



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
INSTITUTO DE QUÍMICA E GEOCIÊNCIAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM QUÍMICA**

**APLICAÇÃO DA SONOCATÁLISE NA ESTERIFICAÇÃO DE ÁCIDOS
GRAXOS E OBTENÇÃO DE BIODIESEL DERIVADO DA MICROALGA
*CHLORELLA VULGARIS***

Dissertação

Cristiane Barsewisch Hobuss

Pelotas, RS, Brasil

2011

**APLICAÇÃO DA SONOCATÁLISE NA ESTERIFICAÇÃO DE ÁCIDOS
GRAXOS E OBTENÇÃO DE BIODIESEL DERIVADO DA MICROALGA
*CHLORELLA VULGARIS***

por

Cristiane Barsewisch Hobuss

Dissertação apresentada ao Curso de Mestrado do Programa de
Pós-Graduação em Química, Área de Concentração em
Química Orgânica, da Universidade Federal de Pelotas (UFPEL, RS),
como requisito para obtenção do grau de

Mestre em Química

Orientador: Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira

Pelotas, RS, Brasil

2011

Universidade Federal de Pelotas
Instituto de Química e Geociências
Programa de Pós-Graduação em Química

A Comissão Examinadora, abaixo assinada,
aprova a Dissertação de Mestrado

**APLICAÇÃO DA SONOCATÁLISE NA ESTERIFICAÇÃO DE ÁCIDOS
GRAXOS E OBTENÇÃO DE BIODIESEL DERIVADO DA MICROALGA
*CHLORELLA VULGARIS***

elaborada por

Cristiane Barsewisch Hobuss

Como requisito para a obtenção do grau de

Mestre em Química

Comissão Examinadora:

Prof. Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira – (Orientador) – UFPel

Prof. Dr. Wilson João Cunico Filho - UFPel

Prof. Dr. Luiz Antonio Mazzini Fontoura – CIENTEC/ULBRA

Pelotas, 2011.

*Confia no Senhor e faze o bem;
habita na terra e alimenta a verdade.
Agrada-te do Senhor,
e ele satisfará aos desejos do teu coração.
Entrega o teu caminho ao Senhor,
confia nele, e o mais ele fará.
Fará sobressair a tua justiça como a luz,
e o teu direito como o sol ao meio-dia.
Descansa no Senhor e espera nele.
Salmo 37.3-7*

*A minha família e ao meu namorado Gerson
pelo carinho e apoio nesta jornada.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todas as pessoas que contribuíram para a realização deste trabalho, mas em especial a:

- A Deus por me conceder a vida e me ajudar em todos os momentos.
- Ao Professor Dr. Claudio Martin Pereira de Pereira pela orientação durante o mestrado.
- Aos Professores do NuQUIA Dr. Wilson Cunico e Dr. Geonir Siqueira, Dr. Rogério Antônio Freitag.
- À banca examinadora.
- Às amigas Dalila Venzke, Daniela Gouvea, Patrícia Devantier e Lizandra Bretanha pelo carinho e amizade durante esse período.
- Aos alunos de iniciação científica do laboratório Marina, Michele, Alexander, Felipe, Camila, Pauline, Bruna, Lidiane, Priscila Oliveira e Priscila Gobbi.
- Aos alunos do laboratório 410, Auri, Maieli, Juliano, Bruna, Adriana e Venize.
- Às entidades financiadoras CAPES e CNPQ.
- Aos funcionários do IQG Marco, José, Isabel, Daiane, e Helio.

RESUMO

Dissertação de Mestrado
Programa de Pós-Graduação em Química
Universidade Federal de Pelotas

APLICAÇÃO DA SONOCATÁLISE NA ESTERIFICAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS E OBTENÇÃO DE BIODIESEL DERIVADO DA MICROALGA *CHLORELLA VULGARIS*

AUTORA: CRISTIANE BARSEWISCH HOBUSS

ORIENTADOR: CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA

Este trabalho descreve a esterificação de ácidos graxos, ácido octanóico, decanóico, dodecanóico, tetradecanóico e hexadecanóico, com metanol ou etanol, sob catálise ácida, via ultrassom (15 a 30 min). Estes resultados foram comparados com o método convencional (refluxo, 3-5 h). Os ésteres metílicos e etílicos isolados apresentaram bons rendimentos e alta pureza. Os produtos foram identificados por CG MS e IR.

Além disso, investigou-se o potencial da microalga *Chlorella vulgaris* para obtenção de biodiesel em microescala, direto da biomassa da microalga, que apresentou 19% de lipídios e um teor de ésteres metílicos de 52,6%. O teor de ésteres foi confirmado por cromatografia gasosa (GC).

Palavras-chave: Biodiesel, ácidos graxos, ultrassom, *Chlorella vulgaris*.

ABSTRACT

Master Dissertation
Graduate Program in Chemistry
University Federal of Pelotas

ULTRASOUND PROMOTED PREPARATION OF ESTERS FROM FATHY ACIDS AND OBTENTION OF BIODIESEL FROM MICROALGAE CHLORELLA VULGARIS

AUTHOR: CRISTIANE BARSEWISCH HOBUSS

ADVISOR: CLAUDIO MARTIN PEREIRA DE PEREIRA

Here is described the esterification of fatty acids, octanoic acid, decanoic, dodecanoic, tetradecanoic and hexadecanoic with methanol or ethanol via ultrasound irradiation (15-30 minutes) and mild acid conditions. These results were compared with traditional conditions (reflux, 3-5 hours). The methyl and ethyl esters isolated in sonochemistry conditions showed good yields and excellent purities. The products were identified by GC MS and IR.

Also, we investigated the potential of the microalgae *Chlorella vulgaris* to obtain biodiesel straight from the microalgae biomass microscale, which showed 19% lipids and a methyl ester content of 52.6%. The FAME content was confirmed by Gas Chromatography (GC).

Key words: Biodiesel, fatty acids, ultrasound, *Chlorella vulgaris*.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS	5
RESUMO	6
ABSTRACT	7
LISTA DE TABELAS	10
LISTA DE FIGURAS	11
LISTA DE ESQUEMAS	14
I. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS	15
II. REVISÃO DA LITERATURA	17
1. Biodiesel e o meio ambiente.....	17
2. Composição Química do Biodiesel.....	18
2.1. Transesterificação.....	18
2.1.1.Aspectos gerais da transesterificação.....	18
2.1.2.Transesterificação de triglicerídeos.....	19
2.2.Catalisadores para produção de biodiesel.....	19
2.2.1.Catalisadores básicos.....	19
2.2.2.Catalisadores ácidos.....	21
2.3. Esterificação.....	22
3. Álcoois para produção de biodiesel.....	27
4.Ultrassom na Química Orgânica.....	28
5. Matérias-primas para produção de biodiesel.....	31
5.1. Potencial das microalgas como matéria-prima para biodiesel.....	33
5.2.Cultivo de microalgas.....	34
5.3. Extração do óleo de microalgas.....	35
5.4. Biodiesel de microalgas.....	36
III. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS	39
1. Ésteres.....	39
1.1. Numeração e Nomenclatura das Substâncias.....	39
1.2. Síntese e caracterização dos compostos 4a-e e 5a-e.....	41
1.2.1. Síntese de Ésteres.....	41
1.2.2. Mecanismo de Reação.....	43
1.3. Identificação dos ésteres 4a-e e 5a-e.....	43

1.3.1. Caracterização por espectrometria de massas.....	43
1.3.2. Dados de infravermelho.....	46
2. Biodiesel de Microalgas em microescala.....	46
2.1. Determinação do teor lipídico.....	47
2.2. Biodiesel em microescala da <i>Chlorella vulgaris</i>	47
2.3. Cromatograma característico de ésteres obtidos na transesterificação direta da microalga <i>Chlorella vulgaris</i>	49
2.4. Mecanismo da reação.....	51
IV. CONCLUSÕES.....	52
V- PARTE EXPERIMENTAL	53
1. Equipamentos.....	53
1.1. Espectrometria de Massas.....	53
1.2. Espectroscopia de Infravermelho.....	53
1.3. Cromatografia Gasosa.....	53
1.4. Ultrassom.....	53
1.5. Reagentes e Solventes Utilizados.....	54
2. Síntese dos compostos.....	54
2.1. Procedimento geral para a síntese de Ésteres.....	54
2.2. Procedimento geral para extração de lipídios (método Bligh Dyer)....	54
2.3. Procedimento geral para síntese de Biodiesel da <i>Chlorella vulgaris</i> ..	54
VI. REFERÊNCIAS.....	56
ANEXO I. ESPECTROS DE MASSAS E CROMATOGRAMAS.....	59
ANEXO II. ESPECTROS DE INFRAVERMELHO.....	80

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Emissões do Biodiesel versus emissões do diesel fossil.....	19
Tabela 2. Esterificação de ácidos graxos com álcoois primário, secundário e terciário em <i>n</i> -hexano a 37 °C.....	23
Tabela 3. Rendimento dos ésteres sintetizados por catálise dos líquidos 1a e 1b....	24
Tabela 4. Rendimentos dos ésteres sintetizados por catálise dos líquidos iônicos 2a e 2b.....	25
Tabela 5. Taxa de conversão de ésteres.....	26
Tabela 6. Rendimento de reações de transesterificação com metanol.....	30
Tabela 7. Rendimento de reações de transesterificação com etanol.....	30
Tabela 8. Rendimento de reações de transesterificação com <i>n</i> -propanol.....	30
Tabela 9. Rendimento de reações de transesterificação com <i>n</i> -butanol.....	30
Tabela 10. Rendimento de reações de transesterificação com metanol.....	30
Tabela 11. Rendimento de ésteres isolados.....	31
Tabela 12. Comparação de produção de óleo por microalga com outras culturas....	33
Tabela 13. Quantidade de óleo produzido por algumas espécies de microalgas.....	34
Tabela 14. Qualidade do Biodiesel de microalgas.....	38
Tabela 15. Nomenclatura dos ácidos graxos.....	39
Tabela 16. Nomenclatura dos álcoois.....	40
Tabela 17. Nomenclatura dos ésteres	40
Tabela 18. Resultados dos experimentos em comparação com a literatura.....	42
Tabela 19. Dados de espectrometria de massas dos compostos 4a-e e 5a-e.....	45
Tabela 20. Ésteres presentes no padrão C8C24.....	49
Tabela 21. Porcentagem de ésteres presentes no biodiesel.....	50

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Catalisador líquido iônico 1a.....	24
Figura 2. Catalisador líquido iônico 1b.	24
Figura 3. Catalisador líquido iônico 2a.....	24
Figura 4. Catalisador líquido iônico 2b.....	24
Figura 5. Catalisador heterogêneo.....	26
Figura 6. Regiões de frequência do som.....	28
Figura 7. Octanoato de metila.....	43
Figura 8. Espectro de massas do composto 4a.....	44
Figura 9. Espectro de infravermelho do composto 4a.....	46
Figura 10. Cromatograma da solução comercial de FAMES - C8C24.....	48
Figura 11. Cromatograma da transesterificação direta da <i>Chlorella vulgaris</i>	49
Figura 12. Cromatograma do composto 4a Método Ultrassom.....	60
Figura 13. Espectro de massas do composto 4a Método Ultrassom.....	60
Figura 14. Cromatograma do composto 4a Método Convencional.....	61
Figura 15. Espectro de massas do composto 4a Método Convencional.....	61
Figura 16. Cromatograma do composto 4b Método Ultrassom.....	62
Figura 17. Espectro de massas do composto 4b Método Ultrassom.....	62
Figura 18. Cromatograma do composto 4b Método Convencional.....	63
Figura 19. Espectro de massas do composto 4b Método Convencional.....	63
Figura 20. Cromatograma do composto 4c Método Ultrassom.....	64
Figura 21. Espectro de massas do composto 4c Método Ultrassom.....	64
Figura 22. Cromatograma do composto 4c Método Convencional.....	65
Figura 23. Espectro de massas do composto 4c Método Convencional.....	65
Figura 24. Cromatograma do composto 4d Método Ultrassom.....	66
Figura 25. Espectro de massas do composto 4d Método Ultrassom.....	66
Figura 26. Cromatograma do composto 4d Método Convencional.....	67
Figura 27. Espectro de massas do composto 4d Método Convencional.....	67
Figura 28. Cromatograma do composto 4e Método Ultrassom.....	68
Figura 29. Espectro de massas do composto 4e Método Ultrassom.....	68
Figura 30. Cromatograma do composto 4e Método Convencional.....	69
Figura 31. Espectro de massas do composto 4e Método Convencional.....	69
Figura 32. Cromatograma do composto 5a Método Ultrassom.....	70

Figura 33. Espectro de massas do composto 5a Método Ultrassom.....	70
Figura 34. Cromatograma do composto 5a Método Convencional.....	71
Figura 35. Espectro de massas do composto 5a Método Convencional.....	71
Figura 36. Cromatograma do composto 5b Método Ultrassom.....	72
Figura 37. Espectro de massas do composto 5b Método Ultrassom.....	72
Figura 38. Cromatograma do composto 5b Método Convencional.....	73
Figura 39. Espectro de massas do composto 5b Método Convencional.....	73
Figura 40. Cromatograma do composto 5c Método Ultrassom.....	74
Figura 41. Espectro de massas do composto 5c Método Ultrassom.....	74
Figura 42. Cromatograma do composto 5c Método Convencional.....	75
Figura 43. Espectro de massas do composto 5c Método Convencional.....	75
Figura 44. Cromatograma do composto 5d Método Ultrassom.....	76
Figura 45. Espectro de massas do composto 5d Método Ultrassom.....	76
Figura 46. Cromatograma do composto 5d Método Convencional.....	77
Figura 47. Espectro de massas do composto 5d Método Convencional.....	77
Figura 48. Cromatograma do composto 5e Método Ultrassom.....	78
Figura 49. Espectro de massas do composto 5e Método Ultrassom.....	78
Figura 50. Cromatograma do composto 5e Método Convencional.....	79
Figura 51. Espectro de massas do composto 5e Método Convencional.....	79
Figura 52. Espectro de Infravermelho do composto 4a Método Ultrassom.....	81
Figura 53. Espectro de Infravermelho do composto 4a Método Convencional.....	81
Figura 54. Espectro de Infravermelho do composto 4b Método Ultrassom.....	82
Figura 55. Espectro de Infravermelho do composto 4b Método Convencional.....	82
Figura 56. Espectro de Infravermelho do composto 4c Método Ultrassom.....	83
Figura 57. Espectro de Infravermelho do composto 4c Método Convencional.....	83
Figura 58. Espectro de Infravermelho do composto 4d Método Ultrassom.....	84
Figura 59. Espectro de Infravermelho do composto 4d Método Convencional.....	84
Figura 60. Espectro de Infravermelho do composto 4e Método Ultrassom.....	85
Figura 61. Espectro de Infravermelho do composto 4e Método Convencional.....	85
Figura 62. Espectro de Infravermelho do composto 5a Método Ultrassom.....	86
Figura 63. Espectro de Infravermelho do composto 5a Método Convencional.....	86
Figura 64. Espectro de Infravermelho do composto 5b Método Ultrassom.....	87
Figura 65. Espectro de Infravermelho do composto 5b Método Convencional.....	87
Figura 66. Espectro de Infravermelho do composto 5c Método Ultrassom.....	88

Figura 67. Espectro de Infravermelho do composto 5c Método Convencional.....	88
Figura 68. Espectro de Infravermelho do composto 5d Método Ultrassom.....	89
Figura 69. Espectro de Infravermelho do composto 5d Método Convencional.....	89
Figura 70. Espectro de Infravermelho do composto 5e Método Ultrassom.....	90
Figura 71. Espectro de Infravermelho do composto 5e Método Convencional.....	90

LISTA DE ESQUEMAS

Esquema 1. Reação de transesterificação.....	18
Esquema 2. Transesterificação de triglicerídeo.....	19
Esquema 3. Mecanismo de transesterificação de triglicerídeos sob catálise básica.....	21
Esquema 4. Esterificação de ácidos carboxílicos.....	22
Esquema 5. Esterificação de ácidos graxos catalisada pela lipase <i>Aspergillus terreus</i>	23
Esquema 6. Reação de esterificação catalisada por líquidos iônicos.....	24
Esquema 7. Reação de esterificação promovida por catalisador heterogêneo.....	25
Esquema 8. Reação de esterificação catalisada pela lipase <i>Chinensis Rhizopus</i>	27
Esquema 9. Reação de esterificação do ácido caprílico.....	27
Esquema 10. Síntese de ésteres.....	41
Esquema 11. Mecanismo de esterificação de ácidos graxos.....	43
Esquema 12. Rearranjo de McLafferty.....	44
Esquema 13. Mecanismo de transesterificação sob catálise do H_2SO_4	51

I. INTRODUÇÃO E OBJETIVOS

Um aumento exponencial do consumo de biocombustíveis tem ocorrido nos últimos anos, atualmente está sendo desenvolvido como uma alternativa aos combustíveis fósseis.¹ A busca por novas metodologias nos processos de produção e por matérias-primas alternativas tem sido objeto de pesquisa dentro da química orgânica. O biodiesel é uma fonte de energia renovável e biodegradável,¹⁻³ e pode ser obtido pela transesterificação de triglicerídeos ou esterificação de ácidos graxos, com alcoóis de cadeia curta, produzindo ésteres monoalquílicos de ácidos graxos de cadeia longa.³ Este processo pode ser catalisado por ácidos ou bases que possuem vantagens e desvantagens. O atual método de produção de biodiesel sob condições alcalinas, possui como principal desvantagem a formação de sabões que consome o catalisador, diminuindo o rendimento do biodiesel, isso ocorre quando o óleo tem um alto teor de ácidos graxos livres.¹

A popularidade crescente do biodiesel tem gerado grande demanda de seus métodos de produção comercial, que por sua vez, solicita o desenvolvimento de técnicas e tecnologias de processos mais eficientes.¹ Nos últimos anos, vem aumentando a utilização do ultrassom em reações orgânicas, devido às vantagens que esta ferramenta proporciona, como, a redução do tempo de reação, a redução do consumo de energia e redução na quantidade de solventes e proporciona ainda um aumento do rendimento das reações.⁴⁻⁷ Isso ocorre devido aos efeitos químicos e físicos que surgem a partir do colapso de bolhas de cavitação.¹ O uso da sonoquímica também pode ser aplicado na produção de biodiesel, pois produz emulsões de líquidos imiscíveis e, como o óleo e o álcool são imiscíveis, esse efeito pode ser aplicado à preparação do biodiesel.¹

Em relação à disponibilidade de matéria-prima para produção de biodiesel, pode-se mencionar que a mesma está intimamente relacionada ao custo.⁸ Em especial, as microalgas vem sendo estudadas extensivamente como uma matéria-prima viável para produzir biodiesel; haja vista a facilidade de cultivo, fácil aquisição de sais inorgânicos que são nutrientes e também a

possibilidade de cultivos em tanques abertos, devido a extensão da região costeira do Litoral Brasileiro .⁹

Neste sentido este trabalho tem os seguintes objetivos:

- i) Desenvolver uma metodologia de síntese de ésteres a partir de ácidos graxos saturados de C₈ a C₁₆ através da sonoquímica.
- ii) Perfazer estudo do potencial da microalga *Chlorella vulgaris* para produção de biodiesel.
- iii) Desenvolver uma metodologia de síntese de biodiesel em microescala direto da biomassa algal.

II. REVISÃO DA LITERATURA

Inicialmente será apresentada uma abordagem da importância do biodiesel, posteriormente, serão reportados alguns trabalhos selecionados sobre esterificação de ácidos graxos. Em um segundo momento será focado o tópico de sonoquímica e as suas implicações em reações orgânicas bem como a aplicação dessa irradiação nos processos de obtenção de biodiesel, e ainda uma breve revisão sobre as microalgas, os processos de extração do óleo e produção de biodiesel destas.

1. Biodiesel e o meio ambiente

O biodiesel tem se tornado mais atrativo recentemente por causa de seus benefícios ambientais.¹⁰ Uma das vantagens do biodiesel é que ele pode ser usado em motores a diesel atuais sem modificação, e pode ser misturado com o diesel de petróleo em qualquer proporção.¹¹ Esta mistura também é benéfica pois, aumenta a lubricidade do diesel (mesmo em misturas de 3% ou menos), o que prolonga a vida útil do motor, conseqüentemente reduzindo a frequência de substituição de peças.¹² O biodiesel também proporciona redução das emissões de material particulado, como, monóxido de carbono (CO), hidrocarbonetos e óxidos de enxofre (SOx). Outros benefícios ambientais do biodiesel incluem o fato de que ele é biodegradável e reduz as emissões de gases tóxicos e cancerígenos (em relação ao diesel de petróleo).¹¹

Na **Tabela 1**, são mostrados alguns dados comparativos do biodiesel (B100 e B20).¹¹

Tabela 1. Emissões do Biodiesel *versus* emissões do diesel fossil.¹¹

Emissões	B100	B20
Hidrocarbonetos não queimados	-93	-30
Monóxido de carbono	-50	-20
Material particulado	-30	-22
NOx	+13	+2
Sulfatos	-100	-20
Hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAHs)	-80	-13

Continuação (**Tabela 1**. Emissões do Biodiesel *versus* emissões do diesel fossil.)

Nitratos PAH _s (NPAH _s)	-90	-50
Potencial de Ozônio de HC	-50	-10
Dióxido de carbono	-80	-
Dióxido de enxofre	-100	-

(-): Menos % da emissão de poluentes do biodiesel em comparação com 100% do diesel de petróleo.¹¹

(+): Mais % da emissão de poluentes do biodiesel em comparação com 100% do diesel de petróleo, ou seja, apenas no caso dos óxidos de nitrogênio (NO_x).¹¹

2. Composição química do biodiesel.

Biodiesel é um combustível que consiste de ésteres alquílicos de cadeia longa derivados da **transesterificação** de triglicerídeos (TGs) ou da **esterificação** de ácidos graxos livres (AGLs) com alcoóis de baixo peso molecular.¹³

2.1. Transesterificação

2.1.1. Aspectos gerais da transesterificação

A transesterificação é o termo genérico usado para descrever a importante classe de reações orgânicas nas quais um éster é transformado em outro. Quando o éster original reage com um álcool, o processo de transesterificação é chamado de alcoólise (**Esquema 1**). A transesterificação é uma reação de equilíbrio e a transformação ocorre essencialmente com a mistura dos reagentes. No entanto, a presença de um catalisador (geralmente um ácido forte ou uma base) acelera consideravelmente o ajuste do equilíbrio. Para atingir um alto rendimento do éster, o álcool deve ser usado em excesso. A aplicabilidade da transesterificação não se restringe a escala de laboratório. Vários processos industriais correspondentes usam esta reação para produzir diferentes tipos de compostos.¹³

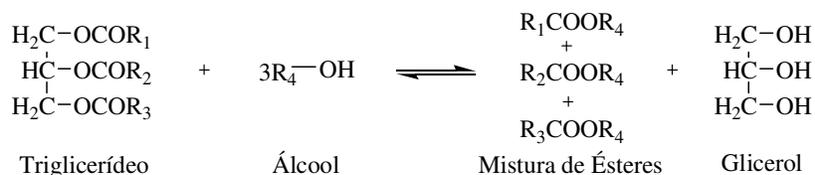


Esquema 1. Reação de transesterificação.¹³

2.1.2. Transesterificação de triglicerídeos

Na transesterificação de óleos vegetais, um triglicerídeo reage com um álcool na presença de um ácido forte (H_2SO_4 , HCl , H_3PO_4) ou de uma base (KOH , $NaOH$), produzindo uma mistura de ésteres alquílicos de ácidos graxos e glicerol (**Esquema 2**). O processo global é uma seqüência de três reações consecutivas e reversíveis, nas quais monoglicerídeos são formados como intermediários. A reação estequiométrica requer 1 equivalente de triglicerídeo e 3 equivalentes de álcool. No entanto, um excesso do álcool é usado para aumentar o rendimento de ésteres de alquila e permitir a separação de fases a partir do glicerol formado. Vários aspectos, incluindo o tipo de catalisador (alcalino ou ácido), razão molar do álcool/óleo vegetal, temperatura, pureza dos reagentes (principalmente quantidade de água) e teor de ácidos graxos livres têm influência sobre o curso da transesterificação.¹³

Como exemplificado no **Esquema 2**, a transesterificação requer 3 mol de álcool para cada mol de triglicerídeo para produzir 1 mol de glicerol e 3 mol de ésteres metílicos.¹³



R_1, R_2, R_3 são cadeias carbônicas dos ácidos graxos.

R_4 cadeia carbônica do álcool reagente.

Esquema 2. Transesterificação de triglicerídeo.¹³

2.2. Catalisadores para produção de Biodiesel

A seguir serão detalhadas algumas particularidades dos catalisadores ácidos e básicos. As condições de preparação do biodiesel, seu isolamento e purificação, estão intrinsecamente ligados a natureza do catalisador.¹²

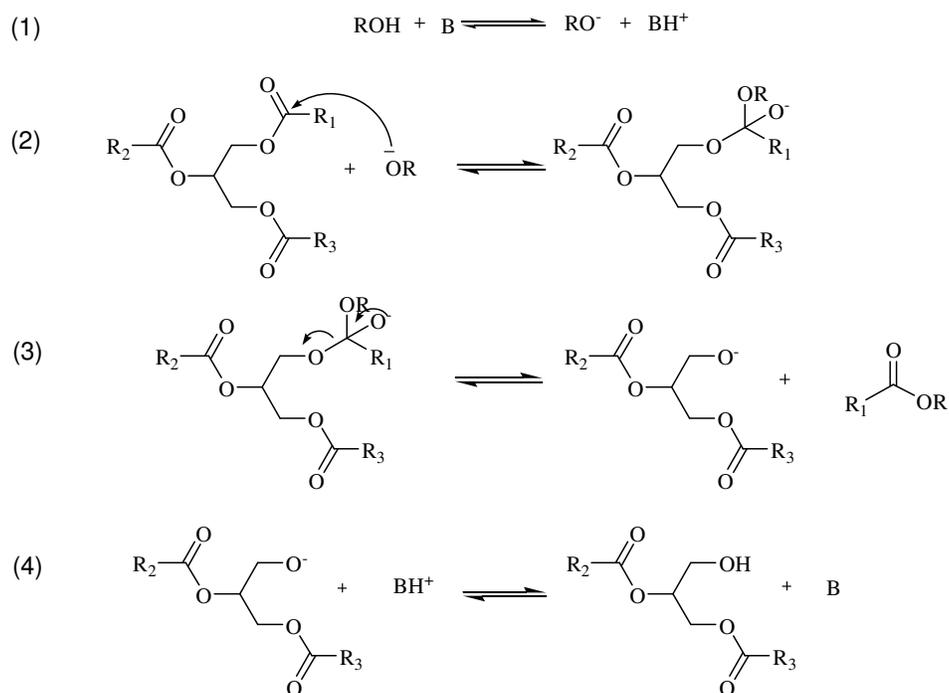
2.2.1. Catalisadores Básicos

Os catalisadores mais empregados para preparação de biodiesel são os hidróxidos de metais alcalinos, como $NaOH$ e KOH .¹³ No início do processo de preparação do biodiesel, o catalisador, ($NaOH$ por exemplo) reage com

metanol, formando CH_3ONa . O $\text{CH}_3\text{O}^- \text{Na}^+$ é um nucleófilo eficiente na reação frente ao triglicerídeo, e conseqüentemente leva a formação do biodiesel com altos rendimentos e tempos curtos de reação.¹² A concentração molar do catalisador, em geral é de 1 ou 2%. Outro detalhe importante no sistema de preparação do biodiesel é a necessidade de reagentes químicos anidros. O álcool empregado e o catalisador devem estar livres de moléculas de água. A presença de água pode levar a hidrólise de ésteres formados e propiciando a formação de sabão.¹³ Em um ambiente de reação com emulsões, torna-se inviável a separação da glicerina.¹³ A viabilidade da separação pode levar a um aumento de custo do processo, a porcentagem de água permitida é de 0,1-0,3% em massa total. Para conformidade com tais especificações de matéria-prima, exige-se o uso de óleos vegetais altamente refinados, cujo preço pode representar 60-75% do custo final do biodiesel.¹² Em particular, a quantidade de ácidos graxos livres totais no conteúdo lipídico não deve exceder 0,5% em peso da matéria-prima.¹²

Outros catalisadores que também são empregados para a produção biodiesel são os carbonatos. O carbonato de potássio, usado em uma concentração de 2 ou 3% produz altos rendimentos de ésteres alquílicos de ácidos graxos e reduz a formação do sabão. Isso pode ser explicado pela formação de bicarbonato ao invés de água, que não hidrolisa os ésteres.¹³

O mecanismo da transesterificação de triglicerídeos catalisada por base é mostrado no **Esquema 3**. O primeiro passo é a reação da base com o álcool, produzindo um íon alcóxido. O íon alcóxido ataca a carbonila gera um intermediário tetraédrico, há transferência do par de elétrons para o oxigênio que na regeneração da carbonila libera o fragmento relacionado ao triglicerídeo. A reação ocorre nas três carbonilas formando uma mistura de ésteres alquílicos e glicerol.¹²



B: Catalisador básico

R_1, R_2 e R_3 : Cadeia carbônica de ácidos graxos

R_4 : Grupo alquila do álcool

Esquema 3. Mecanismo de transesterificação de triglicerídeos sob catálise básica.¹²

2.2.2. Catalisadores Ácidos

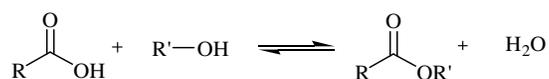
Neste processo de transesterificação o ácido sulfúrico tem sido o catalisador mais investigado, mas outros ácidos, como HCl, BF_3 , H_3PO_4 e ácidos sulfônicos e orgânicos, também têm sido utilizados por diferentes pesquisadores. Uma vantagem importante sobre a catálise alcalina é que o desempenho do catalisador não é afetado pela presença de ácidos graxos livres na matéria-prima. Na verdade, catalisadores ácidos simultaneamente podem catalisar tanto a esterificação e a transesterificação. Assim, uma grande vantagem, os catalisadores ácidos podem produzir biodiesel diretamente a partir de matérias-primas de lipídios de baixo custo, geralmente associada com altas concentrações de AGLs (óleo de cozinha usado e graxas, geralmente têm níveis de AGLs $\geq 6\%$).¹²

Para reações de biodiesel derivados de óleo vegetal um dos principais fatores que interferem na transesterificação é a razão molar do álcool/óleo, onde o excesso de álcool favorece a formação dos ésteres. Por outro lado,

uma quantidade excessiva faz com que a recuperação do glicerol seja difícil, de modo que a razão molar ideal de álcool/óleo tem que ser estabelecido empiricamente, considerando cada processo de forma individual.¹³

2.3. Esterificação

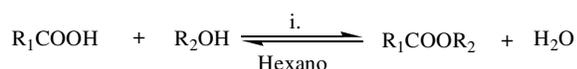
Esterificação é uma reação de condensação de um ácido carboxílico com alcoóis (**Esquema 4**):¹⁴



Esquema 4. Esterificação de ácidos carboxílicos.¹⁴

Em geral as reações de esterificação são catalisadas por ácidos. Alcançam o equilíbrio em poucas horas, quando um ácido graxo ou um álcool são refluxados em presença do ácido apropriado (HCl ou H₂SO₄ por exemplo). Como o ponto de equilíbrio controla a quantidade de éster formado, o uso de um excesso do ácido carboxílico ou do álcool aumenta o rendimento baseado no reagente limitante. O componente exato que é escolhido para ser usado em excesso dependerá da sua disponibilidade e de seu custo. O rendimento de uma reação de esterificação também pode ser incrementado pela remoção de água da mistura reacional assim que é formada.¹⁴

Gulati e colaboradores,¹⁵ estudaram a síntese de ésteres a partir de ácidos graxos de C₄ a C₁₈, utilizando alcoóis primários, secundários e terciários, e como catalisador a enzima lipase *Aspergillus terreus* em hexano a 37°C, apresentado no **Esquema 5**, descobriram que esta lipase é seletiva, e reage somente com ácidos graxos saturados com rendimentos de 10 a 79%. Os resultados desse trabalho são mostrados na **Tabela 2**. Os melhores resultados foram verificados na esterificação dos ácidos cáprico e mirístico em metanol com conversão de 71 e 79%.¹⁵



i. lipase *Aspergillus terreus*

R_1 : C_3H_7 , C_5H_{11} , C_7H_{15} , C_9H_{19} , $C_{11}H_{23}$, $C_{13}H_{27}$, $C_{17}H_{35}$, $C_{17}H_{33}$

R_2 : CH_3 , $(CH_3)_2CHCH_2CH_2$, $(CH_3)_2CH$, $(CH_3)_3CH$

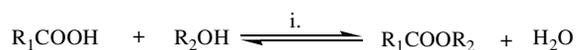
Esquema 5. Esterificação de ácidos graxos catalisada pela lipase *Aspergillus terreus*.¹⁵

Tabela 2. Esterificação de ácidos graxos com álcoois primário, secundário e terciário em *n*-hexano a 37 °C.¹⁵

Ácidos Graxos	% Conversão após 48h ¹²			
	Metanol	<i>Iso</i> -Propanol	<i>Iso</i> -Amílico	<i>Terc</i> - Butanol
Butírico(C4:0)	62	33	70	24
Capríco(C6:0)	41	16	13	10
Caprílico(C8:0)	70	14	69	14
Cáprico(C10:0)	71	32	50	29
Mirístico(C14:0)	79	51	62	35
Palmitico(C16:0)	64	50	62	20
Esteárico(C18:0)	66	62	65	21
Oleico(C18:1)	0	0	0	0

Em geral, o rendimento da esterificação de ácidos graxos com álcoois primários é maior do que com o álcool secundário, que por sua vez, é maior do que o rendimento de álcool terciário. No caso da esterificação do ácido oléico(insaturado), não ocorreu reação, o que também pode ser útil para separação eficiente de ácidos graxos. Nota-se a seletividade da lipase *Aspergillus terreus*.¹⁵

Li e colaboradores,¹⁶ descreveram a síntese de ésteres a partir de ácidos graxos de cadeia alifática longa com metanol e etanol catalisada por dois líquidos iônicos, a reação é apresentada no **Esquema 6**. A reação foi realizada a temperatura ambiente com rendimentos de 85 a 99%, sem uso de solvente, na presença de 10% de líquidos iônicos apresentados nas **Figuras 1, 2, 3 e 4**, os rendimentos são apresentados nas **Tabelas 3 e 4**.¹⁶



i. 1a, 1b, 2a, 2b

R_1 : $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_2$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_3$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_4$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_6$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{10}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}$, $\text{CH}_3(\text{CH}_2)_7$, $\text{CH}=\text{CH}(\text{CH}_2)_7$

R_2 : CH_3 , CH_3CH_2

Esquema 6. Reação de esterificação catalisada por líquidos iônicos.¹⁶

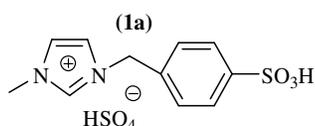


Figura 1. Catalisador líquido iônico **1a**.¹⁶

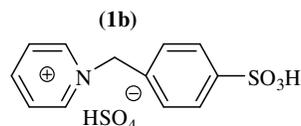


Figura 2. Catalisador líquido iônico **1b**.¹⁶

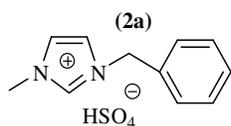


Figura 3. Catalisador líquido iônico **2a**.¹⁶

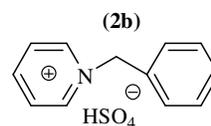


Figura 4. Catalisador líquido iônico **2b**.¹⁶

Tabela 3. Rendimento dos ésteres sintetizados por catálise dos líquidos **1a** e **1b**.¹⁶

Ácido	Álcool	Razão	Tempo (h)	Rendimento ^{a,b}
		Ácido/álcool/IL		1a/1b ^c (%)
Butanóico	Metanol	1:1:0,1	3	98 / 97
Pentanóico	Metanol	1:1:0,1	3	99 / 95
Hexanóico	Metanol	1:1:0,1	3	97 / 95
Octanóico	Metanol	1:1:0,1	3,5	97 / 92
Nonanóico	Metanol	1:1:0,1	3,5	96 / 95
Dodecanóico	Metanol	1:1,5:0,1	4,5	93 / 94 ^c
Hexadecanóico	Metanol	1:1,5:0,1	4,5	90 / 92 ^c
Acido Oleico	Metanol	1:1:0,1	4,5	88 / 94
Butanóico	Etanol	1:1:0,1	3	95 / 96
Pentanóico	Etanol	1:1:0,1	3	94 / 91
Hexanóico	Etanol	1:1:0,1	3	97 / 95
Octanóico	Etanol	1:1:0,1	3,5	95 / 96
Nonanóico	Etanol	1:1:0,1	3,5	95 / 97
Dodecanóico	Etanol	1:1,5:0,1	4,5	87 / 85 ^c

Continuação (**Tabela 3**. Rendimento dos ésteres sintetizados por catálise dos líquidos **1a** e **1b**)

Hexadecanóico	Etanol	1:1,5:0,1	4,5	91 / 89 ^c
Acido Oleico	Etanol	1:1:0,1	4,5	86 / 91

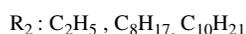
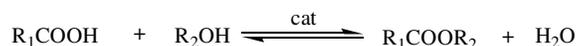
^a Rendimento baseado no produto bruto isolado; ^b Pureza não inferior a 95%(CG); ^c Excesso de álcool para dissolver¹⁶

Tabela 4. Rendimentos dos ésteres sintetizados por catálise dos líquidos iônicos **2a** e **2b**.¹⁶

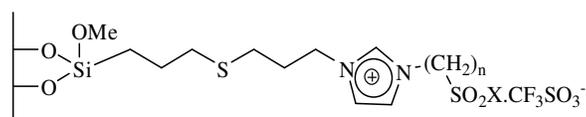
Ácido	Álcool	Razão	Tempo (h)	Rendimento ^{a,b}
		Ácido/álcool/L		2a/2b(%)
Butanóico	Metanol	1:1:0,1	5	49 / 51
Pentanóico	Metanol	1:1:0,1	5	47 / 50
Hexanóico	Metanol	1:1:0,1	5	48 / 51
Octanóico	Metanol	1:1:0,1	5	27 / 31
Dodecanóico	Metanol	1:1,5:0,1	5	15 / 19 ^c
Hexadecanóico	Metanol	1:1,5:0,1	5	8 / 10 ^c
Butanóico	Etanol	1:1:0,1	5	48 / 52
Pentanóico	Etanol	1:1:0,1	5	48 / 48
Hexanóico	Etanol	1:1:0,1	5	46 / 50
Octanóico	Etanol	1:1:0,1	5	22 / 26
Dodecanóico	Etanol	1:1,5:0,1	5	12 / 13 ^c
Hexadecanóico	Etanol	1:1,5:0,1	5	7 / 8 ^c

^a Rendimento baseado no produto bruto isolado; ^b Pureza não inferior a 95%(CG); ^c Excesso de álcool para dissolver.

Qiao e colaboradores,¹⁷ pesquisaram a síntese de ésteres a partir dos ácidos graxos etanóico e decanóico, com os alcoóis, etanol, octanol e decanol, e catalisador heterogêneo. Um líquido iônico foi modificado com sílica gel a reação é apresentada no **Esquema 7**. Os rendimentos foram de 72 a 95% apresentados na **Tabela 5**.¹⁷



Esquema 7. Reação de esterificação promovida por catalisador heterogêneo.¹⁷



3a. $n=3$, $X=OH$ 3b. $n=4$, $X=OH$

4a. $n=3$, $X=Cl$ 4b. $n=4$, $X=Cl$

Figura 5. Catalisador heterogêneo.¹⁷

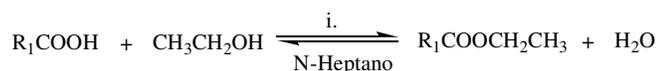
Tabela 5. Taxa de conversão de ésteres.¹⁷

R1	R2	Cat	Temperatura (°C)	Tempo(h)	Rendimento ^b
CH ₃	C ₂ H ₅	3a/SG	80	6	76
CH ₃	C ₂ H ₅	3b/SG	80	6	81
CH ₃	C ₂ H ₅	4a/SG	80	6	72
CH ₃	C ₂ H ₅	4b/SG	80	6	82
CH ₃	C ₂ H ₅	4b	80	6	82
CH ₃ ^c	C ₂ H ₅	4b/SG	80	6	81
CH ₃	<i>n</i> -C ₈ H ₁₇	4b/SG	100	8	94
CH ₃	<i>n</i> -C ₁₀ H ₂₁	4b/SG	100	8	95
<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	C ₂ H ₅	4b/SG	100	8	86
<i>n</i> -C ₉ H ₁₉	<i>n</i> -C ₁₀ H ₂₁	4b/SG	100	8	90

^a Alcool: 20 mmol; ácido carboxílico:10 mmol, a razão molar de ácido carboxílico para líquido iônico foi mantido em 350; ^b rendimentos foram obtidos por cromatografia gasosa; ^c Resultado foi obtido após três reciclagens.

Conforme demonstrado na **Tabela 5**, reações catalisadas por líquidos iônicos, apresentaram bons rendimentos, observa-se no caso do catalisador 4b/SG^C, mesmo após três reciclagens do catalisador, o mesmo ainda assim, apresentou-se eficiente.

Sun e colaboradores,¹⁸ estudaram a esterificação de ácidos graxos catalisada pela enzima lipase *Chinensis Rhizopus*, as esterificações foram realizadas em *n*-heptano, a 40°C. Foram usados álcool e ácidos graxos em igual proporção de 0,6 mol/L, com tempo de reação de 15 a 20h. Sete ácidos graxos foram testados, claramente, a lipase exibiu uma afinidade particular de ácidos graxos de cadeia mais longa. Entre os ácidos graxos saturados o ácido caprílico testado foi o mais eficiente, com o rendimento final de 92%. A reação é apresentada no **Esquema 8**.¹⁸

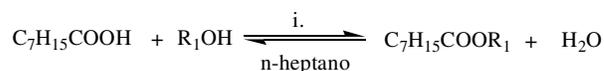


i. *lipase Chinensis Rhizopus*

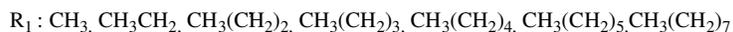


Esquema 8. Reação de esterificação catalisada pela lipase *Chinensis Rhizopus*.¹⁸

Sun e colaboradores,¹⁸ testaram também a conversão de ácido caprílico com vários alcoóis (metanol, etanol, 1-propanol, 1-butanol, 1-pentanol, 1-hexanol e 1-octanol), também em *n*-heptano, a reação é apresentada no **Esquema 9**. A enzima apresentou uma afinidade particular com o etanol, *n*-propanol e *n*-hexanol, com conversões final de 92%, 93% e 92% com 20 h, respectivamente. Em particular o metanol parece ter um efeito desfavorável sobre a ação da enzima (rendimento de 65%).¹⁸



i. *lipase Chinensis Rhizopus*



Esquema 9. Reação de esterificação do ácido caprílico.¹⁸

3. Álcoois para produção de biodiesel

Os álcoois utilizados na transesterificação são: metanol, etanol, propanol, butanol e álcool amílico. O metanol e o etanol são utilizados com mais frequência em pesquisas de laboratório e na indústria de biodiesel. O baixo custo de metanol torna a primeira escolha para a reação de transesterificação. O etanol, no entanto, é derivado de produtos agrícolas (de fontes renováveis), e mais vantajoso para o meio ambiente que o metanol. No entanto, álcoois de maior peso molecular, como o butanol possuem vantagens interessantes. Por exemplo, o butanol tem melhor miscibilidade com a matéria-prima lipídica do que de álcoois de menor dimensão. Além disso, os elevados pontos de ebulição dos álcoois maiores permitem que os sistemas de reação líquidos sejam operados em altas temperaturas mantendo pressões moderadas.¹²

4. Ultrassom na química orgânica

Nos últimos anos vem aumentando a utilização do ultrassom em reações orgânicas. Isto ocorre devido às vantagens que esta ferramenta proporciona como a redução do tempo de reação, a redução do consumo de energia, redução na quantidade de solventes e aumento do rendimento das reações.⁴⁻⁷ O ultrassom tem uma freqüência característica num intervalo acima de 20 KHz, sendo que a sensibilidade do ouvido humano está na faixa de 10Hz a 18 KHz conforme é ilustrado na **Figura 6**.⁴

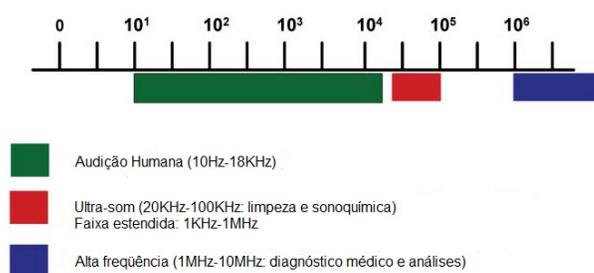


Figura 6. Regiões de freqüência do som.⁶

O que torna o ultrassom uma ferramenta tão poderosa é o fenômeno físico da cavitação, baseado no processo de criar, aumentar e implodir cavidades de vapor e gases.⁴⁻⁷

A irradiação de ultrassom obedece ciclos contínuos de compressão-expansão que gera as cavidades. Durante a etapa de compressão a pressão é positiva, enquanto que a expansão resulta em “vácuo”, chamado de pressão negativa. Na etapa de compressão os gases ou vapores, no interior da cavidade, são comprimidos para o interior da partícula, e na etapa de expansão esses gases ou vapores são dirigidos para fora da partícula. A cavidade aumenta de tamanho em direção ao interior do líquido, separa-se da partícula permanecendo um núcleo na cavidade.⁴

A origem da cavitação se deve ao fato que, durante a expansão, os gases adsorvidos no líquido ao redor da cavidade ou na interface, evaporam-se resultando na expansão da cavidade. Durante a etapa de compressão estes gases ou vapores não retornam completamente ao líquido, resultando num aumento efetivo da cavidade. Ciclos periódicos de compressão e expansão causam aumento do tamanho da cavidade. A cavidade ao atingir um tamanho

crítico implode-se, liberando grande quantidade de calor e pressão num curto período de tempo e em pontos localizados do líquido,⁴ possibilitando assim uma energia disponível suficiente para acelerar processos químicos.

Dentro do contexto das pesquisas em sonoquímica, muitos pesquisadores vem estudando o uso do ultrassom em reações de esterificação e transesterificação para aplicação na produção de biodiesel. Hingu e colaboradores,¹⁹ estudaram a energia do ultrassom para a transesterificação do óleo de fritura com metanol sob catálise alcalina de KOH. Foram investigados diferentes parâmetros de razão molar óleo e metanol (4:1, 5:1, 6:1 e 7:1), concentração do catalisador (0,5 %, 0,75 %, 1% e 1,25 %), temperatura (35 °C, 45 °C e 55 °C) e energia do ultrassom (150 W, 200 W e 250 W). Constataram que as melhores condições para o processo de transesterificação foi realizada na razão molar de álcool e óleo de 6:1, concentração de catalisador de um peso de 1%, temperatura de 45 °C e potência do ultrassom de 200W com um tempo de irradiação de 40 min.¹⁹

Hanh e colaboradores,²⁰ realizaram a transesterificação de trioleína com vários álcoois como o metanol, etanol, 1-propanol, 2-propanol, 1-butanol, 2-butanol, 1-hexanol, 2-hexanol, 1-octanol, 2-octanol e 1-decanol foi investigado as condições de razão molar de 6:1 (álcool:trioleína), 25 °C na presença de 1% dos catalisadores NaOH e KOH, sob irradiação de ultrassom (40 kHz). O mesmo experimento também foi realizado via agitação mecânica (1800 rot / min) por 60 min. Foi constatado que o ultrassom foi mais eficiente que a agitação mecânica, outro detalhe constatado é que o aumento de rendimento da reação foi inversamente proporcional ao aumento da cadeia do álcool. Por outro lado, as reações com álcoois secundários como o 2-propanol, 2-butanol, 2-hexanol e 2-octanol demonstraram uma baixa conversão em ésteres, sugerindo que o impedimento estérico afetou fortemente a transesterificação de trioleína.²⁰

Stavarache e colaboradores,²¹ realizaram a transesterificação de óleos vegetais com álcoois de cadeia curta, na presença de catalisador alcalino, por meio da radiação do ultrassom (28 e 40 kHz), a fim de obter biodiesel. Os resultados obtidos são demonstrados nas **Tabelas 6, 7, 8, 9, 10 e 11.**²¹

Tabela 6. Rendimento de reações de transesterificação com metanol.²¹

Método	0,5% NaOH		1,0% NaOH		1,5% NaOH	
	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a
Agitação mecânica	60	80	10	91	10	35
Irradiação por ultrassom 28kHz	40	98	10	95	10	75
Irradiação por ultrassom 40kHz	20	98	10	91	10	68

^aRendimento do produto isolado**Tabela 7.** Rendimento de reações de transesterificação com etanol.²¹

Método	0,5% NaOH		1,0% NaOH		1,5% NaOH	
	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a
Agitação mecânica	20	79	20	40	10	47
Irradiação por ultrassom 28kHz	50	74	20	75	20	75
Irradiação por ultrassom 40kHz	20	88	10	48	10	30

^aRendimento do produto isolado**Tabela 8.** Rendimento de reações de transesterificação com *n*-propanol.²¹

Método	0,5% NaOH		1,0% NaOH		1,5% NaOH	
	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a
Agitação mecânica	10	78	10	47	10	79
Irradiação por ultrassom 28kHz	20	92	20	83	20	75
Irradiação por ultrassom 40kHz	10	88	10	56	10	78

^aRendimento do produto isolado**Tabela 9.** Rendimento de reações de transesterificação com *n*-butanol.²¹

Método	0,5% NaOH		1,0% NaOH		1,5% NaOH	
	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a
Agitação mecânica	>60	83	40	90	20	89
Irradiação por ultrassom 28kHz	60	99	40	90	40	87
Irradiação por ultrassom 40kHz	>60	92	40	99	20	90

^aRendimento do produto isolado**Tabela 10.** Rendimento de reações de transesterificação com metanol.²¹

Método	0,5% KOH		1,0% KOH		1,5% KOH	
	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (min)	Rendimento (%) ^a
Agitação mecânica	60	86	40	85	20	83
Irradiação por ultrassom 28kHz	40	95	40	93	40	93
Irradiação por ultrassom 40kHz	20	96	40	92	20	90

^aRendimento do produto isolado

Tabela 11. Rendimento de ésteres isolados*.²¹

Método	0,5% KOH			1,0% KOH			1,5% KOH		
	EtOH	PrOH	BuOH	EtOH	PrOH	BuOH	EtOH	PrOH	BuOH
Agitação mecânica	55	76	91	57	60	91	44	29	97
Irradiação por ultrassom 28kHz	81	78	92	71	68	94	49	81	98
Irradiação por ultrassom 40kHz	55	76	91	65	55	95	38	53	98

*O tempo de reação é a mesma que no caso de hidróxido de sódio

Com os estudos os autores constataram que ao aplicar o ultrassom o tempo de reação é menor (10 - 40 min) do que com a agitação mecânica, a quantidade de catalisador necessária é de 2 ou 3 vezes menor, a razão molar de álcool e óleo utilizado é de 6:1. Álcoois de cadeia normal reagem rápido, enquanto álcoois secundários e terciários mostram alguma ou nenhuma conversão após 60 min de reação. A irradiação de 40 kHz são muito mais eficazes no tempo de reação de 10 a 20 min e a irradiação de 28 kHz tem rendimento um pouco melhores (98-99%) em tempos de reação maiores.²¹

Hanh e colaboradores,²² estudaram a produção de ésteres etílicos a partir de ácido oléico com álcoois de cadeia curta (etanol, propanol e butanol), sob irradiação de ultrassom. Testaram o efeito da temperatura de 10, 20, 30, 40, 50 e 60 °C, razão molar de álcool e ácido oleico de 1:1, 2:1, 3:1, 4:1, 6:1, e 10:1, os catalisadores H₂SO₄ e CH₃COOH nas quantidades de catalisador 0,5 - 10% e tempo de irradiação de 10 h. Os autores constataram que a melhor condição para o processo de esterificação foi a razão molar de álcool e ácido oléico de 3:1 com 5% em peso de H₂SO₄ a 60 °C com um tempo de irradiação de 2 h.²

5. Matérias-primas para produção de Biodiesel

A procura por matérias-primas alternativas e economicamente viáveis tem sido um dos principais focos da pesquisa na área de biodiesel. A fonte ideal para a produção de biocombustíveis depende principalmente da sua disponibilidade e do seu custo.⁸ Comumente, o biodiesel é preparado a partir de fontes como óleos e gorduras. Óleos e gorduras pertencem a uma ampla

família de substâncias chamados de lipídios. Em geral, lipídios são encontrados em animais e plantas. Óleos e gorduras são basicamente formadas de moléculas de triglicerídeos. Uma molécula de triglicerídeo é um triéster de glicerol (um triol) e três ácidos graxos (ácidos carboxílicos de cadeia alquílica longa). Mono e diglicéridos podem ser obtidos substituindo dois e um ácido graxo do triglicerídeo com grupos de hidroxila respectivamente. Matérias-primas lipídicas utilizadas na produção de biodiesel podem conter uma mistura de todas essas espécies de glicerídeos mais alguns ácidos graxos livres.

Estudos experimentais mostraram que diversos óleos vegetais podem ser utilizados como matéria-prima para produção de biodiesel, como a soja,²³ girassol,²⁴ babaçu,²⁵ milho,²⁶ algodão,²⁷ canola,²⁸ e ainda o uso do óleo de fritura residual.²⁹

A procura por matéria-prima para a produção de biocombustíveis não se limita a óleos e gorduras, entrando também no campo de microalgas. Recentes estudos mostraram que o biodiesel pode ser obtido a partir destes microorganismos, devido à facilidade de cultivo principalmente no que diz respeito a simplicidade de nutrientes necessários, a duplicação da biomassa em um curto período de tempo e a possibilidade de controlar estas condições. Neste sentido, é emergente a aplicação de microalgas como matéria-prima alternativa para a produção de biodiesel.³⁰

Em especial, as microalgas são organismos aquáticos, que crescem em ambientes de água doce e salgada. Podem usar diferentes metabolismos energéticos para manutenção de suas estruturas, como fotossíntese, respiração e fixação de nitrogênio, o que torna algumas espécies organismos únicos, com amplo espectro de aplicação tecnológica.^{31,32} A biomassa de microalgas contém três componentes principais: carboidratos, proteínas e lipídios. A composição da biomassa é útil para caracterizar e relacionar as espécies de microalgas. Sabendo que para constituir uma matéria-prima de biodiesel, esta deve ser rica em ácido graxo, uma microalga com um teor de proteínas muito alto e baixo teor de lipídios não seria útil como matéria-prima para biocombustíveis.³³

5.1. Potencial das microalgas como matéria-prima para Biodiesel

Brennan e colaboradores³⁴ citam uma série de vantagens da biomassa microalgal para produção de biodiesel como: as microalgas crescem em meio aquoso, mas em comparação com culturas terrestres precisam de menos água, portanto, reduz o consumo sobre as fontes de água doce; microalgas podem ser cultivadas em água salgada e em terras não aráveis, minimizando impactos ambientais associados também não comprometendo a produção de alimentos; as microalgas têm potencial para produção de lipídios, em muitas espécies o teor de óleo pode chegar a 50% do peso seco da biomassa, e o crescimento pode dobrar em períodos de 3,5 h. No que diz respeito à manutenção e melhoria da qualidade do ar, a produção de biomassa pode ter um efeito de biofixação de CO₂, e os nutrientes para o cultivo de microalgas (principalmente nitrogênio e fósforo) podem ser obtidos a partir de águas residuais, portanto, além do fornecimento de meio de crescimento, existe um potencial para o tratamento de efluentes orgânicos. O cultivo de algas não exige aplicação de herbicidas ou agrotóxicos e também, a biomassa microalgal após a extração do óleo, pode servir como co-produto, pode ser utilizado como alimento ou fertilizante, ou fermentada para produzir etanol ou metano.³⁴

Em uma ampla revisão realizada por Chisti e colaboradores,³² foi constatado que a microalga, quando comparada com outras culturas, apresenta-se como excelente alternativa para a produção de biodiesel, devido ao elevado teor de óleo como apresentado na **Tabela 12**.

Tabela 12. Comparação de produção de óleo por microalga com outras culturas.³²

Fonte de biodiesel	Produtividade óleo(L/ha)
Milho	172
Soja	446
Canola	1190
Coco	2689
Óleo de palma	5950
Microalga ^a	58700

^a variedades com 30% óleo (em peso) na biomassa.

A microalga apresenta-se com uma produção em litros por hectare muitas vezes superior, em comparação com culturas típicas para produção do biodiesel, como a soja e a palma.

A quantidade de óleo produzido pela microalga varia conforme a composição bioquímica da alga e do tipo de cultivo utilizado. O conteúdo lipídico de algumas microalgas está listado na **Tabela 13**. Como pode ser observado algumas espécies podem exceder a 70% de ácidos graxos.¹¹

Tabela 13. Quantidade de óleo produzido por algumas espécies de microalgas.¹¹

Microalga	Conteúdo de óleo (% peso massa seca)
<i>Botryococcus braunii</i>	25 –75
<i>Chlorella SP</i>	28-32
<i>Cryptocodinium cohnii</i>	20
<i>Cylindrotheca sp.</i>	16-37
<i>Dunaliella primolecta</i>	23
<i>Isochrysis sp.</i>	25–33
<i>Monallanthus salina</i>	>20
<i>Nannochloris sp.</i>	20-35
<i>Nannochloropsis sp.</i>	31-68
<i>Neochloris oleoabundans</i>	35-54
<i>Nitzschia sp.</i>	45-47
<i>Phaeodactylum tricornutum</i>	20-30
<i>Schizochytrium sp.</i>	50-77
<i>Tetraselmis suecica</i>	15–23

5.2. Cultivo de Microalgas

Sob condições naturais de crescimento as microalgas fototróficas absorvem luz solar, e assimilam dióxido de carbono do ar e nutrientes dos habitats aquáticos. Portanto, na medida do possível, a produção artificial deve tentar replicar as condições naturais de crescimento. O uso de condições naturais para a produção de microalgas comerciais tem a vantagem de utilizar a luz solar como recurso natural, gratuito. No entanto, limita-se assim a disponibilidade da radiação solar. Para resolver as limitações das condições de crescimento com a radiação solar pode-se utilizar luz artificial, empregando

lâmpadas fluorescentes, esta iluminação permite a contínua produção, mas a entrada de energia é significativamente maior.³⁴

Para o crescimento as microalgas podem fixar CO₂ a partir de três fontes distintas: CO₂ da atmosfera; CO₂ da descarga de indústrias, e de CO₂ dos carbonatos solúveis como Na₂CO₃ e NaHCO₃.³⁴ Segundo Lourenço³⁵ um dos pilares fundamentais do cultivo de microalgas é o conhecimento dos nutrientes necessários a seu desenvolvimento. Todos os meios de cultura devem contemplar as necessidades nutricionais das microalgas.³⁵

Assim, reconhece-se um conjunto de 15 e 21 elementos tratados como essenciais para o crescimento e composição química de microalgas marinhas. Carbono, nitrogênio, hidrogênio, oxigênio, fósforo, magnésio, cobre, zinco e molibdênio são considerados universalmente necessários para todas as algas. Enxofre, potássio e cálcio também são necessários, mas podem ser ao menos parcialmente substituídos por outros elementos. Sódio, cobalto, vanádio, selênio, silício, cloro, boro e iodo são exigidos apenas por algumas algas.³⁵

Os diferentes elementos nutrientes são necessários em concentrações altamente variáveis. Dependendo da quantidade exigida para os processos metabólicos, os elementos nutrientes podem ser classificados em duas categorias fundamentais: macronutrientes (H, O, N, P, K, Mg, Si, Fe) e micronutrientes (Mn, Cu, Zn, Mo, V, B, Co, Ca, Na, Se, Ni).³⁵

5.3. Extração do óleo de Microalgas

A extração de lipídios a partir de massa de microalgas representa uma importante etapa no processo global de fabricação de biodiesel. Vários métodos ou técnicas são relatadas na literatura como extração por Soxhlet,³⁶ (com n-hexano como solvente), a técnica de *Bligh e Dyer*,³⁷⁻⁴⁰ método com uma mistura de clorofórmio e metanol como solventes, uma técnica de microondas, extração supercrítica,⁴¹ extração assistida por ultrassom e extração de fluido pressurizado.⁴²

O mecanismo exato dessas técnicas para a extração de óleo é diferente, embora, a maioria das técnicas envolva rompimento da célula microbiana para a liberação de gotículas de óleo presentes no citoplasma. A

escolha de uma técnica particular de extração de lipídios depende de vários fatores como a espécie, o conteúdo lipídico inicial, e a quantidade de biomassa tratada por unidade de tempo.⁴²

Ranjan e colaboradores⁴¹ fizeram extração do óleo de microalgas através das seguintes técnicas: extração por soxlet, hexano por ultrassom, clorofórmio e metanol por ultrassom, *Bligh e Dyer*, e concluíram que a técnica mais eficiente foi a sonicação com clorofórmio e metanol, o *Bligh Dyer* foi o segundo método mais eficiente e as técnicas que tiveram rendimentos menores e equivalentes foram por soxlet e sonicação com hexano como solvente.⁴¹

Burja e colaboradores⁴² avaliaram vários métodos de extração de ácidos graxos a partir de uma biomassa seca da microalga *Thraustochytrium sp.* O método direto de saponificação com KOH em etanol ou hexano: etanol foi uma das técnicas mais eficientes para extrair lipídios. A maior quantidade de ácidos graxos, foi extraído usando a técnica de extração *Bligh e Dyer* miniaturizados. O uso de ultrassom para romper as paredes celulares durante a extração com solventes (metanol: clorofórmio) também ofereceu elevados rendimentos de extração de ácidos graxos.⁴²

5.4. Biodiesel de Microalgas

Ehimen e colaboradores,⁴³ descreveram o efeito das importantes variáveis da reação na produção de biodiesel. A transesterificação *in situ* sob catálise ácida é efetuada a partir de ácidos graxos provenientes de biomassa algal (*chlorela*). Os autores trabalham com a gravidade específica do biodiesel produzido, a fim de monitorar o processo de conversão.⁴³ Os resultados descritos por Ehimen e colaboradores indicaram que um aumento na quantidade de álcool e um aumento na temperatura reacional, levam a uma melhor conversão de ésteres metílicos oriundos de ácidos graxos (FAMES). No entanto, a transesterificação *in situ* efetuada a temperatura ambiente (23 °C), mostrou-se uma exceção ao caso, visto o equilíbrio na conversão dos FAMES parecer aproximar-se dos limites assintóticos para tempos de reações superiores a 8 h para todas as temperaturas investigadas. Aliado a isso, agitação constante do meio reacional, segundo Ehimen afirma, é o que influencia positivamente na taxa de conversão.⁴³ Contudo, há um fator limitante

na conversão, e este mostrou-se na quantidade de umidade presente na biomassa algal, visto que, quanto maior o teor de umidade da matéria-prima, mais difícil será a extração de lipídios, portanto menor será o rendimento de ácido graxo produzido, sugerindo assim que, a biomassa deve conter um pequeno teor de umidade para se ter uma conversão satisfatória.⁴³

Em um trabalho realizado por Umdu e colaboradores,⁴⁴ os autores reportam a síntese de biodiesel a partir da microalga *Nannochloropsis oculata*. O processo de transesterificação se dá via suporte sólido (Al_2O_3 , CaO e MgO) como catalisador. Segundo os autores a mistura de óxidos mostrou alta atividade na conversão de ésteres tendo sido obtido um rendimento de biodiesel produzido de 97%. Aliado a isso, o catalisador utilizado na reação de transesterificação pode ser empregado por mais duas vezes, tornando o processo economicamente rentável.⁴⁴

Hellingwerf e colaboradores,⁴⁵ descrevem a síntese de biodiesel através de uma reação fototrófica. Nesta reação, organismos quimiotróficos combinados com moléculas de açúcar C_3 gliceraldeído-3-fosfato como um centro intermediário ligante levam a formação de uma série de álcoois de cadeia curta. Segundo Hellingwerf a mesma estratégia pode ser explorada para a produção de biodiesel, conforme a composição bioquímica da microalga a ser utilizada no processo.⁴⁵

Em especial, a microalga *Schizochytrium limacinum* é um microorganismo capaz de produzir grande quantidade de biomassa com significativo conteúdo lipídico. Em recente trabalho Johnson e colaboradores⁴⁶ exploraram o potencial de produção de biodiesel derivado de microalgas usando diferentes metodologias, incluindo a extração de óleo seguido pela transesterificação em dois estágios, bem como a transesterificação direta da biomassa (em uma etapa). Segundo Johnson e colaboradores⁴⁶ quando se usa biomassa seca, a metodologia em dois passos (extração seguida de transesterificação) rendeu 57% de biodiesel, com 66% de ésteres metílicos (FAMES) e a metodologia em um único passo (transesterificação direta levou a altos rendimentos de biodiesel produzido.⁴⁶

Francisco e colaboradores⁴⁷ realizaram a síntese de biodiesel a partir de seis espécies de microalgas, extraíram os lipídios com o método *Bligh Dyer*, esterificaram com NaOH em metanol. Foi obtido biodiesel de diferentes fontes de microalgas. A **Tabela 14**⁴⁷ apresenta de forma resumida alguns dados da análise do biocombustível.

Tabela 14. Qualidade do Biodiesel de microalgas.⁴⁷

Fonte	TE(%)	NC	IS	II(gI ₂ 100g ⁻¹)	GI(%)	PEFF(°C)
<i>Aphanothece</i>	99,9	55,8	225,1	65,4	70,6	-4,6
<i>Chlorella</i>	99,8	56,7	217,8	65,0	74,1	4,5
<i>Dunaliella</i>	99,8	52,2	220,8	83,8	98,0	-8,4
<i>Phaeodactylum</i>	99,9	53,7	266,1	58,7	52,7	-12,3
<i>Phormidium</i>	99,8	54,6	217,9	74,5	76,3	4,4
<i>Scenedesmus</i>	99,8	56,1	217,5	68,2	67,8	20,8

TE- Teor de Ésteres; NC- Número de Cetano; IS- Índice de Saponificação; II- Índice de Iodo; GI- Grau de Insaturações; PEFF- Ponto de Entupimento de Filtro a Frio;⁴⁷

Os autores concluíram com os resultados obtidos que o biodiesel está em conformidade com o padrão dos EUA (ASTM 6751), Norma Europeia (EN 14214), Agência Nacional do Petróleo (ANP 255) e padrão australiano para biodiesel.

III. APRESENTAÇÃO E DISCUSSÃO DOS RESULTADOS

Neste capítulo num primeiro momento será apresentada a nomenclatura dos reagentes de partida para as reações de formação de ésteres que são os ácidos carboxílicos **1a-e**, alcoóis **2** e **3** e por último os ésteres metílicos **4a-e** e etílicos **5a-e** sintetizados neste trabalho. Serão discutidas as condições para as reações de síntese dos compostos, o mecanismo das reações e produtos.

Num segundo momento será apresentada a síntese do biodiesel de microalgas. Também serão discutidas as condições reacionais e apresentados os rendimentos do produto obtido.

1.Ésteres

1.1. Numeração e Nomenclatura das Substâncias

De forma resumida, foi estabelecida a seguinte numeração: **1a-e** para os ácidos graxos, **2 e 3** para os alcoóis por último **4a-e** para os ésteres metílicos e **5a-e** para os ésteres etílicos desejados.

As nomenclaturas utilizadas no *Chemical Abstracts* dos compostos sintetizados neste trabalho estão apresentadas nas **Tabelas 15-17**.

Tabela 15. Nomenclatura dos ácidos graxos.

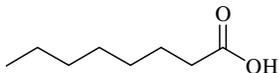
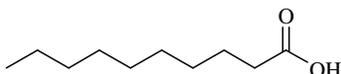
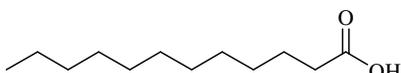
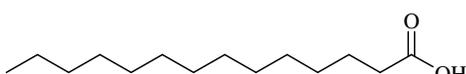
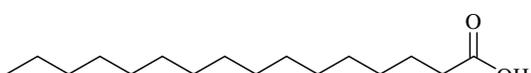
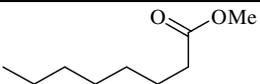
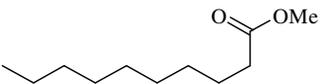
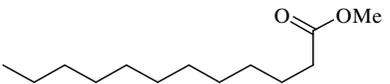
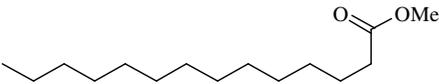
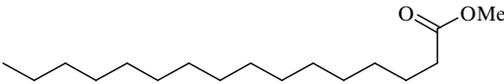
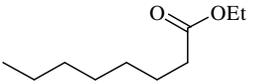
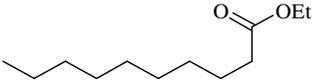
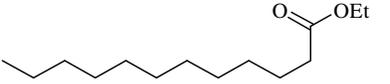
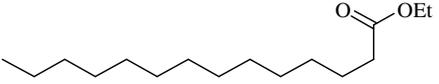
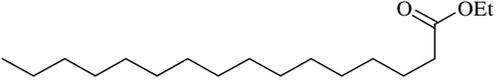
Composto	Estrutura	Nomenclatura Oficial (Usual)
1a		Ácido Octanóico (Caprílico)
1b		Ácido Decanóico (Cáprico)
1c		Ácido Dodecanóico (Láurico)
1d		Ácido Tetradecanóico (Mirístico)
1e		Ácido Hexadecanóico (Palmítico)

Tabela 16. Nomenclatura dos álcoois.

Composto	Estrutura	Nomenclatura
2	$\text{H}_3\text{C-OH}$	Metanol
3	$\text{H}_3\text{C-CH}_2\text{-OH}$	Etanol

Tabela 17. Nomenclatura dos ésteres.

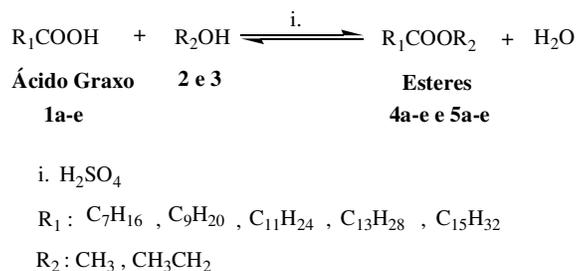
Composto	Estrutura	Nomenclatura
4a		Octanoato de metila
4b		Decanoato de metila
4c		Dodecanoato de metila
4d		Tetradecanoato de metila
4e		Hexadecanoato de metila
5a		Octanoato de etila
5b		Decanoato de etila
5c		Dodecanoato de etila
5d		Tetradecanoato de etila
5e		Hexadecanoato de etila

1.2. Síntese e caracterização dos compostos 4a-e e 5a-e

1.2.1. Síntese de Ésteres

A procura por metodologias alternativas que facilitem as condições das reações químicas tem mobilizado a comunidade química. Dada a importância do biodiesel para a geração de energia, busca-se por alternativas que facilitem sua síntese, diminuam o tempo de síntese e o consumo de energia, conseqüentemente diminuindo seu custo de produção. Neste trabalho foi desenvolvida uma estratégia para síntese de ésteres metílicos e etílicos.

Os ésteres metílicos e etílicos **4a-e** e **5a-e** foram preparados através da reação dos ácidos graxos **1a-e** (4,0 mmol) e alcoóis metanol (16,8 mL) **2** e etanol (27,6 mL) **3** sob catálise de ácido sulfúrico (2,0 mmol) pelos métodos: convencional (refluxo) por 3 a 5 horas e sob irradiação de ultrassom de 15 a 30 minutos a temperatura ambiente (25°C). Após o tempo de reação, o álcool foi evaporado a pressão reduzida. Ao produto, foram adicionados 35mL de água destilada e o éster obtido foi extraído com éter etílico (3x20mL). A fração orgânica foi seca com Na₂SO₄, filtrada e o solvente foi evaporado.



Esquema 10. Síntese de ésteres.

Na **Tabela 18** são apresentados os resultados obtidos, é feita uma comparação dos dois métodos descritos neste trabalho (convencional e ultrassom), com métodos existentes na literatura.

Tabela 18. Resultados dos experimentos em comparação com a literatura.

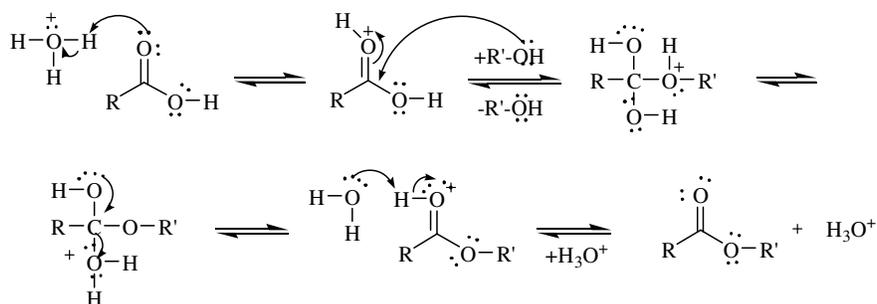
Composto	Fórmula e Peso Molecular (g/mol)	Ultrassom		Convencional		Literatura	
		Tempo (min)	Rendimento (%) ^a	Tempo (h)	Rendimento (%) ^a	Tempo (h)[ref]	Rendimento (%)[ref]
4a	C8:0/MeOH 158,13	30	93	5	80	21[47]	73[47]
4b	C10:0/MeOH 186,16	15	80	4	76	48[15]	71[15]
4c	C12:0/MeOH 214,19	20	63	3	63	4,5[16]	94[16]
4d	C14:0/MeOH 242,22	15	77	4	73	48[15]	79[15]
4e	C16:0/MeOH 270,26	20	73	3	73	48[15]	64[15]
5a	C8:0/EtOH 172,15	30	95	5	75	3,5[16]	95[16]
5b	C10:0/EtOH 200,18	15	78	4	76	8[17]	86[17]
5c	C12:0/EtOH 228,21	20	70	5	77	6[48]	65[48]
5d	C14:0/EtOH 256,24	30	50	4	65	30[18]	90[18]
5e	C16:0/EtOH 284,27	20	80	3	63	4.5[16]	90[16]

^aRendimento dos produtos isolados.

É possível enumerar algumas vantagens da metodologia desenvolvida para a reação de formação de ésteres a partir de ácidos graxos alifáticos com alcoóis (etanol e metanol) em meio ácido (H₂SO₄) como:

- i) Fácil procedimento de síntese;
- ii) Fácil isolamento das reações;
- iii) Reações rápidas;
- iv) Boa reprodutibilidade;
- v) Baixa temperatura de reação;
- vi) Bons rendimentos comparados com a literatura.

1.2.2. Mecanismo de Reação



R: C₇H₁₆, C₉H₂₀, C₁₁H₂₄, C₁₃H₂₈, C₁₅H₃₂

R': CH₃, CH₂CH₃

Esquema 11. Mecanismo de esterificação de ácidos graxos.

O mecanismo desta reação ocorre primeiramente com o ácido carboxílico sendo protonado pelo catalisador ácido sulfúrico, o par de elétrons do oxigênio do álcool (metanol ou etanol) ataca o grupo carbonila protonado e um intermediário tetraédrico é formado, após ocorre a perda de água, formando o éster correspondente.¹¹

1.3. Identificação dos ésteres 4a-e e 5a-e

1.3.1. Caracterização por espectrometria de massas

Os produtos obtidos das reações dos ácidos graxos C8 a C16 com etanol e metanol tiveram suas estruturas determinadas através de dados de espectrometria de massas. Foram selecionados os espectros de massas do composto **4a** para demonstrar a interpretação dos dados.

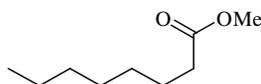
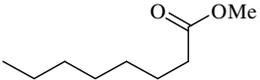
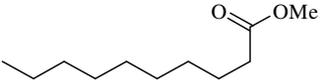
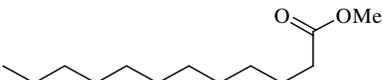
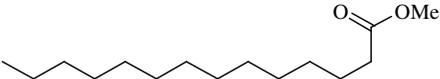
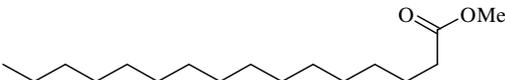
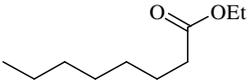
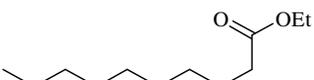
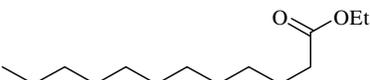
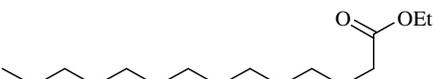
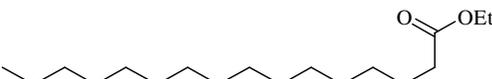


Figura 7. Octanoato de metila

Tabela 19. Dados de espectrometria de massas dos compostos **4a-e** e **5a-e**.

Composto	Estrutura	Dados de Massas
4a		m/z (%) 158 (M+1, 2), 127 (19), 115 (11), 101(10), 87(48), 74(100), 55(27), 43(38).
4b		m/z (%) 186(M+1, 3), 155 (12), 143 (26), 101 (9), 87 (55), 74 (100), 55 (26), 43 (34).
4c		m/z (%) 214 (M+1, 3), 183 (8), 171(12), 143(17), 87(67), 74(100), 55(28), 43(33).
4d		m/z (%) 242(M+1, 9), 211(9), 199(17), 143(26), 87(70), 74(100), 55(30), 43(35).
4e		m/z (%) 270(M+1, 10), 239(7), 143(33), 87(74), 74(100), 55(35), 43(43).
5a		m/z (%) 172(M+1, 2), 127 (36), 115 (11), 101 (40), 88 (100), 73 (20), 57 (40), 41 (31).
5b		m/z (%) 200(M+1,3), 155(21), 143(5), 88(100), 73(19), 55(26), 43(30).
5c		m/z (%) 228(M+1, 5), 183(9), 157(17), 143(8), 129(8), 115(8), 101(54), 88(100), 73(18), 55(27), 43(33).
5d		m/z (%) 256 (M+1, 7), 211(9), 157(17), 101(60), 88(100), 73(17), 55(26), 43(35).
5e		m/z (%) 284(M+1, 9), 241(9), 157(17), 143(9), 101(61), 88(100), 70(17), 55(26), 43(35).

1.3.2. Dados de infravermelho

A partir dos espectros no infravermelho dos ésteres analisados observou-se a presença de estiramentos que caracterizaram esses compostos.

Escolheu-se o espectro do composto **4a** para interpretação dos dados e neste observou-se o estiramento da banda C=O que foi identificado em 1760 cm^{-1} . Foram observados também os estiramentos C-O na região de 1160 cm^{-1} e observações dos estiramentos C-H na região de 2920 cm^{-1} .

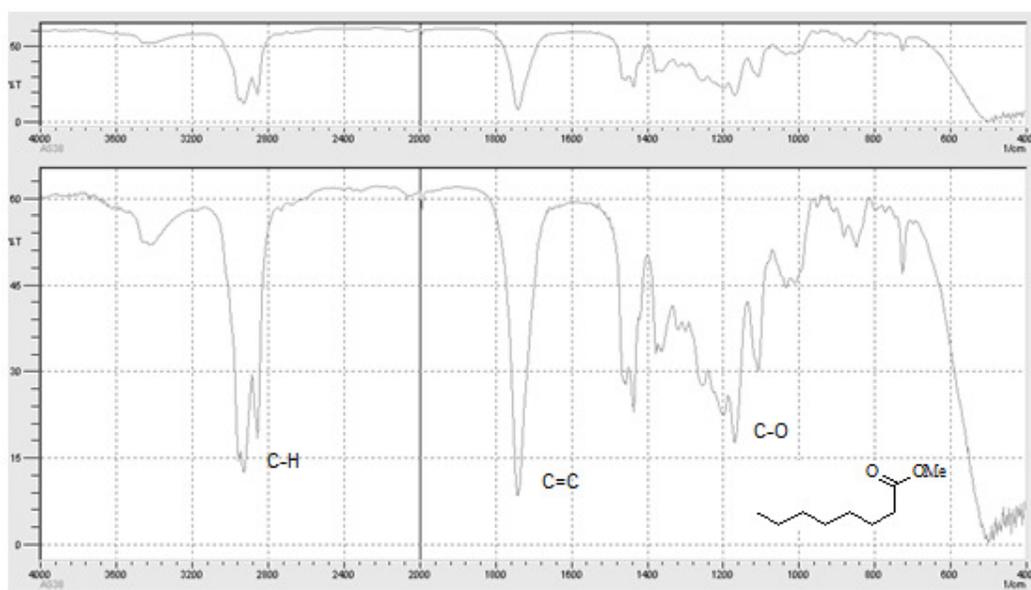


Figura 9. Espectro de infravermelho do composto **4a**.

Os demais espectros apresentaram características semelhantes. Destaca-se a ausência de estiramento característico da banda de OH, o que confirma a ausência do ácido graxo (substância de partida), no produto final.

2. Biodiesel de Microalgas em microescala

Neste trabalho foi avaliado o potencial da microalga *Chlorella vulgaris* para obtenção de biodiesel em microescala.

A microalga foi cultivada em erlenmeyer, mantida em sala climatizada à temperatura ambiente (25°C) sob aeração constante com bomba de aquário, e iluminação natural da sala de cultivo.

A microalga *Chlorella vulgaris* foi cultivada com o meio Braun–Grunow (BGN),⁴⁹ com a seguinte composição: K_2HPO_4 , $MgSO_4 \cdot 7H_2O$, $CaCl_2 \cdot 2H_2O$, citrato de ferro e amônio, KNa_2EDTA , Ácido cítrico, Na_2CO_3 , $NaNO_3$, H_3BO_3 , $MnCl_2 \cdot 4H_2O$, $ZnSO_4 \cdot 7H_2O$, $Na_2MoO_4 \cdot 2H_2O$, $CuSO_4$, $Co(NO_3)_2$, pH 7,6-7,8.

A biomassa microalgal obtida foi decantada, filtrada com bomba de vácuo, e seca. Após a microalga secar, foi determinado o teor lipídico.

2.1. Determinação do teor lipídico

O teor lipídico da microalga foi analisado através da adaptação do método descrito por *Bligh Dyer*,⁵⁰ utilizando para este 1 g de biomassa seca para uma mistura de clorofórmio (10 mL), metanol (10 mL) e solução de sulfato de sódio. A mistura ficou sob agitação a temperatura ambiente durante 30 minutos. Após a agitação, adicionou-se mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de sulfato de sódio 1,5%. Colocou-se na centrífuga (3000rpm) durante 30 minutos, a camada inferior foi coletada, contendo o clorofórmio, e evaporou o solvente sob corrente de nitrogênio. A partir da massa obtida calculou-se a porcentagem de lipídios.

A microalga apresentou um teor lipídico de 19%.

2.2. Biodiesel em microescala da *Chlorella vulgaris*.

Para a produção de biodiesel foi utilizado o método de transesterificação direta, utilizando-se 1 g de biomassa microalgal, 3,4mL de metanol, 4mL de clorofórmio e como catalisador, 0,6mL de ácido sulfúrico, sob refluxo por 40 min a 90° C, após o tempo de reação foi adicionado 10mL de solução de sulfato de sódio a 1,5% no sentido de otimizar a separação das fases. Posteriormente a mistura foi centrifugada (3000rpm) durante 30 minutos, a camada inferior foi coletada, contendo o clorofórmio, e evaporou o solvente sob corrente de nitrogênio. Obteve-se um rendimento de 24% de biodiesel bruto.

Os ésteres foram analisados por cromatografia gasosa, segundo a norma DIN 14103, utilizando padrão interno de heptadecanoato de metila e *n*-heptano como solvente. Através da equação:

$$C = \frac{(\sum A) - A_{EI}}{A_{EI}} \times \frac{C_{EI} \times V_{EI}}{m} \times 100\%$$

Sendo que,

$\sum A$, é determinado pela área total dos picos dos metil ésteres de C14:0 a C24:1

A_{EI} , é a área correspondente ao pico de heptadecanoato de metila

C_{EI} , é a concentração de heptadecanoato de metila (mg/mL)

V_{EI} , é o volume da solução de heptadecanoato de metila (mL)

m , é a massa da amostra (mg)

O biodiesel obtido apresentou um teor de ésteres de 52,6%.

A determinação da composição do biodiesel foi determinada pela relação de área dos diversos picos no cromatograma. Os picos foram identificados pelos tempos de retenção determinados a partir de padrões autênticos.

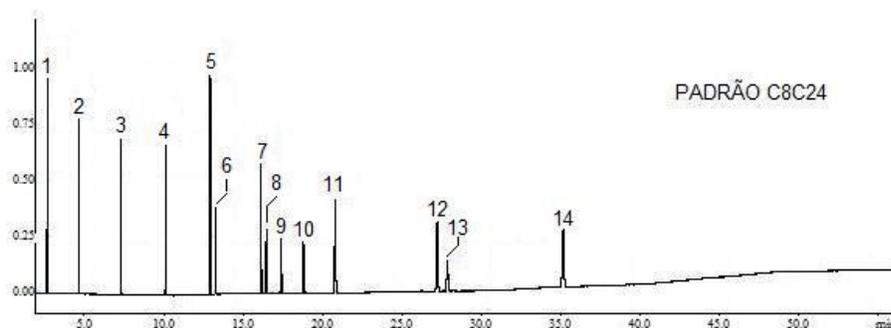


Figura 10. Cromatograma da solução comercial de FAMES - C8C24.

Tabela 20. Ésteres presentes no padrão C8C24.

Pico correspondente	Metil ésteres
1	Octanoato de metila (C8:0)
2	Decanoato de metila (C10:0)
3	Dodecanoato de metila (C12:0)
4	Miristato de metila (C14:0)
5	Palmitato de metila (C16:0)
6	Palmitoleato de metila (C16:1)
7	Estearato de metila (C18:0)
8	Oleato de metila (C18:1n9c)
9	Linoleato de metila (C18:2n6c)
10	Linolenato de metila (C18:3n3)
11	Araquidato de metila (C20:0)
12	Behenato de metila C22:0)
13	<i>cis</i> -13-docosenoato de metila (C22:1n9)
14	Tetracosanoato de metila (C24:0)

2.3. Cromatograma característico de ésteres obtidos na transesterificação direta da microalga *Chlorella vulgaris*:

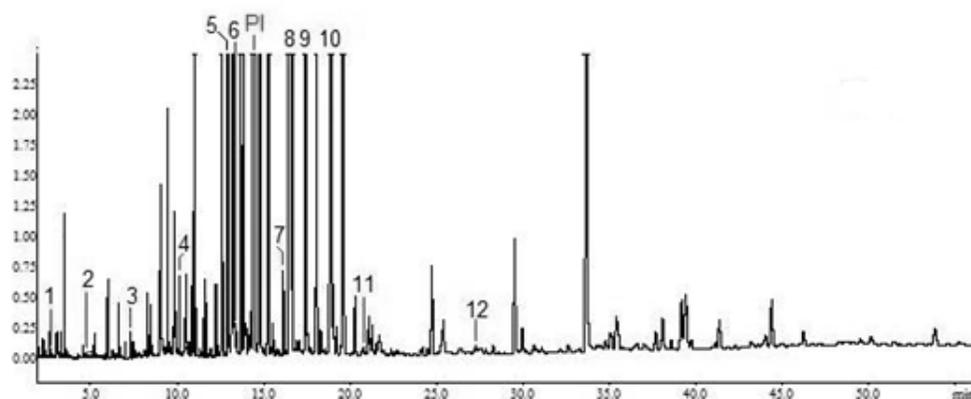
**Figura 11.** Cromatograma da transesterificação direta da *Chlorella vulgaris*.

Tabela 21. Porcentagem de ésteres presentes no biodiesel.

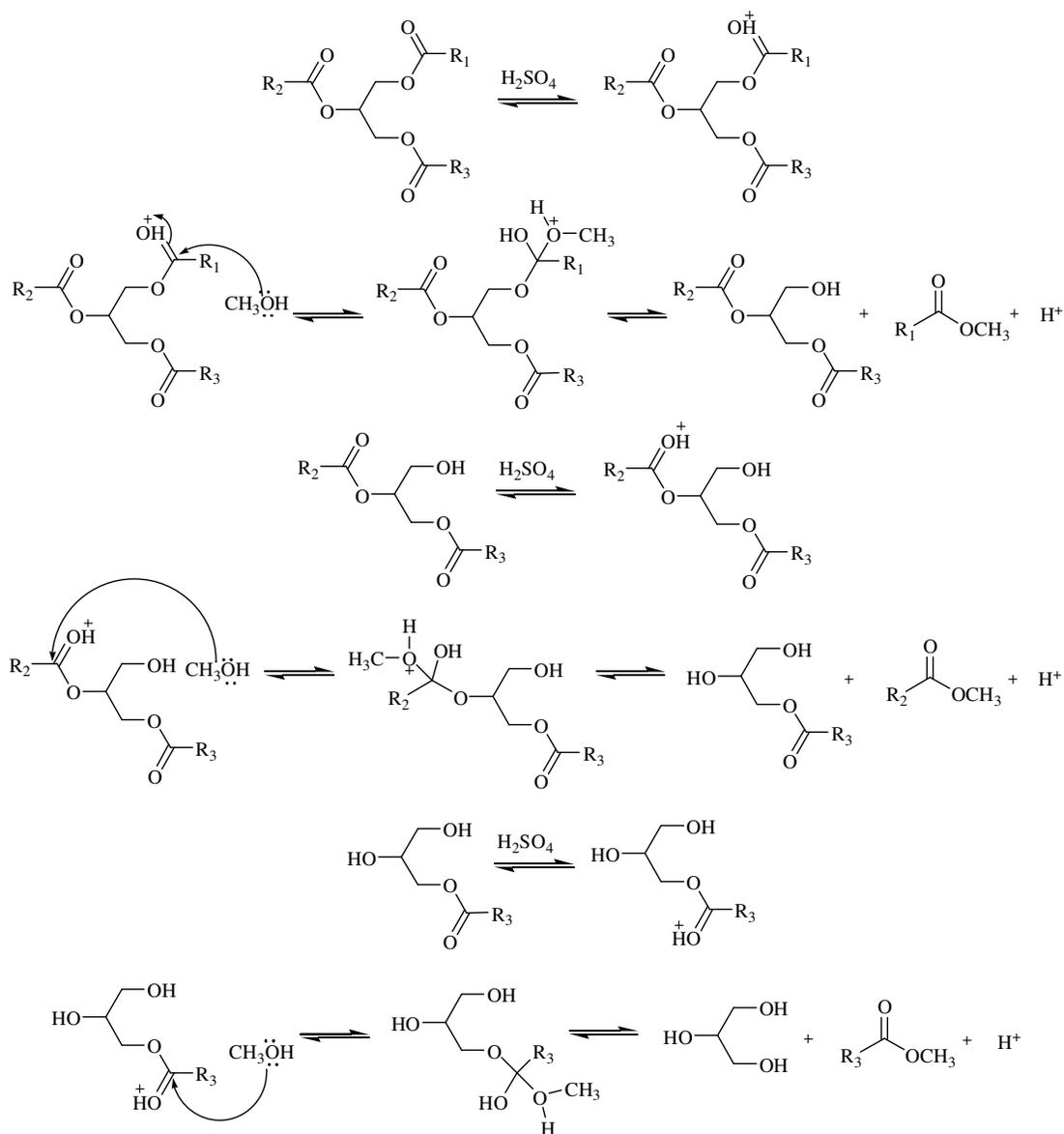
	Ésteres	%
1	Octanoato de metila (C8:0)	0.01406
2	Decanoato de metila (C10:0)	0.01255
3	Dodecanoato de metila (C12:0)	0.06874
4	Miristato de metila (C14:0)	0.19832
5	Palmitato de metila (C16:0)	15.50412
6	Palmitoleato de metila (C16:1)	0.62004
7	Stearato de metila (C18:0)	0.58988
8	Oleato de metila (C18:1n9c)	11.42226
9	Linoleato de metila (C18:2n6c)	7.86421
10	Linolenato de metila (C18:3n3)	14.43302
11	Araquidato de metila (C20:0)	0.03828
12	Behenato de metila C22:0)	0.04246

Na análise por Cromatografia Gasosa, o cromatograma revela o éster saturado palmitato de metila com 15%, e apresentou os ésteres insaturados linoleato de metila com 14%, oleato de metila com 11% e o linoleato de metila com 7%. O éster em menor quantidade foi o decanoato de metila com 0,01%.

O cromatograma apresenta outros picos além dos ésteres identificados, estes possivelmente tratam-se de ésteres de outros ácidos graxos ou material indesejável extraído durante a reação, visto que trata-se de uma análise de biodiesel bruto sem nenhum tipo de purificação. No entanto, analisando os resultados obtidos pode-se constatar uma quantidade significativa de ésteres insaturados no conteúdo, o que confere ao biodiesel uma estabilidade oxidativa relativamente baixa. Considera-se que o método empregado em laboratório para síntese do biodiesel em microescala, em caráter experimental satisfatórios, uma vez que as reações foram realizadas diretamente com a biomassa algal, sendo então diminuídas as etapas de reação. As reações apresentaram-se de fácil manipulação.

2.4. Mecanismo da reação

Para racionalizar, propomos que o mecanismo dessa reação ocorra igual a reação de transesterificação em meio ácido, o mecanismo ocorre primeiramente com a protonação do grupo carbonila pelo catalisador ácido, após ocorre o ataque nucleofílico do álcool, formando um intermediário tetraédrico, ocorre a migração de prótons e o grupo é eliminado, a reação ocorre nas três carbonilas formando uma mistura de ésteres alquílicos e glicerol.



R_1 , R_2 e R_3 : Cadeia carbônica de ácidos graxos

Esquema 13. Mecanismo de transesterificação sob catálise do H_2SO_4 .

IV- CONCLUSÕES

Considerando os objetivos e os resultados alcançados na presente dissertação foi possível concluir que:

- A metodologia de esterificação dos ácidos graxos saturados desenvolvida neste trabalho mostrou-se eficiente e levou aos produtos em bons rendimentos.
- Comparando com a literatura a metodologia apresentada mostra uma série de vantagens, como fácil isolamento de ésteres, reações rápidas e uma baixa temperatura de reação, temperatura ambiente.
- A utilização da irradiação de ultrassom se mostrou promissora na síntese de ésteres metílicos e etílicos, pois os produtos foram obtidos em curto intervalo de tempo em relação aos métodos convencionais existentes na literatura.
- Estudos preliminares do nosso grupo de pesquisa concluíram que a microalga *Chlorella vulgaris* seria uma fonte alternativa em potencial para a produção de lipídios, em nossos experimentos empregando a biomassa seca, nas reações com metanol em meio ácido foi detectado a formação de FAME. Em suma, a microalga *Chlorella vulgaris* constitui em uma matéria-prima em potencial para a produção de biodiesel. No entanto, estudos de cultivo de microalgas em larga escala, pesquisas de espécies de microalgas, pesquisas em eficientes métodos de extração, ajuste de métodos para produção de biodiesel em larga escala, e metodologias para purificação deste ainda são necessários.

V- PARTE EXPERIMENTAL

1. Equipamentos

1.1. Espectrometria de Massas

As análises de massas foram obtidas em Espectrômetro de massas Hewlett Packard, modelo 6890/MSD5973, com um injetor split-splitless e equipado com uma coluna HP-Innowax capilar (30m x 250 μm) e o gás He foi usado como gás de transporte (56Kpa).

1.2. Espectroscopia de Infravermelho

Os espectros de absorção no Infravermelho foram obtidos em espectrofotômetro Shimadzu IR-21 no intervalo de 4000 a 400 cm^{-1} . As amostras foram analisadas na forma de pastilhas de KBr.

1.3. Cromatografia Gasosa

O Biodiesel obtido foi analisado em cromatógrafo a gás GC 2010 (Shimadzu) equipamento com ionização em chama (FID). Os componentes foram separados em coluna capilar RTX-WAX (30m x 0,32 mm x 0,25 μm). As condições cromatográficas foram: programação de temperatura da coluna, isotérmico 100 °C por 0,50 min, subindo a temperatura até 175 °C a 7 °C/min, depois até 190 °C a 5 °C/min permanecendo a 190 °C por 1 minuto, e 230 °C a 1,2 °C/min permanecendo a 11,45 min. O tempo total de corrida é de 60 minutos; temperatura do injetor: 230 °C; temperatura do detector: 230 °C; O gás de arraste: hidrogênio; velocidade linear de gás: 1,20cm/s; split: 1:50.

1.4. Ultrassom

As reações foram realizadas em um aparelho de ultrassom Sonics, modelo VC 500, serial 480357, 500 Watts, frequência 20KHz, 220 V.

1.5. Reagentes e Solventes Utilizados

Os reagentes e solventes utilizados para a síntese dos compostos foram: Ácido Octanóico (Sigma); Ácido Decanóico (Sigma); Ácido Dodecanóico (Sigma); Ácido Tetradecanóico (Sigma); Ácido Hexanóico (Vetec); Metanol HPLC (J.T. Baker); Álcool etílico Absoluto P.A. (Synth); Éter etílico P.A. (Dinâmica); Sulfato de sódio Anidro P.A. (Synth); Clorofórmio P.A. (Synth) e Ácido sulfúrico P.A. (Synth).

2. Síntese dos compostos

2.1. Procedimento geral para a síntese de Ésteres

Em um balão de 25 mL, o ácido graxo (4,0 mmol) e ácido sulfúrico (2,0 mmol) foram misturados com etanol (27,6 mL) ou metanol (16,8 mL) e refluxados por 3-5 horas (método convencional) ou sonicado por 15-30 minutos (ultrassom). O excesso de álcool foi evaporado sob pressão reduzida. Foi adicionado H₂O destilada (35 ml) e a fase orgânica foi extraído com éter etílico (3 x 20 ml), foi seca (Na₂SO₄), e o solvente foi evaporado sob pressão reduzida.

2.2. Procedimento geral para extração de lipídios (método Bligh Dyer).

Em um balão de 25 mL foi adicionada 1 g de biomassa seca, 10 mL de clorofórmio, 10 mL de metanol e 10 mL de solução de sulfato de sódio 1,5%. A mistura ficou sob agitação a temperatura ambiente durante 30 minutos. Após, adicionou-se mais 10 mL de clorofórmio e 10 mL de sulfato de sódio 1,5%. Colocou-se na centrífuga (3000rpm) durante 30 minutos, a camada inferior foi coletada, contendo o clorofórmio, e evaporou o solvente sob corrente de nitrogênio.

2.3. Procedimento geral para síntese de Biodiesel da *Chlorella vulgaris*.

Em um balão de 25mL, foi adicionada 1g da microalga *Chlorella vulgaris* com metanol (3,4mL), clorofórmio (4,0mL) e como catalisador o ácido sulfúrico (0,6mL), sob refluxo por 40 minutos a 90°C (método convencional). Foi

adicionado 10mL de solução de sulfato de sódio a 1,5% e centrifugada (3000rpm) durante 30 minutos, a fase orgânica foi coletada e evaporada sob corrente de nitrogênio.

VI. REFERÊNCIAS

- 1- Babajide, O.; Petrik, L.; Amigun, B.; Ameer, F. *Energies*. **2009**, 3, 1691.
- 2- Zieba, A.; Drelinkiewicz, A.; Chmielarz, P.; Matachowski, L.; Stejskal, J. *Applied Catalysis A: General*. **2010**, 387, 13.
- 3- Vicente, G.; Martinez, M.; Aracil, J. *Bioresour. Technol.* **2004**, 92, 297.
- 4- Martines, M. A. U.; Davolos, M. R.; Jafelicci Júnior, M. *Quim. Nova*. **2000**, 23, 251.
- 5- Manson, T. *J. Chem. Soc. Revs.* **1997**, 26, 443.
- 6- Cravotto, G.; Cintas, P. *Chem. Soc. Rev.* **2006**, 35, 180.
- 7- Cintas, P.; Luche, J.L. *Green Chem.* **1999**, 115.
- 8- Olaizola, M.; *Biomol. Engin.* **2003**, 20, 459.
- 9- Lourenço, S.O. Cultivo de microalgas marinhas - Princípios e aplicações. São Paulo: RIMA. **2007**.
- 10-Ma, F.; Hanna, M.A. *Bioresour. Technol.* **1999**, 70, 1.
- 11-Khan, S.A.; Rashmi; Hussain, M.Z.; Prasad, S.; Banerjee, U.C. *Renew. Sustain. Ener. Rev.* **2009**, 13, 2361.
- 12-Lotero, E.; Liu, Y.; Lopez, D.E., Suwannakarn, K.; Bruce, D.A.; Goodwin, J.G.J. *Ind. Eng. Chem. Res.*, **2005**, 44, 5353.
- 13-Schuchardt, U.; Sercheli, R.; Vargas, R.M. *J. Braz. Chem. Soc.* **1998**, 9, 199.
- 14-Solomons, T.W.G.; Fryhle, C.B. Química Orgânica 2. 7.ed. Rio de Janeiro: LTC. **2002**.
- 15-Gulati, R.; Arya, P.; Malhotra, B.; Prasad, A.K., Saxena, R.K., Kumar, J.; Watterson, A.C.; Parmar, V.S. *Arkivoc (iii)*. **2003**, 159.
- 16-Li, X.; Eli, W. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2008**, 279, 159.
- 17-Qiao, K.; Hagiwara, H.; Yokoyama, C. *J. Mol. Catal. A: Chem.* **2006**, 246, 65.
- 18-Sun, S.Y.; Xu, Y.; Wang, D. *Bioresour. Technol.* **2009**, 100, 2607.
- 19- Hingu, S.M.; Gogate, P.R.; Rathod, V.K. *Ultrason. Sonochem.* **2010**, 17, 827.

- 20- Hanh,H.D.; Dong, N.T.; Okitsu,K.; Nishimura,R.; Maeda, Y. *Renewable Energy*. **2009**, *34*, 766.
- 21- Stavarache, C.; Vinatoru, M.; Nishimura, R.; Maeda Y. *Ultrason. Sonochem*. **2005**, *12*, 367.
- 22- Hanh, H.D.; Dong, N.T.; Okitsu, K.; Nishimura, R.; Maeda, Y. *Renewable Energy*. **2009**, *34*, 780.
- 23- Singh, A.K.; Fernando, S.D.; Hernandez, R. *Energy Fuels*. **2007**, *21*, 1161.
- 24-Georgogiannia, K.G., Kontominasa, M.G.; Pomonisa, P.J.; Avlonitis, D.; Gergis, V. *Fuel process. Technol*. **2008**, *89*, 503.
- 25-Lima, J.R.O.; Silva, R.B.; Silva, C.C.M., Santos, L.S.S.; Santos, J.R.J.; Moura, E.M.; Moura, C.V.R. *Quim. Nova*. **2007**, *30*, 600.
- 26-Dantas, M.B.; Albuquerque A.R.; Barros, A.K.; Rodrigues, M.G.F.; Antoniosi, N.R.F.; Sinfrônio, F.S.M.; Rosenhaim, R.; Soledade, L.E.B.; Santos, I.M.G.; Souza, A.G. *Fuel*, **2011**, *90*, 773.
- 27-Papadopoulos, C.E.; Lazaridou, A.; Koutsoumba, A.; Kokkinos, N.; Christoforidis, A.; Nikolaou, N. *Bioresour. Technol*. **2010**, *101*, 1812.
- 28-Issariyakul, T.; Dalai, A.K. *Energy Fuels*, **2010**, *24*, 4652.
- 29-Costa, P.R.N.; Rossi, L.F.S.; Zagonel, G.F.; Ramos, L.P. *Quim. Nova*, **2000**, *23*, 531.
- 30-Borowitzka, M.A.; *J. Biotechnol*. **1999**, *70*, 313.
- 31-Queiroz, M. I.; Jacob-Lopes, E.; Zepka, L. Q.; Bastos, R.; Goldbeck, R.; *Bioresour. Technol*. **2007**, *98*, 2163.
- 32-Chisti, Y.; *Biotechnol. Adv*. **2007**, *25*, 294.
- 33-Pyle, D. J.; Garcia, R. A.; Wen, Z.; *J. Agric. Food Chem*. **2008**, *56*, 3933.
- 34-Brennan, L.; Owende, P. *Renew. Sustain. Energy Rev*. **2010**, *14*, 557.
- 35-Gao, C.; Xiong, W.; Zhang, Y.; Yuan, W.; Wu, Q. *J. Microbiol. Methods*. **2008**, *75*, 437.
- 36-Chen, W.; Zhang, C.; Song, L.; Sommerfeld, M.; Hu, Q. *J. Microbiol. Methods*. **2009**, *77*, 41.
- 37-Yeh, K.; Chang, J.; Chen, W. *Eng. Life Sci*. **2010**, *10*, 201.

- 38-Scragg A.H.; Illman,A.M.; Carden,A.; Shales, S.W. *Biomass and Bioenergy*. **2002**, *23*, 67.
- 39-Couto, R.M.; Simões, P.C.; Reis, A.; Silva, T.L.; Martins, V.H. Sánchez-Vicente, Y. *Eng. Life Sci*. **2010**, *10*, 158.
- 40-Ranjan, A.; Patil,C.; Moholkar, V.S. *Ind. Eng. Chem. Res*. **2010**, *49*, 2979.
- 41-Burja, A.M.; Armenta,R.E.; Radianingtyas, H.; Barrow, C.J. *J. Agric. Food chem*. **2007**, *55*, 4795.
- 42-Ehimen,E.A.; Sun, Z.F.; Carrington, C.G.; *Fuel* **2010**, *89*, 677.
- 43-Umdu, E. S.; Tuncer, M.; Seker, E.; *Bioresour. Technol*. **2009**, *100*, 2828.
- 44-Hellingwerf, K.J.; Mattos, M.J.T.; *J. Biotechnol*. **2009**, *142*, 87.
- 45-Francisco, E.C.; Neves, D.B.; Jacob-Lopes, E.; Franco, T.T.; *J. Chem. Technol. Biotechnol*. **2010**, *85*, 395
- 46-Johnson, M.B.; Wen, Z.; *Energy fuels*. **2009**, *23*, 5179.
- 47-Mori, N.; Togo, H. *Tetrahedron*. **2005**, *61*, 5915.
- 48-Li, C.; Yang, J.; Wang, P.; Liu, J. Yang, Q., *Microporous Mesoporous Mater*. **2009**, *123*, 228.
- 49-Rippka, R.; Deruelles, J.; Waterbury, J.B.; Herdman, M.; Stanier, R.Y.; *J. Gen. Microbiol*. **1979**, *111*, 1.
- 50-Bligh, E.G.; Dyer, W.J.; *Can. J. Biochem*. **1959**, *37*, 911.

ANEXO I
ESPECTROS DE MASSAS E CROMATOGRAMAS

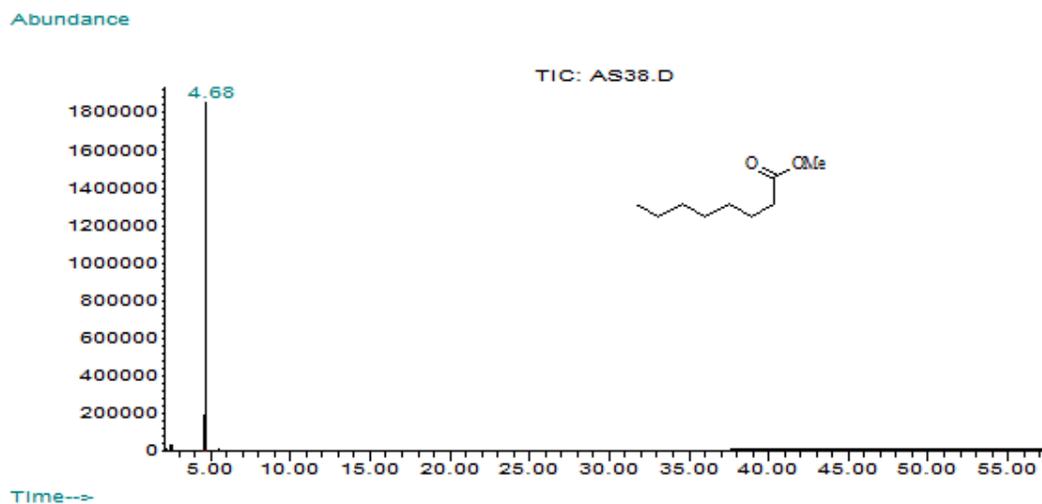


Figura 12. Cromatograma do composto **4a** Método Ultrassom.

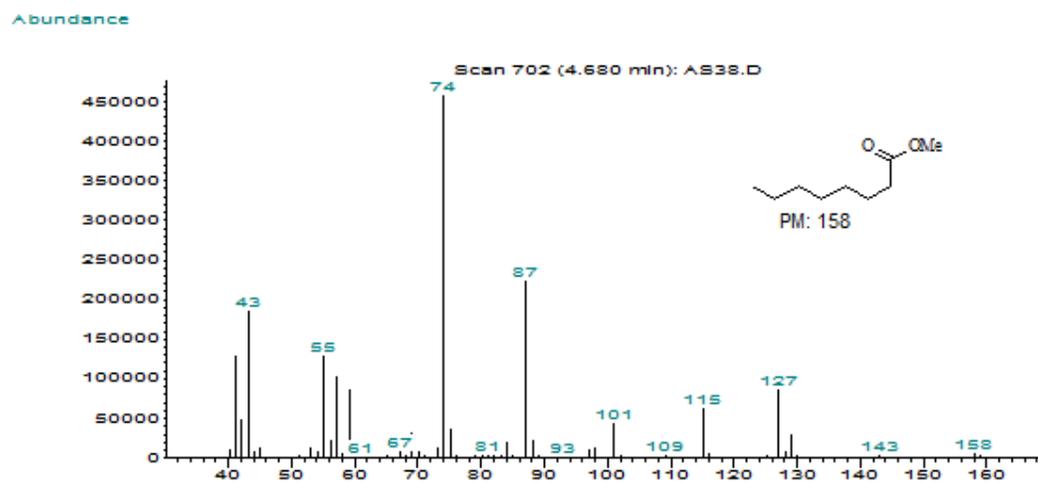


Figura 13. Espectro de massas do composto **4a** Método Ultrassom.

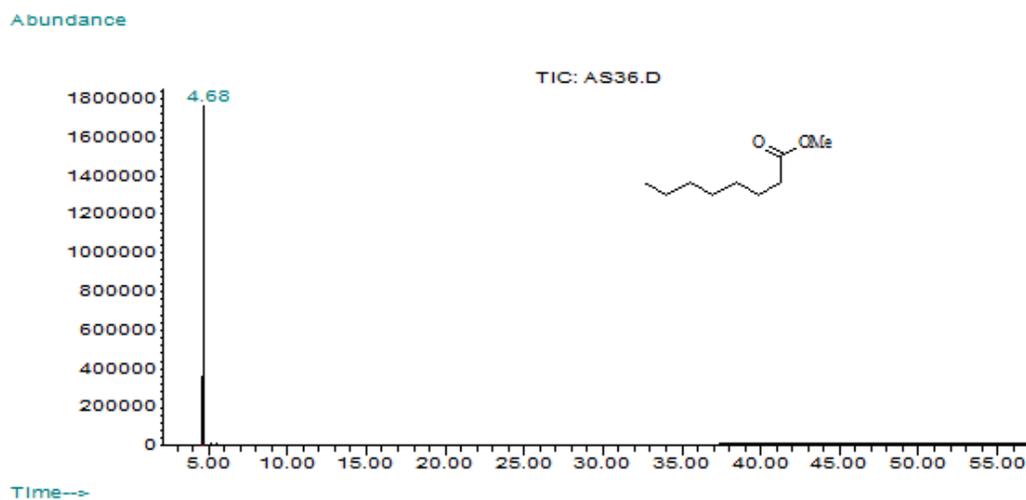


Figura 14. Cromatograma do composto **4a** Método Convencional.

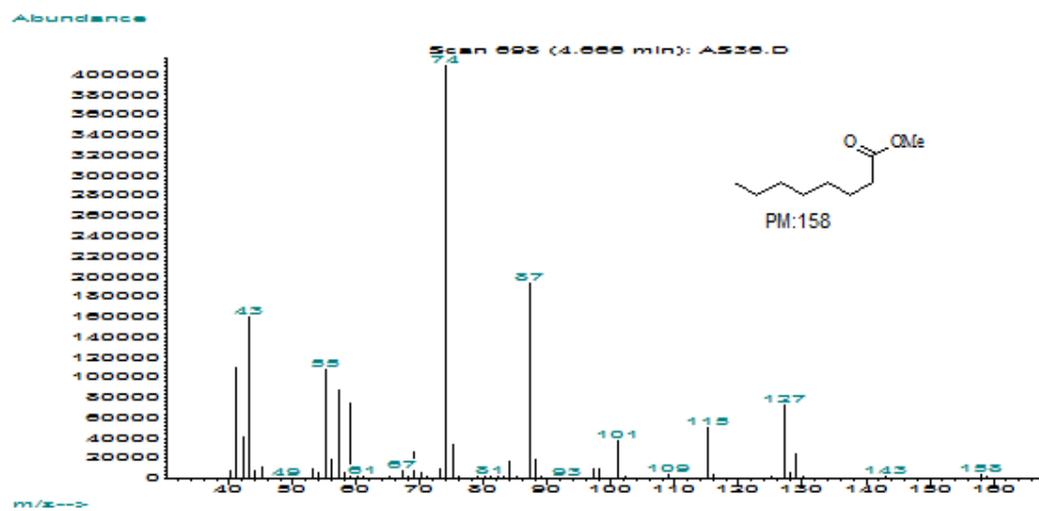


Figura 15. Espectro de massas do composto **4a** Método Convencional.

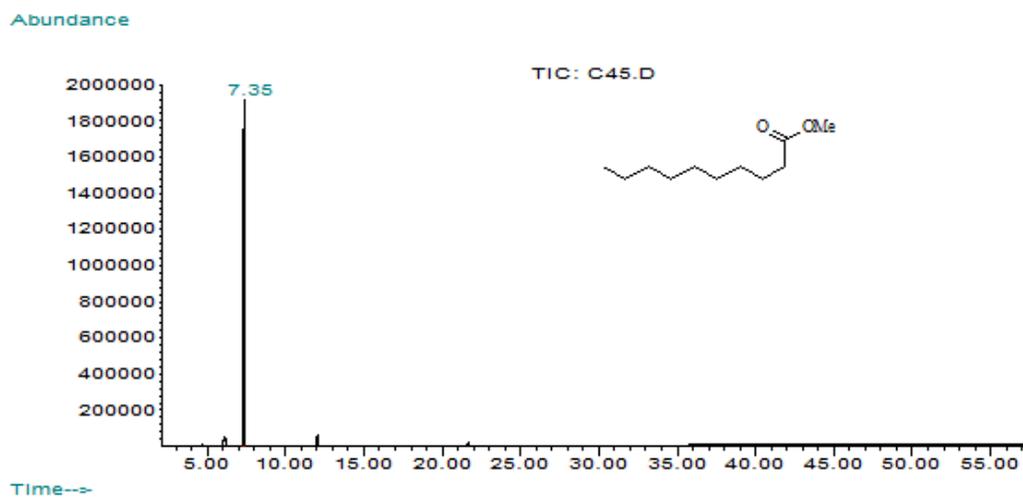


Figura 16. Cromatograma do composto **4b** Método Ultrassom.

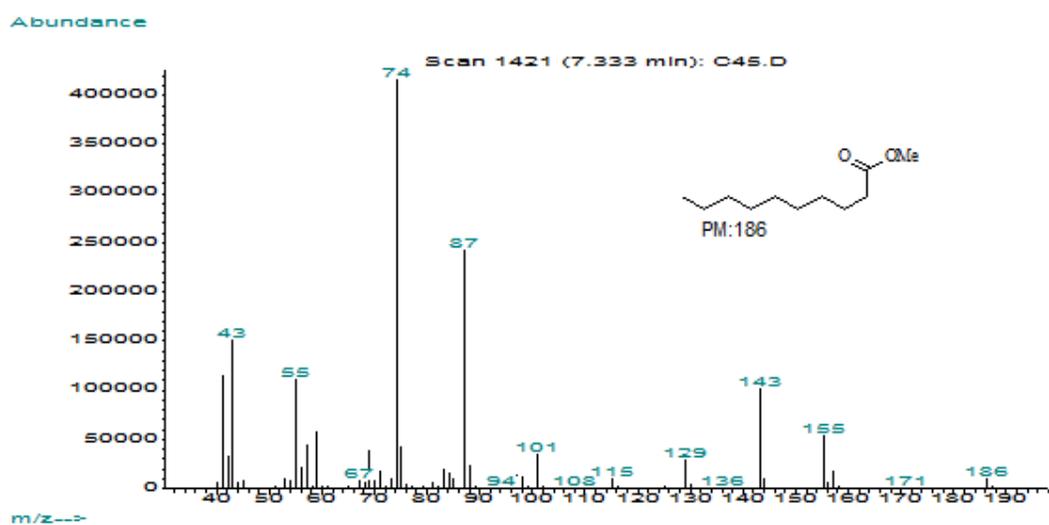


Figura 17. Espectro de massas do composto **4b** Método Ultrassom.

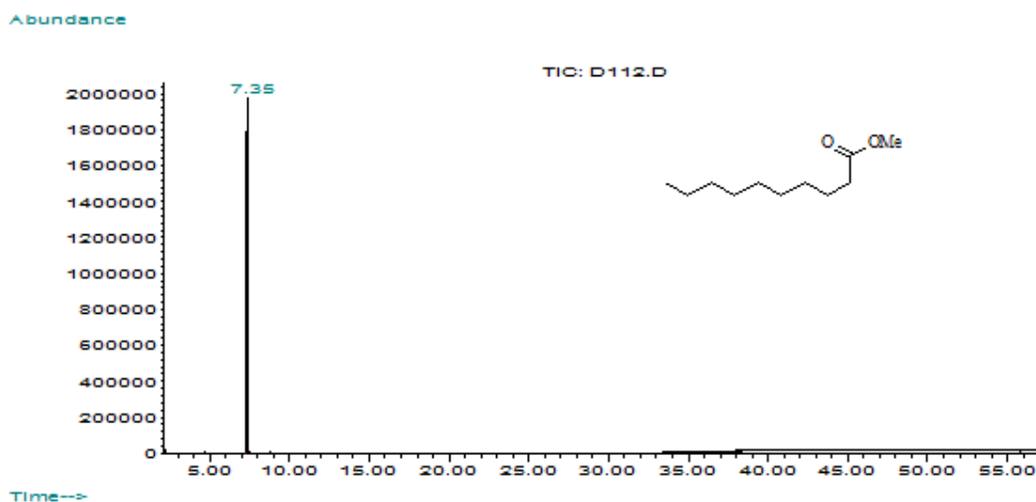


Figura 18. Cromatograma do composto **4b** Método Convencional.

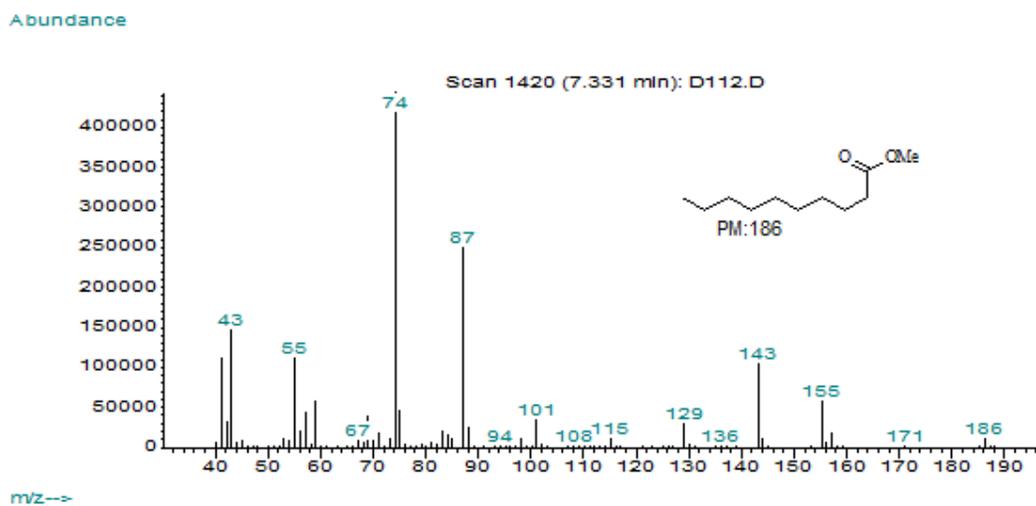


Figura 19. Espectro de massas do composto **4b** Método Convencional.

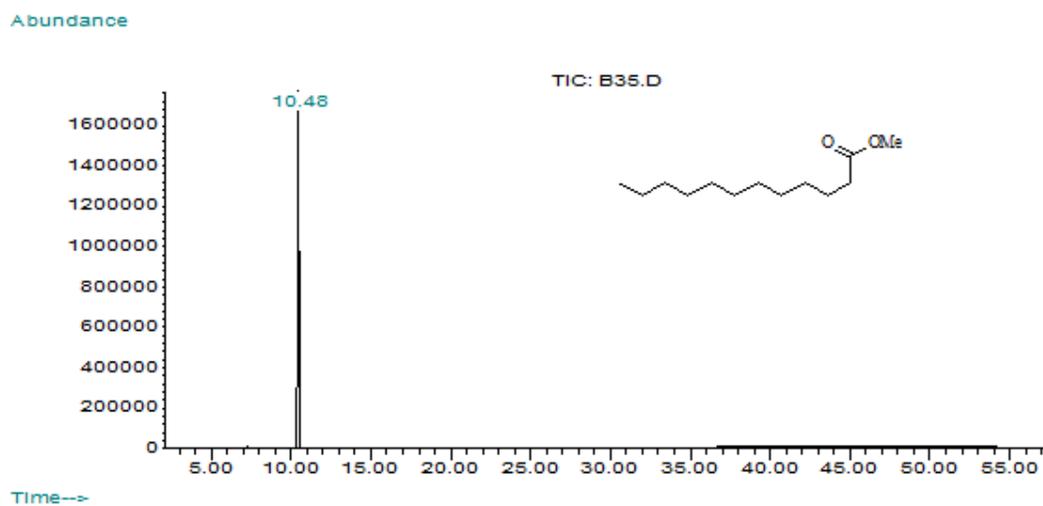


Figura 20. Cromatograma do composto 4c Método Ultrassom.

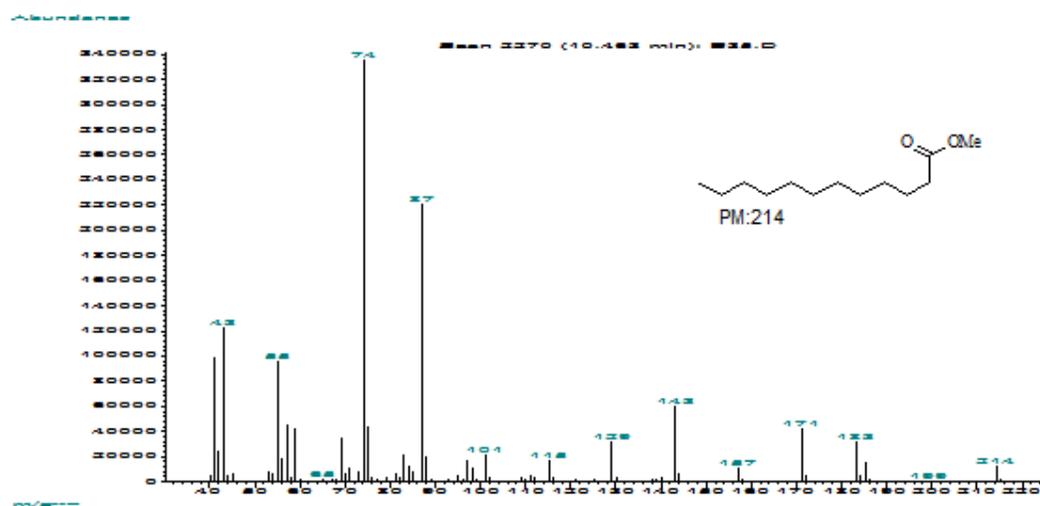


Figura 21. Espectro de massas do composto 4c Método Ultrassom.

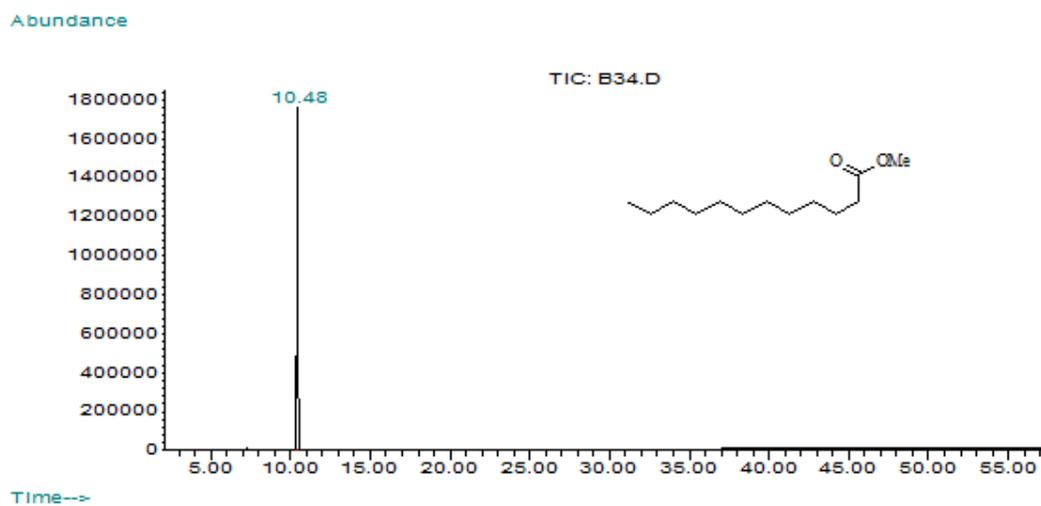


Figura 22. Cromatograma do composto 4c Método Convencional.

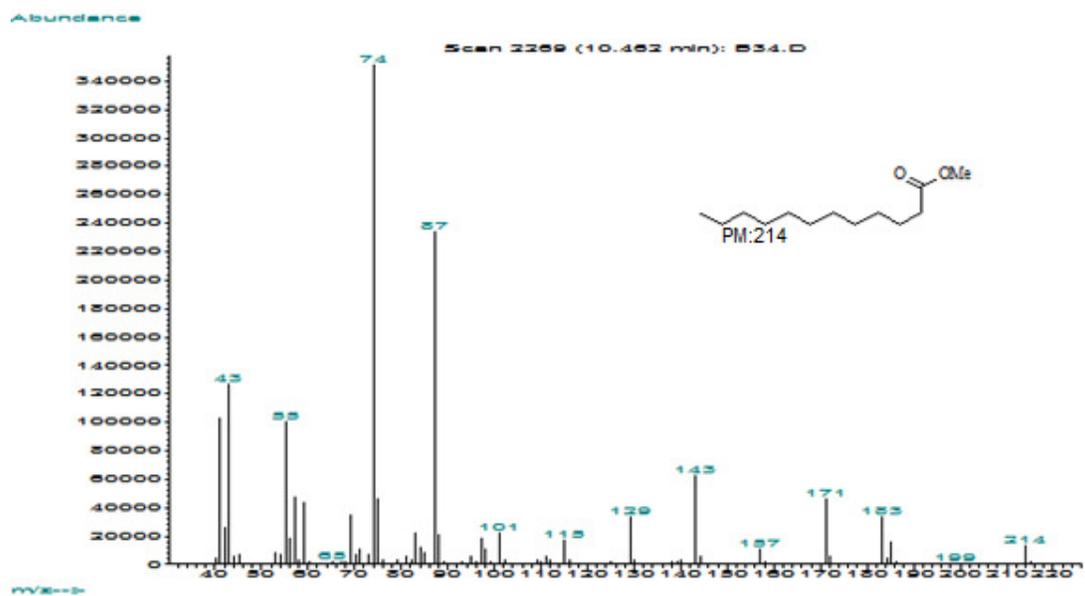


Figura 23. Espectro de massas do composto 4c Método Convencional.

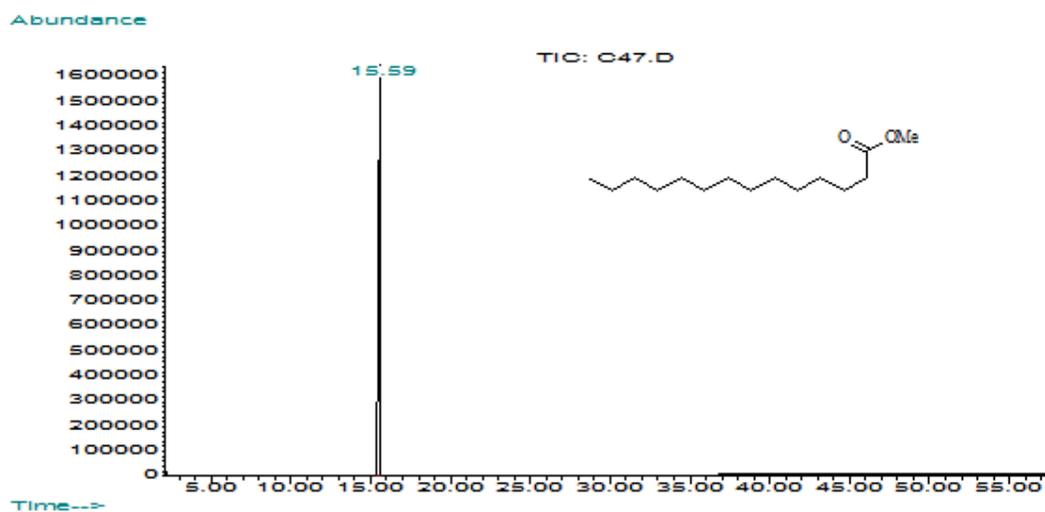


Figura 24. Cromatograma do composto **4d** Método Ultrassom.

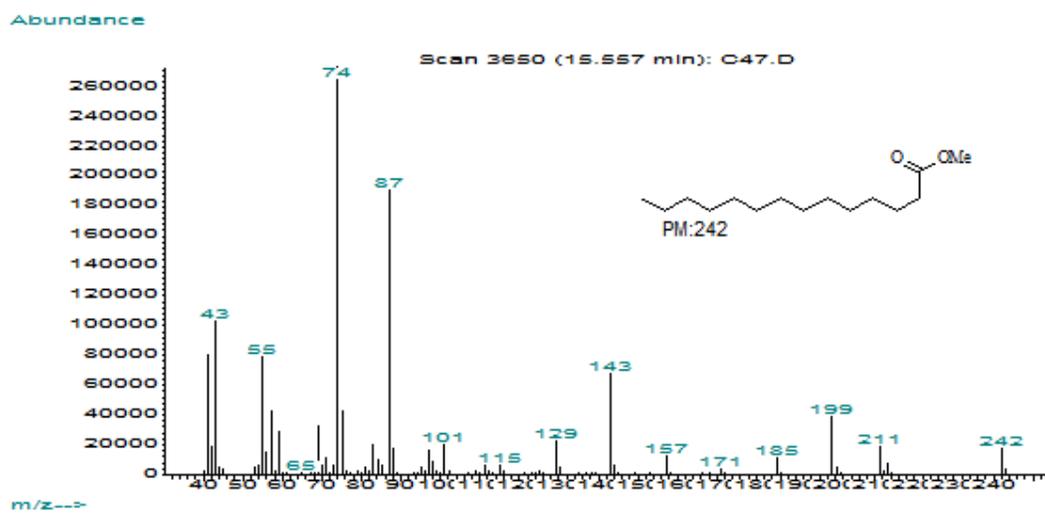


Figura 25. Espectro de massas do composto **4d** Método Ultrassom.

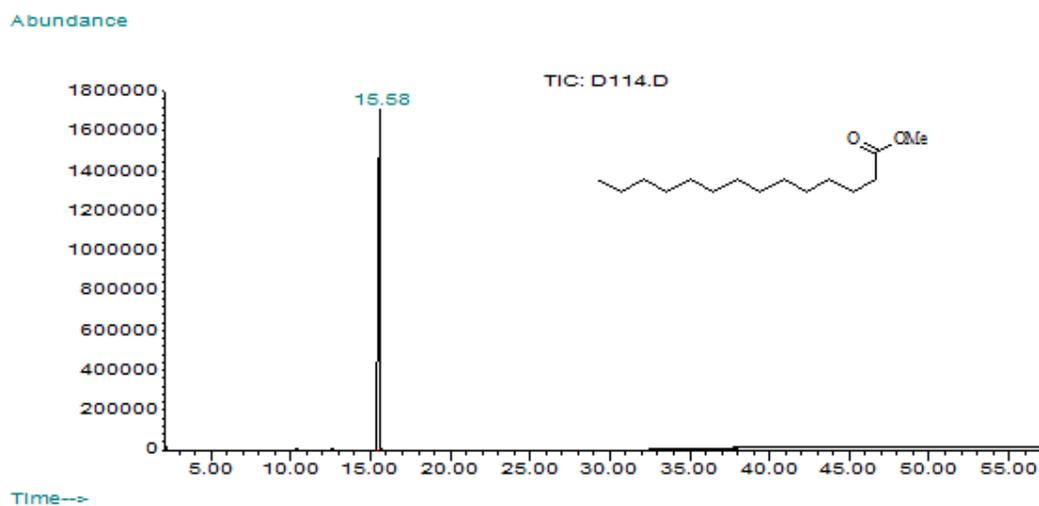


Figura 26. Cromatograma do composto **4d** Método Convencional.

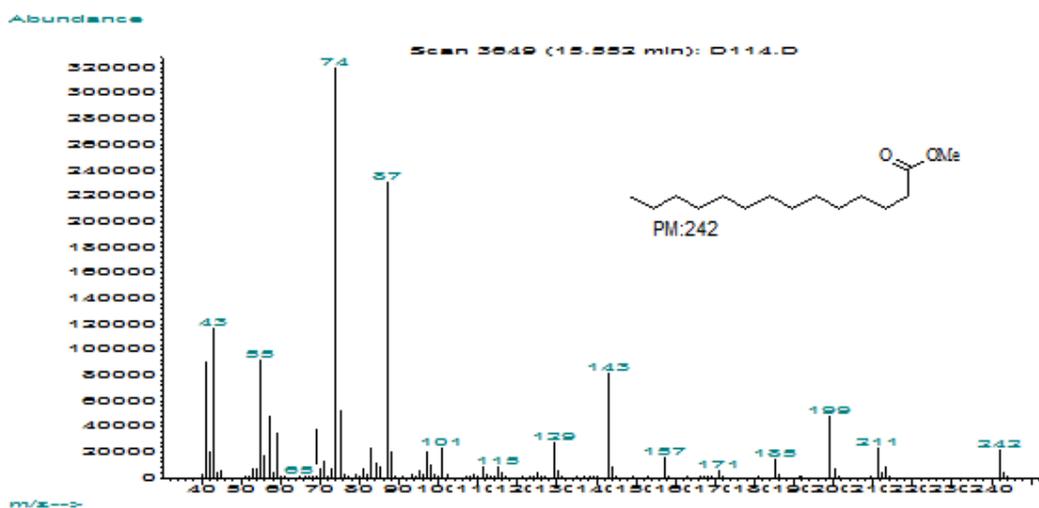


Figura 27. Espectro de massas do composto **4d** Método Convencional.

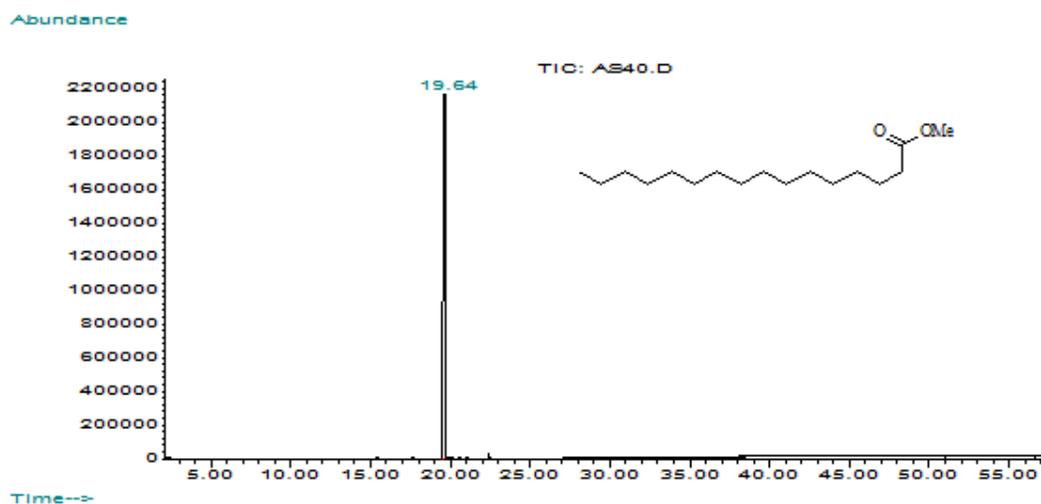


Figura 28. Cromatograma do composto 4e Método Ultrassom.

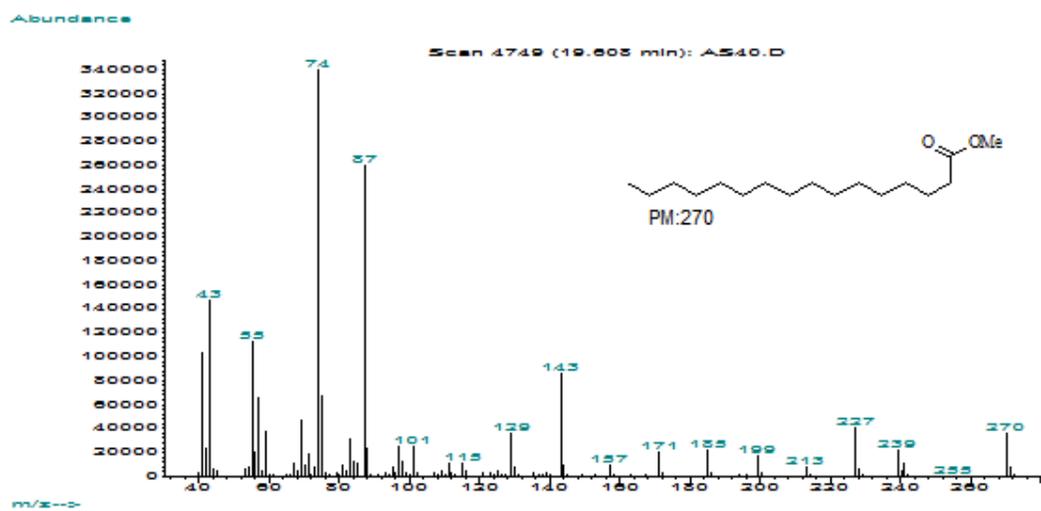


Figura 29. Espectro de massas do composto 4e Método Ultrassom.

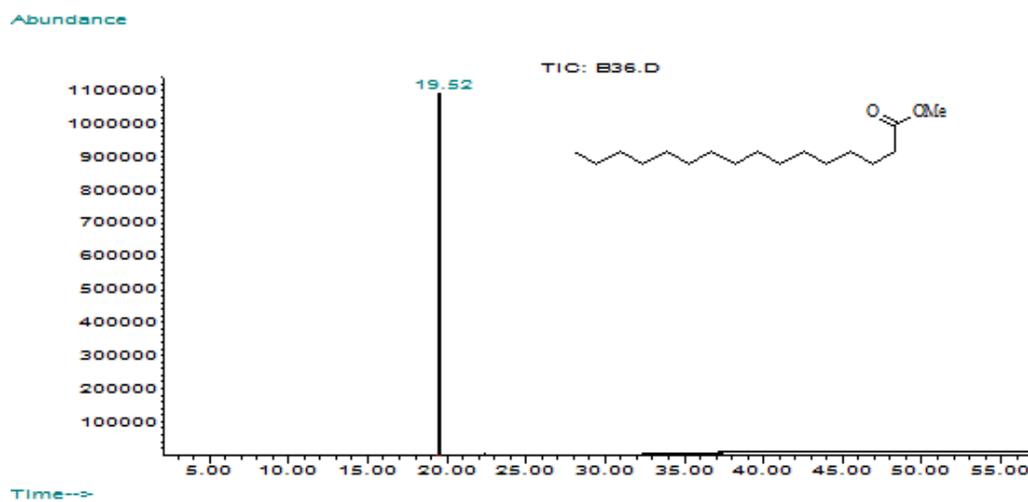


Figura 30. Cromatograma do composto **4e** Método Convencional.

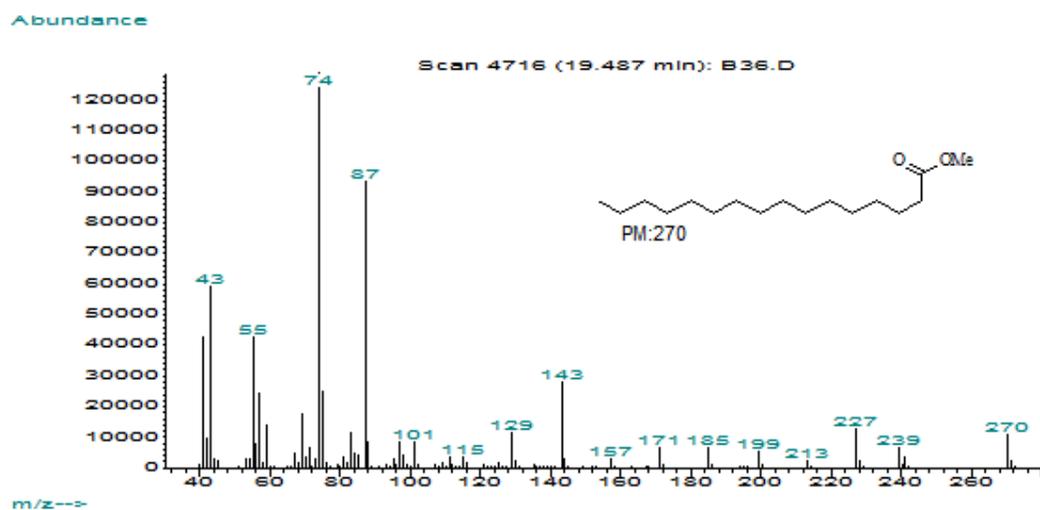


Figura 31. Espectro de massas do composto **4e** Método Convencional.

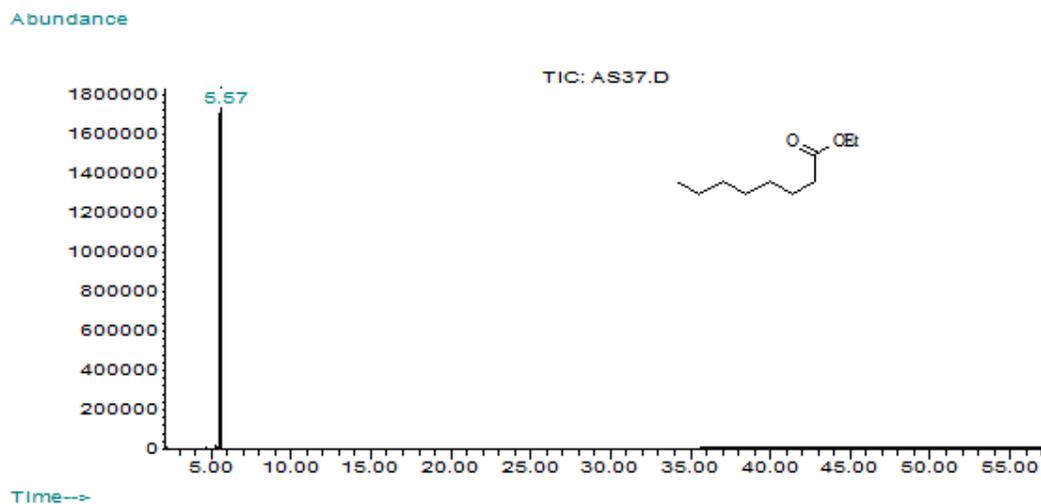


Figura 32. Cromatograma do composto **5a** Método Ultrassom.

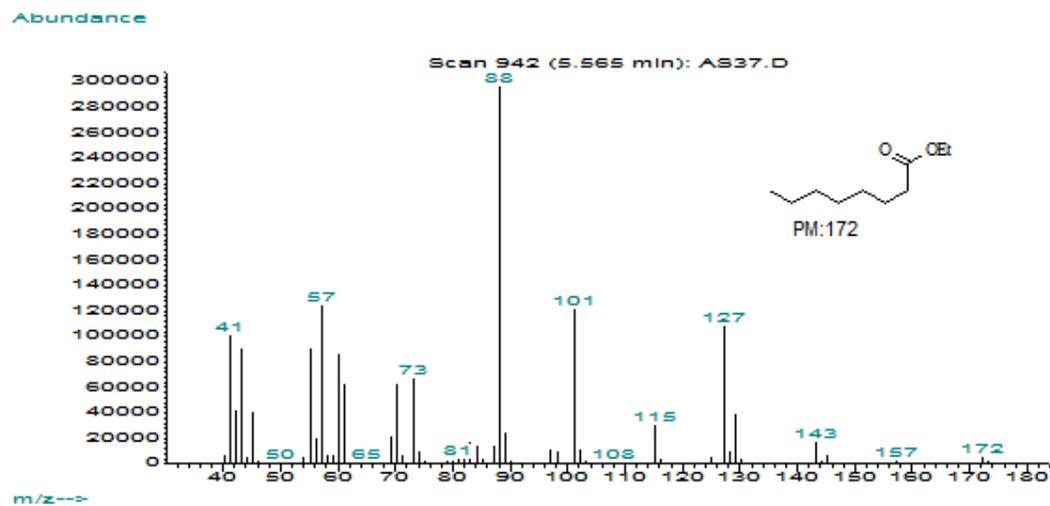


Figura 33. Espectro de massas do composto **5a** Método Ultrassom.

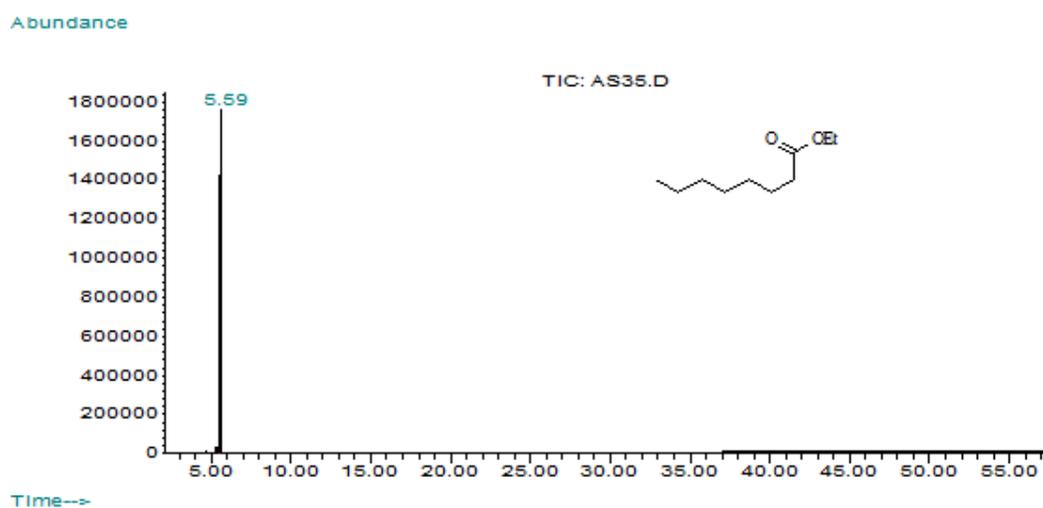


Figura 34. Cromatograma do composto **5a** Método Convencional.

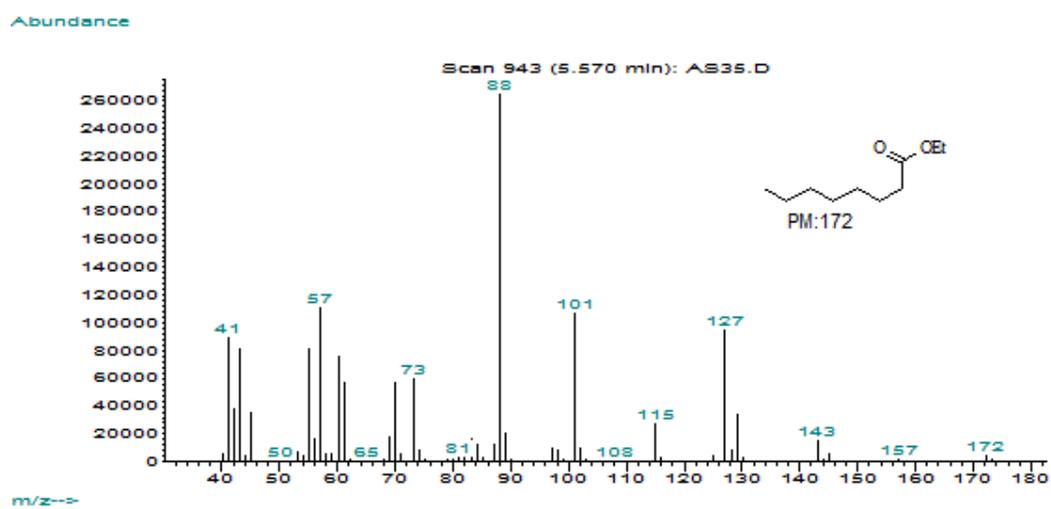


Figura 35. Espectro de massas do composto **5a** Método Convencional.

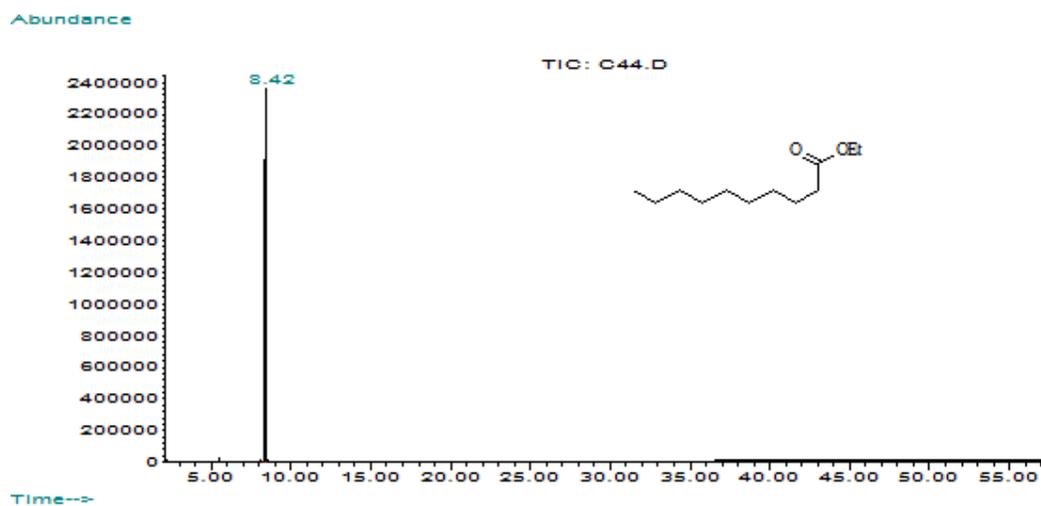


Figura 36. Cromatograma do composto **5b** Método Ultrassom.

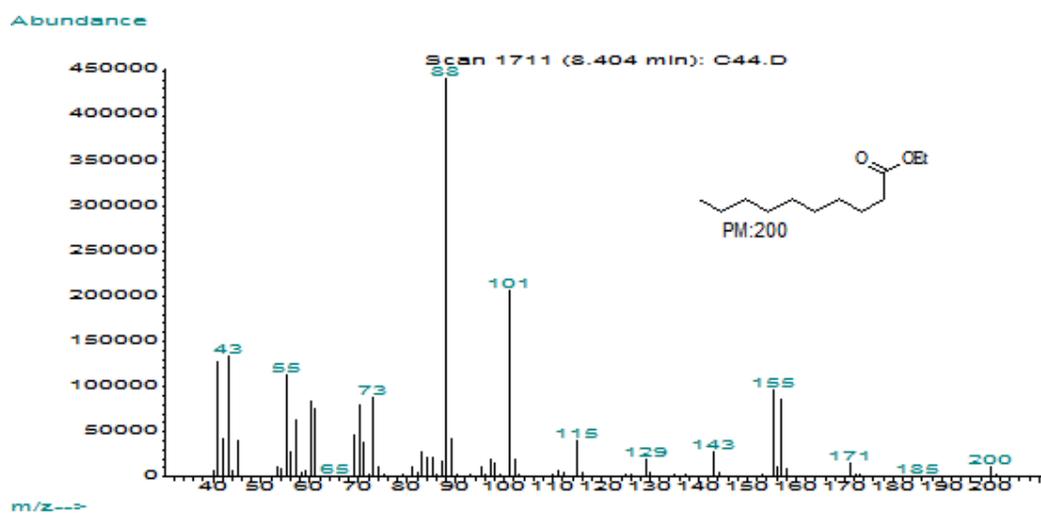


Figura 37. Espectro de massas do composto **5b** Método Ultrassom.

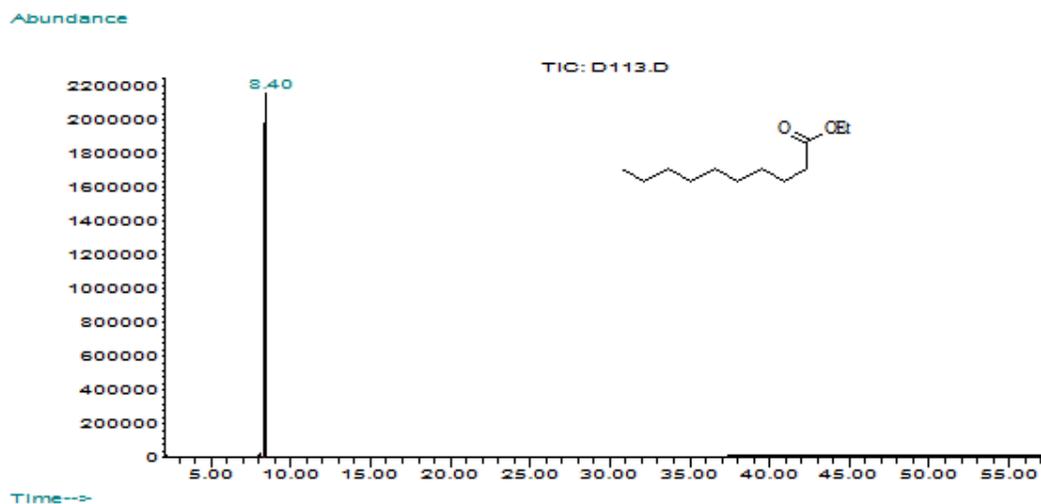


Figura 38. Cromatograma do composto **5b** Método Convencional.

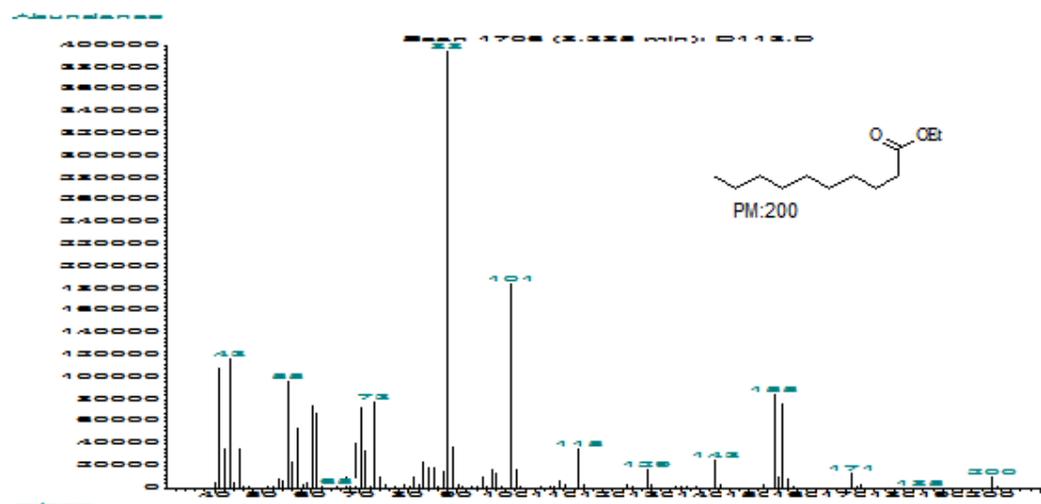


Figura 39. Espectro de massas do composto **5b** Método Convencional.

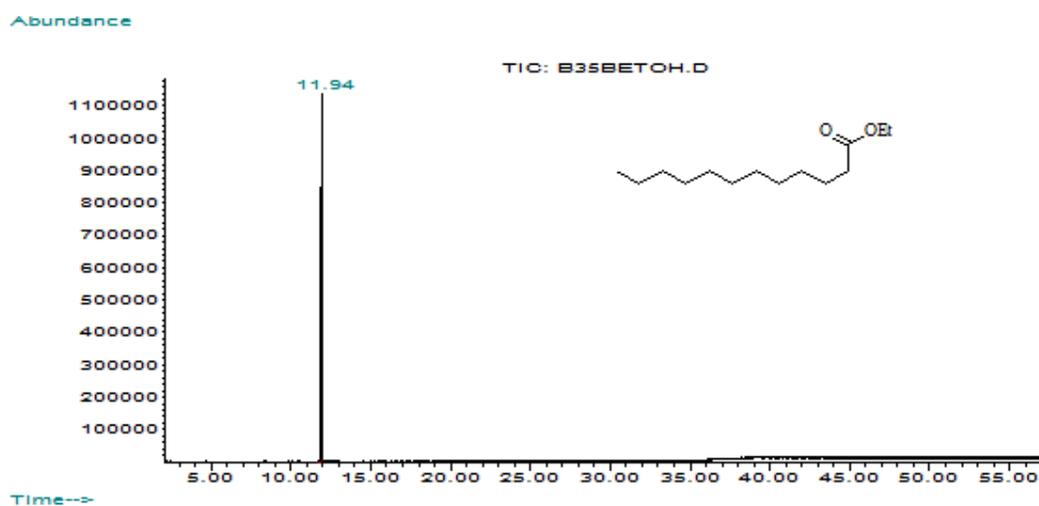


Figura 40. Cromatograma do composto 5c Método Ultrassom.

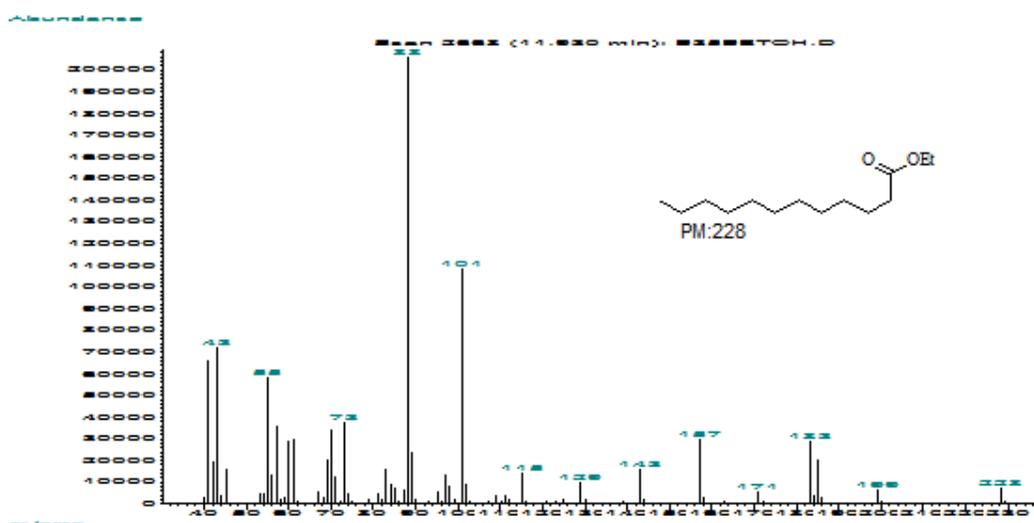


Figura 41. Espectro de massas do composto 5c Método Ultrassom.

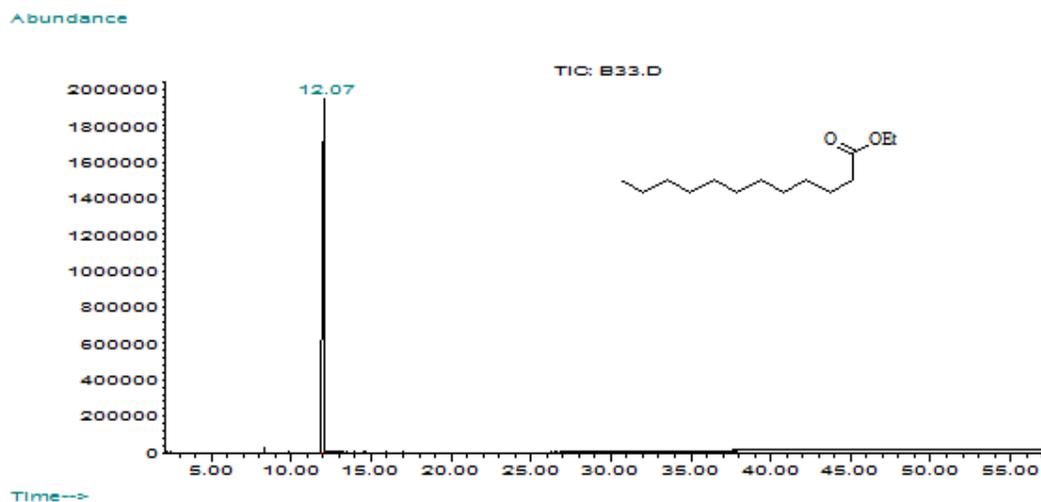
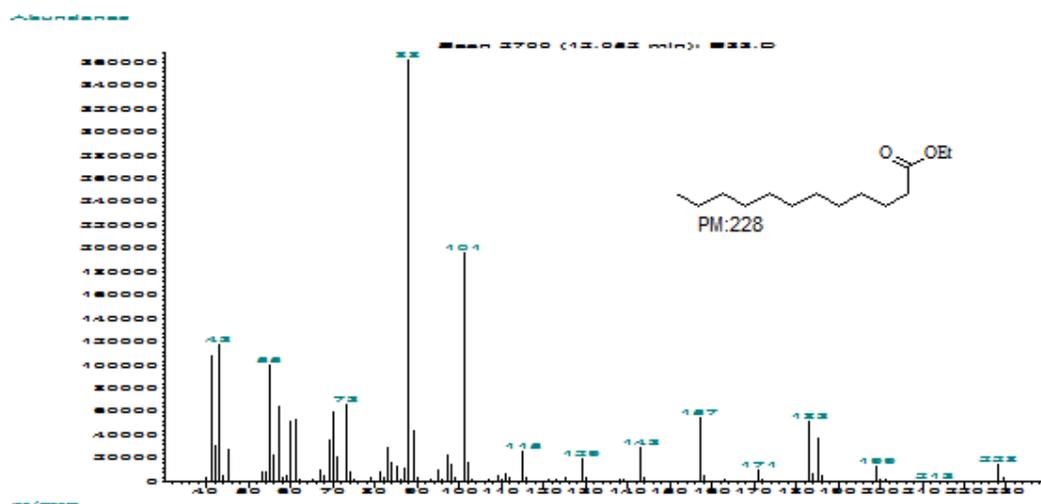


Figura 42. Cromatograma do composto 5c Método Convencional.



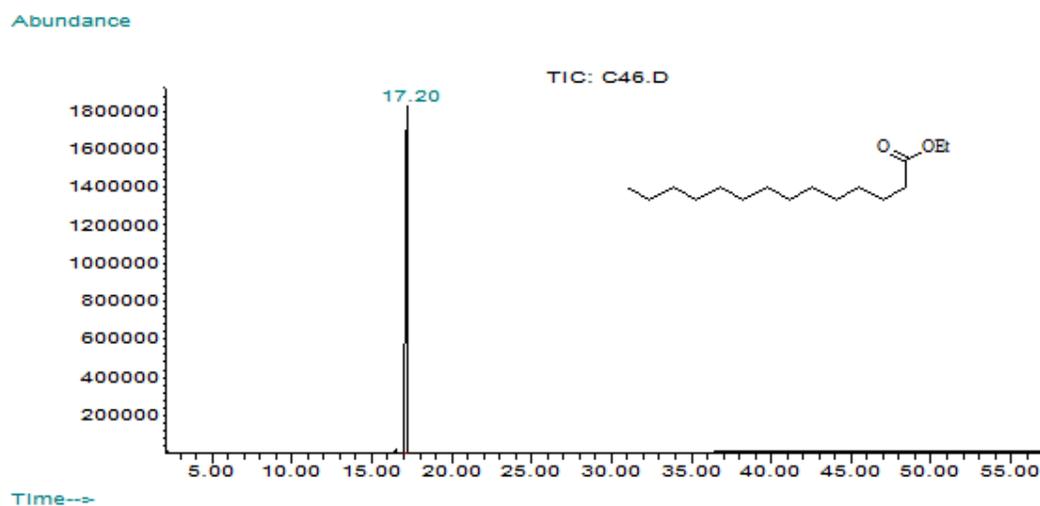


Figura 44. Cromatograma do composto **5d** Método Ultrassom.

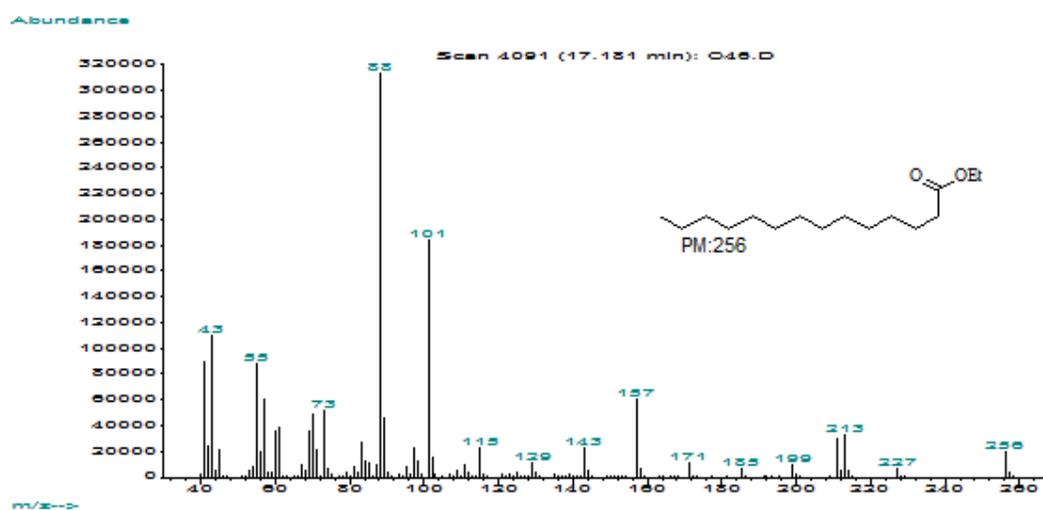


Figura 45. Espectro de massas do composto **5d** Método Ultrassom.

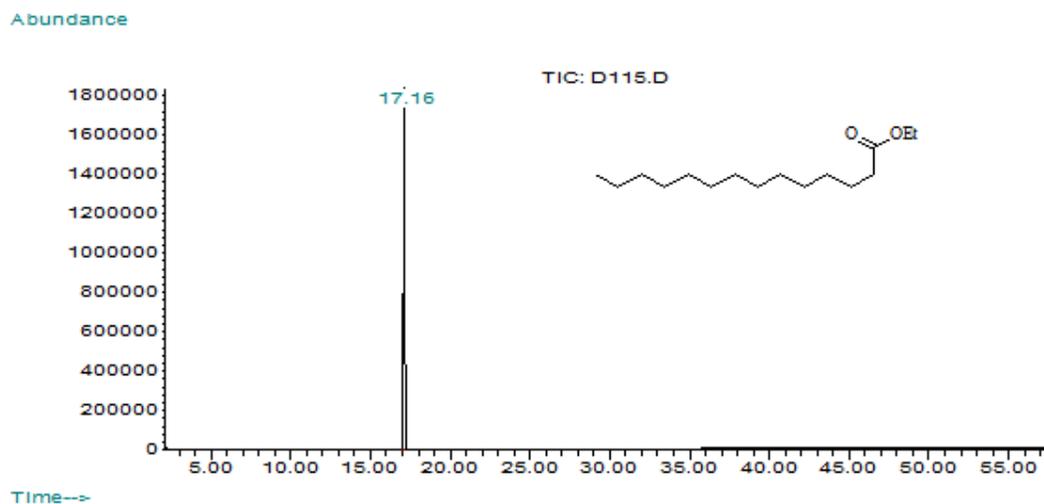


Figura 46. Cromatograma do composto **5d** Método Convencional.

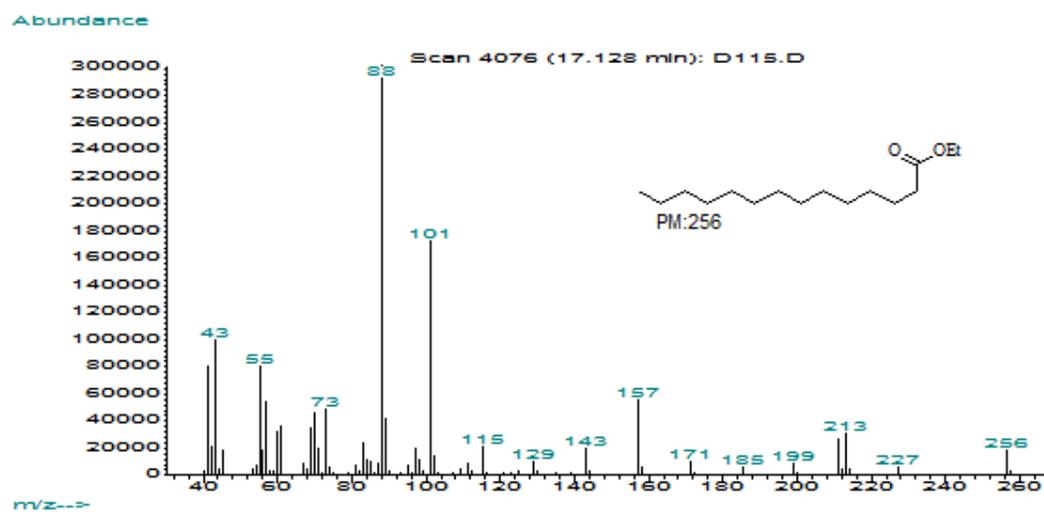


Figura 47. Espectro de massas do composto **5d** Método Convencional.

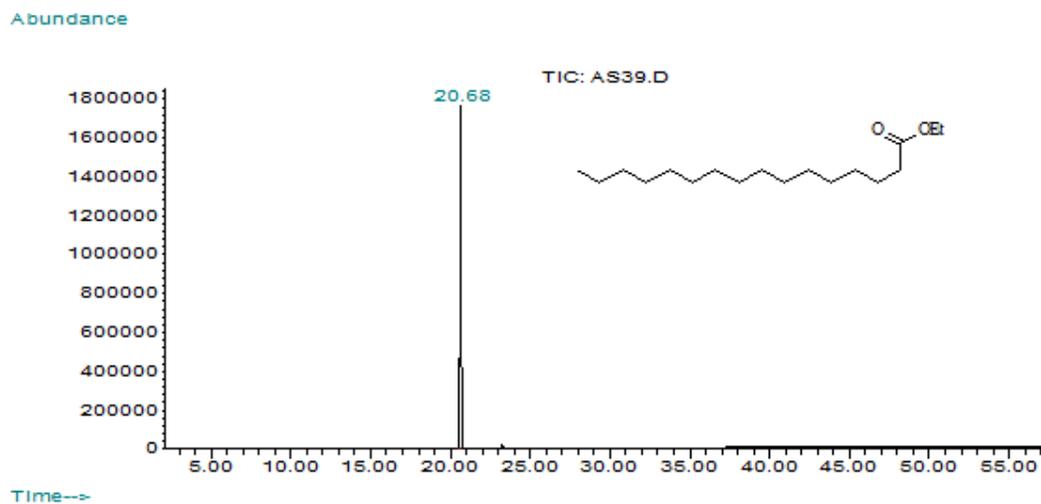


Figura 48. Cromatograma do composto 5e Método Ultrassom.

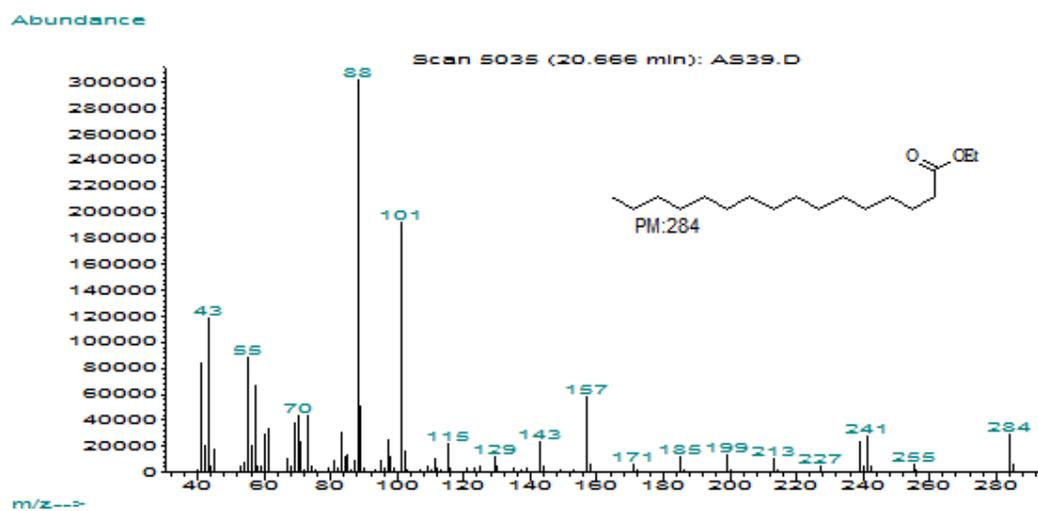


Figura 49. Espectro de massas do composto 5e Método Ultrassom.

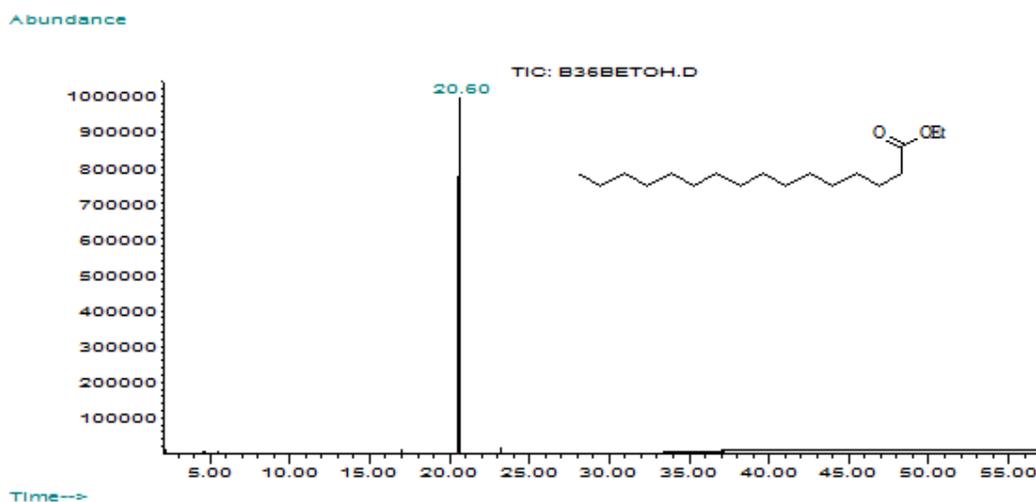


Figura 50. Cromatograma do composto **5e** Método Convencional.

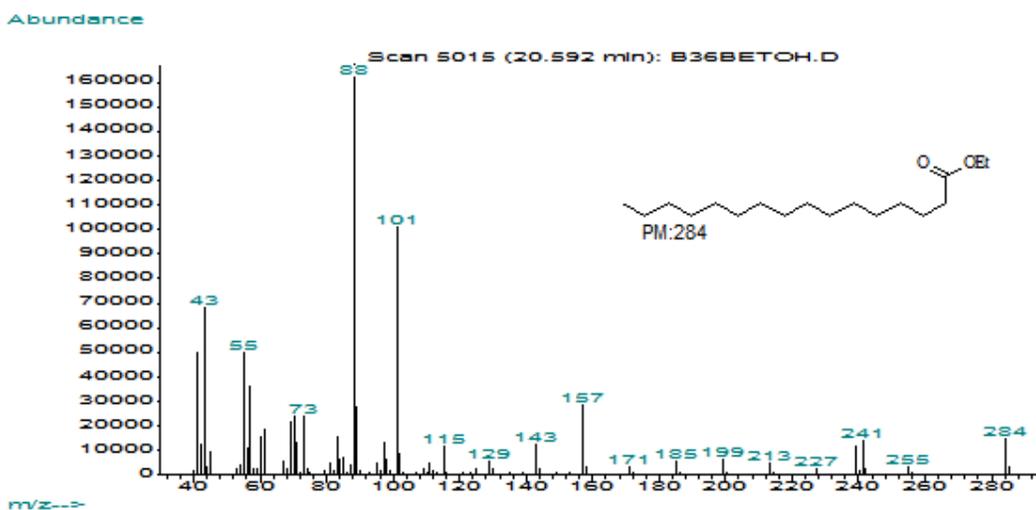


Figura 51. Espectro de massas do composto **5e** Método Convencional.

ANEXOS II
ESPECTROS DE INFRAVERMELHO

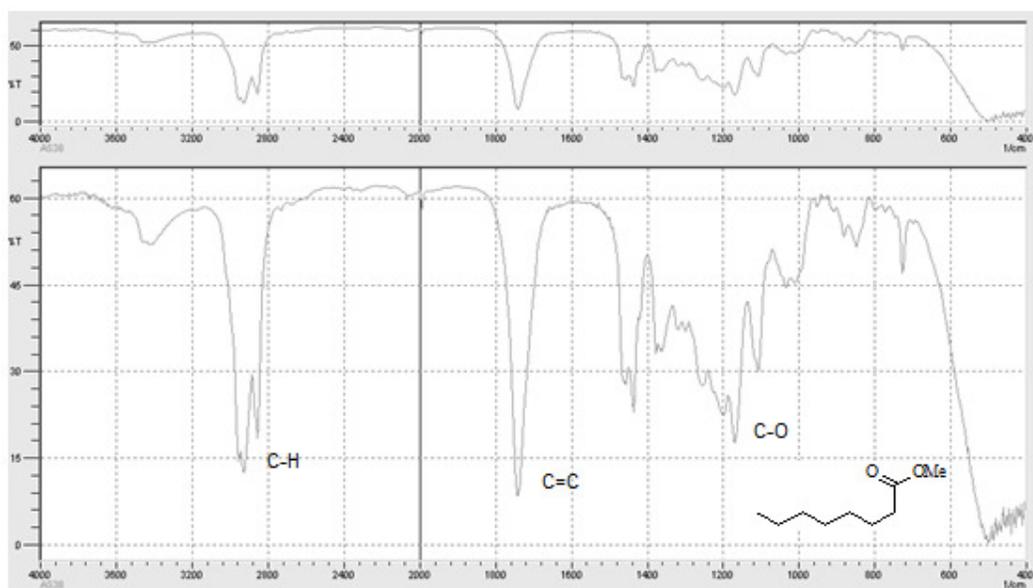


Figura 52. Espectro de Infravermelho do composto 4a Método Ultrassom.

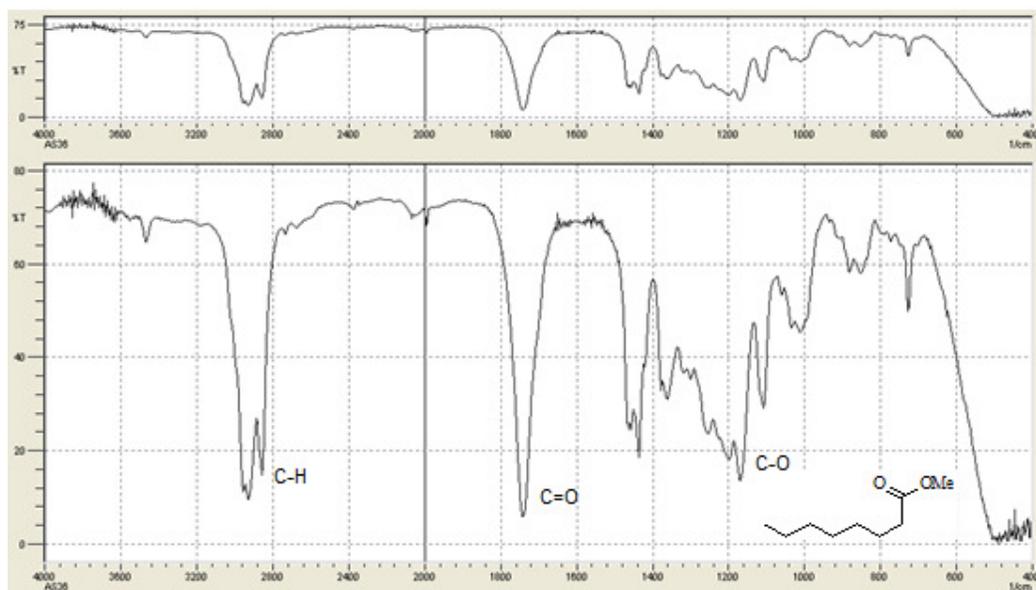


Figura 53. Espectro de Infravermelho do composto 4a Método Convencional.

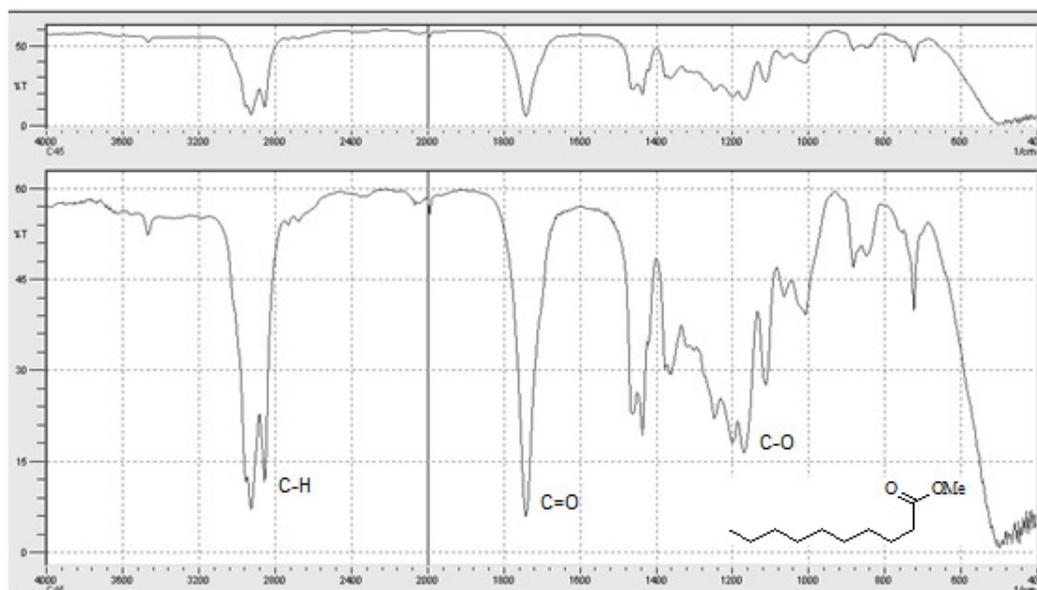


Figura 54. Espectro de Infravermelho do composto **4b** Método Ultrassom.

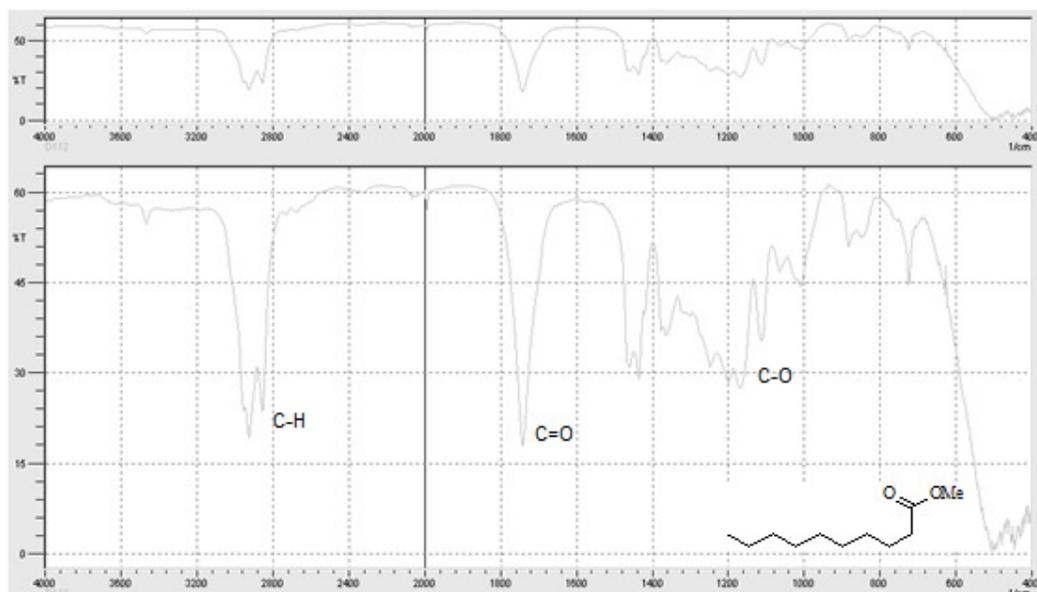


Figura 55. Espectro de Infravermelho do composto **4b** Método Convencional.

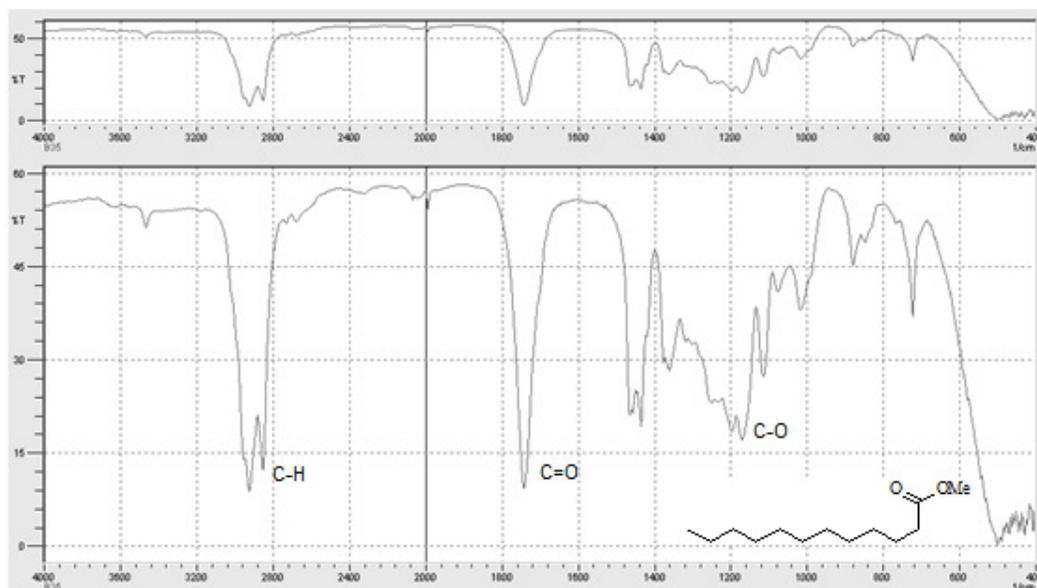


Figura 56. Espectro de Infravermelho do composto 4c Método Ultrassom.

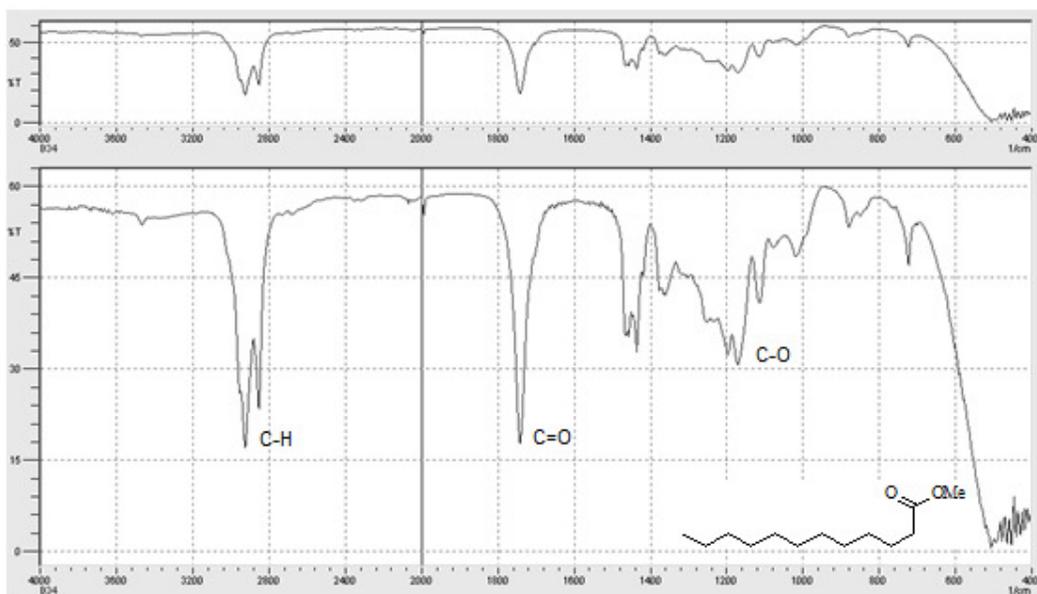


Figura 57. Espectro de Infravermelho do composto 4c Método Convencional.

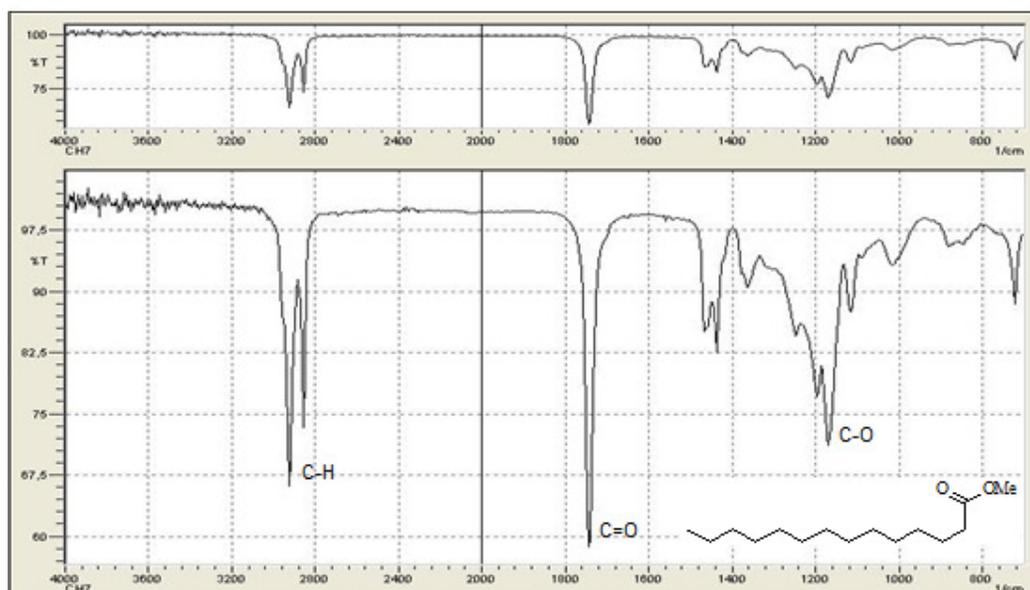


Figura 58. Espectro de Infravermelho do composto 4d Método Ultrassom.

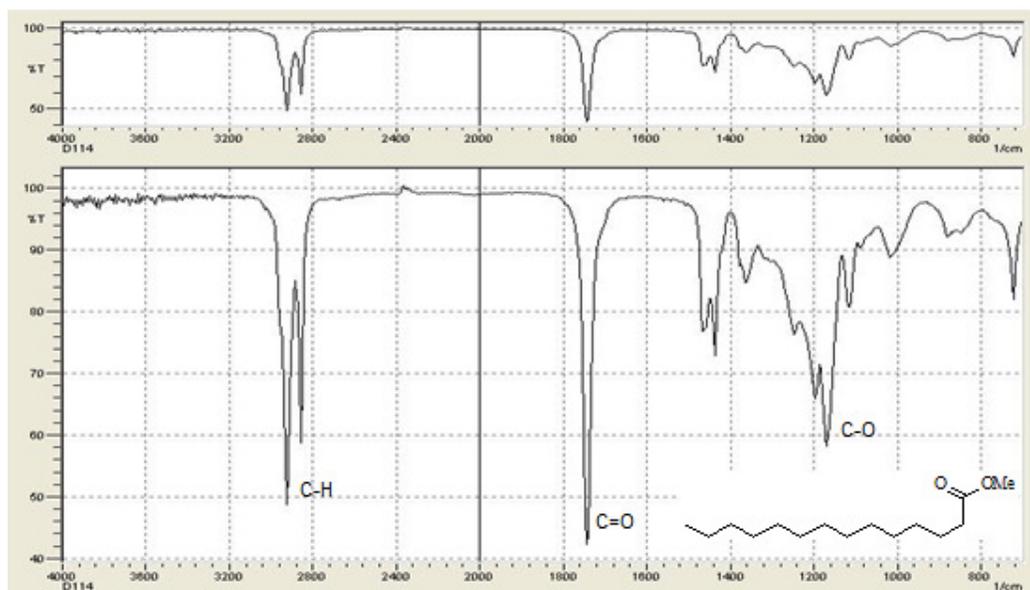


Figura 59. Espectro de Infravermelho do composto 4d Método Convencional.

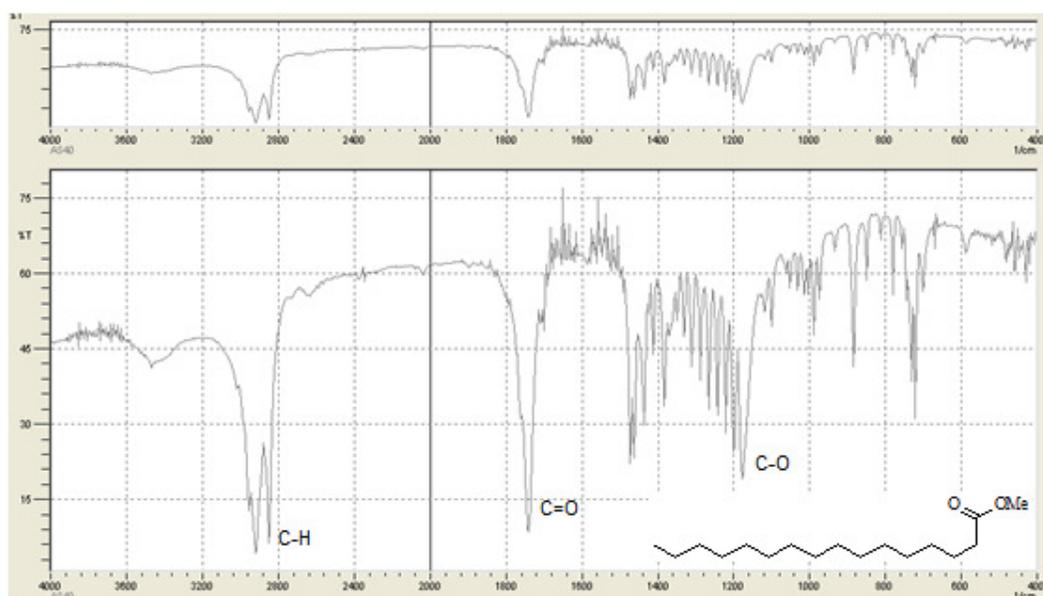


Figura 60. Espectro de Infravermelho do composto 4e Método Ultrassom.

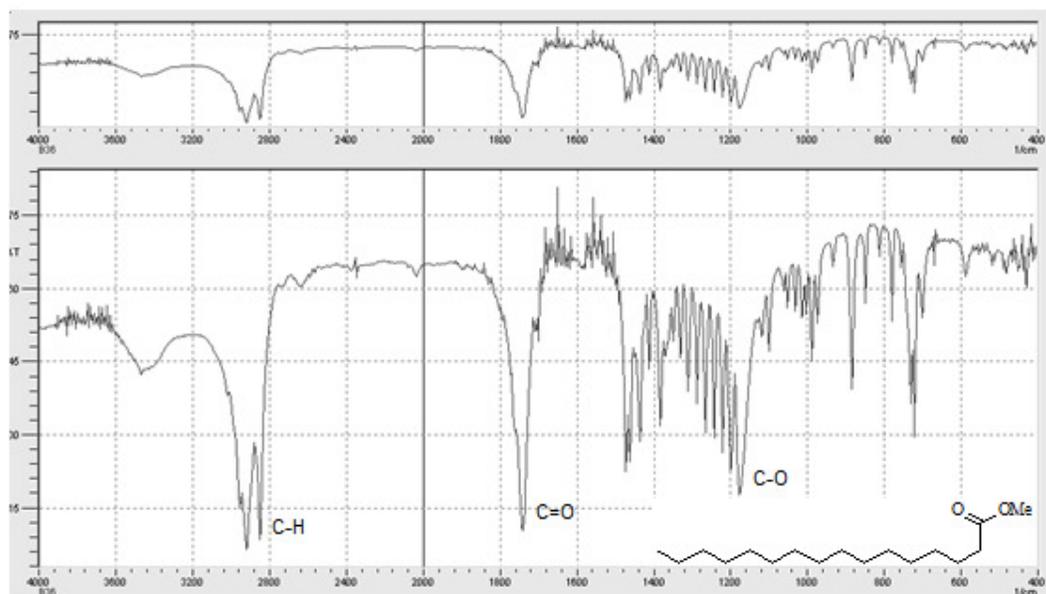


Figura 61. Espectro de Infravermelho do composto 4e Método Convencional.

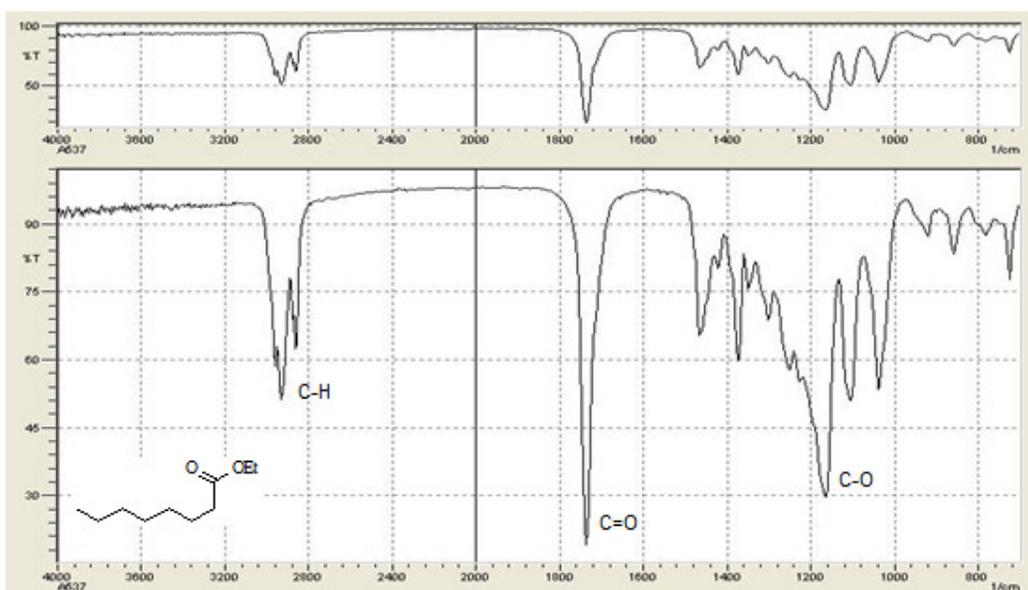


Figura 62. Espectro de Infravermelho do composto 5a Método Ultrassom.

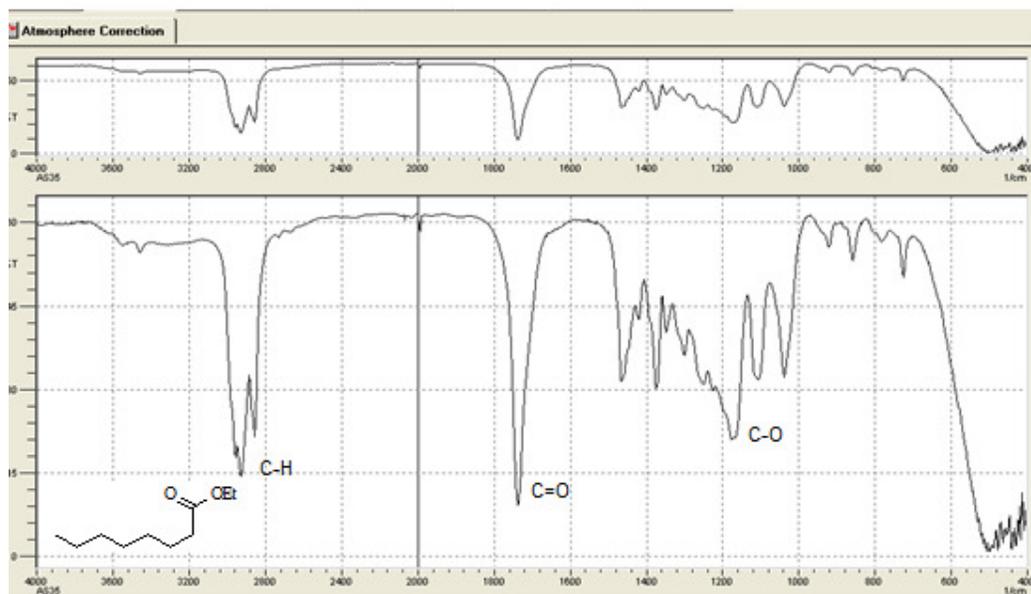


Figura 63. Espectro de Infravermelho do composto 5a Método Convencional.

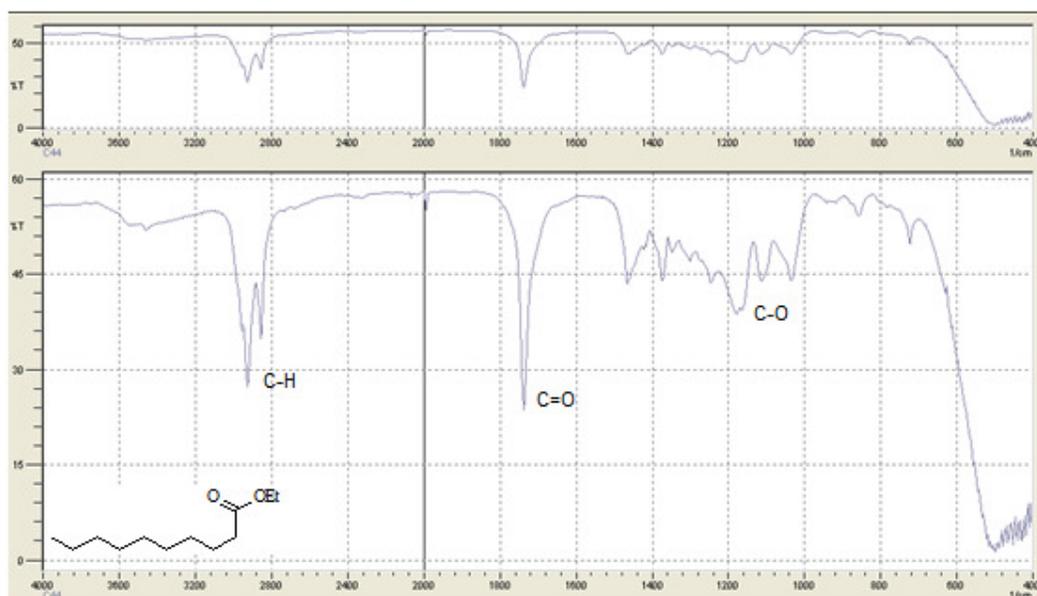


Figura 64. Espectro de Infravermelho do composto 5b Método Ultrassom.

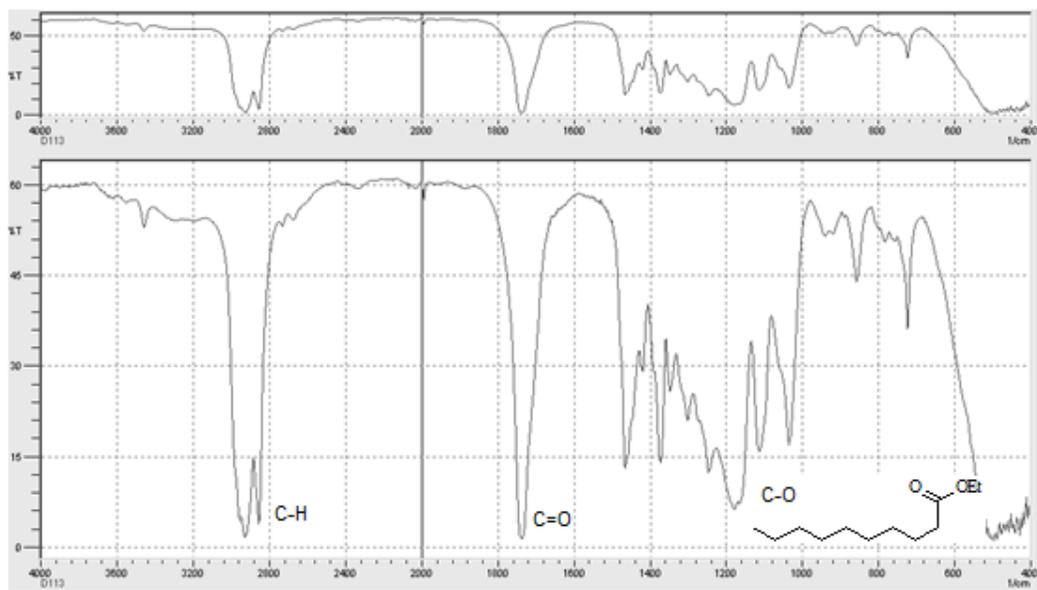


Figura 65. Espectro de Infravermelho do composto 5b Método Convencional.

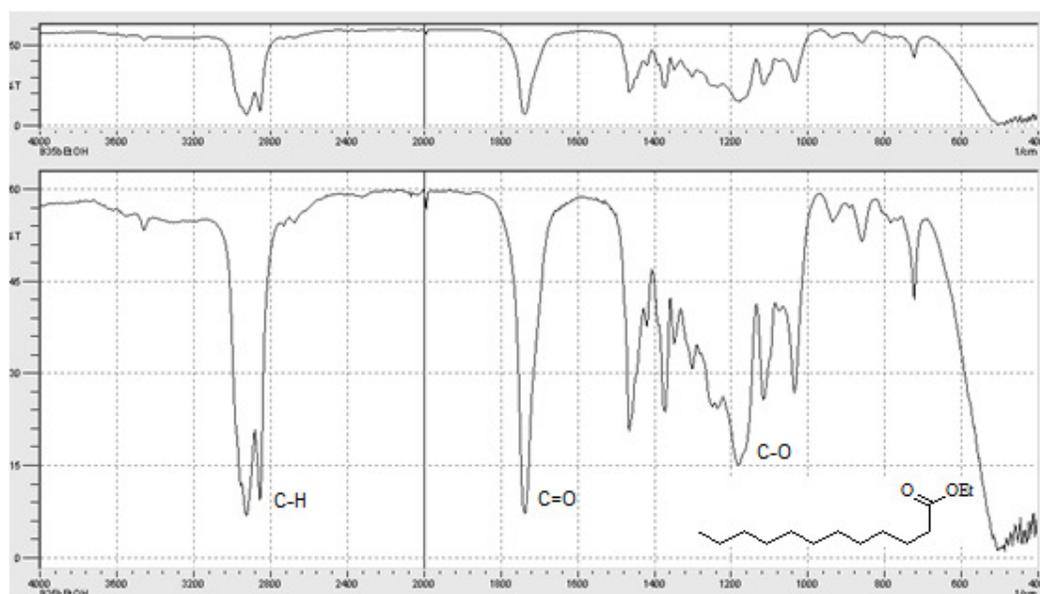


Figura 66. Espectro de Infravermelho do composto 5c Método Ultrassom.

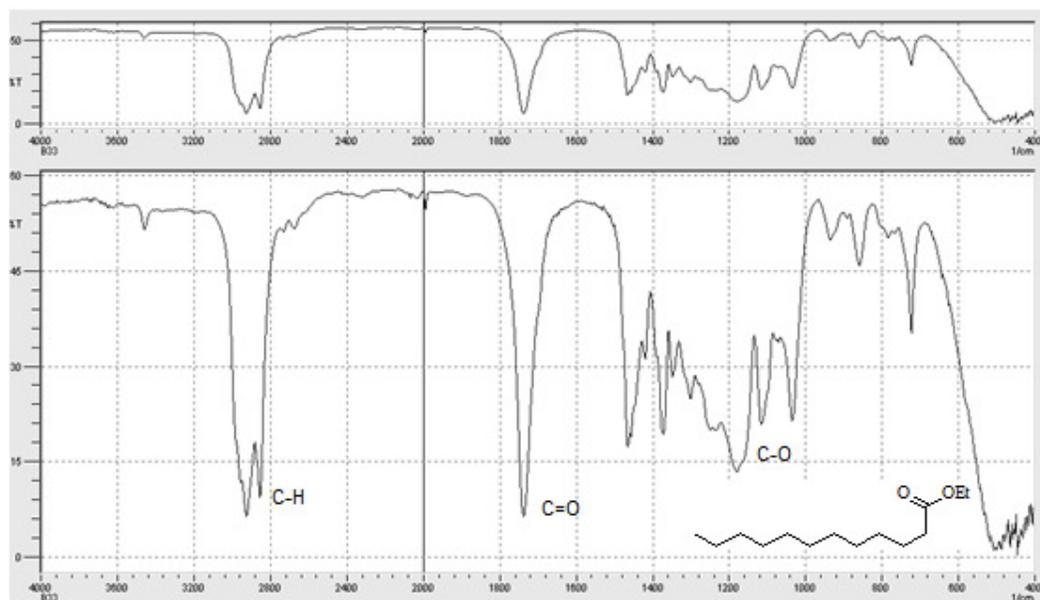


Figura 67. Espectro de Infravermelho do composto 5c Método Convencional.

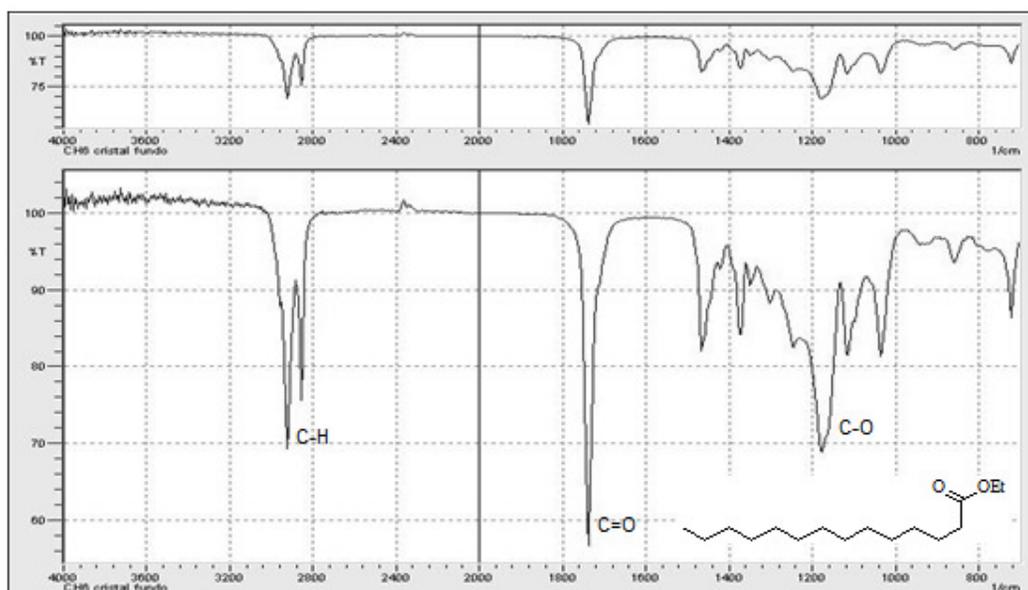


Figura 68. Espectro de Infravermelho do composto **5d** Método Ultrassom.

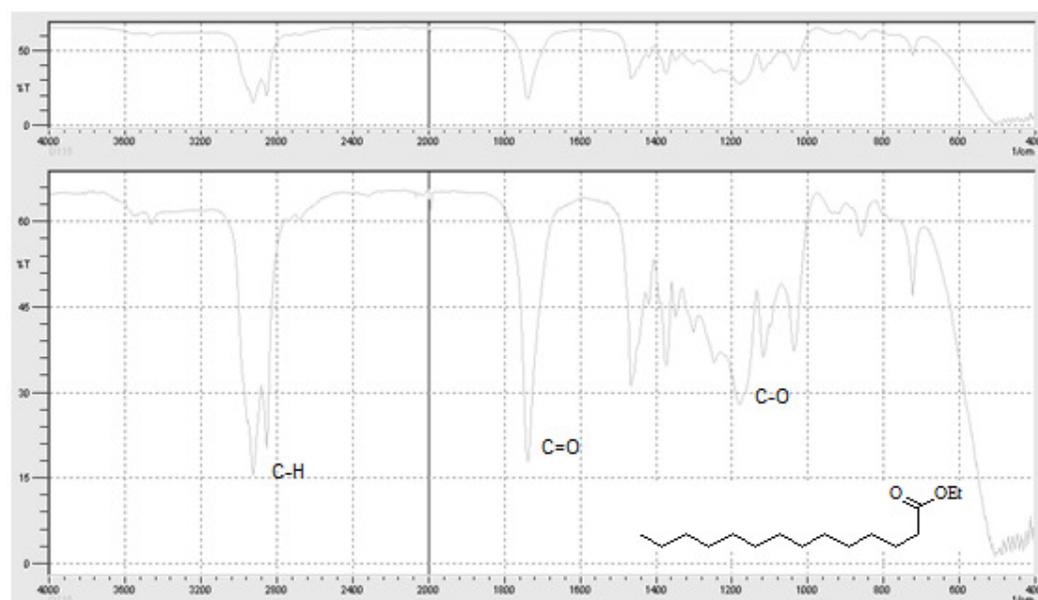


Figura 69. Espectro de Infravermelho do composto **5d** Método Convencional.

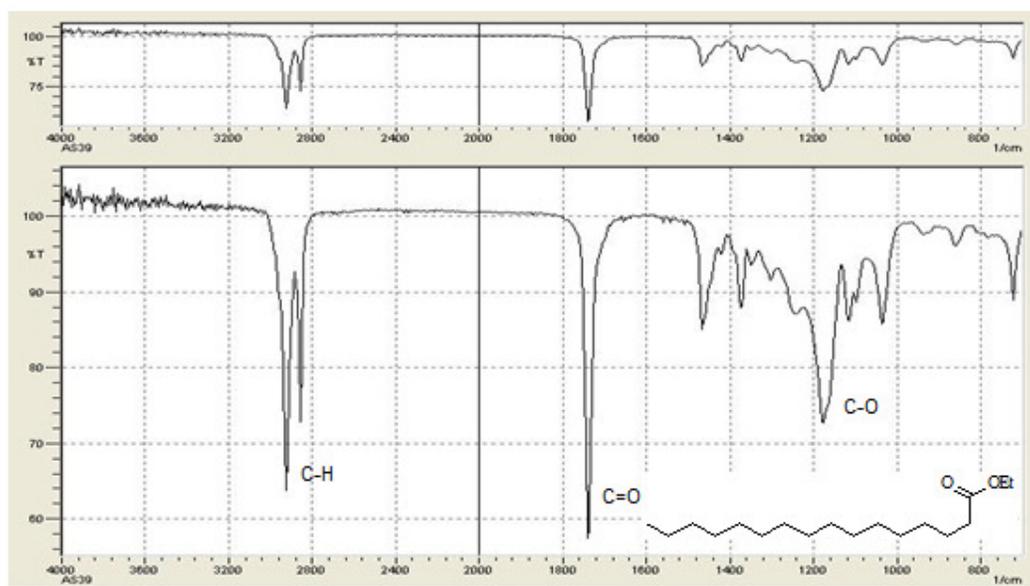


Figura 70. Espectro de Infravermelho do composto 5e Método Ultrassom.

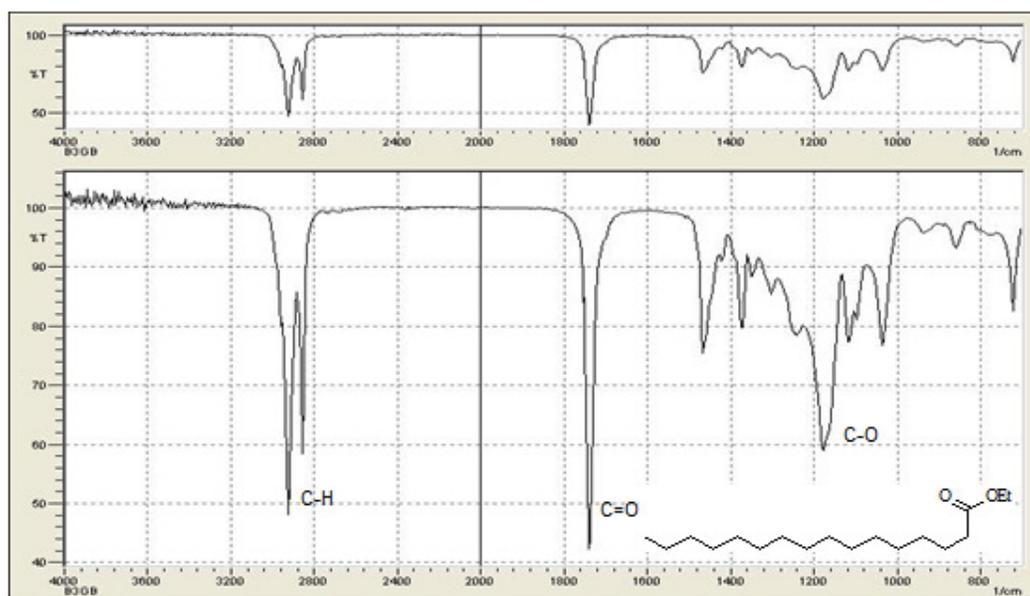


Figura 71. Espectro de Infravermelho do composto 5e Método Convencional.