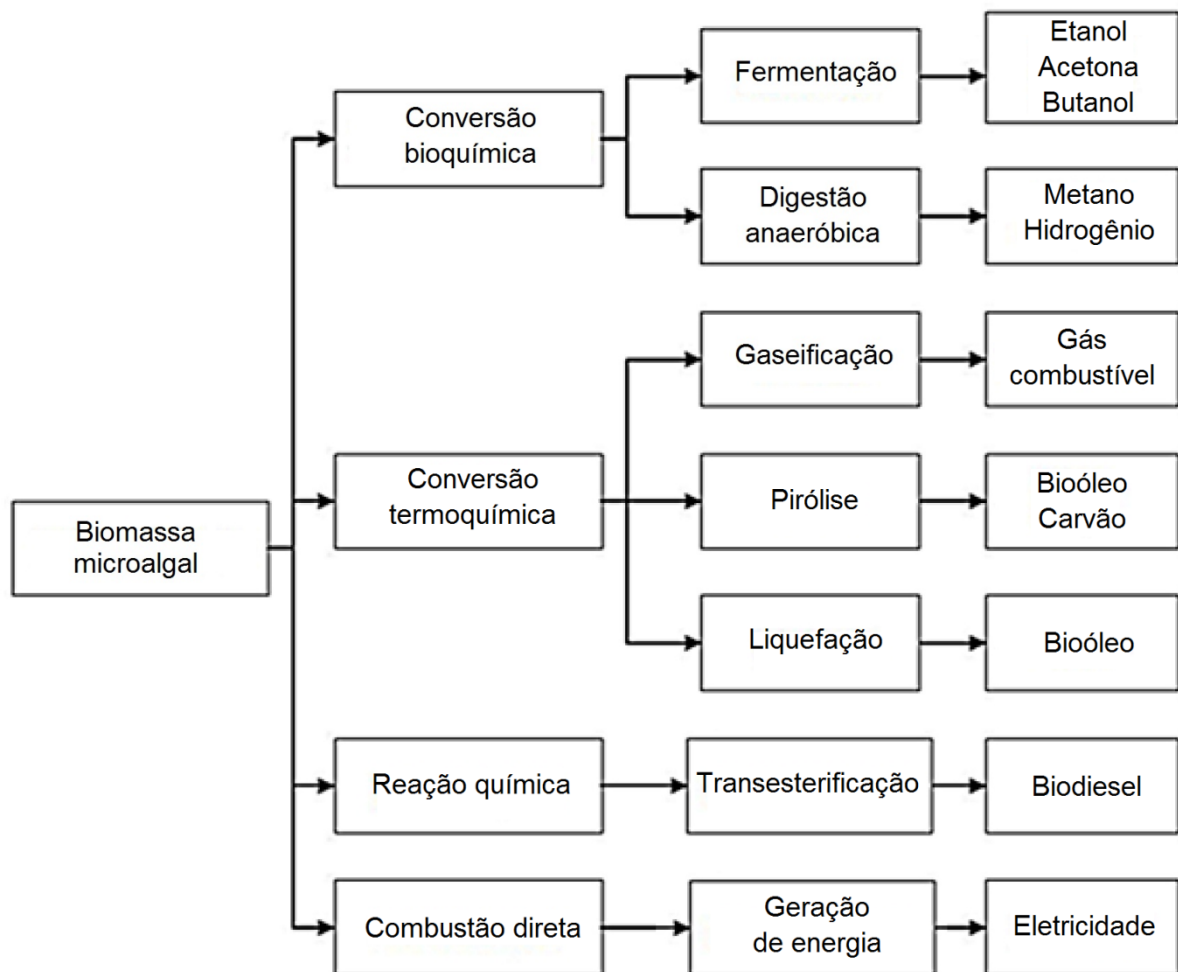
Para produzir biomassa a partir das microalgas, é necessário passar por várias etapas até o produto final. A primeira etapa consiste no cultivo, que demanda energia solar, água, CO₂ e outros nutrientes como nitrogênio e fósforo. Em seguida, é feita a coleta da biomassa e secagem da mesma para a redução da umidade do material, tornando-o mais adequado para o processamento industrial, seja para produção de biocombustíveis ou outros produtos (AZEREDO, 2012).

A separação da biomassa do meio de cultivo consiste em uma etapa complexa e custosa (em geral, este custo representa mais de 1/3 do total da produção de óleo). Isso ocorre devido ao pequeno tamanho das células, que podem variar de 0,2 a 30 µm, e aos meios muito diluídos (UDUMAN *et al.*, 2010).

A floculação, processo integral de aglomeração das partículas, é um método de separação eficaz e de baixo custo. O agente floculante TANFLOC é um polímero orgânico catiônico obtido por meio de um processo de lixiviação da casca da Acácia negra (*Acácia mearnsii de wild*), constituído basicamente por tanato quaternário de amônio. Uma grande vantagem deste floculante é o fato dele ser biodegradável (CASTRO-SILVA *et al.*, 2004; VAZ *et al.*, 2010).

Existem várias possibilidades de aproveitamento para as microalgas, como no tratamento de efluentes, na queima de biomassa para geração de energia, na alimentação e na produção de biocombustíveis (SACCHI, 2015). Na Figura 1 é possível observar as várias finalidades energéticas para a biomassa microalgal, bem como os principais métodos de produção.

Figura 1 - Diferentes tipos de uso energético para a biomassa microalgal.



Fonte: adaptado de Borges (2014).

Além dessas inúmeras aplicações, o cultivo de microalgas minimiza possíveis conflitos de terra, pois utiliza pequenas áreas durante sua produção. Por não demandar terras aráveis, sua produção pode ser realizada em regiões desérticas e/ou em solo degradado. Além disso, sua produção pode ser realizada durante todo

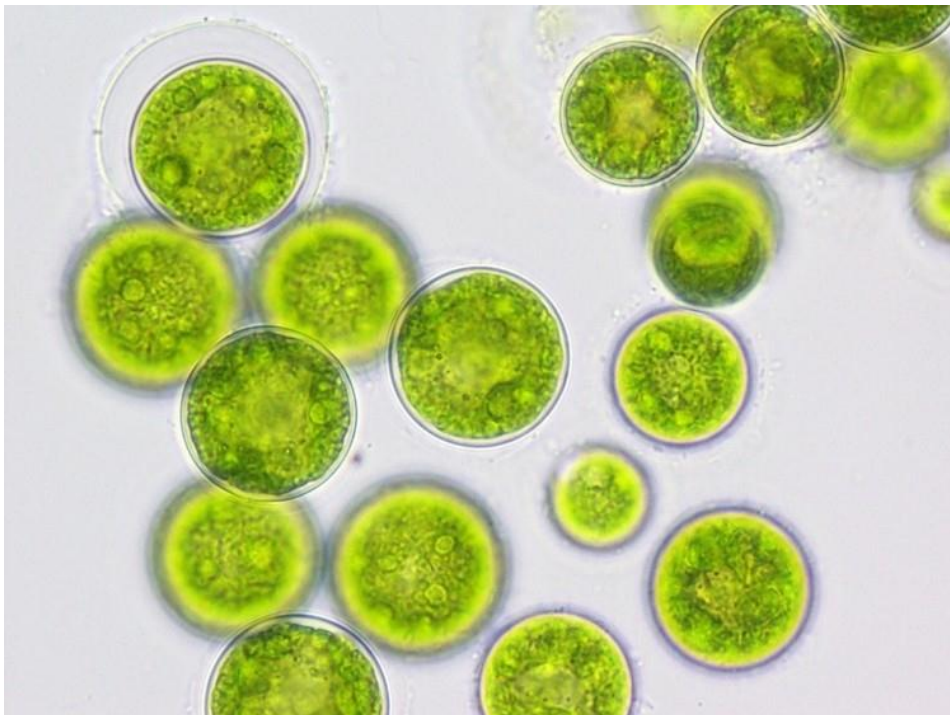
o ano e não demanda aplicação de herbicidas ou pesticidas, diferenciando-se do regime de safras agrícolas (ORTENZIO, 2015).

Desta forma, observa-se que as microalgas têm características bem atrativas do ponto de vista produtivo, socioeconômico e ambiental. Entretanto, o êxito biotecnológico destas depende da escolha de espécies com propriedades relevantes e com fácil cultivo, para alcançar uma alta produção com um custo competitivo (MCGINNIS; DEMPSTER; SOMMERFELD, 1997).

3.2. *Nannochloropsis oculata*

A *Nannochloropsis oculata* (Figura 2) é uma espécie de microalga marinha, unicelular, pertencente ao filo *Heterokontophyta*, classe *Eustigmatophyceae* e família *Eustigmataceae*. São amplamente utilizadas na aquicultura em decorrência da facilidade de cultivo, do tamanho pequeno e da velocidade de crescimento acentuada (LOURENÇO, 2006).

Figura 2 - Microalga da espécie *Nannochloropsis oculata*.



Fonte: Daniells (2015)

Araújo *et al.* (2011) avaliaram a produção de biomassa e óleo de 10 espécies. O resultado da pesquisa apontou a *Nannochloropsis oculata* como uma das

espécies mais resistentes e de maior produção de biomassa e óleo. Outros autores, como Lim *et al.* (2012), também identificaram a *Nannochloropsis oculata* como melhores produtoras de lipídios tanto em ambientes fechados como abertos. Ao analisarem o conteúdo lipídico de alguns gêneros de microalgas, Ma *et al.* (2016) observaram que o gênero *Nannochloropsis* apresenta destaque (Tabela 1).

Tabela 1 - Teor de lipídicos de alguns gêneros de microalgas.

| Gênero de microalgas | Conteúdo total de lipídios (%) |
|-------------------------------|---------------------------------------|
| <i>Nannochloropsis</i> | 37 – 60 |
| <i>Isochrysis</i> | 25 – 33 |
| <i>Dunaliella</i> | 23 |
| <i>Haematococcus</i> | 16 – 35 |
| <i>Neochloris</i> | 2 – 47 |
| <i>Phaeodactylum</i> | 20–30 |
| <i>Cryptocodinium</i> | 20 |
| <i>Spirulina</i> | 7,6 – 8,2 |
| <i>Tetraselmis</i> | 8 |
| <i>Scenedesmus</i> | 12 – 14 |

Fonte: adaptado de Ma *et al.* (2016).

Ribeiro *et al.* (2016) estudou a composição dos principais ácidos graxos encontrados na espécie *Nannochloropsis oculata* (Tabela 2).

Tabela 2 - Composição dos principais ácidos graxos encontrados na microalga da espécie *Nannochloropsis oculata*.

| Cadeia carbônica | Composição |
|------------------|------------|
| C8 | 0,19 |
| C12 | 0,38 |
| C14 | 5,30 |
| C15 | 2,56 |
| C16 | 44,99 |
| C17 | 0,67 |
| C18 | 17,66 |
| C20 | 21,06 |
| C21 | 0,18 |
| C22 | 6,22 |
| C23 | 0,52 |
| C24 | 0,27 |

Fonte: adaptado de Ribeiro *et al.* (2016).

Observa-se que os ácidos graxos de maior composição na microalga da espécie *Nannochloropsis oculata* apresentam cadeia de 16, 18 e 20 carbonos.

3.3. Biodiesel

Consiste em um combustível composto de ésteres derivados de ácidos carboxílicos de cadeia longa, produzido a partir da transesterificação e que atenda à especificação contida no Regulamento Técnico da Resolução ANP nº 45, de 25 de agosto de 2014. Este regulamento estabelece que o valor do índice de acidez do

biodiesel deve ser no máximo 0,50 mg de KOH para cada grama de combustível (ANP, 2017).

O índice de acidez consiste em um importante fator determinante da qualidade do biodiesel comercial, pois o excesso de acidez do combustível pode causar danos ao motor de combustão (FILHO, 2010).

A produção do biodiesel é realizada por meio de diferentes processos que utilizam fontes renováveis (óleos vegetais ou residuais). Seu uso ocorre através da sua forma pura ou em misturas com o combustível de origem fóssil, em diferentes proporções. O percentual de biodiesel adicionado ao diesel irá determinar sua denominação, por exemplo, para a mistura de 2% de biodiesel e 98% de diesel a denominação é B2, para a mistura de 5% de biodiesel e 95% de diesel a denominação é B5, e assim por diante. Já o biodiesel puro é denominado de B100 (CASTRO, 2009).

Por meio do Programa Nacional da Produção e Uso de Biodiesel (PNPB), a Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, fixou um percentual mínimo obrigatório de 2%, em volume, de adição de biodiesel ao óleo diesel, entrando em vigor em janeiro de 2008 (ANP, 2017). O percentual obrigatório foi aumentando ao longo dos anos e atingiu 10% em 2018 (Tabela 3).

Tabela 3 - A evolução da porcentagem mínima obrigatória de adição de biodiesel ao diesel comercial de 2008 até 2018.

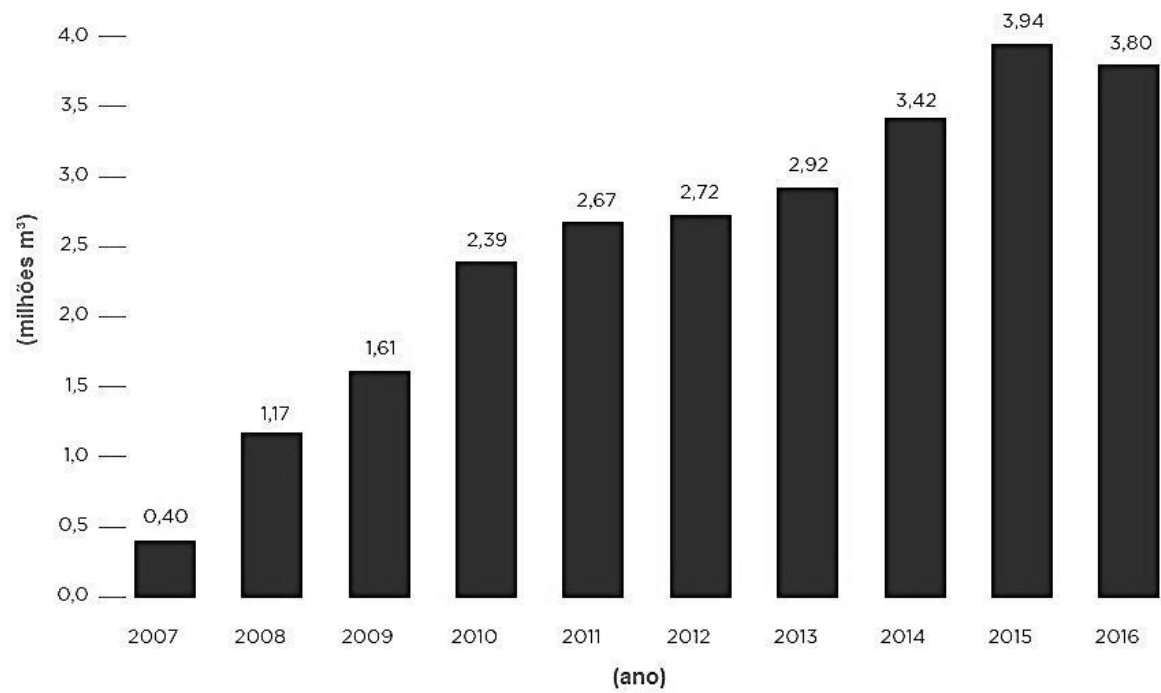
| Período | Percentual obrigatório (%) |
|---|-----------------------------------|
| De janeiro de 2008 até junho de 2009 | 2 |
| De julho de 2008 até junho de 2009 | 3 |
| De julho até dezembro de 2009 | 4 |
| De janeiro de 2010 até julho de 2014 | 5 |
| De agosto até outubro de 2014 | 6 |
| De novembro de 2014 até fevereiro de 2017 | 7 |
| De março de 2017 até fevereiro de 2018 | 8 |
| A partir de março de 2018 | 10 |

Fonte: adaptado de ANP (2017; 2018).

Em 2013, a produção anual de biodiesel no país era de 2,9 bilhões de litros e uma capacidade instalada, no mesmo ano, de cerca de 7,9 bilhões de litros, colocando o país entre os maiores produtores e consumidores de biodiesel do mundo (ANP, 2014). Já em 2014, a capacidade nominal para produção de biodiesel (B100) no Brasil era de cerca de 7,7 milhões de m³, entretanto, a produção nacional foi de 3,4 milhões de m³, o que correspondeu a 44,3% da capacidade total (ANP, 2015).

Em 2015, a produção de B100 foi de 3,9 milhões de m³, 15,1% maior do que em 2014. Porém, essa produção correspondeu apenas 53,3% da capacidade total, pois a capacidade nominal para produção em 2015 era de cerca de 7,4 milhões de m³ (ANP, 2016). Já em 2016, a capacidade nominal de produção do B100 foi de cerca de 7,4 milhões de m³. Contudo, a produção foi de 3,8 milhões de m³, correspondendo a 51,3% da capacidade total (ANP, 2017) (Figura 3).

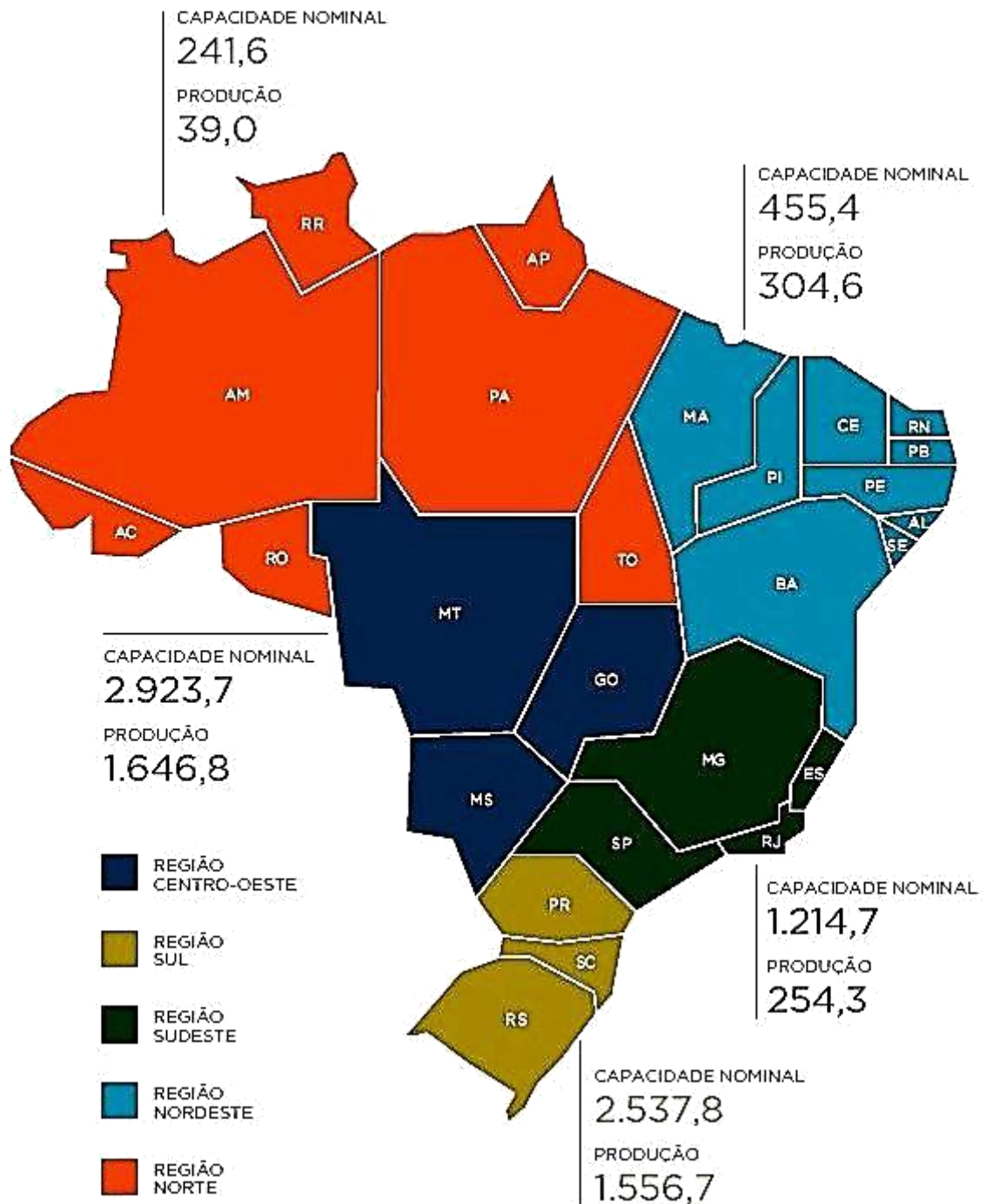
Figura 3 - Evolução da produção de biodiesel no Brasil de 2007 a 2016.



Fonte: ANP (2017).

Considerando as especificidades de cada região do Brasil, país de dimensões continentais, é possível observar as diferentes capacidades nominais e produção real das regiões centro-oeste, sul, sudeste, nordeste e norte (Figura 4).

Figura 4 - Capacidade nominal e produção real de biodiesel B100, segundo grandes regiões (mil m³ / ano) em 2016.

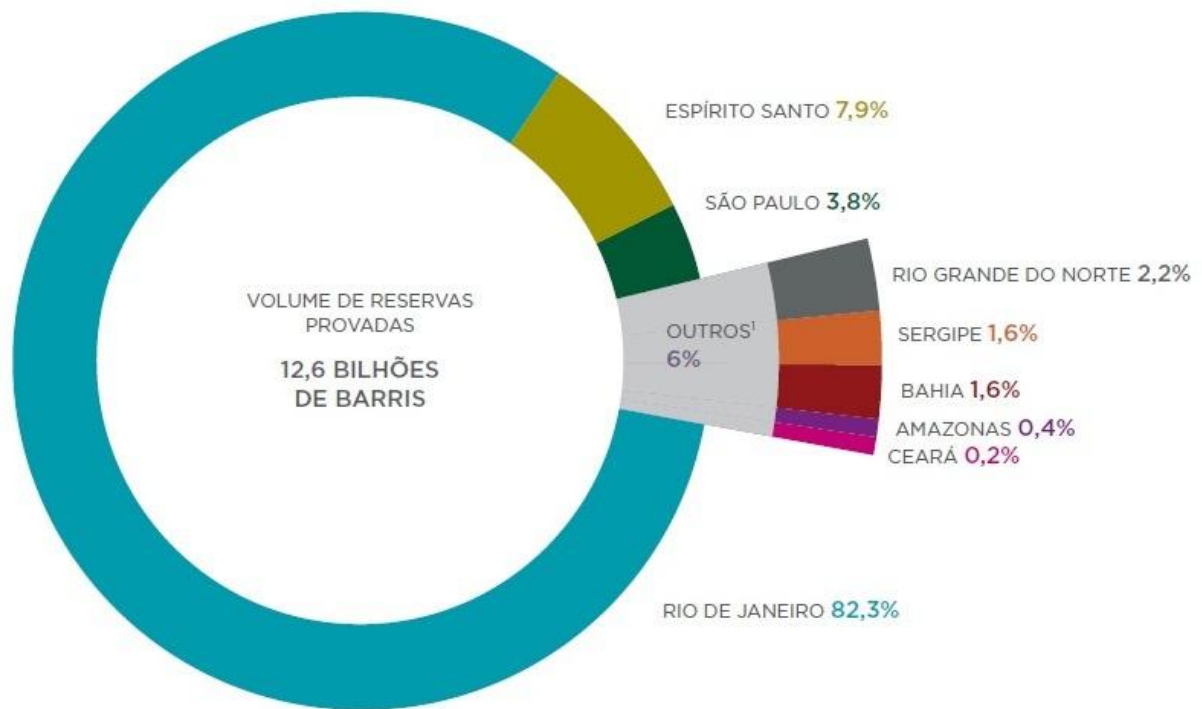


Fonte: ANP (2017).

As regiões centro-oeste e sul são as maiores produtoras de biodiesel e as que possuem maiores capacidades. Observa-se que a região sudeste produz pouco biodiesel comparando com sua capacidade nominal. Isso pode ser justificado pelo

fato dessa região conter os estados (Rio de Janeiro, Espírito Santo e São Paulo) que detêm a maior parte das reservas de petróleo do país (Figura 5), tendo seu foco na produção de combustíveis derivados de petróleo (ANP, 2017).

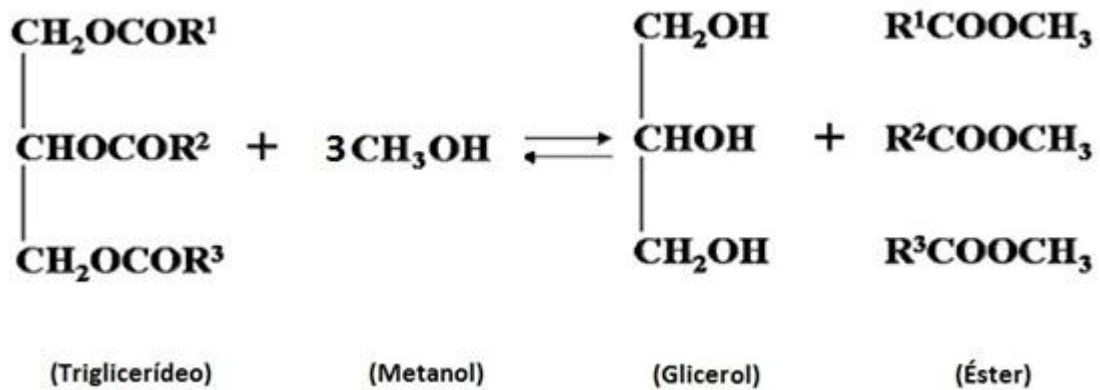
Figura 5 - Distribuição percentual das reservas de petróleo.



Fonte: adaptado de ANP (2017).

O biodiesel pode ser obtido através de diferentes meios de produção, sendo a reação de transesterificação o mais comum. Sua síntese é realizada através da reação de um triglicerídeo reagindo com um álcool, formando ésteres e glicerol. Para acelerar essa reação utilizam-se catalisadores ou álcool supercrítico. Devido à estequiometria da reação, a partir de um mol de triglicerídeo, são obtidos três mols de ésteres (SILVA FILHO, 2010; SILVA, 2010) (Figura 6).

Figura 6 - Representação da transesterificação metílica do triglicerídeo.



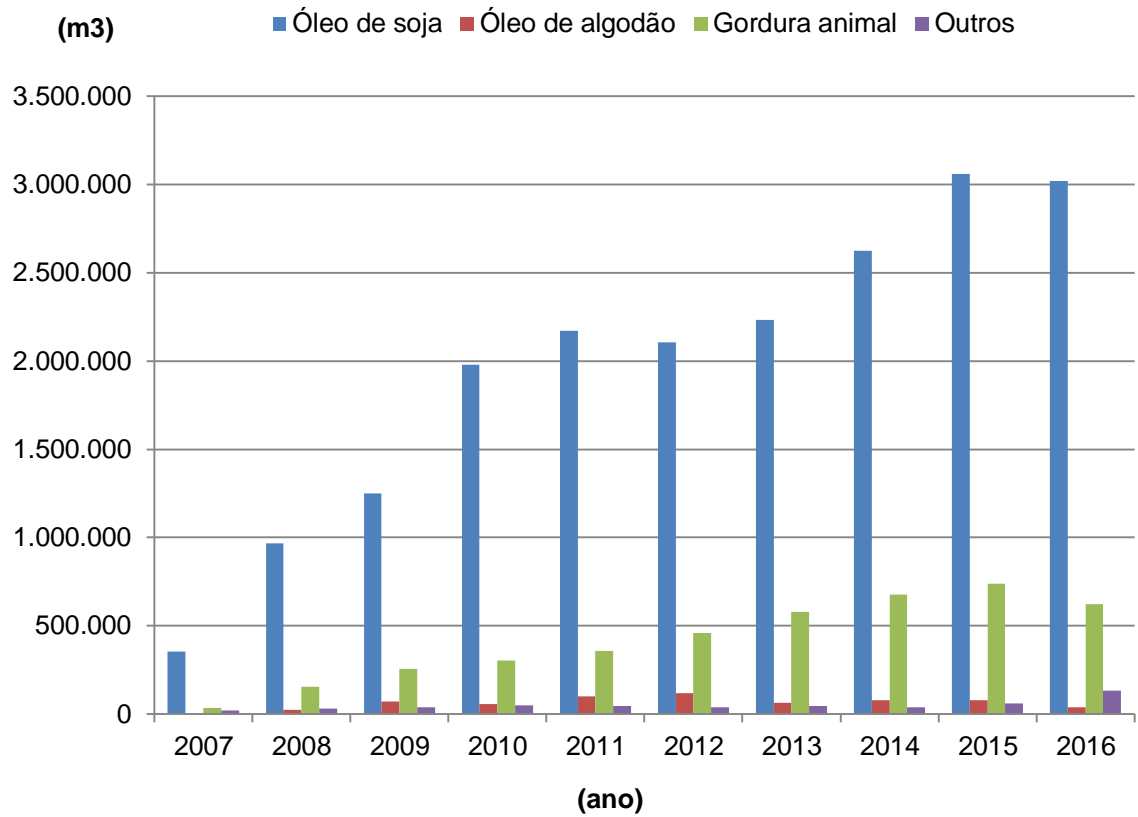
Fonte: adaptado de Souza (2006).

A razão molar entre o triglicerídeo e o álcool é de 3:1, entretanto, se faz necessário excesso de álcool para elevar o rendimento da conversão do triglicerídeo em éster e melhorar a eficiência da separação entre o éster e o glicerol (MACEDO; MACEDO, 2004).

Ao final da reação de transesterificação observam-se duas fases distintas que podem ser separadas por decantação ou centrifugação. O glicerol consiste na fase mais densa (fase inferior) e a mistura de ésteres na fase menos densa (fase superior). Essa reação é influenciada por diversos fatores como, por exemplo, a temperatura e o tempo reacional, o tipo de matéria-prima (óleo, álcool e catalisador) e a proporção entre os reagentes (CASTRO, 2009; SILVA FILHO, 2010).

Quanto à matéria prima mais utilizada na produção de biodiesel (B100) no Brasil, tem-se o óleo de soja, equivalente a 79,1% do total. A segunda no ranking de produção das usinas é a gordura animal (16,3% do total), seguida pelo óleo de algodão (1% do total) e outros materiais graxos com 3,5% de participação (ANP, 2017) (Figura 7).

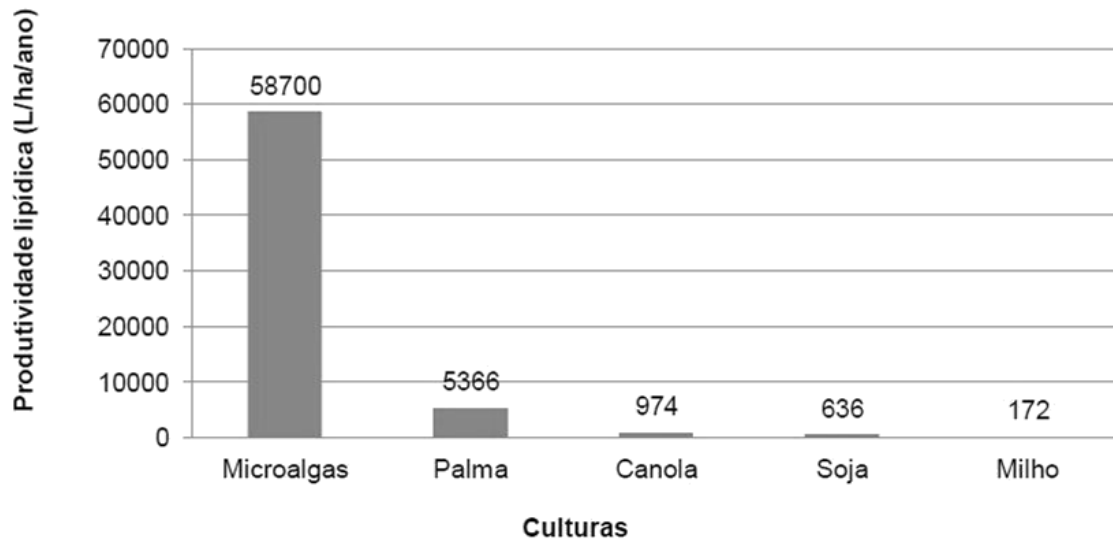
Figura 7 - Gráfico das matérias primas utilizadas na produção do biodiesel (B100) de 2007 até 2016.



Fonte: adaptado de ANP (2017).

Apesar do óleo de soja ser a principal matéria prima utilizada na produção de biodiesel, as microalgas apresentam destaque quanto a produção lipídica (Figura 8).

Figura 8 - Produtividade lipídica de diferentes matérias primas.



Fonte: Chisti (2007).

A produção de biodiesel a partir de microalgas tem o potencial de superar outros tipos de matéria prima. Estudos indicam que seriam necessários 140 milhões de galões de biodiesel para substituir produtos a base de petróleo a cada ano. Fazendo-se o uso de microalgas, para atingir esta meta as companhias precisariam de uma área de cerca de 95 milhões de acres, este valor é pequeno quando comparado aos bilhões de acres de outras matérias primas demandariam (JUNIOR, 2014).

3.4. Bibliometria

O desenvolvimento de pesquisas científicas no Brasil tem crescido em ritmo acelerado devido a atuação dos programas de pós-graduação financiados pelo Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela Coordenação de Pessoal de Nível Superior (Capes), pela Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (Fapesp) e por outras fundações de apoio à pesquisa. Décadas atrás, havia no Brasil algumas centenas de pesquisadores com título de doutor, hoje esse número é muito maior. O aumento da capacitação humana somada a melhorias na infraestrutura das universidades e dos institutos de pesquisa gerou um notável aumento em nossa produção de ciência (CHAVES, 2011).

A expansão da ciência e da tecnologia que tem ocorrido nas últimas décadas, tem demandado a avaliação de tais avanços e a determinação dos desenvolvimentos alcançados pelas diversas disciplinas do conhecimento. Neste contexto, surge a importância da medição das taxas de produtividade dos investigadores e dos núcleos de pesquisa, a fim de detectar as instituições e áreas com maiores potencialidades. Para este tipo de medição, torna-se fundamental o uso de técnicas específicas de avaliação que podem ser quantitativas ou qualitativas, ou mesmo uma combinação entre ambas (VANTI, 2002).

A ciência brasileira tem crescido em quantidade e qualidade, contudo o aumento da qualidade tem sido muito menos expressivo do que o da quantidade. O impacto da ciência brasileira, computado pelo número de citações em revistas indexadas pelo *Thomson Institute for Scientific Information* (ISI), a principal referência no assunto, é muito baixo. De modo comparativo, consideremos a Holanda, que está em 14º lugar entre as nações que mais publicam artigos, atrás do Brasil, o 13º colocado. Segundo o ISI, o fator de impacto das publicações holandesas é 9,58, enquanto o das publicações brasileiras é de apenas 0,20. Isto é, em média, cada artigo holandês é 48 vezes mais citado do que um artigo brasileiro. Desta forma, se torna necessário identificar as origens do baixo impacto da nossa ciência e praticar políticas que possam contribuir para sanar essa deficiência (CHAVES, 2011).

A bibliometria surge como uma técnica viável de utilização e pode ser definida como uma análise quantitativa da informação, baseada na aplicação de técnicas estatísticas e matemáticas para descrever aspectos da literatura e de outros meios de comunicação (ARAÚJO, 2006).

Considerando a necessidade de análise e acesso em alguma base de dados científica disponível, a *Web of Science*[®] surge como importante opção por possuir artigos de periódicos e documentos científicos nas áreas de ciências sociais, artes, humanidades e ciências e pode ser acessada via Portal da Capes. Cita-se que por meio da ferramenta “relatório de citações” disponível nesta plataforma, é possível obter informações sobre o número de referências citadas, número de vezes que um autor foi citado e o *h-index* (NEVES e JANKOSKI, 2009).

O citado *h-index* consiste em uma ferramenta para determinar a qualidade relativa de trabalhos (HIRSCH, 2005). De acordo com Thomaz, Assad e Moreira (2011), o *h-index* pode ser definido como o número de artigos publicados, os quais obtenham citações maiores ou iguais a esse número. Por exemplo, um pesquisador

ou uma base de dados com *h-index* de dez possui, pelo menos, dez artigos publicados, cada um deles com, pelo menos, dez citações.

Estudos apontam que, até 2020, o Brasil provavelmente se tornará a 5ª economia do mundo, atrás apenas de EUA, China, Japão e Alemanha. Essa expansão econômica implicará na demanda de grande quantidade de mão de obra qualificada. Desta forma, se não realizarmos um grande avanço na área da educação, ou nosso desenvolvimento esbarrará na barreira da capacitação humana, ou o país terá de importar grande quantidade de mão de obra qualificada (CHAVES, 2011).

A medição das taxas de produtividade dos investigadores e dos núcleos de pesquisa pode auxiliar na determinação das prioridades no momento da alocação de recursos públicos (VANTI, 2002).

3.5. Planejamento experimental e análise estatística

Uma pesquisa científica deve conter a identificação do problema científico, a formulação da hipótese de pesquisa, revisão da literatura, construção do plano de pesquisa, coleta dos dados, análise e interpretação dos dados, conclusões e apresentação dos resultados (SILVA, 2007).

O experimento consiste em um método de pesquisa explicativa em que o pesquisador impõe os níveis de uma ou mais variáveis na amostra a fim de derivar inferências referentes aos efeitos dessas variáveis sobre a variável resposta. Um experimento científico visa novo conhecimento, não necessariamente com a finalidade de sua aplicação. Por outro lado, um experimento tecnológico visa à geração de conhecimento útil objetivando a sua aplicação prática (SILVA, 2007).

A demanda do progresso científico e tecnológico impulsionou o desenvolvimento da estatística, a qual está intimamente relacionada ao avanço das diversas áreas da ciência. O emprego de métodos estatísticos pode contribuir grandemente para a eficiência da pesquisa científica e, particularmente, para a validade das inferências que ela deriva. A estatística pode ser definida como um conjunto de métodos usados para coletar, organizar e analisar informações numéricas, apresentando vários campos de aplicação, como na engenharia, na medicina e na agronomia (VIEIRA; WADA, 2004; SILVA, 2007).

Os procedimentos de inferência estatística demandam o estabelecimento de um modelo estatístico, isto é, um modelo que represente a relação entre as variáveis respostas e as variáveis explanatórias. Deste modo, na conclusão do planejamento

de experimentos deve ser formulado o modelo estatístico para a análise dos dados (SILVA, 2007).

Experimento fatorial consiste na pesquisa dos efeitos de duas ou mais variáveis explanatórias em um único experimento, em vez da realização de um experimento separado para cada uma dessas variáveis. Os níveis de um experimento fatorial e as combinações distintas dos níveis de dois ou mais fatores experimentais definidos para a amostra são denominados condições experimentais (SILVA, 2007).

O teste t de Student consiste em uma distribuição usada para descrever o comportamento de médias em populações normais. Esse teste fornece um p-valor (valor de probabilidade) que permite inferir, com base nos dados, se as variáveis apresentam efeito significativo. Por convenção, se o p-valor é menor do que 0,05 os resultados são estatisticamente significativos (REIS, 2016; VIEIRA, 2008).

4 METODOLOGIA

4.1. Revisão bibliométrica

A fim de estudar o andamento de trabalhos científicos de alta relevância que apontam técnicas de produção de biodiesel a partir de microalgas do gênero *Nannochloropsis*, foi realizada uma revisão bibliométrica da base de dados obtida na plataforma *Web of Science*[®]. A metodologia consistiu em uma busca por trabalhos que tivessem em seu título as palavras “biodiesel” e “*Nannochloropsis*” entre os anos 2000 e 2017. Para refinar os dados, selecionaram-se apenas os trabalhos na língua inglesa e em formato de artigo.

Para adquirir informações sobre a base, gerou-se o relatório de citações que forneceu o valor do *h-index*, número total de citações, o número de citações de artigos por ano, a quantidade de publicações por país e contribuição das diferentes áreas de pesquisa. Com base nesses dados foi possível gerar o gráfico de número de publicações por ano, do percentual de contribuição das diferentes áreas de pesquisa e da quantidade de publicações por país.

Objetivando uma melhor visualização dos resultados, os arquivos encontrados na plataforma *Web of Science*[®] foram salvos em extensão de arquivo “.txt”, sem formatação e inseridos no *software CiteSpace*[®] versão 5.0. Através da ferramenta *geographical*, foi possível gerar um mapa no *Google Earth*[®] contendo a localização geográfica dos respectivos autores encontrados.

Os artigos foram ordenados do mais citado para o menos citado por ano e, em seguida, foi realizada a leitura de um número de artigos igual ao valor *h-index* desta base, com isso foi possível analisar os artigos de maior relevância indexados na *Web of Science*[®]. Desta forma, foi possível extrair os principais resultados e gerar a matriz SWOT, identificando as forças, fraquezas, oportunidades e ameaças dessa temática de pesquisa.

4.2. Obtenção dos parâmetros de produção do biodiesel

A fim de encontrar um estudo científico, de alta relevância, que apontasse técnicas de produção de biodiesel por meio da transesterificação direta das microalgas, foi realizada previamente uma busca na base de dados da plataforma *Web of Science*[®]. A metodologia consistiu em pesquisar trabalhos que tivessem em seu título as palavras “*direct*”, “*transesterification*” e “biodiesel” entre os

anos 2000 e 2017. Selecionaram-se apenas os trabalhos na língua inglesa e em formato de artigo. Os artigos obtidos (25 arquivos) foram ordenados do mais para o menos citado e o artigo com maior número de citações foi o Johnson e Wen (2009), com um total de 233 citações. Por meio da análise deste artigo foi possível definir os parâmetros de produção de biodiesel.

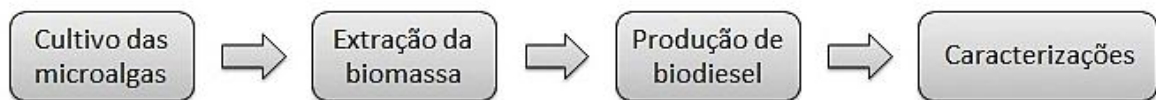
Em seu estudo, Johnson e Wen (2009) relataram um bom resultado de rendimento mássico de biodiesel ao realizar a transesterificação direta de biomassa da microalga da espécie *Schizochytrium limacinum*, no qual foi utilizada a proporção de 3,4 mL de metanol, 0,6 g de ácido sulfúrico e 4 mL de hexano para cada 1 g de biomassa seca. A reação ocorreu a 90°C durante 40 min. Outra observação feita pelos autores é que na ausência de solvente o rendimento obtido é muito baixo, indicando que o solvente é essencial para esse tipo de reação.

A proporção de reagentes utilizada por Johnson e Wen (2009) foi adotada nesta pesquisa, aumentando-se a escala em cinco vezes a fim de obter uma maior quantidade de produto final. A condição de temperatura (90°C) e de tempo (40 min) utilizada por esses autores foi adotada como ponto central do planejamento de experimentos realizado no presente estudo.

4.3. Método experimental

Consistiu no cultivo das microalgas do gênero *Nannochloropsis oculata*, seguido da extração da biomassa, produção do biodiesel e, por fim, caracterizações do produto final (Figura 9).

Figura 9 - Fluxograma das etapas da metodologia experimental.



Fonte: autor.

4.3.1. Cultivo das microalgas

Nessa etapa utilizaram-se parâmetros de cultivo adaptados da metodologia de Guillard (1975) e Lourenço (2006). O cultivo foi realizado em um fotobiorreator contendo água salgada e nutrientes, com lâmpadas de LED de cor branca (fonte de luz) com potência de 18 W e com bombas de aeração de ar (fonte de CO₂) de 3,5 W com vazão de 6 L min⁻¹.

Importante mencionar que, a fim de eliminar os microrganismos existentes, foi realizado um pré-tratamento da água utilizando cloro. Entretanto, antes da água ser adicionada ao meio de cultivo, o cloro foi completamente removido com a adição de 1 g de tiosulfato de sódio para cada 1 L de água salgada. Esse procedimento foi realizado, pois a presença de cloro causaria danos às microalgas. A Tabela 4 especifica a composição das soluções de nutrientes utilizadas no meio de cultivo.

Tabela 4 - Concentração dos componentes das soluções de fosfato, nitrato e silicato utilizadas no cultivo.

| Solução | Composição | Concentração |
|--------------------|-------------------|-----------------------|
| Solução de Nitrato | Nitrato de Sódio | 150 g L ⁻¹ |
| | Cloreto de Ferro | 13 g L ⁻¹ |
| | EDTA | 10 g L ⁻¹ |
| Solução de Fosfato | Fosfato de Sódio | 16 g L ⁻¹ |
| | Vitamina B12 | 2 mL L ⁻¹ |
| Solução de Sílica | Silicato de Sódio | 60 g L ⁻¹ |

Fonte: Adaptado de Guillard (1976) e Lourenço (2006).

O início de cada cultivo ocorreu a partir de uma cepa de 1 L. Para tal, empregaram-se duplicações do volume de solução com água salgada a cada 3 dias, seguido da adição dos nutrientes (nitrato, fosfato e silicato) na proporção 1 mL para 1 L de cultivo. Este processo possibilitou alcançar um volume final de 128 L (Figura 10), à base de um ambiente ideal de luz e aeração (fonte de CO₂) para proporcionar às microalgas a realização da fotossíntese.

Figura 10 - Fluxograma das etapas de duplicação desenvolvidas no estudo.



Fonte: autor.

4.3.2. Extração da biomassa

No fim do cultivo, a biomassa foi separada por meio de adição de TANFLOC, um floculante natural, na proporção 0,375 g para 1 L de cultivo. Após adição do floculante, percebe-se que a biomassa passa por um processo de decantação e, aos poucos, tende a se concentrar no fundo do fotobiorreator. O processo de decantação ocorreu durante um período de 12 h, tempo permitido para deixar em repouso as microalgas em contato com TANFLOC. Finalizado esse prazo, a biomassa úmida concentrada foi filtrada utilizando-se uma bomba a vácuo. Na sequência, a biomassa foi submetida à secagem em estufa, exposta à temperatura de 60°C durante 48h para obtenção da biomassa seca.

4.3.3. Produção do biodiesel

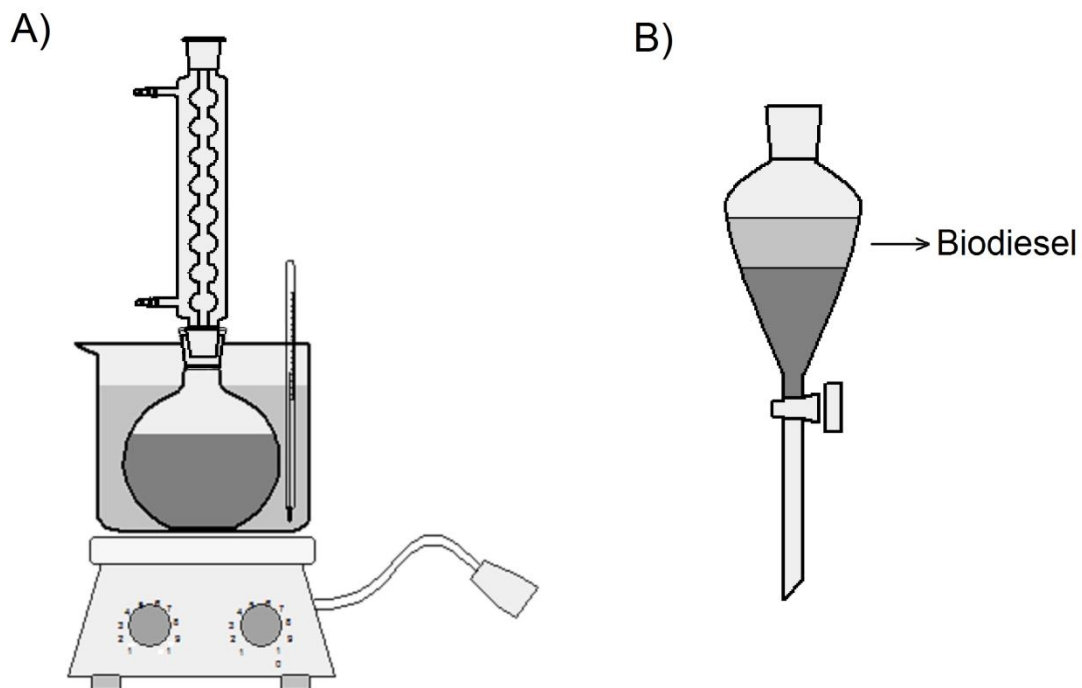
Para produção de biodiesel por meio da transesterificação direta da biomassa seca, foram utilizados 5 g de biomassa, 17 mL de metanol, 20 mL de hexano (solvente) e 3 mL de ácido sulfúrico (catalisador). A proporção dos reagentes foi adaptada de Johnson e Wen (2009).

Na Figura 11 – A, observa-se o desenho esquemático do aparato experimental. Esse sistema consiste de um balão de fundo chato (reator) imerso em um recipiente com óleo de soja (banho de óleo), aquecido por uma chapa de aquecimento com agitação magnética. O recipiente contendo óleo de soja foi posicionado em cima da chapa a 100°C. O aquecimento foi monitorado por termômetro para avaliar a estabilização da temperatura do óleo, a qual foi estabelecida como temperatura de reação. Essa metodologia foi utilizada em cada experimento. Foi escolhido banho de óleo ao invés do banho de água devido ao fato do óleo proporcionar maior faixa de temperatura de operação. A temperatura máxima que a água pode atingir antes da ebulição é de 100°C, enquanto o óleo pode atingir 350°C. Os reagentes (biomassa, ácido sulfúrico, metanol e hexano) foram colocados no balão de fundo chato de 250 mL e, em seguida, adicionou-se um agitador magnético para proporcionar constante agitação à mistura dos reagentes no interior do reator. O balão foi inserido no banho

de óleo para que, desta forma, a reação ocorresse sob agitação e aquecimento sob temperatura controlada. Para evitar a perda dos reagentes voláteis, foi acoplado um condensador.

Ao final de cada reação, o produto obtido foi filtrado para remoção dos resíduos sólidos de biomassa. O filtrado foi colocado em um funil de separação (Figura 11 - B), durante 24 h para que ocorresse a separação de fases de forma completa. A fase superior (biodiesel) foi separada e a massa determinada para o cálculo do rendimento mássico do extrato rico em biodiesel.

Figura 11 - A) Desenho esquemático do reator. B) Desenho esquemático do funil de separação contendo as duas fases da reação de transesterificação.



Fonte: autor.

As condições operacionais foram empregadas em temperatura (90°C) e tempo (40 min), adaptado de Johnson e Wen (2009). Esses parâmetros foram adotados como ponto central. Os experimentos foram realizados seguindo um planejamento fatorial 3^2 , no qual as variáveis temperatura e tempo foram avaliadas em três níveis com duas repetições no ponto central (Tabelas 5 e 6).

Tabela 5 - Variáveis e níveis estudados no planejamento fatorial 3^2 .

| Variáveis | Níveis | | |
|------------------|--------|----|-----|
| | -1 | 0 | 1 |
| Temperatura (°C) | 70 | 90 | 110 |
| Tempo (min) | 20 | 40 | 60 |

Fonte: autor.

Tabela 6 - Matriz do planejamento fatorial 3^2 .

| Experimentos | Variáveis | |
|--------------|------------------|-------------|
| | Temperatura (°C) | Tempo (min) |
| 1 | -1 | -1 |
| 2 | -1 | 0 |
| 3 | -1 | 1 |
| 4 | 0 | -1 |
| 5 | 0 | 0 |
| 6 | 0 | 1 |
| 7 | 1 | -1 |
| 8 | 1 | 0 |
| 9 | 1 | 1 |
| 10 | 0 | 0 |
| 11 | 0 | 0 |

Fonte: autor.

A variável resposta do planejamento fatorial consiste no rendimento mássico do extrato rico em biodiesel, que foi calculado seguindo a Equação 1.

$$\text{Rendimento mássico} = \frac{\text{massa do biodiesel}}{\text{massa da biomassa}} \times 100 \quad (1)$$

4.3.4. Caracterizações

O resultado do planejamento experimental que apresentou maior rendimento mássico do extrato rico em biodiesel foi analisado quantitativamente quanto ao índice de acidez e qualitativamente por espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR).

4.3.4.1. Índice de acidez

A metodologia que foi utilizada para calcular o índice de acidez foi adaptada de Gonçalves *et al.* (2009), no qual em cada amostra de 2 g de biodiesel foram adicionados 255 ml de solução 2:1 (volume : volume) de éter e etanol e 3 gotas de fenolftaleína. Após a homogeneização da solução, esta foi titulada com uma solução 0,1 M de NaOH com fator de correção (F) correspondente a 0,9421. O volume de NaOH gasto para neutralizar a amostra foi de 0,45 mL. O cálculo do índice de acidez foi determinado pela Equação 2.

$$Ac = \frac{V \times F \times 5,61}{P} \quad (2)$$

Em que: Ac = índice de acidez; V = volume (em mL) de NaOH utilizado para titular a amostra; F = fator de correção da solução de NaOH; 5,61 = equivalente em gramas de KOH; P = massa da amostra em gramas.

O método experimental foi realizado em triplicata, sendo o valor final correspondente à média.

4.3.4.2. Espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR)

Esta análise foi realizada por meio de um espectrofotômetro no infravermelho com transformada de Fourier, Cary 630 FTIR, Agilent Technologies, operando na faixa espectral de 400 a 4000 cm^{-1} com 100 *scans* 2 cm^{-1} de precisão. A análise dos picos foi feita através da comparação com os valores de bandas absorção citadas por Barbosa (2007).

4.4. Análise estatística

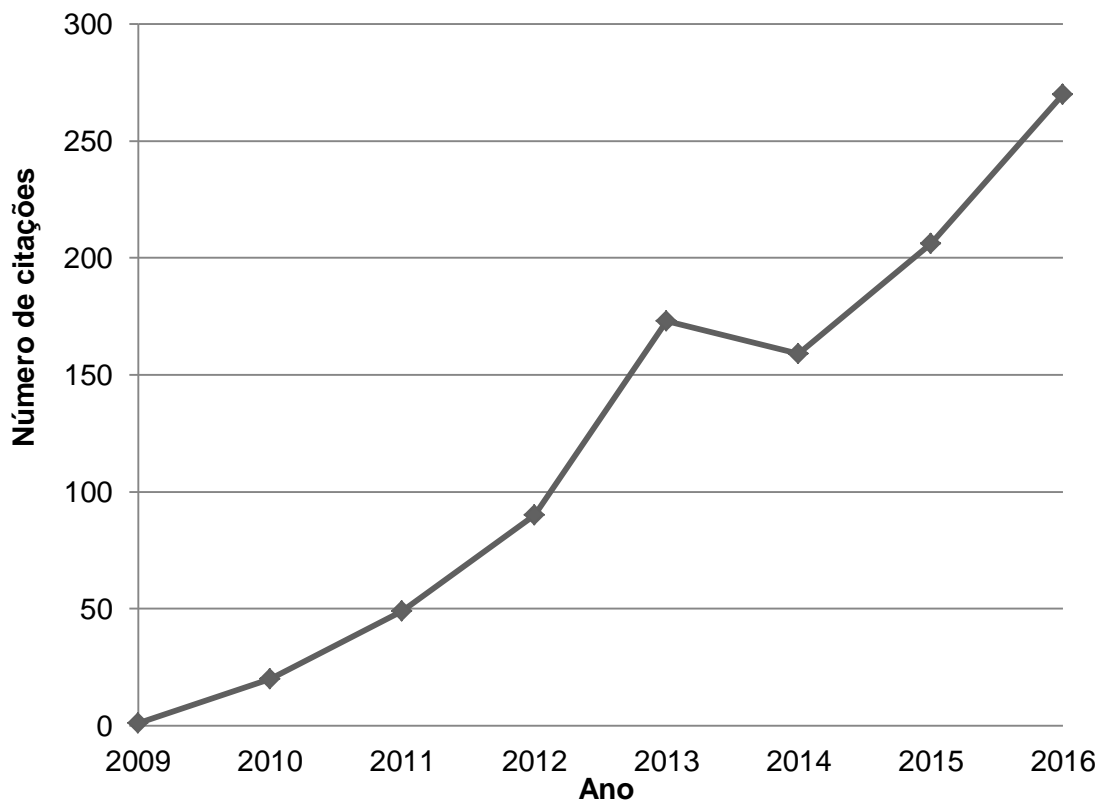
O resultado do planejamento fatorial foi analisado estatisticamente seguindo o teste de hipótese utilizando a distribuição *t-student* com nível de significância de 5% para determinação dos parâmetros significativos do modelo de regressão.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1. Revisão bibliométrica

Após pesquisa e refinamento da base de dados, seguindo a metodologia proposta, foi possível obter um número de 40 artigos. Os dados obtidos pelo relatório de citações revelaram que o número total de citações dessa base foi de 1088. O valor *h-index* encontrado foi de 13, significando que esta base contém, pelo menos, 13 artigos publicados, sendo que cada um possui, pelo menos, 13 citações. Observa-se que a primeira publicação ocorreu em 2009, na Turquia, na revista *Bioresource Technology*, pelos autores Umdü, E. S.; Tuncer, M. e Seker, E. Esse resultado indica que, possivelmente, a Turquia representa um país pioneiro nas publicações desta temática. Na Figura 12, é possível verificar a evolução do número de citações por ano até 2016.

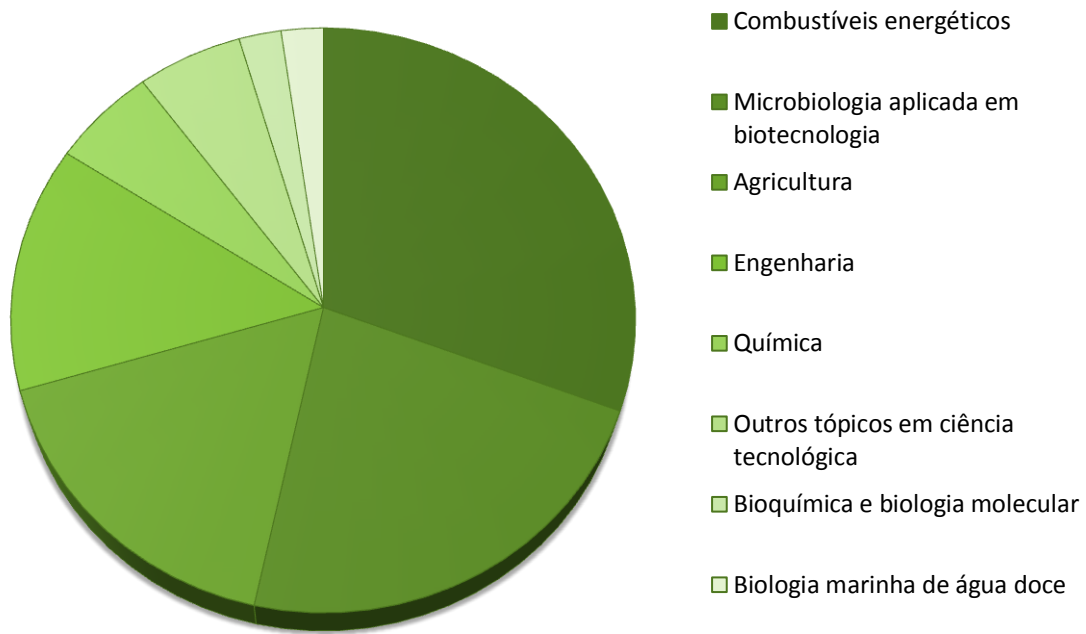
Figura 12 - Gráfico do número de citações por ano.



Fonte: autor.

Observa-se que as citações nessa área surgiram em 2009 e foram, de modo geral, crescendo ao longo dos anos. Na Figura 13, nota-se que existe uma grande contribuição de diferentes áreas de pesquisa nos artigos encontrados neste estudo.

Figura 13 - Percentual da contribuição das diferentes áreas de pesquisa.

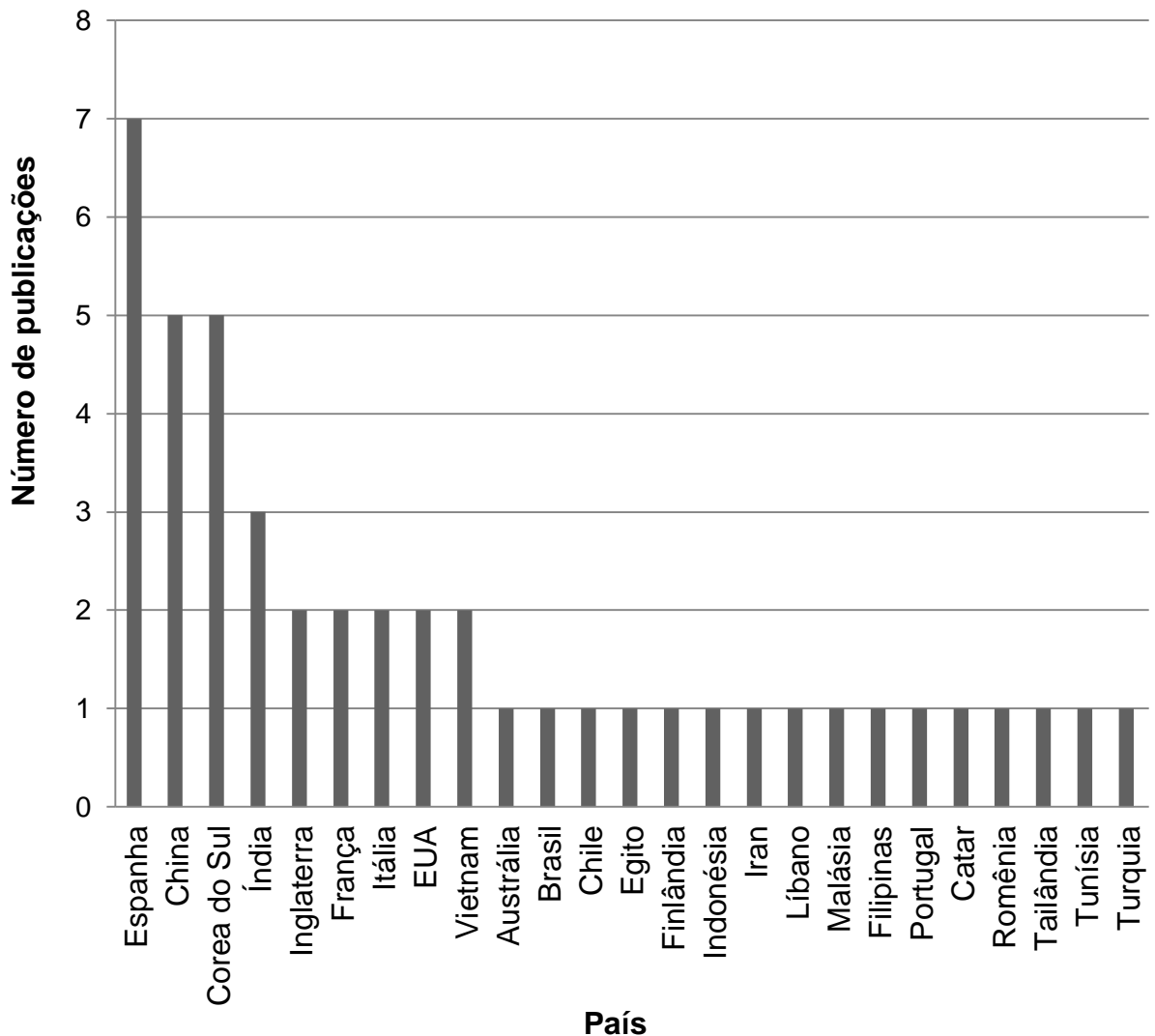


Fonte: autor.

Observa-se que a área de destaque é a de “combustíveis energéticos”, seguida da “microbiologia aplicada em biotecnologia” e da “agricultura”, configurando-se como áreas de maior campo de atuação.

Na Figura 14 é possível observar o gráfico da contribuição dos diferentes países em relação ao número de citações.

Figura 14 - Gráfico do número de publicações por país.

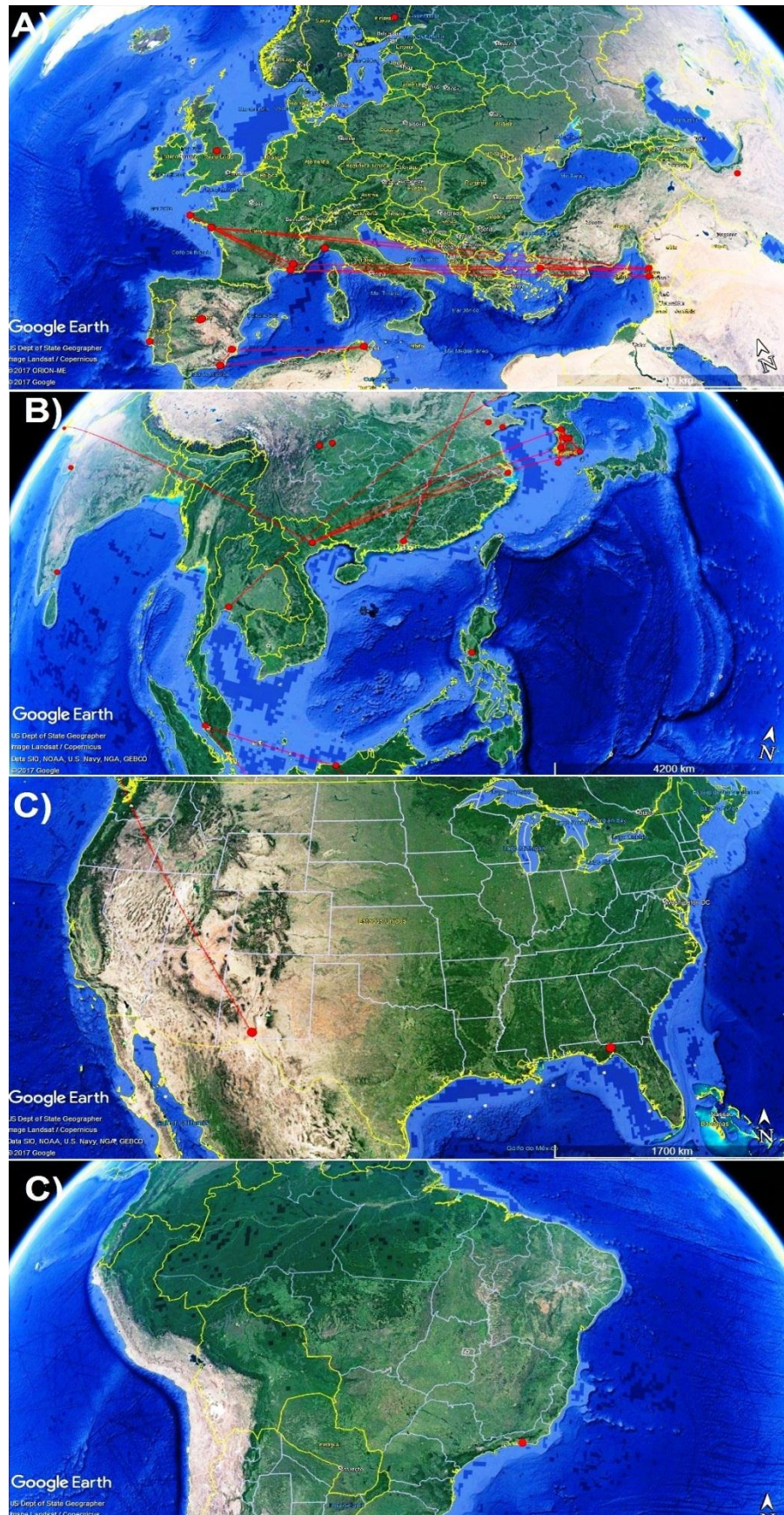


Fonte: autor.

Verificou-se que 25 países publicaram nesta base, sendo que a Espanha se encontra em primeiro lugar no *ranking* de número de citações.

Na busca por existências de conexões entre autores e coautores, em diferentes regiões e continentes no mundo, verificam-se os resultados do software *CiteSpace* com intermédio do software Google Earth (Figura 15). O mapa gerado permite a visualização da localização geográfica dos autores desta base, bem como suas conexões. Desta forma, foram observadas quatro regiões principais, em que “A” representa Europa, “B” Ásia, “C” Estados Unidos e “D” Brasil.

Figura 15 - Mapas da localização dos autores, no qual círculos vermelhos representam a localização e linhas vermelhas os trabalhos realizados em coautoria.



Fonte: autor.

Observa-se que as regiões onde estão os autores que mais contribuem para a presente pesquisa são a Europa e a Ásia. Nos Estados Unidos, por exemplo, existem dois autores que publicaram nesta área. O Brasil possui apenas um autor com artigo indexado na *Web of Science*[®] com título do trabalho envolvendo produção de biodiesel a partir da microalga do gênero *Nannochloropsis*.

Em relação aos principais resultados extraídos da base de dados, cita-se os estudos de Umdu, Tuncer e Seker (2009), que utilizaram catalisadores heterogêneos $\text{CaO}/\text{Al}_2\text{O}_3$ e $\text{MgO}/\text{Al}_2\text{O}_3$ na transesterificação do óleo de microalgas para produzir biodiesel. Foi utilizada a combinação pura e a sintetizada em 50 e 80% em peso pelo método sol-gel, no qual foi observado que os catalisadores puros não são ativados. Os sintetizados com 80% são de 4 a 5 vezes mais ativos que os com 50%. O catalisador de maior atividade foi o $\text{CaO}/\text{Al}_2\text{O}_3$, que pode ser reutilizado pelo menos duas vezes, sendo que para o carregamento de 80% em peso, o rendimento de biodiesel é de 23%, enquanto o do $\text{MgO}/\text{Al}_2\text{O}_3$ é 16%. Usando catalisador $\text{CaO}/\text{Al}_2\text{O}_3$ a 80% em peso, foi observado que o aumento da relação metanol-lipídeo de 6:1 para 30:1, implicou em um aumento no rendimento de biodiesel de 23% para 97,5%, indicando um aumento da taxa de reação de transesterificação com o aumento da quantidade de metanol.

Jazzar *et al.* (2015) estudaram o efeito da proporção de metanol para secar algas, do tempo de reação e da temperatura na produção de biodiesel utilizando microalgas úmidas e secas. O biodiesel foi sintetizado via transesterificação direta sem catalisadores adicionados usando metanol supercrítico. Os rendimentos máximos de biodiesel de 46% e 48% foram atingidos a partir da biomassa úmida e seca, respectivamente, a 255 e 265°C, com tempo de reação de 50 min e usando uma relação de metanol para secar algas de 10:1.

Carrero *et al.* (2011) concluíram que o catalisador de zeólito h-Beta hierárquico apresentou uma boa atividade na reação de produção de éster metílico e observou um aumento na produção com o aumento da temperatura de 85 a 115 °C.

Teo *et al.* (2014) produziram biodiesel microalgal a partir da transesterificação com metanol na presença de dois catalisadores sólidos ($\text{Ca}(\text{OCH}_3)_2$ e CaO) e um catalisador homogêneo (NaOH), no qual foi estudado o efeito de diferentes parâmetros de reação, incluindo tempo de reação, razão molar metanol/óleo e quantidade de catalisador sobre o rendimento de éster. Foi observado que o aumento da razão molar metanol-lipídeo de 10:1 para 60:1 implicou em um

significativo aumentou de rendimento de éster de 6,9 para 85,4%. O rendimento de éster atingiu um máximo de 92,0% quando 12% em peso de catalisador foi utilizado. No entanto, quando o carregamento aumentou para 15% em peso, o rendimento diminuiu para 61,6%. Foi observado que catalisador de NaOH reage significativamente mais rápido em comparação com os catalisadores heterogêneos e que a produção de éster é diretamente proporcional ao tempo de reação. O catalisador de Ca (OCH₃)₂ pode ser reutilizado até cinco vezes, sendo que a reciclagem do catalisador é um passo importante, pois minimiza o custo do processo.

Li *et al.* (2011) investigaram os efeitos de vários parâmetros de reação na transesterificação usando catalisador de base sólida de Mg-Zr. No método de um estágio, em que foi realizada a transesterificação direta das microalgas secas, foram encontrados bons resultados para o uso de 10% em peso de catalisador. Quando a quantidade de catalisador era baixa, a concentração de espécies ativas não era suficiente para obter um alto rendimento de éster metílico, enquanto que a adição do catalisador em excesso implicou na formação de um material multifásico que aumentou a resistência à agitação e diminuiu a dispersão do catalisador, o que levou a um baixo rendimento. Também foi observado que o rendimento de éster metílico aumentou com o volume crescente de solvente misto e atingiu valor máximo em 45 mL, sendo que uma maior quantidade de solvente provoca diminuição deste rendimento. Em relação à dependência do rendimento do éster metílico com polaridade do solvente misto, observou-se que o rendimento aumentou de 12,1% para um máximo de 28,0% quando a relação volumétrica de metanol para dicloreto de metileno variou de 1:2 para 3:1. Entretanto, quando a relação aumentou para 4:1, o rendimento diminuiu para 25,6%.

No método de dois estágios, no qual foi realizada a extração do óleo para posterior transesterificação, Li *et al.* (2011) observaram que o rendimento de éster metílico aumentou com o aumento da proporção em peso de metanol para o lipídeo e atingiu um máximo de 22,2% na proporção 10:1. No aumento da proporção para 20:1, foi observada uma diminuição no rendimento. O autor conclui que o método de dois estágios apresentou várias desvantagens, incluindo a complexidade da operação, um alto consumo de energia e um custo relativamente alto. Comparando com a reação de dois estágios, o método de um estágio (transesterificação direta) simplificou o processo de conversão e reduziu as unidades de processamento e, conseqüentemente, o custo do processo global. Além disso, o método de

transesterificação direta apresentou maior rendimento de éster metílico do que o método de dois estágios. O autor também conclui que o catalisador de base sólida de Mg-Zr apresenta fácil remoção após o uso quando comparado aos convencionais.

Razon e Tan (2011) realizaram estudos para determinar se o biodiesel microalgal pode fornecer mais energia do que é necessário para produzi-lo. O resultado dos cálculos mostra que a demanda de energia para produzir 1 kg de ésteres metílicos é 86 MJ, enquanto a produção de energia líquida que pode ser esperada na sua queima é de 37 MJ. O elevado gasto energético está associado à energia necessária para cultivar e secar a microalga ou para extrair o óleo. Desta forma, é recomendado o aprimoramento das tecnologias de produção de biodiesel de microalgas para torná-lo viável do ponto de vista energético.

Por fim, considerando as informações adquiridas pela revisão bibliométrica foi possível gerar a matriz SWOT (Quadro 1).

Quadro 1 - Matriz SWOT elaborada de acordo com a base de dados coletada.

| Positivo | Negativo |
|--|---|
| Forças | Fraquezas |
| <ul style="list-style-type: none"> - Fonte renovável; - Não compete com a produção de alimentos. | <ul style="list-style-type: none"> - Custo de produção ainda não é viável. |
| Oportunidades | Ameaças |
| <ul style="list-style-type: none"> - Realização da transesterificação direta, eliminando a etapa de extração do óleo; - Reutilização de água no cultivo; - Aumento da quantidade de metanol ou de solvente para o aumento da taxa de reação; - Aumento da temperatura para o aumento da taxa de reação; - Reutilização dos catalisadores. | <ul style="list-style-type: none"> - Quantidade muito baixa de catalisador pode implicar em baixo rendimento de éster metílico; - Catalisador em excesso pode aumentar a resistência à agitação e, conseqüentemente, diminuir o rendimento; - Uma quantidade muito elevada de metanol e solvente pode provocar a diminuição do rendimento. |

Fonte: autor.

Na Matriz SWOT são apresentados as forças, fraquezas, oportunidades e ameaças desta temática. Com base nessas informações, foram adotadas para a presente pesquisa como formas de oportunidades a realização da transesterificação direta, eliminando a etapa de extração do óleo, e o uso de metanol em excesso para o aumento da taxa de reação.

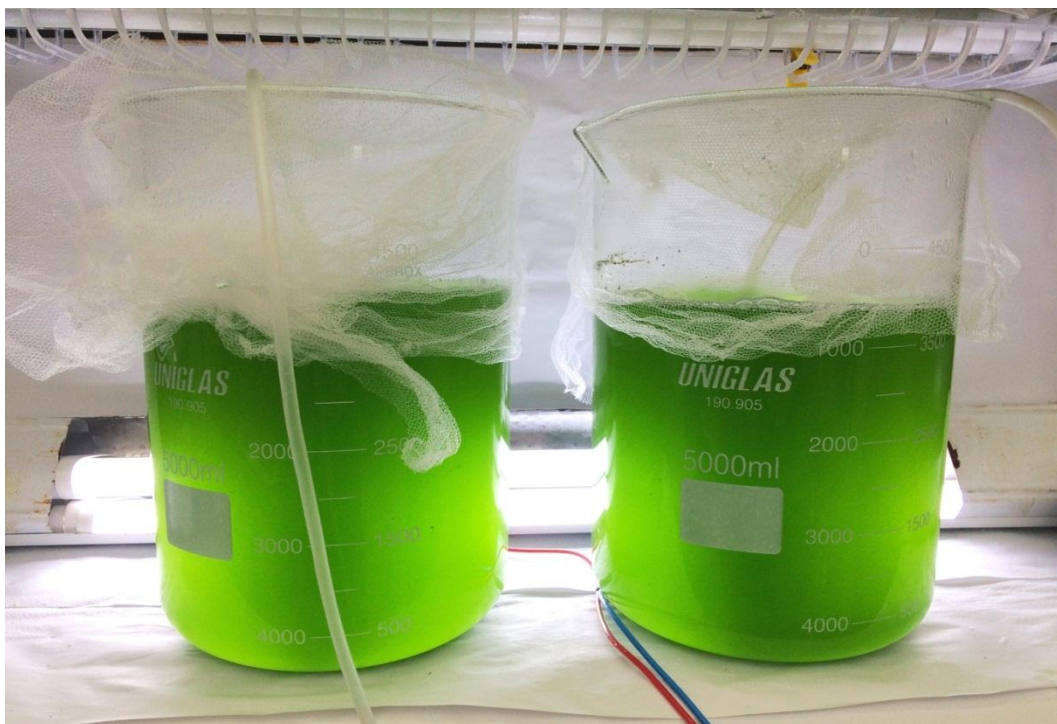
5.2. Resultados experimentais

Foi possível realizar o cultivo das microalgas do gênero *Nannochloropsis* oculata, seguido da extração da biomassa, produção do biodiesel e, por fim, caracterizações do produto final.

5.2.1. Cultivo das microalgas

Na Figura 16, observa-se o cultivo com volume de 8 L. A temperatura durante os experimentos manteve-se constante sob temperatura ambiente de sala de 22°C.

Figura 16 - Cultivo de microalgas com volume de 8 L.



Fonte: autor.

Verifica-se um comportamento padrão do meio de cultivo das microalgas, o qual foi realizado em batelada sob exposição de luz artificial e aeração constante e uniforme.

5.2.2. Extração da biomassa

Na Figura 17 avalia-se, de forma qualitativa, a característica da biomassa úmida retida no papel de filtro antes do processo de secagem. A coloração das microalgas passou de verde a marrom escuro devido à adição do TANFLOC.

Figura 17 - Biomassa de microalgas retida no papel filtro.



Fonte: autor.

Após filtração a vácuo, a biomassa foi transferida para uma estufa de convecção natural, a 60°C por 48 h para remover significativamente a presença de umidade. Ressalta-se que a filtração a vácuo permite não só remover a água para obtenção da biomassa, mas também consiste em uma possível forma de minimizar os custos. Isto pode ser feito por meio da reutilização da água filtrada em outro cultivo na sequência, pois esta, aparentemente, se encontra livre de impurezas (Figura 18).

Figura 18 - Característica da água de cultivo após filtração da biomassa.

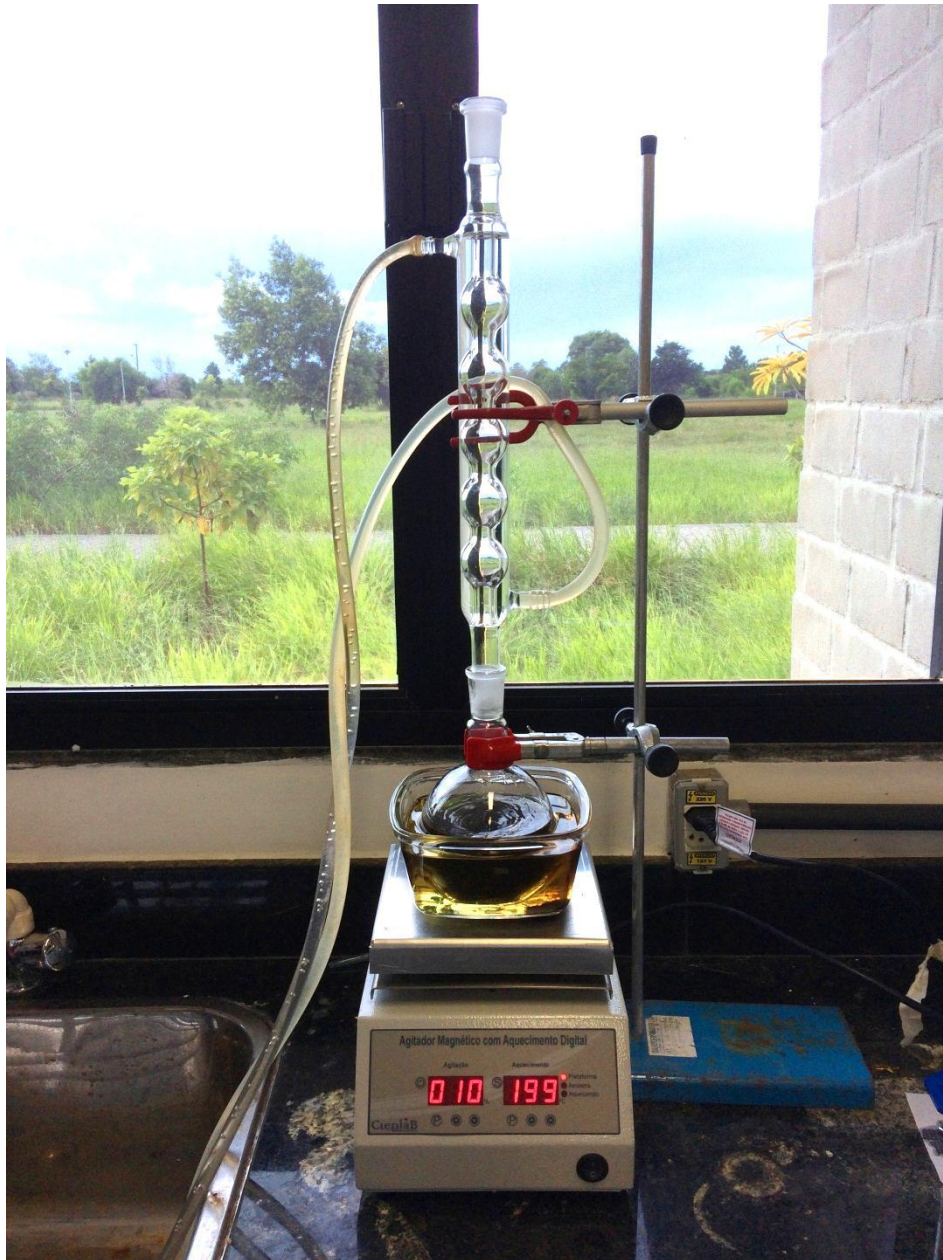


Fonte: autor.

5.2.3. Produção de biodiesel

Foi realizada a produção de biodiesel seguindo o planejamento de experimentos utilizando o metanol como agente transesterificante para facilitar o processo de separação de fases. O aparato experimental utilizado é mostrado Figura 19.

Figura 19 - Aparato experimental utilizado para promover aquecimento e agitação durante a reação.



Fonte: autor.

Ao final de cada reação, o produto obtido foi filtrado para remover os resíduos sólidos da biomassa e, em seguida, o líquido restante foi colocado em um funil de separação, onde foi possível observar a separação das duas fases, uma rica em biodiesel e outra em glicerol (Figura 20). O biodiesel obtido a partir da biomassa de microalga seca apresentaram aspecto parcialmente límpido e coloração amarela.

Figura 20 - Funil de separação contendo as duas fases obtidas após a reação de transesterificação.



Fonte: autor.

Após a recuperação da fase superior (biodiesel) foi realizada a determinação da massa em balança digital para estimar o rendimento mássico do extrato rico em biodiesel de cada experimento. Na Tabela 7, encontram-se disponibilizados os dados para cada experimento realizado.

Tabela 7 - Resultado do rendimento mássico do extrato rico em biodiesel seguindo o planejamento fatorial 3^2 .

| Experimento | Temperatura (°C) | Tempo (min) | Rendimento (%) |
|--------------------|-------------------------|--------------------|-----------------------|
| 1 | 70 | 20 | 132,4 |
| 2 | 70 | 40 | 130,0 |
| 3 | 70 | 60 | 151,0 |
| 4 | 90 | 20 | 135,6 |
| 5 | 90 | 40 | 127,3 |
| 6 | 90 | 60 | 112,8 |
| 7 | 110 | 20 | 137,0 |
| 8 | 110 | 40 | 146,2 |
| 9 | 110 | 60 | 147,8 |
| 10 | 90 | 40 | 131,4 |
| 11 | 90 | 40 | 131,6 |

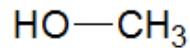
Fonte: autor.

De acordo com os dados da tabela, a condição de temperatura e tempo que proporcionou maior rendimento mássico do extrato rico em biodiesel foi 70°C e 60 min.

5.2.4. Caracterizações

O resultado do planejamento experimental de maior rendimento (70°C e 60 min) foi analisado quantitativamente quanto ao índice de acidez e qualitativamente por FTIR.

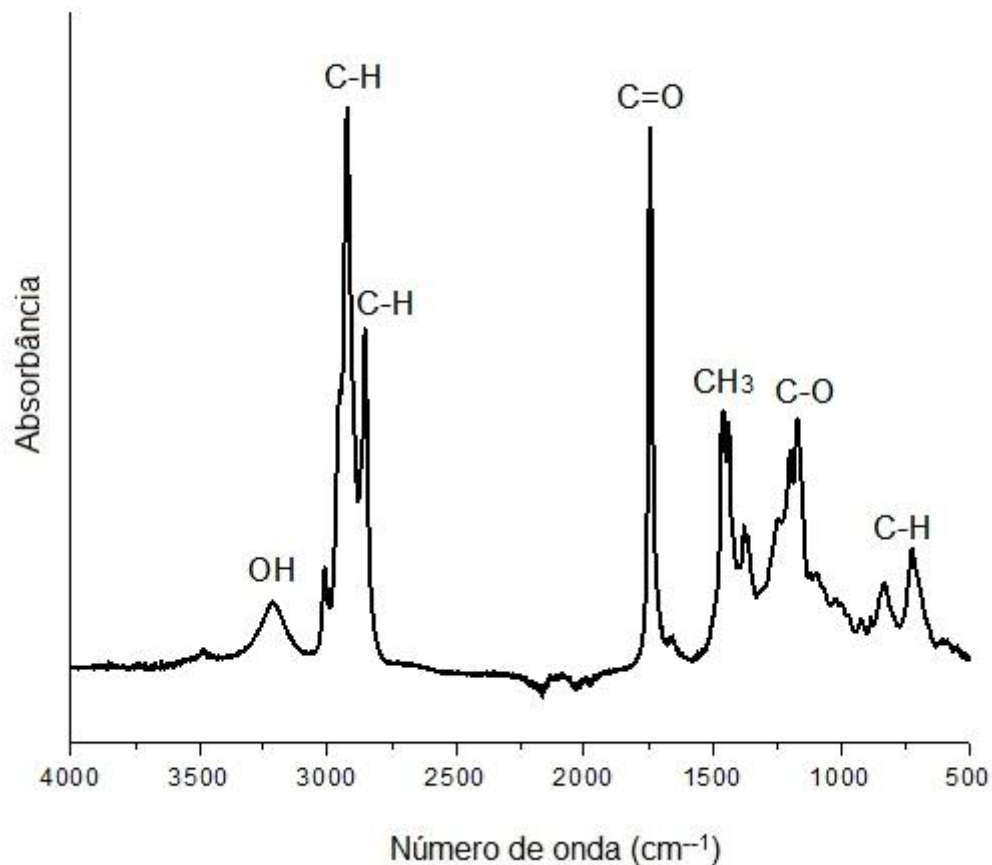
Figura 22 - Fórmula estrutural da molécula de metanol (CH_3OH).



Fonte: autor.

Na Figura 23, é possível observar o espectro da amostra de biodiesel produzido a 70°C e 60 min pela análise de FTIR, onde a identificação da composição dos picos foi feita através da comparação com os valores das bandas absorção citadas por Barbosa (2007).

Figura 23 - Espectro no infravermelho da amostra de biodiesel.



Fonte: autor.

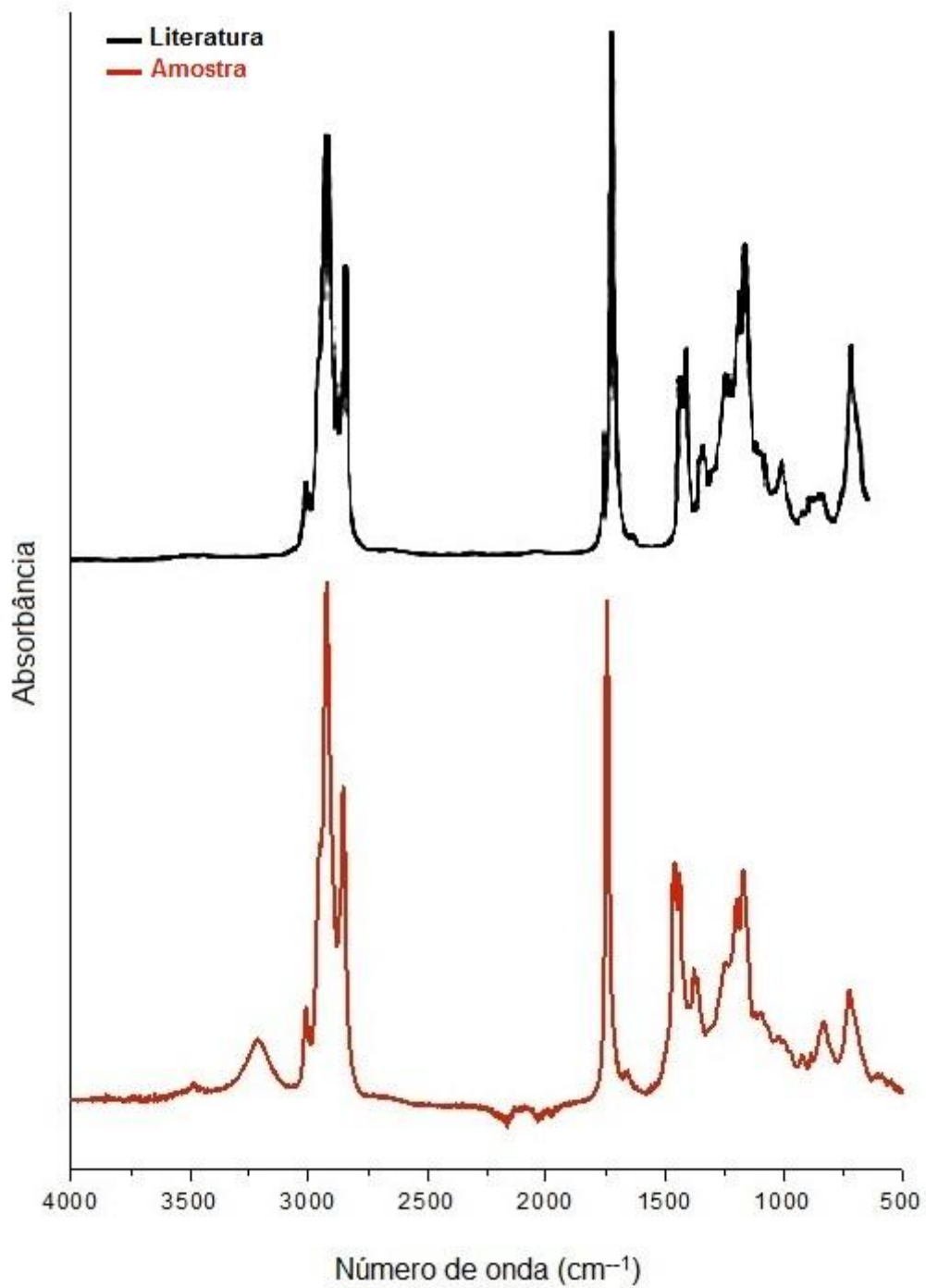
Analisando o espectro (Figura 23), observa-se a presença do grupo funcional OH na banda de absorção $3300 - 3100 \text{ cm}^{-1}$, indicando a presença de metanol, o qual foi colocado em excesso para garantir a conversão em éster. Os grupos funcionais C-H ($3000 - 2700$ e $750 - 600 \text{ cm}^{-1}$), C=O ($1750 - 1700 \text{ cm}^{-1}$), CH_3 (1500

– 1400 cm^{-1}) e C-O ($1200 - 1150\text{ cm}^{-1}$) são característicos dos ésteres e indicam a conversão dos reagentes em biodiesel.

Segundo Almeida (2009), a intensidade de uma banda de absorção é proporcional à concentração do componente que originou esta banda. Como observado, a maioria dos picos indicam a presença de ésteres, sendo também esses picos os de maiores intensidades. Logo, conclui-se que a mostra é rica em biodiesel.

Na Figura 24 é possível observar a comparação entre o espectro do biodiesel obtido neste estudo com o obtido por Ruschel (2014).

Figura 24 - Comparação entre os resultados de FTIR do biodiesel obtido na literatura por Ruschel (2014) e do obtido neste trabalho.



Fonte: adaptado de Ruschel (2014).

Ao comparar os dois espectros, observa-se a semelhança entre os picos, que estão nas mesmas bandas de absorção características do biodiesel. Os espectros diferem quanto à presença de metanol, o qual aparece apenas no biodiesel produzido no presente estudo.

5.3. Análise estatística

A fim de analisar estatisticamente os resultados, foram calculados os efeitos de cada variável independente, temperatura (X1) e tempo (X2), em termos lineares e quadráticos e das interações entre elas na resposta. Foi adotado o teste de hipótese utilizando a distribuição *t-student* com nível de significância de 5% para determinação dos parâmetros significativos do modelo de regressão. O resultado obtido para a variável resposta rendimento é apresentado na Tabela 8.

Tabela 8 - Efeitos da temperatura (X1) e do tempo (X2) sobre o rendimento do extrato rico em biodiesel.

| Variável Resposta | Fator | Efeito | Desvio-padrão | t(5) | p-valor |
|---|---------------------------------|----------|---------------|----------|----------|
| Rendimento (%) R²= 0,99 | Média | 135,8778 | 0,7784 | 174,5516 | < 0,0001 |
| | X1 | 5,8667 | 1,9816 | 2,9606 | 0,0977 |
| | X1 ² | -14,5667 | 1,5839 | -9,1968 | 0,0116 |
| | X2 | 2,2000 | 1,9816 | 1,1102 | 0,3825 |
| | X2 ² | -0,6667 | 1,5839 | -0,4209 | 0,7147 |
| | X1X2 | -3,9000 | 2,4269 | -1,6070 | 0,2493 |
| | X1X2 ² | 7,7500 | 2,1018 | 3,6873 | 0,0663 |
| | X1 ² X2 | -18,7500 | 2,1018 | -8,9210 | 0,0123 |
| | X1 ² X2 ² | 4,9250 | 1,5269 | 3,2255 | 0,0842 |

Fonte: autor.

Para a resposta rendimento, verificou-se que o termo quadrático da temperatura (X1²) é significativo para o modelo, visto que apresenta p-valor (0,01) inferior a 0,05. O efeito linear para a temperatura não é estatisticamente significativo, mas o efeito quadrático sim. É possível concluir que essa variável está associada à variável de resposta, mas a associação não é linear.

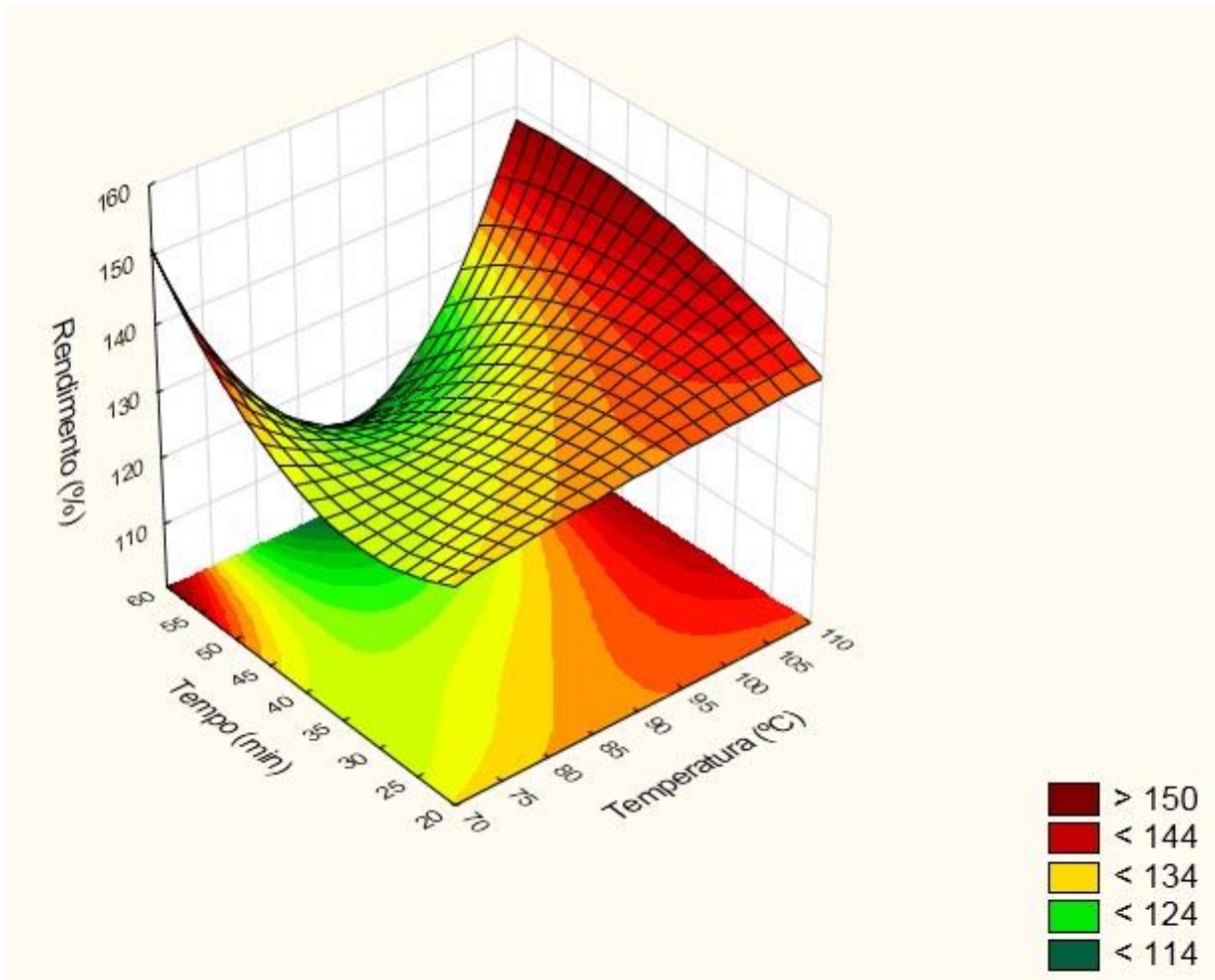
A interação entre o termo quadrático da temperatura com o termo linear do tempo (X1²X2) também se mostrou significativa para o modelo, pois apresenta p-valor (0,01) inferior a 0,05. O efeito linear para o tempo não é estatisticamente significativo, mas o efeito da interação do tempo com o quadrado da temperatura sim. Desta forma, conclui-se que a relação entre um termo da interação e a resposta é dependente do outro termo.

Os procedimentos de inferência estatística demandam o estabelecimento de um modelo estatístico para representar os dados experimentais e fornecer a relação entre a variável resposta e as variáveis independentes. A Equação 3 relaciona a variável resposta (rendimento) com a temperatura (X_1) e o tempo (X_2), considerando os termos estatisticamente significativos. A equação é válida para os intervalos $70 \leq X_1 \leq 110$ e $20 \leq X_2 \leq 60$.

$$\text{Rendimento (\%)} = 415,2750 + 0,0247 \cdot X_1^2 - 0,0026 \cdot X_1^2 \cdot X_2 \quad (3)$$

A análise estatística apontou termos quadráticos significativos, desta forma é possível concluir que a superfície de resposta contém curvatura. Isso é confirmado na Figura 25.

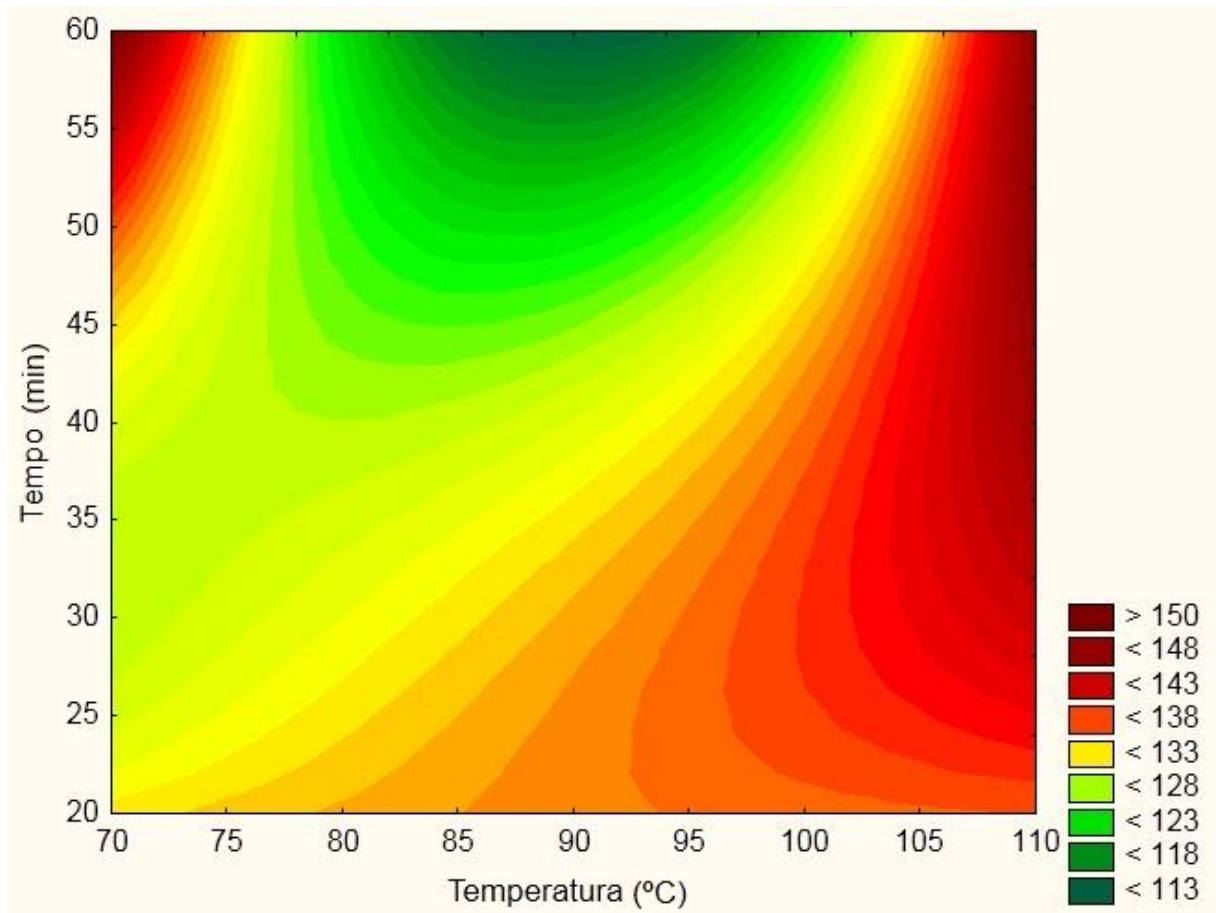
Figura 25 - Superfície de resposta para o rendimento do extrato rico em biodiesel em função da temperatura e do tempo.



Fonte: autor.

Observa-se a presença de dois pontos de máximo no gráfico, ambos no tempo de 60 min, sendo um na temperatura de 70 e outro na de 110°C. Para melhor visualização, é apresentado na Figura 26 o gráfico da superfície de contorno.

Figura 26 - Superfície de contorno da variável resposta rendimento do extrato rico em biodiesel em função da temperatura e do tempo.



Fonte: autor.

Analisando a superfície de contorno da Figura 26, observa-se que a região em vermelho escuro mostra as condições experimentais que proporcionam um rendimento mais elevado. Desta forma, aponta-se 70°C e 60 min e 110°C e 60 min, como condições de rendimento máximo do extrato rico em biodiesel.

6. CONCLUSÕES

Por meio da revisão bibliométrica realizada no presente estudo, observou-se que citações envolvendo biodiesel e *Nannochloropsis* surgiram em 2009 e foram, de modo geral, crescendo ao longo dos anos. O Brasil possui apenas um autor com artigo indexado na Web of Science[®] com título do trabalho envolvendo produção de biodiesel a partir da microalga do gênero *Nannochloropsis*. Sugere-se que sejam feitas mais pesquisas nesta área, já que o país apresenta grande território e clima propício para o cultivo de microalgas. Através das informações obtidas da base de dados, foi possível identificar as forças, fraquezas, oportunidades e ameaças dessa temática de pesquisa.

Seguindo o método experimental proposto, foi possível realizar o cultivo de microalgas da espécie *Nannochloropsis oculata* e, a partir da biomassa obtida, produzir biodiesel através da reação de transesterificação direta eliminando a etapa de extração do óleo. A formação de biodiesel foi verificada por meio da análise de espectroscopia na região do infravermelho por transformada de Fourier (FTIR) que apontou a presença de ésteres no produto final.

A água obtida após a filtração da biomassa apresenta aspecto limpo, podendo ser reutilizada para outro cultivo e contribuindo para tornar o processo mais viável.

O índice de acidez encontrado está acima do permitido pela ANP, portanto, recomenda-se a neutralização do biodiesel produzido para garantir que o índice de acidez deste combustível esteja de acordo com o permitido para comercialização.

Por meio da análise estatística, foi possível identificar os parâmetros significativos para esse modelo. Os pontos de rendimento máximo do extrato rico em biodiesel encontrados foram obtidos nas condições 70°C e 60 min e 110°C e 60 min.

7. TRABALHOS FUTUROS

Após observar que a água proveniente da filtração a vácuo da biomassa apresenta aspecto limpo, sugere-se a reutilização desta água nos próximos cultivos a fim de reduzir o custo do processo.

É comum utilizar metanol em excesso na reação de transesterificação do triglicerídeo para garantir a conversão em éster. Entretanto, uma quantidade muito elevada de metanol faz com que este reagente se agregue ao produto final (biodiesel) como forma de impureza. Sugere-se que seja realizado um planejamento de experimentos tendo como variável a quantidade de metanol, mantendo fixa a dos outros reagentes, a fim de encontrar uma proporção que garanta a conversão em éster e minimize gastos com excesso de álcool que não reage.

Como um dos pontos de maior rendimento do extrato rico em biodiesel foi encontrado no menor nível de temperatura estudado (70°C), sugere-se que seja realizado um planejamento de experimento em níveis de temperaturas inferiores a esta.

Recomenda-se que seja realizado o cálculo do gasto energético para produzir uma certa quantidade de biodiesel utilizando o método proposto e, em seguida, seja feita a comparação com a produção de energia gerada pela queima da mesma quantidade deste combustível a fim de identificar se a produção é viável do ponto de vista energético.

8. REFERÊNCIAS

ALMEIDA, F. **Espectroscopia de infravermelho próximo com transformada de fourier (ft-nir) na caracterização de farinhas para alimentação pueril**. 2009. 73 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Biológica) - Instituto Superior Técnico, Universidade Técnica de Lisboa, Lisboa, 2009.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**. 2014.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**. 2015.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**. 2016.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Anuário Estatístico Brasileiro do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis**. 2017.

ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. **Percentual obrigatório de biodiesel passa para 10%**. 2018. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/noticias/4333-percentual-obrigatorio-de-biodiesel-passa-para-10>>. Acesso em: 13 jun. de 2018.

ARAÚJO, C. A. Bibliometria: evolução histórica e questões atuais. **Em Questão**, Porto Alegre, v. 12, n. 1, p. 11-32. 2006.

ARAÚJO, G. S.; MATOS, L. J. B. L.; GONCALVES, L. B.; FERNANDES, F. A. N.; FARIAS, W. R. L. Bioprospecting for oil producing microalgal strains: evaluation of oil and biomass production for tem microalgal strains. **Bioresource technology**, v. 102, n. 8, p. 5248-5250. 2011.

ARCEO, A. A. **Produção de biodiesel mediante o processo de Hidroesterificação da biomassa das microalgas *Scenedesmus dimorphus* e *Nannochloropsis oculata***. 2012. 205 f. Tese (Doutorado em Ciências em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos.) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

AZEREDO, V. B. S. **Produção de Biodiesel a partir do cultivo de microalgas: estimativa de custos e perspectivas para o Brasil**. 2012. 188 f. Dissertação (Mestrado em Planejamento Energético) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2012.

BARBOSA, L. C. D. A., **Espectroscopia no Infravermelho na Caracterização de Compostos Orgânicos**. 2007. Viçosa. Universidade Federal de Viçosa. ISBN 978-8572692809.

BORGES, W. S. **Produção de bio-óleo empregando microalgas em diferentes meios de cultivo**. 2014. 100 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2014.

CARRERO, A.; VICENTE, G.; RODRIGUEZ, R.; LINARES, M.; del PESO, G. L. Hierarchicalzeolites as catalysts for biodiesel production from *Nannochloropsis* microalga oil, **Catalysis Today**, v. 167, p. 148-153. 2011.

CASTRO, B. C. S. **Otimização das condições da reação de transesterificação e caracterização dos rejeitos dos óleos de fritura e de peixe para obtenção de biodiesel**. 2009. 119 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2009.

CASTRO-SILVA, M. A.; RORIG, L. R.; LAMB, L. H; HECK, C. A.; DECUSATI, O. G. Microorganismos associados ao tratamento de águas de abastecimento com coagulante orgânico vegetal (tanato quaternário de amônio) – I. microorganismos filamentosos. **Estudos de Biologia**, v.26, n. 54, p. 21- 27. 2004.

CHAVES, A. S. Desafios para o avanço da ciência brasileira. **Parcerias Estratégicas**, v. 16, n. 32, p. 341-360. 2011.

CHAVES, M. H.; BARBOSA, A. S.; MOITA NETO, J. M. Caracterização química do óleo da amêndoa de *Sterculia striata* st. hil. et naud. **Química Nova**, v. 27, n. 3, p. 404-408. 2004.

CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, Palmerston North, v. 25, n. 3, p. 294-306. 2007.

DANIELLS, S. **Texas storms disrupt qualitas algal production: 'it's a setback but we're still in a unique position,' says CEO**. 2015. Disponível em: < www.nutraingredients-usa.com>. Acesso em: 16 jun. de 2018.

GONÇALVES, A.; SOARES, J.; BRASIL, A. N.; NUNES, D. L. **Determinação do índice de acidez de óleos e gorduras residuais para produção de biodiesel**. 2009. Congresso da rede brasileira de tecnologia de biodiesel. Brasília, 2009, p. 187-188.

GUILLARD, R. R. L. **Culture of phytoplankton for feeding marine invertebrates**. 1975. New York. Plenum Press.

HIRSCH, J. E. An index to quantify an individual's scientific research output. **Proc Nat Acad Sci USA**, v. 102, p. 16569-16572. 2005.

JAZZAR, S.; OLIVARES-CARRILLO, P.; de los RÍOS, A. P.; MARZOUKI, M. N.; ACIÉN-FERNÁNDEZ, F. G.; FERNÁNDEZ-SEVILLA, J. M.; MOLINA-GRIMA, E.; SMAALI, I.; QUESADA-MEDINA, J. Direct supercritical methanolysis of wet and dry unwashed marine microalgae (*Nannochloropsis gaditana*) to biodiesel. **Applied Energy**, v. 148, p. 210-219. 2015.

JOHNSON, M. B.; WEN, Z. Production of biodiesel fuel from the microalga *Schizochytrium limacinum* by direct transesterification of algal biomass. **Energy Fuels**, v. 23, p. 5179-5183. 2009.

LI, Y.; LIAN, S.; TONG, D.; SONG, R.; YANG, W.; FAN, Y.; QING, R.; & HU, C. One-step production of biodiesel from *Nannochloropsis* sp. on solid base Mg–Zr catalyst. **Applied Energy**, v. 88, p. 3313-3317. 2011.

LIM, D. K. Y.; GARG, S.; TIMMINS, M; ZHANG, E. S. B.; THOMAS-HALL, S. R; SCHUHMANN, H.; LI, Y.; SCHENK, P. M. Isolation and evaluation of oil producing microalgae from subtropical coastal and brackish waters. **Plos One**, v. 7, n. 7. 2012.

LOURENÇO, S. de O. **Cultivo de microalgas marinhas : princípios e aplicações**. São Carlos. RiMa. 2006. ISBN 8576561131.

MA, X.-N.; CHEN, T.-P.; YANG, B.; LIU, J.; CHEN, F. Lipid production from *Nannochloropsis*. **Marine Drugs**, v. 14. 2016

MACEDO, A. G.; MACEDO, J.A. Produção de biodiesel por transesterificação de óleos vegetais. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.32, p. 38-46. 2004.

MAL, Y.; WANG, Z.; YU, C.; YIN, Y.; ZHOU, G. Evaluation of the potential of 9 *Nannochloropsis* strains for biodiesel production. **Bioresource Technology**, v. 167, p. 503-509. 2014.

MCGINNIS, K. M.; DEMPSTER, T. A.; SOMMERFELD, M. R. Characterization of the growth and lipid content of the diatom *Chaetoceros muelleri*. **Journal of Applied Phycology**, v. 9, n. 1, p. 19-24. 1997.

MENDES, C. d'U. de S. **Mapeamento tecnológico do biodiesel e tecnologias correlatas sob o enfoque dos pedidos de patentes**. 2008. 78 f. Instituto Nacional da Propriedade Industrial. 2008

MORAIS, K. C. C. **Análise e desenvolvimento de aquicultura da microalga *Phaeodactylum tricornutum* em crescimento autotrófico e mixotrófico em fotobiorreatores compactos**. 2011. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2011.

NEVES, L. M. B.; JANKOSKI, D. A. **Tutorial da base Web of Science**. 2009. Disponível em: < www.acervodigital.ufpr.br>. Acesso em: 21 mar. de 2018.

ORTENZIO, Y. T.; AMARAL, G. G.; ALMEIDA, S. S.; OLIVEIRA, E. C. A. M. Cultivo de microalgas utilizando resíduos agroindustriais para a produção de bicompostíveis: perspectivas e desafios. **Bioenergia em Revista: Diálogos**, v. 5, n. 1, p. 20-25. 2015.

PROCÓPIO, Z. S. D. **Avaliação da produção de biodiesel de microalga *Isochrysis galbana* via transesterificação in situ**. 2014. 93 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2014.

RAZON, L. F.; & TAN, R. R. Net energy analysis of the production of biodiesel and biogas from the microalgae: *Haematococcus pluvialis* and *Nannochloropsis*. **Applied Energy**, v. 88, p. 3507-3514. 2011.

REIS, M. S. **Estatística para a melhoria de processos: a perspectiva seis sigma**. 2016. Coimbra. 386 p. ISBN 978-989-26-1059-7.

RIBEIRO, D. M.; S. JUNIOR, P. L. D.; TELES, V. C.; SOARES, I. P.; GARCIA, L. C.; ABREU, P. C. V.; BRASIL, B. dos S. A. F. Caracterização da composição química da biomassa da microalga *Nannochloropsis oculata* cultivada em tanque aberto tipo raceway. **Embrapa Agroenergia**, p. 123-129. 2016.

RUSCHEL, C. F. C.; HUANG, C. T.; SAMIOS, D.; FERRÃO, M. F. Análise exploratória aplicada a espectros de reflexão total atenuada no infravermelho com transformada de Fourier (ATR-FTIR) de blendas de biodiesel/diesel. **Química Nova**, n. 37, p. 810-815. 2014.

SACCHI, G. D. **Flotação por ar dissolvido aplicado à separação de microalgas cultivadas em fotobiorreator, alimentado com vinhaça pré-tratada físico-quimicamente, com vistas à exploração de seu potencial bioenergético**. 2015. 305 f. Tese (Doutorado em Ciências: Engenharia Hidráulica e Saneamento) - Universidade de São Paulo, São Carlos, 2015.

SILVA, D. A. **Produção de biomassa de microalgas cultivadas em esgoto sanitário biodigerido visando a produção de biodiesel.** 2014. 106 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia e Ciência dos Materiais) - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, 2014.

SILVA FILHO, A. A. **Produção de biodiesel pela transesterificação alcalina homogênea do óleo de soja com metanol utilizando irradiação de microondas.** 2009. 93 f. Dissertação (Mestrado em Ciência em Engenharia Química) - Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Seropédica, 2009.

SILVA FILHO, J. B. da. **Produção de biodiesel etílico de óleos e gorduras residuais (ogr) em reator químico de baixo custo.** 2010. 73 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Mecânica e de Materiais) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Paraná, 2010.

SILVA J. G. C. da. **Estatística experimental: planejamento de experimentos.** 2007. 511 f. Universidade Federal de Pelotas. Instituto de Física e Matemática. Departamento de Matemática e Estatística. Pelotas. 2007

SILVA, N. L. da. **Produção de biodiesel: processo e caracterização.** 2010. 192 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2010.

SOUZA, C. A. Sistemas catalíticos na produção de biodiesel por meio de óleo residual. **5º Encontro de Energia no Meio Rural e Geração Distribuída,** Campinas, p.1-10. 2006.

TEO, S. H.; ISLAM, A.; YUSAF, T.; & TAUFIQ-YAP, Y. H. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's oil to biodiesel using calcium methoxide catalyst. **Energy**, v. 78, p. 63-71. 2014.

THOMAZ, P. G; ASSAD, R. S.; MOREIRA, L. F. P. Uso do fator de impacto e do índice h para avaliar pesquisadores e publicações. **Arquivo Brasileiro de Cardiologia**, v. 96, n. 2, p. 90-93. 2011.

UDUMAN, N.; QI, Y.; DANQUAH, M. K.; FORDE, G. M.; HOADLEY, A. Dewatering of microalgal cultures: A major bottleneck to algae-based fuels. **Journal of Renewable and Sustainable Energy**, v. 2, n. 1. 2010.

UMDU, E. S.; TUNCER, M.; & SEKER, E. Transesterification of *Nannochloropsis oculata* microalga's lipid to biodiesel on Al₂O₃ supported CaO and MgO catalysts. **Bioresource Technology**, v. 100, p. 2828–2831. 2009.

VANTI, N. A. P. Da bibliometria à webometria: uma exploração conceitual dos mecanismos utilizados para medir o registro da informação e a difusão do conhecimento. **Ciência da Informação**, Brasília, v. 31, n. 2, p. 152-162. 2002.

VAZ, L. G. L.; KLENI, M. R. F.; VEITI, M. T.; SILVA, E. A.; BARBIEROI, T. A. BERGAMASCO, R. Avaliação da eficiência de diferentes agentes coagulantes na remoção de cor e turbidez em efluente de galvanoplastia. **Eclética Química**, v. 35, n. 4, p. 45-54. 2010.

VIEIRA, S. **Introdução à bioestatística**. 2008. Rio de Janeiro, Elsevier, 357 p. ISBN: 978-85-352-5012-1.

VIEIRA, S.; WADA, R. **O que é estatística**. 2004. São Paulo, Brasiliense, 91 p. ISBN: 9788511350630.