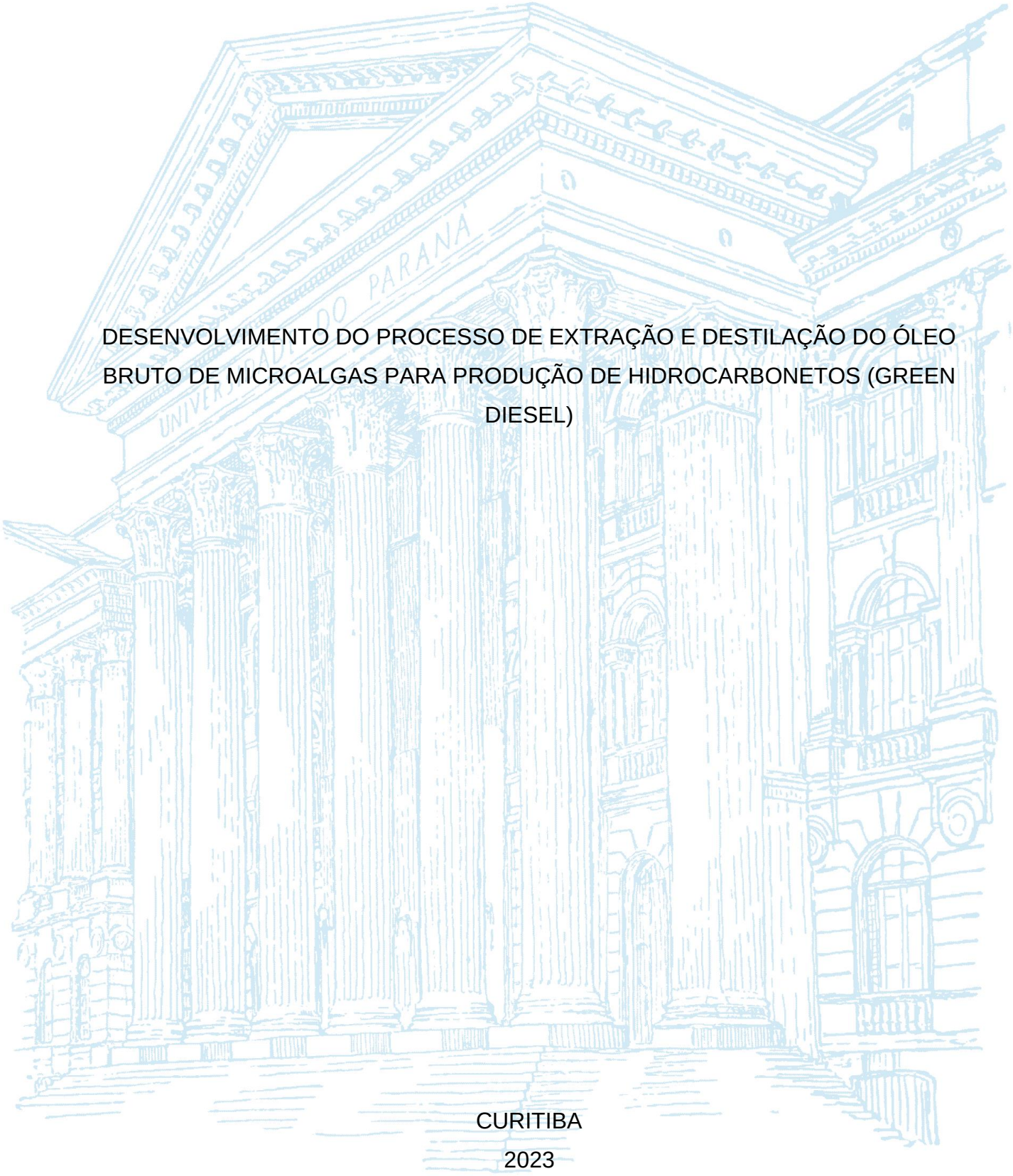
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

IAGO GOMES COSTA



DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E DESTILAÇÃO DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE HIDROCARBONETOS (GREEN DIESEL)

CURITIBA

2023

IAGO GOMES COSTA

DESENVOLVIMENTO DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO E DESTILAÇÃO DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE HIDROCARBONETOS (GREEN DIESEL)

Tese apresentada ao curso de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais (PIPE), Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Engenharia e Ciência dos Materiais.

Orientador: Prof. Dr. José Viriato Coelho Vargas

Coorientador: Prof. Dr. Wellington Balmant

CURITIBA

2023

DADOS INTERNACIONAIS DE CATALOGAÇÃO NA PUBLICAÇÃO (CIP)
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
SISTEMA DE BIBLIOTECAS – BIBLIOTECA DE CIÊNCIA E TECNOLOGIA

Costa, Iago Gomes
Desenvolvimento do processo de extração e destilação do óleo bruto de microalgas para produção de hidrocarbonetos (Green Diesel) / Iago Gomes Costa. – Curitiba, 2023.
1 recurso on-line : PDF.

Tese (Doutorado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Tecnologia, Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais.

Orientador: José Viriato Coelho Vargas
Coorientador: Wellington Balmant

1. Tetradesmus obliquus. 2. Hidrocarbonetos. 3. Biocombustíveis. I. Universidade Federal do Paraná. II. Programa de Pós-Graduação em Engenharia e Ciência dos Materiais. III. Vargas, José Viriato Coelho. IV. Balmant, Wellington. V. Título.

Bibliotecário: Leticia Priscila Azevedo de Sousa CRB-9/2029

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR DE TECNOLOGIA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS - 40001016033P9

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação ENGENHARIA E CIÊNCIA DOS MATERIAIS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da tese de Doutorado de **IAGO GOMES COSTA** intitulada: **"Desenvolvimento do processo de extração e destilação do óleo bruto de microalgas para produção de hidrocarbonetos (Green diesel)"**, sob orientação do Prof. Dr. JOSE VIRIATO COELHO VARGAS, que após terem inquirido o aluno e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de doutor está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

CURITIBA, 07 de Julho de 2023.

Assinatura Eletrônica
10/07/2023 17:03:42.0
JOSE VIRIATO COELHO VARGAS
Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica
10/07/2023 18:15:52.0
LUIZ ALBERTO DE OLIVEIRA ROCHA
Avaliador Externo (UNISINOS)

Assinatura Eletrônica
10/07/2023 14:17:41.0
MARCOS LÚCIO CORAZZA
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
17/07/2023 16:52:34.0
LÚCIO CARDOZO FILHO
Avaliador Externo (UNIVERSIDADE ESTADUAL DE MARINGÁ)

Assinatura Eletrônica
10/07/2023 16:19:39.0
ANDRE BELLIN MARIANO
Avaliador Interno (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica
10/07/2023 17:01:38.0
WELLINGTON BALMANT
Coorientador(a) (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Dedico esse trabalho,
primeiramente, à Deus, que me deu
forças para vencer todas as dificuldades.
À minha família, por sua capacidade de
acreditar em mim e investir em mim. Aos
amigos e colegas, pelo incentivo e pelo
apoio constante

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que contribuíram para o desenvolvimento desta tese de doutorado. Este trabalho não teria sido possível sem o apoio, orientação e incentivo de muitas pessoas que generosamente compartilharam seu conhecimento, experiência e tempo.

Em primeiro lugar, gostaria de expressar minha profunda gratidão ao meu orientador, José Viriato Coelho Vargas, pelo seu apoio inestimável ao longo de todo o processo de pesquisa.

E ao meu coorientador Wellington Balmant. Sua orientação e visão crítica foram fundamentais para moldar este trabalho e me ajudaram a crescer como acadêmico.

Gostaria também de agradecer aos membros da banca examinadora, por dedicarem seu tempo e expertise para revisar e avaliar este trabalho. Suas contribuições valiosas e sugestões construtivas ajudaram a melhorar a qualidade desta tese.

Não posso deixar de reconhecer o apoio e incentivo de minha família e amigos. Agradeço a meus pais, João Luís e Marli, por seu amor, apoio incondicional e confiança em mim. Suas palavras de encorajamento foram uma fonte constante de motivação ao longo deste processo. Também gostaria de agradecer aos meus amigos próximos, por seu apoio, compreensão e por estarem ao meu lado durante os momentos desafiadores.

Sou grato às instituições e organizações que forneceram suporte financeiro para este projeto de pesquisa.

Por fim, gostaria de agradecer a todos os participantes da pesquisa que gentilmente compartilharam seu tempo e conhecimento. Sem a colaboração deles, este estudo não seria representativo e não poderíamos alcançar resultados significativos.

A todos os mencionados e a qualquer pessoa que tenha contribuído direta ou indiretamente para este trabalho, meu sincero agradecimento. Seu apoio foi inestimável e sou profundamente grato por cada contribuição.

“O conhecimento é a única riqueza que cresce quando compartilhada”.

(Provérbio africano)

RESUMO

É crucial reconhecer que a dependência contínua de combustíveis fósseis é extremamente insustentável devido às graves restrições ambientais associadas a todo o ciclo de vida desses combustíveis. Dessa maneira, as microalgas surgem como uma fonte promissora para produzir biomassa devido a várias aplicações que podem oferecer. Os biocombustíveis produzidos a partir da biomassa são recursos energéticos mais viáveis, renováveis e alternativos. Nesse contexto os hidrocarbonetos, tais como alcanos e alcenos, são particularmente atrativos devido ao seu potencial como biocombustíveis. Com base na revisão bibliográfica apresentada, esse trabalho possui o objetivo avaliar o processo de extração e destilação do óleo de microalgas para produção de hidrocarbonetos. A espécie de microalga utilizada neste trabalho foi *Tetradesmus obliquus* e foi cultivada em FBR compacto de 12 m^3 de volume. A metodologia de extração foi com solventes orgânicos, pois demonstrou alta seletividade e solubilidade na extração dos lipídios das microalgas. A separação dos compostos ocorre através da destilação. Foram realizados quatro experimentos para a extração do óleo e destilação (em triplicata cada experimento) usando uma combinação de solventes e um único solvente orgânico. A extração com hexano apresentou um rendimento percentual menor em comparação a extração com uma mistura de solventes, com valores de 1,66 ± 0,10 % para o hexano puro e 6,06 ± 0,33 %, 6,50 ± 0,13 % e 8,25 ± 0,11 % para a mistura de solventes. O rendimento da destilação foi de 0,57 ± 0,01 % para o hexano e 50,77 ± 2,70 %, 40,54 ± 2,11 % e 50,12 ± 3,56 % para a mistura de solventes. A análise por CG-EM foi conduzida para identificar e quantificar os compostos presentes no óleo da microalga. Verificou-se que a condição 2 [50-50] apresentou a maior quantidade de alcanos 62,39 ± 29,63 %, enquanto a condição 3 [100] resultou na menor quantidade 28,14 ± 8,70 %. Esses resultados sugerem que a proporção do solvente utilizado na extração afeta a produção de alcanos. Por fim foram analisados parâmetros físico-químicos, os valores de poder calorífico do diesel 42 - 45,77 MJ/kg estão dentro da faixa dos valores dos poderes caloríficos superiores e inferiores das amostras de óleo destilado PCS: 41,85 ± 0,97 MJ/kg e PCI: 38,59 ± 1,06 MJ/kg para a condição 1 [70-30] e PCS: 43,50 ± 0,73 MJ/kg e PCI: 39,99 ± 0,85 MJ/kg para a condição 2 [50-50]. As amostras de óleo destilado apresentam níveis significativamente mais altos de enxofre em comparação com o diesel, demonstrando a necessidade de processo de remoção como a hidrodessulfurização (HDS). Observou-se que a faixa de composição de hidrogênio do diesel de petróleo 13,32 % - 15,26 % são similares à composição estimada de hidrogênio nas amostras de óleo destilado 15,01 % em massa. Isso sugere que tanto o óleo de microalgas quanto as amostras diesel de petróleo possuem uma proporção semelhante de hidrogênio em relação à sua massa total. Dessa maneira, o processo de produção e extração em escala piloto do óleo de microalgas para a produção de hidrocarbonetos mostra-se promissor, uma vez que é possível purificar esses compostos e obter informações relevantes para uso futuro.

Palavras-chave: *Tetradesmus obliquus*; hidrocarbonetos; extração; destilação; CG-EM.

ABSTRACT

It is crucial to recognize that the continuous dependence on fossil fuels is extremely unsustainable due to the severe environmental constraints associated with the entire lifecycle of these fuels. In this way, microalgae emerge as a promising source for biomass production due to various applications they can offer. Biofuels produced from biomass are more viable, renewable, and alternative energy resources. In this context, hydrocarbons such as alkanes and alkenes are particularly attractive due to their potential as biofuels. Based on the presented literature review, this study aims to evaluate the extraction and distillation process of microalgae oil for hydrocarbon production. The microalgae species used in this study was *Tetradesmus obliquus* and it was cultivated in a compact 12 m^3 volume FBR. The extraction methodology used organic solvents, as they demonstrated high selectivity and solubility in extracting lipids from microalgae. Compound separation occurs through distillation. Four experiments were performed for oil extraction and distillation (in triplicate for each experiment) using a combination of solvents and a single organic solvent. Hexane extraction showed a lower percentage yield compared to the extraction with a solvent mixture, with values of 1.66 ± 0.10 % for pure hexane and 6.06 ± 0.33 %, 6.50 ± 0.13 %, and 8.25 ± 0.11 % for the solvent mixture. The distillation yield was 0.57 ± 0.01 % for hexane and 50.77 ± 2.70 %, 40.54 ± 2.11 %, and 50.12 ± 3.56 % for the solvent mixture. GC-MS analysis was conducted to identify and quantify the compounds present in the microalgae oil. It was found that condition 2 [50-50] had the highest number of alkanes, 62.39 ± 29.63 %, while condition 3 [100] resulted in the lowest amount, 28.14 ± 8.70 %. These results suggest that the proportion of the solvent used in extraction affects the production of alkanes. Finally, physicochemical parameters were analyzed, and the heating values of diesel, 42-45.77 MJ/kg, fall within the range of higher and lower heating values of the distilled oil samples, HHV: 41.85 ± 0.97 MJ/kg and LHV: 38.59 ± 1.06 MJ/kg for condition 1 [70-30], and HHV: 43.50 ± 0.73 MJ/kg and LHV: 39.99 ± 0.85 MJ/kg for condition 2 [50-50]. The distilled oil samples have significantly higher sulfur levels compared to diesel, indicating the need for a removal process like hydrodesulfurization (HDS). It was observed that the hydrogen composition range of petroleum diesel, 13.32 % - 15.26 %, is like the estimated hydrogen composition in the distilled oil samples, 15.01 % by mass. This suggests that both microalgae oil and petroleum diesel samples have a similar proportion of hydrogen relative to their total mass. Thus, the pilot-scale production and extraction process of microalgae oil for hydrocarbon production show promise, as it is possible to purify these compounds and obtain relevant information for future use.

Keywords: *Tetradesmus obliquus*; hydrocarbons; extraction; distillation; GC-MS.

LISTA DE FIGURAS

FIGURA 2.1 - SISTEMA DE LAGOA ABERTA (VIA ÚNICA) 27
FIGURA 2.2 - FOTOBIORREATORES TUBULARES: DIFERENTES CONFIGURAÇÕES 28
FIGURA 2.3 - TIPOS DE TÉCNICAS DE RUPTURA CELULAR 31
FIGURA 2.4 - CONDIÇÕES TERMODINÂMICAS PARA A DESTILAÇÃO.....48
FIGURA 2.5 - SISTEMA CONVENCIONAL DE UMA COLUNA DE DESTILAÇÃO EM BATELADA PARA UM SISTEMA TERNÁRIO 50
FIGURA 2.6 - EXEMPLO DE MONTAGEM PARA DESTILAÇÃO FRACIONADA SIMPLES 54
FIGURA 3.1 - VISÃO MICROSCÓPICA DA MICROALGA *Tetradesmus obliquus* LGMM0001 58
FIGURA 3.2 - INFRAESTRUTURA DE FBRS NAS INSTALAÇÕES DO NPDEAS NA UFPR 59
FIGURA 3.3 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA NOS FBRS TUBULARES COMPACTOS DO NPDEAS.....61
FIGURA 3.4 - DESENHO ESQUEMÁTICO DE UM FORNO DE CONVECÇÃO 62
FIGURA 3.5 - EXTRATOR DE ÓLEO DE MICROALGAS NO NPDEAS 63
FIGURA 3.6 - ROTAEVAPORADOR PARA A SEPARAÇÃO DO ÓLEO DO SOLVENTE DE EXTRAÇÃO 65
FIGURA 3.7 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE MICROALGAS 66
FIGURA 3.8 - COLUNA DE DESTILAÇÃO FRACIONADA.....68
FIGURA 4.1 - ÓLEO DESTILADO EM TRÊS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS 80
FIGURA 4.2 - ÓLEO DESTILADO EM TRÊS FAÇÕES DIFERENTES PARA A CONDIÇÃO 4 [70-30].....82
FIGURA 4.3 - VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A PRIMEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30].....83
FIGURA 4.4 - VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A SEGUNDA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [50-50].....84

FIGURA 4.5 - VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A TERCEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [100] 85
FIGURA 4.6 - VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A PRIMEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] 86
FIGURA 4.7 - VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A SEGUNDA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [50-50] 88
FIGURA 4.8 - VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A TERCEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [100] 89
FIGURA 4.9 - EXPERIMENTO 1: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO REFERVEDOR 91
FIGURA 4.10 - EXPERIMENTO 2: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO REFERVEDOR 92
FIGURA 4.11 - EXPERIMENTO 3: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO REFERVEDOR 92
FIGURA 4.12 - EXPERIMENTO 1: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO TOPO DA COLUNA 94
FIGURA 4.13 - EXPERIMENTO 2: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO TOPO DA COLUNA 94
FIGURA 4.14 - EXPERIMENTO 3: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO TOPO DA COLUNA 95

LISTA DE TABELAS

TABELA 2.1 - COMPARAÇÃO DE DIFERENTES REGIMES E SISTEMAS DE CULTIVO.....25
TABELA 2.2 - CULTIVO EM SISTEMA ABERTO VS. SISTEMA FECHADO (FBR).29
TABELA 2.3 - PROPRIEDADES PARA DIESEL VERDE BIO JET FUEL.....36
TABELA 2.4 - DIFERENTES MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE HIDROCARBONETOS 45
TABELA 4.1 - EXTRAÇÃO DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS 73
TABELA 4.2 - DESTILAÇÃO DO ÓLEO DE MICROALGAS.....78
TABELA 4.3 - FRAÇÕES DO ÓLEO DE MICROALGAS CONDIÇÃO 4 [70-30].....81
TABELA 4.4 - COMPOSTOS IDENTIFICADOS NO CG-EM PARA AS TRÊS PRIMEIRAS CONDIÇÕES.....95
TABELA 4.5 - COMPOSTOS IDENTIFICADOS NO CG-EM PARA CADA FRAÇÃO NA CONDIÇÃO 4 [70-30].....101
TABELA 4.6 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMCAS DO ÓLEO DESTILADO DA CONDIÇÃO 1 [70-30].....102
TABELA 4.7 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMCAS DO ÓLEO DESTILADO DA CONDIÇÃO 2 [50-50].....103

LISTA DE ABREVIATURAS OU SIGLAS

°API - Grau API
°C - Grau Celsius
$°C.min^{-1}$ - Graus Celsius por minuto
µL - Microlitro
µm - Micrômetro
$µmol.m^{-2}.s^{-1}$ - Micro mol por metro quadrado por segundo
AGLs - Ácidos graxos livres
ANP - Agência Nacional do Petróleo
API - American Petroleum Institute
ASTM - American Society for Testing and Materials
BBM - Bold Basal Medium
CG - EM - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massas
CG-FID - Cromatografia gasosa acoplada à um detector de ionização de chamas
CG-IQ/EM - Cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa por ionização química
cm - Centímetro
CO_2 - Dióxido de carbono
DAGs - Diglicerídeos
EIA - Energy Information Administration
FBR - Fotobiorreator
g - Grama
$g.L^{-1}$ - Grama por litro
$g.L^{-1}.m^{-2}$ - Grama por litro por metro quadrado
GEE - Gases de efeito estufa
h - Hora
H_2 - Hidrogênio
ha - Hectare
HA - Homogeneização aquosa
HDS - Hidrodessulfurização
HI - Homogeneização com isopropanol
hp - Horsepower

Hz	- Hertz
IMK	- Integrated Marine Medium K
INPM	- Índice nacional de pureza de metanol
IPCC	- Intergovernmental Panel on Climate Change
$kcal.kg^{-1}$	- Quilocaloria por quilograma
kg	- Quilograma
$kg.m^{-3}$	- Quilograma por metro cúbico
$kJ.kg^{-1}$	- Quilojoule por quilograma
km	- Quilometro
L	- Litro
$L.min^{-1}$	- Litro por minuto
m	- Metro
m^2	- Metro quadrado
m^3	- Metro cúbico
MAGs	- Monoglicerídeos
$mg.L^{-1}$	- Miligrama por litro
$mg.L^{-1}.dia^{-1}$	- Miligrama por litro por dia
min	- Minuto
$MJ.kg^{-1}$	- Mega Joule por quilograma
$MJ.kg^{-1}$	- Mega Joule por quilograma
mL	- Mililitro
$mL.min^{-1}$	- Mililitro por minuto
mm	- Milímetro
NPDEAS	- Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento em Energia Autossustentável
O_2	- Oxigênio
p/p	- Peso por peso
PCI	- Poder calorifico inferior
PCS	- Poder calorifico superior
pH	- Potencial hidrogeniônico
ppm	- Parte por milhão
PVC	- Policloreto de polivinila
rpm	- Rotação por minuto
RSU	- Resíduos Sólidos Urbanos
s	- Segundos

TAGs	- Triglicerídeos
TAP	- Tris-acetato-fosfato
TOC	- Carbono orgânico total
V	- Volt
v/v	- Volume por volume
W	- Watt

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 18
1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO E MOTIVAÇÃO 18
1.2 NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM ENERGIA AUTOSSUSTENTÁVEL (NPDEAS) NO CONTEXTO DA PESQUISA 20
1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE 22
2 REVISÃO DE LITERATURA 24
2.1 MICROALGAS 24
2.2 TECNOLOGIAS PARA O CULTIVO DE MICROALGAS 26
2.2.1 Sistemas abertos 26
2.2.2 Sistemas fechados 27
2.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE MICROALGAS 30
2.3.1 Métodos mecânicos 31
2.3.2 Métodos não mecânicos 33
2.4 HIDROCARBONETOS DE MICROALGAS (GREEN DIESEL) 35
2.4.1 Trabalhos publicados que envolvem a produção de hidrocarbonetos a partir de microalgas 38
2.4.2 *Botryococcus braunii* para produção de hidrocarbonetos 47
2.5 PRINCÍPIOS DA DESTILAÇÃO 47
2.5.1 Destilação em batelada 49
2.5.1.1 Misturas azeotrópicas na destilação em batelada 51
2.5.2 Destilação fracionada 52
2.6 DESAFIOS EXISTENTES NA ÁREA DA PESQUISA 55
2.7 OBJETIVOS 56
2.7.1 Objetivo geral 56
2.7.2 Objetivos específicos 56
3 MATERIAL E MÉTODOS 58
3.1 PRODUÇÃO DA BIOMASSA NO NPDEAS (CULTIVO, PROCESSAMENTO E SECAGEM) 58
3.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS 63
3.3 DESTILAÇÃO FRACIONADA DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS 66
3.4 QUANTIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM ESPECTRÔMETRO DE MASSA (CG-EM) 69

3.5 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO DESTILADO.....70
4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS.....73
4.1 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS.....73
4.2 DESTILAÇÃO FRACIONADA DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS.....78
4.3 QUANTIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM ESPECTRÔMETRO DE MASSA (CG-EM).....95
4.4 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO DESTILADO.....102
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS.....107
5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS 108
REFERÊNCIAS.....110
APÊNDICE 1 – TABELAS COM DADOS EXPERIMENTAIS DA DESTILAÇÃO FRACIONADA [MASSA].....125
APÊNDICE 2 – TABELAS COM DADOS EXPERIMENTAIS DA DESTILAÇÃO FRACIONADA [TEMPERATURA] 127
APÊNDICE 3 – TABELAS COM DADOS EXPERIMENTAIS DA DESTILAÇÃO FRACIONADA PARA A CONDIÇÃO 4 [70-30].....129
APÊNDICE 4 – CROMATOGRAMAS 132

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTUALIZAÇÃO E MOTIVAÇÃO

À medida que a sociedade continua a se desenvolver rapidamente, a demanda por energia se torna cada vez maior. A questão energética está se estabelecendo como uma das principais preocupações do nosso tempo, sendo amplamente reconhecida como o fator central que impulsiona a economia de um país e desempenha um papel fundamental na configuração do futuro da sociedade humana (HOANG et al., 2021).

As fontes de energia fóssil têm sido exploradas a um ritmo impressionante para satisfazer a crescente demanda global de energia devido ao crescimento populacional, bem como ao forte desenvolvimento da modernização e industrialização (WATTS et al., 2017). No entanto, é crucial reconhecer que a dependência contínua de combustíveis fósseis é extremamente insustentável devido às graves restrições ambientais associadas a todo o ciclo de vida desses combustíveis. Uma das responsabilidades mais significativas é sua contribuição de mais de 90% para as emissões de gases de efeito estufa (GEE) devido ao uso de energia fóssil (DOE, 2023).

A *Energy Information Administration* (EIA) prevê um aumento de aproximadamente 38% no consumo de petróleo entre 2019 e 2050. Nessa direção o relatório do *Intergovernmental Panel on Climate Change* (IPCC) confirma que são necessárias reduções nas emissões de dióxido de carbono (CO_2) para limitar o aumento da temperatura global em no máximo 1,5 °C, para que isso ocorra as emissões de GEE precisam ser reduzidas em 43% até 2030 em comparação com os níveis de 2019, e as emissões de CO_2 precisam atingir a neutralidade por volta de 2050 (EIA, 2020; PÖRTNER et al., 2022; MASSON-DELMOTTE et al., 2022).

A busca por soluções energéticas inovadoras tornou-se então uma prioridade para governos, empresas e comunidades em todo o mundo. As políticas e estratégias nacionais estão sendo revistas e adaptadas para promover a diversificação da matriz energética, reduzir as emissões de GEE e garantir a segurança do abastecimento energético (SURRIYA et al., 2015; PIRES, 2017).

Para minimizar o uso de combustíveis fosseis, muitas opções de fontes de energia limpas estão sendo estudadas e aplicadas com sucesso e podem incluir a

energia solar, térmica ou fotovoltaica, hidroelétrica, geotérmica, eólica e biomassa (DEWULF e VAN LANGEHOVE, 2006). Um objetivo importante é tomar medidas para a redução de emissões provenientes do transporte, com a substituição gradual de combustíveis fósseis por fontes de energias renováveis, onde os biocombustíveis são vistos como verdadeiros contribuintes para alcançar esses objetivos, particularmente no curto prazo (MATA et al., 2010).

Dessa maneira, as microalgas surgem como uma fonte promissora para produzir biomassa devido a várias aplicações que podem oferecer, como biorremediação (RAEESOSSADATI et al., 2014), produção de biocombustíveis (HALLENBECK et al., 2016), carotenoides (SPOLAORE et al., 2006), ficobiliproteínas e ácidos poli-insaturados, entre outros (KOLLER et al., 2014). Os biocombustíveis produzidos a partir da biomassa são recursos energéticos mais viáveis, renováveis e alternativos para lidar com a problemática já citada. Os benefícios incluem sustentabilidade, redução de emissões dos GEE, impacto ambiental reduzido e maior segurança energética. Existem diferentes tipos de biocombustíveis produzidos a partir da biomassa, como biodiesel, bioetanol, bio-óleo, gás de síntese, bio-hidrogênio (DEMIRBAS, 2010; ABOMOHRA et al., 2016) e hidrocarbonetos de cadeia longa, que podem ser usados diretamente como combustível ou como aditivos em combustíveis derivados do petróleo (VIDYASHANKAR et al., 2015).

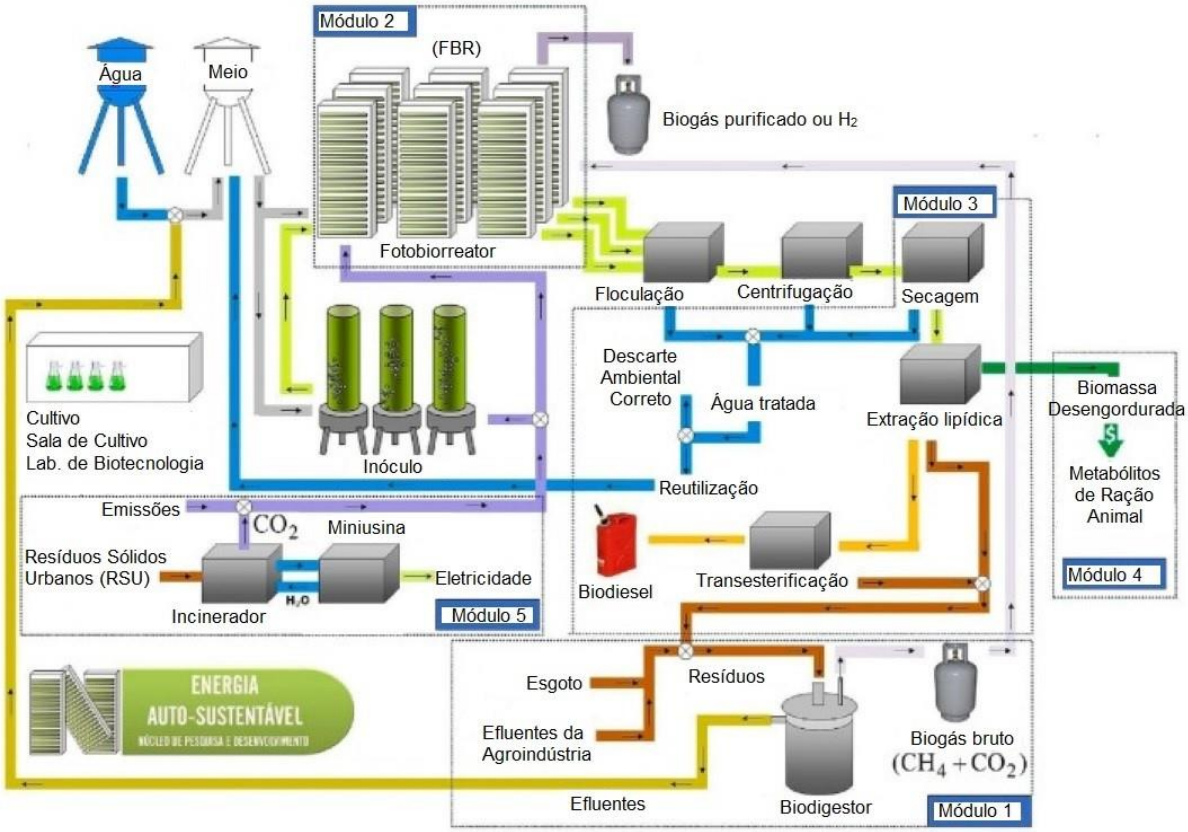
Nesse contexto, para a produção em larga escala de biomassa com o intuito de produzir biocombustíveis ainda existem algumas barreiras, isto é, o cultivo, a colheita, a secagem e o processo de conversão exigem uma grande quantidade de energia e encarece o sistema de produção, tornando esse combustível não competitivo aos combustíveis fosseis (RIBEIRO et al., 2017).

Uma abordagem promissora é a integração de sistemas de cogeração, nos quais a energia necessária para o cultivo e o processamento das microalgas é obtida internamente, reduzindo assim a dependência de fontes externas de energia. Esses sistemas inovadores visam maximizar a eficiência energética, aproveitando resíduos e subprodutos para gerar calor, eletricidade e outros recursos necessários. Com a implementação dessas tecnologias avançadas, poderemos aproveitar o potencial das microalgas como uma fonte sustentável de energia, reduzindo nossa dependência de combustíveis fósseis e mitigando os impactos negativos no meio ambiente (SLADE e BAUEN, 2013; DIAS et al., 2023).

1.2 NÚCLEO DE PESQUISA E DESENVOLVIMENTO EM ENERGIA AUTOSSUSTENTÁVEL (NPDEAS) NO CONTEXTO DA PESQUISA

O NPDEAS situado na Universidade Federal do Paraná (UFPR), Brasil, possui uma planta de cogeração (FIGURA 1.1) para abordar a necessidade atual de ampliar os produtos derivados de microalgas para alcançar a viabilidade técnica e econômica da produção em escala industrial.

FIGURA 1.1 - DIAGRAMA ESQUEMÁTICO DA PLANTA SUSTENTÁVEL BASEADA EM MICROALGAS E BIOPRODUTOS



FONTE: Adaptado de SATYANARAYANA et al (2011).

A planta conta com uma infraestrutura de construída de 1.400 m^2 e sua operação teve início em 2008, composta por módulos interligados, essa estrutura inclui fotobiorreatores (FBRs) em escala industrial, reatores piloto e diversas etapas de processamento da biomassa. Essas etapas abrangem desde a floculação, colheita, secagem e extração de óleo, até a conversão desse óleo em biodiesel por meio do processo de transesterificação, bem como o refinamento para a obtenção de outros produtos. Além disso, a planta também conta com unidades para o fornecimento de água e nutrientes, bem como um biodigestor. Um destaque

adicional é um protótipo de sistema tri-multigeracional, que consiste em um grupo gerador movido por um motor diesel multifuncional, capaz de fornecer simultaneamente energia elétrica e térmica para outras operações (SATYANARAYANA et al., 2011; JACOB-LOPES et al., 2022).

No módulo 1, ocorre a coleta da matéria orgânica residual originada das microalgas por meio de um biodigestor (WARD et al., 2014). Esse material é então misturado a diferentes efluentes orgânicos, como dejeto suíno e esgoto doméstico produzindo biogás. Esse biogás gerado é utilizado para abastecer o grupo gerador, juntamente com efluentes ricos em nitratos e fosfatos que podem ser aproveitados como nutrientes para o cultivo de microalgas no FBR (MIYAWAKI et al., 2021).

No módulo 2, destaca-se a etapa de produção da biomassa de microalgas, a qual apresenta alta umidade (~80% de umidade relativa) após o processo de floculação e centrifugação, ocorre a purificação do biogás (ZHANG et al., 2020), ou ainda do H_2, diretamente do FBR por meio do processo de biofotólise indireta (VARGAS et al., 2016). Esse processo envolve a operação intermitente do FBR, com períodos de entrada e saída de ar, além do controle de compostos à base de enxofre para garantir a qualidade do produto.

O Módulo 3 marca o início do processo de secagem da biomassa úmida, seguido da extração de lipídios para a produção de diesel "verde" - alcanos de cadeia longa que podem ser utilizados como substituto do diesel fóssil (COSTA et al., 2022). Além disso, a extração de ácidos graxos da biomassa também é realizada, visando a produção de biodiesel, produtos farmacêuticos e outros derivados (CHISTI, 2007). Além dessas importantes produções, o Módulo 3 ainda fornece água tratada, que pode ser reutilizada no FBR ou descartada corretamente no meio ambiente (MIYAWAKI et al., 2021). Por fim, a biomassa desengordurada resultante é aproveitada para a produção de valiosos produtos, como bioetanol (FETYAN et al., 2022).

No módulo 4, o foco está direcionado para a produção de ração animal (BALEN et al., 2015; MARQUES et al., 2019), bem como promotores de crescimento vegetal (ZOU et al., 2021; KANG et al., 2021) e outros produtos de alto valor agregado derivados da biomassa residual, como os metabólitos (MC GEE et al., 2020).

O módulo 5 consiste em uma usina de miniciclo Rankine, que é acionada por meio da incineração de resíduos sólidos urbanos (RSU). Em conjunto com um grupo

gerador, essa usina libera emissões ricas em CO_2, que são direcionadas para uma pilha de colunas de fixação com 9 m de altura. Essas colunas possuem prateleiras internas escalonadas, organizadas em sentido contrário ao fluxo descendente do FBR (reator de leito de escoamento ascendente). Dessa forma, o FBR captura o CO_2 para a fotossíntese, bem como outros gases tóxicos e particulados, promovendo o crescimento da biomassa no FBR. Esse processo possibilita a liberação de gases limpos, com baixa concentração de CO_2 e alta concentração de gás oxigênio (O_2), na saída do topo da chaminé para a atmosfera, contribuindo para a redução das emissões poluentes (DIAS et al., 2023).

Dessa forma, a planta de produção se apresenta como uma solução promissora para enfrentar a necessidade atual de expandir os produtos provenientes de microalgas, visando alcançar a viabilidade técnica e econômica da produção em escala industrial. Com sua capacidade de atender à crescente demanda por derivados de microalgas, essa planta oferece uma perspectiva concreta para impulsionar o desenvolvimento sustentável e explorar todo o potencial desses recursos em larga escala.

Nesse contexto os hidrocarbonetos, tais como alcanos e alcenos, são particularmente atrativos devido ao seu potencial como biocombustíveis avançados (isto é, produzidos a partir da biomassa). Esses biocombustíveis se assemelham aos combustíveis derivados do petróleo e apresentam vantagens sobre outros biocombustíveis em diversos aspectos, incluindo um alto teor energético (por exemplo, cerca de 30% maior do que o etanol) (LENNEN et al., 2010; PERALTA-YAHYA et al., 2012). Além disso, há relatos recentes sobre a produção de hidrocarbonetos de microalgas de cadeia longa (C_{13}-C_{17}) como uma alternativa ao diesel e (C_8-C_{16}) ao combustível de aviação (SCHIRMER et al., 2010; CHENG et al., 2019). A produção desses biocombustíveis a partir da biomassa de microalgas abre caminho para uma abordagem mais sustentável e renovável em relação aos combustíveis convencionais.

1.3 ORGANIZAÇÃO DA TESE

O primeiro capítulo apresenta a introdução, passando pela contextualização, motivação e como o NPDEAS está inserido na pesquisa. O segundo capítulo contém a revisão bibliográfica, onde os seguintes tópicos são abordados: microalgas,

tecnologias para o cultivo de microalgas, métodos de extração do óleo de microalgas, hidrocarbonetos produzidos a partir da biomassa de microalgas, princípios da destilação fracionada/batelada, além de apresentar os objetivos da pesquisa (geral e específicos). O terceiro capítulo descreve os materiais e métodos de acordo com o que foi definido nos objetivos específicos: abordar a produção da biomassa no NPDEAS (cultivo, processamento e secagem), desenvolver o processo de extração do óleo bruto de microalgas utilizando uma variação de solventes, realizar a destilação fracionada do óleo bruto como método de purificação dos compostos, quantificar os hidrocarbonetos obtidos através da cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa (CG-EM) e por fim, verificar os parâmetros físico-químicos dos hidrocarbonetos produzidos. O quarto capítulo mostra os resultados obtidos neste trabalho a partir dos objetivos específicos, seguindo os tópicos já citados anteriormente. O quinto capítulo apresenta as conclusões e as recomendações para trabalhos futuros. Por fim, as referências bibliográficas utilizadas na confecção desse documento.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 MICROALGAS

As microalgas são organismos muito pequenos, unicelulares, sem folha ou raízes, possuem um diâmetro que varia entre 1 e 50 micrômetros (µm), vivem em sistemas aquáticos como, rios, lagos e oceanos e, de fato, são o primeiro elo da cadeia alimentar oceânica. Esses microrganismos convertem o CO_2 e água em oxigênio e biomassa rica em nutrientes na presença de luz solar através do processo de fotossíntese. As algas são constituídas por células eucarióticas e procarióticas, que são as células com núcleos e organelas. No entanto, a maioria das algas (alguns pesquisadores dizem quase todas) são eucarióticas. Todas as algas eucarióticas possuem organela intracelular denominado cloroplasto, que contém lamelas fotossintéticas com clorofila na qual ocorre a fotossíntese. A cor das microalgas (isto é, algas verdes) refere-se à clorofila. As algas verdes-azuladas (Cyanophyceae) são o principal grupo de algas procarióticas e conduzem a fotossíntese diretamente no citoplasma, e não em organelas especializadas. A estrutura simplista unicelular/multicelular das microalgas aumenta suas taxas fotossintéticas, permitindo o sequestro de carbono e produção de energia eficaz devido ao rápido acúmulo de lipídios em sua biomassa (SAJJADI et al., 2018).

A composição bioquímica das microalgas engloba quatro grupos principais de moléculas: proteínas, carboidratos, ácidos nucleicos e lipídeos em proporções variadas, com base nas classes de algas. O composto mais rico em energia é lipídico (37,6 $kJ.g^{-1}$), seguido de proteínas (16,7 $kJ.g^{-1}$) e carboidratos (15,7 $kJ.g^{-1}$). As microalgas contêm principalmente lipídios polares e não polares. Com relação à sua taxa metabólica, a proporção desses dois tipos de lipídeos varia ao longo de diferentes fases de crescimento das algas. Os lipídeos polares são lipídeos estruturais, como glicolipídios e fosfolipídios. Esses lipídeos estão ligados às membranas das organelas, tais como as membranas tilacóides no cloroplasto (SUKENIK et al., 1993; BROWN et al., 1996; HU et al., 2008). Os lipídeos não polares (neutros) são lipídeos de armazenamento, isto é, triglicerídeos (TAGs), diglicerídeos (DAGs), monoglicerídeos (MAGs), ácidos graxos livres (AGLs), hidrocarbonetos e pigmentos. Os lipídeos são armazenados nas algas de várias

maneiras, dependendo das espécies, fases de crescimento e condições ambientais para o crescimento (OLOFSSON et al., 2012; TORRES et al., 2013).

As microalgas podem crescer em sistemas fotoautotróficos, heterotróficos e mixotróficos. O cultivo fotoautotrófico ocorre quando as microalgas usam a luz como única fonte de energia e o carbono inorgânico como fonte de carbono para produzir energia química através da reação fotossintética. O cultivo heterotrófico é caracterizado pela utilização de apenas compostos orgânicos como fonte de carbono e energia. Nessas condições, o requisito da luz é eliminado. Por fim, o mixotrófico que usa substrato orgânico e luz como fonte de energia, assim como CO_2 e substrato orgânico como fonte de carbono (ABREU et al., 2012; LIU e BENNING, 2013). A TABELA 2.1 mostra uma comparação dos diferentes regimes e sistemas de cultivo.

TABELA 2.1 - COMPARAÇÃO DE DIFERENTES REGIMES E SISTEMAS DE CULTIVO

Regime de cultivo	**Fonte de energia**	**Fonte de carbono**	**Requisito disponibilidade de luz**	**Biorreator**	**Custo**	**Desafios**
Foto autotrófico	Luz	Inorgânico	Obrigatório	Lagoa aberta e FBR fechado	Baixo	Baixa densidade, alto custo de condensação problemas de escala
Heterotrófico	Orgânico	Orgânico	Sem requisitos	Biorreatores de tanque agitado	Médio	Contaminação e alto custo de substrato
Mixotrófico	Luz e orgânico	Inorgânico e orgânico	Não obrigatório	FBR fechado	Alto	Contaminação, alto custo do equipamento e alto custo do substrato

FONTE: Adaptado de GRUBIŠIĆ et al (2019).

Para o crescimento das microalgas, é necessária a interação entre fatores biológicos, químicos e físicos. Os fatores biológicos referem-se às taxas metabólicas específicas das espécies cultivadas e à influência de outros organismos no desenvolvimento das microalgas, por exemplo, fungos, protozoários e outros micro-organismos. Os principais fatores físicos e químicos que afetam o crescimento das microalgas são luz, temperatura, potencial hidrogeniônico (pH), salinidade e disponibilidade de nutrientes (PIORRECK e POHL, 1984; RICHMOND, 2004; MAKAREVICIENE et al., 2011). Não existe um meio de cultura único para todas as espécies de microalgas, uma vez que cada uma tem suas próprias necessidades

específicas. Assim, a composição bioquímica das microalgas, por exemplo, a concentração total de proteínas, lipídios e carboidratos, variam de acordo com as condições utilizadas, por exemplo, temperatura, incidência de luz, fonte de nutrientes, entre outras (STEFANOV et al., 1988; RYCKEBOSCH et al., 2014; SOARES et al., 2014). As microalgas podem ser economicamente exploradas sob vários aspectos, por exemplo, produção de alimentos para nutrição humana e animal (especialmente na aquicultura), produtos farmacêuticos e biocombustíveis (MARKOU e NERANTZIS, 2013; KLOK et al., 2014; BELLOU et al., 2014).

2.2 TECNOLOGIAS PARA O CULTIVO DE MICROALGAS

O sistema de cultivo de microalgas é comumente classificado em sistemas abertos ou fechados, dependendo de suas condições de projeto. Em sistemas abertos, as microalgas são cultivadas em ambientes de área aberta, como lagos, lagoas, canais profundos, unidades de circulação rasa entre outros. Em sistemas fechados, as microalgas são cultivadas em tubos com parede transparentes expostos à luz solar ou radiação artificial para facilitar a fotossíntese (RAZZAK et al., 2013).

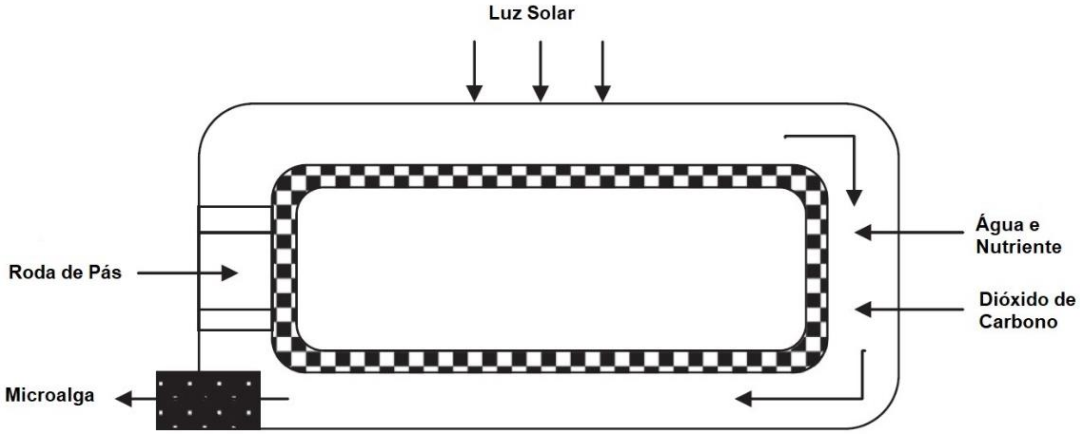
2.2.1 Sistemas abertos

Sistemas abertos são os sistemas operacionais que têm sido predominantemente usados para a cultura industrial de microalgas durante as últimas décadas. Sistemas abertos são mais fáceis e baratos de construir e operar do que reatores fechados. São sistemas menos eficientes em termos energéticos e possuem fácil manutenção e limpeza (BRENNAN e OWENDE, 2010). O sistema aberto mais comum é a lagoa do tipo pista, no entanto, o problema com esse sistema é a dificuldade de controlar as condições do ambiente circundante (por exemplo, temperatura e clima), nos quais esses fatores afetam diretamente a produtividade da biomassa de microalgas (DEMIRBAS, 2010; JUNYING et al., 2013). Outro grande problema é a contaminação por bactérias, fungos, protozoários e outras algas, além de grandes perdas de água por evaporação (CHISTI, 2007).

A FIGURA 2.1 mostra uma lagoa do tipo pista, onde as microalgas, a água e os nutrientes são circuladas por uma roda de pás. Isso manterá as microalgas

suspensas na água e permitirá a utilização do CO_2 da atmosfera. A lagoa é rasa para permitir a penetração da luz, a fim de maximizar a exposição dela (luz) às microalgas para a realização da fotossíntese. O benefício dessa lagoa rasa é que alguns resíduos de CO_2 podem ser reutilizados borbulhando de volta para a lagoa. De fato, controlar cuidadosamente outros parâmetros, como pH e outras condições ambientais, permitirá a utilização de 90% do CO_2 injetado (DEMIRBAS, 2010; SINGH et al., 2021).

FIGURA 2.1 - SISTEMA DE LAGOA ABERTA (VIA ÚNICA)



FONTE: Adaptado de MILANO et al (2016).

2.2.2 Sistemas fechados

Os FBRs foram desenvolvidos para superar os problemas associados aos sistemas abertos. Eles podem ser localizados em ambientes fechados com luz artificial ou luz natural por meio de sistemas de coleta e distribuição de luz, ou ao ar livre para usar a luz solar diretamente. Os FBRs podem ser classificados com base no design e no modo de operação (FIGURA 2.2). Podem ser inclinados em diferentes ângulos e podem usar luz difusa e refletida, o que desempenha um papel importante na produtividade (ALABI et al., 2009). Sistemas fechados possuem maior eficiência e concentração de biomassa (2-5 $g.L^{-1}$), menor tempo de colheita, risco reduzido de contaminação, permite maior seleção de espécies de algas usadas para o cultivo e maior proporção superfície/volume do que lagoas abertas (LEE, 2001).

FIGURA 2.2 - FOTOBIORREATORES TUBULARES: DIFERENTES CONFIGURAÇÕES

FONTE: Adaptado de TAHER (2013).

Legendas: A – Mini-Fotobiorreator.
B – Reator tipo *Airlift*.
C – Fotobiorreator 10 m^3.

A luz pode ser irradiada no interior do biorreator com lâmpadas submersas, fornecida externamente por luzes fluorescentes ou pelo sol. O FBR possui uma zona escura central foto limitada e uma zona periférica melhor iluminada próxima à superfície. O ar enriquecido com CO_2 é injetado no reator, criando um fluxo turbulento que circula as células entre as zonas clara e escura e auxilia na transferência de massa do CO_2 e do oxigênio. A frequência do ciclo de zonas clara e escura depende da intensidade da turbulência, concentração celular, propriedades ópticas da cultura, diâmetro do tubo e nível de irradiância externa (CHISTI, 2007). A regulação do CO_2 e dos níveis de oxigênio dissolvido no FBR é outro elemento essencial para o crescimento das algas. Os desafios dos FBRs incluem superaquecimento, acúmulo de zonas foto limitadas na parte interna, foto inibição nas zonas periféricas, danos na estrutura celular devido a tensões hidrodinâmicas e

o alto custo para construção. O aumento de escala do FBR aumenta a porcentagem de zona escura e reduz o crescimento das algas (AMIN, 2009; MATA et al., 2010).

Ainda assim, os FBRs são os mais utilizados e considerados os mais promissores, pois produzem alta quantidade de biomassa e possui menores ciclos de colheita, porém, possui um alto custo de construção quando comparado ao sistema aberto (TABABA et al., 2012). A TABELA 2.2 mostra as principais diferenças (vantagens e desvantagens) do sistema aberto e do sistema fechado.

TABELA 2.2 - CULTIVO EM SISTEMA ABERTO VS. SISTEMA FECHADO (FBR)

Fator	Sistema aberto	Sistema fechado
Espaço necessário	Alto	Baixo para FBR
Perda de água	Muito alto, também pode causar precipitação de sal	Baixo
Perda de CO_2	Alta, dependendo da profundidade da lagoa	Baixo
Concentração de oxigênio	Geralmente baixo o suficiente por causa da eliminação espontânea contínua	O acúmulo em sistema fechado requer dispositivos de troca de gases (o O_2 deve ser removido para evitar a inibição da fotossíntese e os danos foto oxidativos)
Temperatura	Altamente variável, algum controle possível pela profundidade da lagoa	Resfriamento frequentemente necessário (pulverizando água no FBR ou imersão de tubos em banhos de resfriamento)
Limpeza	Nenhum problema	Necessário (crescimento da parede e sujeira reduzem a intensidade da luz), mas causa abrasão, limitando a vida útil do FBR
Risco de contaminação	Alto (limitando o número de espécies que podem ser cultivadas)	Médio para baixo
Qualidade da biomassa	Variável	Reprodutível
Concentração de biomassa	Baixo, entre 0,1 e 0,5 $g.L^{-1}$	Alto, entre 0,5 e 8,0 $g.L^{-1}$
Flexibilidade de produção	Apenas poucas espécies	
Controle de processo e reprodutibilidade	Limitado (velocidade do fluxo, mistura, temperatura apenas pela profundidade da lagoa)	Possível, dentro de certas tolerâncias
Dependência climática	Alta (intensidade da luz, temperatura, precipitação)	Médio (intensidade de luz, refrigeração necessária)

Fator	Sistema aberto	Sistema fechado
Custos de capital	Alta ~US$ 100.000 por ha	Muito alto ~US$ 250.000 a 1.000.000 por ha (FBR mais sistemas de suporte)
Custos operacionais	Baixo (roda de pás, adição de CO_2)	Superior (adição de CO_2, remoção de oxigênio, refrigeração, limpeza, manutenção)
Custos de colheita	Alto, dependente de espécies	Menor devido à concentração de biomassa e melhor controle sobre espécies e condições

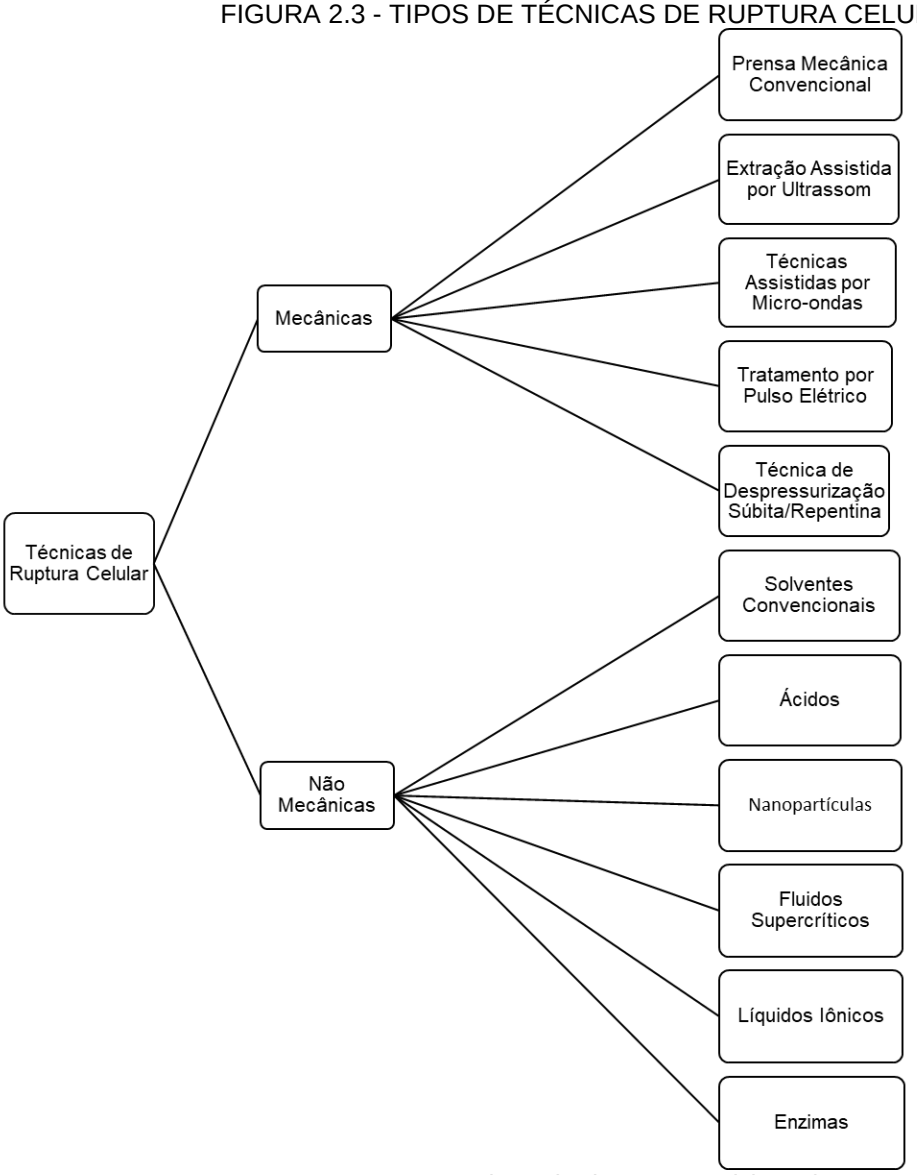
FONTE: Adaptado de GHASEMI et al (2012).

2.3 EXTRAÇÃO DO ÓLEO DE MICROALGAS

Atualmente, não existem métodos estabelecidos para a extração de lipídeos das microalgas. No entanto, muita pesquisa foi feita para reduzir o consumo de solvente, aumentar o rendimento da extração, reduzir o tempo da extração, melhorar as propriedades do produto, entre outros (NETO et al., 2013). Alguns fatores foram identificados como cruciais para a extração dos lipídios em grande escala: eficiência da extração, duração do processo, reatividade com os lipídios, capital e custo operacional, segurança do processo e resíduos gerados (ISLAM et al., 2014).

A ruptura da parede celular é um passo importante para melhorar a eficiência da extração lipídica, uma vez que a difusão passiva na parede celular é lenta. As rupturas da parede celular e da membrana permitirão o acesso direto do solvente ao lipídio intracelular, o que aumenta a eficiência da extração (SIERRA et al., 2017). Existem muitos tipos diferentes de métodos para o rompimento celular, que geralmente podem ser classificados em métodos mecânicos e não mecânicos como mostra a FIGURA 2.3.

FIGURA 2.3 - TIPOS DE TÉCNICAS DE RUPTURA CELULAR



FONTE: Adaptado de GOH et al (2019).

2.3.1 Métodos mecânicos

Os métodos mecânicos de extração lipídica incluem, prensa mecânica, extração assistida por ultrassom, extração assistida por micro-ondas, pulso elétrico e despressurização súbita/repentina. Geralmente os métodos mecânicos resultam em altas perdas de biomassa e baixa seletividade em relação aos lipídios (PERALTA-RUIZ et al., 2013). No entanto, certos processos mecânicos reduzem a utilização prejudicial de solvente, bem como diminuem a duração do processo (ZHANG et al., 2014). As cepas das microalgas possuem uma espessa parede celular que bloqueia a liberação dos lipídios intracelulares, o que não é adequado para a prensagem

mecânica. Portanto, para a extração de lipídios em escala industrial, a prensa mecânica convencional não é um método viável de utilizar (COONEY et al., 2011).

A extração assistida por ultrassom é uma técnica mais promissora, uma vez que facilita a mistura de soluções e não exige temperaturas elevadas para romper as paredes celulares (GERDE et al., 2012). Esta técnica utiliza ondas sonoras para propagar flutuações de pressões que induzem a cavitação. Porém, os métodos assistidos por ultrassom são adequados apenas para espécies de microalgas com paredes celulares rígidas (MUBARAK et al., 2015).

As técnicas assistidas por micro-ondas oferecem um aquecimento rápido e uniforme, utiliza uma quantidade mínima de solvente e requer um período de aquecimento mais curto (DAI et al., 2014). É comparável aos métodos ultrassônicos, pois aumentam o rendimento lipídico e reduzem o tempo de extração. Oferece um aquecimento mais eficaz devido à transferência mais rápida de energia e reduz gradientes térmicos. Além disso, demonstra aquecimento seletivo, usa equipamentos menores e, o mais importante, a extração assistida por micro-ondas aumenta a produção e elimina etapas do processo (VIROT et al., 2008). Embora as extrações assistidas por ultrassom e micro-ondas tenham vantagens à extração convencional (prensa mecânica), ambos têm dificuldades em extrair do meio denso, o que afetará a escala desses processos (MARTINEZ-GUERRA et al., 2014).

O tratamento por pulso elétrico produz campos elétricos para afetar as propriedades da membrana de uma célula biológica. Sob a aplicação de um campo elétrico, as membranas celulares externas receberão um aumento da tensão transmembranar que aumenta a permeabilidade e a condutividade da membrana (SILVE et al., 2018). O tratamento por pulso elétrico também é conhecido por eletroporação. A eletroporação é altamente seletiva e permite a liberação da matéria intracelular, enquanto a extração de lipídios exigirá o uso de solvente (PARNIAKOV et al., 2015). Porém é um método que demanda de uma grande quantidade energética.

A técnica de despressurização súbita/repentina também é um método comum de rompimento celular, usado para obter compostos intracelulares. Durante a compressão estática, um gás difusível, tal como CO_2 supercrítico, penetra a parede celular até que a saturação seja alcançada antes que a despressurização súbita/repentina seja iniciada. Um acentuado gradiente de pressão é formado ao longo da parece celular, onde o gás se expandiu, resultando em uma alta eficiência

de ruptura (UQUICHE et al., 2016). A principal vantagem da despressurização súbita/repentina é que o processo está livre de solventes tóxicos (HERNÁNDEZ et al., 2014). Quando a taxa de descompressão é aumentada, a eficiência da ruptura também aumenta, pois induz uma queda de pressão mais alta ao longo da parede celular (GASPAR et al., 2003).

Apesar de numerosos estudos sobre os métodos mecânicos de extração lipídica, todos possuem suas limitações. As grossas paredes celulares das microalgas tornam a prensagem mecânica convencional ineficiente. A extração assistida por ultrassom e micro-ondas produzem altos rendimentos lipídicos, mas ambos encontram dificuldades na extração em meios densos, o que pode não ser adequado para ambientes industriais. Além disso, o tratamento por pulso elétrico e a despressurização súbita/repentina são métodos intensivos em energia, que aumenta o custo final do produto.

2.3.2 Métodos não mecânicos

Além dos métodos mecânicos de extração lipídica, outros métodos de extração incluem o uso de produtos químicos ou enzimas para romper a parede celular (DONG et al., 2016). A eficiência da extração lipídica depende do uso de solventes polares e não polares (ABOMOHRA et al., 2016). Para a extração dos lipídios das microalgas, os solventes polares são combinados com solventes não polares para garantir a extração total de todos os lipídios neutros, que incluem glóbulos independentes e complexos associados à membrana (HALIM et al., 2012).

O método de Soxhlet é um processo de extração contínuo que utiliza o hexano como solvente orgânico para extrair os lipídios das microalgas. O princípio básico é a extração por refluxo, onde o solvente é aquecido e condensado repetidamente para uma extração eficiente. O hexano é preferido devido ao seu custo baixo e alta eficiência. Por outro lado, o método de Bligh e Dyer é um método de extração líquido-líquido que usa clorofórmio e metanol como solventes. Nesse método, a biomassa é misturada com a solução adequada e a extração ocorre pela partição dos lipídios entre o clorofórmio e o metanol. Essa solução é mais polar que o hexano e dissolve menos compostos indesejados, como a clorofila (KIM et al., 2012). Embora o hexano e a mistura de clorofórmio e metanol sejam solventes comumente utilizados, eles não são considerados seguros para o meio ambiente

devido à sua toxicidade e aos riscos potenciais à saúde humana. Esses solventes podem causar danos ambientais se forem descartados incorretamente, uma vez que são inflamáveis e não se degradam facilmente (KUMAR et al., 2017).

Idealmente, solvente de extração deve ser altamente específico para lipídios, mas volátil o suficiente para garantir a destilação de baixa energia e fácil separação do lipídio (MUBARAK et al., 2015). Considerando as questões de saúde e ambientais associadas aos solventes convencionais, novos solventes ecológicos e sustentáveis foram introduzidos para a extração lipídica das microalgas, como ácidos, nanopartículas, fluido supercrítico, líquidos iônicos e enzimas biológicas.

A ruptura celular mediada por ácido é frequentemente acompanhada de calor. O ácido forte catalisará a hidrólise do bicomponente a temperaturas elevadas, porém ácidos fortes são prejudiciais ao ambiente (LEE et al., 2014).

Nanopartículas podem facilmente penetrar e interagir com biomoléculas devido ao seu tamanho. As nanopartículas de óxido de zinco são capazes de aumentar a permeabilidade das membranas celulares e despolarizar as células (TANG et al., 2017). No entanto, o custo da síntese, as preocupações ambientais e a reutilização das nanopartículas ainda não foram totalmente abordados para aplicações comerciais dessas tecnologias (LEE et al., 2017).

Os fluidos supercríticos são alternativas mais seguras e ecologicamente amigáveis aos solventes orgânicos convencionais. São substâncias que se encontram acima de suas temperaturas e pressões críticas, onde não há distinção entre as fases líquida e gasosa. Ao utilizar um fluido supercrítico, como o CO_2, em condições controladas de temperatura e pressão, é possível extrair os lipídios das células de microalgas. Os lipídios são transferidos para a corrente do fluido, que pode ser recuperada posteriormente por condensação (POURMORTAZAVI, 2007; SAHENA et al., 2009).

As principais vantagens do CO_2 supercrítico são seu custo baixo, segurança e não inflamabilidade. Além disso, a capacidade de dissolver substâncias pode ser ajustada variando a temperatura e pressão de operação. Uma vantagem significativa é que o uso de fluidos supercríticos não gera resíduos de solventes orgânicos poluentes nos extratos finais (TZIMA et al., 2023).

No entanto, existem algumas desvantagens a serem consideradas. O método requer um investimento inicial mais elevado devido à necessidade de equipamentos especializados. Além disso, é necessário um controle preciso de

temperatura e pressão, e alguns compostos presentes nas microalgas podem ter baixa solubilidade em CO_2 supercrítico. Também é necessário um processo adicional para separar os lipídios do CO_2 e obter um produto puro (SUBHASH et al., 2017).

Líquidos iônicos são solventes orgânicos verdes que não são voláteis e possuem boa estabilidade térmica (KIM et al., 2012). O líquido iônico foi aplicado não apenas para extrair lipídios, mas também para recuperar outros compostos valiosos, como proteínas e polissacarídeos da biomassa úmida. No entanto, há casos em que certos líquidos iônicos resultam em menor rendimento lipídico que os solventes orgânicos convencionais (OLKIEWICZ et al., 2015).

A enzima pode facilitar a recuperação de lipídios por degradação seletiva da parede celular e da membrana, preservando a maioria dos compostos lábeis (ZUORRO et al., 2016). Estudos publicados concluíram que a seleção adequada de enzimas e a determinação ideal das condições do processo são essenciais para o tratamento enzimático eficaz. A combinação de vários métodos de rompimento celular pode ajudar a aumentar o rendimento da extração. No entanto, deve-se notar que as enzimas não devem ser expostas a tensões mecânicas, térmicas ou químicas para garantir a reutilização (ZUORRO e MAFFEI, 2016).

A extração dos lipídios usando solventes pode ser feita em biomassa seca ou úmida. No entanto, a extração com a biomassa seca é geralmente mais eficiente (DONG et al., 2016). O processo de secagem é intensivo em energia e custo, mas a extração úmida geralmente resulta em menor rendimento devido à tendência de as células das microalgas permanecerem na fase aquosa e não interagirem com os solventes orgânicos usados na extração lipídica. Considerando a dificuldade de aumento da escala enfrentada pelos métodos mecânicos, o método utilizando solventes é geralmente mais adequado para o uso comercial, pois consome menos energia e consegue produzir maiores rendimentos na extração dos lipídios (STERITI et al., 2014).

2.4 HIDROCARBONETOS DE MICROALGAS (GREEN DIESEL)

A fração lipídica da biomassa de microalgas pode ser utilizada para a produção de biocombustíveis. Os TAGs são convertidos em biodiesel, e esse processo tem sido objeto de estudos extensivos. No entanto, outros compostos

produzidos pelas microalgas, como hidrocarbonetos, também podem ser usados para a produção de biocombustível para jatos (bio jet fuel) e diesel verde (green diesel) (LÓPEZ-ROSALES et al., 2018). Os prefixos "verde" e "bio" indicam especificações de combustível que correspondem às dos derivados de petróleo, mas que devem ser originados de fontes biológicas (DOE, 2016). A principal diferença desses biocombustíveis em relação ao biodiesel é a ausência de oxigênio nos produtos. A produção desses biocombustíveis envolve diversas conversões catalíticas, como hidrocracking e hidroprocessamento de lipídios (LIU et al., 2015; LIU et al., 2016). Um exemplo é o fitol, um álcool diterpeno natural que pode ser utilizado como biocombustível em motores a diesel (KUMAR e SARAVANAN, 2016) ou convertido em gasolina por craqueamento catalítico (TRACY et al., 2010). Outro terpeno, o neofitadieno, é um dos dominantes em microalgas verdes (ABDEL-AAL et al., 2015) e pode ser convertido em biocombustível. Os terpenos são importantes como compostos bioativos, com aplicações como compostos funcionais devido ao seu amplo espectro de atividade biológica, como atividade antitumoral e antiviral, entre outros (ABRANTES et al., 2010). No entanto, dentre mais de 40.000 estruturas relatadas, terpenos específicos (formas cíclicas e acíclicas) são reconhecidos como biocombustíveis que podem ser misturados com uma variedade de combustíveis fósseis, como combustível para jatos, propelente de mísseis, gasolina ou diesel (MEWALAL et al., 2017).

A TABELA 2.3 apresenta as propriedades desejadas para os combustíveis diesel e de aviação, bem como os componentes principais e os potenciais biocombustíveis avançados correspondentes, isto é, combustíveis produzidos a partir de fontes renováveis por exemplo, resíduos agrícolas, algas ou biomassa lignocelulósicas (TIAN e LEE, 2017).

TABELA 2.3 - PROPRIEDADES PARA DIESEL VERDE BIO JET FUEL

Tipo de combustível	**Componentes principais**	**Propriedades**	**Potenciais biocombustíveis avançados**
Diesel	Hidrocarbonetos de C_9 a C_{23}	Número de cetano 40-60	Alcanos, alcenos, isoprenoides lineares ou cíclicos, álcoois graxos, ésteres etílicos de ácidos graxos, ésteres metílicos de ácidos graxos

Tipo de combustível	Componentes principais	Propriedades	Potenciais biocombustíveis avançados
Jet Fuel	Hidrocarbonetos de C_8 a C_{16}	Alta densidade de energia; temperatura de congelamento muito baixa	Isoprenoides lineares, isoprenoides cíclicos, alcanos ramificados, querosene derivado de isobutanol

FONTE: Adaptado de LEE (2017).

No caso do diesel, os principais componentes são hidrocarbonetos com cadeias de carbono variando de C_9 a C_{23}. Uma das propriedades desejadas é o número de cetano, que indica a qualidade de ignição do combustível. O intervalo desejado para o número de cetano é de 40 a 60. Os potenciais biocombustíveis avançados que podem ser utilizados como substitutos do diesel incluem alcanos, alcenos, isoprenoides lineares ou cíclicos, álcoois graxos, ésteres etílicos de ácidos graxos e ésteres metílicos de ácidos graxos (TIAN e LEE, 2017; LEE, 2017).

Os alcanos, também conhecidos como hidrocarbonetos saturados, são os mais simples deles e consistem em ligações simples entre átomos de carbono, que estão saturados com átomos de hidrogênio. A fórmula geral dos alcanos é C_nH_{2n+2}, onde "n" representa o número de átomos de carbono na molécula. Os alcenos são hidrocarbonetos que possuem pelo menos uma ligação dupla, e sua fórmula geral é C_nH_{2n}. Essas características estruturais dos hidrocarbonetos têm um impacto significativo em suas propriedades físicas e químicas. Os alcanos tendem a ser menos reativos do que os hidrocarbonetos insaturados devido à natureza das ligações simples. Os alcenos, por outro lado, são mais reativos devido à presença das ligações duplas (QIN, 2010).

Em relação às algas, estudos mostraram que o conteúdo de hidrocarbonetos nelas é geralmente baixo, por exemplo em *Chlamydomonas reinhardtii* e *Chlorella variabilis*, os alcanos C_{15}-C_{17} representam de 0,04% a 0,1% do peso seco (SORIGUÉ et al., 2016). Além disso, foi observado que o tipo de cultivo das algas, seja heterotrófico ou autotrófico, também influencia a produção de hidrocarbonetos. Em cultivos heterotróficos utilizando glicose como fonte de carbono, foi constatado que a *Chlorella vulgaris* sintetiza uma grande quantidade de hidrocarbonetos $C_{25:1}$ e $C_{21:1}$ no escuro. Por outro lado, em cultivos autotróficos sob luz, apenas pequenas quantidades de alcanos saturados de cadeia longa (C_{17}-C_{36}) foram detectadas (PATTERSON, 1967; QIN, 2010). Resultados semelhantes foram encontrados para a *Chlorella kessleri*, que produz cerca de cinco vezes mais hidrocarbonetos em

condições heterotróficas em comparação às condições autotróficas, representando 0,01% e 0,002% do peso seco, respectivamente (REZANKA et al., 1977; QIN, 2010). Na maioria dos casos, os hidrocarbonetos encontrados são alcanos e alcenos de cadeia reta. Um padrão observado em hidrocarbonetos de algas marinhas é a distribuição de comprimentos de cadeia, que tende a ser predominantemente ímpar, com valores típicos centrados em C_{15}, C_{17} ou C_{21} (NEVENZEL, 1989).

No caso do combustível de aviação, os principais componentes são hidrocarbonetos com cadeias de carbono variando de C_8 a C_{16}. Duas das propriedades desejadas são alta densidade de energia e uma temperatura de congelamento muito baixa. Os potenciais biocombustíveis avançados que podem ser utilizados como substitutos do combustível de aviação incluem isoprenoides lineares, isoprenoides cíclicos, alcanos ramificados e querosene derivado de isobutanol (TIAN e LEE, 2017; LEE, 2017).

2.4.1 Trabalhos publicados que envolvem a produção de hidrocarbonetos a partir de microalgas

O trabalho proposto por Matsunaga et al. (2009) utilizou a microalga marinha *Scenedesmus rubescens* para a produção de biocombustíveis. O cultivo das microalgas foi realizado em diferentes recipientes, incluindo placas de cultivo de 48 poços (com volume de 1 mL), frascos Erlenmeyer de 40 mL e frascos de formato plano de 500 mL. Esses recipientes foram preenchidos com o meio de cultivo IMK (Integrated Marine Medium K) e o crescimento ideal foi de 0,79 $g.L^{-1}$. O acúmulo de lipídios atingiu 73,0% do peso das células com 100% de água do mar artificial sem nutrientes adicionais por 11 dias. No que se refere ao método de extração dos lipídios, foi utilizado o método de extração por solvente, sendo o n-hexano o solvente escolhido. Após a extração, a fração lipídica foi analisada por CG-EM. A análise indicou que a fração lipídica da *Scenedesmus rubescens* continha principalmente hidrocarbonetos, destacando-se o hexadecano ($C_{16}H_{34}$) e o 1-docoseno ($C_{22}H_{44}$). A análise calorimétrica revelou que o conteúdo energético da cepa era de 25,8 $MJ.kg^{-1}$ de poder colorífico, equivalente ao consumo de carvão.

Moazami et al. (2012) fizeram um estudo para investigar a produção de microalgas em larga escala usando a *Nannochloropsis* sp. em lagoas abertas para produção de biocombustíveis. Foram avaliados os efeitos das velocidades das rodas

de pás na produtividade. O sistema de cultura utilizado foram três lagoas de pista com capacidade de 2.000 litros cada. Parâmetros como meio de crescimento (água do mar), iluminação (150 $\mu mol.m^{-2}.s^{-1}$), pH (7,5), nível de água (30 cm) e temperatura (25 °C) foram mantidos constantes durante duas semanas. Os resultados mostraram que o maior conteúdo lipídico e de biomassa podem ser obtidos variando as velocidades das rodas de pás, pois as microalgas podem acessar mais nutrientes, CO_2 e iluminação. O crescimento máximo de 46 $g.L^{-1}.m^{-2}$ e o conteúdo lipídico de 52,0% foram obtidos após 14 dias. A quantidade de hidrocarbonetos variou de 55 a 70 $mg.L^{-1}.dia^{-1}$ de peso celular, mostrando melhor combinação de biomassa e conteúdo lipídico.

O estudo realizado por Já Wang e Wang (2012) teve como objetivo caracterizar completamente os componentes lipídicos de duas espécies diferentes de microalgas para determinar qual delas seria mais adequada para a produção de biocombustíveis. As microalgas utilizadas foram *Nannochloropsis* sp. e *Schizochytrium limacinum*. Para a extração dos lipídios, foi utilizado o método de Folch et al. (1957) e outros dois métodos para comparar a eficiência da extração: o método de homogeneização aquosa (HA) e o método de homogeneização com isopropanol (HI), baseado no procedimento de Cooney et al. (2011). A análise dos lipídios presentes nas microalgas revelou que a matéria insaponificável de *Nannochloropsis* sp. era composta principalmente por hidrocarbonetos e colesterol, representando 29,3% do total de matéria insaponificável. Em *Schizochytrium*, a fração insaponificável quantificável por CG-EM continha 15,4% de esqualeno, 28,9% de colesterol e 43,2% de estigmasta-4,7,22-trien-3-ol. No total, os hidrocarbonetos e esteróis quantificados corresponderam a 50,5% da matéria insaponificável.

Jones et al. (2012) conduziram um estudo sobre a extração de lipídios de uma espécie de Chlorella marinha cultivada em temperatura ambiente (23 °C) em meio salino inf/2 (JEFFREY et al., 1997). As culturas foram desenvolvidas em um FBR de elevação de ar (CHISTI, 2007), sob luzes fluorescentes de cor branca fria, com um ciclo de iluminação de 12 h de luz e 12 h de escuridão. O ar foi fornecido às algas por meio de uma bomba de diafragma de aquário. As algas foram colhidas durante a fase de crescimento tardio - logarítmico, aproximadamente 28 dias após a inoculação, quando a densidade da cultura atingiu 0,2 $g.L^{-1}$ com base no peso seco das células. A extração de lipídios foi feita utilizando 2-etoxietanol (2-EE), clorofórmio: metanol (2:1) e hexano. Os resultados foram comparados e a

recuperação de lipídios com o uso de 2-EE foi superior a 150 - 200% com relação aos outros métodos. A fração de hidrocarbonetos foi isolada dos extratos brutos de algas por meio de placas de TLC preparativa de gel de sílica e, posteriormente, caracterizada por CG-EM. A análise por CG-EM revelou a presença de mais de 30 espécies químicas diferentes, com variação de 14 a 32 carbonos. Os picos mais abundantes foram observados para os n-alcanos de C_{17}, C_{18}, C_{19} e C_{20}, além das espécies ramificadas de C_{15} e C_{20}.

Dodson e Leblond (2015) investigaram a capacidade da alga *Phaeodactylum tricornutum* em produzir hidrocarbonetos. Eles analisaram os hidrocarbonetos produzidos pela alga em duas temperaturas diferentes: 20 °C e 30 °C. Para o experimento, dois conjuntos de culturas aclimatadas da alga foram cultivados em triplicata em 2 L de meio L1 (GUILLARD e HARGRAVES, 1993). O método para analisar os lipídios utiliza colunas de sílica ativada para separar os lipídios com base em sua polaridade. Os extratos lipídicos da primeira fração foram submetidos à análise de cromatografia gasosa acoplada à espectrometria de massa por ionização química (CG-IQ/EM). Os resultados mostraram que, a 20 °C, a *Phaeodactylum tricornutum* produziu hidrocarbonetos como octano (C_8), undecano (C_{11}), nonadecano (C_{19}) e heneicosano (C_{21}), que são semelhantes aos encontrados em combustíveis à base de petróleo. No entanto, quando a temperatura foi aumentada para 30 °C, a composição dos hidrocarbonetos produzidos pela alga mudou. Nessa temperatura mais elevada, a alga passou a produzir heptadecano (C_{17}), octadecano (C_{18}), nonadecano (C_{19}) e eicosano (C_{20}). Além disso, foram observados três alcenos, heptadeceno ($C_{17:1}$), octadeceno ($C_{18:1}$) e nonadeceno ($C_{19:1}$), apenas a 30 °C.

O estudo realizado por Vidyashankar et al. (2015) avaliaram 32 cepas de microalgas verdes de água doce em relação à produtividade de biomassa, composição de ácidos graxos e teor de hidrocarbonetos em condições de crescimento autotrófico. As algas foram cultivadas em um meio de cultura Bold Basal Medium (BBM). Para a extração e estimativa de lipídios, foi utilizada uma mistura de solvente clorofórmio: metanol (2:1), conforme descrito por Christie (1982). Os extratos brutos foram purificados usando uma coluna de vidro preenchida com gel de sílica em n-hexano. Os extratos purificados foram analisados quanto aos perfis de hidrocarbonetos por meio de cromatografia gasosa acoplada a um detector de ionização de chama (CG-FID) e a um espectrômetro de massa (EM). Seis cepas

apresentaram acúmulo de lipídios superior a 20% da fração de massa durante a fase estacionária, enquanto 14 cepas demonstraram teor de hidrocarbonetos superior a 10% da fração de massa da biomassa seca. Os hidrocarbonetos predominantes em todas as cepas foram as n-parafinas com comprimentos de cadeia entre C_{15} e C_{20}. A espécie *Scenedesmus* sp. apresentou hidrocarbonetos isoprenoides ramificados, que representavam 49% da fração de massa total de hidrocarbonetos. *Kirchneriella cornuta* apresentou alto teor de n-tetradecano (40%). Os perfis de hidrocarbonetos dessas cepas de microalgas mostraram semelhanças com as frações parafínicas e isoparafínicas do diesel de petróleo.

Yao et al. (2015) analisaram a composição lipídica de várias espécies de microalgas, incluindo *Nannochloropsis* sp., *Schizochytrium limacinum*, Chlorella vulgaria, *Scenedesmus* sp. e *Chlamydomonas reinhardtii*. Essas algas foram cultivadas em diferentes condições e os lipídios foram extraídos utilizando solventes orgânicos, como isopropanol e uma mistura de clorofórmio/metanol. Em seguida, os lipídios brutos foram recuperados, lavados, secos e armazenados para análise posterior. Para determinar a composição dos lipídios, os pesquisadores utilizaram a técnica de CG-EM. Os resultados mostraram que o esqualeno estava presente em todas as algas, exceto na *Nannochloropsis* sp.. *Schizochytrium limacinum* era composto principalmente por esqualeno, sendo o único hidrocarboneto identificado. *Chlamydomonas reinhardtii* apresentava principalmente hidrocarbonetos monoinsaturados de cadeia ímpar, com destaque para o heptadeceno (82%) e nonadeceno (18%). *Chlorella vulgaria* continha principalmente heptadecano (88%) e esqualeno (13%). *Scenedesmus* sp. possuía como principais hidrocarbonetos o pentacoseno (63%), heptadecano (6%), $C_{25}H_{48}$ (22%) e $C_{27}H_{54}$ (6%). *Nannochloropsis* sp. apresentou uma variedade de hidrocarbonetos, desde C_{14} até C_{30}, incluindo espécies saturadas e insaturadas, de cadeias pares e ímpares e os principais hidrocarbonetos encontrados foram heptadecano (8%), $C_{25}H_{48}$ (14%), hexacoseno (7%), $C_{27}H_{52}$ (20%) e $C_{30}H_{44}$ (18%).

O'Neil et al. (2015) propuseram um processo para isolar alcenonas a partir da biomassa da espécie de alga *Isochrysis* sp.. Essas alcenonas são então convertidas em fragmentos de hidrocarbonetos menores, que apresentaram potencial aplicação na produção de biodiesel e combustível de aviação. Para obter a biomassa da Isochrysis, as algas foram cultivadas em tanques sob luz solar natural. Foi utilizado um meio de cultura modificado F/2, que forneceu os nutrientes

necessários para o crescimento das algas. Em seguida, foi realizada a extração da biomassa em lotes, utilizando hexano como solvente, em um extrator de Soxhlet. Os produtos obtidos a partir da extração foram uma mistura contendo principalmente três alcenonas: 8-decen-2-ona (C_{10}), 2,9-undecadieno (C_{12}) e 2-heptadeceno (C_{17}) ambos como isômeros cis e trans, com base na cromatografia gasosa bidimensional.

O artigo de Santillan-Jimenez et al. (2016) abordaram a extração e purificação da microalga *Scenedesmus acutus* cultivada com gases de exaustão de uma usina termelétrica a carvão. Os pesquisadores realizaram cultivos sequenciais dessa cepa em diferentes sistemas, como frascos de Erlenmeyer de 500 mL, FBRs airlift de 7,5 L e um FBR vertical de tubo de 1.200 L. Na etapa de extração com solventes, uma amostra da biomassa seca foi combinada com uma mistura de clorofórmio e metanol. Um método de purificação dos lipídios brutos das algas por meio de cromatografia em coluna, utilizando montmorilonita K10 ou carvão ativado como fase estacionária foi aplicado. O estudo demonstrou que é viável extrair e purificar lipídios de algas cultivadas com gases de exaustão de uma usina termelétrica a carvão. Além disso, constatou-se que os lipídios em temperaturas mais elevadas resultam em um produto líquido com um alto teor de hidrocarbonetos, incluindo hidrocarbonetos similares ao diesel. Especificamente, o produto líquido obtido consistiu em 99% em peso de hidrocarbonetos, incluindo hidrocarbonetos similares ao diesel na faixa de C_{10}-C_{20}.

Sorigué et al. (2016) descobriram que certas espécies de microalgas têm uma via metabólica especial para converter ácidos graxos em alcanos. As cepas de microalgas, como *Chlamydomonas reinhardtii*, *Chlorella variabilis*, *Nannochloropsis*, *Phaeodactylum tricornutum* e *Ostreococcus tauri*, foram cultivadas em diferentes meios de cultivo, como TAP (Tris-acetato-fosfato) e meios de nutrientes específicos, como Conway, Guillard's F/2 e Keller's. O cultivo foi realizado em frascos cônicos em agitadores de incubação ou em FBR de 1 L. O método de extração utilizado foi a microextração em fase solida. A microalga *Chlamydomonas reinhardtii* produziu o alceno C_{17} chamado n-heptadeceno, que foi identificado como 7-heptadeceno. Esse composto é um isômero formado pela descarboxilação do ácido cis vacênico. Além disso, outras espécies de microalgas, como *Chlorella variabilis* e *Nannochloropsis*, também produziram alcanos, como heptadecano, pentadecano, 7-heptadeceno e 8-heptadeceno.

López-Rosales et al. (2019) identificaram a presença de hidrocarbonetos nas cepas de microalgas *Nannochloropsis* sp. e *Nannochloris* sp.. As amostras foram coletadas em coluna d'água em três profundidades diferentes e na sequência, as cepas de microalgas foram cultivadas em dois tipos de meios de cultura: Guillard's f/2 e BG-11. A biomassa foi produzida em um sistema de cultura composto por três frascos Erlenmeyer de 250 ml conectados em série. Para a extração total de lipídios a biomassa seca foi submetido à extração com solvente utilizando uma mistura de clorofórmio-metanol na proporção de 1:2 (v/v). Após a extração, as frações obtidas foram analisadas por CG-EM. Os hidrocarbonetos encontrados nas cepas de microalgas analisadas tinham de 14 a 27 átomos de carbono, sendo os números pares (como C_{12}, C_{16}, C_{18}, C_{22} e C_{24}) os mais comuns. As porcentagens em peso seco de hidrocarbonetos em todas as cepas foram de 0,055% para *Nannochloropsis* sp., 0,041% para *Nannochloris* sp. e 0,044% para a outra cepa de *Nannochloropsis* sp.. Os hidrocarbonetos extraídos estavam dentro da faixa do diesel, no entanto, seu uso direto ou misturado com hidrocarbonetos fosseis não é recomendado devido à presença de componentes monoinsaturados.

Araújo et al. (2021) analisaram duas espécies de microalgas, *Scenedesmus acuminatus* e *Cosmarium* sp., para a produção de óleo. Essas espécies foram cultivadas em condições controladas em recipientes de vidro de 20 L contendo 18 L de meio de cultura. Para extrair o óleo das microalgas, os pesquisadores utilizaram a extração com n-hexano como solvente. O óleo extraído foi posteriormente avaliado quanto à sua composição utilizando um CG-FID. Os resultados mostraram que o óleo de *Scenedesmus acuminatus* era composto principalmente por ácido palmítico e apresentou uma maior produção e rendimento em comparação com o óleo de *Cosmarium* sp.. Isso indicou que *Scenedesmus acuminatus* é uma espécie mais promissora para a produção de óleo de microalgas. Além disso, o óleo de *Scenedesmus acuminatus* foi submetido a um processo de desoxigenação catalítica utilizando um catalisador de Pd/C. Esse processo mostrou uma alta seletividade na produção de hidrocarbonetos na faixa de C_{12}-C_{18}. A taxa de sucesso desse processo foi de 82,9% e o rendimento em n-alcanos foi de 36,6%.

Gouveia et al. (2021) desenvolveram uma abordagem eficiente e sustentável para a valorização da biomassa da microalga *Tetradesmus obliquus*. O estudo envolveu o cultivo da alga em dois tanques de cultivo externos, cada um com capacidade para 300 L. O meio de cultura utilizado foi o meio Bristol, e foram

estabelecidos ciclos de luz natural e escuro para o crescimento da microalga. Na primeira etapa do processo, foi utilizada a extração com CO_2 supercrítico, seguida de descompressão rápida de gás para extrair a biomassa. Em seguida, foram aplicadas técnicas de extração assistida por ultrassom, assistida por micro-ondas e com água subcrítica na biomassa tratada com CO_2 supercrítico, a fim de determinar a tecnologia de processamento mais eficiente. Os resultados mostraram que a extração com água subcrítica foi a técnica mais eficiente em termos de rendimento de extração, superando a extração assistida por micro-ondas e assistida por ultrassom. Análises por CG-EM revelaram a presença de hidrocarbonetos alifáticos saturados e insaturados, com cadeias de carbono variando de C_{13} a C_{44} (tridecano a tetracontano) nos extratos obtidos por CO_2 supercrítico. Entre os compostos identificados, apenas 3% pertenciam a hidrocarbonetos alquilados, cetonas, fenóis e ésteres. Por outro lado, nos extratos obtidos por água subcrítica, foram encontrados principalmente hidrocarbonetos alifáticos saturados, com cadeias de carbono variando de C_{16} a C_{27}. Os hidrocarbonetos mais abundantes foram o octadecano (com teores de 5% a 29%), o hexadecano (com teores de 5% a 24%) e o eicosano (com teores de 2% a 15%). Em relação a cetonas e fenóis, esses compostos representaram apenas de 0,3% a 2,4% dos extratos obtidos por água subcrítica.

Moran et al. (2022) investigaram a composição volátil de sete cepas de microalgas e cianobactérias provenientes de ambientes marinhos e de água doce (*Isochrysis galbana*, *Nannochloropsis gaditana*, *Tetraselmis* sp., *Scenedesmus almeriensis*, *Chlorella vulgaris*, *Synechococcus* sp. e *Arthrospira platenses)*, que foram cultivadas em fotobiorreatores fechados de coluna de bolhas controlados. O método de extração utilizado para obter os compostos voláteis foi a microextração em fase sólida. Posteriormente, os compostos voláteis extraídos foram analisados utilizando um CG-EM. Foram encontrados 12 hidrocarbonetos lineares, 4 hidrocarbonetos aromáticos, 40 hidrocarbonetos ramificados e 5 hidrocarbonetos cíclicos. Esses hidrocarbonetos apresentaram variações moderadas tanto na quantidade de compostos individuais quanto em sua abundância relativa entre as diferentes cepas.

Costa et al. (2022) cultivaram a microalga *Tetradesmus obliquus* por 15 dias em FBRs de 12 m^3 para produção de hidrocarbonetos. A extração à quente com solventes orgânicos (hexano e etanol) foi utilizada para o rompimento da parede celular da microalga. Após a extração tornou-se necessário recuperar o solvente

presente da amostra usando métodos de evaporação. A destilação fracionada foi utilizada como método de purificação dos compostos e a análise por CG-EM para a extração com hexano identificou hidrocarbonetos de C_{11} a C_{22}, e da extração de hexano com etanol hidrocarbonetos de C_{13} a C_{23}, predominantemente alcanos que levaram a um alto índice de cetano. A análise do poder calorífico foi de 41.952,30 $kJ.kg^{-1}$ praticamente o mesmo do diesel fóssil 42.093,39 $kJ.kg^{-1}$, porém, aspectos econômicos e logísticos precisam ser abordados visando a substituição do diesel fóssil.

A TABELA 2.4 apresenta de forma resumida os trabalhados realizados que identificaram hidrocarbonetos de microalgas em sua composição lipídica e os principais parâmetros de interesse dessa pesquisa. Dentre esses parâmetros estão: espécie da microalga, forma de cultivo, método de extração, caracterização do composto, produtos de interesse (hidrocarbonetos).

TABELA 2.4 - DIFERENTES MICROALGAS PARA PRODUÇÃO DE HIDROCARBONETOS

Microalga	Cultivo	Extração	HCs	Autor(es)
-*Scenedesmus rubescens*	-Erlenmeyer	-Liofilização -Hexano -Sonicação	-Hexadecano -1-docosano -1-tetradeceno -1,19-eicosadieno	Matsunaga et al. (2009)
-*Nannochloropsis* sp	-3 Lagoas abertas (2.000 L cada)	-	-	Moazami et al. (2012)
-*Nannochloropsis* sp, (autotrófico) -*Schizochytrium limacinum* (heterotrófico)	-Biorreator com glicerol como fonte de carbono para (*Schizochytrium limacinum*)	-Método de Folch, AH e IH para (*Nannochloropsis* sp.)	-Diferentes tipos de hidrocarbonetos	Wang e Wang (2012)
-*Chlorella* marinha	-FBR do tipo *air lift* em meio salino	-Extração 2-EE -Clorofórmio + metanol (2:1) -Hexano	-n-alcanos C_{17}, C_{18}, C_{19} e C_{20} -Espécies ramificadas C_{15} e C_{20}	Jones et al. (2012)
-*Phaeodactylum tricornutum*	-	-	-Octano (C_8) -Undecano (C_{11}) -Nonadecano (C_{19}) -Heneicosano (C_{21})	Dodson e Leblond (2015)
-*Isochrysis* sp.	-Lagoas sob luz solar natural	-Extração por solvente em Soxhlet	-Mistura de hidrocarbonetos C_{10}-C_{19}, contendo predominantemente 2,9-undecadieno	O´neil et al. (2015)

Microalga	Cultivo	Extração	HCs	Autor(es)
-*Nannochloropsis* sp. -*Schizochytrium limacinum* -*Chlorella vulgaria* -*Scenedesmus* sp. -*Chlamydomonas reinhardti*	-Pasta Congelada -Reator (5 L) com glicerol -FBR (autotrófico) -Lagoa Aberta -FBR 5 L (autotrófico)	-Isopropanol -Clorofórmio + metanol	-Hexadecano -Heptadeceno -Heptadecano -Octadecano -Nonadecano -Heneicosano -Esqualeno	Yao et al. (2015)
-32 cepas de água doce colhidas da Índia	-	-Hexano	-N-parafinas -Hexadecano -Heptadecano -Octadecano -Nonadecano -Eicosano em todas as cepas	Vidyashankar et al. (2015)
-*Scenedesmus acutus*	-Erlenmeyer de 500 mL -FBRs de 7,5 L -FBR de tubo vertical de 1.200 L	-Bligh e Dyer	-Hidrocarbonetos lineares C_{10}-C_{20}	Santillan-Jimenez et al. (2016)
-*Chlamydomonas reinhardtii* -*Chlorella variabilis* -*Nannochloropsis* sp.	-FBR (1 L) com turbidostato	-	-Alcenos de cadeia C_{15} até C_{17}	Sorigué et al. (2016)
-*Nannochloropsis* sp. -*Nannochloris* sp.	-	-	-Hidrocarbonetos 14 a 27 átomos de carbono	López-Rosales et al. (2019)
-*Scenedesmus acuminatus* -*Cosmarium* sp.	-Recipientes de vidro de 20 L	-Extração com n-hexano	-Hidrocarbonetos na faixa de C_{12}-C_{18}	Araújo et al. (2021)
-*Tetradesmus obliquus*	-Tanques com capacidade de 300 L	-Extração com CO_2 supercrítico -Extração assistida por ultrassom -Extração assistida por micro-ondas	-Hidrocarbonetos alifáticos saturados e insaturados variando de C_{16} a C_{27}	Gouveia et al. (2021)
-*Isochrysis galbana* -*Nannochloropsis gaditana* -*Tetraselmis* sp. -*Scenedesmus almeriensis* -*Chlorella vulgaris* -*Synechococcus* sp. -*Arthrospira platensis*	-FBR de coluna de bolhas fechadas e controladas	-Liofilização -Micro extração em fase sólida com amostrador automático (PAL RSI 85)	-Hidrocarbonetos aromáticos -Hidrocarbonetos ramificados -Hidrocarbonetos alicíclicos -Hidrocarbonetos lineares	Moran et al. (2022)

Microalga	Cultivo	Extração	HCs	Autor(es)
-*Tetradesmus obliquus*	- FBRs de 12 m^3	-Extração à quente com solventes orgânicos (hexano e etanol)	-Hidrocarbonetos de C_{11} até C_{23}	Costa et al. (2022)

FONTE: O autor (2023).

2.4.2 *Botryococcus braunii* para produção de hidrocarbonetos

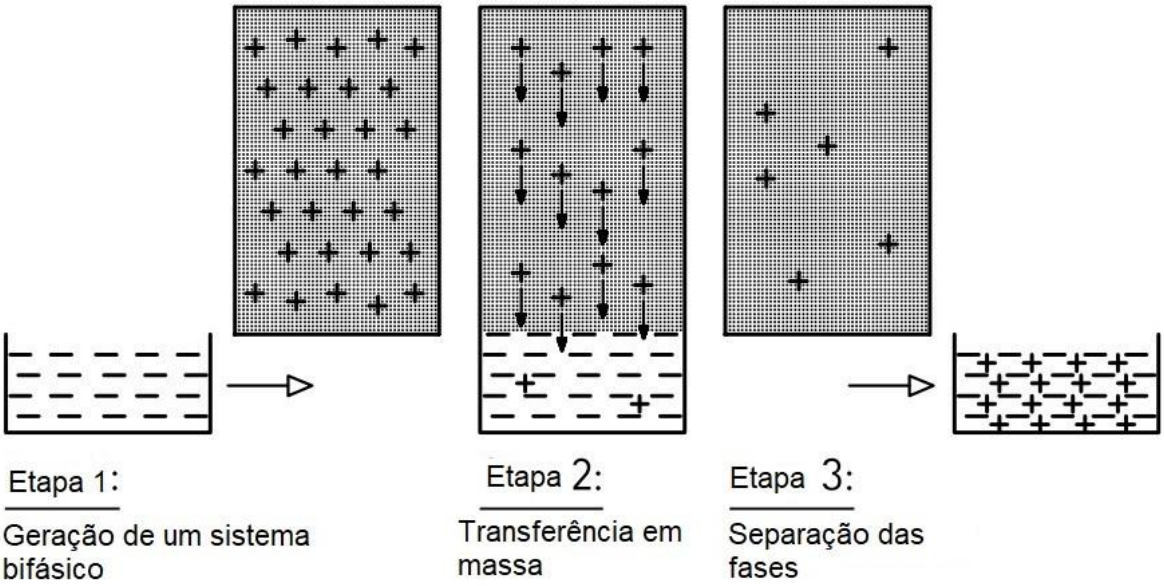
Entre as espécies de microalgas conhecidas, *Botryococcus braunii* é a que produz a maior quantidade de óleo, porém, é uma alga de crescimento lento. Sabe se que a *Botryococcus braunii* produz hidrocarbonetos de cadeia longa na matriz extracelular em contraste com as outras espécies de microalgas que produzem lipídios intracelulares. Os tipos de hidrocarbonetos produzidos dependem da cepa da *B. braunii*. A cepa “A” produz n-alcadienos (C_{23}-C_{33}), a cepa “B” produz triterpenóides (C_{30}-C_{37}) e esqualenos metilados (C_{31}-C_{34}) e a cepa “L” produz tetraterpenóides únicos (EROGLU e MELIS, 2010). A composição elementar dos hidrocarbonetos da *B. braunii* são 86,32% C, 11,96% H, 0,17% N, 1,1% O e <1% S, seu poder calorífico é de 11.703,45 $kcal.kg^{-1}$ ($49MJ.kg^{-1}$) muito próximo dos hidrocarbonetos de origem fóssil (DOTE et al., 1994; CHAUDRY et al., 2015). Esses hidrocarbonetos podem não apenas serem convertidos em combustíveis de alta qualidade, como combustível de aviação, gasolina e diesel por craqueamento catalítico (SAHENA et al., 2009; MURATA et al., 2014), mas também podem ser usados em outras indústrias, como cosméticos (HUANG et al., 2009).

No entanto, apesar de produzir hidrocarbonetos semelhantes ao dos combustíveis fosseis a baixa produtividade (34 $mg.L^{-1}.dia^{-1}$) de *B. braunii* a torna uma fonte inadequada de matéria-prima para a produção de biocombustível, além de possuir uma baixa taxa de crescimento e um tempo médio de duplicação em torno de 36,5 h, (BANERJEE et al., 2002). O acúmulo de hidrocarbonetos pode retardar o ritmo de crescimento em *B. braunii* sendo esses os principais fatores que limitam a produção dessa microalga em escala industrial, dessa maneira é essencial compreender as vias fisiológicas e bioquímicas envolvidas na produção de hidrocarbonetos em algas (KRZEMINSKA et al., 2014).

2.5 PRINCÍPIOS DA DESTILAÇÃO

Nos últimos anos, a destilação tem se estendido além de sua área original na engenharia química para campos como biotecnologia, bioengenharia, engenharia ambiental, biocombustíveis e engenharia de bioenergia (RAMASWAMY et al., 2013). A destilação utiliza um princípio de separação muito simples, é criado um contato entre a mistura inicial e uma segunda fase, a fim de melhorar a transferência efetiva de massa entre essas duas fases. As condições termodinâmicas são escolhidas de forma que principalmente o componente a ser separado da mistura de alimentação entre na segunda fase. Em seguida, as fases são separadas em duas fases individuais com composições diferentes. Três etapas estão sempre envolvidas na implementação desse princípio de separação (FIGURA 2.4) (RAMASWAMY et al., 2013; STICHLMAIR et al., 2021).

FIGURA 2.4 - CONDIÇÕES TERMODINÂMICAS PARA A DESTILAÇÃO



FONTE: Adaptado de STICHLMAIR et al. (2021).

A primeira etapa é a geração de um sistema de duas fases, geralmente uma fase líquida e uma fase gasosa, através da adição de uma fase auxiliar à mistura de alimentação. Em outros processos de separação, podem ser utilizadas outras combinações de fases, como duas fases líquidas ou uma fase fluida e uma fase sólida. A segunda etapa é a de transferência de massa através da interface, onde ocorre uma transferência efetiva de massa entre as fases líquida e gasosa ou entre as fases líquida e líquida. Isso permite que os componentes desejados sejam transferidos da fase líquida para a fase gasosa ou vice-versa. Por fim a separação

das fases, em que as fases líquida e gasosa (ou as fases líquidas) são separadas para obter substâncias com composições diferentes. Esse processo de separação pode ser realizado através de diferentes métodos, como condensação, evaporação ou por meio de mecanismos de separação específicos para cada fase (MERSMANN et al., 2011; STICHLMAIR et al., 2021).

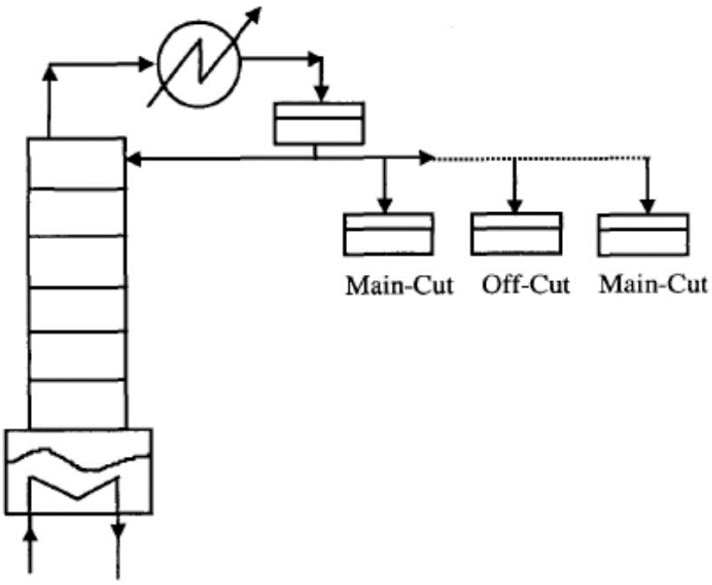
No decorrer desse procedimento, a formação da fase gasosa é alcançada mediante a vaporização parcial da mistura líquida de alimentação, permitindo assim a obtenção dos componentes desejados como substâncias relativamente puras. A destilação apresenta vantagens, uma vez que demanda apenas energia na forma de calor, cuja remoção pode ser facilmente realizada do sistema (PRAUSNITZ et al., 1998; MERSMANN et al., 2011). O equilíbrio líquido-vapor é o responsável por reger tais condições, e, por isso, são empreendidos numerosos esforços para estudar a aproximação máxima desse equilíbrio. Posteriormente, faz-se necessário realizar a separação entre as fases líquida e vapor. O contato entre o vapor e o líquido ocorre através do fluxo contracorrente ou fluxo cruzado, e a transferência de massa se dá devido à ausência de equilíbrio termodinâmico entre as duas fases (MERSMANN et al., 2011). As fases geradas durante o processo de destilação são originadas a partir da evaporação e condensação da mistura inicial. O controle do processo de separação pode ser realizado unicamente por meio do fornecimento de calor. A base para o planejamento de processos de destilação consiste no conhecimento do equilíbrio líquido-vapor, e a eficácia da separação dependerá principalmente da concentração das substâncias individuais presentes nas fases de vapor e líquido (PRAUSNITZ et al., 1998).

2.5.1 Destilação em batelada

A destilação em batelada é um processo de separação de misturas líquidas que ocorre em etapas discretas, em contraste com a destilação contínua, onde o processo é realizado de forma contínua. Essa técnica é amplamente utilizada em laboratórios e em pequenas unidades de produção, pois oferece flexibilidade para lidar com diversas misturas diferentes. A coluna de destilação é o equipamento fundamental utilizado na destilação em batelada. Ela consiste em uma coluna vertical onde ocorre a separação dos componentes da mistura. Na parte inferior da coluna, encontra-se um recipiente chamado alambique (balão, frasco), que é

preenchido com a mistura líquida a ser destilada (FIGURA 2.5) (DAVIDYAN et al., 1994; BONNY, 2006).

FIGURA 2.5 - SISTEMA CONVENCIONAL DE UMA COLUNA DE DESTILAÇÃO EM BATELADA PARA UM SISTEMA TERNÁRIO



FONTE:Adaptado de MUJTABA (2004).

O processo de destilação em batelada tem início quando o alambique (frasco, balão) é aquecido, fazendo com que a mistura líquida se vaporize. O vapor sobe pela coluna e condensa na parte superior. Nesse ponto, todo o condensado inicialmente é recolhido e retornado para a coluna como refluxo. O refluxo é uma parte do condensado que é reciclado para a coluna, visando melhorar a eficiência da separação. Conforme o processo continua, uma fração do condensado da parte superior da coluna é retirada continuamente como destilado. Isso significa que os componentes mais voláteis da mistura são separados e coletados. A quantidade de destilado retirado é determinada de acordo com as necessidades específicas do produto desejado. Enquanto o destilado é coletado, outra parte do condensado é devolvida à coluna como refluxo, mantendo o processo de separação em andamento. À medida que o tempo passa, o líquido remanescente no alambique fica cada vez mais pobre em componentes voláteis, concentrando os componentes de maior peso molecular. Esse processo continua até que não haja mais componentes voláteis na mistura, ou até que os componentes desejados tenham sido separados na quantidade desejada (LUYBEN, 1988; QUINTERO-MARMOL e LUYBEN, 1990).

Uma desvantagem da destilação em batelada é o longo tempo de exposição da mistura a altas temperaturas, o que pode resultar em degradação ou decomposição dos componentes. Além disso, esse tipo de destilação geralmente requer mais energia em comparação com a destilação contínua. No entanto, a destilação em batelada possui a vantagem de ser um processo versátil, permitindo a separação de diferentes misturas líquidas utilizando a mesma coluna de destilação. Isso torna a destilação em batelada uma opção interessante em laboratórios e pequenas unidades de produção, onde a flexibilidade e a capacidade de processar diversas misturas são importantes (BONNY, 2006).

2.5.1.1 Misturas azeotrópicas na destilação em batelada

A separação de misturas azeotrópicas por destilação é um desafio devido à ausência de diferença de concentração entre o vapor e o líquido no ponto azeotrópico. Isso significa que não há uma força motriz para impulsionar a transferência de massa na coluna de destilação, o que dificulta a separação dos componentes. No entanto, existem processos mais complexos que podem ser utilizados para separar misturas azeotrópicas. Esses processos envolvem o uso de um agente separador chamado coalescente ou entrainer (agente extrator). Essa substância é adicionada à mistura azeotrópica para criar uma nova azeótropa com propriedades diferentes, permitindo assim a separação dos componentes desejados (DÜSSEL e STICHLMAIR, 1995).

Em um processo contínuo de destilação, são necessárias duas ou até mesmo três colunas de destilação para separar uma mistura azeotrópica binária com a ajuda do coalescente. Cada coluna opera em condições específicas para promover a separação eficiente dos componentes. No entanto, no caso da operação em batelada, é possível realizar diferentes separações em uma única coluna de destilação em momentos diferentes. Isso significa que uma sequência de colunas de destilação usadas em um processo contínuo é substituída por ciclos de operação de uma única coluna em um processo em batelada. Dessa forma, apenas uma coluna é necessária, mas ela opera em condições variadas ao longo do tempo para realizar as diferentes separações (LOW e SØRENSEN, 2005).

Existem três classes de processos de separação de azeótropos por destilação em batelada. O primeiro deles é conhecido como processos em um único

campo de destilação. Nesse caso, a separação dos componentes da mistura azeotrópica ocorre utilizando-se diferentes condições operacionais em um único campo de destilação. Essas condições podem incluir variação de temperatura, pressão ou taxa de refluxo. Essa abordagem visa romper o equilíbrio azeotrópico e separar os componentes desejados. O segundo tipo de processo é chamado de processos em dois campos de destilação. Aqui, a coluna de destilação é dividida em dois campos distintos, cada um operando com condições específicas para realizar a separação dos componentes azeotrópicos (WARTER et al., 2002). Cada campo pode ser projetado para lidar com as características específicas dos componentes a serem separados. Os produtos resultantes de cada campo podem ser combinados posteriormente ou direcionados para outros processos, dependendo dos requisitos do sistema. Por fim, temos os processos híbridos, que são caracterizados pela combinação da destilação com outras operações unitárias de separação. Essas operações podem incluir decantação, absorção, extração, adsorção ou separação por membrana. A inclusão dessas técnicas auxilia na separação eficiente dos componentes azeotrópicos, proporcionando uma maior eficiência global do processo. A combinação dessas diferentes técnicas de separação permite explorar as vantagens individuais de cada uma delas, resultando em um processo de separação mais eficiente e eficaz (WARTER e STICHLMAIR, 2000).

2.5.2 Destilação fracionada

Uma coluna de fracionamento é um equipamento utilizado para separar os componentes de uma mistura líquida por meio da destilação. Geralmente, ela é empregada quando os pontos de ebulição dos componentes são próximos, ou seja, não há uma diferença significativa entre eles. A coluna de fracionamento é composta por um tubo vertical longo pelo qual o vapor sobe, esse vapor é parcialmente condensado à medida que se eleva pela coluna. O condensado resultante flui para baixo novamente e retorna ao recipiente inicial, chamado de frasco. Essa circulação contínua do líquido é fundamental para a eficiência do processo. Dentro da coluna, ocorre um contato íntimo entre o líquido que retorna e o vapor ascendente. Nesse ponto, ocorre uma troca de calor e uma transferência de massa entre as fases líquida e vapor e essa interação tem como objetivo alcançar o equilíbrio dentro do

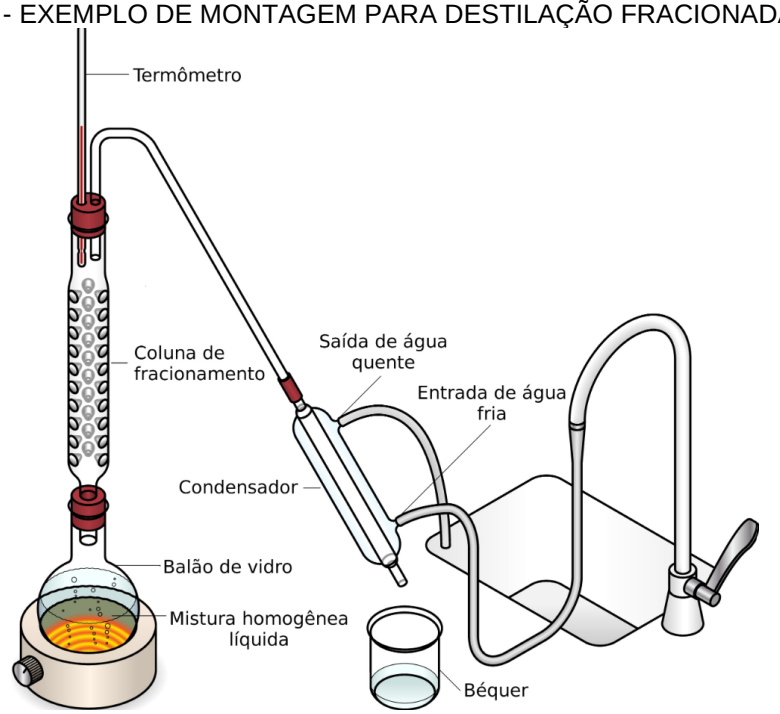
sistema líquido-vapor. Para que a separação seja eficiente, três condições precisam ser atendidas (GLASEBROOK e WILLIAMS, 1951; VOGEL et al., 1989):

I. Quantidades relativamente grandes de líquido devem retornar continuamente pela coluna. Isso é importante para garantir que haja material suficiente para uma adequada separação dos componentes.
II. É necessário que ocorra uma mistura completa entre o líquido que retorna e o vapor ascendente. Isso facilita a transferência de massa e calor, permitindo uma separação mais eficiente.
III. A coluna de fracionamento deve possuir uma grande superfície de contato ativa entre o líquido e o vapor. Essa superfície permite uma interação maior entre as fases, promovendo uma separação mais precisa.

No processo de destilação fracionada, é importante evitar o resfriamento excessivo, especialmente quando se lida com líquidos de alto ponto de ebulição. Esse problema pode ser solucionado através do isolamento adequado ou do revestimento da superfície externa da coluna de destilação. Uma opção é utilizar um revestimento isolante ou uma camada de vácuo ao redor da coluna. Alternativamente, pode-se utilizar um revestimento aquecido eletricamente (KRELL, 1982; VOGEL et al., 1989).

A FIGURA 2.6 ilustra um exemplo de montagem para destilação fracionada simples usando uma coluna Vigreux, que é uma das colunas mais comumente utilizadas e possui uma eficiência moderada de fracionamento. Essa coluna é composta por um tubo de vidro com uma série de reentrâncias alternadas em um ângulo de 45°. Essas reentrâncias promovem a redistribuição do líquido, direcionando-o das paredes para o centro da coluna. Para realizar a destilação fracionada, a mistura a ser separada é colocada em um frasco de tamanho adequado, preenchendo aproximadamente um terço a metade do volume total. Em seguida, são adicionados alguns fragmentos de porcelana porosa para auxiliar no processo de destilação. Um condensador de água é conectado à saída lateral do frasco. O destilado, ou seja, o líquido que é vaporizado e condensado, é coletado em pequenos frascos ou tubos de ensaio (VOGEL et al., 1989; DELGADO e GAUTO, 2021).

FIGURA 2.6 - EXEMPLO DE MONTAGEM PARA DESTILAÇÃO FRACIONADA SIMPLES



FONTE: Adaptado de QUEVEDO (2016).

Durante o processo, é importante posicionar o bulbo do termômetro logo abaixo do nível da saída lateral para monitorar a temperatura com precisão. Para evitar o resfriamento excessivo, recomenda-se isolar a coluna de destilação, principalmente se algum dos componentes tiver um ponto de ebulição superior a 100 °C. Isso pode ser feito utilizando um material isolante ou revestindo a coluna com uma camada isolante. O aquecimento uniforme é essencial para o sucesso da destilação. O frasco pode ser aquecido em um banho de ar, banho de óleo ou utilizando uma manta de aquecimento. É importante aquecer gradualmente para permitir que a coluna aqueça de forma adequada, evitando o acúmulo excessivo de condensação que pode obstruir a coluna. Uma vez iniciada a destilação, o ajuste da taxa de aquecimento é fundamental. O líquido deve passar pela coluna a uma taxa de uma gota a cada dois ou três segundos. Essa taxa de destilação adequada permite um fracionamento eficiente dos componentes da mistura (GREEN e SOUTHARD, 2019; STICHLMAIR et al., 2021).

Quando a fração de baixo ponto de ebulição tiver sido destilada, o processo de destilação deve ser interrompido. Em seguida, o aquecimento é gradualmente aumentado e ocorrerá um aumento acentuado na temperatura de ebulição quando a segunda fração começar a destilar. É importante ressaltar que essa separação acentuada dos componentes da mistura depende da eficiência do sistema de

fracionamento. Caso a montagem não seja eficiente, é possível obter uma fração intermediária relativamente grande (VOGEL et al., 1989).

É fundamental realizar a destilação de forma lenta e cuidadosa. A destilação rápida não economiza tempo, pois pode ser necessário realizar um segundo processo de destilação para obter uma separação adequada dos componentes. Dessa forma, a destilação fracionada é um processo de separação de misturas líquidas que requer cuidados na regulagem da temperatura, isolamento térmico adequado e controle da taxa de destilação para obter uma separação eficiente dos componentes da mistura (VOGEL et al., 1989; GREEN e SOUTHARD, 2019).

2.6 DESAFIOS EXISTENTES NA ÁREA DA PESQUISA

No atual cenário mundial, as necessidades de fontes energéticas mais limpas vêm aumentando consideravelmente. As constantes queimas de combustíveis fósseis fizeram com que novas matrizes energéticas fossem pesquisadas para substituição ou diminuição da procura de fontes não renováveis. As microalgas surgem como uma boa oportunidade para produção de biocombustíveis, pois além da produção de biodiesel também produzem hidrocarbonetos, que podem ser comparados com o óleo produzido por fontes minerais. Esses hidrocarbonetos podem ser usados como combustíveis ou como aditivos em combustíveis à base de petróleo. Mas para que a produção desses hidrocarbonetos de microalgas seja competitiva aos combustíveis fósseis alguns desafios precisam ser superados. Baseado na revisão bibliográfica, alguns desafios podem ser listados:

I. Seleção e cultivo de microalgas adequadas: A escolha das espécies de microalgas ideais para a produção de óleo bruto de alta qualidade é um desafio importante. É necessário identificar as cepas de microalgas que possuem alto teor de lipídios e crescimento rápido, além de serem resistentes a condições ambientais adversas.

II. Aumento da produtividade de óleo: Para viabilizar a produção em larga escala, é necessário aumentar a produtividade de óleo das microalgas. Isso pode ser alcançado por meio de técnicas de engenharia genética, otimização das condições de cultivo e aplicação de nutrientes adequados.

III. Extração eficiente de óleo: A extração do óleo presente nas microalgas é um processo desafiador. É preciso desenvolver métodos eficientes e econômicos que permitam a extração completa do óleo, minimizando a perda de compostos valiosos e reduzindo o consumo de energia.

IV. Destilação e refino do óleo bruto: Após a extração, o óleo bruto de microalgas precisa passar por um processo de destilação e refino para produzir hidrocarbonetos, como o Green Diesel. A otimização desses processos para obter produtos de alta qualidade, com características semelhantes aos combustíveis fósseis tradicionais, é um desafio técnico significativo.

V. Escala de produção: A produção em larga escala de hidrocarbonetos a partir do óleo bruto de microalgas requer a implementação de sistemas de cultivo e processos de extração e destilação em escala industrial. É preciso superar os desafios técnicos e econômicos associados à escala para tornar a produção de Green Diesel viável comercialmente.

2.7 OBJETIVOS

2.7.1 Objetivo geral

Levando em consideração os desafios referentes à área de pesquisa, conforme listados no item anterior, define-se como objetivo geral deste projeto de tese: Desenvolvimento do processo de extração e destilação do óleo bruto de microalgas para produção de hidrocarbonetos (Green Diesel).

2.7.2 Objetivos específicos

Para que seja possível alcançar o objetivo geral descrito acima, definem-se os seguintes objetivos específicos:

I. Abordar a produção da biomassa no NPDEAS (cultivo, processamento e secagem);

II. Desenvolver o processo de extração do óleo bruto de microalgas utilizando uma variação de solventes;

III. Realizar a destilação fracionada do óleo bruto como método de purificação dos compostos;
IV. Quantificar os hidrocarbonetos obtidos através da CG-EM;
V. Verificar de parâmetros físico-químicos dos hidrocarbonetos produzidos.

3 MATERIAL E MÉTODOS

3.1 PRODUÇÃO DA BIOMASSA NO NPDEAS (CULTIVO, PROCESSAMENTO E SECAGEM)

A espécie de microalga utilizada no presente estudo foi a *Tetradesmus obliquus* LGMM0001, também conhecida como *Acutodesmus obliquus* ou *Scenedesmus obliquus*. Essa espécie pertence à classe Chlorophyta e à família Scenedesmaceae. A seleção dessa espécie foi baseada em sua capacidade de adaptação às condições ambientais locais, além de sua tolerância a uma ampla faixa de temperaturas, que varia de 3 °C a 35 °C. A FIGURA 3.1 apresenta uma imagem microscópica da microalga utilizada nos experimentos, permitindo a observação das características específicas da *Tetradesmus obliquus* LGMM0001 e auxiliando na identificação precisa (MIYAWAKI et al., 2020; DIAS et al., 2023).

FIGURA 3.1 - VISÃO MICROSCÓPICA DA MICROALGA *Tetradesmus obliquus* LGMM0001

FONTE: DIAS et al. (2023).

A microalga *Tetradesmus obliquus* foi cultivada em FBR compacto de 12 m^3 de volume, com 3,5 km de comprimento de tubos de Policloreto de polivinila (PVC) de 50 mm circulares transparentes dispostos horizontalmente em uma estrutura de aço inoxidável em uma área de apenas 10 m^2 cada. Suas dimensões são 8 m de altura, 2 m de largura e 5 m de comprimento e os tubos são transparentes para auxiliar no processo de fotossíntese, uma vez que as microalgas ficam expostas a

luz solar. Os FBRs estão localizados no NPDEAS que está situado dentro UFPR mostra a FIGURA 3.2 (CORRÊA, 2013; VARGAS et al., 2019; SEVERO et al., 2022).

FIGURA 3.2 - INFRAESTRUTURA DE FBRS NAS INSTALAÇÕES DO NPDEAS NA UFPR

FONTE: SEVERO et al. (2022).

Os principais grupos de nutrientes considerados essenciais para o crescimento das microalgas são os macronutrientes e os micronutrientes. Os macronutrientes incluem o oxigênio, nitrogênio, hidrogênio, fósforo, cálcio, magnésio, potássio e enxofre. Esses elementos são necessários em quantidades relativamente maiores pelas microalgas para realizar suas funções metabólicas básicas e sustentar seu crescimento. Já os micronutrientes são necessários em quantidades menores, mas ainda essenciais para o crescimento das microalgas. Esses micronutrientes incluem o ferro, boro, cobre, cobalto, zinco, vanádio, molibdênio e sódio. Eles desempenham papéis importantes na atividade enzimática e na regulação de processos metabólicos específicos dentro das células das microalgas (LOURENÇO, 2006).

Um meio de cultivo padrão amplamente utilizado para o crescimento das microalgas em diversos experimentos é o meio CHU modificado. Esse meio é formulado de acordo com a norma regulamentadora NBR 12648:2004 e tem sido empregado em estudos realizados no NPDEAS (LEMOS et al., 2013; MARIANO et

al., 2013; MIYAWAKI, 2014). Entretanto com base na missão do NPDEAS, que é desenvolver alternativas ambientalmente corretas e economicamente viáveis, tornou-se crucial para o grupo buscar e padronizar processos alternativos de produção e recuperação da biomassa de microalgas. O objetivo é aprimorar globalmente o processo, reduzindo os custos e os impactos ambientais associados (LEMOS, 2013; TAHER, 2013; MIYAWAKI, 2014).

O estudo em questão utilizou o efluente suíno biodigerido como meio de cultivo para as microalgas, devido à necessidade desses organismos de certos compostos químicos, como nitrogênio, fósforo e carbono, para obter nutrientes adequados. O inóculo de microalgas utilizado apresentava uma concentração aproximada de 700×10^4 células. mL^{-1}, e o meio de cultivo tinha uma concentração de aproximadamente 2 - 2,5% v/v. A composição do efluente suíno biodigerido continha 197 $mg.L^{-1}$ de nitrogênio, 8.100 $mg.L^{-1}$ de DBO_5, 7,623 $mg.L^{-1}$ de fósforo e 8.100 $mg.L^{-1}$ de carbono orgânico total (TOC) (SELESU, 2015; DISCONZI et al., 2019). A aeração e a circulação foram realizadas utilizando ar atmosférico por meio de compressores da marca Schulz, com uma taxa de fluxo volumétrico de ar de 2 $L.min^{-1}$ ± 5%, e uma bomba submersa de 1 hp, respectivamente (TAHER, 2013; SELESU, 2015; DISCONZI et al., 2019).

O processo de cultivo das microalgas durou 15 dias, após os quais elas foram colhidas e submetidas a procedimentos de processamento. Essa etapa de processamento ocorreu em lotes de 3 m^3, nos quais o volume de cultivo dos FBRs foi transferido e armazenado em três tanques de floculação, com capacidade de 1 m^3 cada. Para separar a biomassa das microalgas do meio de cultivo, foi utilizado um floculante à base de tanino chamado Tanfloc SG, com uma concentração de 0,22 $g.L^{-1}$. Antes da adição do floculante, o pH das culturas foi ajustado para 7 (valor dentro da faixa de atuação do floculante) por meio da adição de CO_2 industrial. Após a adição do floculante, os tanques de floculação foram agitados por 15 min e deixados em repouso durante a noite para que ocorresse a completa separação da biomassa. Em seguida, o meio clarificado foi armazenado, enquanto a biomassa decantada foi submetida a um processo de centrifugação. O NPDEAS utiliza uma centrífuga da marca US Centrifuge System M512, operando com rotações de 3000 rpm e velocidade de centrifugação de 4 $L.min^{-1}$, permitindo concentrar 1 m^3 de cultivo em 5 h, utilizando um sistema de carregamento contínuo. Após a centrifugação, a pasta de microalgas foi distribuída de maneira uniforme em uma

bandeja, conforme ilustrado na FIGURA 3.3 (TAHER, 2013; SCHERER, 2015; MIYAWAKI et al., 2019; DISCONZI et al., 2019).

FIGURA 3.3 - PRODUÇÃO DE BIOMASSA NOS FBRS TUBULARES COMPACTOS DO NPDEAS

FONTE: SEVERO et al (2022).

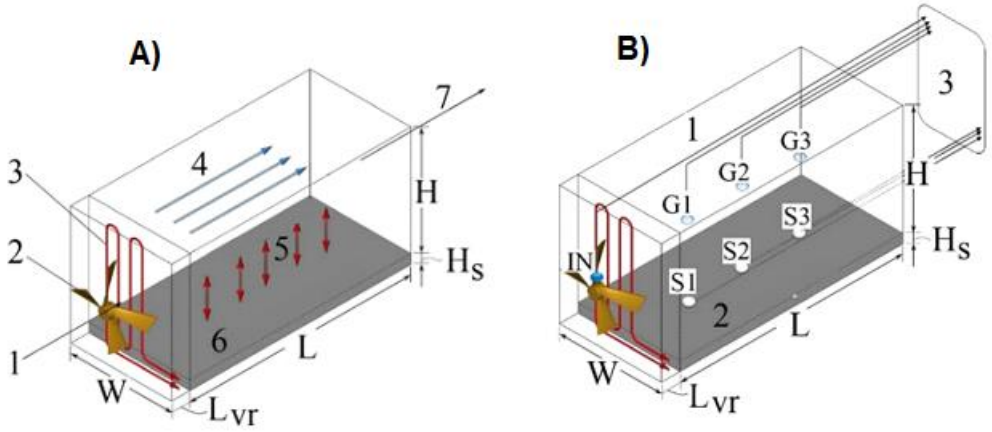
Legendas: A – Pasta de algas colhidas.
B/C – Biomassa úmida.

A próxima etapa envolve o processo de secagem. Diversos métodos estão sendo utilizados, tais como a secagem ao ar livre, a secagem em baixa pressão, a secagem por pulverização, o uso de um tambor de secagem, a liofilização, a secagem em leito fluidizado (BRENNAN e OWENDE, 2010) ou a secagem em estufas com controle de temperatura (SCHERER, 2015). Contudo, essa etapa de desidratação requer um alto consumo de energia, devido à necessidade de realizar uma extensa secagem térmica para remover a água presente nas células (XU et al., 2011).

Disconzi et al. (2019) descreveram um método de secagem da biomassa utilizando um forno de convecção como protótipo. O objetivo desse método foi remover a umidade da biomassa produzida no NPDEAS de forma eficiente. Para minimizar a perda de calor para o ambiente, as paredes do forno foram isoladas termicamente, o que ajuda a manter a temperatura interna estável e reduzir o consumo de energia. Além disso, uma bandeja foi posicionada no fundo da câmara do forno para acomodar a biomassa que será seca. O ar utilizado para a secagem é aquecido por uma resistência elétrica de 950 W. Essa resistência é responsável por elevar a temperatura do ar dentro do forno. Um fluxo de ar é fornecido por um ventilador axial, modelo NMB-MAT 4715MS-23T-B50. Esse ventilador ajuda a distribuir o ar quente de forma uniforme dentro do forno, melhorando a eficiência do processo de secagem. Tanto a resistência elétrica quanto o ventilador operam a uma frequência de 60 Hz, com uma rotação de 2900 rpm e tensão de 220 V. Para monitorar o processo de secagem, foram utilizados termistores para medir a

temperatura em diferentes pontos. Foram utilizados seis termistores do tipo NTC 44004RC, sendo três posicionados na fase gasosa (G1, G2 e G3) e três posicionados na fase sólida (S1, S2 e S3). Esses termistores foram distribuídos uniformemente para obter informações sobre a temperatura em diferentes regiões do forno. Além disso, um termistor foi colocado fora do forno para monitorar a temperatura de entrada (posição IN). Além das medições de temperatura, também foi utilizado um sensor de umidade do tipo DHT22, gerenciado por uma placa micro controladora Arduino. Esse sensor foi posicionado na entrada do protótipo (posição IN) para medir a umidade da biomassa ao longo do processo de secagem (FIGURA 3.4).

FIGURA 3.4 - DESENHO ESQUEMÁTICO DE UM FORNO DE CONVECÇÃO



FONTE: DISCONZI et al. (2019).

Legendas: A – (1) ambiente entrada de ar;
(2) ventilador;
(3) resistência elétrica;
(4) fluxo de ar;
(5) transferência de massa e calor entre fases;
(6) fase sólida (bandeja com biomassa);
(7) saída de ar quente e úmido.

B - (1) fase gasosa;
(2) fase sólida;
(3) sistema de aquisição de dados

A fim de determinar o teor de umidade da biomassa, foram coletadas pequenas amostras de aproximadamente 5 g, garantindo que não afetassem a quantidade total de massa a ser seca. Cada amostra foi pesada em uma balança analítica (GEHAKA, modelo AG200) e, em seguida, submetida à secagem em um analisador de umidade infravermelho (GEHAKA, modelo IV2000), o qual retornou o valor de umidade final da amostra.

3.2 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS

Diversos autores apresentaram vários métodos para romper a membrana celular e obter o óleo bruto de microalgas. Neste trabalho, será empregado a metodologia de extração com solventes orgânicos, pois demonstrou possuir alta seletividade e solubilidade na extração dos lipídios das microalgas (RANJAN et al., 2010). Todo o processo de extração foi realizado no NPDEAS, utilizando o extrator da marca Marconi, modelo MA 502/25/1, com uma tensão de 220 V e potência de 2200 W. O extrator foi acoplado ao banho ultratermostatizado da marca Marconi, modelo MA – 184, com capacidade para 20 L, tensão de 220 V e um motor de indução trifásico da marca EBERLE, modelo B71a4, com frequência de 60 Hz, 1700 rpm e tensão de 220 V. O conjunto "extrator" é dividido em três partes: controle de rotação, banho ultratermostatizado e o próprio extrator como demonstra a FIGURA 3.5. A biomassa seca é triturada para aumentar a transferência de massa dos lipídios durante a extração (HALIM et al., 2011). Após a trituração, a biomassa é colocada no extrator juntamente com uma mistura de solventes e/ou um único solvente. O controle de rotação foi ajustado para 500 rpm e o banho ultratermostatizado foi mantido a 50 ºC. O extrator possui um condensador que evita a evaporação do solvente, aumentando assim o rendimento final da extração (COSTA et al., 2022).

FIGURA 3.5 - EXTRATOR DE ÓLEO DE MICROALGAS NO NPDEAS

FONTE: O autor (2023).

Foram realizados quatro experimentos para a extração do óleo (em triplicata cada experimento) usando uma combinação de solventes e um único solvente

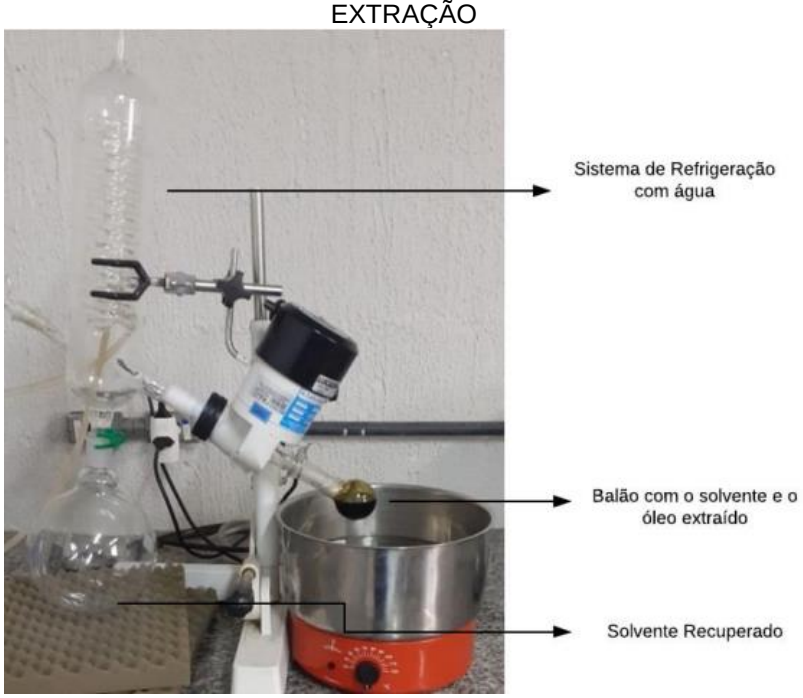
orgânico. Cada experimento exigiu 1,5 kg de biomassa de microalgas seca e moída, além de 7,5 L de solvente orgânico. O etanol utilizado foi adquirido da empresa Nitrogenius Produtos Químicos LTDA, com uma graduação alcoólica em graus INPM (Índice Nacional de Pureza de Metanol) de 96%. O hexano (benzina) utilizado foi adquirido da empresa Cloroquímica Produtos Químicos LTDA e fabricado pela Petrobras S.A. Para a primeira condição, foram utilizados 5,25 L de hexano e 2,25 L de etanol (70% hexano e 30% etanol). Para a segunda condição, foram usados 3,75 L de hexano e 3,75 L de etanol (50% hexano e 50% etanol). Para a terceira condição, foram necessários 7,5 L de hexano (100% hexano). Por fim, para a quarta condição, foram utilizados 5,25 L de hexano e 2,25 de etanol (70% hexano e 30% etanol), repetindo os parâmetros iniciais da primeira condição. O processo de extração foi conduzido ao longo de um período de 3 h.

A utilização exclusiva de etanol como solvente de extração de lipídios de microalgas foi evitada devido às suas características polares. Embora o etanol seja um solvente barato, volátil e com alta afinidade pelos complexos lipídicos associados à membrana devido à capacidade de formação de ligações de hidrogênio, sua natureza polar apresenta uma desvantagem. Essa polaridade limita a interação com glóbulos de lipídios neutros isolados, prejudicando a extração eficiente desses lipídios. Portanto, para garantir a extração completa de ambas as formas de lipídios neutros (glóbulos isolados e complexos associados à membrana) das microalgas, é comum combinar o álcool, como o etanol, com um solvente orgânico não polar, como o hexano ou o clorofórmio, proporcionando interações adequadas e maximizando a eficiência do processo de extração (HALIM et al., 2011).

Após a extração, os componentes restantes (solvente, detritos celulares e lipídios não extraídos) são encaminhados para um sistema de separação sólido-líquido para remoção dos resíduos celulares. O sistema de separação sólido-líquido pode envolver métodos como centrifugação, filtração ou decantação para remover os detritos celulares e obter o óleo de microalgas (HARUN et al., 2010). Após separar os resíduos da biomassa, a recuperação do solvente é essencial para obter o óleo bruto de microalgas como resultado da extração. Quando a extração é realizada com solvente orgânico, a água e o solvente são removidas por meio de métodos de separação líquido-líquido, como evaporação à vácuo, destilação ou adsorção de solvente em fase sólida (HALIM et al., 2011). No contexto deste trabalho, optou-se pelo processo de rotaevaporação para recuperar o solvente. Esse

processo se baseia na evaporação e condensação, permitindo a remoção de diferentes substâncias presentes na amostra. A FIGURA 3.6 apresenta o rotaevaporador da marca Fisatom, modelo 802, conectado a uma bomba centrífuga da marca Marconi, modelo MA2057, com potência de 100 W, para a realização da evaporação à vácuo. O processo envolve etapas de evaporação e condensação, com o objetivo de separar o solvente do lipídeo de interesse, utilizando água como fluido refrigerante. O óleo bruto de microalgas é colocado em um balão de fundo redondo e inserido em um banho aquecido em uma temperatura de 30 °C. Em seguida, a bomba centrífuga é acionada e o frasco é rotacionado a 120 rpm para promover a evaporação do solvente.

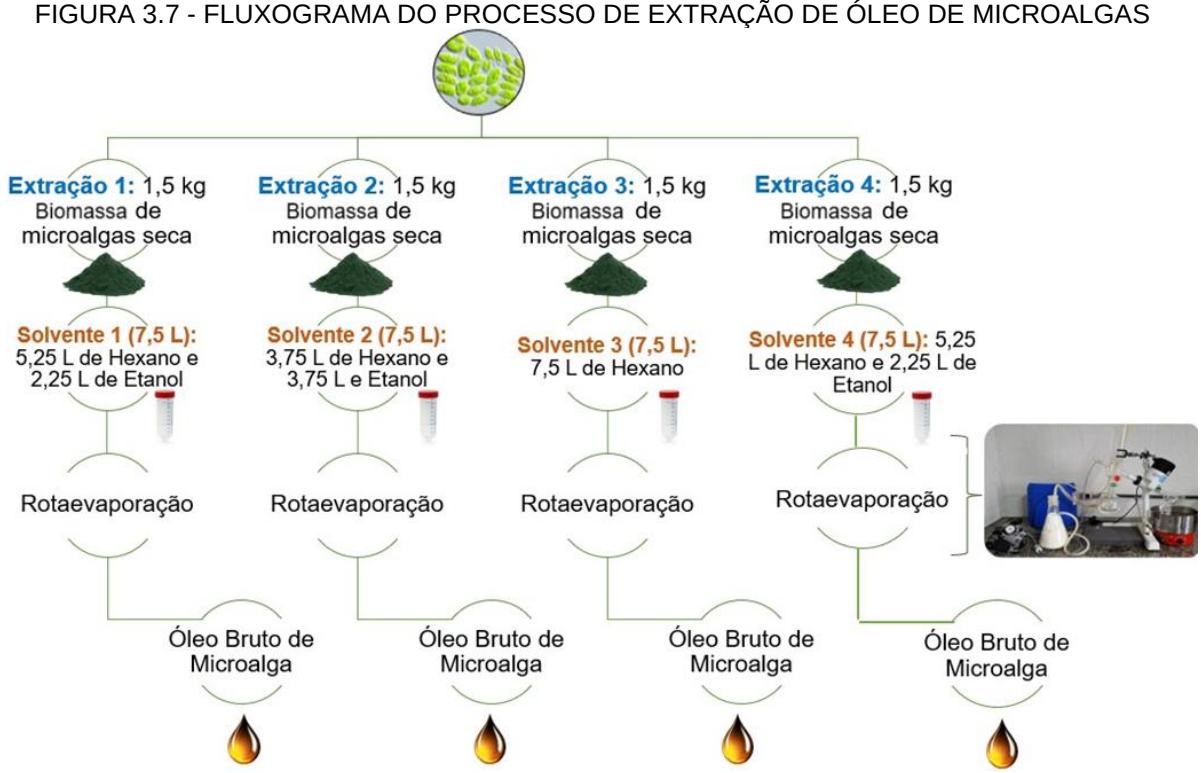
FIGURA 3.6 - ROTAEVAPORADOR PARA A SEPARAÇÃO DO ÓLEO DO SOLVENTE DE EXTRAÇÃO



FONTE: O autor (2023).

O solvente evaporado é conduzido até o condensador, que possui uma serpentina contendo líquido refrigerado. Devido ao contato e à diferença de temperatura, o solvente evaporado retorna ao estado líquido e flui em direção ao balão receptor. Dessa forma, o óleo bruto de microalgas permanece no balão de fundo redondo, enquanto o solvente evaporado é coletado no balão receptor (COSTA et al., 2022). A FIGURA 3.7 apresenta de forma esquemática todo o processo realizado.

FIGURA 3.7 - FLUXOGRAMA DO PROCESSO DE EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE MICROALGAS



FONTE: O autor (2023).

3.3 DESTILAÇÃO FRACIONADA DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS

A destilação é o tipo de operação que visa separar os constituintes de uma mistura líquida através da diferença de volatilidade empregando o calor como agente de separação. A separação dos compostos ocorre em função de vários fatores como: temperatura, pressão e concentração da mistura (ROPER et al., 2005). O aparato de destilação fracionada utilizado continha os seguintes itens: três balões de fundo redondo de 500 mL cada com junta 24/40 (para a primeira, segunda e terceira condição experimental, totalizando nove balões), três balões de 500 mL cada com duas juntas 24/40 sendo uma central e uma lateral angular (para a quarta condição experimental), armazenando o óleo bruto de microalgas que será aquecido para realizar a separação dos compostos.

Para o aquecimento dos balões, foi utilizado uma manta aquecedora da marca Fisatom modelo 53 – classe 650 com capacidade de 500 mL e temperatura de operação de 500 °C. A potência de aquecimento da manta é de 470 W com um regulador de potência da marca Fisatom modelo 407 bivolt, adequado para aquecedores com até 1.100 W ou 2.300 W de potência.

O sistema de destilação incluí uma coluna de fracionamento Vigreux 500 mm com duas juntas 24/40, um condensador de Liebig tipo reto com comprimento de 400 mm com duas juntas 24/40 acoplado a um balde com água e gelo. Esse sistema de resfriamento manteve o condensador sempre refrigerado, garantindo uma temperatura mais baixa durante o processo destilação.

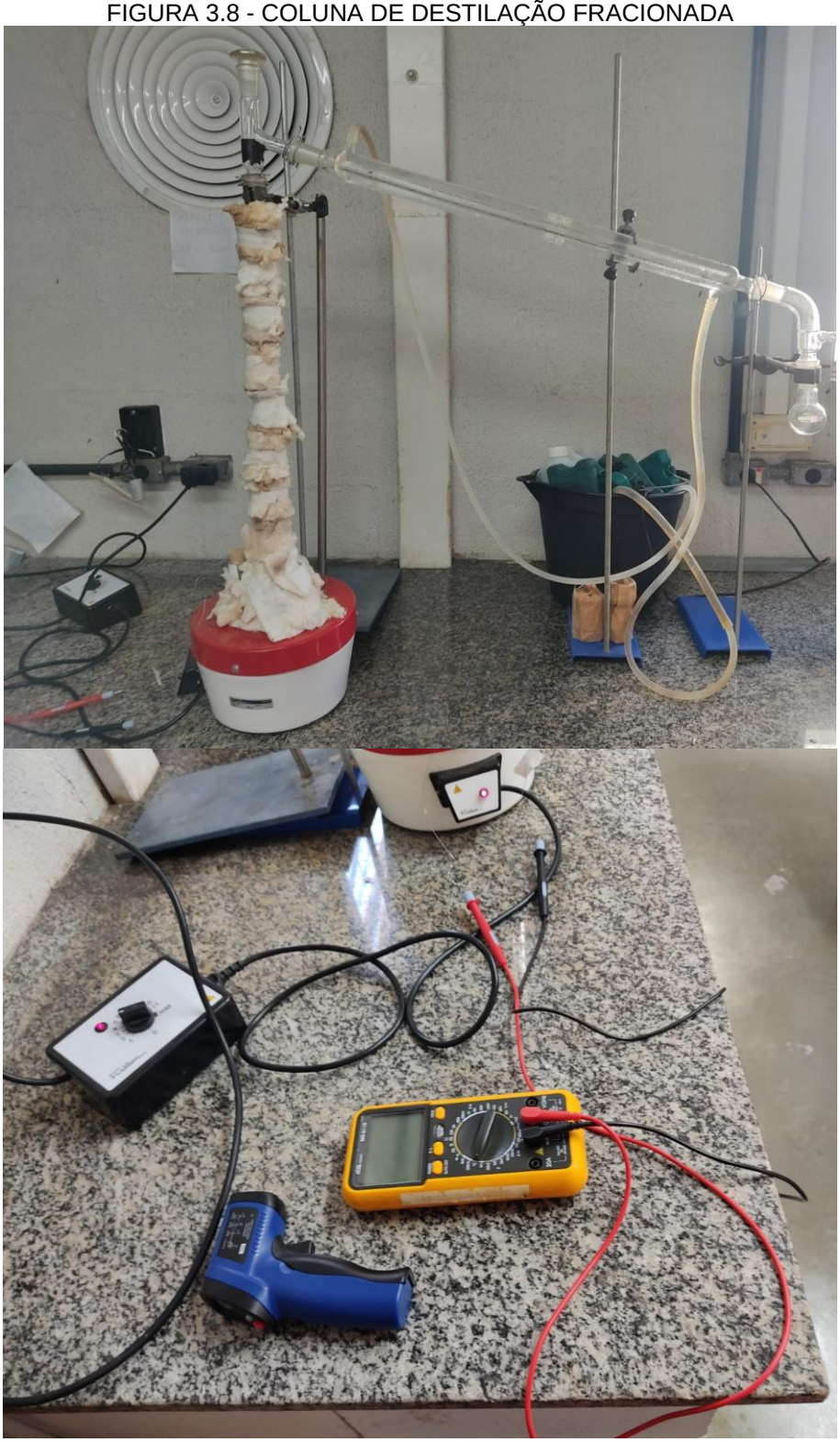
Para coletar as frações destiladas, foram utilizados quarenta balões de fundo redondo de 25 mL cada um, com junta 24/40. Cada um desses balões era destinado a receber uma fração específica obtida durante o processo de destilação. Um termômetro infravermelho da marca Vonder (-20 °C até 500 °C) foi utilizado para medir a temperatura na parte superior da coluna de fracionamento durante a destilação de cada fração.

Para a primeira condição experimental em que o óleo foi extraído usando a proporção de solvente de 70% hexano e 30% etanol foram fracionadas 16 amostras. Para a segunda condição experimental onde a proporção foi de 50% hexano e 50% etanol mais 16 amostras foram fracionadas. Para a terceira condição experimental utilizando 100% hexano como solvente mais 8 frações foram obtidas.

O tempo inicial do fracionamento foi diferente para cada condição experimental, porém após a primeira gota ser destilada o intervalo de retirada das alíquotas foi constante e a cada 4 min para a primeira, segunda e terceira condição experimental, a temperatura foi aferida no topo da coluna para cada intervalo de retirada do óleo destilado. A potência da manta aquecedora foi fixada no máximo durante todo o processo da destilação. Os balões contendo as amostras fracionadas foram todos pesadas em balança analítica (GEHAKA, modelo AG200). No fim, as frações, isto é, primeira (70% hexano e 30% etanol), segunda (50% hexano e 50% etanol) e terceira (100% hexano) condição experimental foram inseridas em um mesmo frasco gerando três amostras para cada condição (triplicata).

Para a quarta condição experimental (70% hexano e 30% etanol) foi utilizado um multímetro digital com sensor de temperatura (0 °C até 750 °C) da marca EDA modelo 9KD acoplado a um Termopar do tipo K (-270 °C a 1.200 °C) adquirido da Consistec Controles e Sistemas de Automação LTDA para realizar medições de temperatura no fundo do balão durante o processo de destilação (FIGURA 3.8).

FIGURA 3.8 - COLUNA DE DESTILAÇÃO FRACIONADA



FONTE: O autor (2023).

Dessa maneira foi possível estipular três intervalos de potência e consequentemente três intervalos de temperatura para realizar a destilação fracionada. A primeira faixa de temperatura foi definida em até 150 °C (potência variando entre 7 e 9), o segundo intervalo foi de 150 °C até 250 °C (potência

variando entre 10 e 11) e por fim, a variação de temperatura foi de 250 °C até 350 °C (potência máxima). Para coletar as frações destiladas, foram utilizados nove balões de fundo redondo de 50 mL cada um, com junta 24/40. Cada um desses balões era destinado a receber uma fração específica obtida durante o processo de destilação. Todas as amostras foram pesadas em balança analítica (GEHAKA, modelo AG200).

3.4 QUANTIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM ESPECTRÔMETRO DE MASSA (CG-EM)

A CG-EM será a principal técnica utilizada para quantificar e caracterizar os hidrocarbonetos das amostras, pois se trata de uma técnica para separação e análise de substâncias voláteis. A amostra será vaporizada e inserida em um fluxo de um gás denominada de fase móvel ou gás de arraste. O fluxo de gás com a amostra vaporizada passa por um tubo contendo a fase estacionária (coluna cromatográfica), onde ocorre a separação da mistura. As substâncias separadas saem da coluna dissolvida no gás de arraste e passam por um detector, dispositivo que gera um sinal elétrico proporcional ao material eluido. O registro deste sinal em função do tempo é o cromatograma, sendo que as substâncias aparecem nele como picos com área proporcional à sua massa, o que possibilita a análise quantitativa. Em um sistema de CG-EM as amostras oriundas do cromatógrafo, no estado gasoso, são bombardeadas por elétrons e são quebradas gerando íons positivos, negativos e radicais a partir da diferença entre massa/carga dos íons gerados irá separá-los (EWING, 2002; ATKINS e JONES, 2009)

As análises foram realizadas em um cromatógrafo gasoso Shimadzu, modelo GC-2010 Plus, equipado com uma coluna capilar VF-5MS de 30 m x 0,25 mm e com um detector de massas do modelo GCMS QP-2010 SE, operando no modo de varredura de íons de 35 a 500 Da. O injetor foi ajustado para uma temperatura de 250 ºC e a injeção foi realizada no modo split, com uma razão de 1:20. O gás de arraste utilizado foi o Hélio, com uma vazão de 0,8 $mL.min^{-1}$. A análise foi iniciada a uma temperatura de 100 ºC e mantida por 1 min, seguida de um aumento de temperatura em uma taxa de 10 $ºC.min^{-1}$ até atingir 200 ºC, onde foi mantida por 2 min. Em seguida, a temperatura foi aumentada a uma taxa de 3,5 $ºC.min^{-1}$ até 260 ºC e mantida por 20 min. O tempo total do programa foi de 50,14

min. A quantificação dos compostos foi realizada por normalização das áreas dos picos, com base no cromatograma de contagem de íons totais. A identificação dos picos foi feita utilizando a biblioteca NIST 11. Para serem injetadas, as amostras foram diluídas numa proporção de 20 µL de óleo bruto em 10 mL hexano P.A. (Synth®).

3.5 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO DESTILADO

A análise de parâmetros físico-químicos na produção de hidrocarbonetos de microalgas é fundamental para avaliar a qualidade do combustível, cumprir regulamentações, otimizar o processo de produção e garantir a compatibilidade com a infraestrutura existente. Para esse trabalho as seguintes análises são propostas: i) massa específica, ii) poder calorífico superior, iii) poder calorífico inferior, iv) enxofre total e v) grau API. Todas foram baseadas nos rendimentos obtidos após a destilação fracionada do óleo de microalgas e por isso apenas nas condições experimentais 1 e 2 que foram realizadas (em triplicata). Todas essas análises foram realizadas no Laboratório de Análises de Combustíveis Automotivos – (LACAUT), localizado na UFPR.

A massa especifica foi calculada através da ASTM D4052-18a, o método envolve o uso de um densímetro para analisar a amostra líquida, que passa por tratamentos e preparações como filtragem e degasagem. O densímetro é calibrado com líquidos de referência de densidades conhecidas para garantir medições precisas. A densidade da amostra é calculada com base na leitura do densímetro, utilizando fórmulas e constantes específicas do método (ASTM, 2011). Na condução deste estudo, utilizou-se o densímetro DMA 4200 M da Anton Paar como instrumento de medição para determinar a densidade de amostras. Este densímetro foi escolhido devido à sua capacidade de medir a densidade em ampla faixa de temperaturas, variando de -10 °C a 200 °C, e sob pressões de até 500 bar. A faixa de medição da densidade compreende valores de 0 g/cm³ a 3 g/cm³, com uma precisão notável de 0,0002 g/cm³. Para garantir resultados confiáveis, a quantidade mínima de amostra necessária para a análise foi estabelecida em 2 mL. O instrumento é alimentado por uma fonte de energia AC, operando na faixa de 100 a 240 V e 50 a 60 Hz, com uma potência de 250 VA. Essa escolha meticulosa do densímetro e as especificações detalhadas das condições de operação visam

assegurar a precisão e a confiabilidade das medições realizadas ao longo deste estudo.

O poder calorífico superior (PCS) ASTM D5468 – 07 consiste na queima controlada de uma amostra de combustível em uma câmara de combustão especializada, chamada de bomba calorimétrica. A câmara é isolada termicamente para evitar perda de calor. A amostra é completamente queimada em presença de oxigênio conhecido, e o calor gerado é transferido para um recipiente com água. A variação da temperatura da água é medida para determinar a quantidade de calor liberado. Com base nos valores de temperatura e fatores de correção específicos, é possível calcular o poder calorífico superior do combustível, representando a energia liberada por unidade de massa ou volume (ASTM, 2007). A análise do poder calorífico foi conduzida por meio de uma bomba calorimétrica, especificamente o Modelo 1341 da Parr Instrument, seguindo os padrões estabelecidos pela ASTM D5468-02. Este calorímetro adota o princípio de Jaqueta Estática, e cada teste é operado ao longo de um período de 25 minutos, conforme critérios predefinidos. A Jaqueta Estática apresenta um revestimento que proporciona um sistema de isolamento simples, mas eficaz, limitando o fluxo de calor entre o calorímetro e seu entorno. Para monitorar as mudanças de temperatura durante o experimento, utilizou-se um termômetro digital modelo 6775, caracterizado por uma faixa de trabalho entre 10 à 40 °C e uma resolução de 0,001 °C. A escolha deste calorímetro e os detalhes cuidadosos das condições experimentais visam garantir a precisão e a consistência na determinação do poder calorífico das amostras analisadas, contribuindo para a confiabilidade dos resultados obtidos.

Já o poder calorífico inferior (PCI) utiliza valores obtidos através do cálculo da equação de Dulond, que considera os valores do ensaio de Poder calorifico superior (PCS) e a composição de hidrogênio na amostra, que foi estimada em 15,01% em massa.

Por fim, a ASTM D7039 – 20 que descreve o uso de um analisador de enxofre por fluorescência de raios X (XRF) para determinar o teor de enxofre total em combustíveis líquidos. A amostra é coletada e preparada, incluindo a filtração e diluição, se necessário. O analisador de XRF é calibrado com padrões de referência de enxofre conhecidos. Em seguida, a amostra é introduzida no analisador, que utiliza a XRF para medir a quantidade de enxofre presente. O instrumento emite raios X na amostra, que emite fluorescência característica de enxofre. A intensidade

dessa fluorescência é medida e correlacionada com a concentração de enxofre. Com base nessa intensidade, o analisador de XRF calcula o teor de enxofre total na amostra (ASTM, 2015). No âmbito deste estudo, empregou-se o Analisador de Enxofre para Combustíveis e Biocombustíveis modelo 7039G2 da marca Sindie. Este dispositivo opera com a técnica de Fluorescência de Raios X monocromática dispersiva de comprimento de onda, seguindo os métodos ASTM 7039 e ISO 20884. O alcance de análise abrange concentrações de enxofre que variam de 0,0 a 3000 ppm (partes por milhão), até 10% em peso. Para assegurar resultados precisos, o volume mínimo de amostra requerido para a análise foi estipulado em 10 mL. O analisador é alimentado por uma fonte de energia elétrica na faixa de 200-240 VAC, com frequência de 47,63 Hz e corrente de 6 Ampères. A seleção criteriosa deste analisador e a especificação detalhada de suas características operacionais visam garantir a confiabilidade e a consistência das medições realizadas durante a pesquisa.

O grau API é uma medida que está relacionada com a densidade do petróleo e é estabelecida pelo *American Petroleum Institute* (API). Essa medida é utilizada para a identificação comercial dos diferentes tipos de petróleo. O valor do grau API pode ser calculado de acordo com a seguinte equação (SPEIGHT, 2019):

$$\text{API}(^\circ) = \frac{141{,}51}{\text{densidade}} - 131{,}50$$

Sendo a densidade de uma substância dada pela relação entre a massa de um determinado volume de matéria e a massa de igual volume de água, medidos à temperatura de 20,0 ºC. De acordo com a Agência Nacional do Petróleo (ANP), o grau API é usado para classificar o petróleo em quatro categorias distintas: leve (≥ 31 º), mediano (22 º ≤ API < 31 º), pesado (10 º ≤ API < 22º) e extrapesado (< 10 º) (BRASIL, 2000).

4 APRESENTAÇÃO DOS RESULTADOS

4.1 PROCESSO DE EXTRAÇÃO DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS

Os resultados da extração do óleo de microalgas para as quatro condições propostas são apresentados na TABELA 4.1. Os experimentos foram conduzidos com o objetivo de determinar a eficiência da extração de óleo bruto e a taxa de conversão em óleo.

TABELA 4.1 - EXTRAÇÃO DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS

Parâmetros	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Média e desvio padrão
Condição 1 [70-30]				
Massa inicial (g)	1500,0	1500,0	1500,0	**1500,0 ± 0,0**
Óleo bruto extraído (%)	96,1	86,5	90,3	**91,0 ± 4,0**
Conversão em óleo bruto (%)	6,4	5,8	6,0	**6,1 ± 0,3**
Biomassa residual (após a extração)	1358,4	1397,5	1339,7	**1365,2 ± 24,1**
Condição 2 [50-50]				
Massa inicial (g)	1500,0	1500,0	1500,0	**1500,0 ± 0,0**
Óleo bruto extraído (%)	99,5	95,4	97,9	**97,6 ± 2,1**
Conversão em óleo bruto (%)	6,6	6,4	6,5	**6,5 ± 0,1**
Biomassa residual (após a extração)	1380,1	1385,2	1362,1	**1375,8 ± 12,1**
Condição 3 [100]				
Massa inicial (g)	1500,0	1500,0	1500,0	**1500,0 ± 0,0**
Óleo bruto extraído (%)	25,9	23,2	25,7	**24,9 ± 1,5**
Conversão em óleo bruto (%)	1,7	1,5	1,7	**1,7 ± 0,1**
Biomassa residual (após a extração)	1461,6	1457,8	1434,3	**1451,2 ± 14,8**
Condição 4 [70-30]				
Massa inicial (g)	1500,0	1500,0	1500,0	**1500,0 ± 0,0**
Óleo bruto extraído (%)	125,1	122,0	124,3	**123,8 ± 1,6**
Conversão em óleo bruto (%)	8,3	8,1	8,3	**8,3 ± 0,1**
Biomassa residual (após a extração)	1308,2	1310,1	1299,2	**1305,8 ± 5,9**

FONTE: O autor (2023).

Observou-se que o hexano apresentou um rendimento percentual menor em comparação a extração com uma mistura de solventes, com valores de 1,7 ± 0,1% para o hexano puro e 6,1 ± 0,3%, 6,5 ± 0,1% e 123,8 ± 1,6% para a mistura de solventes. Os rendimentos mássicos foram respectivamente 91,0 ± 4,0 g, 97,6 ± 2,1 g, 24,9 ± 1,5 g e 123,8 ± 1,6 g.

Para a condição 1 [70-30] ao comparar os resultados do experimento 1 com o experimento 2, constatou-se uma redução de aproximadamente 9,99% no óleo bruto extraído e uma diminuição de cerca de 10,15% na conversão em óleo. Por outro lado, no experimento 3, observou-se uma diminuição de aproximadamente 5,99% no óleo bruto extraído em relação ao experimento 1, acompanhada de uma redução de cerca de 6,08% na conversão em óleo.

Ao analisar os resultados obtidos na condição 2 [50-50], mais especificamente no experimento 2, verificou-se uma redução de aproximadamente 4,16% no óleo bruto extraído em relação ao experimento 1, juntamente com uma diminuição de cerca de 3,93% na conversão em óleo. No experimento 3, foram observadas uma diminuição de aproximadamente 1,66% no óleo bruto extraído em relação ao experimento 1 e uma redução de cerca de 1,51% na conversão em óleo.

Ao considerar a condição 3 [100], no experimento 2, registrou-se uma redução de aproximadamente 10,52% no óleo bruto extraído em relação ao experimento inicial, além de uma diminuição de cerca de 11,01% na conversão em óleo. No experimento 3, observou-se uma diminuição de aproximadamente 1,04% no óleo bruto extraído em relação ao experimento 1 e uma redução de cerca de 1,16% na conversão em óleo.

Por fim, analisando os resultados obtidos na condição 4 [70-30], mais especificamente no experimento 2, identificou-se uma redução de aproximadamente 2,51% no óleo bruto extraído em relação ao experimento 1, acompanhada de uma diminuição de cerca de 2,52% na conversão em óleo. No experimento 3, verificou-se uma diminuição de aproximadamente 0,68% no óleo bruto extraído em relação ao experimento 1 e uma redução de cerca de 0,72% na conversão em óleo.

Em geral, esses experimentos demonstraram resultados variados com base nas diferentes condições testadas. Os experimentos realizados sob a condição 1 [70-30] apresentaram as maiores reduções tanto no óleo bruto extraído quanto na conversão em óleo. No entanto, os experimentos realizados sob a condição 4 [70-30] registraram as menores reduções, indicando um resultado mais favorável.

As condições 1 e 4 mostraram uma diferença de 26,54% com relação à conversão em óleo bruto, mesmo possuindo condições iniciais iguais. Algumas hipóteses podem ser consideradas, isto é, a composição química das microalgas pode variar dentro da mesma espécie devido a fatores como o estágio de crescimento e as condições de cultivo bem como a localização dos compostos desejados uma vez que podem estar em diferentes partes das células ou em diferentes compartimentos celulares, afetando a sua extração. Por fim, a variabilidade experimental também deve ser considerada, mesmo que inicialmente as condições foram previamente definidas, pequenas diferenças nos procedimentos experimentais, como tempo de extração e agitação podem influenciar o resultado.

As misturas de solventes demonstraram rendimentos de extração superiores, devido às variações na polaridade e viscosidade dos solventes utilizados. A combinação de um solvente apolar de alta viscosidade, como o hexano, seguido por um solvente altamente polar de baixa viscosidade, como o etanol, contribuiu para os rendimentos de extração mais elevados (ESCORSIM et al., 2018).

Os solventes não polares, como o hexano, estabelecem interações de van der Waals com as cadeias hidrofóbicas longas dos ácidos graxos e lipídios neutros, facilitando a solubilização dessas classes de lipídios. Por outro lado, os solventes polares, como o etanol, além de solubilizar moléculas não polares, também possuem a capacidade de solubilizar lipídios polares presentes na parede celular, rompendo as interações eletrostáticas e ligações de hidrogênio entre eles (HALIM et al., 2012).

As polaridades intermediárias dos solventes exerceram uma influência significativa nos rendimentos de extração, conforme observado nas misturas de etanol e hexano. A extração de lipídios polares e não polares de forma simultânea resultou em um aprimoramento no desempenho do processo. Além disso, a viscosidade das misturas de solventes também contribuiu para o aumento dos rendimentos. O etanol apresenta uma viscosidade inferior à do hexano, o que facilita sua penetração na parede celular e resulta em maiores rendimentos na extração de lipídios (TRES et al., 2014).

Em comparação ao estudo conduzido por Escorsim et al. (2018), que utilizou a espécie *Acutodesmus obliquus* (classe Chlorophyceae), a extração utilizando um único solvente mostrou rendimentos inferiores a mistura de solventes. Os resultados indicaram que o rendimento da extração Soxhlet, utilizando exclusivamente hexano, foi de 4,1 ± 0,1%. Por outro lado, a utilização de uma mistura de hexano e etanol 1:1

(v/v) resultou em rendimentos de 11,8 ± 0,1%, enquanto uma mistura de hexano e etanol 2:1 (v/v) obteve rendimentos de 12,1 ± 0,3%. Mostrando a mesma tendência que foi observada na TABELA 4.1.

O estudo realizado por Oliveira (2023) teve como objetivo avaliar a extração de óleo da microalga *Tetradesmus obliquus* em frascos Erlenmeyer, utilizando diferentes solventes e condições de agitação. Foram testadas três condições experimentais: 2 h sem agitação, 1 h e 3 h de reação com agitação. Os resultados obtidos demonstraram que a extração apenas com hexano, sem agitação, apresentou um rendimento de 1,9% em um período de 2 h. Já quando utilizada uma mistura de hexano e etanol na proporção de 2:1 (v/v), o rendimento aumentou para 5,3% no mesmo período. Ao introduzir a agitação durante 1 h, o rendimento da extração com a mistura de solventes aumentou significativamente para 11,6%. Entretanto, ao aumentar o tempo de reação para 3 h, o rendimento foi de 12,8%, o que representou uma variação não muito significativa em relação à condição de 1 h de agitação. Portanto, fica evidente que a agitação e o tempo de reação têm uma contribuição importante no aumento do rendimento final no processo de extração do óleo de microalgas.

O estudo conduzido por Kim et al. (2019) utilizou a microalga *Tetradesmus obliquus* e adotou o método modificado de Bligh e Dyer para a extração dos lipídeos. Diversas combinações de solventes foram utilizadas, incluindo clorofórmio: metanol 2:1 (v/v), hexano: isopropanol 3:2 (v/v) e dicloroetano: metanol 1:1 (v/v). Os rendimentos de extração do óleo variaram de 10,7% a 21,6% em peso seco (p/p), em diferentes temperaturas 15 °C, 20 °C e 25 °C. Esses resultados destacam a importância do controle da temperatura e da escolha adequada do solvente para alcançar um rendimento de extração mais eficiente. A seleção cuidadosa desses parâmetros é fundamental para otimizar a eficácia do processo de extração dos lipídeos.

A temperatura ideal para extração de óleo de microalgas pode variar dependendo de diversos fatores, incluindo a espécie de microalga, a composição do óleo desejado e os solventes utilizados. No entanto, geralmente, a faixa de temperatura recomendada para extração de óleo de microalgas com solventes orgânicos, como hexano e etanol, é de 50 °C a 70 °C (CONVERTI et al., 2009).

Desta maneira a temperatura empregada para a extração do óleo de microalgas neste estudo, que foi de 50 °C, parece estar numa faixa recomendada

para obter um bom rendimento quando utilizado uma mistura de solventes, pois pode reduzir a viscosidade do solvente, facilitando sua penetração através da parede celular da microalga e aumentando a eficiência da extração. É importante salientar, entretanto, que o aumento da temperatura também pode levar à degradação dos lipídios, resultando em uma diminuição no rendimento da extração.

O estudo realizado por Costa et al. (2022) também utilizou a espécie de microalga *Tetradesmus obliquus* e empregou uma mistura de hexano e etanol para a extração de óleo bruto e comparou com os resultados obtidos apenas com hexano. Os rendimentos obtidos foram de 10,1 ± 1,5% para uma mistura de solventes (70% hexano e 30% etanol), e 1,7 ± 0,1% para o hexano puro. Esses resultados corroboram com as observações feitas nos estudos anteriores e evidenciam que o uso de um único solvente (hexano) resultou nos menores rendimentos de extração em todas as pesquisas analisadas, quando comparado à utilização de uma mistura de solventes (hexano e etanol). Essa constatação reforça os dados apresentados na TABELA 4.1. Esses resultados ressaltam a influência da composição do solvente na eficiência da extração de óleo de microalgas e fornecem informações valiosas para o desenvolvimento de métodos de extração mais eficientes.

Outro aspecto de relevância é a escala da extração, uma vez que este trabalho tem como objetivo operar em escala piloto. Para isso, foram utilizados 18 kg de biomassa de microalgas, sendo 4,5 kg para cada condição experimental (1,5 kg para cada experimento). Trabalhar em escala piloto oferece a vantagem de possibilitar um maior controle sobre as condições experimentais, permitindo a otimização dos parâmetros para alcançar o rendimento máximo. No entanto, é importante ressaltar que os rendimentos obtidos em análises de bancada podem não ser diretamente extrapolados para a escala piloto. Fatores como a eficiência de transferência de massa, a influência de fenômenos em uma escala maior e considerações práticas podem afetar o rendimento quando se trabalha em uma escala maior. Portanto, é essencial realizar experimentos em escala piloto a fim de validar e aprimorar o processo em condições mais próximas da produção em larga escala. Essa abordagem permitirá a compreensão mais abrangente dos desafios e das oportunidades relacionadas à extração de microalgas, considerando a aplicação prática em níveis industriais.

4.2 DESTILAÇÃO FRACIONADA DO ÓLEO BRUTO DE MICROALGAS

Na TABELA 4.2, são apresentados os resultados da destilação fracionada do óleo bruto de microalgas após o processo de extração. O rendimento da destilação foi avaliado em diferentes condições experimentais.

TABELA 4.2 - DESTILAÇÃO DO ÓLEO DE MICROALGAS

Parâmetros	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Média e desvio padrão
Condição 1 [70-30]				
Óleo bruto extraído (g)	96,1	86,5	90,3	**91,0 ± 4,8**
Óleo destilado (g)	51,8	42,4	44,6	**46,3 ± 4,9**
Conversão em óleo destilado (%)	53,9	49,0	49,4	**50,8 ± 2,7**
Conversão final (relação com a biomassa inicial) (%)	3,5	2,8	3,0	**3,1 ± 0,3**
Condição 2 [50-50]				
Óleo bruto extraído (g)	99,5	95,4	97,9	**97,6 ± 2,1**
Óleo destilado (g)	38,5	38,2	41,9	**39,6 ± 2,1**
Conversão em óleo destilado (%)	38,7	40,1	42,8	**40,5 ± 2,1**
Conversão final (relação com a biomassa inicial) (%)	2,6	2,6	2,8	**2,6 ± 0,1**
Condição 3 [100]				
Óleo bruto extraído (g)	25,9	23,2	25,7	**24,9 ± 1,5**
Óleo destilado (g)	8,4	8,5	8,6	**8,5 ± 0,1**
Conversão em óleo destilado (%)	32,4	36,6	33,6	**34,2 ± 2,2**
Conversão final (relação com a biomassa inicial) (%)	0,6	0,6	0,6	**0,6 ± 0,0**
Condição 4 [70-30]				
Óleo bruto extraído (g)	125,1	122,0	124,3	**123,8 ± 1,6**
Óleo destilado (g)	64,2	64,6	57,3	**62,0 ± 4,1**
Conversão em óleo destilado (%)	51,3	53,0	46,1	**50,1 ± 3,6**
Conversão final (relação com a biomassa inicial) (%)	4,3	4,3	3,8	**4,1 ± 0,3**

FONTE: O autor (2023).

Na condição 3, em que foi utilizado apenas hexano como solvente na extração, o rendimento da destilação foi baixo, com uma média de 8,5 ± 0,1 g. Isso ocorreu devido ao rendimento menor obtido na extração com hexano. A conversão final, quando comparada com a biomassa inicial utilizada de 1,5 kg, foi de apenas 0,6 ± 0,0%, como previsto por Costa et al. (2022).

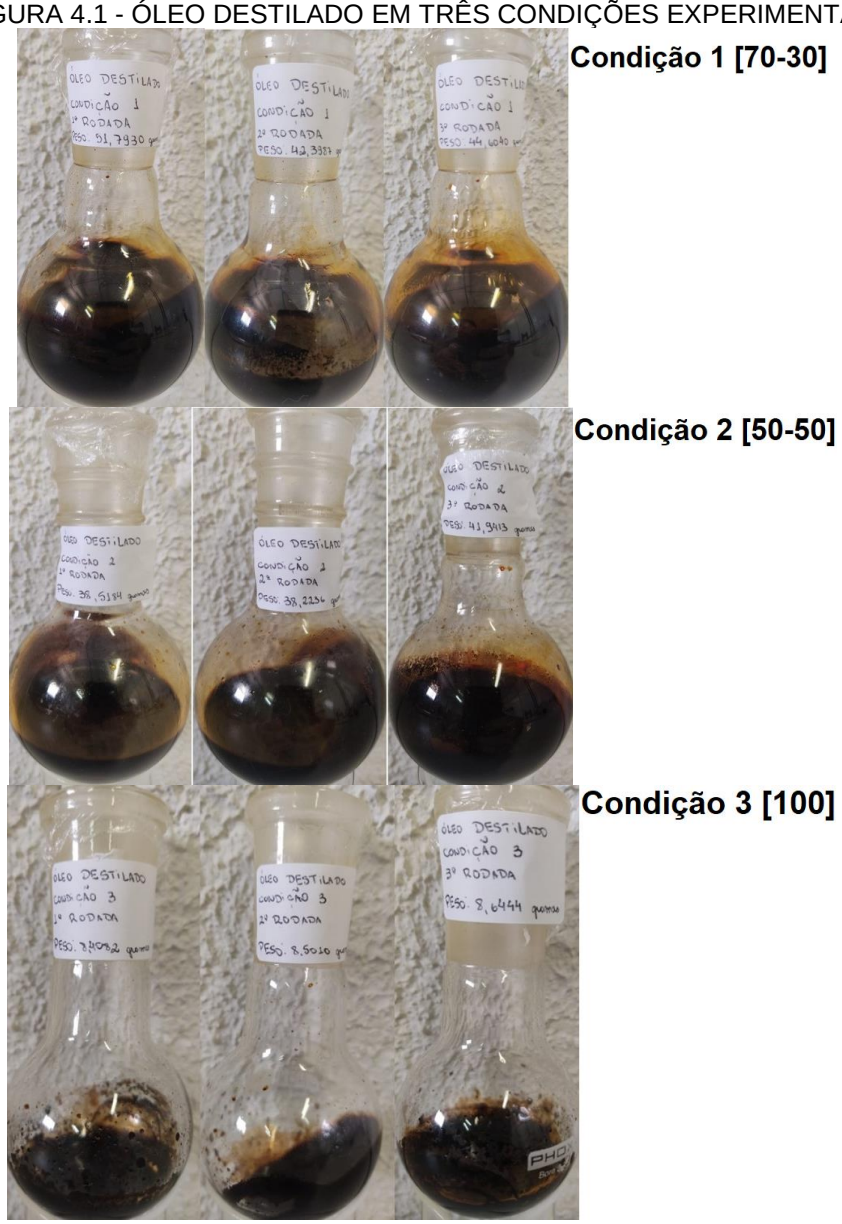
Por outro lado, nas condições experimentais 1 e 2 em que foi utilizada uma mistura de solventes (hexano e etanol), os resultados foram mais satisfatórios. O rendimento da destilação foi de 50,8 ± 2,7% para a proporção de 70-30% e 40,5 ± 2,1% para a proporção de 50-50%. Esses resultados estão de acordo com o estudo de Costa et al. (2022), que encontrou um rendimento de 57,0 ± 2,8% na proporção de 70-30%.

A condição 4 foi conduzida para analisar o processo de destilação em três frações distintas que será discutido mais adiante. O rendimento da destilação foi de 62,0 ± 4,1 g, 25,39% maior do que a condição 1, sendo que ambas utilizaram os mesmos parâmetros iniciais para a extração.

Em relação à conversão final do óleo destilado, ou seja, o rendimento em relação à quantidade de biomassa inicial de 1,5 kg utilizada na extração para todos os experimentos, obteve-se um valor de 3,1 ± 0,3% para a primeira condição, 2,6 ± 0,1% na segunda condição e 4,1 ± 0,3% para a quarta condição analisada. Esses valores ficaram abaixo do esperado quando comparados aos resultados obtidos anteriormente por Costa et al. (2022), que foi de 6,3 ± 0,5% para uma mistura de solventes na proporção de 70% hexano e 30% etanol utilizando uma quantidade inferior de biomassa, 1 kg para o processo de extração.

Existem alguns fatores que podem levar a essas diferenças nos resultados. Variações na qualidade do solvente podem afetar a eficiência da extração e, consequentemente, o rendimento obtido, mesmo que seja o mesmo solvente. Além disso, pequenas diferenças na preparação da biomassa, como o tempo de secagem, podem influenciar nos resultados (AZMIR et al., 2013). A FIGURA 4.1 apresenta as amostras de óleo destilado para as três primeiras condições iniciais, todas realizadas em triplicata.

FIGURA 4.1 - ÓLEO DESTILADO EM TRÊS CONDIÇÕES EXPERIMENTAIS



FONTE: O autor (2023).

A TABELA 4.3 descreve os resultados da destilação do óleo de microalgas para a condição 4 [70-30] em três frações distintas. Foram determinadas 3 faixas de potência e temperatura para realizar o fracionamento da amostra. Essa temperatura foi medida no fundo do balão com o auxílio de um multímetro e um termopar que foram previamente descritos nos materiais e métodos. Na primeira faixa de potência, que variou de 7 até 9, controlada manualmente na manta aquecedora, a temperatura atingiu um máximo de 150 °C. Após não ser possível obter mais energia para a destilação nessa faixa de temperatura, o balão receptor foi retirado e pesado. Em seguida, a potência foi aumentada, variando entre 10 e 11, e a faixa de temperatura foi de 150 até 250 °C. Novamente, quando não foi possível destilar os compostos

presentes na amostra, o balão receptor foi retirado e pesado. Por fim, a potência foi ajustada para o máximo e a temperatura variou de 250 °C até 350 °C. Essa temperatura foi a máxima obtida entre os três experimentos realizados na condição 4 [70-30].

TABELA 4.3 - FRAÇÕES DO ÓLEO DE MICROALGAS CONDIÇÃO 4 [70-30]

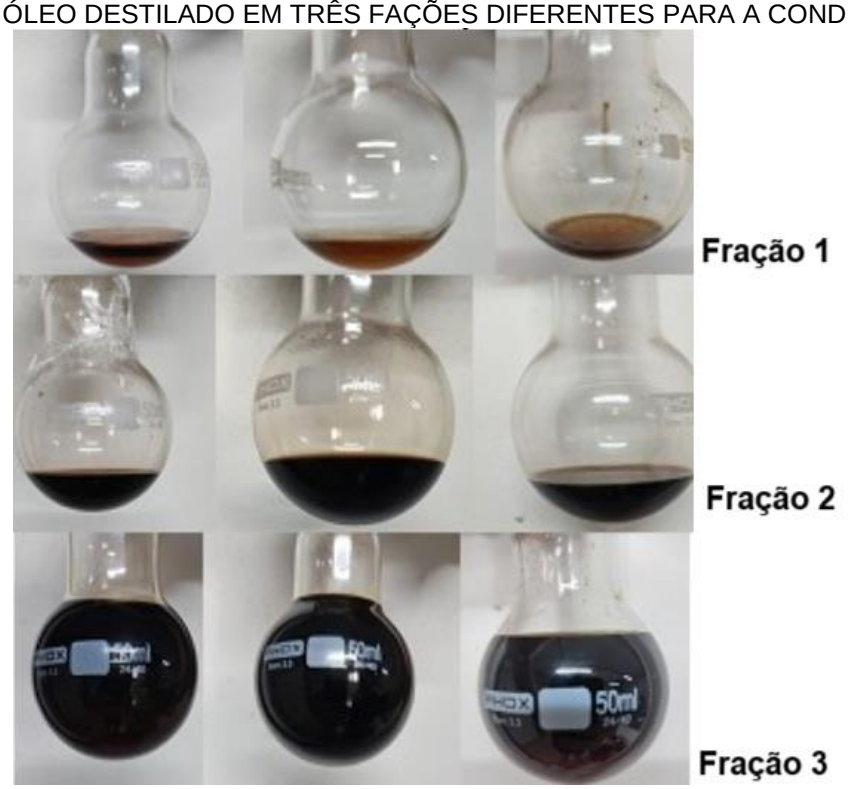
Potência	T (°C)	Fração	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Média	Desvio padrão
[7 - 9]	Até 150	1	5,7	2,9	3,7	4,1	± 1,5
[10 - 11]	150 até 250	2	7,3	10,1	7,5	8,3	± 1,6
Máxima	250 até 350	3	51,5	51,6	46,2	49,8	± 3,1
Total (g)			**64,4**	**64,6**	**57,3**	**62,1**	**± 4,1**

FONTE: O autor (2023).

Na primeira faixa de temperatura, isto é, na fração 1 os experimentos resultaram em valores de 5,7, 2,9 e 3,7 g, respectivamente. A média dos três experimentos foi de 4,1 ± 1,5 g. Na segunda faixa de temperatura, chamada de fração 2, os valores obtidos dos experimentos foram 7,3, 10,1 e 7,5 g respectivamente. A média desses resultados foi de 8,3 ± 1,6 g. Na última faixa de temperatura, de 250 até 350 °C, denominada de fração 3, foram obtidos os resultados mais elevados. Os experimentos resultaram em valores de 51,5, 51,6 e 46,2 g de óleo destilado. A média desses resultados foi de 49,8 ± 3,1 g.

Na última linha da tabela, temos a soma total das quantidades de óleo de microalgas obtidas nos experimentos após a destilação, que foi de 64,4 g, 64,6 g e 57,3 g, respectivamente, com uma média total de 62,1 ± 4,1 g. Com base nesses resultados, podemos concluir que a faixa de temperatura máxima, chamada de fração 3, proporcionou os maiores rendimentos da destilação, com valores médios em torno de 49,8 ± 3,1 g. No entanto, é importante considerar também o desvio padrão, que indica a variabilidade dos resultados. Nesse caso, a faixa de temperatura mais baixa, até 150 ºC, com a fração 1, apresentou menor desvio padrão, o que sugere uma maior consistência nos resultados. A FIGURA 4.2 apresenta os resultados obtidos do óleo destilado para cada fração previamente definida, todas as análises foram realizadas em triplicata.

FIGURA 4.2 - ÓLEO DESTILADO EM TRÊS FAÇÕES DIFERENTES PARA A CONDIÇÃO 4 [70-30]



FONTE: O autor (2023).

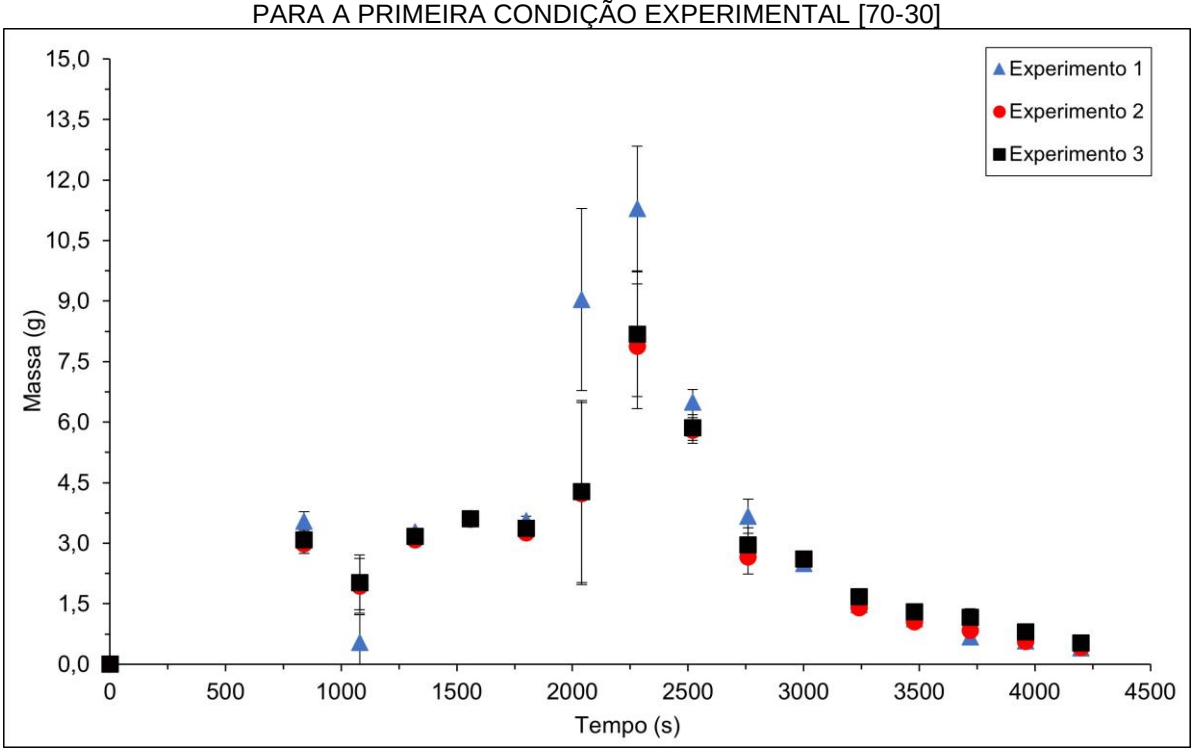
As FIGURAS 4.3, 4.4 e 4.5 apresentam os resultados em massa do óleo destilado para cada condição experimental proposta. O estudo foi realizado em triplicata para obter resultados mais precisos. Para as condições experimentais utilizando uma mistura de solventes de hexano e etanol, isto é, condição 1 [70-30] e condição 2 [50-50], foram destiladas 16 frações a cada 4 min. Essas frações foram pesadas em uma balança analítica, e as temperaturas do topo da coluna foram registradas utilizando um termômetro infravermelho digital. Após o término do processo, as frações referentes a sua condição experimental foram inseridas em um mesmo recipiente para posterior análise. O mesmo processo foi realizado para a condição 3 [100], mas apenas 8 frações foram destiladas devido ao rendimento mais baixo referente a extração.

Durante o processo de destilação fracionada, a amostra é aquecida gradualmente, o que faz com que os componentes mais voláteis sejam os primeiros a evaporar. Esses componentes, com pontos de ebulição mais baixos, são coletados na parte superior da coluna. À medida que o processo avança, a concentração desses componentes voláteis diminui, pois eles são removidos da amostra. Em um determinado ponto, é observado um mínimo na curva de destilação, indicando a concentração mínima dos componentes voláteis remanescentes, que foram

removidos em sua maioria. À medida que a temperatura continua a aumentar, os componentes com pontos de ebulição mais altos começam a evaporar, sendo coletados posteriormente, já que possuem menor volatilidade em comparação aos primeiros componentes coletados (SOLEN e HARB, 2011; STICHLMAIR et al., 2021).

A FIGURA 4.3 ilustra o comportamento da destilação fracionada para a condição 1 [70-30] nos três experimentos realizados. Ao longo do tempo, a quantidade de óleo destilado aumenta, o que indica que o processo de destilação está ocorrendo. No entanto, pode-se observar certa variação nos valores obtidos nos diferentes experimentos.

FIGURA 4.3 - VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A PRIMEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30]



FONTE: O autor (2023).

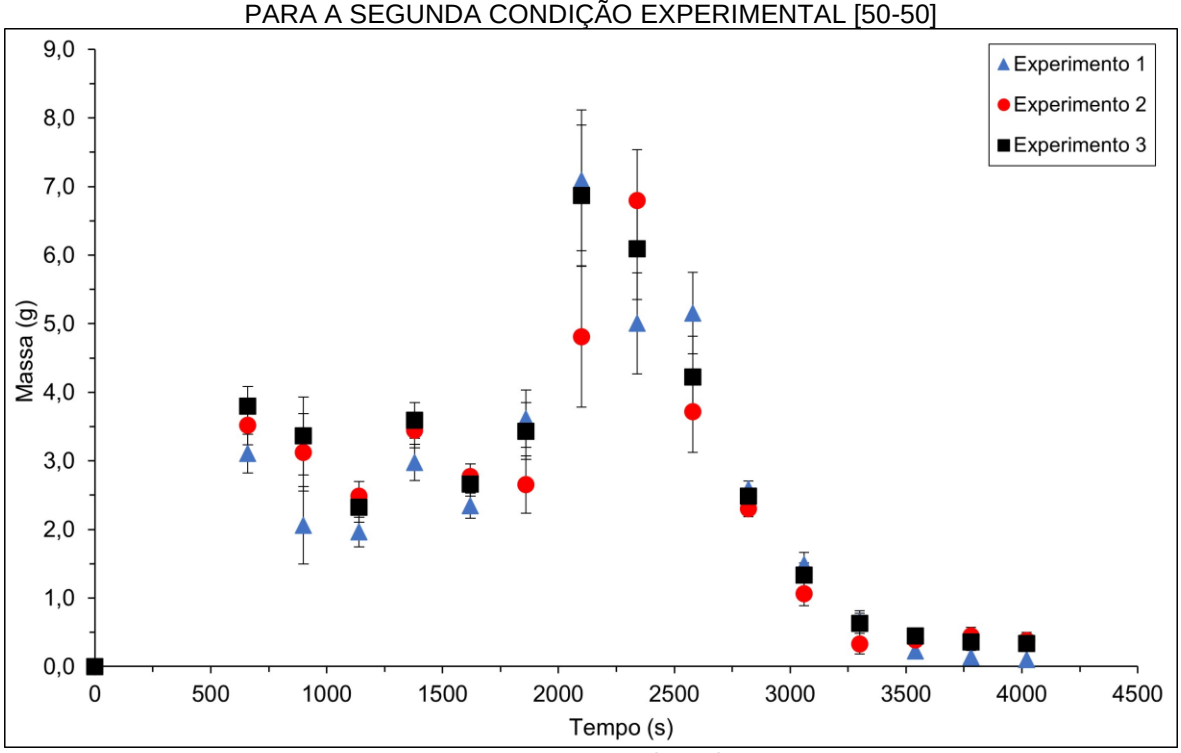
A primeira fração foi retirada em 840 segundos (14 min) em todos os experimentos. A maior fração em massa no experimento 1 foi de 11,3 g, no experimento 2 foi de 7,9 g e no experimento 3 foi de 8,2 g, que representa uma variação de 30,29% e 27,63% respectivamente do experimento 1 para os demais. É interessante notar que, em todos os três experimentos, essas quantidades em massa foram obtidas em 2.280 segundos (42 min). É possível observar que o desvio padrão é relativamente baixo em alguns momentos, indicando que os resultados dos

experimentos são consistentes e próximos entre si. Porém, em outros momentos, o desvio padrão é maior, o que indica maior variabilidade nos resultados obtidos.

O processo foi encerrado quando o rendimento começou a diminuir, e o tempo final foi de 4.440 segundos (1 h e 14 min) para todos os experimentos. O rendimento médio final da destilação foi de 46,3 ± 4,9 g. No APÊNDICE 1 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para a condição 1 [70-30] em relação a quantidade em massa.

A FIGURA 4.4 mostra o comportamento da destilação fracionada para a condição 2 [50-50] nos três experimentos realizados. Ao longo do tempo, a quantidade de óleo destilado aumenta, indicando a ocorrência do processo de destilação. Comparando com a primeira condição experimental, pode-se notar que a quantidade de óleo destilado é ligeiramente maior em alguns intervalos de tempo, enquanto em outros é ligeiramente menor.

FIGURA 4.4 - VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A SEGUNDA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [50-50]



FONTE: O autor (2023).

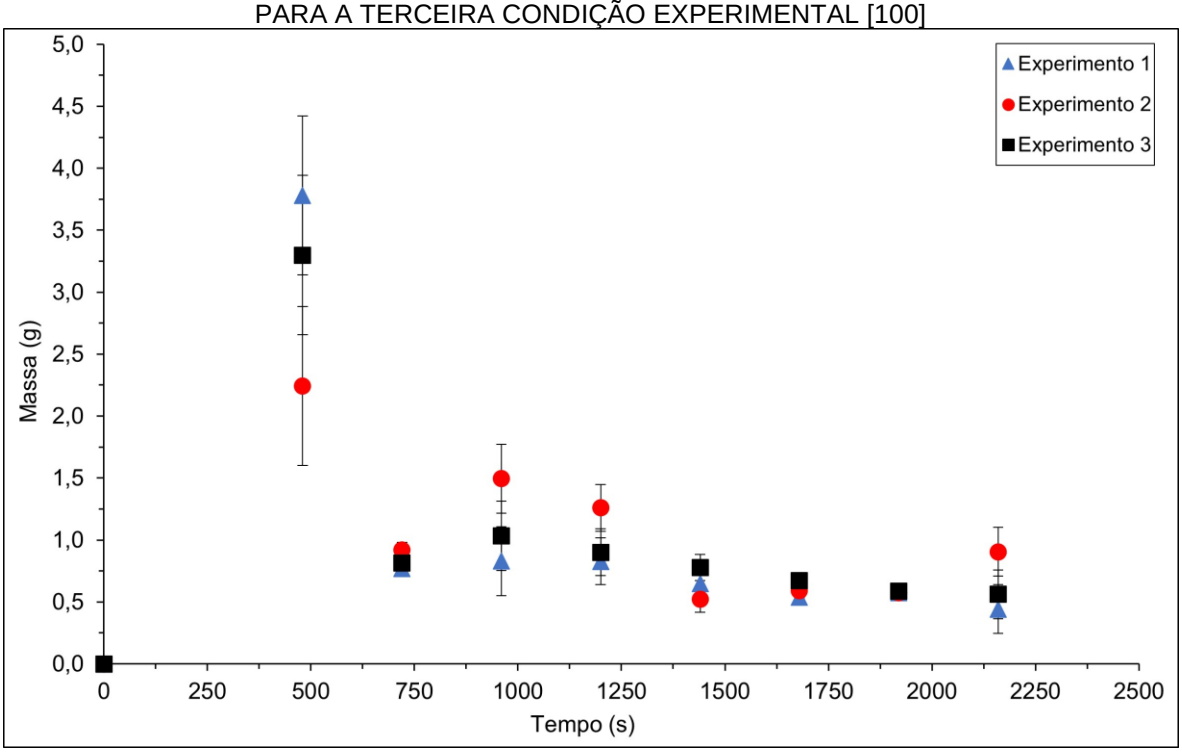
A primeira fração foi retirada em 660 segundos (11 min) em todos os experimentos. A maior fração em massa no experimento 1 foi de 7,1 g, no experimento 2 foi de 6,8 g e no experimento 3 foi de 6,9 g, que representa uma variação de 4,1% e 3,1% respectivamente em relação ao experimento 1. No

experimento 1 e 3, esses rendimentos em massa foram obtidos em 2.100 segundos (39 min), e no experimento 2, em 2.340 segundos (43 min). O tempo final para o processo de destilação fracionada nessa condição foi de 4.260 segundos (1 h e 11 min). O rendimento médio final da destilação foi de 39,6 ± 2,1 g.

Em resumo, a variação da massa no processo de destilação do óleo de microalgas na segunda condição experimental apresenta um aumento inicial na quantidade destilada, atingindo um valor máximo e, em seguida, uma diminuição gradual. A comparação com a primeira condição experimental mostra pequenas diferenças nos valores obtidos. No APÊNDICE 1 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para a condição 2 [50-50] em relação a quantidade de massa

Por fim, a FIGURA 4.5 apresenta o comportamento da destilação fracionada para a condição 3 [100] nos três experimentos realizados. Ao longo do tempo, a quantidade de óleo destilado aumenta gradualmente, mas os valores obtidos são significativamente menores em comparação com as outras condições experimentais.

FIGURA 4.5 - VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A TERCEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [100]



FONTE: O autor (2023).

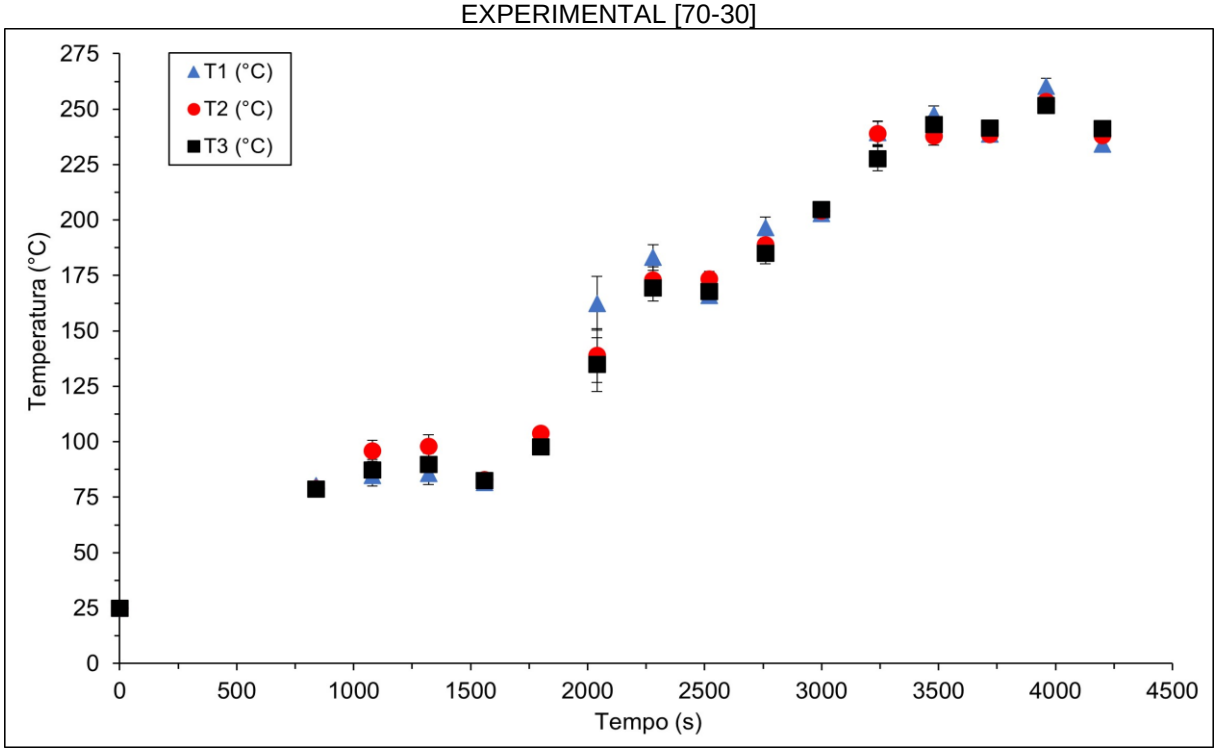
O processo de destilação teve início em 480 segundos (8 min). A maior fração em cada experimento foi um rendimento de 3,8 g, 2,2 g e 3,3 g,

respectivamente. A variação apresentada foi de 40,74% e 13,22% em relação ao experimento 1. Calculando a média da quantidade de óleo destilado em cada intervalo de tempo, foi possível ver que os valores são bastante baixos em todos os momentos.

É possível observar que, devido à extração ter sido realizada apenas com um solvente (hexano), o rendimento foi muito inferior às condições anteriores, e, portanto, os maiores rendimentos para cada fração foram obtidos no início, em 720 segundos (12 min) em todos os experimentos. O tempo total do processo de destilação para essa condição foi de 2.400 segundos (40 min). O desvio padrão, que mede a dispersão dos dados em relação à média, também é relativamente baixo em todos os momentos, indicando uma consistência nos resultados dos experimentos. No entanto, os valores obtidos são baixos em comparação com as outras condições experimentais. O rendimento médio final da destilação foi de 8,5 ± 0,1 g. No APÊNDICE 1 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para a condição 3 [100] em relação a quantidade de massa.

A FIGURA 4.6 apresenta a variação da temperatura no processo de destilação para a condição 1 [70-30].

FIGURA 4.6 - VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A PRIMEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30]



FONTE: O autor (2023).

Analisando os dados, foi possível observar que a temperatura inicial do sistema foi de 25 °C em todos os experimentos, indicando que o sistema foi iniciado a uma temperatura ambiente constante. Ao longo do tempo, houve um aumento gradual na temperatura nos experimentos. Os valores das temperaturas para cada experimento variam, mas foi possível calcular a média das três medições realizadas em cada intervalo de tempo. Isso nos permitiu ter uma ideia mais precisa da tendência geral de aquecimento. Nota-se que os desvios padrão são relativamente baixos em todos os intervalos de tempo, indicando que os resultados dos experimentos são consistentes entre si.

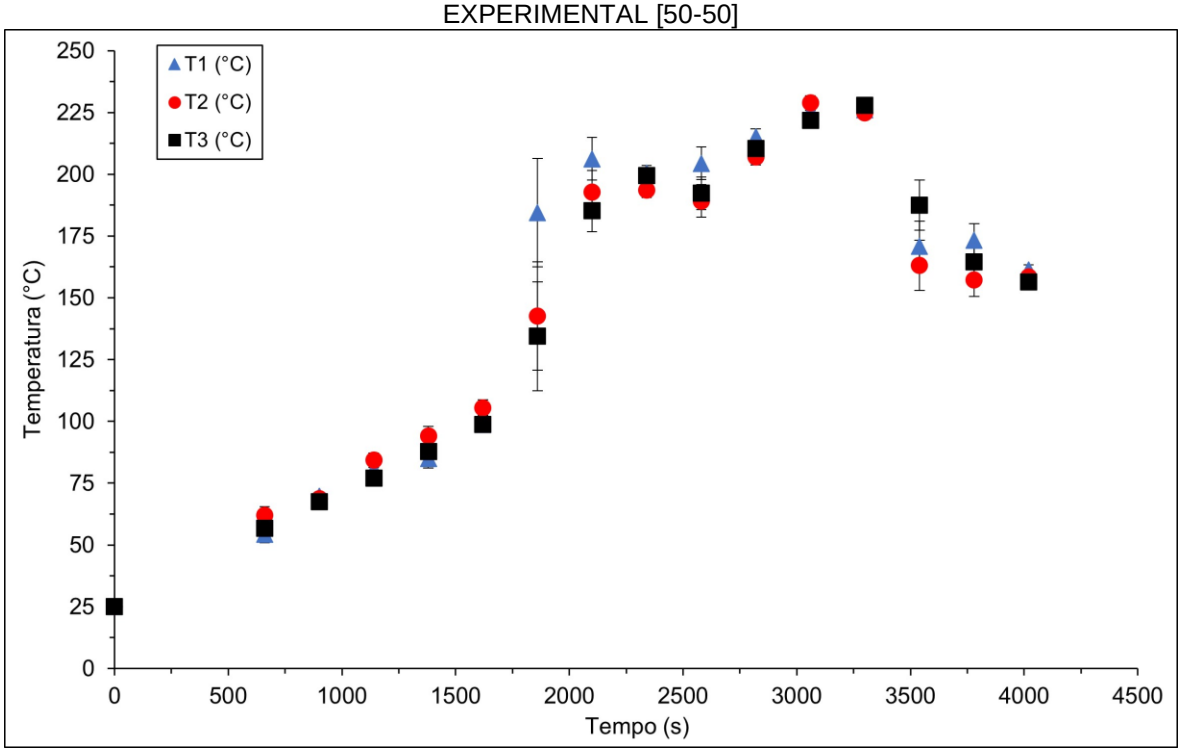
No início do processo, até aproximadamente 840 segundos, a temperatura aumenta gradualmente, atingindo uma média de 79,2 °C nesse intervalo. A partir daí, ocorre um aumento mais acentuado na temperatura, alcançando uma média de 203,9 °C aos 3.000 segundos. Após esse ponto, a temperatura continua a subir, porém em uma taxa mais lenta, com uma média de 235,3 °C aos 3.240 segundos e chegando a 237,8 °C ao final do processo, aos 4.200 segundos.

É importante destacar que os valores das temperaturas obtidos nos experimentos 2 e 3 são mais elevados do que aqueles obtidos no experimento 1, em alguns intervalos de tempo. Isso pode ser resultado de variações experimentais ou devido a diferentes condições iniciais de cada experimento. Entretanto, considerando a média dos valores obtidos, é possível ter uma noção geral do comportamento da temperatura ao longo do processo.

A variação da temperatura durante a destilação está relacionada às propriedades dos componentes presentes na mistura a ser destilada e às diferenças em seus pontos de ebulição. À medida que o processo ocorre, os componentes com menor ponto de ebulição começam a evaporar primeiro, resultando em uma temperatura gradualmente crescente no sistema. Esse aumento na temperatura permite a separação dos componentes da mistura por meio da vaporização e condensação seletivas. No APÊNDICE 2 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para a condição 1 [70-30] em relação a variação da temperatura.

A FIGURA 4.7 mostra os resultados obtidos durante o processo de destilação, considerando a variação da temperatura para a condição 2 [50-50].

FIGURA 4.7 - VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A SEGUNDA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [50-50]



FONTE: O autor (2023).

Observou-se que a temperatura inicial do sistema foi de 25 °C em todos os experimentos, indicando que o sistema foi iniciado a uma temperatura ambiente constante, assim como na primeira condição experimental.

Ao longo do tempo, ocorre um aumento gradual na temperatura nos experimentos. Novamente, pode-se calcular a média das três medições realizadas em cada intervalo de tempo para ter uma visão mais precisa da tendência geral de aquecimento. Os desvios padrão também são relativamente baixos em todos os intervalos de tempo, o que indica que os resultados dos experimentos são consistentes e confiáveis.

No início do processo, até aproximadamente 660 segundos, a temperatura aumenta gradualmente, alcançando uma média de 57,7 °C nesse intervalo. Em seguida, ocorre um aumento contínuo na temperatura, com uma média de 88,9 °C aos 1.380 segundos.

A partir desse ponto, a temperatura continua a subir, porém em uma taxa mais lenta. A média das temperaturas aos 3.060 segundos é de 225,4 °C, indicando um aumento significativo na temperatura.

É interessante notar que, aos 1.860 segundos, ocorreu um pico de temperatura em todos os experimentos, com uma média de 153,8 °C. Esse aumento

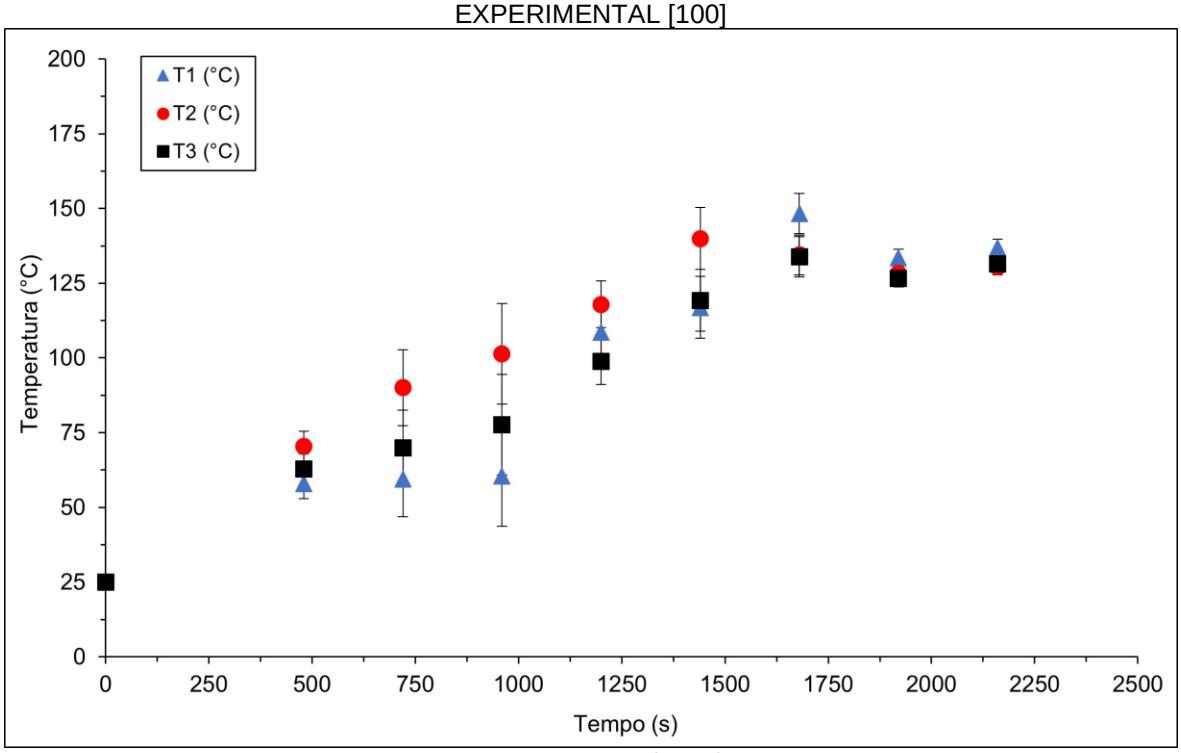
acentuado na temperatura pode estar relacionado a algum evento específico durante o processo de destilação ou a características particulares dos componentes presentes na mistura.

Ao final do processo, aos 4.020 segundos, a temperatura média é de 158,8 °C, indicando um valor mais baixo em relação aos picos anteriores. Isso pode ser atribuído à separação dos componentes da mistura e ao aumento da concentração dos componentes com ponto de ebulição mais alto.

A variação da temperatura durante a destilação, nessa segunda condição experimental, também está relacionada às propriedades dos componentes presentes na mistura e às diferenças em seus pontos de ebulição. À medida que o processo ocorre, os componentes com menor ponto de ebulição começam a evaporar primeiro, resultando em um aumento gradual na temperatura. Essa elevação de temperatura permite a separação dos componentes da mistura por meio da vaporização e condensação seletivas. No APÊNDICE 2 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para a condição 2 [50-50] em relação a variação da temperatura.

A FIGURA 4.8 apresenta os resultados obtidos durante o processo de destilação, considerando a variação da temperatura para a condição 3 [100].

FIGURA 4.8 - VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A TERCEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [100]



FONTE: O autor (2023).

Analisando os dados, foi possível observar que a temperatura inicial do sistema foi de 25 °C em todos os experimentos, indicando que o sistema foi iniciado a uma temperatura ambiente constante, assim como nas condições anteriores.

Ao longo do tempo, não há variação significativa na temperatura, conforme demonstrado pela baixa dispersão dos valores e pelo desvio padrão relativamente baixo. A média das temperaturas em cada intervalo de tempo permanece próxima de 100 °C, com pequenas variações.

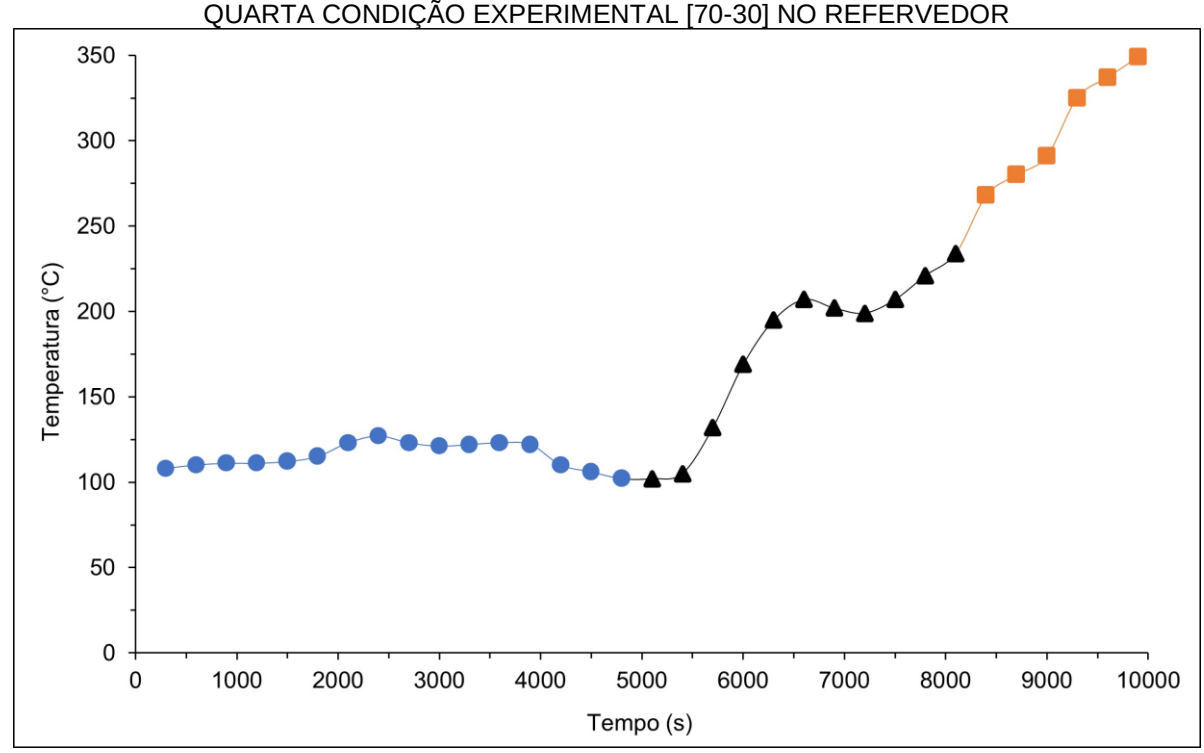
É importante ressaltar que, nessa condição experimental, não há uma variação gradual da temperatura como nos casos anteriores. A temperatura é mantida quase que constante durante todo o processo de destilação.

A condição de temperatura constante de aproximadamente 100 °C é frequentemente utilizada em destilações específicas, como a destilação fracionada, onde é necessário separar componentes com pontos de ebulição próximos. Nesse caso, a temperatura constante permite uma separação mais eficiente desses componentes. Essa condição permite a separação eficiente dos componentes da mistura, especialmente aqueles com pontos de ebulição próximos. No APÊNDICE 2 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para a condição 3 [100] em relação a variação da temperatura.

As FIGURAS 4.9, 4.10 e 4.11 mostram os resultados da variação da temperatura na destilação para a quarta condição experimental [70-30] no refervedor dos três experimentos. Para a primeira faixa de potência [7-9], chamada fração 1, mostram que o experimento 1 teve uma variação de temperatura entre 108 °C e 127 °C, o experimento 2 variou de 102 °C a 134 °C, enquanto o experimento 3 variou de 121 °C a 149 °C. A análise comparativa sugere que o experimento 1 possui a menor faixa de variação de temperatura, enquanto o experimento 3 apresenta a maior faixa. Ao aumentar a potência para uma faixa que variou de [10-11], as frações 2 permitiram uma análise mais abrangente. O experimento 1 apresentou uma variação de temperatura entre 102 °C e 234 °C, o experimento 2 variou de 160 °C a 238 °C, enquanto o experimento 3 variou de 145 °C a 247 °C. Comparando os resultados, o experimento 3 possui a maior faixa de variação de temperatura, enquanto o experimento 1 possui a menor faixa. Com o aumento para a potência máxima, a análise de temperatura se expande ainda mais, que é a fração 3. O experimento 1 mostrou uma potência máxima variando de 268 °C a 348,9 °C, o experimento 2 variou de 258 °C a 347 °C, e o experimento 3 variou de 263 °C a 349 °C. Ao

comparar os resultados, é possível observar que o experimento 3 apresenta a maior faixa de variação de potência máxima, enquanto o experimento 2 possui a menor faixa. Ao observar os dados do experimento 1, notou-se que, à medida que o tempo de aquecimento aumentava, a temperatura também subia. Além disso, quando a potência do sistema era baixa (na faixa de 7 a 9), a taxa de aumento de temperatura era mais lenta. No entanto, à medida que a potência aumentava, a temperatura subia mais rapidamente. Analisando os dados do experimento 2, torna-se evidente que a potência aplicada impacta diretamente a temperatura do sistema. Verificou-se que, quando a potência estava na faixa de 7 a 9, a temperatura aumentava a uma taxa mais moderada. No entanto, ao aumentar a potência para níveis entre 10 e 11, a taxa de variação de temperatura era mais alta. Examinando os resultados do experimento 3, notamos que o sistema de aquecimento atingiu sua potência máxima em um período específico. Neste ponto, a temperatura foi registrada como a mais alta entre todos os experimentos, destacando a importância da potência máxima na obtenção de temperaturas extremas.

FIGURA 4.9 - EXPERIMENTO 1: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO REFERVEDOR



FONTE: O autor (2023).

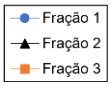
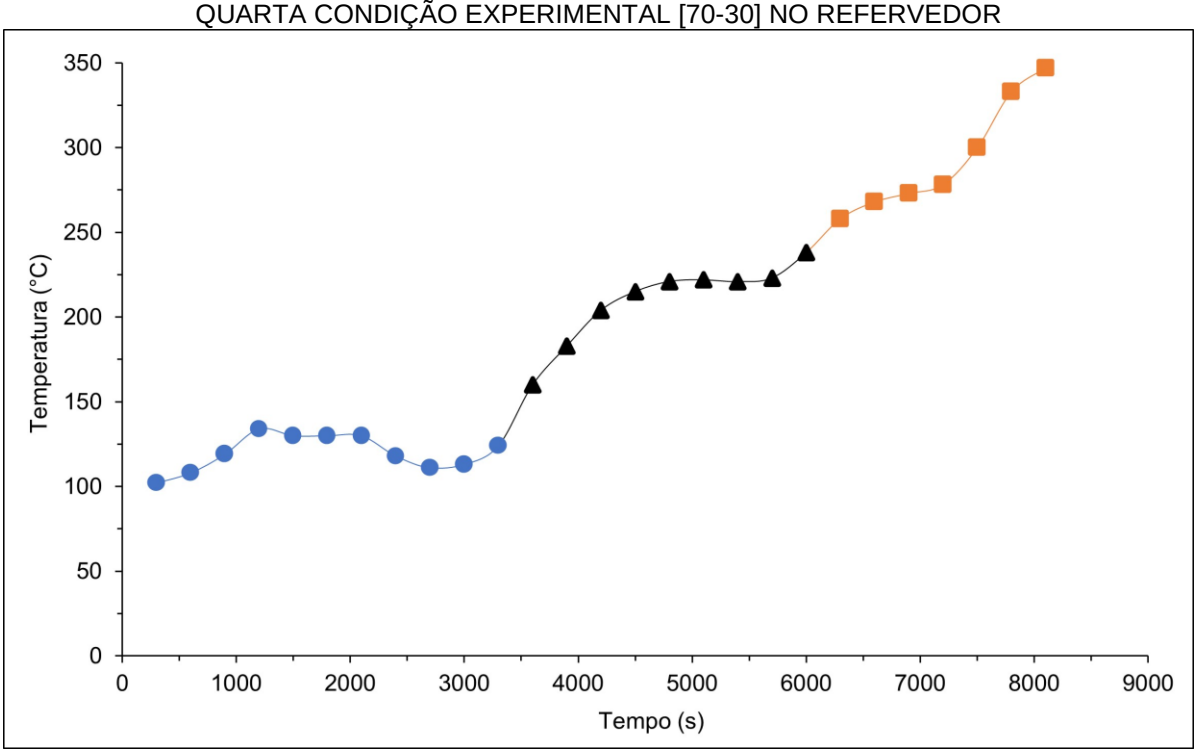


FIGURA 4.10 - EXPERIMENTO 2: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO REFERVEDOR



FONTE: O autor (2023).

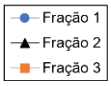
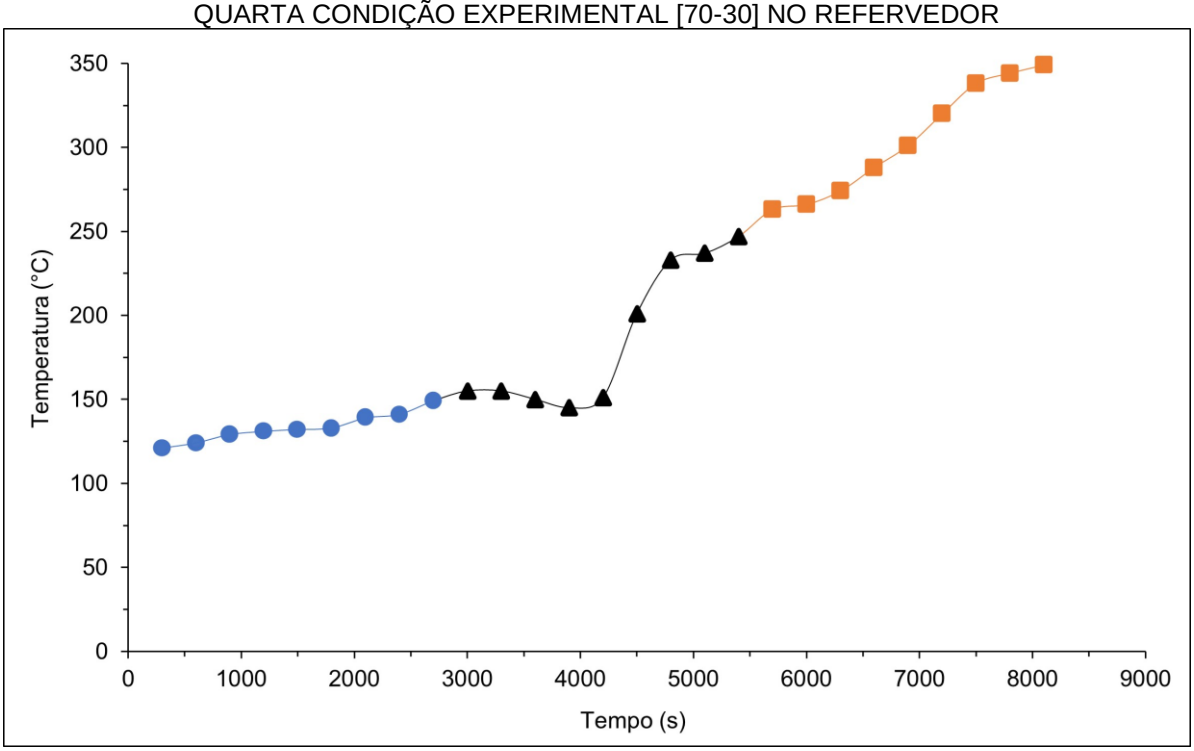
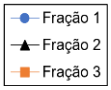


FIGURA 4.11 - EXPERIMENTO 3: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO REFERVEDOR



FONTE: O autor (2023).



No APÊNDICE 3 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para a condição 4 [70-30].

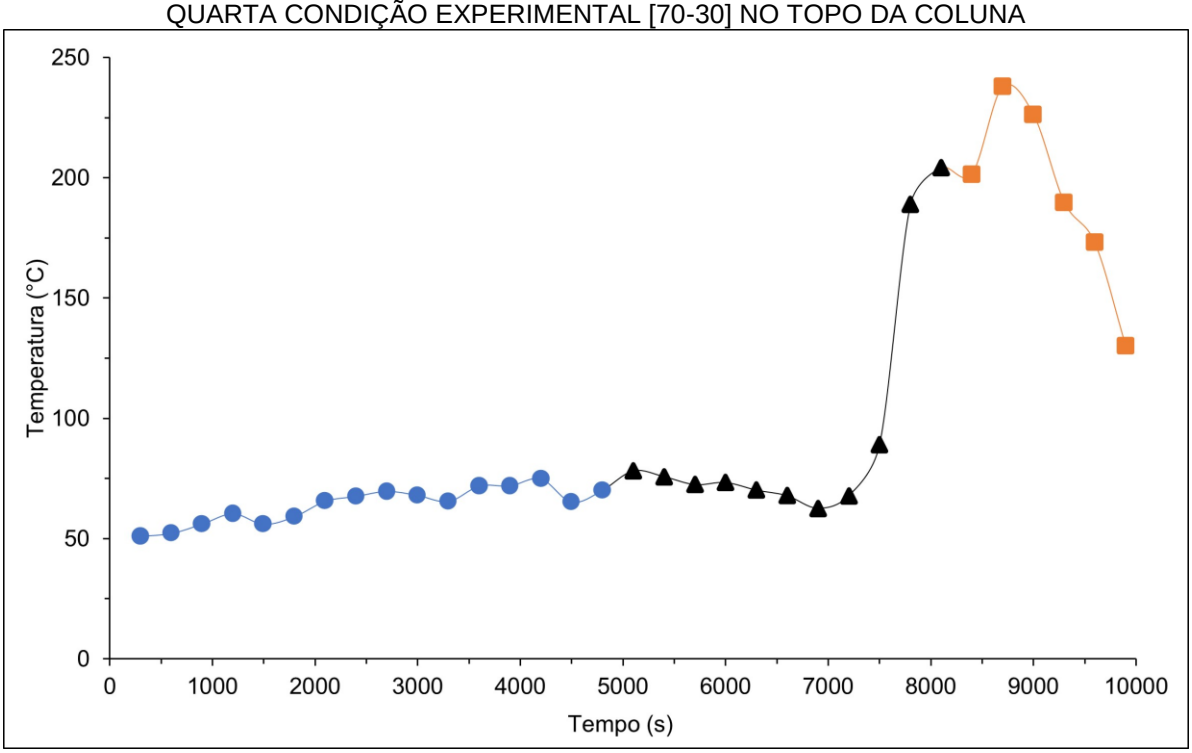
As FIGURAS 4.12, 4.13 e 4.14 apresentam os resultados da variação de temperatura no topo da coluna de destilação para a quarta condição experimental [70-30], ao longo dos três experimentos realizados. Foi possível observar que, em todos os casos, a fração 1 atingiu uma temperatura máxima de 75 °C, utilizando uma faixa de potência entre [7-9]. Esse comportamento indica que os compostos mais voláteis foram destilados nessa fase inicial. Após a estabilização desse estágio e a impossibilidade de continuar a destilação nessa potência, foi necessário aumentar a potência para a faixa de [10-11], permitindo a destilação da fração 2.

Durante a destilação da fração 2, uma variação mais acentuada de temperatura no topo da coluna foi observada, sugerindo a presença de compostos mais pesados, de maior ponto de ebulição, em comparação com a fração 1. A temperatura máxima alcançada no topo da coluna durante essa fase foi de 205 °C, o que reforça a maior complexidade da fração destilada.

Para a fração 3, a potência foi ajustada para o nível máximo, o que resultou na maior quantidade de óleo destilado entre todas as frações, evidenciando a extração de compostos ainda mais pesados. No refervedor, a temperatura chegou a atingir até 350 °C, enquanto no topo da coluna, as temperaturas máximas variaram entre 237,7 °C, 235,1 °C e 225,6 °C, respectivamente, para cada um dos três experimentos.

À medida que a temperatura no topo da coluna começou a declinar, tornou-se evidente que o processo de destilação estava próximo do fim. Isso sinaliza que o rendimento da destilação havia atingido um ponto de saturação, e mesmo com o aumento da temperatura no refervedor, não seria possível obter frações adicionais de óleo, indicando a conclusão do processo. Essa análise destaca a importância da variação de potência durante a destilação para otimizar a separação de diferentes frações de compostos, especialmente aqueles de diferentes pesos moleculares, e aponta para a relevância dos perfis de temperatura em prever o rendimento e eficiência do processo em cada estágio da destilação.

FIGURA 4.12 - EXPERIMENTO 1: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO TOPO DA COLUNA



FONTE: O autor (2023).

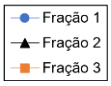
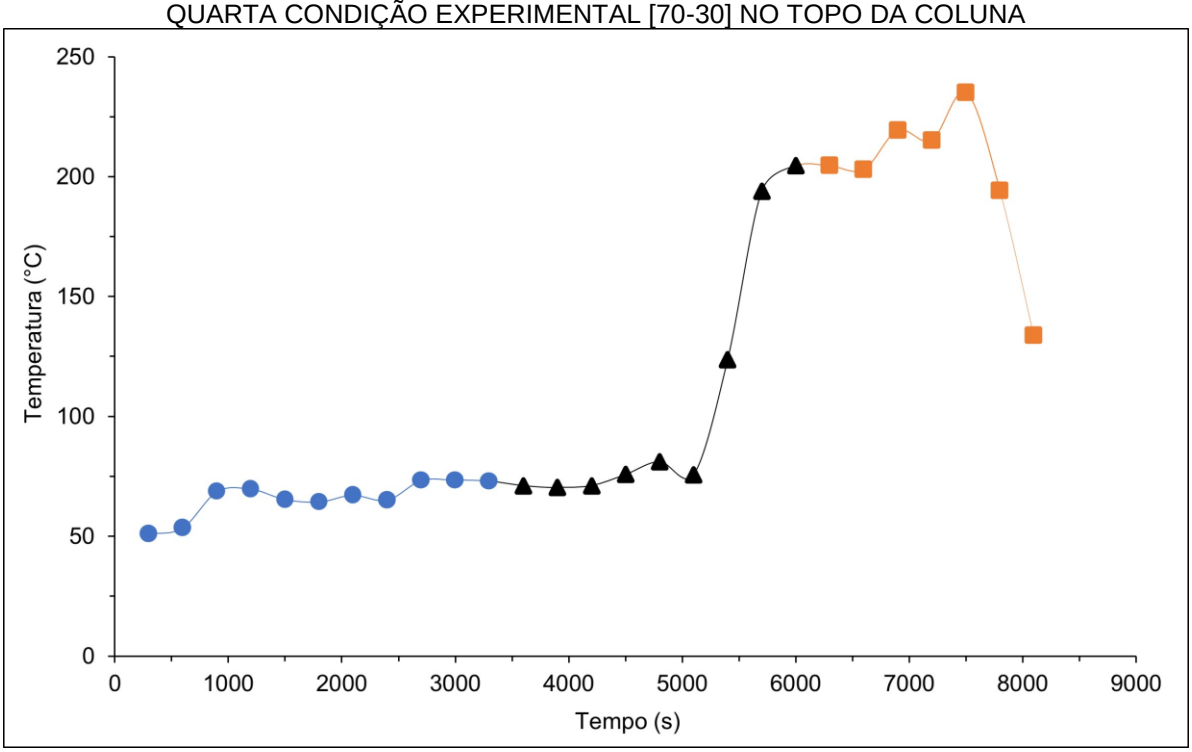


FIGURA 4.13 - EXPERIMENTO 2: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO TOPO DA COLUNA



FONTE: O autor (2023).

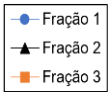
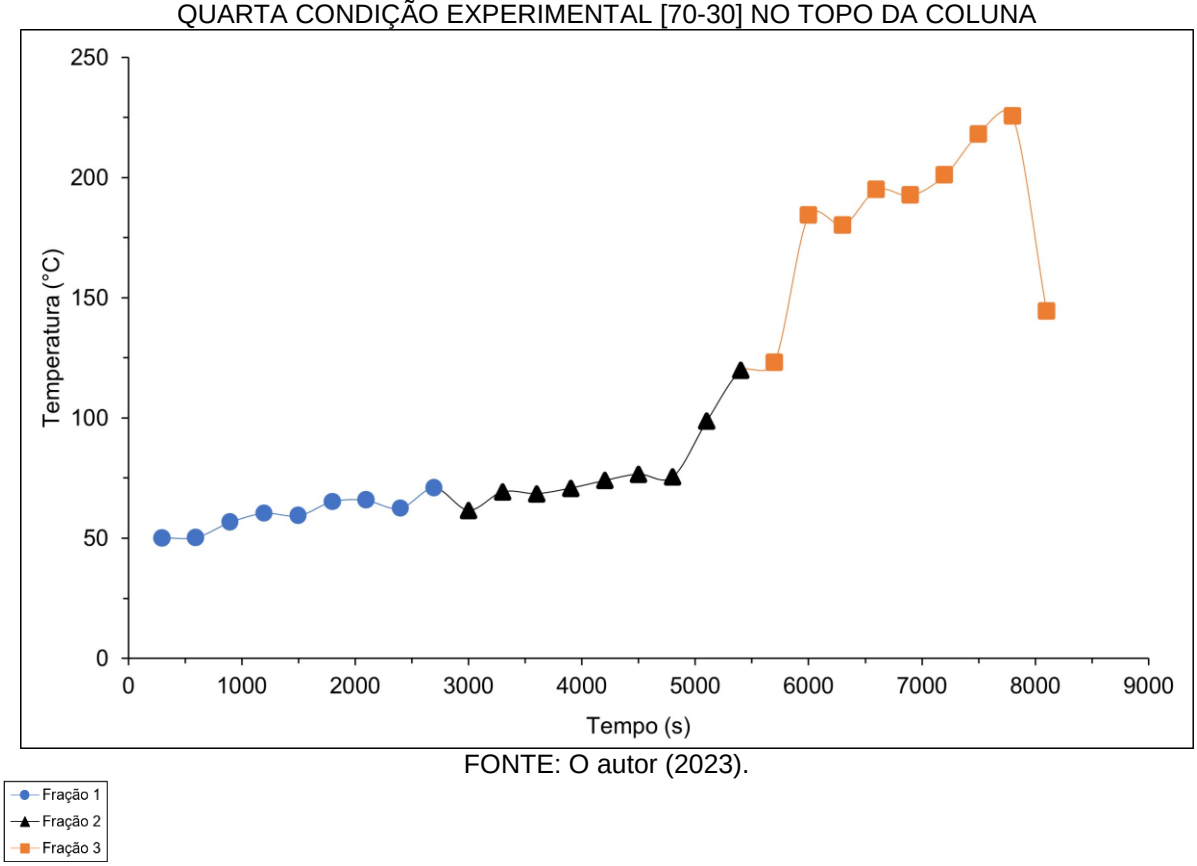


FIGURA 4.14 - EXPERIMENTO 3: VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A QUARTA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30] NO TOPO DA COLUNA



FONTE: O autor (2023).

No APÊNDICE 3 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para a condição 4 [70-30].

4.3 QUANTIFICAÇÃO POR CROMATOGRAFIA GASOSA COM ESPECTRÔMETRO DE MASSA (CG-EM)

A análise por CG-EM foi conduzida para identificar e quantificar os compostos presentes no óleo da microalga *Tetradesmus obliquus*. Os resultados obtidos para as três primeiras condições de extração e posterior destilação, bem como os valores médios e desvios-padrão para cada composto, estão apresentados na TABELA 4.4.

TABELA 4.4 - COMPOSTOS IDENTIFICADOS NO CG-EM PARA AS TRÊS PRIMEIRAS CONDIÇÕES

Composto (IUPAC)	**Fórmula molecular**	**Polaridade**	**Condição 1 [70-30] (% área)**	**Condição 2 [50-50] (% área)**	**Condição 3 [100] (% área)**
		Hidrocarbonetos (Alcanos)			
1-Dodecano	$C_{12}H_{26}$	NP	1,42 ± 1,1	0,93 ± 1,6	0,71 ± 1,2
Dodecano	$C_{12}H_{26}$	NP	2,57 ± 0,7	1,85 ± 1,8	0,75 ± 1,1

Composto (IUPAC)	Fórmula molecular	Polaridade	Condição 1 [70-30] (% área)	Condição 2 [50-50] (% área)	Condição 3 [100] (% área)
2,6-dimetil-undecano	$C_{13}H_{28}$	NP	0,92 ± 1,1	2,45 ± 3,2	0,15 ± 0,3
6-metil-octadecano	$C_{19}H_{40}$	NP	0,74 ± 1,3	0,80 ± 1,4	0,63 ± 1,1
3-Tetradecano	$C_{14}H_{30}$	NP	1,55 ± 2,7	1,61 ± 2,8	0,89 ± 1,6
2,6,10-trimetil-dodecano	$C_{15}H_{32}$	NP	0,97 ± 1,7	1,03 ± 1,8	ND
Tetradecano	$C_{14}H_{30}$	NP	3,99 ± 3,6	2,71 ± 3,5	1,16 ± 1,1
2-metil-tetracosano	$C_{26}H_{54}$	NP	0,81 ± 1,4	0,96 ± 1,7	ND
Pentadecano	$C_{15}H_{32}$	NP	14,64 ± 1,1	32,44 ± 23,8	15,66 ± 14,8
Hexadecano	$C_{16}H_{34}$	NP	3,00 ± 1,0	2,36 ± 2,1	0,59 ± 1,0
Heptadecano	$C_{17}H_{36}$	NP	7,27 ± 1,6	14,52 ± 8,0	7,58 ± 1,1
Nonadecano	$C_{19}H_{40}$	NP	1,73 ± 0,6	0,74 ± 1,3	ND
Total (% área)			**40,51 ± 12,6**	**62,39 ± 29,6**	**28,14 ± 8,7**
Hidrocarbonetos (Alcenos)					
4-metil-1-deceno	$C_{11}H_{22}$	PP	0,58 ± 1,0	ND	ND
8-Heptadeceno	$C_{17}H_{32}$	PP	2,26 ± 1,3	1,55 ± 2,0	1,48 ± 2,3
1-penta-deceno	$C_{15}H_{28}$	PP	1,32 ± 2,3	1,61 ± 2,8	ND
9-Heneicoseno	$C_{21}H_{40}$	PP	2,04 ± 1,9	0,89 ± 1,5	1,08 ± 1,7
2-dodeceno	$C_{12}H_{24}$	P	1,52 ± 1,8	2,29 ± 2,4	1,25 ± 1,2
Total (% área)			**7,72 ± 5,1**	**6,34 ± 4,5**	**3,81 ± 2,3**
Álcoois					
1-Dodecanol	$C_{12}H_{26}O$	P	1,39 ± 0,9	032 ± 0,6	0,90 ± 1,1
Total (% área)			**1,39 ± 0,9**	**0,32 ± 0,6**	**0,90 ± 1,1**
Éster					
Éster metílico de ácido hexadecanóico	$C_{17}H_{32}O_2$	P	5,50 ± 3,9	3,53 ± 4,3	2,36 ± 4,1
Di-iso-octil-ftalato	$C_{24}H_{38}O_4$	NP	2,81 ± 4,9	2,21 ± 3,8	0,67 ± 1,1
Total (% área)			**8,31 ± 4,7**	**5,75 ± 5,0**	**4,54 ± 3,6**
Ácidos carboxílicos					
Ácido heptanoico	$C_7H_{14}O_2$	P	0,94 ± 1,3	0,67 ± 1,2	032 ± 0,6
Ácido octanoico	$C_8H_{16}O_2$	P	0,89 ± 1,3	0,71 ± 1,2	0,65 ± 1,1
Ácido nonanoico	$C_9H_{18}O_2$	P	0,10 ± 0,1	ND	ND
Ácido decanoico	$C_{10}H_{20}O_2$	P	0,78 ± 1,1	2,62 ± 3,3	1,53 ± 1,6
Ácido hexadecanoico	$C_{16}H_{32}O_2$	P	3,71 ± 5,2	ND	ND
Total (% área)			**4,83 ± 4,3**	**4,01 ± 3,5**	**2,49 ± 2,2**

FONTE: O autor (2023).

ND: Não detectado
NP: Não polar
PP: Parcialmente polar
P: Polar

Na seção dos hidrocarbonetos (alcanos), foram identificados diferentes comprimentos de cadeia, como 1-dodecano, dodecano, tetradecano, hexadecano, heptadecano, nonadecano, entre outros. Os alcanos são compostos não polares e a quantidade obtida variou nas diferentes condições. Verificou-se que a condição 2 [50-50] apresentou a maior quantidade de alcanos 62,39 ± 29,6%, enquanto a

condição 3 [100] resultou na menor quantidade 28,14 ± 8,7%. Esses resultados sugerem que a proporção do solvente utilizado na extração afeta a produção de alcanos. Além disso, a condição 2 [50-50] apresentou os maiores desvios-padrão para os alcanos, indicando uma maior variabilidade nos resultados. É importante ressaltar que a quantidade de pentadecano e heptadecano também foi analisada, sendo observado que esses compostos apresentaram as maiores porcentagens de área nas três condições. Esses resultados são consistentes com o estudo realizado por Kim et al. (2019), no qual foi analisada a mesma espécie de microalga. Nesse estudo, também foi observado que os hidrocarbonetos mencionados ocorrem em maiores quantidades, descritos em % (p/p). Além disso, foi demonstrado que as temperaturas mais altas de extração resultaram em maiores % (p/p) desses compostos.

Por outro lado, López-Rosales et al. (2019) encontraram uma variedade de hidrocarbonetos alcanos em microalgas marinhas, incluindo tetradecano, pentadecano, heptadecano, octadecano, nonadecano, eicosano, heneicosano, tetracosano, hexacosano e heptacosano. As porcentagens desses compostos variaram entre as cepas, indicando diferenças na composição dos hidrocarbonetos presentes. O pentadecano foi identificado em duas cepas, com uma porcentagem de pico de área de 4,90% e 4,35%, respectivamente. Já o heptadecano foi encontrado nas três cepas analisadas, com porcentagens de pico de área de 6,91%, 8,48% e 5,97%, respectivamente. Mais uma vez, esses resultados reforçam a presença desses compostos em quantidades significativas no óleo de microalgas, mesmo quando consideradas espécies de água doce e marinha. Adicionalmente, o estudo de Costa et al. (2022) apresentou resultados experimentais semelhantes aos obtidos neste estudo. A análise de CG-EM mostrou que o rendimento dos alcanos foi de 35,54 ± 16,4% em área quando utilizado apenas hexano como solvente no processo de extração, o que está próximo aos valores mencionados na tabela. Já para a mistura de solventes, a média de rendimento foi de 42,21 ± 4,4% em área. Os maiores picos observados foram de pentadecano 14,56 ± 3,4% e heptadecano 13,14 ± 2,4%, o que está em concordância com os resultados apresentados na TABELA 4.4.

Durante a análise realizada, identificaram-se hidrocarbonetos do tipo alceno presentes nas amostras, tais como 4-metil-1-deceno, 8-heptadeceno, 1-pentadeceno, 9-heneicoseno e 2-dodeceno. Os alcenos são parcialmente polares e

estão em menor quantidade em comparação aos alcanos nas amostras analisadas. Ao considerar a condição 1 [70-30], verificou-se que os alcenos apresentaram os maiores desvios-padrão, com valor de 7,72 ± 5,1%, indicando uma maior variabilidade nos resultados obtidos. Um estudo conduzido por Kim et al. (2019) encontrou apenas o alceno 8-heptadeceno em suas amostras, sendo que sua concentração aumentou com o aumento da temperatura de extração, alcançando 11,7 ± 0,2% (p/p) a 25 °C.

No estudo de López-Rosales et al. (2019), foram encontrados apenas dois alcenos, o 1-heptadeceno e o neofitadieno. O 1-heptadeceno 23,75% foram identificados em apenas uma cepa, enquanto o neofitadieno 64,22% e 64,98% foi encontrado em outras duas cepas. É importante ressaltar que nenhuma dessas duas cepas produziu o 1-heptadeceno. A presença dos alcenos em menor quantidade em relação aos alcanos nas amostras analisadas indica que os alcanos são mais abundantes nesse contexto. Essa diferença pode estar relacionada às propriedades físico-químicas dos compostos, como a polaridade dos alcenos, que pode influenciar sua solubilidade e reatividade. É válido ressaltar que os desvios-padrão encontrados na condição 1 [70-30] indicam uma maior variabilidade nos resultados obtidos para os alcenos. Isso pode ser consequência de diversos fatores, como a heterogeneidade das amostras e variações nos processos de extração.

Na seção dos álcoois, foi identificado apenas um composto, o 1-dodecanol, nas três condições experimentais analisadas. Os álcoois são compostos polares devido à presença do grupo hidroxila (-OH) e são produzidos por meio da oxidação dos alcanos. O 1-dodecanol foi detectado em todas as condições de extração, porém em menor quantidade em comparação aos hidrocarbonetos.

Em um estudo conduzido por Kim et al. (2019), foi relatado a presença do álcool 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadecen-1-ol como o único álcool encontrado. Já no trabalho realizado por López-Rosales et al. (2019), o álcool mais abundante identificado foi o 2,2,4-trimetil-1,3-pentanodiol 1-isobutirato, com uma porcentagem de 5,01% em relação à área total, encontrado em apenas uma cepa. Essa substância é encontrada em baixas concentrações e não apresenta ampla presença nas amostras analisadas. Essas diferenças podem ser atribuídas às condições experimentais específicas, às características das amostras analisadas e às metodologias empregadas em cada estudo. Além disso, é importante ressaltar que os álcoois são encontrados em menor quantidade em comparação aos

hidrocarbonetos nas amostras analisadas. Isso pode ser explicado pela polaridade dos álcoois, que influencia sua solubilidade e interações com a matriz da amostra.

Foram identificados dois ésteres na seção correspondente: o éster metílico do ácido hexadecanoico e o ftalato de di-iso-octila. Os ésteres são compostos formados pela reação entre um ácido carboxílico e um álcool. Eles geralmente possuem menor polaridade em relação aos ácidos carboxílicos e apresentam um odor agradável. Nas amostras analisadas, os ésteres foram encontrados em quantidades menores em comparação aos alcanos e alcenos. Kim et al. (2019) relatou apenas um único éster encontrado e foi o metil Z-11-tetradecenoato. Esse éster apresentou uma concentração mais elevada em % (p/p) do que os hidrocarbonetos, atingindo 21,6 ± 1,3% a 25 °C. Em contraste, o pentadecano e o hexadecano obtiveram concentrações de 15,3 ± 0,1% e 9,17 ± 1,1% a 25 °C, respectivamente. Esses resultados diferem do presente estudo, onde a extração foi realizada a 50 °C em todas as condições, e os hidrocarbonetos alcanos foram predominantes nas três condições analisadas.

Para López-Rosales et al. (2019), os principais ésteres identificados foram o 2-palmitoilglicerol 9,94% em área e o éster do ácido hexadecanoico com bis(2-etil-hexila) em altas concentrações em duas cepas 45,19% e 39,03% em área, respectivamente. É interessante observar as diferenças nos resultados entre os estudos mencionados. Kim et al. (2019) encontraram apenas o metil Z-11-tetradecenoato como éster, com uma concentração superior aos hidrocarbonetos. No entanto, esses resultados contrastam com os do presente estudo, onde os alcanos foram predominantes nas amostras analisadas. Por outro lado, López-Rosales et al. (2019) identificaram o 2-palmitoilglicerol e o éster do ácido hexadecanoico com bis(2-etil-hexila) como os principais ésteres, em altas concentrações em duas cepas. Essas discrepâncias podem ser atribuídas a diferenças nas condições experimentais, nas características das amostras analisadas e nas técnicas de análise utilizadas em cada estudo. Além disso, a presença dos ésteres em quantidades menores do que os alcanos e alcenos sugere que esses últimos são mais abundantes nas amostras analisadas, o que está de acordo com as propriedades físico-químicas desses compostos.

Na seção dos ácidos carboxílicos, foram identificados vários compostos, incluindo ácido heptanoico, ácido octanoico, ácido nonanoico, ácido decanoico e ácido hexadecanoico. Os ácidos carboxílicos são compostos polares e estão

presentes em menor quantidade em comparação aos alcanos. A condição 1 [70-30] apresentou o maior desvio-padrão nos valores de área relativa dos ácidos carboxílicos, com uma média de 4,83 ± 3,5%, enquanto para Kim et al. (2019), os ácidos carboxílicos foram predominantes, com destaque para o ácido tetradecanoico 19,1 ± 0,4%, ácido 9-hexadecenoico 20,6 ± 0,5%, ácido hexadecanoico 21,9 ± 1,4%, ácido 9-octadecenoico (Z) 20,6 ± 0,5% e ácido octadecanoico 18,6 ± 1,1%. Esses ácidos carboxílicos apresentaram as maiores quantidades em % (p/p) quando comparados aos hidrocarbonetos, atingindo seus valores máximos a 25 °C. Além disso, o principal composto encontrado em todas as cepas de algas marinhas foi o éster metílico do ácido hexadecanoico (metil palmitato, C16:0), com uma variação de 7,82% a 13,85% em área, conforme relatado por López-Rosales et al. (2019).

É interessante observar que, nos estudos mencionados e na análise do experimento proposto, os ácidos carboxílicos desempenham um papel significativo nas amostras analisadas. Essas observações ressaltam a importância dos ácidos carboxílicos nessas análises, tanto em termos de sua presença em relação aos alcanos e alcenos, quanto em sua distribuição em diferentes condições e amostras. Em resumo, a TABELA 4.4 fornece uma visão detalhada dos compostos identificados na análise de CG-EM do óleo da microalga *Tetradesmus obliquus* nas três condições propostas. Dessa maneira foi possível realizar uma análise e verificar que os hidrocarbonetos, principalmente alcanos, estão dentro do esperado quando comparado aos artigos citados. No APÊNDICE 4 é possível verificar todos os pontos obtidos durantes os três experimentos para as três condições propostas.

Na TABELA 4.5, que se refere à condição 4 [70-30], observa-se uma clara predominância dos hidrocarbonetos, especificamente os alcanos, em todas as frações analisadas. A proporção desses compostos varia de 21,91 ± 3,5% a 28,27 ± 4,2%, consolidando-os como os principais constituintes da mistura. Entre os alcanos mais detectados, destacam-se o tridecano, tetradecano, hexadecano e pentadecano.

Em contraste, os alcenos aparecem em concentrações significativamente menores, com percentuais variando de 3,62 ± 0,3% a 11,22 ± 6,8%. Os principais alcenos identificados foram o 3-tetradeceno e o 3,7,11,15-tetrametil-2-hexadeceno, o que sugere uma menor contribuição desses compostos para o perfil geral da mistura.

No que diz respeito aos ésteres, observa-se uma variação percentual significativa, entre 6,58 ± 1,6% e 23,92 ± 5,6%, com destaque para o docosanoato de etila, behenato de etila, oleato de etila e estearato de etila. Esses ésteres têm importância não apenas na composição da mistura, mas também em suas possíveis aplicações, como na produção de biodiesel ou outros biocombustíveis, devido às suas propriedades químicas favoráveis.

Os ácidos carboxílicos, embora presentes em menor quantidade, ainda desempenham um papel relevante, com distribuições percentuais variando de 0,46 ± 0,1% a 4,16 ± 1,5%. Entre os ácidos mais detectados estão o ácido dodecanóico, o ácido 5,8,11,14,17-eicosapentaenoico e o ácido 8,11,14-eicosatrienoico, compostos conhecidos por suas propriedades biológicas e químicas. Por fim, é importante ressaltar que os dados completos, abrangendo todas as frações obtidas nos três experimentos realizados sob essa quarta condição experimental, estão detalhados no APÊNDICE 4, oferecendo uma visão aprofundada e detalhada das variações observadas. A análise desses resultados é essencial para compreender a eficiência do processo de extração e a potencial aplicabilidade dos compostos identificados em processos industriais, como a produção de biocombustíveis.

TABELA 4.5 - COMPOSTOS IDENTIFICADOS NO CG-EM PARA CADA FRAÇÃO NA CONDIÇÃO 4 [70-30]

Composto (IUPAC)	**Fórmula molecular**	**Polaridade**	**Fração 1 (% área)**	**Fração 2 (% área)**	**Fração 3 (% área)**
		Hidrocarbonetos (Alcanos)			
3-metil-decano	$C_{11}H_{24}$	NP	5,51 ± 4,9	0,19 ± 0,2	0,65 ± 1,1
Tridecano	$C_{13}H_{28}$	NP	2,30 ± 0,4	3,02 ± 1,1	1,94 ± 0,7
Tetradecano	$C_{14}H_{30}$	NP	5,67 ± 1,1	3,70 ± 1,3	3,28 ± 1,6
2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	$C_{21}H_{44}$	NP	2,81 ± 0,3	1,91 ± 1,3	2,49 ± 0,4
Eicosano	$C_{20}H_{42}$	NP	0,82 ± 1,4	ND	1,36 ± 2,4
Pentadecano	$C_{15}H_{32}$	NP	ND	11,16 ± 3,5	1,31 ± 2,3
Hexadecano	$C_{16}H_{34}$	NP	8,38 ± 1,4	8,29 ± 2,6	10,88 ± 0,9
Total (% área)			**25,49 ± 2,8**	**28,27 ± 4,2**	**21,91 ± 3,5**
		Hidrocarbonetos (Alcenos)			
3-tetra-deceno	$C_{14}H_{28}$	PP	5,37 ± 0,8	1,98 ± 0,7	0,84 ± 0,8
3,7,11,15-tetrametil-2-hexadeceno	$C_{20}H_{40}$	PP	2,93 ± 2,7	1,62 ± 0,4	10,38 ± 2,7
Total (% área)			**8,30 ± 1,7**	**3,62 ± 0,3**	**11,22 ± 6,8**
		Éster			
Docosanoato de etila	$C_{24}H_{50}O_2$	P	0,82 ± 0,8	1,04 ± 0,3	0,99 ± 0,9

Composto (IUPAC)	Fórmula molecular	Polaridade	Fração 1 (% área)	Fração 2 (% área)	Fração 3 (% área)
Behenato de etila	$C_{24}H_{50}O_2$	P	0,54 ± 0,9	0,38 ± 0,3	6,35 ± 6,4
Oleato de etila	$C_{20}H_{38}O_2$	P	3,69 ± 1,7	1,23 ± 0,8	2,86 ± 2,8
Estearato de etila	$C_{18}H_{36}O_2$	P	9,30 ± 1,3	3,93 ± 1,5	13,72 ± 3,0
Total (% área)			**14,35 ± 4,1**	**6,58 ± 1,6**	**23,92 ± 5,6**
		Ácidos carboxílicos			
Ácido dodecanóico	$C_{12}H_{24}O_2$	P	3,08 ± 0,8	0,46 ± 0,4	2,20 ± 0,5
Ácido 5,8,11,14,17-eicosapentanóico	$C_{20}H_{36}O_2$	P	0,55 ± 1,0	ND	ND
Ácido 8,11,14-eicosatrienóico	$C_{20}H_{32}O_2$	P	0,53 ± 0,9	ND	ND
Total (% área)			**4,16 ± 1,5**	**0,46 ± 0,4**	**2,20 ± 0,5**

FONTE: O autor (2023).

ND: Não detectado
NP: Não polar
PP: Parcialmente polar
P: Polar

4.4 PARÂMETROS FÍSICO-QUÍMICOS DO ÓLEO DESTILADO

A TABELA 4.6 e 4.7 apresenta uma análise das propriedades físico-químicas do óleo de microalgas destilados sob duas diferentes condições de produção. As condições são descritas como sendo, condição 1 [70-30] e condição 2 [50-50] e foram analisadas utilizando os seguintes parâmetros: densidade, enxofre, poder calorifico superior e inferior e grau API. A condição 3 [100] e condição 4 [70-30] não foram analisadas, a primeira devido ao baixo rendimento de óleo destilado e a segunda devido as variações das frações que inviabilizaram uma análise mais precisa em cada faixa proposta. Os dados analisados estão em triplicata para cada condição.

TABELA 4.6 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMCAS DO ÓLEO DESTILADO DA CONDIÇÃO 1 [70-30]

Análise	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Média e Desvio padrão	Unidade	Método
Massa específica a 20°C	845,1	846,6	845,4	**845,7 ± 0,8**	$kg.m^{-3}$	ASTM D4052 – 18a
Enxofre total	1254	1259	1257	**1256,67± 2,5**	$mg.kg^{-1}$	ASTM D7039 - 20
Poder calorífico superior (PCS)	42,615	40,760	42,187	**41,85 ± 1,0**	$MJ.kg^{-1}$	ASTM D5468 - 07

Análise	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Média e Desvio padrão	Unidade	Método
Poder calorífico inferior (PCI)	39,221	37,366	39,182	**38,59 ± 1,0**	$MJ.kg^{-1}$	Metodologia própria (1)
Grau API	39,95	35,65	35,89	**35,83 ± 0,2**	°API	Equação

FONTE: O autor (2023).

Nota (1): Valores obtidos através do cálculo da equação de Dulond, que considera os valores do ensaio de Poder calorifico superior e a composição de hidrogênio na amostra, que foi estimada em 15,01% em massa.

TABELA 4.7 - PROPRIEDADES FÍSICO-QUÍMCAS DO ÓLEO DESTILADO DA CONDIÇÃO 2 [50-50]

Análise	Experimento 1	Experimento 2	Experimento 3	Média e Desvio padrão	Unidade	Método
Massa específica a 20°C	818,4	818,0	818,1	**818,17 ± 0,2**	$kg.m^{-3}$	ASTM D4052 – 18a
Enxofre total	1092	917	1080	**1029,67 ± 97,8**	$mg.kg^{-1}$	ASTM D7039 - 20
Poder calorífico superior (PCS)	43,095	44,335	43,072	**43,50 ± 0,7**	$MJ.kg^{-1}$	ASTM D5468 - 07
Poder calorífico inferior (PCI)	39,701	40,941	39,321	**39,99 ± 0,9**	$MJ.kg^{-1}$	Metodologia própria (1)
Grau API	41,41	41,50	41,47	**41,46 ± 0,1**	°API	Equação

FONTE: O autor (2023).

Nota (1): Valores obtidos através do cálculo da equação de Dulond, que considera os valores do ensaio de Poder calorifico superior e a composição de hidrogênio na amostra, que foi estimada em 15,01% em massa.

Observou-se que a densidade do diesel é semelhante às amostras de óleo destilado. A faixa de densidade do diesel 796,8 - 841 $kg.m^{-3}$ (BUGARSKI et al., 2016; KARAVALAKIS et al., 2016) está dentro do intervalo de densidades das amostras de óleo destilado 845,7 ± 0,8 $kg.m^{-3}$ para a condição 1 [70-30] e 818,17 ± 0,2 $kg.m^{-3}$ para a condição 2 [50-50].

Os valores de poder calorífico do diesel 42 - 45,77 $MJ.kg^{-1}$ (GÓMEZ et al., 2016; AATOLA et al., 2009) estão dentro da faixa dos valores dos poderes caloríficos superiores e inferiores das amostras de óleo destilado (PCS): 41,85 ± 0,8 $MJ.kg^{-1}$ e (PCI): 38,58 ± 0,9 $MJ.kg^{-1}$ para a condição 1 [70-30] e (PCS): 43,50 ± 0,6 $MJ.kg^{-1}$ e (PCI): 39,99 ± 0,7 $MJ.kg^{-1}$ para a condição 2 [50-50]. Isso sugere que o

diesel e as amostras de óleo destilado de microalgas têm um potencial energético semelhante.

As amostras de óleo destilado apresentam níveis significativamente mais altos de enxofre em comparação com o diesel. O diesel atende a regulamentações mais rígidas em termos de teor de enxofre, com um limite de menos de 5 ppm (NIEMI et al., 2016), enquanto as amostras de óleo destilado têm teores de enxofre muito mais elevados 1.256,6 ± 2,1 $mg.kg^{-1}$ e 1.029,6 ± 79,8 $mg.kg^{-1}$ respectivamente.

Estudos anteriores têm demonstrado que a maioria das microalgas e plantas superiores apresenta armazenamento limitado de enxofre, e o seu crescimento e desenvolvimento dependem da absorção de enxofre do ambiente (ZHANG et al., 2004). A disponibilidade de enxofre é conhecida por influenciar a eficiência da fotossíntese e, consequentemente, a assimilação e alocação de carbono (SIMIONATO et al., 2013). As vias de assimilação de enxofre convergem em uma série de compostos que também necessitam de carbono e nitrogênio para a sua síntese (STEFELS 2000; GIORDANO e RAVEN 2014). Portanto, as vias de assimilação de carbono, nitrogênio e enxofre estão entrelaçadas, e a limitação de qualquer uma delas interrompe a produção das respectivas reservas moleculares (FALKOWSKI e RAVEN 1997; GIORDANO e RAVEN 2014).

O nitrogênio e o enxofre são componentes abundantes nas células de plantas e algas, sendo assimilados no menor número de oxidação, como NH_4^+ e S^{2-}, embora também possam ser adquiridos (no caso do enxofre, geralmente necessário) no seu maior número de oxidação, como NO_3^- e SO_4^{2-}. Muitos microrganismos, incluindo microalgas, são capazes de liberar enzimas que podem degradar o enxofre inorgânico de compostos orgânicos e tornar o enxofre disponível para plantas e algas (GONZALEZ-BALLESTER e GROSSMAN, 2009; KERTESZ, 2000). A determinação da composição elementar de toda a biomassa, incluindo vários minerais na cinza, também é útil para compreender as microalgas como matéria-prima para a produção de biocombustíveis (BORAH et al., 2009).

Kalam et al. (2003) analisaram a biomassa da microalga *Chlorella sorokiniana* para a produção de biocombustíveis. Os elementos detectados foram carbono, oxigênio, potássio e enxofre. Esses elementos compõem a composição química da biomassa e fornecem informações sobre a sua estrutura e composição elemental. As quatro principais composições foram carbono (66,5%), oxigênio

(32,5%), potássio (0,6%) e enxofre (0,4%). O teor de carbono pode ser composto por hidrocarbonetos das cadeias de polissacarídeos. Além disso, a presença de enxofre na biomassa, embora em pequena quantidade, não favoreceu a produção de biocombustíveis devido ao resíduo de enxofre que afeta o processo de combustão e contribui para a poluição ambiental durante a ignição interna do motor.

Bi e He (2013) investigaram a caracterização da biomassa de microalgas para a produção de biocombustíveis. Entre as microalgas estudadas, as microalgas verdes apresentaram uma quantidade maior de matéria volátil em comparação com as microalgas marrons, enquanto as últimas possuíam um teor de cinzas muito mais elevado (chegando a 43,4 ± 0,2% em peso seco). O menor teor de cinzas foi encontrado nas amostras de microalgas verdes (14,3 ± 0,1% em peso seco). A análise elementar demonstrou que as microalgas marrons possuíam menor teor de carbono (aproximadamente 25% em peso seco) em comparação com as microalgas verdes (49% a 58% em peso seco). Todas as amostras de microalgas apresentaram alto teor de enxofre (0,4% a 1,0% em peso seco).

Johnson e Wen (2009) realizaram uma análise sobre a produção de biodiesel a partir da microalga *Schizochytrium limac*inum através da transesterificação direta da biomassa. O teste realizado seguindo a ASTM, no qual o combustível líquido falhou, foi o teor de enxofre (69 ppm). Isso provavelmente ocorreu devido ao uso de $MgSO_4$ no meio de cultura de algas e ao alto teor de enxofre resultante na biomassa. Para atender ao padrão da ASTM, o meio de cultura para essa alga deve ser modificado para utilizar uma composição de baixo teor de enxofre/sulfato.

É sabido que o teor de carbono da biomassa está diretamente relacionado ao poder calorífico do biocombustível, enquanto o teor de oxigênio afeta o poder calorífico de forma inversa. Um alto teor de oxigênio não é uma propriedade desejável para biocombustíveis de alta densidade energética. Enquanto isso, um baixo teor de nitrogênio e enxofre na biomassa de microalgas são altamente desejáveis para a produção de biocombustíveis ambientalmente amigáveis (ZHANG et al., 2004).

Dessa maneira a remoção desse enxofre produzido se torna necessário para utilização como combustível, os principais métodos utilizados são a hidrodessulfurização (HDS) e a adsorção. A HDS é o método mais comumente utilizado para remover enxofre de biocombustíveis. Nesse processo, o

biocombustível é misturado com hidrogênio em alta pressão e temperatura, passando por um catalisador específico que promove a reação de hidrogenação do enxofre. Isso converte os compostos de enxofre em compostos de hidrogênio-sulfeto, que são facilmente removidos do biocombustível. A hidrodessulfurização reduz significativamente o teor de enxofre, tornando o biocombustível mais limpo (RAHPEYMA e RAHEB, 2019; QUINTANILHA et al., 2022).

Já a adsorção envolve o uso de materiais adsorventes, como zeólitas ou carvão ativado, para remover o enxofre do biocombustível. O biocombustível é passado através de uma coluna preenchida com o adsorvente, que retém seletivamente os compostos de enxofre. Periodicamente, o adsorvente é regenerado, removendo os compostos de enxofre adsorvidos e permitindo que o processo seja repetido (BHADRA e JHUNG, 2020; LEON-VAZ et al., 2023).

Uma amostra de petróleo pode ser classificada de diversas formas, dependendo do critério utilizado para tal, dentre os quais destacam-se o grau de densidade API, do *American Petroleum Institute*, o teor de enxofre e a razão dos componentes químicos presentes, isto é, parafínicos, naftênicos e asfálticos (DELGADO e GAUTO, 2021). O grau API segundo a ANP (2020), pode ser classificado em API maior ou igual 33° para petróleos leves, API entre 22° e 31° para petróleo médios, API menor do que 22° para petróleos pesados e API menor do que 10° para petróleos extrapesados. Dessa maneira o óleo destilado de microalgas pode ser caracterizado como um composto leve, pois seu grau API para a condição 1 [70-30] foi em média 35,83 ± 0,2 e para a condição 2 [50-50] foi em média de 41,46 ± 0,1.

Observa-se que a faixa de composição de hidrogênio do diesel de petróleo 13,32% - 15,26% (ZUBEL et al., 2016; JANECEK et al., 2016) é similar à composição estimada de hidrogênio nas amostras de óleo destilado 15,01% em massa. Isso sugere que tanto o óleo de microalgas quanto as amostras diesel de petróleo possuem uma proporção semelhante de hidrogênio em relação à sua massa total. Essa composição de hidrogênio pode influenciar as propriedades físico-químicas e o potencial energético desses combustíveis, juntamente com outros fatores como a relação H/C e a presença de outros compostos. No entanto, é importante realizar uma análise mais abrangente e considerar outras propriedades e características específicas para uma comparação completa entre esses combustíveis.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi investigado o processo de produção e processamento da biomassa da microalga *Tetradesmus obliquus* em FBR compactos com o objetivo de obter um combustível à base de hidrocarbonetos. Após a extração do óleo bruto, utilizou-se a destilação fracionada como método de purificação dos compostos. A análise de CG-EM revelou uma abundância de hidrocarbonetos (alcanos e alcenos), que podem ser comparados ao diesel de petróleo. Além disso, destacou-se algumas características físico-químicas para uma melhor caracterização desses compostos produzidos. As principais conclusões são resumidas a seguir:

I. Observou que o rendimento percentual do hexano na extração foi menor em comparação com a extração utilizando uma mistura de solventes. Os valores foram de 1,66 ± 0,10% para o hexano puro e de 6,06 ± 0,33%, 6,50 ± 0,13% e 8,25 ± 0,11% para a mistura de solventes. Os rendimentos em massa foram de 90,96 ± 4,85 g, 97,60 ± 2,01 g, 24,94 ± 1,22 g e 123,79 ± 1,62 g, respectivamente para as condições propostas. As misturas de solventes apresentaram rendimentos de extração superiores devido às variações na polaridade e viscosidade dos solventes utilizados.

II. O rendimento da destilação foi avaliado em diferentes condições experimentais. Os resultados foram mais satisfatórios quando utilizamos uma mistura de solventes (hexano e etanol). O rendimento da destilação foi de 50,77 ± 2,71% para a condição 1 [70-30] e 40,54 ± 2,11% para a condição 2 [50-50]. Na condição 3 [100] o rendimento da destilação foi o mais baixo, com uma média de 34,22 ± 2,17%. A condição 4 [70-30] foi proposta para avaliar o processo de destilação em diferentes cortes, o resultado do processo foi de 50,12 ± 3,56%. Com relação à conversão final do óleo destilado, ou seja, o rendimento em relação à quantidade de biomassa inicial 1,5 kg utilizada na extração, obtivemos um valor de 3,08 ± 0,33%, 2,63 ± 0,13%, 0,57 ± 0,01% e 4,13 ± 0,27% respectivamente para as quatro condições em sequência. Esses valores ficaram abaixo do esperado conforme observado em estudos analisados.

III. Por meio da análise por CG-EM, foi possível caracterizar os compostos obtidos nas quatro condições de extração-destilação. Em relação aos

alcanos, a condição 2 [50-50] obteve maior rendimento 62,39 ± 25,63%, seguida pela condição 1 [70-30] 40,51 ± 3,88%, condição 3 [100] 28,14 ± 28,70%. A condição 4 [70-30] obteve em média para cada fração 25,49 ± 2,77%, 28,27 ± 4,16% e 21,91 ± 3,52% respectivamente. Durante a análise, a presença de hidrocarbonetos do tipo alceno nas amostras foi observada, como 4-metil-1-deceno, 8-heptadeceno, 1-pentadeceno, 9-heneicoseno e 2-dodeceno. Os alcenos são parcialmente polares e estão presentes em menor quantidade em comparação aos alcanos nas amostras estudadas.

IV. A análise de parâmetros físico-químicos foi realizada apenas nas condições 1 [70-30] e 2 [50-50], devido ao maior rendimento final de óleo destilado nessas condições, o que influenciou a escolha dos parâmetros a serem avaliados. Foi possível notar que a densidade do óleo destilado 845,7 ± 0,64 $kg.m^{-3}$ para a condição 1 e 818,17 ± 0,17 $kg.m^{-3}$ para a condição 2 é semelhante à do diesel 796,8-841 $kg.m^{-3}$. Os valores de poder calorífico superior também são comparáveis, sendo o diesel 42-45,77 $MJ.kg^{-1}$ e as amostras destiladas 1 e 2 41,85 ± 0,79 $MJ.kg^{-1}$ e 43,50 ± 0,59 $MJ.kg^{-1}$. No entanto, as amostras de óleo destilado apresentaram níveis significativamente mais altos de enxofre em comparação com o diesel, demonstrando a necessidade de processo de remoção como a hidrodessulfurização (HDS), o que requer estudos adicionais para um melhor entendimento.

Em resumo, o processo de produção e extração em escala piloto do óleo de microalgas para a produção de hidrocarbonetos mostra-se promissor, uma vez que é possível purificar esses compostos e obter informações relevantes para uso futuro. No entanto, é necessário realizar uma análise mais aprofundada dos parâmetros físico-químicos para garantir que todos os resultados atendam às normas vigentes, a fim de possibilitar o uso seguro desses combustíveis como uma fonte renovável.

5.1 RECOMENDAÇÕES PARA TRABALHOS FUTUROS

Com base nos dados e conclusões apresentados, aqui está uma possível lista de trabalhos futuros relacionados à produção e processamento da biomassa da

microalga *Tetradesmus obliquus* para a obtenção de um combustível à base de hidrocarbonetos:

I. Explorar diferentes métodos de extração e investigar outros solventes ou misturas de solventes que possam melhorar ainda mais o rendimento de extração e purificação dos compostos desejados;
II. Realizar análises mais abrangentes dos compostos produzidos em diferentes condições de extração-destilação, utilizando técnicas adicionais além da CG-EM, a fim de obter uma compreensão mais completa da composição química dos hidrocarbonetos.
III. Realizar uma análise econômica do processo de produção e processamento em escala piloto, levando em consideração os custos de matéria-prima, equipamentos, energia e outros fatores relevantes, para avaliar a viabilidade comercial da produção de hidrocarbonetos a partir da microalga *Tetradesmus obliquus*.
IV. Investigar métodos de hidrodessulfurização (HDS) ou outros processos de remoção de enxofre para reduzir os níveis desse composto nas amostras de óleo destilado, garantindo que os combustíveis produzidos atendam aos padrões de emissões e regulamentações ambientais.
V. Realizar testes de desempenho do combustível produzido, como avaliação da octanagem, estabilidade térmica, resistência à oxidação e compatibilidade com motores, para verificar sua adequação como substituto do diesel de petróleo.
VI. Avaliar o impacto ambiental e a pegada de carbono do processo de produção de hidrocarbonetos a partir da microalga *Tetradesmus obliquus*, comparando-o com as alternativas convencionais de combustíveis fósseis.

REFERÊNCIAS

AATOLA, Hannu et al. Hydrotreated vegetable oil (HVO) as a renewable diesel fuel: trade-off between NO_x, particulate emission, and fuel consumption of a heavy-duty engine. **SAE International Journal of Engines**, v. 1, n. 1, p. 1251-1262, 2009.

ABDEL-AAL, Eman I.; HAROON, Amany M.; MOFEED, Jelan. Successive solvent extraction and GC–MS analysis for the evaluation of the phytochemical constituents of the filamentous green alga Spirogyra longata. **The Egyptian journal of aquatic research**, v. 41, n. 3, p. 233-246, 2015.

ABOMOHRA, Abd El-Fatah; JIN, Wenbiao; EL-SHEEKH, Mostafa. Enhancement of lipid extraction for improved biodiesel recovery from the biodiesel promising microalga Scenedesmus obliquus. **Energy Conversion and Management**, v. 108, p. 23-29, 2016.

ABRANTES, Juliana L. et al. The effects of the diterpenes isolated from the Brazilian brown algae Dictyota pfaffii and Dictyota menstrualis against the herpes simplex type-1 replicative cycle. **Planta Medica**, p. 339-344, 2009.

ABREU, Ana P. et al. Mixotrophic cultivation of Chlorella vulgaris using industrial dairy waste as organic carbon source. **Bioresource technology**, v. 118, p. 61-66, 2012.

ALABI, Abayomi O.; TAMPIER, Marti; BIBEAU, Eric. Microalgae technologies and processes for biofuels/bioenergy production in British Columbia: current technology, suitability and barriers to implementation: executive summary. 2009.

AMIN, Sarmidi. Review on biofuel oil and gas production processes from microalgae. **Energy conversion and management**, v. 50, n. 7, p. 1834-1840, 2009.

ANP. Anuário estatístico brasileiro do petróleo, gás natural e biocombustíveis 2020. Rio de Janeiro: ANP, 2020.

ARAÚJO, Pedro HM et al. Renewable source hydrocarbons obtaining from microalgae by catalytic deoxygenation. **Biomass Conversion and Biorefinery**, p. 1-8, 2021.

ASTM-D_7039-15A. **Standard Test Method for Sulfur in Gasoline, Diesel Fuel, Jet Fuel, Kerosine, Biodiesel, Biodiesel Blends, and Gasoline-Ethanol Blends by Monochromatic Wavelength Dispersive X-Ray Fluorescence Spectrometry**. 2015.

ASTM STANDARD D5468-02. **Standard test method for gross calorific and ash value of waste materials**. 2007.

ASTM STANDARD D4052-11. **Standard Test Method for Density, Relative Density, and API Gravity of Liquids by Digital Density Meter**. 2011.

ATKINS, Peter; JONES, Loretta. **Chemical principles**. Macmillan, 2009.

AZMIR, Jannatul et al. Techniques for extraction of bioactive compounds from plant materials: A review. **Journal of food engineering**, v. 117, n. 4, p. 426-436, 2013.

BALEN, R. E. et al. Effect of defatted microalgae (Scenedesmus obliquus) biomass inclusion on growth performance of Rhamdia quelen (Quoy & Gaimard, 1824). **Journal of Applied Ichthyology**, v. 31, n. s4, p. 98-101, 2015.

BANERJEE, Anirban et al. Botryococcus braunii: a renewable source of hydrocarbons and other chemicals. **Critical reviews in biotechnology**, v. 22, n. 3, p. 245-279, 2002.

BELLOU, Stamatia et al. Microalgal lipids biochemistry and biotechnological perspectives. **Biotechnology advances**, v. 32, n. 8, p. 1476-1493, 2014.

BHADRA, Biswa Nath; JHUNG, Sung Hwa. Adsorptive removal of nitrogenous compounds from microalgae-derived bio-oil using metal-organic frameworks with an amino group. **Chemical Engineering Journal**, v. 388, p. 124195, 2020.

BI, Zheting; HE, Bingjun Brian. Characterization of microalgae for the purpose of biofuel production. **Transactions of the ASABE**, v. 56, n. 4, p. 1529-1539, 2013.

BONNY, Luc. Multicomponent batch distillations campaign: Control variables and optimal recycling policy. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 45, n. 26, p. 8998-9009, 2006.

BRASIL. Portaria n. 9, de 21 de janeiro de 2000. Regulamento Técnico de Reservas de Petróleo e Gás Natural, ANP nº 001/2000. Diário Oficial da União, Brasília, DF, 18 jan. 2000.

BRENNAN, Liam; OWENDE, Philip. Biofuels from microalgae—a review of technologies for production, processing, and extractions of biofuels and co-products. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 14, n. 2, p. 557-577, 2010.

BROWN, Malcolm R. et al. Effects of harvest stage and light on the biochemical composition of the diatom Thalassiosira pseudonana 1. **Journal of phycology**, v. 32, n. 1, p. 64-73, 1996.

BUGARSKI, Aleksandar D.; HUMMER, Jon A.; VANDERSLICE, Shawn. Effects of hydrotreated vegetable oil on emissions of aerosols and gases from light-duty and medium-duty older technology engines. **Journal of occupational and environmental hygiene**, v. 13, n. 4, p. 293-302, 2016.

CHAUDRY, Sofia; BAHRI, Parisa A.; MOHEIMANI, Navid R. Pathways of processing of wet microalgae for liquid fuel production: a critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 52, p. 1240-1250, 2015.

CHENG, Jun et al. Hydrodeoxygenation and hydrocracking of microalgae biodiesel to produce jet biofuel over H3PW12O40-Ni/hierarchical mesoporous zeolite Y catalyst. **Fuel**, v. 245, p. 384-391, 2019.

CHISTI, Yusuf. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology advances**, v. 25, n. 3, p. 294-306, 2007.

CONVERTI, Attilio et al. Effect of temperature and nitrogen concentration on the growth and lipid content of Nannochloropsis oculata and Chlorella vulgaris for biodiesel production. **Chemical Engineering and Processing: Process Intensification**, v. 48, n. 6, p. 1146-1151, 2009.

COONEY, Michael J.; YOUNG, Greg; PATE, Ronald. Bio-oil from photosynthetic microalgae: case study. **Bioresource technology**, v. 102, n. 1, p. 166-177, 2011.

CORRÊA, Diego de Oliveira. **Cultivo semicontínuo de uma microalga do gênero Scenedesmus em fotobiorreator tubular compacto para produção de biodiesel e caracterização do sistema de cultivo**. 2013.

COSTA, Iago G. et al. Microalgae-Derived Green Diesel. **Chemical Engineering & Technology**, v. 45, n. 5, p. 890-897, 2022.

DAI, Yong-Ming; CHEN, Kung-Tung; CHEN, Chiing-Chang. Study of the microwave lipid extraction from microalgae for biodiesel production. **Chemical Engineering Journal**, v. 250, p. 267-273, 2014

DAVIDYAN, Arthur G. et al. Batch distillation in a column with a middle vessel. **Chemical Engineering Science**, v. 49, n. 18, p. 3033-3051, 1994.

DE OLIVEIRA LOURENÇO, Sergio. **Cultivo de microalgas marinhas: princípios e aplicações**. RiMa, 2006.

DELGADO, Fernanda; GAUTO, Marcelo Antunes. Petróleo: qualidade físico-químicas, preços e mercados: o caso das correntes nacionais. 2021.

DEMIRBAS, Ayhan. Use of algae as biofuel sources. **Energy conversion and management**, v. 51, n. 12, p. 2738-2749, 2010.

DEWULF, Jo; VAN LANGENHOVE, Herman (Ed.). **Renewables-based technology: sustainability assessment**. John Wiley & Sons, 2006.

DIAS, F. G. et al. Modeling, simulation, and optimization of hydrogen production from microalgae in compact photobioreactors. **Algal Research**, v. 71, p. 103065, 2023.

DISCONZI, Fernanda P. et al. Modeling, simulation, and optimization of a microalgae biomass drying process. **International Journal of Energy Research**, v. 43, n. 8, p. 3421-3435, 2019.

DODSON, V. Joshua; LEBLOND, Jeffrey D. Now you see it, now you don't: Differences in hydrocarbon production in the diatom Phaeodactylum tricornutum due to growth temperature. **Journal of applied phycology**, v. 27, p. 1463-1472, 2015.

DOE (US DEPARTMENT OF ENERGY). National algal biofuels technology review. 2016.

DOE. U.S. **Department of Energy**. Available from: https://www.energy.gov/combating-climate-crisis. Accessed in: June 11, 2023.

DONG, Tao et al. Lipid recovery from wet oleaginous microbial biomass for biofuel production: a critical review. **Applied Energy**, v. 177, p. 879-895, 2016.

DOTE, Yutaka et al. Recovery of liquid fuel from hydrocarbon-rich microalgae by thermochemical liquefaction. **Fuel**, v. 73, n. 12, p. 1855-1857, 1994.

DÜSSEL, R.; STICHLMAIR, Johann. Separation of azeotropic mixtures by batch distillation using an entrainer. **Computers & chemical engineering**, v. 19, p. 113-118, 1995.

EIA. **Today in Energy: Crude oils have diferent quality characteristics**. Disponível em: Acessado em dezembro de 2020.

EROGLU, Ela; MELIS, Anastasios. Extracellular terpenoid hydrocarbon extraction and quantitation from the green microalgae Botryococcus braunii var. Showa. **Bioresource technology**, v. 101, n. 7, p. 2359-2366, 2010.

ESCORSIM, Alexis M. et al. Extraction of Acutodesmus obliquus lipids using a mixture of ethanol and hexane as solvent. **Biomass and Bioenergy**, v. 108, p. 470-478, 2018.

EWING, Kenneth James. Using solid phase extraction media to increase the sensitivity of infrared and Raman spectroscopy. In: **Vibrational Spectroscopy-based Sensor Systems**. SPIE, 2002. p. 32-39.

FALKOWSKI, Paul G.; RAVEN, John A. **Aquatic photosynthesis**. Princeton University Press, 2013.

FETYAN, Nashwa AH et al. Bioethanol production from defatted biomass of Nannochloropsis oculata microalgae grown under mixotrophic conditions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 29, p. 2588-2597, 2022.

GERDE, Jose A. et al. Evaluation of microalgae cell disruption by ultrasonic treatment. **Bioresource technology**, v. 125, p. 175-181, 2012.

GHASEMI, Y. et al. Microalgae biofuel potentials. **Applied Biochemistry and Microbiology**, v. 48, p. 126-144, 2012.

GIORDANO, Mario; RAVEN, John A. Nitrogen and sulfur assimilation in plants and algae. **Aquatic botany**, v. 118, p. 45-61, 2014.

GLASEBROOK, A. L.; WILLIAMS, F. E. Ordinary Fractional Distillation. **Technique of Organic Chemistry**, v. 4, p. 175-316, 1951.

GOH, Brandon Han Hoe et al. Sustainability of direct biodiesel synthesis from microalgae biomass: A critical review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 107, p. 59-74, 2019.

GÓMEZ, A.; SORIANO, J. A.; ARMAS, O. Evaluation of sooting tendency of different oxygenated and paraffinic fuels blended with diesel fuel. **Fuel**, v. 184, p. 536-543, 2016.

GONZALEZ-BALLESTER, David; GROSSMAN, Arthur R. Sulfur: from acquisition to assimilation. In: **The Chlamydomonas sourcebook**. Academic Press, 2009. p. 159-187.

GOUVEIA, Luisa et al. green approach for the valorization of microalgae Tetradesmus obliquus. **Sustainable Chemistry and Pharmacy**, v. 24, p. 100556, 2021.

GREEN, Don W.; SOUTHARD, Marylee Z. **Perry's chemical engineers' handbook**. McGraw-Hill Education, 2019.

GRUBIŠIĆ, M.; IVANČIĆ ŠANTEK, M.; ŠANTEK, B. Potential of microalgae for the production of different biotechnological products. **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly**, v. 33, n. 2, p. 161-181, 2019.

GUILLARD, R. R. L.; HARGRAVES, P. E. Stichochrysis immobilis is a diatom, not a chrysophyte. **Phycologia**, v. 32, n. 3, p. 234-236, 1993.

HALIM, Ronald et al. Microalgal cell disruption for biofuel development. **Applied energy**, v. 91, n. 1, p. 116-121, 2012.

HALIM, Ronald et al. Oil extraction from microalgae for biodiesel production. **Bioresource technology**, v. 102, n. 1, p. 178-185, 2011.

HALIM, Ronald; DANQUAH, Michael K.; WEBLEY, Paul A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. **Biotechnology advances**, v. 30, n. 3, p. 709-732, 2012.

HALLENBECK, P. C. et al. Solar biofuels production with microalgae. **Applied Energy**, v. 179, p. 136-145, 2016.

HARUN, Razif et al. Bioprocess engineering of microalgae to produce a variety of consumer products. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 14, n. 3, p. 1037-1047, 2010.

HERNÁNDEZ, D. et al. Biofuels from microalgae: lipid extraction and methane production from the residual biomass in a biorefinery approach. **Bioresource technology**, v. 170, p. 370-378, 2014.

HOANG, Anh Tuan; ÖLÇER, Aykut I.; NIŽETIĆ, Sandro. Prospective review on the application of biofuel 2, 5-dimethylfuran to diesel engine. **Journal of the Energy Institute**, v. 94, p. 360-386, 2021.

HU, Qiang et al. Microalgal triacylglycerols as feedstocks for biofuel production: perspectives and advances. **The plant journal**, v. 54, n. 4, p. 621-639, 2008.

HUANG, Zih-Rou; LIN, Yin-Ku; FANG, Jia-You. Biological and pharmacological activities of squalene and related compounds: potential uses in cosmetic dermatology. **Molecules**, v. 14, n. 1, p. 540-554, 2009.

ISLAM, Muhammad Aminul et al. Effect of temperature and moisture on high pressure lipid/oil extraction from microalgae. **Energy Conversion and Management**, v. 88, p. 307-316, 2014.

J.V.C. Vargas, W. Balmant, A. Stall, A.B. Mariano, J.C. Ordonez, R. Hovsapian, E. Dilay, **Enhanced Photobioreactor System**, United States Patent and Trademark Office, Patent US 10,400,202 B2, 2019 granted on Sept 3.

JACOB-LOPES, Eduardo et al. (Ed.). **3rd Generation Biofuels: Disruptive Technologies to Enable Commercial Production**. Woodhead Publishing, 2022.

JANECEK, Daniel; ROTHAMER, David; GHANDHI, Jaal. Fuel-substitution method for investigating the kinetics of low-volatility fuels under enginelike operating conditions. Energy & Fuels, v. 30, n. 2, p. 1400-1406, 2016.

JOHNSON, Michael B.; WEN, Zhiyou. Production of biodiesel fuel from the microalga Schizochytrium limacinum by direct transesterification of algal biomass. **Energy & Fuels**, v. 23, n. 10, p. 5179-5183, 2009.

JONES, Carla S.; MAYFIELD, Stephen P. Algae biofuels: versatility for the future of bioenergy. **Current opinion in biotechnology**, v. 23, n. 3, p. 346-351, 2012.

JUNYING, Z. H. U.; JUNFENG, R. O. N. G.; BAONING, Z. O. N. G. Factors in mass cultivation of microalgae for biodiesel. **Chinese Journal of Catalysis**, v. 34, n. 1, p. 80-100, 2013.

KALAM, M. A.; HUSNAWAN, M.; MASJUKI, H. H. Exhaust emission and combustion evaluation of coconut oil-powered indirect injection diesel engine. **Renewable Energy**, v. 28, n. 15, p. 2405-2415, 2003.

KARAVALAKIS, George et al. Emissions and fuel economy evaluation from two current technology heavy-duty trucks operated on HVO and FAME blends. **SAE International Journal of Fuels and Lubricants**, v. 9, n. 1, p. 177-190, 2016.

KERTESZ, Michael A. Riding the sulfur cycle–metabolism of sulfonates and sulfate esters in Gram-negative bacteria. **FEMS microbiology reviews**, v. 24, n. 2, p. 135-175, 2000.

KIM, Seung-Soo et al. Pyrolysis characteristics and kinetics of the alga Saccharina japonica. **Bioresource technology**, v. 123, p. 445-451, 2012.

KIM, Young-Hoo et al. Ionic liquid-mediated extraction of lipids from algal biomass. **Bioresource technology**, v. 109, p. 312-315, 2012.

KIM, Young-Saeng et al. Characterization of fatty acid components from Tetradesmus obliquus KNUA019 (Chlorophyta, Scenedesmaceae) for a resource of biofuel production. **Brazilian Journal of Botany**, v. 42, p. 431-439, 2019.

KLOK, A. J. et al. Edible oils from microalgae: insights in TAG accumulation. **Trends in biotechnology**, v. 32, n. 10, p. 521-528, 2014.

KOLLER, Martin; MUHR, Alexander; BRAUNEGG, Gerhart. Microalgae as versatile cellular factories for valued products. **Algal research**, v. 6, p. 52-63, 2014.

KRELL, Erich. **Handbook of laboratory distillation**. Elsevier, 1982.

KRZEMIŃSKA, Izabela et al. Influence of photoperiods on the growth rate and biomass productivity of green microalgae. **Bioprocess and biosystems engineering**, v. 37, p. 735-741, 2014.

KUMAR, B. Rajesh; SARAVANAN, S. Use of higher alcohol biofuels in diesel engines: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 60, p. 84-115, 2016.

KUMAR, SP Jeevan et al. Sustainable green solvents and techniques for lipid extraction from microalgae: A review. **Algal Research**, v. 21, p. 138-147, 2017.

LEE, Ilgyu et al. Hydrothermal nitric acid treatment for effectual lipid extraction from wet microalgae biomass. **Bioresource technology**, v. 172, p. 138-142, 2014.

LEE, Sang Yup. **Consequences of microbial interactions with hydrocarbons, oils, and lipids: production of fuels and chemicals**. Springer, 2017.

LEE, Soo Youn et al. Cell disruption and lipid extraction for microalgal biorefineries: A review. **Bioresource technology**, v. 244, p. 1317-1328, 2017.

LEE, Yuan-Kun. Microalgal mass culture systems and methods: their limitation and potential. **Journal of applied phycology**, v. 13, p. 307-315, 2001.

LENNEN, Rebecca M. et al. A process for microbial hydrocarbon synthesis: overproduction of fatty acids in Escherichia coli and catalytic conversion to alkanes. **Biotechnology and bioengineering**, v. 106, n. 2, p. 193-202, 2010.

LIU, Bensheng; BENNING, Christoph. Lipid metabolism in microalgae distinguishes itself. **Current opinion in biotechnology**, v. 24, n. 2, p. 300-309, 2013.

LIU, Jing et al. Hydroprocessing of jatropha oil for production of green diesel over non-sulfided Ni-PTA/Al2O3 catalyst. **Scientific Reports**, v. 5, n. 1, p. 11327, 2015.

LIU, Jing et al. NiO-PTA supported on ZIF-8 as a highly effective catalyst for hydrocracking of Jatropha oil. **Scientific reports**, v. 6, n. 1, p. 23667, 2016.

LÓPEZ-ROSALES, A. R. et al. Fatty Acids, Hydrocarbons and Terpenes of Nannochloropsis and Nannochloris Isolates with Potential for Biofuel Production. Energies 12, 130. 2019.

LOW, K. H.; SØRENSEN, E. Simultaneous optimal configuration, design and operation of batch distillation. **AIChE journal**, v. 51, n. 6, p. 1700-1713, 2005.

LUYBEN, William L. Multicomponent batch distillation. 1. Ternary systems with slop recycle. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 27, n. 4, p. 642-647, 1988.

MAKAREVICIENE, Violeta et al. Cultivation of microalgae Chlorella sp. and Scenedesmus sp. as a potentional biofuel feedstock. **Environmental Research, Engineering and Management**, v. 57, n. 3, p. 21-27, 2011.

MARKOU, Giorgos; NERANTZIS, Elias. Microalgae for high-value compounds and biofuels production: a review with focus on cultivation under stress conditions. **Biotechnology advances**, v. 31, n. 8, p. 1532-1542, 2013.

MARQUES, Antonio Ernesto Meister Luz et al. Diets containing residual microalgae biomass protect fishes against oxidative stress and DNA damage. **Journal of Applied Phycology**, v. 31, p. 2933-2940, 2019.

MARTINEZ-GUERRA, Edith et al. Microwave and ultrasound enhanced extractive-transesterification of algal lipids. **Applied Energy**, v. 129, p. 354-363, 2014.

MASSON-DELMOTTE, Valérie et al. **Global Warming of 1.5 C: IPCC special report on impacts of global warming of 1.5 C above pre-industrial levels in context of strengthening response to climate change, sustainable development, and efforts to eradicate poverty**. Cambridge University Press, 2022.

MATA, Teresa M.; MARTINS, Antonio 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, 2010.

MATSUNAGA, Tadashi et al. Characterization of marine microalga, Scenedesmus sp. strain JPCC GA0024 toward biofuel production. **Biotechnology letters**, v. 31, p. 1367-1372, 2009.

MC GEE, Dónal et al. Bioprospecting and LED-based spectral enhancement of antimicrobial activity of microalgae isolated from the west of Ireland. **Algal Research**, v. 45, p. 101704, 2020.

MERSMANN, Alfons et al. Distillation, Rectification, and Absorption. **Thermal Separation Technology: Principles, Methods, Process Design**, p. 231-347, 2011.

MEWALAL, Ritesh et al. Plant-derived terpenes: A feedstock for specialty biofuels. **Trends in biotechnology**, v. 35, n. 3, p. 227-240, 2017.

MILANO, Jassinnee et al. Microalgae biofuels as an alternative to fossil fuel for power generation. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 58, p. 180-197, 2016.

MIYAWAKI, B. et al. Microalgae derived biomass and bioenergy production enhancement through biogas purification and wastewater treatment. **Renewable Energy**, v. 163, p. 1153-1165, 2021.

MIYAWAKI, Bruno. Purificação de biogás através de cultivo de microalgas em resíduos agroindustriais. 2014.

MOAZAMI, Nasrin et al. Large-scale biodiesel production using microalgae biomass of Nannochloropsis. **Biomass and bioenergy**, v. 39, p. 449-453, 2012.

MORAN, Lara et al. Characterisation of the volatile profile of microalgae and cyanobacteria using solid phase microextraction followed by gas chromatography coupled to mass spectrometry. **Scientific reports**, v. 12, n. 1, p. 3661, 2022.

MUBARAK, M.; SHAIJA, A.; SUCHITHRA, T. V. A review on the extraction of lipid from microalgae for biodiesel production. **Algal Research**, v. 7, p. 117-123, 2015.

MUJTABA, Iqbal M. **Batch distillation: Design and operation**. World Scientific Publishing Company, 2004.

MURATA, Kazuhisa et al. Hydrocracking of algae oil into aviation fuel-range hydrocarbons using a Pt–Re catalyst. **Energy & fuels**, v. 28, n. 11, p. 6999-7006, 2014.

NETO, Ana Maria Pereira et al. Improvement in microalgae lipid extraction using a sonication-assisted method. **Renewable Energy**, v. 55, p. 525-531, 2013.

NEVENZEL, J. C. Biogenic hydrocarbons of marine organisms. **Marine biogenic lipids, fats, and oils**, v. 1, p. 3-71, 1989.

NIEMI, Seppo et al. Effects of wood-based renewable diesel fuel blends on the performance and emissions of a non-road diesel engine. **Fuel**, v. 186, p. 1-10, 2016.

O'NEIL, Gregory W. et al. Production of jet fuel range hydrocarbons as a coproduct of algal biodiesel by butenolysis of long chain alkenones. **Energy & Fuels**, v. 29, n. 2, p. 922-930, 2015.

OLIVEIRA, Anne Caroline Defranceschi. **Produção de biocombustíveis a partir do óleo extraído da biomassa de *Tetradesmus obliquus***.2022. (Tese de Doutorado em Engenharia e Ciências dos Materiais) Setor de Tecnologia, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.

OLKIEWICZ, Magdalena et al. Efficient extraction of lipids from primary sewage sludge using ionic liquids for biodiesel production. **Separation and Purification Technology**, v. 153, p. 118-125, 2015.

OLOFSSON, Martin et al. Seasonal variation of lipids and fatty acids of the microalgae Nannochloropsis oculata grown in outdoor large-scale photobioreactors. **Energies**, v. 5, n. 5, p. 1577-1592, 2012.

PARNIAKOV, Oleksii et al. Pulsed electric field assisted extraction of nutritionally valuable compounds from microalgae Nannochloropsis spp. using the binary mixture of organic solvents and water. **Innovative Food Science & Emerging Technologies**, v. 27, p. 79-85, 2015.

PATTERSON, Glenn W. The effect of culture conditions on the hydrocarbon content of Chlorella vulgaris 1 2. **Journal of Phycology**, v. 3, n. 1, p. 22-23, 1967.

PERALTA-RUIZ, Y.; GONZÁLEZ-DELGADO, A.-D.; KAFAROV, V. Evaluation of alternatives for microalgae oil extraction based on exergy analysis. **Applied Energy**, v. 101, p. 226-236, 2013.

PERALTA-YAHYA, Pamela P. et al. Microbial engineering for the production of advanced biofuels. **Nature**, v. 488, n. 7411, p. 320-328, 2012.

PIORRECK, Margret; POHL, Peter. Formation of biomass, total protein, chlorophylls, lipids and fatty acids in green and blue-green algae during one growth phase. **Phytochemistry**, v. 23, n. 2, p. 217-223, 1984.

PIRES, José CM. COP21: the algae opportunity? **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 79, p. 867-877, 2017.

PÖRTNER, Hans-Otto et al. IPCC, 2022: **Summary for policymakers**. 2022.

POURMORTAZAVI, Seied Mahdi. SeiedehSomayyeh Hajimirsadeghi. **Supercritical fluid extract ion in plant essential and volatile oilanalysis**, v. 1163, n. 1/2, p. 2-24, 2007.

PRAUSNITZ, John M.; LICHTENTHALER, Rudiger N.; DE AZEVEDO, Edmundo Gomes. **Molecular thermodynamics of fluid-phase equilibria**. Pearson Education, 1998.

QIN, J. G. Hydrocarbons from algae. 2010.

QUINTANILHA, Carolina Leão et al. Processing of spent ultra-deep hydrodesulfurization catalysts. **Quimica Nova (Online)**, v. 45, n. 1, p. 31-39, 2022.

QUINTERO-MARMOL, Enrique; LUYBEN, Wiliam L. Multicomponent batch distillation. 2. Comparison of alternative slop handling and operating strategies. **Industrial & engineering chemistry research**, v. 29, n. 9, p. 1915-1921, 1990.

RAEESOSSADATI, M. J. et al. CO_2 bioremediation by microalgae in photobioreactors: Impacts of biomass and CO_2 concentrations, light, and temperature. **Algal Research**, v. 6, p. 78-85, 2014.

RAHPEYMA, Sayyed Shahryar; RAHEB, Jamshid. Microalgae biodiesel as a valuable alternative to fossil fuels. **BioEnergy Research**, v. 12, p. 958-965, 2019.

RAMASWAMY, SHRI; HUANG, HUA-JIANG; RAMARAO, BANDARU V. Separation and Purification Technologies in Biorefineries (2013).

RANJAN, Amrita; PATIL, Chetna; MOHOLKAR, Vijayanand S. Mechanistic assessment of microalgal lipid extraction. **Industrial & Engineering Chemistry Research**, v. 49, n. 6, p. 2979-2985, 2010.

RAZZAK, Shaikh A. et al. Integrated CO_2 capture, wastewater treatment and biofuel production by microalgae culturing—a review. **Renewable and sustainable energy reviews**, v. 27, p. 622-653, 2013.

ŘEZANKA, T.; ZAHRADNIK, J.; PODOJIL, M. Hydrocarbons in green and blue-green algae. **Folia microbiologica**, v. 27, p. 450-454, 1982.

RIBEIRO, R. L. L. et al. The experimental validation of a large-scale compact tubular microalgae photobioreactor model. **International Journal of Energy Research**, v. 41, n. 14, p. 2221-2235, 2017.

RICHMOND, Amos et al. (Ed.). **Handbook of microalgal culture: biotechnology and applied phycology**. Oxford: Blackwell science, 2004.

ROPER, D. Keith; HENLEY, E. J.; SEADER, J. D. Separation Process Principles. 2005.

RYCKEBOSCH, Eline et al. Influence of extraction solvent system on extractability of lipid components from different microalgae species. **Algal Research**, v. 3, p. 36-43, 2014.

SAHENA, F. et al. Application of supercritical CO_2 in lipid extraction–A review. **Journal of Food Engineering**, v. 95, n. 2, p. 240-253, 2009.

SAJJADI, Baharak et al. Microalgae lipid and biomass for biofuel production: A comprehensive review on lipid enhancement strategies and their effects on fatty acid composition. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, v. 97, p. 200-232, 2018.

SANTILLAN-JIMENEZ, Eduardo et al. Extraction, characterization, purification, and catalytic upgrading of algae lipids to fuel-like hydrocarbons. **Fuel**, v. 180, p. 668-678, 2016.

SATYANARAYANA, K. G.; MARIANO, A. B.; VARGAS, J. V. C. A review on microalgae, a versatile source for sustainable energy and materials. **International Journal of energy research**, v. 35, n. 4, p. 291-311, 2011.

SCHERER, Marisa Daniele. **Avaliação do Ciclo de Vida (ACV) da produção de biodiesel de microalgas cultivadas em fotobiorreatores compactos industriais**. 2015.

SCHIRMER, Andreas et al. Microbial biosynthesis of alkanes. **Science**, v. 329, n. 5991, p. 559-562, 2010.

SELESU, Nelson Fernando Herculano. Desenvolvimento do processo de produção de microalgas em fotobiorreator industrial usando efluente suíno biodigerido.

SEVERO, Ihana Aguiar et al. Microalgae biofuels: Engineering-scale process integration approaches. In: **3rd Generation Biofuels**. Woodhead Publishing, 2022. p. 249-267.

SIERRA, Laura Soto; DIXON, Chelsea K.; WILKEN, Lisa R. Enzymatic cell disruption of the microalgae Chlamydomonas reinhardtii for lipid and protein extraction. **Algal Research**, v. 25, p. 149-159, 2017.

SILVE, A. et al. Extraction of lipids from wet microalga Auxenochlorella protothecoides using pulsed electric field treatment and ethanol-hexane blends. **Algal Research**, v. 29, p. 212-222, 2018.

SIMIONATO, Diana et al. The response of Nannochloropsis gaditana to nitrogen starvation includes de novo biosynthesis of triacylglycerols, a decrease of chloroplast galactolipids, and reorganization of the photosynthetic apparatus. **Eukaryotic cell**, v. 12, n. 5, p. 665-676, 2013.

SINGH, Pankaj Kumar et al. Utilization of wastewater as nutrient media and biomass valorization in marine Chrysophytes-Chaetoceros and Isochrysis. **Energy Conversion and Management: X**, v. 10, p. 100062, 2021.

SLADE, Raphael; BAUEN, Ausilio. Micro-algae cultivation for biofuels: cost, energy balance, environmental impacts, and prospects. **Biomass and bioenergy**, v. 53, p. 29-38, 2013.

SOARES, Aline Terra et al. Comparative analysis of the fatty acid composition of microalgae obtained by different oil extraction methods and direct biomass transesterification. **BioEnergy Research**, v. 7, p. 1035-1044, 2014.

SOLEN, Kenneth A.; HARB, John Naim. **Introduction to chemical engineering: tools for today and tomorrow**. John Wiley & Sons, Incorporated, 2011.

SORIGUÉ, Damien et al. Microalgae synthesize hydrocarbons from long-chain fatty acids via a light-dependent pathway. **Plant physiology**, v. 171, n. 4, p. 2393-2405, 2016.

SPEIGHT, James G. **Handbook of petrochemical Processes**. CRC Press, 2019.

SPOLAORE, Pauline et al. Commercial applications of microalgae. **Journal of bioscience and bioengineering**, v. 101, n. 2, p. 87-96, 2006.

STEFANOV, K. et al. Fatty acid composition of some algae from the Black Sea. **Phytochemistry**, v. 27, n. 11, p. 3495-3497, 1988.

STEFELS, J. Physiological aspects of the production and conversion of DMSP in marine algae and higher plants. **Journal of Sea Research**, v. 43, n. 3-4, p. 183-197, 2000.

STERITI, Alberto et al. A novel cell disruption technique to enhance lipid extraction from microalgae. **Bioresource technology**, v. 164, p. 70-77, 2014.

STICHLMAIR, Johann G.; KLEIN, Harald; REHFELDT, Sebastian. **Distillation: principles and practice**. John Wiley & Sons, 2021.

SUBHASH, G. Venkata et al. Carbon streaming in microalgae: extraction and analysis methods for high value compounds. **Bioresource technology**, v. 244, p. 1304-1316, 2017.

SUKENIK, Assaf; YAMAGUCHI, Yuji; LIVNE, Alexander. Alterations in lipid molecular species of the marine eustigma tophyte Nannochlorosis Sp. 1. **Journal of phycology**, v. 29, n. 5, p. 620-626, 1993.

SURRIYA, O. et al. Biofuels: a blessing in disguise. **Phytoremediation for green energy**, p. 11-54, 2015.

TABABA, Hazel Guevarra; HIRABAYASHI, Seishiro; INUBUSHI, Kazuyuki. Media optimization of Parietochloris incisa for arachidonic acid accumulation in an outdoor vertical tubular photobioreactor. **Journal of applied phycology**, v. 24, p. 887-895, 2012.

TAHER, Dhyogo Miléo. Biodiesel de microalgas cultivadas em dejeto suíno biodigerido. 2013.

TANG, Chuan-Ho et al. Membrane lipid profiles of coral responded to zinc oxide nanoparticle-induced perturbations on the cellular membrane. **Aquatic Toxicology**, v. 187, p. 72-81, 2017.

TIAN, Tian; LEE, Taek Soon. Advanced Biodiesel and Biojet Fuels from Lignocellulosic Biomas. **Sang Yup Lee Editor**, p. 109, 2017.

TORRES, Carmen M. et al. Microalgae-based biodiesel: a multicriteria analysis of the production process using realistic scenarios. **Bioresource technology**, v. 147, p. 7-16, 2013.

TRACY, Noah I.; CRUNKLETON, Daniel W.; PRICE, Geoffrey L. Gasoline production from phytol. **Fuel**, v. 89, n. 11, p. 3493-3497, 2010.

TRES, M. V. et al. Solvent recovery from soybean oil/n-butane mixtures using a hollow fiber ultrafiltration membrane. **Brazilian Journal of Chemical Engineering**, v. 31, p. 243-249, 2014.

TZIMA, Soultana et al. Recent Advances in Supercritical CO_2 Extraction of Pigments, Lipids and Bioactive Compounds from Microalgae. **Molecules**, v. 28, n. 3, p. 1410, 2023.

UQUICHE, Edgar; ANTILAF, Ivette; MILLAO, Sonia. Enhancement of pigment extraction from B. braunii pretreated using CO_2 rapid depressurization. **brazilian journal of microbiology**, v. 47, p. 497-505, 2016.

VARGAS, J. V. C. et al. Mass transfer modeling and maximization of hydrogen rhythmic production from genetically modified microalgae biomass. **International Journal of Heat and Mass Transfer**, v. 101, p. 1-9, 2016.

VIDYASHANKAR, Srivatsan et al. Characterization of fatty acids and hydrocarbons of chlorophycean microalgae towards their use as biofuel source. **Biomass and Bioenergy**, v. 77, p. 75-91, 2015.

VIROT, Matthieu et al. Microwave-integrated extraction of total fats and oils. **Journal of Chromatography A**, v. 1196, p. 57-64, 2008.

VOGEL, Arthur Israel; JEFFERY, George Harold. Vogel's textbook of quantitative chemical analysis. **(No Title)**, 1989.

WANG, Guang; WANG, Tong. Characterization of lipid components in two microalgae for biofuel application. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 89, n. 1, p. 135-143, 2012.

WARD, A. J.; LEWIS, D. M.; GREEN, F. B. Anaerobic digestion of algae biomass: a review. **Algal Research**, v. 5, p. 204-214, 2014.

WARTER, M.; DEMICOLI, D.; STICHLMAIR, J. Batch distillation of zeotropic mixtures in a column with a middle vessel. In: **Computer Aided Chemical Engineering**. Elsevier, 2002. p. 385-390.

WARTER, M.; STICHLMAIR, J. Batch distillation of azeotropic mixtures in a column with a middle vessel. In: **Computer Aided Chemical Engineering**. Elsevier, 2000. p. 691-696.

WATTS, Nick et al. The Lancet Countdown: tracking progress on health and climate change. **The Lancet**, v. 389, n. 10074, p. 1151-1164, 2017.

XU, Lixian et al. Assessment of a dry and a wet route for the production of biofuels from microalgae: energy balance analysis. **Bioresource technology**, v. 102, n. 8, p. 5113-5122, 2011.

YAO, Linxing et al. Microalgae lipid characterization. **Journal of agricultural and food chemistry**, v. 63, n. 6, p. 1773-1787, 2015.

ZHANG, Wenguang et al. Removal of pollutants from biogas slurry and CO_2 capture in biogas by microalgae-based technology: a systematic review. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 27, p. 28749-28767, 2020.

ZHANG, Xiaolei et al. Ultrasonication assisted lipid extraction from oleaginous microorganisms. **Bioresource technology**, v. 158, p. 253-261, 2014.

ZHANG, Zhaoduo et al. Insights into the survival of Chlamydomonas reinhardtii during sulfur starvation based on microarray analysis of gene expression. **Eukaryotic cell**, v. 3, n. 5, p. 1331-1348, 2004.

ZUBEL, Marius et al. Advanced fuel formulation approach using blends of paraffinic and oxygenated biofuels: analysis of emission reduction potential in a high efficiency diesel combustion system. **SAE International Journal of Fuels and Lubricants**, v. 9, n. 3, p. 481-492, 2016.

ZUORRO, Antonio et al. Enhanced lipid recovery from Nannochloropsis microalgae by treatment with optimized cell wall degrading enzyme mixtures. **Bioresource technology**, v. 212, p. 35-41, 2016.

ZUORRO, Antonio; MAFFEI, Gianluca; LAVECCHIA, Roberto. Optimization of enzyme-assisted lipid extraction from Nannochloropsis microalgae. **Journal of the Taiwan Institute of Chemical Engineers**, v. 67, p. 106-114, 2016.

APÊNDICE 1 – TABELAS COM DADOS EXPERIMENTAIS DA DESTILAÇÃO FRACIONADA [MASSA]

VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A PRIMEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30]

Tempo (s)	Experimento 1 [g]	Experimento 2 [g]	Experimento 3 [g]	Média	Desvio padrão
0	0,0	0,0	0,0	0,0	± 0,0
840	3,5	3,0	3,1	3,2	± 0,3
1080	0,5	1,9	2,0	1,5	± 0,8
1320	3,3	3,1	3,2	3,2	± 0,1
1560	3,6	3,6	3,6	3,6	± 0,0
1800	3,6	3,3	3,4	3,4	± 0,1
2040	9,0	4,2	4,3	5,9	± 2,8
2280	11,3	7,9	8,2	9,1	± 1,9
2520	6,5	5,8	5,9	6,1	± 0,4
2760	3,7	2,7	3,0	3,1	± 0,5
3000	2,5	2,6	2,6	2,6	± 0,1
3240	1,5	1,4	1,7	1,5	± 0,1
3480	1,1	1,1	1,3	1,2	± 0,1
3720	0,7	0,8	1,2	0,9	± 0,2
3960	0,6	0,6	0,8	0,7	± 0,1
4200	0,4	0,4	0,5	0,5	± 0,1
4440	**51,8**	**42,3**	**44,6**	**46,2**	**± 5,0**

VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A SEGUNDA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [50-50]

Tempo (s)	Experimento 1 [g]	Experimento 2 [g]	Experimento 3 [g]	Média	Desvio padrão
0	0,0	0,0	0,0	0,0	± 0,0
660	3,1	3,5	3,8	3,5	± 0,3
900	2,1	3,1	3,4	2,8	± 0,7
1140	2,0	2,5	2,3	2,3	± 0,3
1380	3,0	3,5	3,6	3,3	± 0,3
1620	2,4	2,8	2,7	2,6	± 0,2
1860	3,6	2,7	3,4	3,2	± 0,5
2100	7,1	4,8	6,9	6,3	± 1,3
2340	5,0	6,8	6,1	6,0	± 0,9
2580	5,2	3,7	4,2	4,4	± 0,7
2820	2,6	2,3	2,5	2,5	± 0,1
3060	1,5	1,1	1,3	1,3	± 0,2
3300	0,7	0,3	0,6	0,5	± 0,2
3540	0,2	0,4	0,5	0,4	± 0,1
3780	0,1	0,5	0,4	0,3	± 0,2
4020	0,1	0,4	0,3	0,3	± 0,2
4260	**38,5**	**38,2**	**41,9**	**39,6**	**± 2,1**

VARIAÇÃO DA QUANTIDADE EM MASSA DESTILADA DO ÓLEO DE MICROALGAS PARA A TERCEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [100]

Tempo (s)	**Experimento 1 [g]**	**Experimento 2 [g]**	**Experimento 3 [g]**	**Média**	**Desvio padrão**
0	0,0	0,0	0,0	0,0	± 0,0
480	3,8	2,2	3,3	3,1	± 0,8
720	0,8	0,9	0,8	0,8	± 0,1
960	0,8	1,5	1,0	1,1	± 0,3
1200	0,8	1,3	0,9	1,0	± 0,2
1440	0,7	0,5	0,8	0,7	± 0,1
1680	0,5	0,6	0,7	0,6	± 0,1
1920	0,6	0,6	0,6	0,6	± 0,0
2160	0,4	0,9	0,6	0,6	± 0,2
2400	**8,4**	**8,5**	**8,6**	**8,5**	**± 0,1**

APÊNDICE 2 – TABELAS COM DADOS EXPERIMENTAIS DA DESTILAÇÃO FRACIONADA [TEMPERATURA]

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A PRIMEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [70-30]

Tempo (s)	Experimento 1 [°C]	Experimento 2 [C°]	Experimento 3 [°C]	Média	Desvio padrão
0	25,0	25,0	25,0	25,0	± 0,0
840	80,2	78,8	78,6	79,2	± 0,9
1080	84,8	95,9	87,2	89,3	± 5,8
1320	85,8	98,0	89,7	91,1	± 6,3
1560	81,6	83,1	82,4	82,3	± 0,8
1800	99,9	103,8	97,8	100,5	± 3,1
2040	162,4	138,9	134,8	145,4	± 14,9
2280	183,1	173,1	169,4	175,2	± 7,1
2520	166,0	173,5	167,7	169,1	± 3,9
2760	196,6	188,8	185,1	190,1	± 5,9
3000	202,9	204,0	204,8	203,9	± 1,0
3240	239,3	238,9	227,7	235,3	± 6,6
3480	247,5	237,8	243,0	242,7	± 4,9
3720	238,7	238,6	241,4	239,5	± 1,6
3960	260,3	253,5	251,7	255,1	± 4,5
4200	234,1	238,2	241,1	237,8	± 3,5

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A SEGUNDA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [50-50]

Tempo (s)	Experimento 1 [°C]	Experimento 2 [C°]	Experimento 3 [°C]	Média	Desvio padrão
0	25,0	25,0	25,0	25,0	± 0,0
660	54,2	62,1	56,7	57,7	± 4,0
900	69,7	68,8	67,5	68,7	± 1,1
1140	80,7	84,3	77,0	80,7	± 3,7
1380	84,9	94,1	87,8	88,9	± 4,7
1620	98,8	105,5	98,8	101,0	± 3,9
1860	184,5	142,6	134,4	153,8	± 26,9
2100	206,2	192,8	185,3	194,8	± 10,6
2340	200,4	193,5	199,4	197,8	± 3,7
2580	204,4	189,2	192,3	195,3	± 8,0
2820	215,1	207,0	210,4	210,8	± 4,1
3060	225,6	228,8	221,7	225,4	± 3,6
3300	226,1	224,8	227,9	226,3	± 1,6
3540	170,9	163,2	187,5	173,9	± 12,4
3780	173,3	157,2	164,5	165,0	± 8,1
4020	161,3	158,5	156,5	158,8	± 2,4

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA A TERCEIRA CONDIÇÃO EXPERIMENTAL [100]

Tempo (s)	**Experimento 1 [°C]**	**Experimento 2 [C°]**	**Experimento 3 [°C]**	**Média**	**Desvio padrão**
0	25,0	25,0	25,0	25,0	± 0,0
480	58,0	70,4	62,8	63,7	± 6,3
720	59,5	90,0	69,9	73,1	± 15,5
960	60,4	101,4	77,6	79,8	± 20,6
1200	108,6	117,9	98,8	108,4	± 9,6
1440	116,9	139,9	119,2	125,3	± 12,7
1680	148,3	134,4	133,8	138,8	± 8,2
1920	133,4	128,2	126,6	129,4	± 3,6
2160	136,9	130,5	131,5	133,0	± 3,4

APÊNDICE 3 – TABELAS COM DADOS EXPERIMENTAIS DA DESTILAÇÃO FRACIONADA PARA A CONDIÇÃO 4 [70-30]

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA O EXPERIMENTO 1

Tempo (s)	Potência [7-9] T [°C] Refervedor	Potência [7-9] T [°C] Topo Coluna
300	108,0	51,0
600	110,0	52,2
900	111,0	56,1
1200	111,0	60,4
1500	112,0	56,0
1800	115,0	59,2
2100	123,0	65,6
2400	127,0	67,6
2700	123,0	69,7
3000	121,0	68,0
3300	122,0	65,5
3600	123,0	71,9
3900	122,0	72,0
4200	110,0	74,9
4500	106,0	65,2
4800	102,0	70,1
5100	102,0	78,2
Tempo (s)	**Potência [10-11] T [°C] Refervedor**	**Potência [10-11] T [°C] Topo Coluna**
5400	105,0	75,8
5700	132,0	72,5
6000	169,0	73,4
6300	195,0	70,2
6600	207,0	67,9
6900	202,0	62,6
7200	199,0	67,8
7500	207,0	89,1
7800	221,0	188,9
8100	234,0	204,2
8400	268,0	201,4
Tempo (s)	**Potência [Máx.] T [°C] Refervedor**	**Potência [Máx.] T [°C] Topo Coluna**
8700	280,0	237,9
9000	291,0	226,2
9300	325,0	189,7
9600	337,0	173,0
9900	348,9	130,1

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA O EXPERIMENTO 2

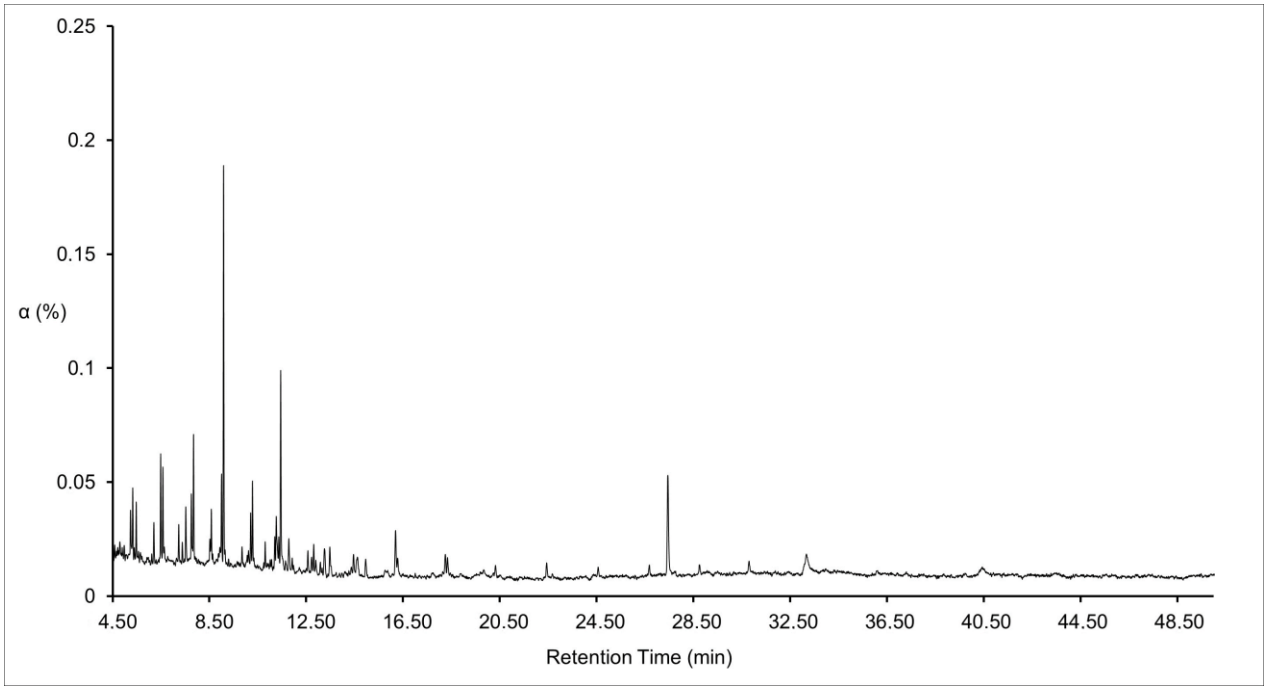
Tempo (s)	Potência [7-9] T [°C] Refervedor	Potência [7-9] T [°C] Topo Coluna
300	102,0	50,9
600	108,0	53,4
900	119,0	68,7
1200	134,0	69,6
1500	130,0	65,3
1800	130,0	64,3
2100	130,0	67,1
2400	118,0	65,0
2700	111,0	73,3
3000	113,0	73,4
3300	124,0	73,0
3600	160,0	71,1
Tempo (s)	**Potência [10-11] T [°C] Refervedor**	**Potência [10-11] T [°C] Topo Coluna**
3900	183,0	70,3
4200	204,0	71,1
4500	215,0	75,8
4800	221,0	81,1
5100	222,0	75,7
5400	221,0	123,7
5700	223,0	193,9
6000	238,0	204,6
6300	258,0	204,6
Tempo (s)	**Potência [Máx.] T [°C] Refervedor**	**Potência [Máx.] T [°C] Topo Coluna**
6600	268,0	203,0
6900	273,0	219,3
7200	278,0	215,1
7500	300,0	235,1
7800	333,0	194,1
8100	347,0	133,8

VARIAÇÃO DA TEMPERATURA NA DESTILAÇÃO PARA O EXPERIMENTO 3

Tempo (s)	Potência [7-9] T [°C] Refervedor	Potência [7-9] T [°C] Topo Coluna
300	121,0	50,1
600	124,0	50,3
900	129,0	56,7
1200	131,0	60,3
1500	132,0	59,4
1800	133,0	65,1
2100	139,0	65,7
2400	141,0	62,4
2700	149,0	70,9
3000	155,0	61,6
Tempo (s)	**Potência [10-11] T [°C] Refervedor**	**Potência [10-11] T [°C] Topo Coluna**
3300	155,0	69,3
3600	150,0	68,5
3900	145,0	70,8
4200	151,0	74,0
4500	201,0	76,6
4800	233,0	75,5
5100	237,0	98,7
5400	247,0	119,8
5700	263,0	123,0
Tempo (s)	**Potência [Máx.] T [°C] Refervedor**	**Potência [Máx.] T [°C] Topo Coluna**
6000	266,0	184,3
6300	274,0	180,1
6600	288,0	194,9
6900	301,0	192,6
7200	320,0	201,0
7500	338,0	218,0
7800	344,0	225,6
8100	349,0	144,3

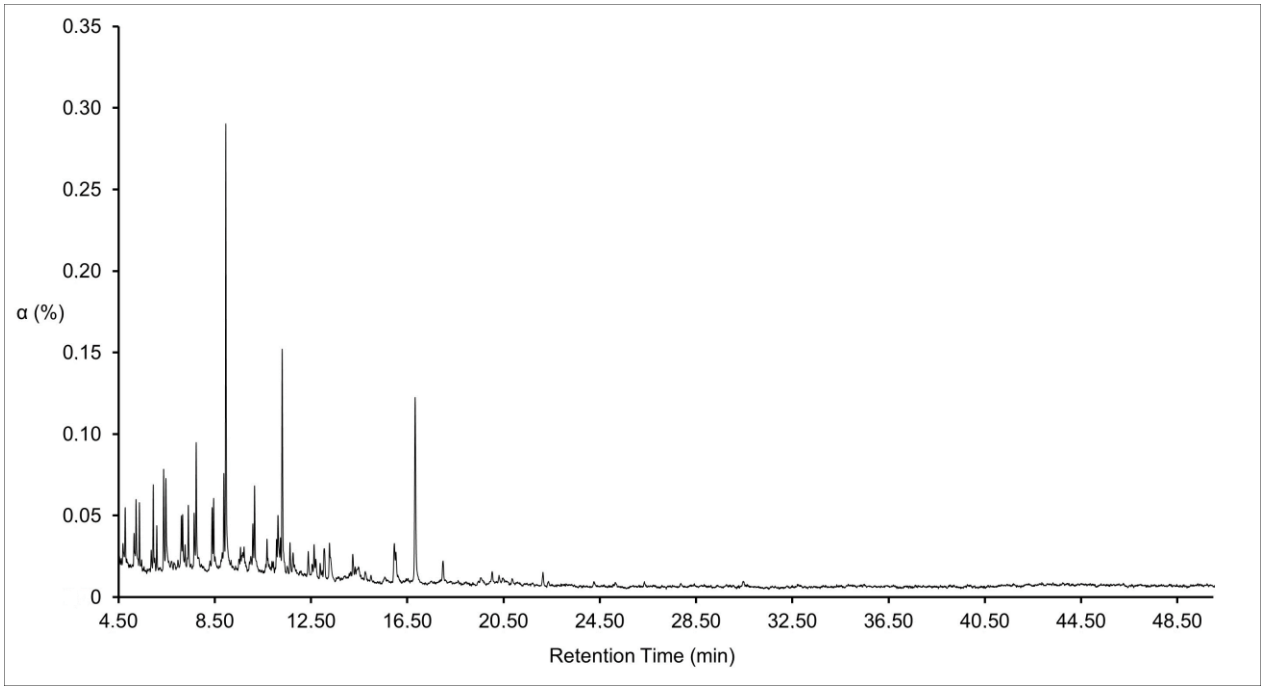
APÊNDICE 4 – CROMATOGRAMAS

GRÁFICO 1 - EXPERIMENTO 1 - CONDIÇÃO 1 [70-30]



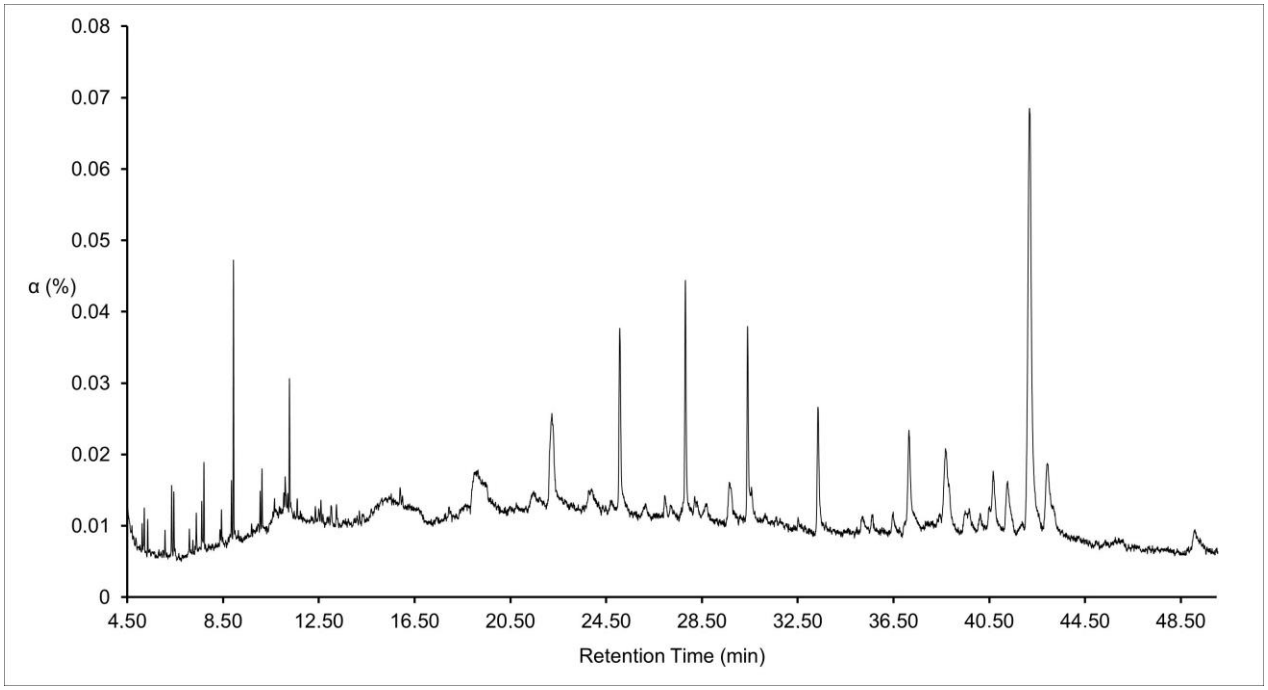
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
5,235	1-Dodecano	2,55
5,330	Dodecano	3,08
5,465	6-metil-octadecano	2,21
6,195	4-metil-1-deceno	1,74
6,485	3-Tetradecano	4,65
7,225	1-Dodecanol	1,92
7,525	2,6,10-trimetil-dodecano	2,92
7,750	8-Heptadeceno	3,06
7,835	Tetradecano	7,03
8,575	2-metil-tetracosano	2,43
8,995	1-penta-deceno	3,95
9,085	Pentadecano	14,37
10,20	9-Heneicoseno	2,26
10,28	Hexadecano	3,26
11,45	Heptadecano	7,89
12,80	Nonadecano	2,20
16,18	Éster metílico de ácido hexadecanóico	3,49
27,44	Di-iso-octil-ftalato	8,44

GRÁFICO 2 - EXPERIMENTO 1 - CONDIÇÃO 1 [70-30]



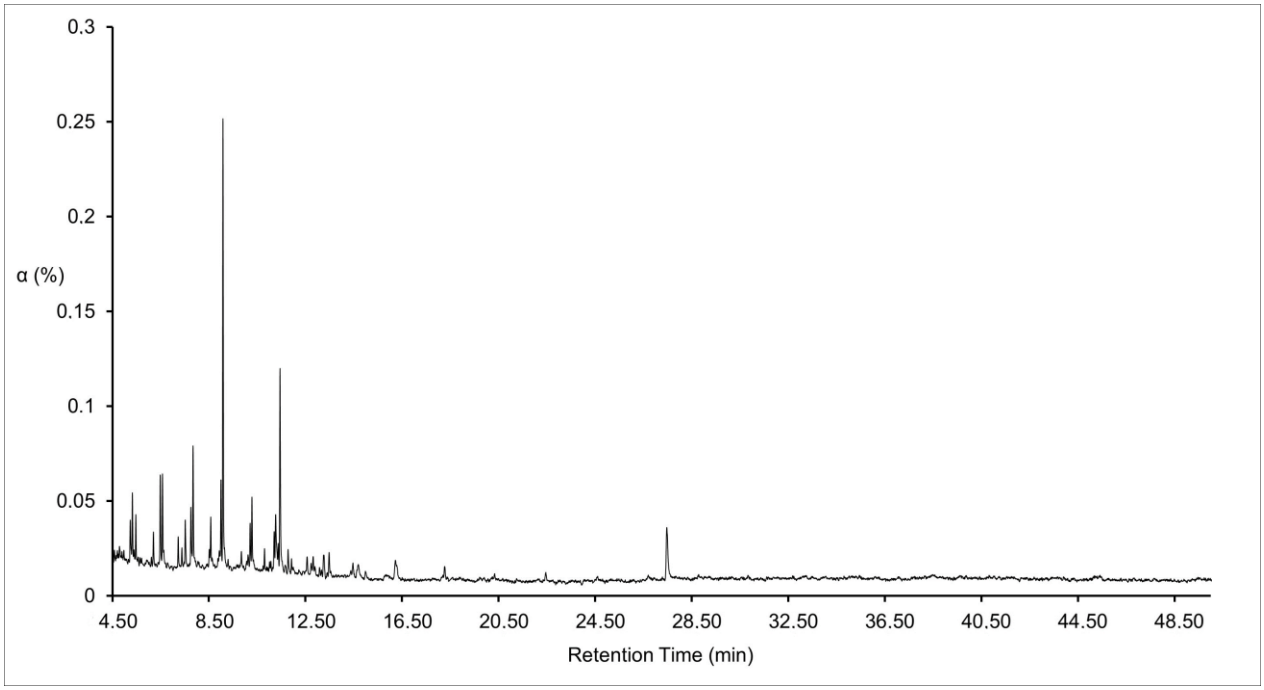
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
4,78	Ácido heptanoico	1,87
5,23	Dodecano	2,91
5,73	2,6-dimetil-undecano	2,16
5,94	Ácido octanoico	2,34
6,37	2-dodeceno	3,55
6,47	Hexadecano	3,87
7,11	1-dodecanol	1,92
7,16	Tetradecano	4,93
8,38	Ácido decanoico	2,02
8,87	8-heptadeceno	2,92
8,97	Pentadecano	15,81
11,30	Heptadecano	8,51
12,80	Nonadecano	1,92
16,83	Éster metílico de ácido hexadecanóico	9,99

GRÁFICO 3 - EXPERIMENTO 1 - CONDIÇÃO 1 [70-30]



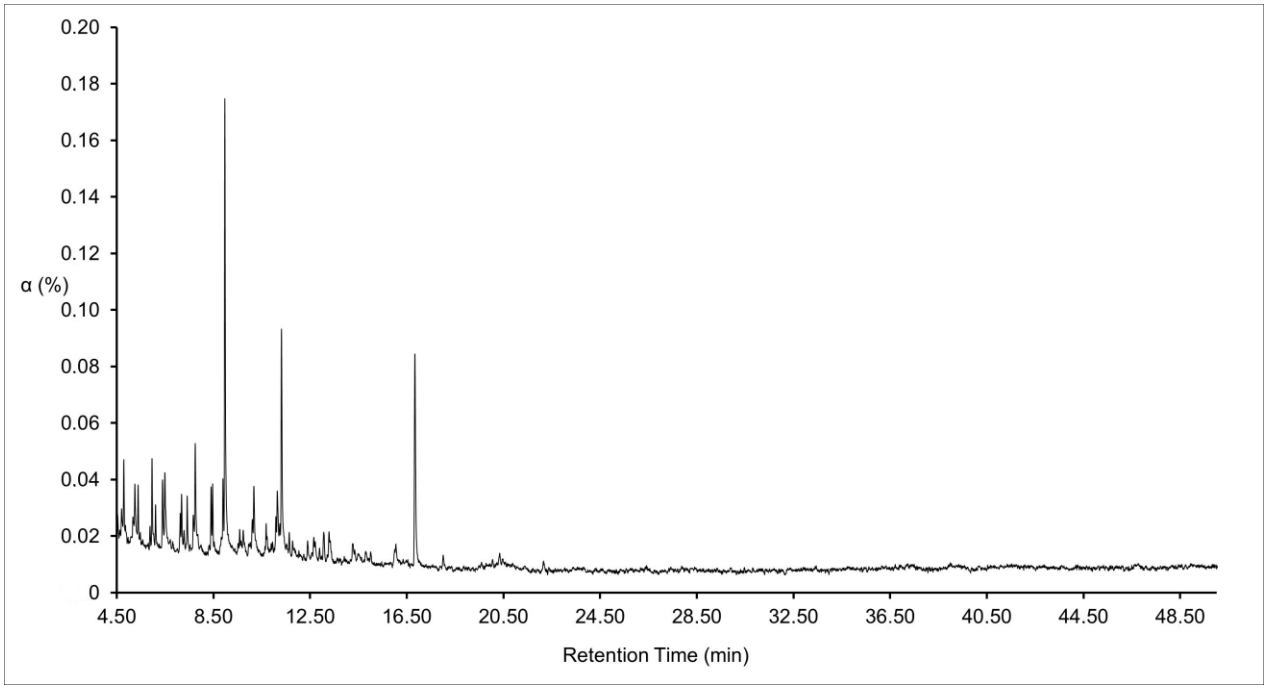
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
5,23	Dodecano	1,72
5,37	2,6-dimetil-undecano	0,47
5,94	Ácido octanoico	0,32
6,37	2-dodeceno	1,01
6,47	Hexadecano	1,87
7,11	1-dodecanol	0,34
7,16	Ácido nonanoico	0,20
8,38	Ácido decanoico	0,33
8,87	8-heptadeceno	0,79
8,97	Pentadecano	13,74
11,30	Heptadecano	5,42
16,83	Ácido hexadecanoico	7,41

GRÁFICO 1 - EXPERIMENTO 2 - CONDIÇÃO 2 [50-50]



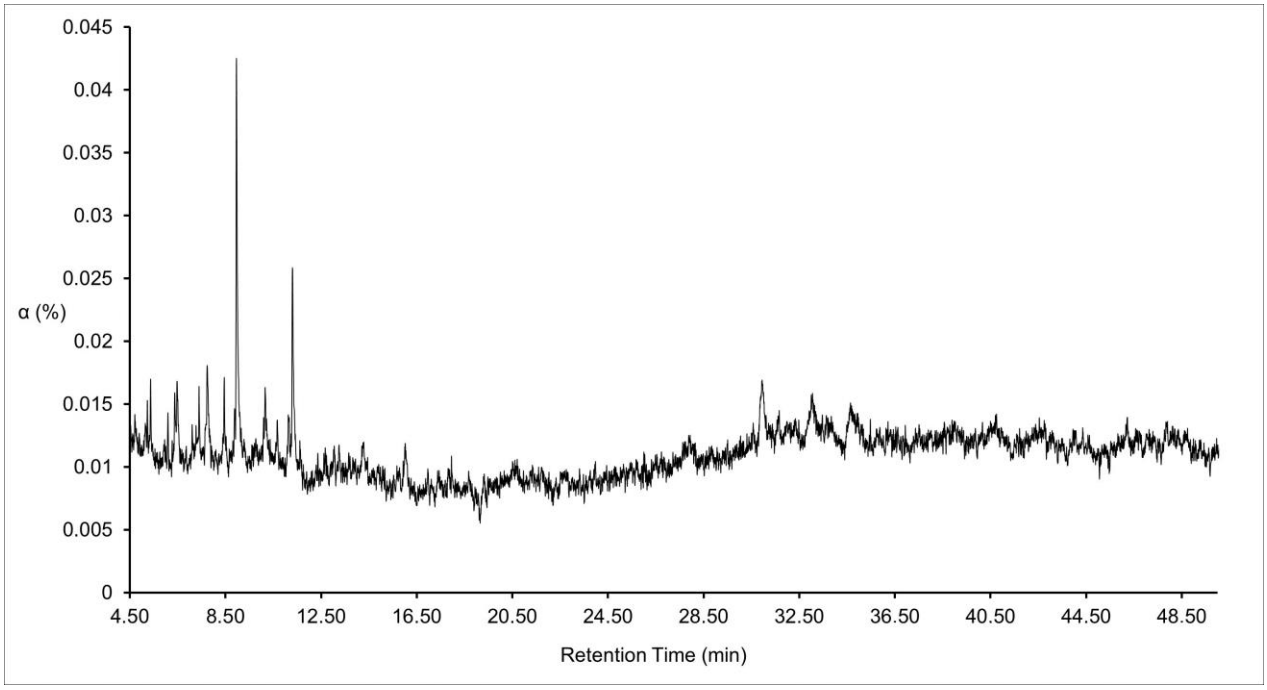
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
5,235	1-Dodecano	2,79
5,330	Dodecano	3,51
5,465	6-metil-octadecano	2,39
6,485	3-Tetradecano	4,82
7,525	2,6,10-trimetil-dodecano	3,08
7,750	8-Heptadeceno	3,85
7,835	Tetradecano	6,66
8,575	2-metil-tetracosano	2,88
8,995	1-penta-deceno	4,83
9,085	Pentadecano	23,36
10,20	9-Heneicoseno	2,67
10,28	Hexadecano	4,03
11,45	Heptadecano	12,12
12,80	Nonadecano	2,21
16,18	Éster metílico de ácido hexadecanóico	2,29
27,44	Di-iso-octil-ftalato	6,64

GRÁFICO 2 - EXPERIMENTO 2 - CONDIÇÃO 2 [50-50]



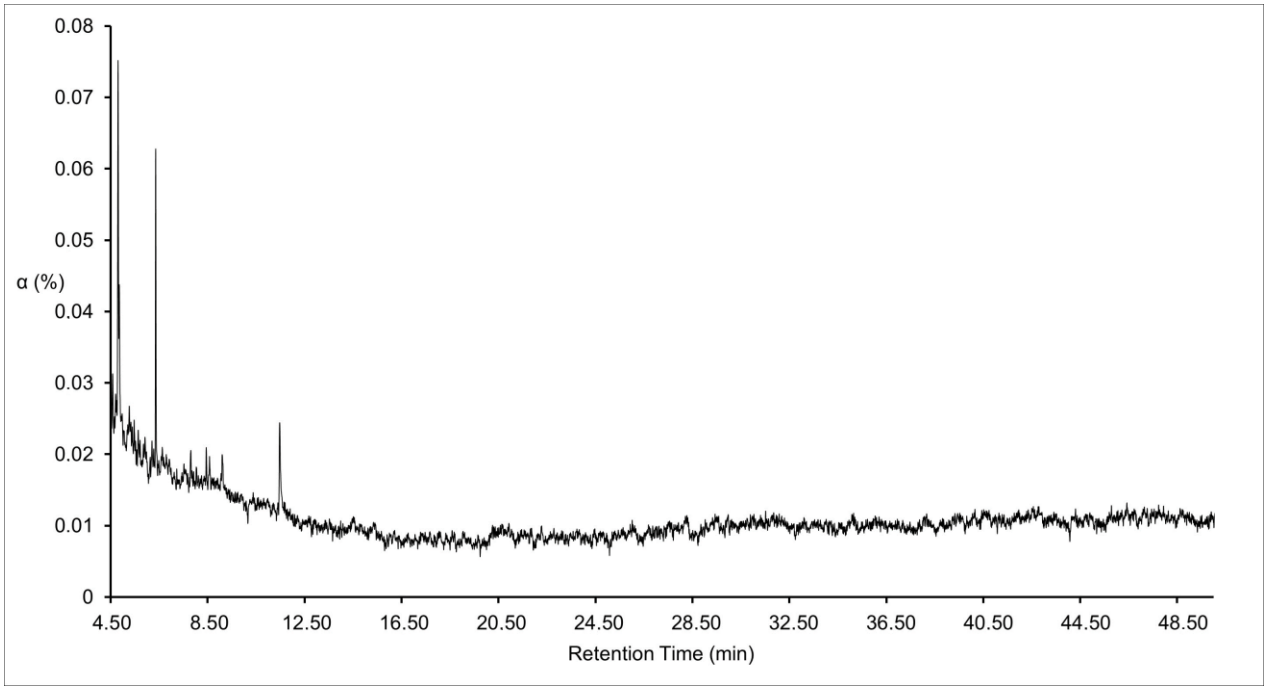
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
4,78	Ácido heptanoico	2,01
5,23	Dodecano	2,05
5,73	2,6-dimetil-undecano	1,35
5,94	Ácido octanoico	2,14
6,37	2-dodeceno	1,96
6,47	Hexadecano	3,04
7,11	1-dodecanol	0,96
7,16	Tetradecano	1,48
8,38	Ácido decanoico	1,61
8,87	8-heptadeceno	0,80
8,97	Pentadecano	14,52
11,30	Heptadecano	7,97
16,83	Éster metílico de ácido hexadecanóico	8,31

GRÁFICO 3 - EXPERIMENTO 2 - CONDIÇÃO 2 [50-50]



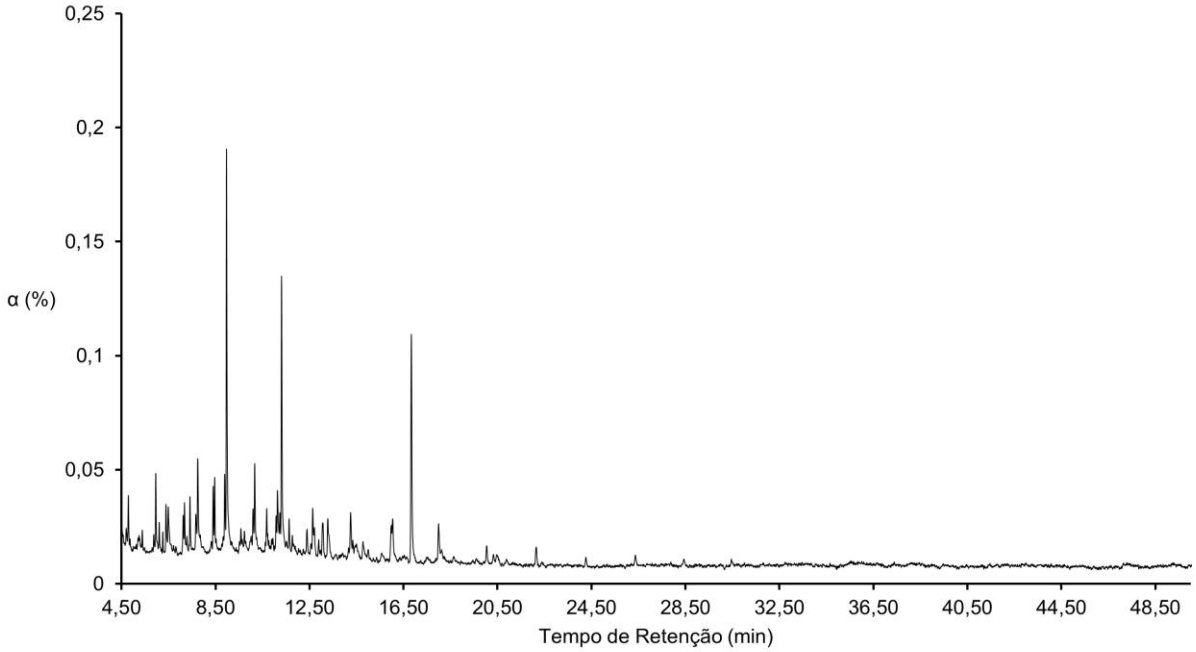
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
5,37	2,6-dimetil-undecano	6,01
6,37	2-dodeceno	4,92
8,38	Ácido decanoico	6,26
8,97	Pentadecano	59,43
11,30	Heptadecano	23,48

GRÁFICO 1 - EXPERIMENTO 3 - CONDIÇÃO 3 [100]



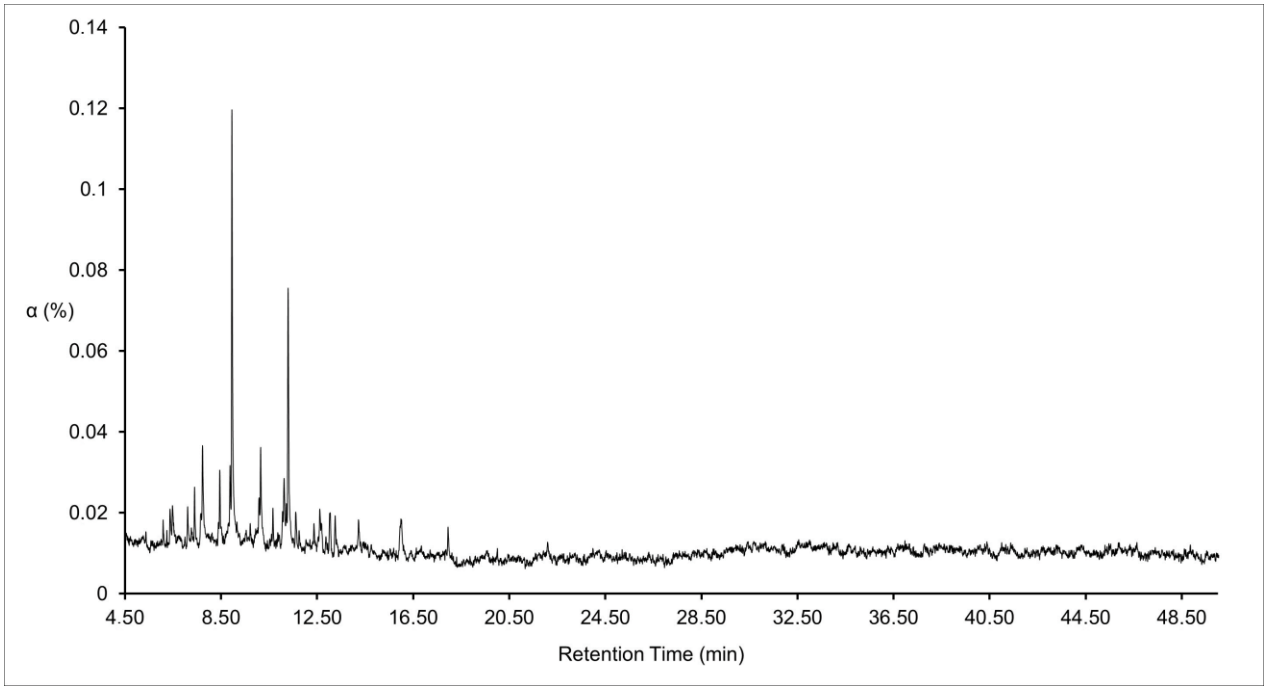
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
5,235	1-Dodecano	2,13
5,330	Dodecano	1,95
5,465	6-metil-octadecano	1,90
6,485	3-Tetradecano	2,68
7,835	Tetradecano	2,24
9,085	Pentadecano	2,37
10,20	9-Heneicoseno	3,23
11,45	Heptadecano	8,26
27,44	Di-iso-octil-ftalato	2,00

GRÁFICO 2 - EXPERIMENTO 3 - CONDIÇÃO 3 [100]



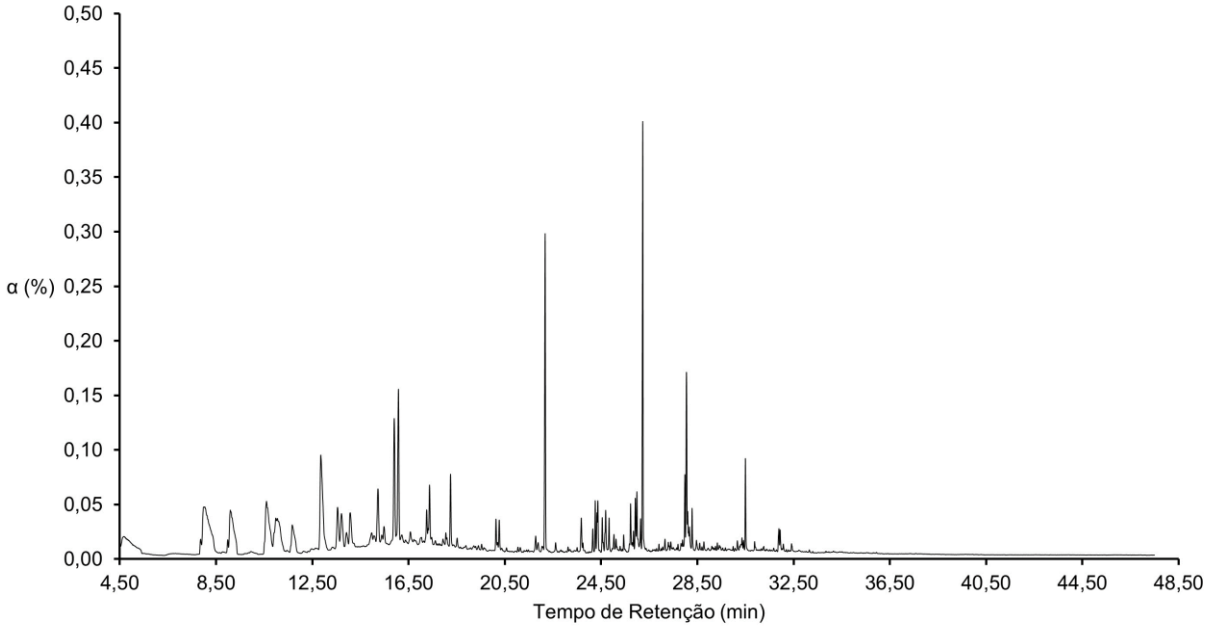
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
4,78	Ácido heptanoico	0,95
5,23	Dodecano	0,31
5,73	2,6-dimetil-undecano	0,44
5,94	Ácido octanoico	1,95
6,37	2-dodeceno	1,43
6,47	Hexadecano	1,78
7,11	1-dodecanol	0,64
7,16	Tetradecano	1,25
8,38	Ácido decanoico	1,42
8,87	8-heptadeceno	0,37
8,97	Pentadecano	12,99
11,30	Heptadecano	8,13
16,83	Éster metílico de ácido hexadecanóico	7,08

GRÁFICO 3 - EXPERIMENTO 3 - CONDIÇÃO 3 [100]



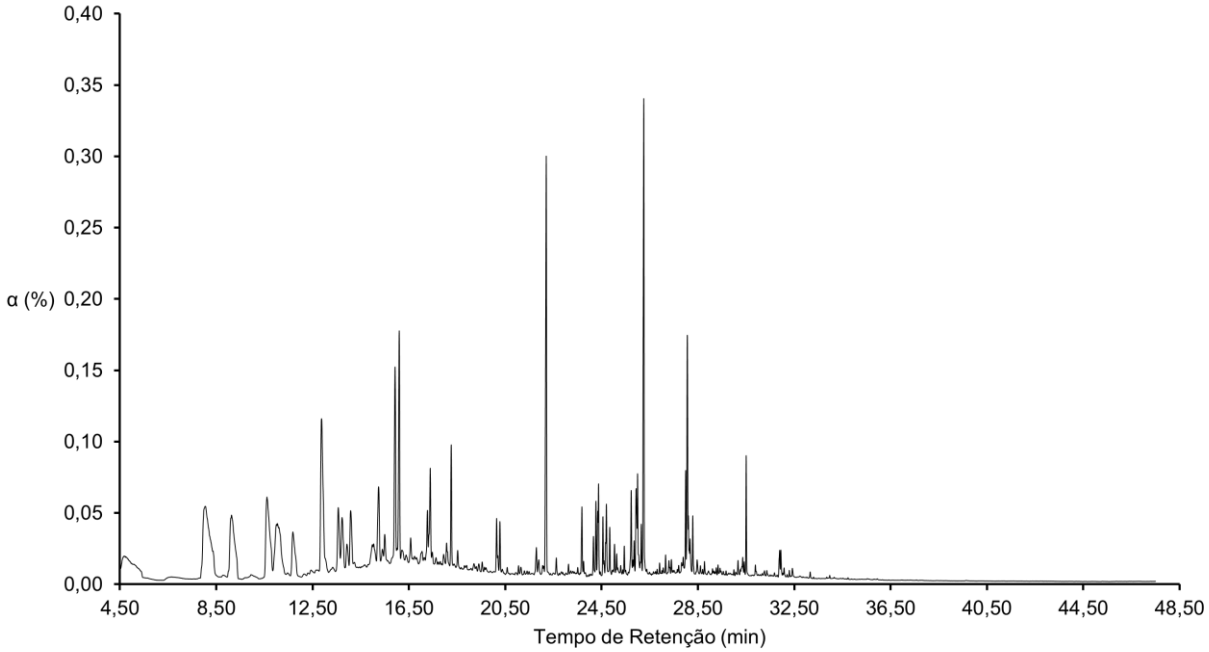
Tempo de Retenção (min)	Nome do composto (IUPAC)	% em Área
6,37	2-dodeceno	2,31
7,11	1-dodecanol	2,06
8,38	Ácido decanoico	3,16
8,87	8-heptadeceno	4,08
8,97	Pentadecano	31,63
11,30	Heptadecano	6,36

GRÁFICO 1 - FRAÇÃO 1 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



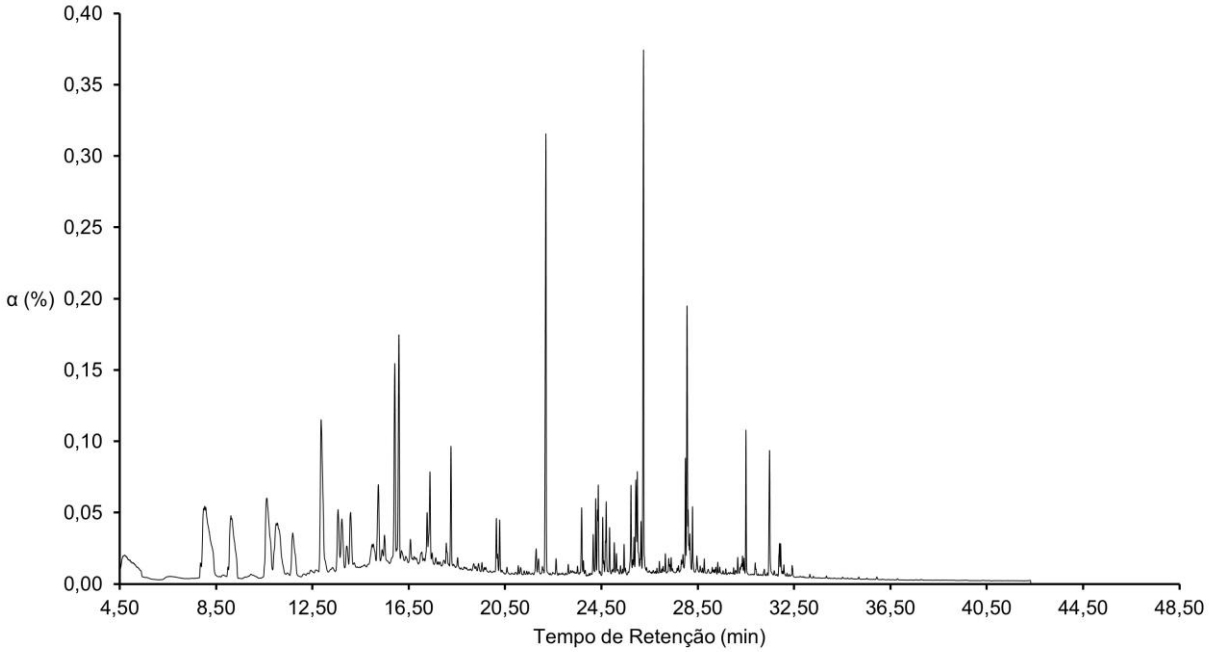
Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
12,86	3-metil-decano	9,69
13,71	tridecano	2,58
15,23	ácido dodecanóico	3,91
15,91	3-tetra-deceno	5,80
16,08	Tetradecano	6,57
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	2,66
18,25	eicosano	2,45
18,31	pentadecano	0,00
22,18	hexadecano	9,67
23,68	docosanoato de etila	1,37
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	1,02
24,69	behenato de etila	1,61
25,73	Ácido 5,8,11,14,17-eicosapentanóico	1,66
25,92	Ácido 8,11,14-eicosatrienóico	1,58
25,99	oleato de etila	1,97
26,23	estearato de etila	10,75

GRÁFICO 2 - FRAÇÃO 1 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



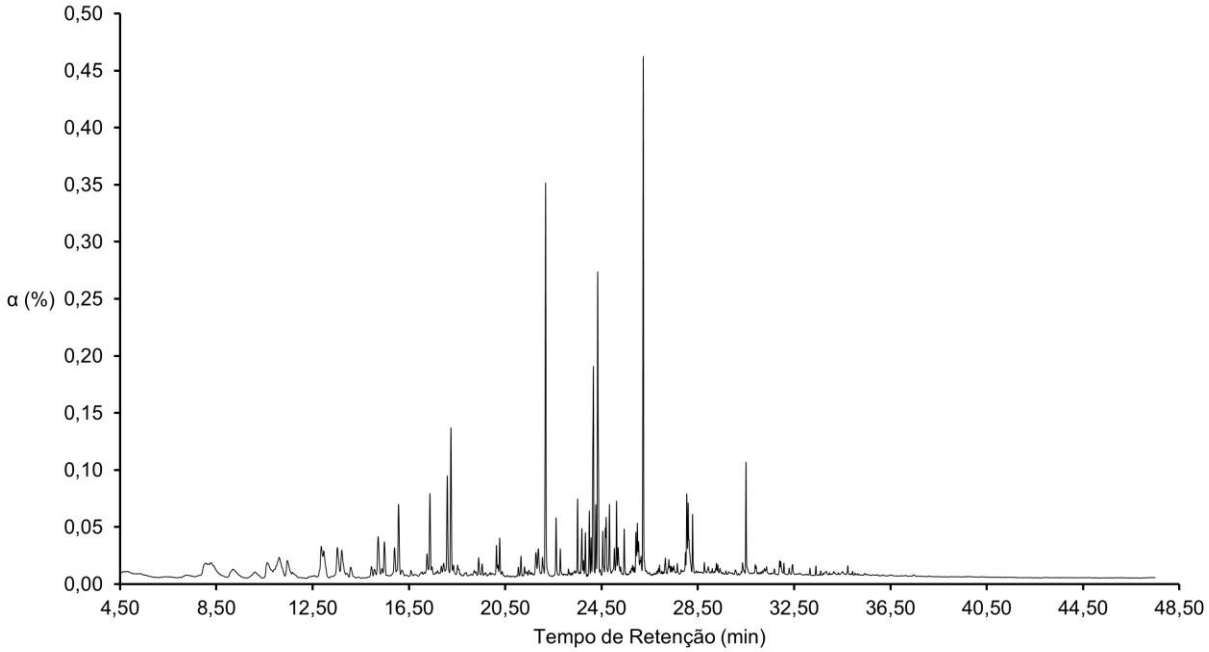
Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
13,71	tridecano	2,44
15,23	ácido dodecanóico	2,94
15,91	3-tetra-deceno	5,81
16,08	Tetradecano	6,00
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	2,66
22,18	hexadecano	8,53
23,68	docosanoato de etila	1,28
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	2,19
25,99	oleato de etila	3,78
26,23	estearato de etila	8,67

GRÁFICO 3 - FRAÇÃO 1 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



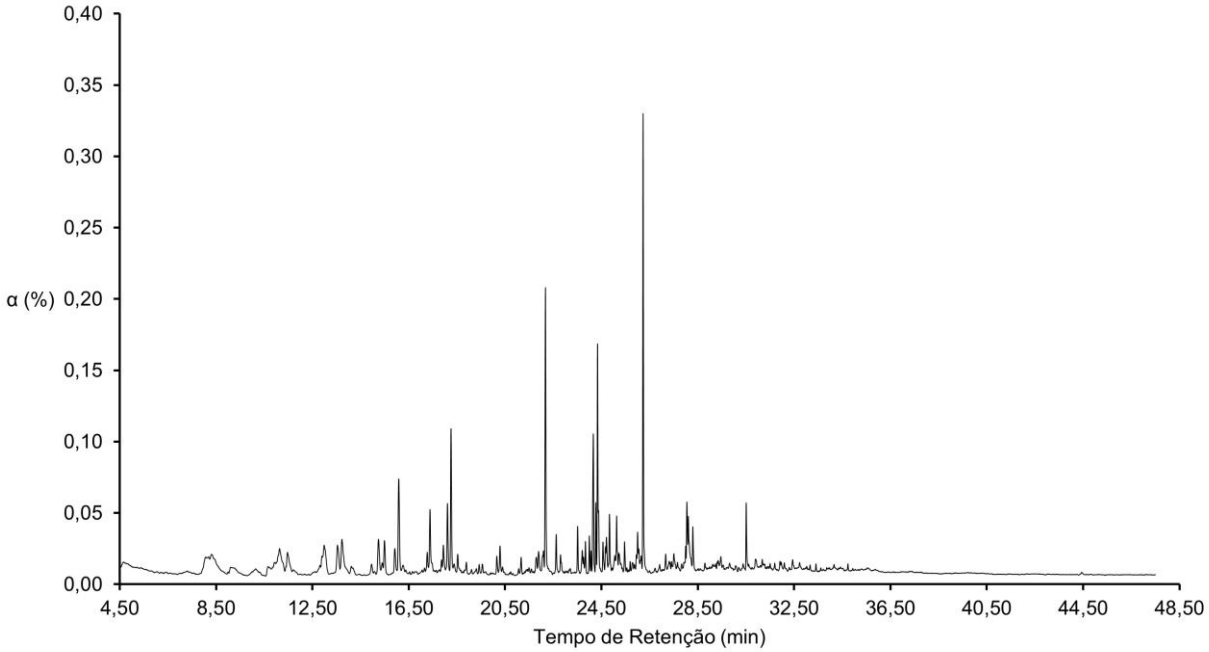
Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
12,86	3-metil-decano	6,84
13,71	tridecano	1,88
15,23	ácido dodecanóico	2,39
15,91	3-tetra-deceno	4,49
16,08	Tetradecano	4,44
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	3,11
22,18	hexadecano	6,93
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	5,56
25,99	oleato de etila	5,31
26,23	estearato de etila	8,47

GRÁFICO 1 - FRAÇÃO 2 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



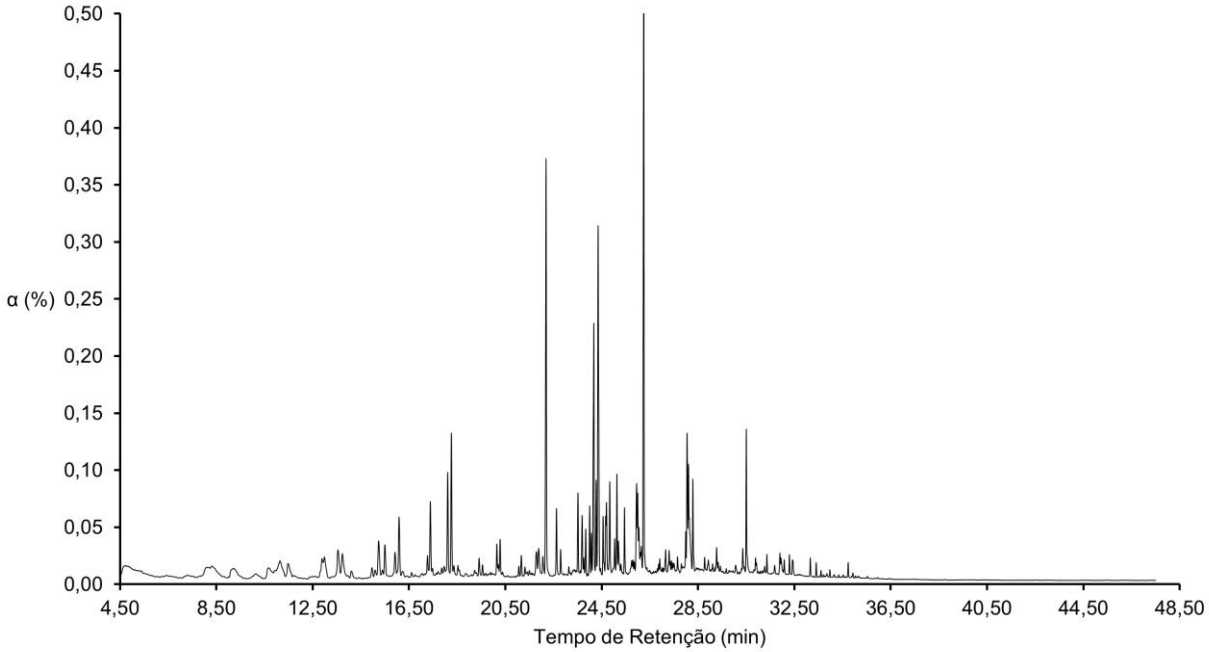
Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
12,86	3-metil-decano	1,94
13,71	tridecano	1,52
15,23	ácido dodecanóico	2,31
15,91	3-tetra-deceno	1,06
16,08	Tetradecano	2,59
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	2,23
18,25	eicosano	4,08
22,18	hexadecano	9,89
23,68	docosanoato de etila	1,31
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	8,69
24,69	behenato de etila	2,28
25,99	oleato de etila	2,93
26,23	estearato de etila	10,79

GRÁFICO 2 - FRAÇÃO 2 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



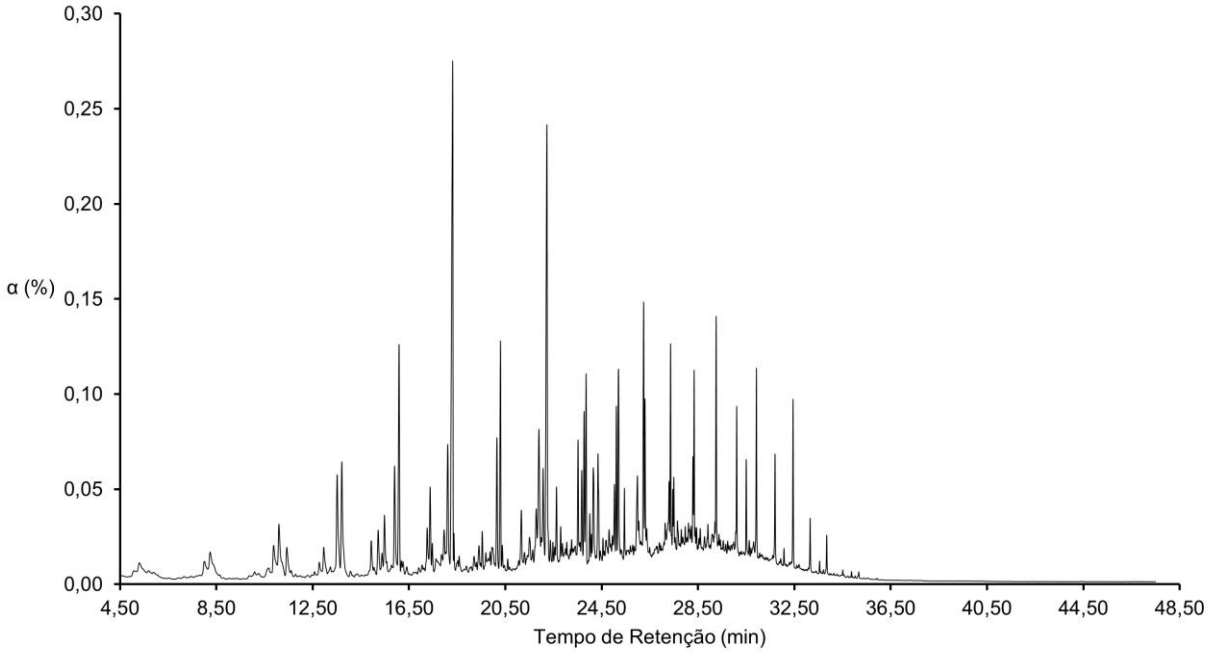
Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
13,71	tridecano	2,76
15,23	ácido dodecanóico	2,62
15,91	3-tetra-deceno	1,46
16,08	Tetradecano	5,12
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	2,99
22,18	hexadecano	11,67
23,68	docosanoato de etila	1,65
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	8,96
24,69	behenato de etila	13,69
26,23	estearato de etila	13,69

GRÁFICO 3 - FRAÇÃO 2 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



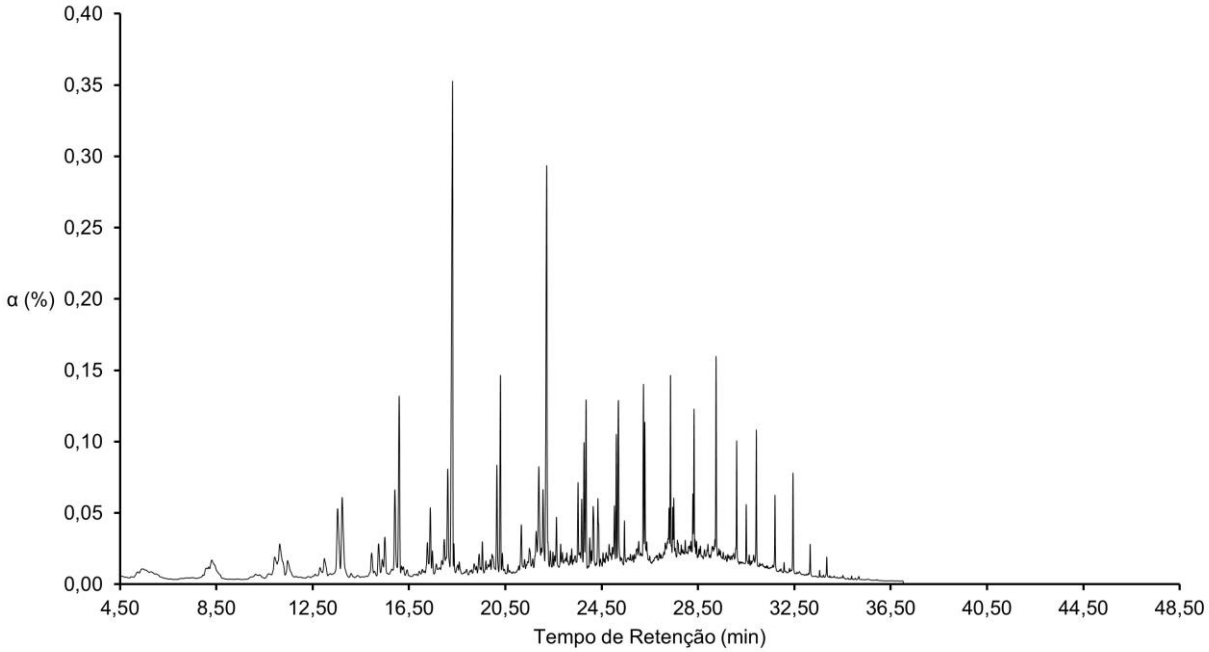
Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
13,71	tridecano	1,54
15,23	ácido dodecanóico	1,67
15,91	3-tetra-deceno	0,00
16,08	Tetradecano	2,14
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	2,23
18,31	pentadecano	3,93
22,18	hexadecano	11,07
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	13,49
24,69	behenato de etila	3,08
25,99	oleato de etila	5,66
26,23	estearato de etila	16,69

GRÁFICO 1 - FRAÇÃO 3 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



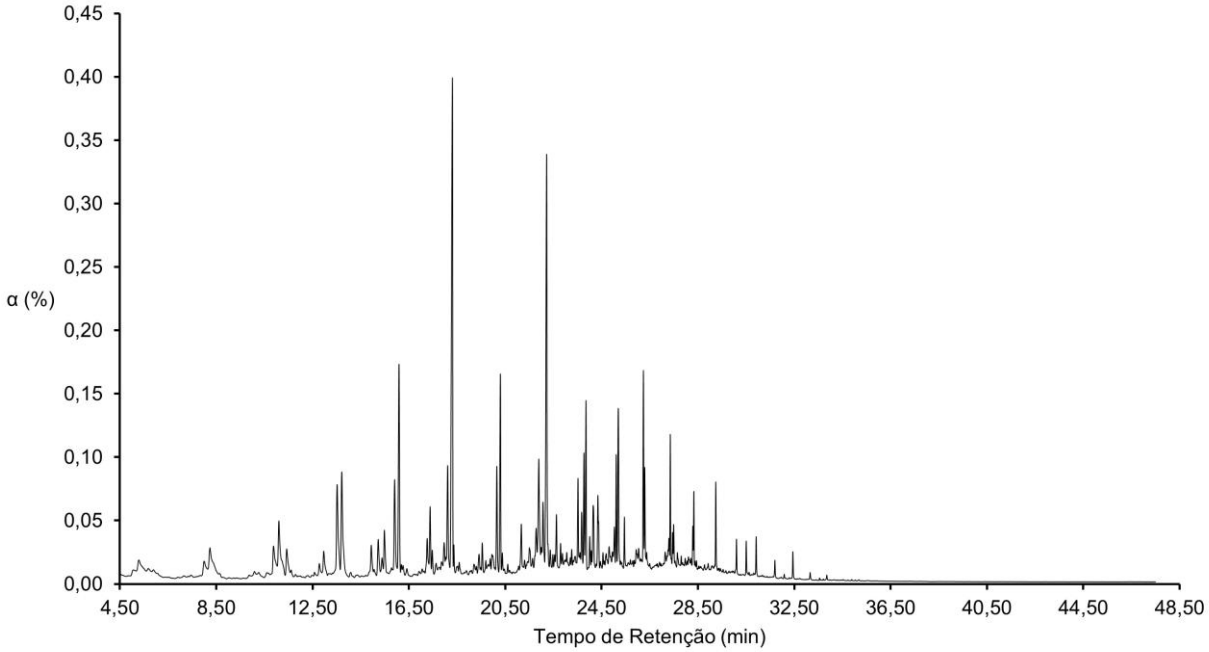
Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
12,86	3-metil-decano	0,27
13,71	tridecano	2,15
15,23	ácido dodecanóico	0,68
15,91	3-tetra-deceno	1,41
16,08	Tetradecano	2,57
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	1,06
18,31	pentadecano	8,05
22,18	hexadecano	6,13
23,68	docosanoato de etila	1,13
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	1,45
24,69	behenato de etila	0,62
25,99	oleato de etila	1,85
26,23	estearato de etila	2,49

GRÁFICO 2 - FRAÇÃO 3 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
12,86	3-metil-decano	0,30
13,71	tridecano	2,69
15,23	ácido dodecanóico	0,71
15,91	3-tetra-deceno	1,78
16,08	Tetradecano	3,35
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	1,29
18,31	pentadecano	10,42
22,18	hexadecano	7,62
23,68	docosanoato de etila	1,22
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	1,31
24,69	behenato de etila	0,52
25,99	oleato de etila	0,35
26,23	estearato de etila	3,91

GRÁFICO 3 - FRAÇÃO 3 - EXPERIMENTO 4 - CONDIÇÃO 4 [70-30]



Tempo de Retenção (min)	Nome do Composto (IUPAC)	% em Área
13,71	tridecano	4,23
15,91	3-tetra-deceno	2,76
16,08	Tetradecano	5,19
17,37	2,6,10,14-tetrametil-heptadecano	3,38
18,31	pentadecano	15,01
22,18	hexadecano	11,12
23,68	docosanoato de etila	0,76
24,32	3.7.11.15-tetrametil-2-hexadeceno	2,09
25,99	oleato de etila	1,50
26,23	estearato de etila	5,39