



Valorização da Borra de Café: Otimização da Produção de Biodiesel por Catálise Enzimática

DIANA CARMINDA AMORIM CALDEIRA

Outubro de 2015

INSTITUTO SUPERIOR DE ENGENHARIA DO PORTO

MESTRADO EM ENGENHARIA QUÍMICA

RAMO OPTIMIZAÇÃO ENERGÉTICA NA INDÚSTRIA QUÍMICA



Valorização da Borra de Café: Otimização da Produção de Biodiesel por Catálise Enzimática

Diana Carminda Amorim Caldeira

Novembro de 2015

Orientação: Doutora Nídia Sá Caetano

Não basta dar os passos que nos devem levar um dia ao objetivo, cada passo deve ser ele próprio um objetivo em si mesmo, ao mesmo tempo que nos leva para diante.”

Johann Goethe

AGRADECIMENTOS

Quero deixar aqui expresso o meu agradecimento a todos aqueles que de uma forma direta ou indireta contribuíram para o desenvolvimento deste trabalho que culmina no término do meu percurso académico como mestre em Engenharia Química.

Tenho, por este motivo, antes de mais, começar por agradecer à minha orientadora de tese de mestrado, Professora Doutora Nídia Sá Caetano pela partilha dos seus conhecimentos e igualmente pelo seu apoio, incentivo, disponibilidade e amizade com que sempre me tratou.

Quero igualmente agradecer ao Professor Doutor António Crispim, meu professor e diretor do Mestrado em Engenharia Química, pelos conhecimentos transmitidos, cordialidade e incentivo ao longo destes anos.

Um agradecimento a todos os engenheiros do Laboratório de Tecnologia Química, Marília Baptista, Magda Marques e José Tomás, pela disponibilidade, ajuda, pelos “avisos” e oportunas sugestões que me deram; à Eng. Aurora Silva e Eng. Bruno Pereira pela simpatia e disponibilidade que me concederam para utilizar o Rotavapor que muitas e muitas vezes utilizei!

Não posso deixar de agradecer à Ana Almeida pela ajuda que me deu com o cromógrafo gasoso, imprescindível para o término desta dissertação e ao Professor Doutor Luís Silva pela ajuda prestada no programa de otimização que tanta dor de cabeça me deu. Não posso deixar de agradecer igualmente aos restantes professores que me acompanharam durante os dois anos de mestrado.

Um agradecimento especial aos meus amigos Carolina Silva, Marco Eira, Marcelo Suarez e Vera Barbosa por todo o apoio e incentivo que me permitiram ter força para terminar esta etapa da minha vida.

Agradeço com muito carinho ao meu querido e imprescindível João Barbosa, por todo o apoio, amor e força que me deu nos momentos de maior ansiedade e dificuldade.

Por fim um muito especial agradecimento à minha Mãe e Pai, pelo seu incondicional apoio, carinho, incentivo, dedicação e sacrifício demonstrados ao longo de toda a minha vida, pretendendo sempre o meu bem e sucesso.

Um bem haja a todos!

Diana Caldeira.

RESUMO

O decréscimo das reservas de petróleo e as consequências ambientais resultantes do recurso a combustíveis fósseis nos motores a diesel têm levado à procura de combustíveis alternativos. Esta pesquisa alicerçada nas fontes de energia renovável tornou-se essencial, face à crescente procura de energia e ao limitado fornecimento de combustíveis fósseis .

Resíduos de óleo de cozinha, gordura animal, entre outros resíduos de origem biológica, tais como a borra de café, são exemplos de matérias-primas para a produção de biodiesel. A sua valorização tem interesse quer pela perspetiva ambiental, quer pela económica, pois aumenta não só a flexibilidade e diversificação das matérias-primas, mas também contribui para uma estabilidade de custos e alteração nas políticas agrícolas e de uso do solo.

É neste contexto que se enquadra o biodiesel e a borra de café, pretendendo-se aqui efetuar o estudo da produção, à escala laboratorial, de biodiesel a partir da borra de café, por transesterificação enzimática, visando a procura das melhores condições reacionais.

Iniciando-se com a caracterização da borra de café, foram avaliados antes e após a extração do óleo da borra de café, diversos parâmetros, de entre os quais se destacam: o teor de humidade (16,97% e 6,79%), teor de cinzas (1,91 e 1,57%), teor de azoto (1,71 e 2,30%), teor de proteínas (10,7 e 14,4%), teor de carbono (70,2 e 71,7%), teor de celulose bruta (14,77 e 18,48%), teor de lenhina (31,03% e 30,97%) e poder calorífico superior (19,5 MJ/kg e 19,9 MJ/kg).

Sumariamente, constatou-se que os valores da maioria dos parâmetros não difere substancialmente dos valores encontrados na literatura, tendo sido evidenciado o potencial da utilização desta biomassa, como fonte calorífica para queima e geração de energia.

Sendo a caracterização do óleo extraído da borra de café um dos objetivos antecedentes à produção do biodiesel, pretendeu-se avaliar os diferentes parâmetros mais significativos. No que diz respeito à caracterização do óleo extraído, distingue-se a sua viscosidade cinemática (38,04 mm²/s), densidade 0,9032 g/cm³, poder calorífico de 37,9 kcal/kg, índice de iodo igual a 63,0 gl₂/ 100 g óleo, o teor de água do óleo foi de 0,15 %, o índice de acidez igual a 44,8 mg KOH/g óleo, ponto de inflamação superior a 120 °C e teor em ácidos gordos de 82,8%.

Inicialmente foram efetuados ensaios preliminares, a fim de selecionar a lipase (*Lipase RMIM*, *TL 100L* e *CALB L*) e álcool (metanol ou etanol puros) mais adequados à produção de biodiesel, pelo que o rendimento de 83,5% foi obtido através da transesterificação mediada pela *lipase RMIM*, utilizando como álcool o etanol.

Sendo outro dos objetivos a otimização do processo de transesterificação enzimática, através de um desenho composto central a três variáveis (razão molar etanol: óleo, concentração de enzima e temperatura), recorrendo ao software JMP 8.0, determinou-se como melhores condições, uma razão molar etanol: óleo 5:1, adição de 4,5% (m/m) de enzima e uma temperatura de 45 °C, que conduziram a um rendimento experimental equivalente a 96,7 % e teor de ésteres 87,6%. Nestas condições, o rendimento teórico foi de 99,98%.

Procurou-se ainda estudar o efeito da adição de água ao etanol, isto é, o efeito da variação da concentração do etanol pela adição de água, para teores de etanol de 92%, 85% e 75%. Verificou-se que até 92% decorreu um aumento da transesterificação (97,2%) para um teor de ésteres de (92,2%), pelo que para teores superiores de água adicionada (75% e 85%) ocorreu um decréscimo no teor final em ésteres (77,2% e 89,9%) e no rendimento da reação (84,3% e 91,9%). Isto indica a ocorrência da reação de hidrólise em maior extensão, que leva ao desvio do equilíbrio no sentido contrário à reação de formação dos produtos, isto é, dos ésteres.

Finalmente, relativamente aos custos associados ao processo de produção de biodiesel, foram estimados para o conjunto de 27 ensaios realizados neste trabalho, e que corresponderam a 767,4 g de biodiesel produzido, sendo o custo dos reagentes superior ao custo energético, de 156,16 € e 126,02 €, respetivamente.

Naturalmente que não esperamos que, a nível industrial os custos sejam desta ordem de grandeza, tanto mais que há economia de escala e que as enzimas utilizadas no processo deveriam ser reutilizadas diversas vezes.

Palavras-chave: Biodiesel, borra de café, custos, óleo vegetal, otimização, transesterificação enzimática.

ABSTRACT

The decrease of oil reserves and the environmental consequences resulting from the use of fossil fuels in diesel engines led to the search for alternative fuels. The research for non fossil fuels has become the target goal, based on renewable energy sources, owing to the growing demand for energy and the limited supply of fossil fuels.

Cooking oil, animal fat, and other biological residues such as spent coffee grounds, are examples of raw materials for the biodiesel production. Its valorization has interest both on the environmental and on the economic perspective because not only it increases the flexibility and diversification of raw materials, but also contributes to the stability of prices and changes in agricultural policies and land use.

It is in this context that the biodiesel and the spent coffee grounds are included, therefore it is the aim of this work to study biodiesel production from spent coffee grounds, on a laboratory scale, through enzymatic transesterification, aiming at finding the best reaction conditions.

The characterization of the spent coffee grounds was made before and after the spent coffee grounds oil extraction. Among various parameters stands out the moisture content (16.97% and 6.79%), ash content (1.91 and 1.57%), nitrogen content (1.71 and 2.30%), protein content (10.7 and 14.4%), carbon content (70.2 to 71.7%), crude fiber content (14.77 and 18.48%), lignin content (31.03% and 30.97%) and high power heating value (19.5 MJ / kg and 19.9 MJ / kg).

Briefly, it was found that most of the parameters do not differ substantially from the results found in the literature, and it was noticed the potential use of this biomass as a heating source for burning and power generation.

The characterization of the oil extracted from coffee grounds is one of the prior objectives in the production of biodiesel, it is intended to evaluate its different parameters. Regarding the characterization of oil extracted, it can be highlighted its kinematic viscosity (38.0 mm² / s), density 0.9032 g / cm³, calorific value 37.9 kcal/kg, iodine number equal to 63.0 g I₂ / 100 g oil, oil water content was 0.15%, index acidity equal to 44.8 mg KOH / g oil, the flash point greater than 120 °C and the fatty acid content of 82.80%.

Initially preliminary experiments were performed, in order to select the lipase (Lipase RMIM, 100L TL and CALB L) and alcohol (methanol or ethanol) more suited to the production of biodiesel, whereby the yield of 83.5% was obtained using lipase RMIM and ethanol as alcohol.

The optimization of the enzymatic process was one of the objectives, using a central composite design of three variables (molar ratio ethanol: oil enzyme temperature and concentration), using the JMP 8.0 software, it was determined as optimum conditions, molar ratio ethanol : oil 5: 1, adding 4.5% (w/w) enzyme and a 45 °C temperature, leading to an experimental performance equivalent to 96.7% and 87.6% esters content. Accordingly, the theoretical yield was 99.98%.

It was intended to further investigate the effect of adding water to the ethanol, i.e., the variation of the ethanol content by adding water to values ranging from 92%, 85% and 75%. It was found that 92% would increase transesterification (97.2%) to a content of esters of (92.2%) and therefore to higher levels of added water (75% and 85%) there was a decrease in esters content (77.2% and 89.0%) and the yield of the reaction (84.3% and 91.9%).

This suggests the occurrence of the hydrolysis reaction, which leads to the deviation of equilibrium in the opposite direction for the formation of the reaction products, i.e., esters.

Finally, regarding the costs associated with the biodiesel production process in this work, they were evaluated for the set of 27 assays that were run, where 767,4 g of biodiesel was produced. Thus the cost of reactants was higher than that of energy, which was of 156.16 € and 126.02 €, respectively.

It must be stated that it is not expected that, under an industrial scale, costs are so high as there will be reduction in costs due to scale up and to the reusability of enzymes.

Keywords: Biodiesel, costs, enzymatic transesterification, oil, optimization, spent coffee grounds.

ÍNDICE

1.	INTRODUÇÃO	1
1.1.	Enquadramento: A crise energética atual.....	1
1.1.1.	Dependência energética: Portugal.....	3
1.1.2.	Solução: As energias renováveis	5
1.2.	Os biocombustíveis e a atual conjuntura	6
1.3.	O Biodiesel.....	7
1.3.1.	Enquadramento Histórico	9
1.3.2.	O Controlo de Qualidade.....	10
1.3.3.	Propriedades físicas e químicas	10
1.3.4.	Enquadramento legislativo	12
1.3.5.	Benefícios e impactos associados à utilização do biodiesel	13
1.4.	Biomassa: Uma fonte de biocombustíveis.....	14
1.5.	Matéria-prima: O café e sua origem	15
1.5.1.	A borra de café: resíduo ou subproduto?	18
1.5.2.	Composição química da borra de café.....	19
1.6.	Objetivos do trabalho	21
1.7.	Estrutura da dissertação.....	21
2.	ESTADO DE ARTE	25
2.1.	Processo de produção do biodiesel.....	25
2.1.1.	Extração do óleo/gordura da borra de café	25
2.1.2.	Caracterização do óleo extraído/biodiesel.....	27
2.1.3.	Síntese do Biodiesel – Reação de transesterificação.....	28
2.1.4.	Purificação do biodiesel.....	34
2.1.5.	Principais parâmetros que afetam o processo de produção	36
2.1.6.	O Biodiesel obtido a partir de óleo da borra de café- Revisão bibliográfica..	42
2.1.7.	Planeamento Experimental	49
3.	DESCRIÇÃO TÉCNICA.....	51

3.1.	Caracterização das amostras de borra de café.....	52
3.2.	Produção de Biodiesel.....	54
3.2.1.	Etapa I: Extração e Recuperação do óleo da borra de café.....	54
3.2.2.	Etapa II: Síntese do Biodiesel.....	57
3.2.3.	Etapa III: Purificação do Biodiesel.....	60
3.3.	Estudo do Planeamento Experimental.....	62
4.	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	67
4.1.	Caracterização da matéria-prima: borra de café.....	67
4.2.	Caracterização do óleo da borra de café.....	69
4.3.	Ensaio preliminares de produção de biodiesel.....	72
4.4.	Ensaio com adição de água ao álcool.....	85
4.5.	Custos associados à produção de biodiesel.....	86
5.	CONCLUSÕES E SUGESTÕES.....	89
	BIBLIOGRAFIA.....	93
	ANEXOS.....	105
	Anexo A - Especificações Técnicas e Estudos de Produção de Biodiesel.....	105
	Anexo B - Procedimentos Analíticos.....	107
	B.1. Caracterização da borra de café.....	107
	B.1.1. Determinação do teor de humidade.....	107
	B.1.2. Determinação do teor de cinzas.....	108
	B.1.3. Determinação do teor matéria gorda.....	109
	B.1.4. Determinação do teor em celulose bruta.....	111
	B.1.5. Determinação do teor em carbono orgânico total.....	113
	B.1.6. Determinação do teor de azoto total.....	114
	B.1.7. Determinação do teor de proteínas.....	117
	B.1.8. Determinação do teor de lenhina.....	118
	B.1.9. Determinação do Poder Calorífico Superior.....	120
	B.2. Caracterização do óleo da borra de café e do biodiesel.....	121

B.2.1. Preparação de ésteres metílicos de ácidos gordos	121
B.2.2. Análise Cromatográfica	123
B.2.3. Determinação do Índice de Iodo	124
B.2.4. Determinação do Índice de acidez	126
B.2.5. Determinação da Massa volúmica	126
Método do picnómetro	126
B.2.6. Determinação da Viscosidade cinemática	127
B.2.7. Determinação do Poder Calorífico Superior	129
B.2.8. Determinação do Teor em água	129
B.2.9. Determinação do ponto de Inflamação	130
C- Resultados experimentais	131
C.1- <i>Caracterização da borra de café</i>	131
C.2- <i>Caracterização do óleo da borra de café</i>	138
C.3- <i>Otimização da produção de Biodiesel</i>	143
C.4- <i>Custos da produção de Biodiesel</i>	150
D- Exemplos de Cálculo	154
D.1. <i>Caracterização da borra de café</i>	155
D.2. <i>Caracterização do óleo da borra de café e do biodiesel</i>	158
D.3. <i>Otimização da produção de biodiesel</i>	163
D.4. <i>Ensaio com adição de água ao etanol</i>	165
D.5. <i>Custos de produção de biodiesel</i>	165

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1.1 - Tempo de vida útil do petróleo entre 1980 e 2010 (Spagarino, 2012).....	2
Figura 1.2 - Consumo de energia primária por fonte energética, em 2012 (Adaptado de (IEA, 2012)).....	3
Figura 1.3 - Dependência energética, entre 2005-2012 (APA, 2013).....	4
Figura 1.4 - Proporção do consumo total da União Europeia por biocombustível, em 2013 (Adaptado de (Observ'ER, 2007)).	7
Figura 1.5 - Consumo diário mundial de biodiesel, em milhares de barris (Adaptado de (EIA, 2012)).....	8
Figura 1.6 - Consumo diário de biodiesel, em milhares de barris, por país (Adaptado de (EIA, 2012)).....	8
Figura 1.7 - Variação da composição da emissão de gases em função do teor (%) em biodiesel (EPA, 2002).....	13
Figura 1.8 – Estrutura do grão de café (Farinhoto, 2012).	16
Figura 2.1 - Extrator <i>Soxhlet</i> industrial (Camargos et al., 2007).....	26
Figura 2.2 - Esquema representativo de um evaporador rotativo (Camargos et al., 2007). ..	27
Figura 2.3 - Filtro de combustível após utilização de biodiesel, de superior (esquerda) e de inferior qualidade (direita) (Alexandre et al., 2007).	27
Figura 2.4 - Processo global da transesterificação (Macedo, 2003).....	28
Figura 2.5 - Sequência de reações consecutivas e reversíveis do processo de transesterificação (Macedo, 2003).	29
Figura 2.6 - Variação da energia de ativação com a presença e ausência de enzima (Rocha, 2001).....	32
Figura 2.7 - Influência da razão molar metanol: óleo no processo de transesterificação (Adaptado de (Shimada et al., 1999)).....	37
Figura 2.8- Influência da adição de co-solvente: (a) sistema isento de co-solvente; (b) presença de co-solvente orgânico (Pereira, 2013).	39
Figura 2.9- Influência do co-solvente no processo de transesterificação, usando lipases imobilizadas (Adaptado de (Soumanou et al., 2003)).	40
Figura 2.10 - Hidrólise dos triglicerídeos em diglicerídeos e ácidos gordos livres (Leung et al., 2010).	42
Figura 2.11 – Influência do teor de água (%) na taxa de conversão, utilizando óleo de farelo de arroz. Adaptado de (LI et al., 2010).	42
Figura 2.12 – Efeito de diferentes lipases na taxa de conversão em ésteres etílicos (Banerjee et al., 2013).	48
Figura 2.13 – Efeito da temperatura e da concentração de enzima na taxa de conversão em ésteres etílicos (Banerjee et al., 2013).	48
Figura 2.14 – Experimento de composição central com $\alpha=2$.	50
Figura 3.1- Etapas do processo adotado para a produção do biodiesel.	51
Figura 3.2 – Unidade de extração <i>Soxhlet</i> à escala piloto.	55
Figura 3.3 – Balão recetor com o óleo da borra de café.	55
Figura 3.4 – Catalisadores enzimáticos utilizados nos ensaios preliminares.	59
Figura 3.5 – Aquecimento dos frascos de reação em banho com agitação magnética.	59
Figura 3.6 – Filtração a vácuo do biodiesel para recuperação da enzima.	60
Figura 3.7 – Separação de fases após adição de glicerina.....	60
Figura 3.8 – Decantação: parte superior (ésteres) e inferior (glicerina).	61
Figura 3.9 – Adição de óxido de magnésio, como agente secante, ao biodiesel.	61

Figura 3.10 – Biodiesel produzido nos ensaios preliminares.	61
Figura 3.11 – Planeamento fatorial com cinco níveis (Adaptado de Costa (2008)).	63
Figura 4.1 – Curva de Pareto representativa dos resultados.	77
Figura 4.2 – Representação dos efeitos de interação.....	78
Figura 4.3 - Representação dos resíduos <i>em função do Rendimento</i> esperado.....	78
Figura 4.4 – Distribuição dos resíduos previstos pelo modelo.	79
Figura 4.5 – Representação gráfica da superfície de resposta dos resultados da Tabela 4.7.	80
Figura 4.6 – Representação gráfica da superfície de resposta dos resultados da Tabela 4.8.	81
Figura 4.7 – Representação gráfica da superfície de resposta dos resultados da Tabela 4.9.	82
Figura 4.8 – Gráfico de contorno, variando a razão molar álcool:óleo e a temperatura.	83
Figura 4.9 – Gráfico de contorno, variando a concentração de enzima e a razão molar álcool: óleo.	84
Figura 4.10 – Gráfico de contorno, variando a concentração de enzima e a temperatura. ...	84

Anexo B

Figura B. 1 - Extrator <i>Soxhlet</i>	110
Figura B. 2 - Rotavapor.	111
Figura B. 3 – Condensador de Refluxo.....	113
Figura B. 4 – Sistema de filtração de vácuo.	113
Figura B. 5 - Analisador COT (à esquerda), <i>Solid Sample Module</i> (à direita).	114
Figura B. 6 - Digestor de Kjeldahl.....	116
Figura B. 7 - Destilador.....	117
Figura B. 8 - Matrizes antes e após titulação.....	117
Figura B. 9 - Bomba calorimétrica (à esquerda); calorímetro <i>Parr 6722</i> (à direita).	121
Figura B. 10- Cromatógrafo DANI, GC 1000 DPC.	124
Figura B. 11 – Tonalidades durante a titulação da amostra.	125
Figura B. 12 – a) Equipamento utilizado na determinação da viscosidade b) Representação esquemática do viscosímetro capilar.....	128
Figura B. 13 - Equipamento para a determinação do ponto inflamação.....	130

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1.1 – Comparação de algumas propriedades do diesel e biodiesel (Moreira, 2008).	13
Tabela 1.2 – Composição química da borra do café.....	19
Tabela 2.1 - Comparação entre a catálise enzimática e química (alcalina e ácida) para a produção de biodiesel (Adaptado de (Gog et al., 2012); (Al-Zuhair, 2007)).	31
Tabela 2.2 – Estudos efetuados no âmbito da catálise na produção de biodiesel.	33
Tabela 2.3 – Continuação da Tabela 2.2.....	34
Tabela 2.4 - Efeito do álcool e da enzima na taxa de conversão em ésteres (Liu et al., 2010).	38
Tabela 2.5 - Principais fontes vegetais oleaginosas e seus conteúdos em óleo.	43
Tabela 2.6 - Composição em ácidos gordos para o óleo de café cru e torrado de diferentes fontes bibliográficas.....	44
Tabela 2.7 - Propriedades do óleo de café e do biodiesel (Deligiannis et al., 2011).	45
Tabela 2.8 - Variação do rendimento em óleo com o tempo para as diferentes solventes (Al-Hamamre et al., 2012).....	46
Tabela 2.9 - Propriedades físicas de óleo de café moído extraído com solventes diferentes (Al-Hamamre et al., 2012).	47
Tabela 3.1 – Ensaio preliminares efetuados.	58
Tabela 3.2 – Gama dos parâmetros estudados, no DCC, traduzida nos diferentes níveis....	64
Tabela 3.3 – Planeamento para os ensaios expresso em variáveis codificadas e nos respetivos valores a ensaiar.	64
Tabela 3.4 – Condições usadas no estudo do efeito da adição de água ao etanol (para as condições otimizadas com álcool anidro).	66
Tabela 4.1 – Resultados experimentais da caracterização da borra de café e valores de referência.	67
Tabela 4.2 – Resultados da avaliação dos diferentes parâmetros do óleo obtido nos ensaios experimentais.....	70
Tabela 4.3 – Resultados obtidos no biodiesel produzido no estudo preliminar para escolha da lipase potencialmente mais adequada.....	72
Tabela 4.4 – DCC para otimização do efeito das três variáveis independentes (temperatura, quantidade de enzima e razão molar óleo: etanol).	74
Tabela 4.5 – Análise da Variância (ANOVA).	75
Tabela 4.6 – Coeficientes das variáveis analisadas e seus efeitos principais e interações...76	
Tabela 4.7 – Percentagem de transesterificação teórica, face ao efeito conjugado da temperatura e razão molar, assumindo uma quantidade fixa de 4,5% para a concentração de catalisador.....	80
Tabela 4.8 – Percentagem de transesterificação teórica, face ao efeito conjugado da concentração de enzima e razão molar, assumindo uma Temperatura fixa de 45°C.....	81
Tabela 4.9 – Percentagem de transesterificação teórica, face ao efeito conjugado da concentração de enzima e Temperatura, assumindo uma razão molar fixa de 5:1.....	82
Tabela 4.10 – Resultados experimentais obtidos para o rendimento da reação, densidade e viscosidade cinemática, variando o teor de água no etanol.	85
Tabela 4.11 – Custos energéticos resultantes da caracterização da borra de café, óleo e caracterização e produção de biodiesel.	86
Tabela 4.12 – Custo dos reagentes usados na caracterização da borra de café, óleo e caracterização e produção de biodiesel.	87

Anexo A

Tabela A. 1 - Especificações da norma europeia EN 14214:2014, referente à qualidade do biodiesel (NP EN 14214, 2014).	105
Tabela A. 2 - Principais efeitos e falhas nos motores a biodiesel de baixa qualidade (Felizardo, 2003).	106

Anexo C

Tabela C. 1 - Resultados experimentais para a determinação do teor em humidade antes e após a extração do óleo.	131
Tabela C. 2- Resultados experimentais para a determinação do teor em cinzas da borra de café, antes e após extração do óleo.	131
Tabela C. 3- Resultados experimentais, até obtenção de massa constante, teor de humidade e massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de celulose bruta.	132
Tabela C. 4- Resultados experimentais, para a determinação do teor de matéria gorda, antes e depois da extração do óleo da borra de café.	133
Tabela C. 5 - Resumo dos resultados experimentais, para a determinação do teor em celulose bruta, antes e depois da extração do óleo da borra de café.	133
Tabela C.6- Dados experimentais para o teor de Carbono Total da borra de café, antes e após extração do óleo.	134
Tabela C.7- Resultados experimentais para a determinação do teor de carbono orgânico total da borra de café, antes e após extração do óleo.	135
Tabela C. 8 - Resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de azoto.	135
Tabela C. 9- Resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de proteínas.	135
Tabela C. 10- Resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação de Lenhina de <i>Klason</i>	136
Tabela C. 11- Resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de Lenhina solúvel.	136
Tabela C.12- Resultados experimentais para a determinação do poder calorífico superior da borra de café, antes e após extração do óleo.	137
Tabela C.13- Resultados experimentais para a determinação do teor em azoto da borra de café, antes e após extração do óleo.	137
Tabela C.14- Resultados experimentais para a determinação do teor em proteínas da borra de café, antes e após extração do óleo.	137
Tabela C.15- Resultados experimentais para a determinação do índice de acidez do óleo da borra de café.	138
Tabela C.16- Resultados experimentais para a determinação da viscosidade cinemática do óleo a 40 °C.	138
Tabela C.17- Resultados experimentais obtidos recorrendo ao padrão, para a determinação do teor em água do óleo.	138
Tabela C.18- Resultados experimentais para a determinação do teor em água do óleo. ...	139
Tabela C.19- Resultados experimentais para a determinação do índice de iodo do óleo. ..	139

Tabela C.20- Resultados experimentais para a determinação do poder calorífico superior do óleo.	139
Tabela C.21- Resultados obtidos nas extrações do óleo da borra de café, utilizando como solvente o hexano.	140
Tabela C. 22- Resultados obtidos nas extrações do óleo da borra de café, utilizando como solvente o hexano Continuação da Tabela C.21.	141
Tabela C.23- Resultados experimentais obtidos na destilação sob vácuo.	141
Tabela C. 24- Caracterização e dados auxiliares ao cálculo da massa molecular do óleo para o 1ºensaio, 1ªinjeção.	142
Tabela C. 25- Caracterização e dados auxiliares ao cálculo da massa molecular do óleo para o 1ºensaio, 2ªinjeção.	143
Tabela C. 26- Resultados experimentais representativos das massas de óleo utilizada e de biodiesel obtido para cada um dos ensaios preliminares.	143
Tabela C. 27- Resultados experimentais para a densidade do biodiesel obtido, recorrendo a diferentes lipases.	144
Tabela C. 28- Resultados experimentais para a viscosidade do biodiesel obtido, recorrendo a diferentes lipases.	144
Tabela C. 29- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel para o ensaio preliminar com a lipase <i>RMIM</i> e <i>CALB L</i> , 1ºensaio, 2ºinjeção.	145
Tabela C. 30- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel para o ensaio preliminar com a lipase <i>RMIM</i> , 1ºensaio, 2ºinjeção.	145
Tabela C. 31- Resultados experimentais representativos das massas de óleo e biodiesel intrínsecas a cada ensaio de otimização.	146
Tabela C. 32- Resultados experimentais da viscosidade cinemática obtidos na otimização da produção de biodiesel.	146
Tabela C. 33- Resultados experimentais da densidade obtidos na otimização da produção de biodiesel.	147
Tabela C. 34- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel para o ensaio 12, otimizado, 1ºensaio, 2ªinjeção.	147
Tabela C. 35- Resultados experimentais representativos das massas de óleo e biodiesel intrínsecas a cada ensaio de adição de água ao etanol.	148
Tabela C. 36- Resultados experimentais da viscosidade cinemática obtidos nos ensaios com adição de água ao etanol.	148
Tabela C. 37- Resultados experimentais da densidade obtidos nos ensaios com adição de água ao etanol.	148
Tabela C. 38- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel, para um teor de etanol de 75%.	149
Tabela C. 39- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel, para um teor de etanol de 85%.	149
Tabela C. 40 - Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel, para um teor de etanol de 92%.	150
Tabela C. 41- Consumos energéticos resultantes da caracterização da borra de café.	151
Tabela C. 42- Consumos energéticos resultantes da caracterização do óleo da borra de café.	151
Tabela C. 43- Consumos energéticos resultantes da caracterização e produção do biodiesel.	152
Tabela C. 44- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de matéria gorda. .	152
Tabela C. 45- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de celulose bruta. .	152

Tabela C. 46- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de carbono.	152
Tabela C. 47- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de azoto.	153
Tabela C. 48- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de lenhina.....	153
Tabela C. 49- Custo dos reagentes associado à determinação do Poder Calorífico Superior.	153
Tabela C. 50- Custo dos reagentes associado à extração do óleo da borra de café.	153
Tabela C. 51- Custo dos reagentes associado à determinação do índice de acidez.	153
Tabela C. 52- Custo dos reagentes associado à determinação do índice de iodo.....	154
Tabela C. 53- Custo dos reagentes associado à determinação do Poder Calorífico Superior.	154
Tabela C. 54- Custo dos reagentes associado à determinação do teor em ésteres.	154
Tabela C. 55- Custo dos reagentes associado ao processo de produção do biodiesel.	154

Anexo D

Tabela D. 1- Teor de ésteres metílicos presentes no biodiesel.....	158
Tabela D. 2- Tarifário de baixa tensão especial para longas utilizações.	166

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

Lista de Abreviaturas

- $A_{\text{Éster}}$ – Área do éster parcial (mV.s)
- $A_{\text{padrão}}$ – Área do padrão interno (mV.s)
- $A_{205\text{nm}}$ – Valor medido no espectrofotômetro UV-Vis para a absorvância a 205 nm
- $\sum A$ – Somatório das áreas (mV.s)
- $C_{\text{padrão}}$ – Concentração do padrão interno (mg/mL)
- C_1 – Concentração do etanol puro (%)
- C_2 – Concentração do etanol pretendida (%)
- d – Densidade do material antes da correção da temperatura (g/cm^3)
- d' – Densidade do material à temperatura a que se realiza a medição (g/cm^3)
- $d_{\text{água a } \theta^\circ\text{C}}$ – Densidade da água à mesma temperatura (g/cm^3)
- f – Fator de diluição empregue
- G – Teor de Matéria Gorda (%)
- H – Teor de Humidade (%)
- K – Constante
- m_a – Massa do picnómetro com água destilada (g)
- $m_{\text{ácido}}$ – Massa de ácido benzóico (g)
- $m_{\text{álcool}}$ – Massa de álcool necessária (g)
- m_{amostra} – Massa da amostra de borra de café (g)
- $m_{\text{amostra óleo}}$ – Massa de amostra de óleo (g)
- $m_{\text{amostra seca}}$ – Massa de amostra de café seca (g)
- m_b – Massa do picnómetro com biodiesel (g)
- $m_{\text{biodiesel}}$ – Massa da amostra de biodiesel injetada (mg)
- m_{cinzas} – Massa de cinzas (g)
- m_{enzima} – Massa de enzima necessária (g)
- m_{final} – Massa final (g)
- m_{Lenhina} – Massa da lenhina (g)
- $m_{\text{óleo}}$ – Massa de óleo obtida (g)
- m_v – Massa do picnómetro vazio (g)
- MM_{AG} – Massa molecular em ácidos gordos (g/mol)
- $MM_{\text{álcool}}$ – Massa molecular de álcool (g/mol)
- MM_C – Massa molecular em ácidos gordos (g/mol)
- $MM_{\text{C}_3\text{H}_5\text{O}_3}$ – Massa molecular do lactato (g/mol)
- MM_H – Massa molecular do hidrogénio (g/mol)

- MM_{KOH} – Massa molecular do Hidróxido de potássio (56,11 g/mol)
- MM_N – Massa molar do azoto (14,007 g/mol)
- MM_O – Massa molecular do oxigénio (g/mol)
- $MM_{\text{óleo}}$ – Massa molecular do óleo (g/mol)
- m_1 – Massa de borra seca (g)
- m_2 – Massa de borra calcinada (g)
- N – Normalidade do ácido clorídrico (N)
- N_T - Concentração da solução padrão de tiosulfato de sódio (mol/L)
- $n_{\text{álcool}}$ – Número de moles de álcool (mol)
- N_{KOH} – Normalidade da solução de Hidróxido de potássio (N)
- $PCS_{\text{ácido}}$ – Poder calorífico superior do ácido benzoico (cal/g)
- PCS_{amostra} – Poder calorífico superior da amostra de borra de café (cal/g)
- PCS_{final} – Poder calorífico superior final (cal/g)
- V_a – Volume da solução padrão de tiosulfato de sódio gasta no ensaio em branco (mL)
- V_A – Volume de titulante gasto na titulação da amostra (mL)
- $V_{\text{álcool}}$ – Volume de álcool necessário (mL)
- V_b – Volume da solução padrão de tiosulfato de sódio gasta na titulação da amostra (mL)
- V_B – Volume de titulante gasto na titulação do branco (mL)
- $V_{\text{co-solvente}}$ – Volume de co-solvente necessário (mL)
- V_{filtrado} – Volume de filtrado (mL)
- V_{KOH} – Volume de Hidróxido de potássio gasto (mL)
- $V_{\text{padrão}}$ – Volume do padrão interno (mL)
- V_1 – Volume de etanol a adicionar (mL)
- V_2 – Volume de mistura etanol e água necessário (mL).
- w_j – Fração mássica de hidrogénio do componente j
- w_i – Fração mássica do componente i
- W_1 – Massa de óleo (g)
- W_2 – Massa de borra de café (g)
- x – Número de átomos de carbono na fórmula geral do biodiesel
- x_i – Número de átomos de carbono do componente i
- X_1, X_2, X_3 – Variáveis referentes aos fatores
- y – Número de átomos de hidrogénio na fórmula geral do biodiesel
- y_j – Número de átomos de hidrogénio do componente j
- % Ésteres – Teor em ésteres etílicos (%)

Lista de Siglas

AE – Antes da extração
AICC – Associação Industrial e Comercial do Café
APA – Agência Portuguesa do Ambiente
ASTM – *American Society for Testing and Materials*
Bio-ETBE – Bioéter etil-ter-butílico
Bio-MTBE – Bioéter etil-ter-metilico
CEN – *Comité Européen de Normalização*
CI – Carbono Inorgânico
CIETI – Centro de Inovação em Engenharia e Tecnologia Industrial
COT – Carbono Orgânico Total
CT – Carbono Total
DCC – Desenho Composto Central
DE – Depois da extração
EBTP – *European Biofuels Technology Platform*
EC – *Enzyme Committee*
ECF – *European Coffee Federation*
ETAR- Estação de Tratamento de Águas Residuais
FAME – *Fatty Acid Methyl Ester*
FFA – *Free Fatty Acids*
H₃BO₃ – Ácido Bórico
HCl – Ácido Clorídrico
H₂SO₄ – Ácido Sulfúrico
ISO – *International Organization for Standardization*
IUBMB – *International Union of Biochemistry and Molecular Biology*
KI – Iodeto de Potássio
KOH – Hidróxido de Potássio
MSR – Metodologia de Superfície de Resposta
NaOH – Hidróxido de Sódio
Na₂SO₄ – Sulfato de Sódio
NCBI – *National Center of Biotechnology Information*
NH₃ – Amoníaco
(NH₄)₂SO₄ – Sulfato de Amónio.
PCS – Poder Calorífico Superior
SCG – *Spent Coffee Grounds*
TOC-SSM – *Total Organic Carbon-Solid Sample Module*
WBDO – *Wasted Boiled Duck Oil.*

Lista de Letras Gregas

β_0 – Ponto de interseção

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$ – Fatores referentes aos efeitos lineares

$\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$ – Fatores referentes aos efeitos quadráticos

$\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$ – Fatores referentes aos efeitos de interseção

ε – Fator de conversão, equivalente a $100 \text{ dm}^3/\text{g}\cdot\text{cm}$

$\rho_{\text{álcool}}$ – Massa volúmica do álcool (g/cm^3)

∂ – Fator de correção da tabela de fatores de correção de Hagenbach

t – Tempo experimental de passagem do fluido (seg)

ν – Viscosidade cinemática (mm^2/s)

η – Rendimento da reação (%)

1. INTRODUÇÃO

1.1. Enquadramento: A crise energética atual

A energia está associada à capacidade de produzir trabalho ou realizar uma ação. A etimologia do termo deriva do idioma grego, onde εργος (ergos) significa "trabalho".

Neste sentido, embora não completamente abrangente no que tange à definição de energia, concentre-se a atenção na seguinte definição: "energia" designa o potencial inato para executar trabalho ou realizar uma ação (Civita, 1979).

Aquando da Revolução industrial, no século XVIII, com o aparecimento do motor a vapor decorreu um processo de conversão/transição económica e civilizacional espreado no espaço e tempo, que no seu todo, rompeu com a milenar economia artesanal, dando origem à era do crescimento autossustentado e conseqüentemente à industrialização (Lucas, 2002).

Não obstante, no início da década de 70, aquando da primeira crise energética resultante de uma excedente procura de petróleo, que abalou profundamente a estrutura energética vigente nos países economicamente desenvolvidos, gerou-se uma potencial controvérsia. Para alguns tratava-se apenas de uma crise conjuntural superável a curto prazo e que o seu foco em nada provinha das rotinas consumistas da sociedade, porém para outros era o duvidar de toda uma dependência de consumo energético, efetivamente era o pôr em causa a possibilidade de um qualquer tipo de crescimento económico (Moita, 2010).

Contudo, sabe-se que entretanto a energia passou a ser vista como um bem escasso mas, pelo menos, não infindável, o que levou a uma sucessiva e enraizada investigação em torno das potencialidades das energias renováveis.

Notoriamente, a diferença entre a civilização atual e as anteriores situa-se na capacidade de transformar e utilizar a energia de forma sistemática.

Hoje em dia, a energia assume um limiar fundamental no incremento e desenvolvimento da sociedade contemporânea. Ora a crise energética emergiu da utilização crescente de matérias-primas, associada ao aumento populacional que conseqüentemente levou ao consumo ininterrupto de energia, criando sem margem de dúvida, a convergência para uma maior necessidade de recursos energéticos.

A temática do consumo de energia centra-se, fundamentalmente, em três primordiais vertentes: os combustíveis fósseis, a dependência energética e as conseqüentes alterações climáticas. No que tange ao primeiro destes, isto é, aos combustíveis fósseis, dado que estes são globalmente a principal fonte geradora de energia, é reconhecida a forte dependência mundial em função desta diretriz, já que é imprescindível para fazer face não só a necessidades industriais, mas também domésticas de uma nação cada vez mais próspera.

O segundo grande foco encontra-se na dependência energética, que torna as nações vulneráveis às exigências dos países produtores de energia proveniente de fontes fósseis. É

de notar que o estilo e qualidade de vida dos países desenvolvidos são sustentados, maioritariamente, pelos combustíveis fósseis, cuja utilização se encontra bastante enraizada em todos os setores da sociedade, assumindo um papel de tal relevo, que em parte não deixa espaço para novas fontes de energia.

Relativamente aos combustíveis é incontornável falar do petróleo e da sua dependência. Com efeito, o comércio do petróleo funciona num regime de economia de mercado desenvolvido e sofisticado, significa isto, que o seu preço é determinado pelo encontro das forças do mercado, a oferta e procura, e dessa combinação resulta o seu preço.

Sendo o petróleo um recurso não renovável, a sua taxa de utilização para fazer face às necessidades energéticas depende primordialmente da sua quantidade disponível na Terra, expressa em barris, e da taxa de extração, expressa em barris por ano. Assim sendo, o tempo de vida útil do petróleo pode ser dado pela relação R/P , onde R representa a quantidade de reservas existentes na Terra e P a taxa de extração. Na Figura 1.1, apresenta-se, de acordo com o *U.S Energy Information Administration*, os dados referentes ao tempo de vida útil do petróleo entre 1980 e 2010.

Observa-se que em 2010, tanto a Europa como a Eurásia apresentam um tempo de vida útil de aproximadamente 20 anos, já a África e América do Norte possuem cerca de 40 anos, esta última devido à descoberta, em 2003, de reservas no Canadá.

As regiões do Médio Oriente (especialmente a Arábia Saudita, Irã, Iraque e Kuwait), América do Sul e Central (principalmente Venezuela e Brasil) apresentam um tempo de vida bastante superior, associado a uma maior disponibilidade de recursos. Desta forma, embora a curto prazo (inferior a 100 anos), esta fonte ainda coexista, a longo prazo não será suficiente para satisfazer as necessidades emergentes, pelo que na política energética dos demais países dever-se-ão incluir outras fontes de energia alternativa.

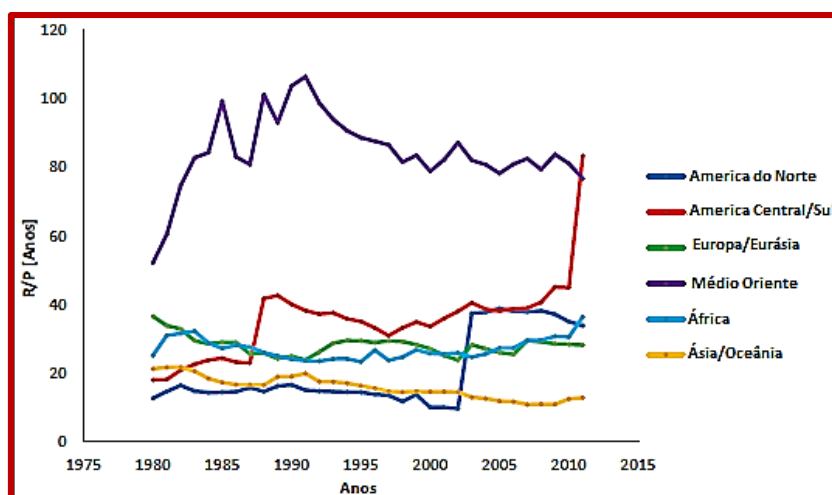


Figura 1.1 - Tempo de vida útil do petróleo entre 1980 e 2010 (Spagarino, 2012).

Resultante do exagerado consumo dos combustíveis fósseis, decorrem alterações climáticas, uma forte ameaça ambiental do século XXI, com consequências profundas e transversais na sociedade atual e futura. Atualmente o setor dos transportes tem ainda muito enraizada a sua dependência do petróleo que tem vindo a demonstrar uma redução das suas reservas. Estima-se que a sua procura energética mundial deverá aumentar em mais de 50% entre 2009 e 2030 e a produção de petróleo deverá atingir um máximo em 2020/2030 (Liquide, 2014). Mais uma vez, para fazer face a estes problemas, é necessário encontrar soluções estratégicas e a procura de energias alternativas àquelas produzidas pelos combustíveis fósseis.

1.1.1. Dependência energética: Portugal

O cenário energético Português assemelha-se incontestavelmente ao cenário energético global. O País praticamente não possui recursos energéticos fósseis endógenos, os quais asseguram as necessidades energéticas da maioria dos países desenvolvidos, o petróleo, o carvão e o gás natural.

É também de realçar que o peso do consumo de energia final no setor dos transportes foi o mais incidente, atingindo os 35,8%, sucedendo a indústria com 33,7%, 16,6 % para o setor doméstico, 11,3% nos serviços e 2,6% na agricultura e pescas. Ora, constatou-se assim uma forte incidência dos setores dos transportes e indústria no consumo de energia final (IEA, 2012). Especificamente, no que concerne ao tipo de fonte energética utilizada no consumo de energia primária, apresenta-se a sua proveniência na Figura 1.2.

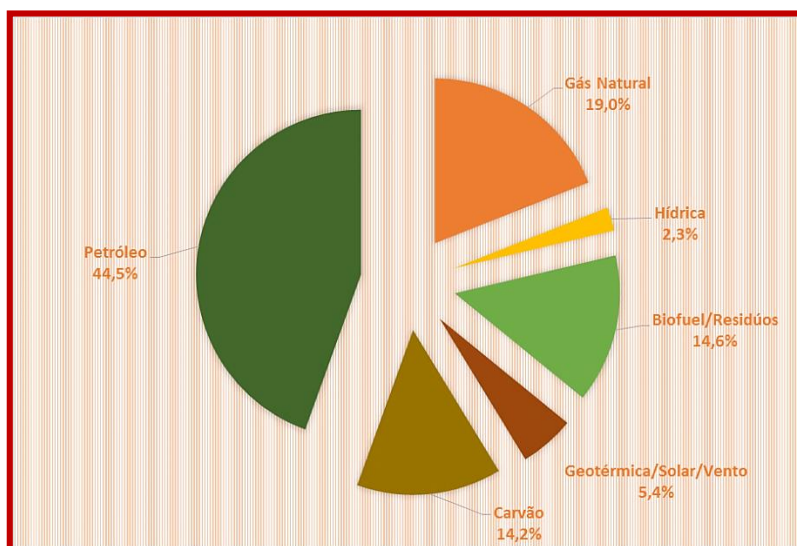


Figura 1.2 - Consumo de energia primária por fonte energética, em 2012 (Adaptado de (IEA, 2012)).

Portugal não tem explorações de gás natural ou petróleo e as escassas minas de carvão encontram-se encerradas. Constata-se que o petróleo e derivados têm sido a fonte energética

mais utilizada ao longo dos anos, embora o seu peso relativo tenha vindo a diminuir, passando de 58,6% do consumo de energia primária em 2005, para 44,5% em 2012. Nesse ano, a segunda fonte energética mais utilizada foi o gás natural (19,0%), seguindo-se a biomassa (14,6%), o carvão (14,2%) e a energia geotérmica/solar/eólica (5,4%), entre outros.

A forte dependência energética nacional encontra-se representada na Figura 1.3, na qual se explicita a variação da dependência energética entre 2005 e 2012.

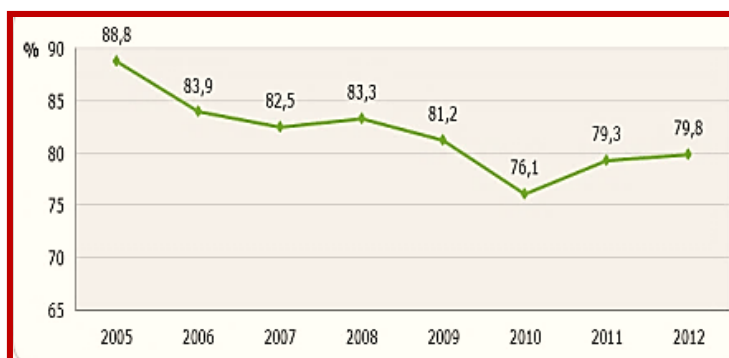


Figura 1.3 - Dependência energética, entre 2005-2012 (APA, 2013).

Como é sabido, esta escassez de recursos fósseis conduz a uma elevada dependência energética externa, tendo atingido em 2012 os 79,8%. Em apenas cinco anos, entre 2005 e 2010, o índice de dependência energética diminuiu de 88,8% para 76,1%, ainda que entre 2011 e 2012 se tenha verificado um aumento para 79,3% e 79,8%, respetivamente, fundamentado pela diminuição da hidraulicidade e subsequente aumento das importações, em especial de carvão e de eletricidade (APA, 2013).

Refira-se que estas fontes de energia não renováveis encontram-se na natureza em quantidades finitas, extinguindo-se com a sua utilização e uma vez esgotadas, as suas reservas não podem ser regeneradas. Além de terem um horizonte temporal suficientemente demarcado, constituem-se como formas de obtenção de energia bastante agressivas para o ambiente, no que respeita à sua extração, refinação e utilização, provocando consequentemente significativos impactos ambientais, sobretudo no âmbito da poluição atmosférica.

Para além destes aspetos, estes recursos estão assimetricamente distribuídos mundialmente, o que gera uma forte instabilidade e dependência entre as nações, gerando frequentemente tensões políticas, económicas e sociais.

No paradigma atual, questiona-se que outras fontes são capazes de fazer face ao aumento populacional mundial, associado a um crescente consumo, que ostente uma relação custo/benefício equiparável à dos combustíveis fósseis. Colocam-se aqui dois grandes dilemas, um de ordem ambiental e o outro associado ao facto dos recursos energéticos fósseis serem esgotáveis.

Num país como Portugal, que não dispõe de recursos energéticos fósseis, uma das soluções passa, tal como é de conhecimento geral, pelo estabelecimento de medidas enquadradas no setor energético, baseadas na racionalização económica e na sustentabilidade, através por um lado, da conjugação entre a adoção de medidas preventivas de eficiência energética e o recurso à energia proveniente de fontes endógenas renováveis e, por outro da redução dos sobrecustos que constroem os preços da energia.

1.1.2. Solução: As energias renováveis

Dada a agravada e contínua dependência de terceiros para abastecimento energético a partir de combustíveis fósseis e o seu crescente ritmo de consumo, Portugal procura aproveitar as potencialidades naturais, através de fontes de energia renováveis.

Através da sua exploração local propicia-se uma minimização da importação de energia, atenuando a dependência energética face aos países produtores, nomeadamente de petróleo. Porém, a competitividade entre as energias renováveis e os combustíveis fósseis é notória. Incontornavelmente, o ainda domínio dos combustíveis fósseis associa-se não só ao facto das energias renováveis arrecadarem inferiores benefícios fiscais, subsídios e fundos de investigação, mas também ao inferior preço dos combustíveis fósseis, visto não refletirem os impactos negativos no ambiente e na saúde humana.

Efetivamente, dada a sua rede hidrográfica relativamente densa, elevada exposição solar média anual e uma vasta costa marítima, Portugal possui um grande potencial de exploração de energia de fontes renováveis (Alves, 2009).

As energias renováveis, tal como a sua designação evidencia, são inesgotáveis, mas limitadas em termos da quantidade de energia suscetível de extrair em cada momento. Explícite-se que a sua limitada disponibilidade e extração representam uma das suas limitações. Estas centram-se fundamentalmente no facto de serem maioritariamente não poluentes, não conduzindo à emissão de gases de efeito de estufa, e poderem ser exploradas localmente. Mas existem muitas outras vantagens que refletem a importância do seu consumo. Para além dos impactos ambientais mencionados existem, por exemplo, relevantes impactos socioeconómicos e geográficos, tais como o aumento da taxa de emprego local e/ou regional, associado nomeadamente à construção de barragens que melhoram o abastecimento de água às populações, e o aproveitamento dos solos.

Consequência da sua exploração, advém impactos negativos comuns à exploração dos combustíveis fósseis, das quais se citam a erosão e esgotamento de solos e consequente impacto na vegetação local; os montantes elevados de investimento e infraestruturas apropriadas; aumento da poluição sonora; perturbação da fauna e flora e a perda de biodiversidade, sendo necessário implementar soluções para a sua minimização (APA, 2014).

Resultantes dos factos apresentados, as energias renováveis surgem como a solução para um futuro promissor mais sustentável, onde especificamente a integração dos biocombustíveis contribui para a independência face aos países produtores dos combustíveis fósseis e inconstantes variações dos seus preços no mercado.

1.2. Os biocombustíveis e a atual conjuntura

Em Portugal, a promoção da utilização de biocombustíveis nos transportes rodoviários insere-se no âmbito da estratégia da União Europeia de redução da emissão de gases com efeito de estufa, decorrente dos compromissos assumidos no Protocolo de Quioto.

De acordo com a Diretiva 2003/30/CE, de 8 de Maio os biocombustíveis são definidos como “*combustíveis líquidos ou gasosos produzidos a partir de biomassa*”. Como biocombustíveis líquidos, citam-se como mais comuns o biodiesel obtido a partir de óleos vegetais ou animais e o bioetanol a partir da fermentação de hidratos de carbono (açúcar, amido e celulose). Os biocombustíveis gasosos, dos quais o biogás é proveniente de efluentes industriais, agropecuários, urbanos (lamas das estações de tratamento dos efluentes domésticos) e dos aterros. Porém são também considerados biocombustíveis os seguintes produtos: Biometanol, Bioéter dimetílico, Bio-ETBE (bioéter etil-ter-butílico, Bio-MTBE (bioéter etil-ter-metílico), Biocombustíveis sintéticos e o Biohidrogénio.

Ora, a promoção da produção e utilização de biocombustíveis é considerada uma relevante medida para reduzir a dependência das importações e assegurar o abastecimento energético a médio e longo prazo.

Neste sentido, a Diretiva n.º 2009/28/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 23 de Abril, relativa à promoção da utilização de energia proveniente de fontes renováveis que altera e subsequentemente revoga as Diretivas 2001/77/CE e 2003/30/CE, destina-se ao cumprimento do compromisso assumido pela União Europeia de, até 2020, alcançar uma melhoria de 20 % da eficiência energética. Constitui-se como objetivo obrigatório uma quota de 20 % de energia proveniente de fontes renováveis no consumo energético comunitário global até 2020 e um objetivo obrigatório mínimo no setor dos transportes rodoviários de 10 % para a quota de biocombustíveis face ao consumo de gasolina e gasóleo.

O recurso à bioenergia em detrimento dos combustíveis fósseis representa além de outros benefícios, o ressurgimento da agricultura e a redução da dependência energética dos países carenciados, permitindo que uma parte importante da população tenha acesso a uma energia moderna, não inteiramente dependente dos combustíveis fósseis.

Acrescente-se que se recorre aos biocombustíveis não para substituir na totalidade os combustíveis fósseis, mas para serem a estes adicionados, uma vez que a sua total substituição implicaria uma redução das áreas agrícolas, fundamental para assegurar a

sustentabilidade da sociedade. Na Figura 1.4 encontra-se representada a proporção do consumo de biocombustíveis na União Europeia no ano 2013.

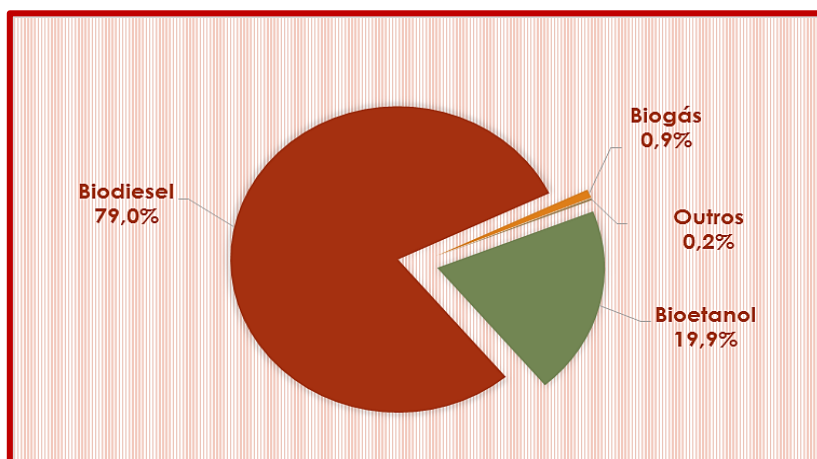


Figura 1.4 - Proporção do consumo total da União Europeia por biocombustível, em 2013 (Adaptado de (Observ'ER, 2007)).

Repare-se que maioritariamente se consome biodiesel (79,0%), seguido de bioetanol (19,9%) e por fim biogás (0,9%). Como alternativa ecológica, é irrefutável o papel do biodiesel no contexto das energias renováveis, particularmente no setor dos transportes, um dos setores primordiais causadores da poluição atmosférica.

1.3. O Biodiesel

O Biodiesel representa uma das soluções que se citam na defesa da sustentabilidade e na redução da dependência energética externa. É irrefutável o seu papel no contexto das energias renováveis, particularmente no setor dos transportes, um dos setores primordiais causadores da poluição atmosférica.

De acordo com a Diretiva 2003/30/CE de 8 de Maio, o biodiesel é definido como um éster metílico ou etílico produzido a partir de óleos vegetais, entre os quais o óleo de soja, colza, palma, sementes de girassol e algodão ou de óleos e gorduras animais, tais como o sebo de bovino, óleo de peixe, banha de porco entre outros, com qualidade de combustível para motores a diesel, para utilização como biocombustível. O consumo de biodiesel a nível mundial, no período entre os anos 2000 e 2012, encontra-se representado na Figura 1.5. Constata-se que o consumo de biodiesel tem vindo a aumentar ao longo dos anos, mais intensivamente a partir do ano de 2005, tendo-se observado que entre 2011 e 2012 praticamente permaneceu constante.

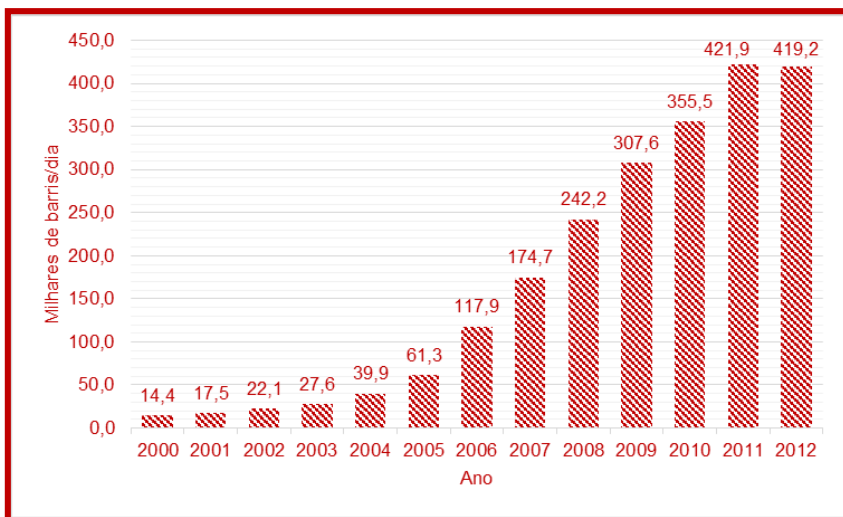


Figura 1.5 - Consumo diário mundial de biodiesel, em milhares de barris (Adaptado de (EIA, 2012)).

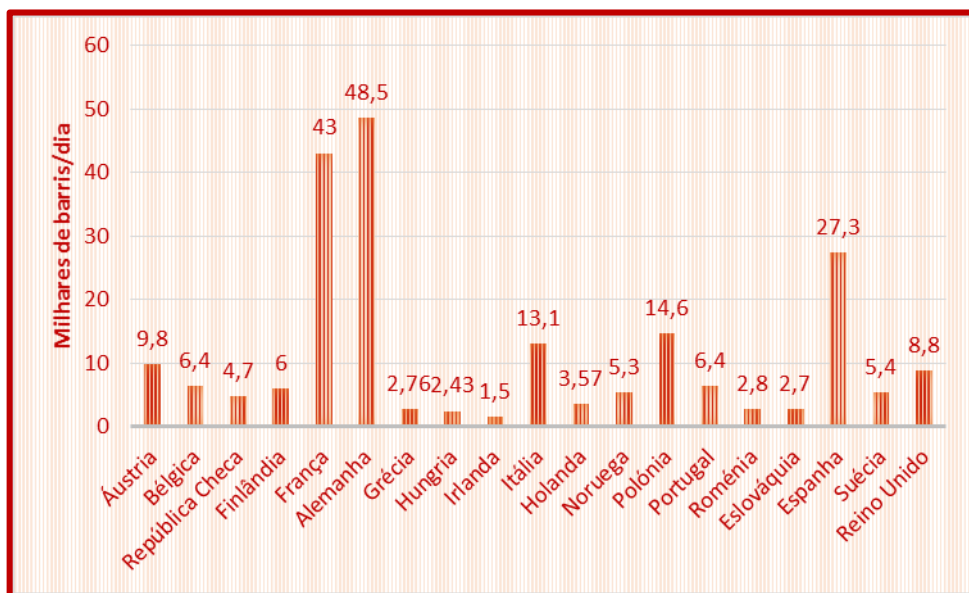


Figura 1.6 - Consumo diário de biodiesel, em milhares de barris, por país (Adaptado de (EIA, 2012)).

Diariamente, Portugal consome cerca de 6,4 milhares de barris por dia de biodiesel, o que embora seja bastante inferior à França e Alemanha, os quais são países com uma maior taxa populacional, comparativamente com a Bélgica, Finlândia e Irlanda entre outros, apresenta um consumo considerável.

Nos dias de hoje, os motores a diesel exigem que se recorra a um combustível limpo e que permaneça estável perante diferentes condições de operação. O biodiesel é considerado o combustível alternativo para substituição de combustíveis fósseis nestes motores, uma vez que não exige transformações no motor e proporciona uma queima limpa, garante a longevidade dos motores de combustão, é economicamente mais energético e de elevado rendimento (Silva, 2003).

Nesse sentido, segundo a Diretiva 2009/30/CE de 23 de Abril no que se refere às especificações da gasolina e do gasóleo rodoviário e não rodoviário, a Comissão Europeia

estabeleceu que os Estados Membros podem autorizar a colocação no mercado de gásleo rodoviário com um teor de biodiesel superior a 7%. Os critérios mencionados pela Comissão incluem que, a redução da emissão de gases com efeito estufa, resultante da utilização de biocombustíveis deve ser de 35%, em 2017 deverá ser de 50% e a partir de 1 de Janeiro de 2018 deve atingir os 60% (Pottering et al., 2009).

Será este o biocombustível abordado nas próximas secções e alvo do estudo da presente dissertação.

1.3.1. Enquadramento Histórico

Sabe-se que o primeiro protótipo do motor a Diesel, que funcionou eficazmente foi criado a 10 de Agosto de 1893, por Rudolf Christian Karl Diesel, na Alemanha, mais precisamente na localidade de Augsburg.

Apenas anos mais tarde, em 1898, este motor que utilizava óleo de amendoim como combustível foi apresentado na Feira Mundial de Paris. Porém, a abundância da oferta e preço acessível do petróleo ditaram a substituição dos óleos vegetais por este combustível, tendo surgido o óleo diesel (Sarin, 2012).

Durante a II Guerra Mundial, estes foram utilizados extensamente em vários países, incluindo a China, a Índia e, a Bélgica (Knothe, 2001).

Por outro lado, os óleos vegetais pela sua elevada viscosidade impediam uma adequada injeção nos motores, deixando depósitos de carbono nos cilindros e nos injetores, que conduziam a uma manutenção intensiva. Este óleo era tido como um biocombustível, obtido pelo processo de transesterificação, que foi descoberto pelo cientista belga Charles Chavanne (Knothe, 2001).

Somente na década de 70, os países importadores de petróleo, afetados pela crise, tiveram de reinventar novas fontes alternativas de energia, tendo sido o óleo vegetal a possível alternativa ao óleo diesel, resultante do seu elevado poder calorífico, e preferencialmente pelo facto de ser menos poluente (Demirbas, 2007). Foi também devido à ideia de desenvolvimento sustentável, que surgiu a partir do conceito de ecodesenvolvimento, proposto durante a Primeira Conferência das Nações Unidas sobre o Meio Ambiente e Desenvolvimento, em Estocolmo, na Suécia, em 1972, que aumentou o interesse pela utilização de fontes de energia de origem renovável.

Novamente, na década de 1980 deu-se a cadência do interesse pelos óleos vegetais, sendo que foi nessa mesma década que a denominação de biodiesel foi utilizada pela primeira vez por pesquisadores chineses.

Atualmente, com a crescente consciencialização ambiental, tal como o efeito de estufa já referenciado, reforça-se a produção e divulgação do Biodiesel, solução apontada para ajudar a resolver a atual dependência dos combustíveis fósseis.

1.3.2. O Controle de Qualidade

Cada vez mais se observa que a garantia de segurança alimentar, otimização do uso de recursos e a conquista e/ou subsistência do mercado são diretamente afetadas pelo controle da qualidade.

Para que um determinado combustível possa ser comercializado em larga escala, é de extrema relevância que a sua qualidade seja assegurada, de modo a que em distintos pontos de abastecimento as suas características físicas e químicas sejam uniformes.

Não menos importante, refira-se que a qualidade do combustível irá atingir decisivamente, positiva ou negativamente, o distribuidor, comerciante, consumidor final e portanto a sociedade.

Como consequência, o controle dos diversos parâmetros deve ser regido por intransigentes especificações, que seguem normas e/ou protocolos bem estabelecidos. Estas normas têm em conta o ciclo de vida do produto, isto é, desde a qualidade da matéria-prima, diferentes etapas de fabricação, produto final até às suas condições de armazenamento. Seguidamente apresenta-se portanto as propriedades físicas e químicas do biodiesel.

1.3.3. Propriedades físicas e químicas

No caso específico do Biodiesel, para que seja adequado e passível de ser utilizado comercialmente como combustível, são diversos os parâmetros suscetíveis de avaliação para garantir que este atenda aos padrões internacionais. Então, a determinação das suas propriedades físicas e químicas, é imprescindível, regendo-se pelas normas ASTM (*American Society for Testing and Materials*), ISO (*International Organization for Standardization*) e CEN (*Comité Europeu de Normalização*) (Maurício, 2008).

Estas normas, que imperativamente regem a qualidade do biodiesel no mercado, baseiam-se numa diversidade de fatores que incontornavelmente variam de região para região, resultante da disponibilidade e características da matéria-prima, do tipo de motor existente e das normas de emissão que regem esses motores. Efetuou-se então aqui, a sua caracterização quanto aos seus diferentes parâmetros de acordo com a Norma Europeia EN 14214:2009.

Caracterizando-se inicialmente as suas propriedades físicas, torna-se necessário avaliar o ponto de inflamação, poder calorífico, densidade, viscosidade cinemática e o aspeto visual, os quais serão determinados no presente documento.

Quanto ao **Ponto de inflamação** (*Flash Point*), este é definido como a temperatura mais baixa a que um combustível emite vapores suficientes, que quando misturado com o ar se inflama momentaneamente, observando-se a propagação de chama a partir de uma fonte de ignição.

Correlaciona-se então, com a facilidade de ocorrer uma mistura inflamável entre o combustível e o ar (Sarin, 2012).

Este parâmetro pode ser determinado através do aquecimento do combustível, colocando sob este uma chama. Caso a temperatura seja superior à temperatura a partir do qual o vapor libertado se incendia, deteta-se uma chama, atinge-se portanto a temperatura de inflamação (Maurício, 2008). Evidentemente esta propriedade é suscetível de determinação, uma vez que atesta a segurança no manuseamento e armazenamento do biodiesel. Para a determinação desta propriedade, o procedimento padrão na U.E. encontra-se definido na EN ISO 3679.

O **Poder calorífico** representa a quantidade de energia produzida, por unidade de massa de combustível na sua combustão completa. Quanto maior o poder calorífico, maior será a potencia atingida pelo motor (de Abreu et al., 2009).

A **Densidade** representa a quantidade de massa por unidade de volume do combustível. Esta é ligeiramente superior à do óleo diesel convencional, exercendo efeito direto sobre o desempenho do motor, nomeadamente na circulação e injeção do combustível. O procedimento padrão para a determinação desta propriedade à temperatura de 15 °C na U.E. está definido na norma EN ISO 3675.

A **Viscosidade** cinemática mede a resistência que um fluido apresenta ao fluir sob o efeito da força da gravidade, sendo que viscosidades elevadas, especialmente a temperaturas baixas, provocam o aumento do volume de combustível injetado. Assim sendo, decorrente dum aumento do tempo de ignição e de injeção do combustível, crescem as emissões de gases. O procedimento padrão na U.E., à temperatura de 40 °C, está descrito na norma EN ISO 3104.

Por fim, o **aspeto visual** é um indicador de qualidade e de possível contaminação, pretendendo-se que o biodiesel se apresente límpido e isento de partículas em suspensão que, quando presentes, entopem e reduzem a vida útil dos filtros.

Quanto às propriedades químicas destaque-se o teor de água e sedimentos e o teor em ésteres, índice de acidez e índice de iodo.

O **Teor em ésteres** indica a existência de impurezas no biodiesel e facilmente se deduz que quanto maior for, menor será o teor de impurezas. Além disso, o seu baixo valor, entre outras razões, pode resultar duma escolha inapropriada das condições reacionais, inadequado tratamento da matéria-prima e existência de quantidades residuais de álcool e/ou glicerina no produto final. O procedimento padrão para determinação desta propriedade na U.E. encontra-se descrito na norma EN 14103.

O **Índice de iodo** avalia o grau de insaturação das cadeias de ácidos gordos e é diretamente dependente da natureza das matérias-primas que foram usadas na produção do biodiesel. Ora, um elevado índice sugere uma quantidade elevada de ligações triplas e duplas, ocorrendo mais facilmente a oxidação do biodiesel quando em contacto com o ar, conduzindo assim à formação de depósitos e à deterioração do óleo lubrificante. Em suma, um biodiesel rico em compostos insaturados polimeriza facilmente e apresenta instabilidade à oxidação, o que provoca o seu envelhecimento (Mittelbach, 1996). O procedimento padrão usado na U.E. para avaliar este parâmetro é a norma EN 14111.

O **Teor de água e sedimentos** é uma outra propriedade relevante, dado que a presença de água no biodiesel facilita o desenvolvimento e crescimento microbiano nos tanques de armazenamento e a formação de sedimentos que podem entupir o filtro e a corrosão do sistema de injeção (Maurício, 2008). Essa água é formada durante o processo de produção pela reação do catalisador com o álcool, sendo também adicionada durante o processo de lavagem para remover os contaminantes hidrossolúveis do biodiesel, motivo pelo qual se deve suceder um processo de secagem. O procedimento padrão na U.E. para a avaliação desta propriedade é a norma EN ISO 12937

O **Índice de acidez** representa a quantidade de ácidos gordos livres presentes no biodiesel. Estes pode conduzir à corrosão e afetar a estabilidade do biodiesel, sendo um indicador da presença de água no combustível. Um elevado índice sugere que a produção do biodiesel não foi efetuada corretamente ou porventura que o biodiesel, decorrente do contato com o ar ou água, se degradou. Na Norma EN 14104 encontra-se descrito o procedimento para a sua determinação.

1.3.4. Enquadramento legislativo

A fixação de valores limite para as diferentes propriedades conduz a uma certa uniformidade/homogeneidade na qualidade do biodiesel em cada país, que para ser comercializado como combustível deve cumprir as especificações impostas pelas normas em vigor. A norma europeia EN 14214 impõe os valores limite para os vários parâmetros físicos e químicos do biodiesel, bem como define as normas dos métodos de ensaio a serem usados, tal como se representa na Tabela A.1, Anexo A. De acordo com a referida norma, o teor de ácidos gordos livres, álcool, glicerina e água devem ser mínimos, de modo a que o teor de ésteres metílicos no biodiesel seja superior a 96,5%.

1.3.5. Benefícios e impactos associados à utilização do biodiesel

O Biodiesel apresenta-se como uma alternativa viável para a diminuição de custos, dados os incentivos fiscais da comunidade Europeia que promovem a produção e o consumo do biodiesel em detrimento dos combustíveis fósseis. Assim a dependência externa face aos combustíveis fósseis apresentará um decréscimo. Estabelece-se agora, na Tabela 1.1, uma análise comparativa entre as propriedades mais significativas do diesel e do biodiesel.

Tabela 1.1 – Comparação de algumas propriedades do diesel e biodiesel (Moreira, 2008).

Propriedades	Unidade	Combustível	
		Biodiesel	Diesel
Teor em ésteres	% (m/m)	96,5	-
Densidade a 15 °C	kg/m ³	860-900	820-860
Viscosidade a 40 °C	mm ² /s	3,5-5	2-4,5
Ponto de Inflamação	°C	> 101	> 55
Teor em enxofre	mg/kg	<10	200
Índice de cetano	-	> 51	> 45
Teor em água	mg/kg	< 500	200
Cinzas sulfatadas	% (m/m)	0,02	0,01

Sabe-se que o biodiesel quando comparado com o diesel convencional apresenta vantagens ambientais, sobretudo nas emissões de gases para a atmosfera, as quais se encontram representadas na Figura 1.7.

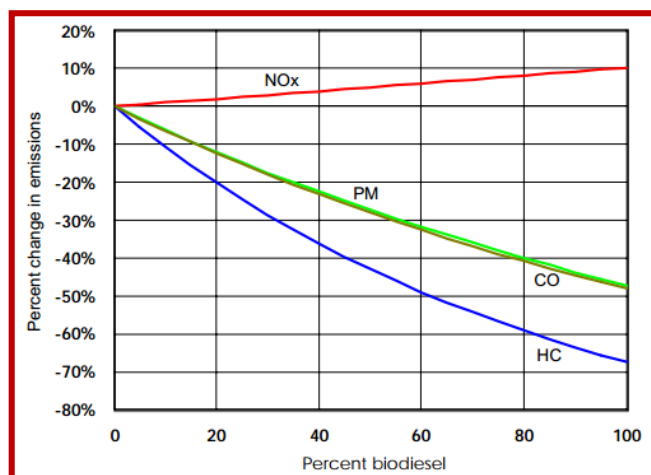


Figura 1.7 - Variação da composição da emissão de gases em função do teor (%) em biodiesel (EPA, 2002).

No que respeita às emissões de gases para a atmosfera, consoante a proporção biodiesel-gasóleo, mais precisamente, quanto maior a proporção de biodiesel menores as emissões de monóxido de carbono, hidrocarbonetos e de partículas como a fuligem; porém aumentam as emissões de óxidos de azoto, decorrente da combustão do biodiesel nos motores.

Uma vez que é um combustível biodegradável, proveniente de fontes renováveis e não tóxico, tanto para o solo como para as águas subterrâneas, em caso de derrame não representa qualquer ameaça (Sofia et al., 2010).

Sendo matérias renováveis, o aproveitamento destes resíduos contribui para a redução da sua eliminação em aterros sanitários e simplifica o tratamento de águas na ETAR (Estação de Tratamento de Águas Residuais).

Por apresentar uma maior viscosidade, proporciona uma maior lubricidade, e assim sendo, um menor desgaste e fricção entre superfícies metálicas do motor. Além disso, apresenta um elevado ponto de inflamação, o que o torna seguro (Sofia et al., 2010).

Também, o seu índice de cetano superior proporciona um funcionamento suave e um melhor desempenho da ignição, e assim sendo a combustão mais completa e menor a emissão de gases com efeito de estufa para a atmosfera (Sofia et al., 2010).

É evidente o teor de enxofre na composição do diesel convencional. Quando queimado, ocorre a formação de óxidos de enxofre que ao reagirem na atmosfera com oxigénio e água formam o ácido sulfúrico, o principal causador da chuva ácida. Resultante deste facto, a utilização do biodiesel causa um menor impacto ambiental (Moreira, 2008).

Além de benefícios ambientais, este combustível possibilita também a criação de empregos, através da promoção do desenvolvimento da agricultura em zonas rurais subdesenvolvidas, contribuindo portanto para o decréscimo da desertificação desses locais.

Em contrapartida, o biodiesel também possui desvantagens, entre as quais a geração de glicerina, um subproduto do processo de produção do biodiesel, cujo processo de purificação é dispendioso, caso não seja efetuado em grandes proporções. O biodiesel pode ter problemas de fluidez a temperaturas inferiores a 0 °C, além de que o seu custo de produção não é competitivo, caso não existam incentivos fiscais. Além disso possui um poder calorífico inferior ao do diesel, portanto o consumo deste biocombustível será ligeiramente superior (Moreira, 2008).

A produção intensiva da matéria-prima de origem vegetal pode contribuir também para potenciar impactos ao nível do solo, pois a exploração excessiva de uma só oleaginosa pode originar uma diminuição da biodiversidade. Haverá também um possível aumento do preço dos alimentos, pois, por exemplo, o girassol passará a ser utilizado também como matéria-prima para produção do biocombustível.

1.4. Biomassa: Uma fonte de biocombustíveis

De acordo com a Diretiva 2008/28/CE, transposta pelo Decreto-Lei 117/2010, a Biomassa pode ser entendida como a “fração biodegradável de produtos, resíduos e detritos de origem biológica, provenientes da agricultura (incluindo substâncias de origem vegetal e animal), da

exploração florestal e de indústrias afins, incluindo da pesca e da aquicultura, bem como a fração biodegradável dos resíduos industriais e urbanos”.

É claro dizer que a minimização dos custos da produção do biodiesel passa primordialmente pela qualidade da matéria-prima. Assim, a conversão da biomassa e/ou resíduos de biomassa em biodiesel ou outros biocombustíveis aumenta não só a flexibilidade e diversificação das matérias-primas, mas também contribui para uma estabilidade de custos e alteração nas políticas agrícolas e de uso do solo.

A origem, localização geográfica, qualidade do produto, disponibilidade e acessibilidade, custo, capacidade e condições de armazenamento e seu desempenho são algumas das variáveis que condicionam a escolha da matéria-prima para produção de biodiesel, sendo inegável que a sua escolha vai afetar substancialmente o preço do biodiesel no mercado global.

Resíduos de óleo de cozinha, gordura animal, entre outros resíduos de biomassa, tais como a borra de café, são exemplos de fontes para a produção de biodiesel. A sua valorização tem interesse quer pela perspectiva ambiental, quer pela económica, pois irá contribuir para a redução dos resíduos de baixo valor ou cujo tratamento representa um custo, transformando-os em produtos de valor acrescentado.

1.5. Matéria-prima: O café e sua origem

De sabor intenso e aroma forte, o café constitui hoje um bem de consumo bastante disseminado por todo o mundo, com elevada importância na economia internacional e considerado uma das indústrias que mais capital movimenta, logo a seguir ao petróleo.

Proveniente do árabe *gahwah*, os etimologistas acreditam que o café é nativo da Etiópia. Pensa-se que a sua origem remonta ao ano 600 A.C.

Somente no século XV é que os primeiros relatos do cultivo comercial do café começaram a aparecer. Os primeiros locais fundados com venda de café estabeleceram-se em Meca, tendo, conseqüentemente, este produto sido largamente divulgado por toda a população árabe, nomeadamente pelos muçulmanos que viam no café, uma bebida revitalizante, substituta à ingestão de álcool (AICC, 2011).

Foi através de Veneza que se deu a introdução do café comercial na Europa, onde em 1645 foi aberto o primeiro café público que adquiriu o nome "Café Florian". 14 anos mais tarde, o café chegou a França, difundindo-se rapidamente (AICC, 2011).

Posteriormente, no século XVIII, em Portugal, durante o reinado do rei D. João V, Francisco de Melo Palheta conseguiu introduzir o café no Brasil, transformando-o no maior produtor mundial de café. Também, o café foi levado para Cabo Verde e S. Tomé e Príncipe. Já em Angola o café foi introduzido por missionários portugueses cujo grupo de cafeeiro dominante era o Robusta, responsável por 90-95% da produção de café comercial deste território. Por volta do ano 1800, através do Brasil foi introduzido o cafeeiro Arábica em S. Tomé e Cabo Verde. Somente, durante o séc. XVIII apareceram em Lisboa os primeiros cafés públicos inspirados nas tertúlias francesas do séc. XVII, entre os quais o Martinho da Arcada, Café Tavares, Botequim Parras (Cafés, 2015).

A fim de conceder uma certa homogeneidade face às oscilações do preço do café, foi criada entre os países importadores e exportadores, em 1963, a Organização Internacional do Café (ICO) sediada em Londres. Esta organização, sustentada por verbas provenientes dos seus membros, manteve os preços relativamente estáveis durante aproximadamente 25 anos. Porém, devido a um notório excedente global de café produzido por certos países, acrescido do desacordo quanto às quotas atribuídas a cada um destes, o acordo passou a não funcionar convenientemente (Cafés, 2015).

Atualmente, o café é a segunda bebida mais consumida do planeta, apenas superada pela água e, depois do petróleo, é a segunda mercadoria em bolsa com maior volume de negócios sendo ainda nos dias de hoje a Organização Internacional do Café que regulamenta o mercado mundial, contudo agora livre de quotas (AICC, 2011).

Caracteristicamente, o café tem origem na semente do fruto do cafeeiro que pertence à família das *Rubiaceae*, com folhas longas e de forma oval (AICC, 2011). A estrutura do grão de café encontra-se representada na Figura 1.8.

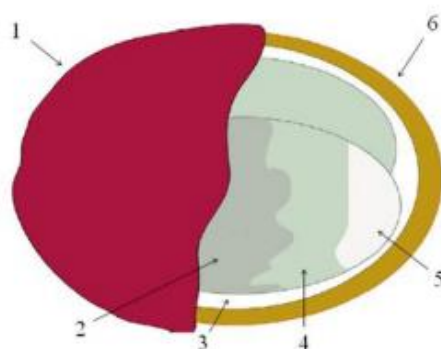


Figura 1.8 – Estrutura do grão de café (Farinhoto, 2012).

Legenda:

1. Pele exterior (pericarpo) 2. Pergaminho (endocarpo) 3. Mucilagem (camada de pectina) 4. Pele de prata (epiderme) 5. Grão (endosperma) 6. Polpa (mesocarpo).

Resumidamente, o grão de café apresenta uma pele exterior resistente denominada de pericarpo, cuja tonalidade é verde quando o fruto ainda não se encontra maduro, adquirindo uma tonalidade vermelho-violeta ou vermelho escuro quando do seu amadurecimento. Mais interiormente encontra-se o mesocarpo, uma polpa amarelada, fibrosa e doce, seguindo-se uma camada translúcida, incolor, fina, altamente viscosa - camada de pectina. Finalizando, segue-se o endocarpo, fino e que apresenta uma tonalidade amarelada e a pele de prata que abrange cada hemisfério do endosperma (Esquivel et al., 2012). Além disso, esta planta desenvolve-se em locais frios e húmidos preferencialmente em altitudes mais elevadas dos trópicos e sub-trópicos (AICC, 2011).

Essencialmente a nível mundial são cultivadas preferencialmente duas espécies de café, o *Coffea arabica* (café arábica) e o *Coffea canephora var. robusta* (café robusta). Distintamente, o café arábica é a espécie mais antiga e responsável por 75-80% da produção mundial de café, sendo considerado menos amargo comparativamente com o robusta (cerca de 50% menos cafeína). Cresce melhor em grandes altitudes, entre 600 e 1830 m acima do nível do mar e a temperaturas amenas a rondar entre os 16 e os 24 °C, sendo o produzido na América Central, tradicionalmente, o mais apreciado. O café robusta apresenta um grão menor e mais redondo, que suporta temperaturas mais quentes, até sensivelmente 29 °C e altitudes mais baixas (Belitz et al., 2001). As suas plantações encontram-se preferencialmente no sudeste asiático e no Brasil, sendo correntemente utilizado na produção de café expresso e na produção de café solúvel (Alves, 2010). Sendo considerado um café de sabor mais fraco, de amargura acentuada, em contrapartida o café Arábica produz uma bebida mais suave e frutada.

Entre 2011 e 2013, as exportações de café representaram um valor médio de aproximadamente 22 bilhões de dólares, com os pequenos agricultores que produzem cerca de 80 % do café do mundo. Estimando-se que aproximadamente 3,5 bilhões de chávenas de café são consumidas todos os dias a nível mundial. No período de 12 meses entre junho de 2013 e maio de 2014, o volume total de exportação de café representou cerca de 6,5 milhões de toneladas. A União Europeia é, de longe, o maior importador de café, sendo o destino para cerca de 45 % da totalidade das exportações. A Europa tem o maior consumo de café *per capita* do mundo, consumindo 2,5 milhões de toneladas de café por ano, o equivalente a 4 kg de café torrado *per capita* por ano. Isto é, todos os dias são bebidas cerca de 725 milhões de chávenas de café (ECF, 2014), o que se traduz num enorme potencial de biorresíduo para valorizar.

Apesar da grande quantidade de resíduos produzidos no meio agrícola, industrial e agropecuário, somente uma pequena parte é reutilizada, fruto do desconhecimento das suas

potencialidades. Dada a necessidade de minimizar os efeitos adversos resultantes das atividades industriais, a reciclagem da borra de café emerge aqui como uma das potencialidades, como fonte de matéria-prima sustentável para a produção de biodiesel.

1.5.1. A borra de café: resíduo ou subproduto?

Ao consumo elevado de café encontra-se associada a produção de resíduos de baixo valor, estimando-se que apenas 6% da colheita é utilizada na preparação da bebida de café, sendo que o restante corresponde a resíduos (Ferreira, 2011).

Aquando do processamento do café, principalmente na lavagem e despolpa do fruto do cafeeiro são gerados inúmeros resíduos sólidos, dos quais se destacam as cascas e a polpa do fruto, grãos de baixa qualidade ou defeituosos, a pele de prata e a borra de café (Esquivel et al., 2012).

Nos últimos anos, a borra de café (SCG) tem atraído uma grande atenção, dado que é gerada diariamente em grandes quantidades e representa um grande perigo de contaminação, se descarregada para o meio ambiente. No entanto, uma vez que estes resíduos são derivados dos grãos de café, que se espera que tenham propriedades semelhantes a estes grãos, pretende-se, portanto, explorá-lo para diferentes aplicações industriais. Neste sentido, algumas alternativas têm sido propostas para valorizar esses resíduos de café, por exemplo, a produção de combustível para caldeiras industriais, devido ao seu elevado poder calorífico de cerca de 20770 kJ/kg, ou a utilização como substrato para o cultivo de microrganismos e como matéria-prima para produzir etanol (Mussatto et al., 2011a).

Hoje em dia, há uma grande pressão política e social para reduzir a poluição proveniente das atividades industriais. Por esse motivo, é necessário concentrar a atenção na exploração destes subprodutos do café, fontes renováveis de baixo custo, cuja valorização favorece quer ambientalmente quer economicamente, pela redução de resíduos de baixo custo, transformando-os em compostos de valor acrescentado e subsequente criação de postos de trabalho (Mussatto et al., 2011b).

Sabe-se que este resíduo apresenta como destino final os aterros sanitários e que não só Portugal, mas também os restantes Estados Membros da União Europeia, necessitam de reduzir as quantidades de resíduos biodegradáveis, entre eles os resíduos alimentares e nomeadamente as borras de café (Plano Estratégico para os Resíduos Sólidos Urbanos e Decreto-Lei nº183/2009) (Ferreira, 2011). É portanto fundamental valorizar estes tipos de resíduos, que podem ser reaproveitados nos mais diversos setores da economia.

De entre os resíduos do café, a polpa e a casca de café são os mais estudados mundialmente, uma vez que são gerados em grandes quantidades e produzem elevadas emissões de poluentes (Ferreira, 2011).

Relativamente ao aproveitamento da borra de café, embora o seu estudo não esteja tão disseminado quanto o da polpa e da casca, a borra contém cafeína, taninos e polifenóis que o tornam um resíduo tóxico. Também foi considerada possível a sua utilização na produção de cogumelos de elevado valor comercial, utilizando-a no substrato de crescimento de várias espécies de cogumelos comestíveis, nomeadamente de *Pleurotus ostreatus*, *Flammulina velutipes* e *Lentinus edodes*. Além disso, o resíduo restante apresenta o potencial de ser subsequentemente utilizado na alimentação animal (Ferreira, 2011).

Uma outra potencialidade de valorização da borra resulta ainda do facto de ser considerada um adsorvente de baixo custo e facilmente disponível para a remoção de corantes catiónicos no tratamento de águas residuais. Também, a existência de uma elevada quantidade de lípidos dos quais triglicerídeos, sugerem que este resíduo pode ser utilizado como fonte para a produção de biodiesel (Ferreira, 2011).

1.5.2. Composição química da borra de café

Valor nutricional, propriedades sensoriais, autenticidade e segurança são algumas das especificidades que maior controlo deverão ter quando se pretende produzir um produto de qualidade. De seguida referem-se na Tabela 1.2 alguns dos parâmetros químicos associados ao estudo das propriedades da borra de café e alguns dos resultados obtidos de acordo com a bibliografia. Refira-se que A.E e D.E correspondem à caracterização química antes e depois da extração do óleo de borra de café

Tabela 1.2 – Composição química da borra do café.

Parâmetros (base seca)	(Caetano et al., 2014)		(Li et al., 2014)	(Deligiannis et al., 2011)	(Ballesteros et al.,2014)
	A.E	D.E			
Teor Humidade (%)	65,7	9,40	8,1	-	-
Teor Cinzas (%)	2,2	1,65	1,7	4,2	1,30 ± 0,10
Teor Carbono (%)	67,3	69,5	54,5	52,03	-
Teor Azoto (%)	2,2	2,0	2,4	0,492	--
Teor Proteínas (%)	13,7	12,3	15,0	-	-
Teor Lenhina solúvel (%)	1,7	40,13	-	-	17,59 ± 1,56
Teor Lenhina insolúvel (%)	31,90	31,19	-	-	6,31 ± 0,37
Teor Celulose bruta (%)	13,80	15,31	-	-	12,40 ± 0,79
P.C.S (MJ/kg)	19,3	19,0	23,2	21,16	-

Sabe-se que os grãos de café utilizados na indústria da produção do café para venda comercial são oriundos de uma pluralidade de áreas geográficas e podem ter distintas propriedades químicas e organolépticas.

São vários os estudos aqui apresentados, que incidiram na caracterização da borra de café, sendo que é notória uma certa uniformidade nos resultados obtidos para cada um dos parâmetros. Assim, é possível afirmar que o carbono constituiu a fração mais significativa presente na borra de café [52,0 - 69,5%], seguido da lenhina insolúvel [6,31-31,90%], celulose [12,40-15,31%], proteínas [12,3-15,0%], azoto [0,49-2,4%] e cinzas [1,30-4,2%]. Relativamente ao teor de humidade, para a biomassa proveniente de produção agrícola o seu valor deve situar-se entre os 15 – 30%.

Aquando do processamento primário do café, antes do processo de remoção da casca dos grãos de café, as bagas são sujeitas a secagem, a fim de se obter um teor de humidade inferior a 12% em massa (Rabaçal, 2010). A humidade pode interferir não só na durabilidade e capacidade de armazenamento, ignição, temperatura adiabática de combustão e volume de gases de exaustão produzidos, mas também num outro parâmetro característico da borra de café, o seu Poder Calorífico Inferior. Para teores elevados de humidade, o processo de combustão torna-se menos eficiente, comparativamente com a utilização de material seco.

A lenhina é uma fração presente em quantidades significativas na borra de café. O seu teor na borra de café (Li et al., 2006) é substancialmente maior que os valores reportados para outros materiais lignocelulósicos, tais como o bagaço da cana-de-açúcar (18,93 %) (Mesa et al., 2011), casca de arroz (17,20 %) (Roberto et al., 2003) , e casca de cevada (15,50 %) (Sun et al., 2002) .

Quanto ao azoto, este é responsável pela formação de óxidos de azoto (NO_x), um dos principais gases que contribuem para o efeito de estufa, e que, durante a combustão, se libertam na forma gasosa, não permanecendo nas cinzas. O teor de azoto obtido para a borra de café [0,492-2,4%], é similar ao do milho (1,2%), casca de pinheiro (0,19%), e cascas de girassol (1,0%), mas inferior ao do feijão (4,3%) (Rabaçal, 2010).

O carbono é um dos principais componentes dos combustíveis provenientes da biomassa. O teor em carbono na biomassa é de cerca 45%, enquanto o carvão contém 60% ou mais (Demirbas, 2007). Na borra de café, este situa-se entre [52,03 - 69,5%], que é superior quando comparado com a casca de pinheiro (46,2%), o feijão (45,7%), serrim (44,7%), milho (42,1%) e palha de cevada (46,9%) (Rabaçal, 2010).

O teor em cinzas na biomassa proveniente de culturas energéticas e/ou de resíduos agrícolas apresenta uma grande variabilidade. Por outro lado, as madeiras possuem tipicamente teores de cinzas baixos, próximos de 1% em massa, como é o caso do serrim (0,2%), salgueiro (1,0%) e casca de pinheiro (1,2%) (Rabaçal, 2010). Refira-se que, em elevado teor, a presença de cinzas leva à diminuição do poder calorífico, afetando também a transferência de calor, pelo que é necessária a sua remoção. O teor de cinzas na borra de café é de 1,3-2,2%, sendo 23,84% para a casca de arroz, 5,1% para os resíduos de soja, 11,3% para o bagaço da cana-de-açúcar e 1,1% para o sabugo de milho (Vieira, 2012).

O seu poder calorífico superior (PCS) está compreendido entre 19,0-23,2 MJ/kg e é superior ao de outras biomassas, nomeadamente a casca de grão de arroz (15,96 MJ/kg) vagem de feijão (17,66 MJ/kg), aparas de madeira (17,97 MJ/kg), bagaço da cana-de-açúcar (17,90 MJ/kg) e a palha de milho (19,32 MJ/kg). Assim sendo, é bastante interessante o potencial da utilização desta biomassa, comparativamente com as restantes, como fonte calorífica para queima e geração de energia.

1.6. Objetivos do trabalho

É neste contexto que se insere o trabalho apresentado neste documento, pretende-se valorizar as borras de café e otimizar a produção de biodiesel usando como matéria-prima o óleo extraído da borra de café. Resumidamente, pretende-se:

1. Caracterizar quimicamente a matéria-prima – borra de café;
2. Extrair óleo da borra de café e fazer a sua subsequente caracterização;
3. Efetuar o estudo preliminar, incidente na identificação da enzima (de entre as disponíveis) e álcool (metanol ou etanol) a utilizar para maximizar o rendimento da reação;
4. Estudar o efeito de alguns dos principais parâmetros que afetam a reação de transesterificação, através de um correto planeamento experimental com base nos estudos preliminares;
5. Determinar as melhores condições de transesterificação, considerando como variável dependente o rendimento da reação;
6. Avaliar o efeito da presença de água no óleo, na transesterificação para as condições otimizadas;
7. Caracterizar o biodiesel produzido, de acordo com a norma Europeia EN 14214:2009;
8. Avaliar os custos do processo de produção de biodiesel.

1.7. Estrutura da dissertação

O presente documento incide no estudo do processo de produção de biodiesel, nomeadamente na otimização das condições operatórias a aplicar aquando da reação de

transesterificação, visando obter um biodiesel de qualidade, de acordo com a Norma EN 14214:2009.

Assim sendo, esta dissertação encontra-se organizada em 5 capítulos: Introdução, Estado de Arte, Descrição Técnica, Resultados e Discussão, Conclusões e Sugestões para trabalhos futuros.

Na Introdução, primeiro capítulo, abordam-se três temas fundamentais, o primeiro destes incide num breve e sucinto enquadramento à dependência energética atual e à necessidade de alternativas sustentáveis aos combustíveis fósseis, surgindo então o segundo tema: o biodiesel como fonte de energia renovável. No que diz respeito ao biodiesel, é efetuado o seu enquadramento histórico, sendo identificados os principais benefícios e impactos, sendo abordado o controlo da qualidade do produto produzido. Sabendo que a qualidade tem uma enorme importância na utilização e reputação de um produto e de uma empresa, é necessário produzir um produto de forma eficientemente, com o maior rendimento possível, mas mantendo uma qualidade compatível com a imposta nas Normas Europeias em vigor.

Será referida então, a Norma EN 14214:2009 que impõe limites e especificações para o biodiesel a ser comercializado, focando-se aqui as suas propriedades físicas e químicas que vão alicerçar na sua caracterização química.

Como último tema aborda-se então a matéria-prima: a borra de café. Faz-se uma breve abordagem ao café, desde a sua história, ao seu processo de produção e também mencionando as suas propriedades químicas.

No capítulo seguinte, Estado de Arte, é apresentada a revisão bibliográfica por detrás deste estudo, focada essencialmente em estudos já efetuados no âmbito da produção de biodiesel através da borra de café, bem como das metodologias utilizadas para a sua produção e variáveis que afetam a reação de transesterificação. Efetua-se ainda uma breve referência ao tema do planeamento experimental.

No 3º capítulo apresenta-se a metodologia utilizada para efetuar todo o trabalho experimental realizado, sendo descritos os procedimentos usados nas diferentes fases de produção, e adicionalmente, apresenta-se não só o planeamento experimental efetuado para otimização da produção de biodiesel, mas também os ensaios efetuados com adição de água ao álcool a fim de estudar o seu efeito.

No 4º e penúltimo capítulo encontram-se todos os resultados experimentais obtidos, tanto da caracterização da matéria-prima, óleo e biodiesel, mas também dos ensaios preliminares, otimização do processo, ensaios com adição de água e custos associados ao processo.

O 5º capítulo é referente às principais conclusões retiradas deste estudo, onde se propõe algumas sugestões para trabalhos futuros, tendo em conta as limitações e condicionantes que foram surgindo ao longo do trabalho realizado.

2. ESTADO DE ARTE

2.1. Processo de produção do biodiesel

O aproveitamento de resíduos vegetais ou animais, como matéria-prima para a produção de biodiesel tem-se mostrado promissor, não somente porque os resíduos representam matérias-primas de baixo custo, mas principalmente devido aos efeitos da degradação ambiental decorrente de atividades industriais e urbanas. Estes resíduos utilizados na produção de biodiesel devem encontrar-se em condições adequadas para se maximizar a taxa de conversão. Resumidamente, de acordo com Vardon et al. (2013), a produção de biodiesel a partir da borra de café pode ser dividida em três etapas fundamentais:

- Extração do óleo/gordura da borra de café;
- Síntese: Reação de transesterificação;
- Purificação do produto final.

2.1.1. Extração do óleo/gordura da borra de café

Uma das metodologias passíveis de ser utilizadas na extração do óleo da borra de café consiste na extração sólido-líquido em *Soxhlet*, onde o soluto do sólido é extraído através de um solvente volátil e imiscível em água que contacta diretamente com o sólido. Esta extração apresenta diversas vantagens, das quais o facto de a amostra entrar em contato com o solvente de extração repetidas vezes, havendo sua constante renovação, o que facilita o equilíbrio da transferência. Além disso, o sistema de extração é mantido a uma temperatura relativamente elevada, o que pode contribuir para a extração dos compostos que se encontram nos poros da matriz sólida. Existe a possibilidade de se realizar várias extrações simultaneamente, devido ao baixo custo do equipamento (Luque de Castro et al., 2010).

São vários os solventes eficientes para a extração da fração lipídica da amostra, tais como o éter de petróleo, metanol, hexano, e misturas de diclorometano:hexano e acetona:hexano. Entre os solventes orgânicos mais utilizados encontra-se o hexano e o éter de petróleo (Brum et al., 2009). A representação esquematizada na Figura 2.1, e uma breve explicação do funcionamento de um extrator *Soxhlet* Industrial, bem como a destilação sob vácuo, são apresentadas de seguida.

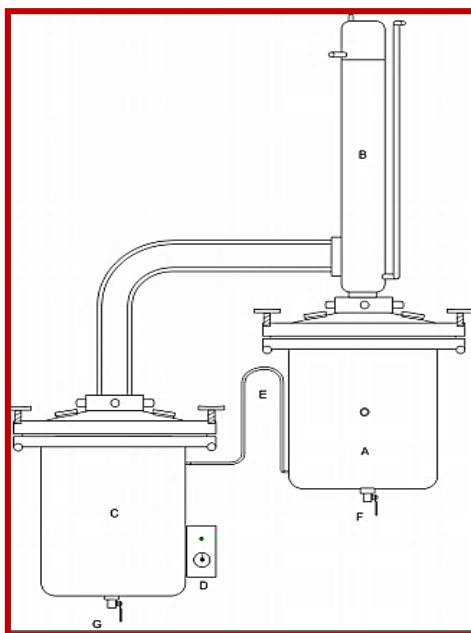


Figura 2.1 - Extrator Soxhlet industrial (Camargos et al., 2007).

Pretendendo-se recuperar o óleo extraído, separando-o do solvente, pode-se recorrer à destilação sob vácuo. Sabe-se que a temperatura de ebulição de um determinado líquido é função da pressão sob este exercida. Quanto maior for a pressão, maior será a temperatura de ebulição do líquido. Assim, baixando-se a pressão, reduz-se também a temperatura de ebulição do líquido em questão. Como a temperatura de ebulição de um líquido é atingida quando a pressão de vapor se iguala à pressão externa, ao diminuir artificialmente a pressão sob o líquido através de uma bomba de vácuo, consegue-se realizar a destilação a uma temperatura inferior ao ponto de ebulição normal, o que permite reduzir a degradação do óleo/gordura pelo efeito do calor.

Neste extrator (Figura 2.1), a amostra sólida é colocada no compartimento de vidro "A", acoplado a um condensador, "B", onde circula água fria e abaixo deste existe um balão de destilação, "C", onde é colocado o solvente. Por sua vez, o solvente é aquecido até ao seu ponto de ebulição. O vapor formado sobe até ao condensador, e condensa em "B". Posteriormente, gota a gota este cai sobre "A" que contém a amostra, acumulando-se gradualmente sobre esta. Ao seu lado, o compartimento "A" possui um sifão, "E", ligado ao balão de destilação que se enche conjuntamente com o solvente. Quando o nível de líquido que contém o material extraído atinge o nível do topo do sifão é escoado até ao balão de extração, onde se encontrava o solvente inicial. Assim sendo, no balão passam a coexistir os componentes solúveis extraídos dissolvidos no solvente. Inicia-se seguidamente um novo contacto, sendo o solvente reutilizado tantas vezes quantas as necessárias até que se considere terminada a extração.

Após o término da extração, todo o solvente e óleo extraído são descarregados pelas válvulas de esfera “F” e “G”. Segue-se a recuperação do solvente, por destilação, para posterior reutilização. Apresenta-se na Figura 2.2 um equipamento usualmente utilizado para este processo, o Rotavapor (evaporador rotativo).

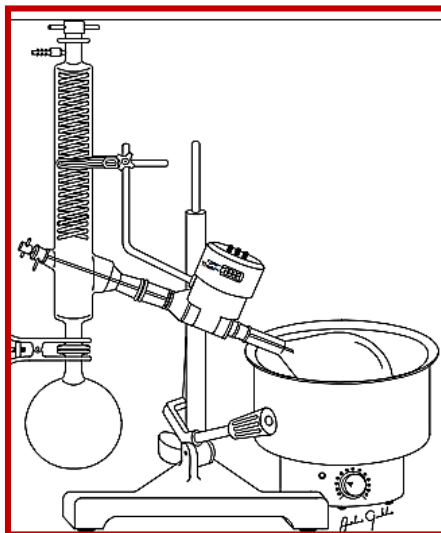


Figura 2.2 - Esquema representativo de um evaporador rotativo (Camargos et al., 2007).

2.1.2. Caracterização do óleo extraído/biodiesel

É fundamental o controlo das especificações do óleo, do biodiesel produzido e pontualmente em pontos da linha de produção, visto que as suas características podem interferir no rendimento da reação ou inviabilizar a sua produção.

Certas propriedades do óleo, tais como o teor em água, índice de iodo e de acidez e teor de ácidos gordos livres podem afetar a reação de transesterificação. Já a viscosidade e a densidade podem influenciar as características do combustível, tornando inviável a sua utilização. Na Tabela A.2 do Anexo A apresentam-se alguns dos efeitos associados a um inadequado controlo da qualidade do biodiesel. Na Figura 2.3 encontra-se ilustrado o efeito da utilização de um biodiesel de baixa qualidade num filtro de combustível.



Figura 2.3 - Filtro de combustível após utilização de biodiesel, de superior (esquerda) e de inferior qualidade (direita) (Alexandre et al., 2007).

Como se pode observar, a falta de controlo das propriedades antes, durante e após a produção do biodiesel poderá resultar em inúmeras consequências que levarão a prejuízos e custos avultados, tanto para o produtor como para o consumidor.

2.1.3. Síntese do Biodiesel – Reação de transesterificação

Se otimizado o processo de recuperação e aproveitamento dos subprodutos, nomeadamente o glicerol, a produção de biodiesel pode ser obtida a um custo competitivo, comparativamente com o preço comercial do diesel.

Uma vasta gama de processos possibilita a obtenção do biodiesel, entre eles o craqueamento térmico, microemulsões, esterificação e a transesterificação. De entre estes, o processo mais económico e menos complexo, que proporciona uma elevada conversão e reação rápida é a transesterificação (Granda et al., 2007).

No final do século XVIII, a transesterificação de óleos vegetais tornou-se conhecida e foi amplamente utilizada na produção de glicerina usada no fabrico de sabão (Brookes, 2007). Atualmente, sendo o glicerol, um subproduto da produção de biodiesel, com baixo valor acrescentado, abundante e com múltiplas utilidades, desde a cosmética à área alimentar, entre outras, face às alterações no panorama mundial energético, o biodiesel passou a ser considerado uma força motriz por detrás da utilização deste processo químico (Gazzoni, 2013). Assim, na produção de biodiesel a transesterificação consiste basicamente na reação química esquematizada na equação da Figura 2.4.

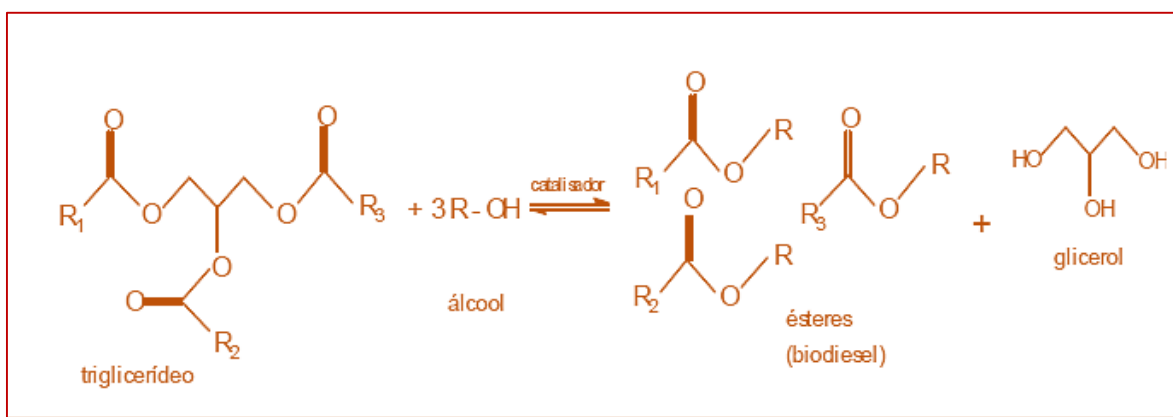


Figura 2.4 - Processo global da transesterificação (Macedo, 2003).

Na transesterificação, a matéria-prima (os óleos ou gorduras) reage com um álcool, entre os quais o metanol ou o etanol, e na presença de um catalisador ácido, básico ou enzimático transformam-se gradualmente os triglicerídeos em moléculas menores de esteres de ácidos gordos. No final da reação produzem-se duas fases distintas: a fase mais densa, constituída por glicerol e excessos de álcool, água e impurezas inerentes às matérias-primas e ao

catalisador, e a fase menos densa que é constituída por uma mistura de ésteres impregnados com excesso de álcool e impurezas.

O processo global consiste numa sequência de três reações reversíveis e sucessivas, em que os monoglicéridos e os diglicéridos são os intermediários da reação, tal como se apresenta na Figura 2.5.

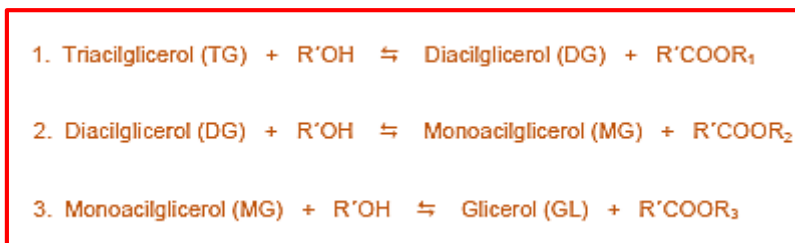


Figura 2.5 - Sequência de reações consecutivas e reversíveis do processo de transesterificação (Macedo, 2003).

Basicamente, os triglicéridos são convertidos em diglicéridos, e por sua vez os diglicéridos em monoglicéridos, e estes são convertidos em glicerol. Em cada uma destas reações forma-se um éster, sendo que por cada triglicérido são formados três ésteres. A introdução de catalisadores no processo de transesterificação potencia o aumento da velocidade de reação, sem que a composição dos elementos envolvidos no processo seja afetada.

Os grupos R correspondem às cadeias de ácidos gordos, sendo que as mais comuns são a cadeia palmítica, esteárica, oleica, linoleica e linolénica. Estas cadeias são designadas por uma letra e dois números (acrónimo comum), os quais se referem ao número de átomos de carbono presentes na cadeia e ao número de ligações duplas, respetivamente (Gerpen et al., 2004).

Dependendo do tipo de catalisador utilizado, comumente a transesterificação pode ser efetuada por catálise ácida, alcalina ou enzimática (Alexandre et al., 2007). Segue-se uma pequena abordagem a estes três tipos de catálise no âmbito da produção de biodiesel.

- Transesterificação por catálise alcalina

Com taxas de conversão bastante elevadas, que rondam os 98%, a transesterificação por catálise alcalina é o mecanismo mais utilizado para a produção de biodiesel (Marchetti et al., 2007). Habitualmente utilizam-se bases, tais como o hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, carbonatos e metóxido de sódio. Este processo requer temperaturas inferiores e permite maiores velocidades de reação e uma superior conversão, quando comparado com o uso de catalisadores ácidos (Macedo, 2003). Todavia, apresenta algumas desvantagens, das quais se salientam a necessidade de remover o excesso de catalisador, recuperar o glicerol e o

elevado consumo energético (Adamczak et al., 2009). Além disso, sob condições alcalinas, quando na presença de água, é favorecida a reação de saponificação dos triglicéridos, da qual resulta a produção de sabões a partir da reação dos ácidos gordos livres com o catalisador. Estes, além de promoverem o consumo do catalisador alcalino podem originar a formação de emulsões, que dificultam o processo de recuperação e purificação do biodiesel (Al-Zuhair, 2007).

- Transesterificação por catálise ácida

No que se refere à catálise ácida, esta é similar à transesterificação por catálise alcalina e consiste na reação dos triglicéridos com um álcool, contudo ao invés de uma base utiliza-se um ácido como catalisador, usualmente o ácido sulfúrico, sulfônico, fosfórico ou hidrolórico, entre outros, sendo o primeiro destes o mais utilizado. A utilização deste catalisador permite obter elevados rendimentos, porém a reação decorre muito mais lentamente. A principal vantagem da transesterificação em meio ácido é a de evitar a formação de sabão se comparada com a catálise alcalina (Marchetti et al., 2007).

- Transesterificação por catálise enzimática e co-solventes

Tanto na catálise ácida como na catálise alcalina, para obtenção de um diesel de qualidade satisfatória, em princípio, é necessário que a matéria-prima tenha o mínimo de humidade e de acidez, pelo que poderá ser necessário o pré-tratamento da matéria-prima, a fim de alcançar a máxima conversão dos triglicéridos. Esse pré-tratamento poderá passar pela neutralização, onde ocorre a lavagem da gordura com uma solução alcalina de hidróxido de sódio ou de potássio, seguida de uma operação de secagem ou desumidificação (César et al., 2004). Ora, a água promove reações de hidrólise, produzindo-se sabões provenientes da saponificação em condições alcalinas. Esta saponificação não só consome catalisador, mas também leva à formação de emulsões, que dificultam a separação e purificação do biodiesel (Zhang, 2003).

A catálise enzimática surge então como solução alternativa para a produção de biodiesel, dado que não é necessário recuperar e/ou remover o catalisador da reação de transesterificação nem proceder à lavagem do biodiesel. Ora, a utilização de biocatalisadores permite utilizar condições moderadas de reação, facilidade de recuperação do glicerol e uma transesterificação de óleos com elevado teor de ácido gordos livres (Bajaj et al., 2010).

Apresenta-se agora, na Tabela 2.1, uma análise comparativa entre os três tipos de catálise abordados anteriormente.

Tabela 2.1 - Comparação entre a catálise enzimática e química (alcalina e ácida) para a produção de biodiesel (Adaptado de (Gog et al., 2012); (Al-Zuhair, 2007)).

Parâmetro	Catálise Enzimática	Catálise Alcalina	Catálise Ácida
Rendimento dos ésteres metílicos (% m/m)	90	>96	90
Temperatura da reação (°C)	30-40	30-65	65
Recuperação de glicerol	Simples, Alta qualidade	Complexo, Baixa qualidade	Complexo, Baixa qualidade
Recuperação do catalisador	Simples	Difícil	Difícil
Velocidade de reação	Lento	Rápido	Mais lento que catálise alcalina
Custo da catálise	Alto	Baixo	Baixo
Custo energético	Baixo	Médio	Alto
Impacto ambiental	Baixo	Alto	Alto

Convém acrescentar ainda, face ao já referido que, nomeadamente em comparação com a transesterificação alcalina, a catálise enzimática decorre a temperaturas mais amenas, que rondam os 30-40 °C, a presença de água não interfere prejudicialmente no processo, apresenta um rendimento aceitável, a recuperação de álcool e do catalisador é simples e não requer a lavagem do biodiesel, porque as enzimas estão suportadas numa base sólida. Em contrapartida requer um elevado tempo de reação, o que conseqüentemente requer o uso de grandes quantidades de catalisador ou reatores maiores, tornando o processo mais dispendioso. Face ao elevado custo das enzimas, a viabilidade do processo está intrinsecamente dependente da sua recuperação. Falta ainda referir que muitas vezes as enzimas apresentam uma elevada instabilidade em solução, o que representa um obstáculo à recuperação do biocatalisador após a sua utilização (Macrae et al., 1985).

As enzimas são catalisadores biológicos de natureza proteica, isto é, quimicamente são macromoléculas de elevado peso molecular, formadas por longas cadeias de aminoácidos, unidos por ligações peptídicas, segundo um arranjo tridimensional. Na Figura 2.6, apresenta-se a variação da energia de ativação com a presença e ausência de enzima. A função das enzimas é acelerar a velocidade de uma reação pela diminuição da sua energia de ativação, sem que a dinâmica da reação seja alterada. Quanto mais baixa for a energia de ativação a fornecer, mais eficaz será o catalisador.

A ação enzimática promove a hidrólise dos triglicéridos em glicéridos parciais e ácidos gordos livres, ocorrendo depois a reação de formação dos ésteres a partir do álcool e dos ácidos gordos livres. Deste modo, diferentemente da catálise alcalina, os ácidos gordos livres dos óleos podem ser facilmente convertidos em ésteres na catálise enzimática (Macrae et al., 1985).

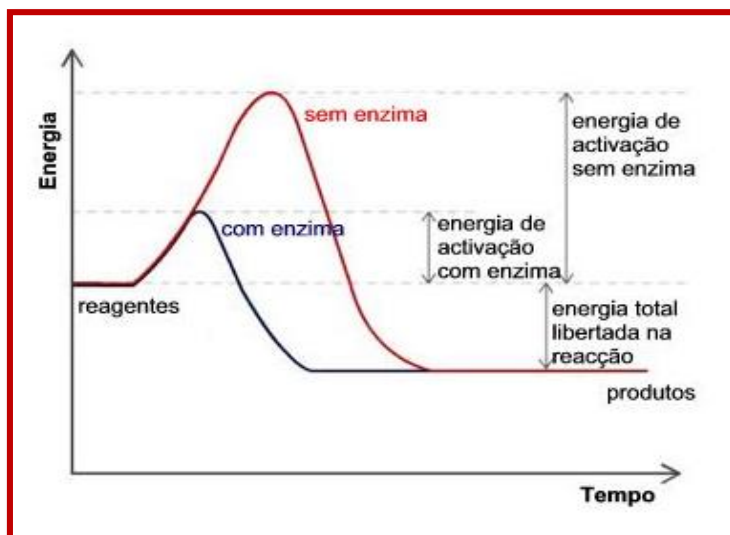


Figura 2.6 - Variação da energia de ativação com a presença e ausência de enzima (Rocha, 2001).

As enzimas podem ser categorizadas de acordo com o tipo de reação que catalisam ou a matéria-prima sob a qual vão atuar, cuja nomenclatura é característica, uma vez que cada uma destas apresenta a terminação “ase”. Face à existência de uma vasta gama de enzimas conhecidas, o *Enzyme Committee* (EC), da *International Union of Biochemistry and Molecular Biology* (IUBMB) subdividiu as enzimas em 6 classes numeradas, de acordo com o tipo de reação química a ser catalisada: (1) oxiredutases; (2) transferases; (3) hidrolases; (4) liases; (5) isomerases; e (6) ligases, cada uma destas é dividida em subclasses, também numeradas. Relativamente à sua funcionalidade (Cornish-Bowden, 2014), podemos dizer que:

1. Oxidorredutases: catalisam reações de oxi-redução, em que um substrato doa um ou mais elétrons para um aceitador de elétrons, tornando-se oxidado no processo. Exemplo: Desidrogenases.
2. Transferases: catalisam a transferência de grupos funcionais (amina, fosfato, carbonilo e carboxilo), de uma molécula para outra, isto é, entre um substrato dador e um substrato aceitador. Exemplo: Quinase.
3. Hidrolases: catalisam reações de hidrólise de ligações covalentes, isto é, enzimas que associadas a moléculas de água, promovem a cisão (quebra) de ligações covalentes. Exemplo: Lipases.
4. Liasas: Formam ou destroem ligações duplas, retirando ou adicionando grupos funcionais. Exemplo: Descarboxilase.
5. Isomerases: catalisam modificações geométricas ou estruturais no interior de uma molécula. Exemplo: Epimerases.
6. Ligases: catalisam a formação de novas moléculas por ligação de duas já existentes, consumindo energia sob a forma de ATP. Exemplo: Sintetases.

Atualmente, as Hidrolases representam cerca de 95% das enzimas usadas nos processos enzimáticos, destas as lipases merecem especial destaque. As lipases são enzimas hidrolíticas responsáveis pela hidrólise dos grupos ésteres, apresentam uma elevada especificidade pelo substrato, que supera inclusivamente, a especificidade de todas as outras enzimas até ao momento conhecidas. Atualmente, face às suas propriedades, estão a suscitar interesse na transesterificação de óleos ou gorduras para produção de biodiesel, contudo a sua gama de aplicações encontra-se já enquadrada no setor alimentar, curtumes e cosmética, nomeadamente (Macrae et al., 1985). Embora possam ser encontradas na natureza, provenientes de fontes animais, vegetais ou microbianas, preferencialmente, as lipases provenientes de microrganismos são as mais utilizadas industrialmente dada a sua simplicidade de isolamento e maior estabilidade que as obtidas de outras fontes.

Na Tabela 2.2 apresentam-se resumidamente as condições utilizadas por diversos autores na produção de biodiesel a partir de diversos óleos e gorduras.

Tabela 2.2 – Estudos efetuados no âmbito da catálise na produção de biodiesel.

Óleo	Catalisador	Razão óleo: álcool (mol:mol)	Temperatura (°C)	Tempo (h)	η (%)	Autor
Colza	1 % KOH	óleo: metanol (1:6)	65	2	95-96	(Rashid & Anwar, 2008)
Milho	2 % KOH	óleo: metanol (1:9)	80	1	85-96	(Patil & Deng, 2009)
Girassol	0,5% NaOH	óleo: metanol (1:6)	60	2	97,1	(Bambase et al., 2007)
Babaçu	1,5% KOH	óleo: metanol (1:4,5)	25	1	90,7	(Brandão, 2005)
Mamona	0,4 % NaOH	óleo: metanol (1:10)	30	1	91,1	(Fagundes et al., 2005)
Gordura de frango	0,8% KOH	óleo: metanol (1:6)	60	2	90,8	(Wu et al., 1999)
Banha de porco	0,8% KOH	óleo: metanol (1:6)	60	2	91,4	(Mata et al., 2011)
Sebo de frango	1,25% H ₂ SO ₄	óleo: metanol (1:30)	50	24	98,29	(Bhatti et al., 2008)
Sebo de carneiro	2,5% H ₂ SO ₄	óleo: metanol (1:30)	50	24	97,25	(Bhatti et al., 2008)
Milho	2,4 % Lipozyme TL IM	óleo: etanol (1:3)	35-38	24	90	(Ferreira, et al., 2008)
Sebo	Lipozyme IM 60	Etanol Co-solvente: Hexano	45	5	98,4	(Bajaj et al., 2010)

Tabela 2.3 – Continuação da **Erro! A origem da referência não foi encontrada.**

Óleo	Catalisador	Razão óleo: álcool (mol:mol)	Temperatura (°C)	Tempo (h)	η (%)	Autor
Soja	10% Thermomyces lanuginosa	óleo: metanol (1:6)	40	50	>90	(Bajaj et al., 2010)
	Mucor miehei	Etanol Co-solvente n-hexano	45	5	97,4	(Bajaj et al., 2010)
	Pseudomonas fluorescens Co-solvente n-heptano	Metanol (adição gradual)	20	12	92	(Bajaj et al., 2010)
	4% CandidaAntartica	óleo: metanol (1:0,33)	30	12	>97	(Li et al., 2006)
Girassol	3% Candida antartica	óleo: metanol (1:3)	45	50	>99	(Ognjanovic, et al., 2009)
	20% Pseudomonas fluorescens	óleo: metanol (1,14:12,5)	45	5	99	(Mittelbach, 1996)
Canola	42,3% Candida antartica	óleo: metanol (1:3,5)	38	12,4	97,9	(Chang et al., 2005)
Colza	1% Novozyme 435 3% Lipozyme TL IM	óleo: metanol (1:3) Solvente tercbutanol	35	12	95	(Li et al., 2006)

Neste trabalho pretende-se recorrer à transesterificação por catálise enzimática em presença de co-solventes, sendo que são inúmeras as variáveis que afetam esta reação. No tópico 2.1.5, este assunto será abordado sumariamente.

2.1.4. Purificação do biodiesel

A purificação do biodiesel requer sucessivos tratamentos a fim de maximizar a sua qualidade. Estes passam por exemplo pela recuperação da enzima imobilizada, contribuindo-se aqui para a minimização de custos, pela separação de fases (glicerol e biodiesel), pela recuperação do solvente e pela lavagem húmida e /ou uso de um agente secante.

- Recuperação da enzima

O custo de produção das lipases é efetivamente superior ao dos catalisadores químicos, representando um grande obstáculo à sua utilização. Este custo pode ser contornado através da utilização de lipases imobilizadas com elevada produtividade, seletividade e estabilidade operacional. Por imobilização em suportes sólidos, a enzima fica retida no interior ou na superfície do suporte (Al-Zuhair, 2007). A recuperação da enzima imobilizada pode ser realizada através da filtração a vácuo, em que é separado o meio reacional da enzima imobilizada.

- Separação de fases

Uma vez que a reação de transesterificação nunca é completa, poderão existir no produto final ésteres, monoglicéridos, diglicéridos, triglicéridos, glicerol, álcool e catalisador. Pretendendo-se um biodiesel de elevada pureza, a separação de fases é fundamental. De acordo com as especificações da Norma Europeia EN 14214, o teor em ésteres metílicos do biodiesel deverá ser superior a 96,5% (NP EN 14214, 2014). Ora, após o processo de transesterificação e por decantação, observam-se à temperatura ambiente duas fases líquidas, de distinta massa específica, o glicerol, o mais denso ($\rho=1,2613 \text{ g/cm}^3$ a $20 \text{ }^\circ\text{C}$) (NCBI, 2004) e ésteres metílicos ou etílicos ($\rho\approx 0,880 \text{ g/cm}^3$ a $20 \text{ }^\circ\text{C}$) (EBTP, 2011), consoante a natureza do álcool.

Dependendo da matéria-prima e sua origem, álcool e catalisador, a densidade do biodiesel será variável (Gerpen et al., 2004). Dada a diferença nas massas volúmicas, estes produtos são imiscíveis, e como tal podem ser separados por centrifugação e decantação, ambas técnicas de separação por gravidade. O objetivo dessa separação é remover os ésteres a baixo custo, e assegurar um produto de alta pureza. O glicerol na sua forma pura é visto como um subproduto da reação, que poderá ser reaproveitado.

Na centrifugação, a glicerina depositar-se-á no fundo do tubo, o que possibilita a sua separação. Contudo, embora mais rápido, este processo é mais oneroso. Alternativamente, na decantação no funil de decantação, o produto mais denso, a glicerina, é separado por gravidade (camada inferior) do menos denso, os ésteres (camada superior).

Falta apenas referir que, uma vez que a reação de transesterificação decorre na presença de excesso de álcool, juntamente com os ésteres ficará a maior parte do álcool excedente. Se essa quantidade for muito elevada, a taxa de separação poderá ser inferior ao pretendido, pois a sua presença conduz ao aumento da solubilidade do biodiesel no glicerol, dificultando o processo de separação (Meher et al., 2006).

- Recuperação do álcool

Tal como referido anteriormente, para que a transesterificação seja rápida e completa, adiciona-se excesso de álcool, este excedente é recuperado da fase menos densa. A recuperação do álcool é feita através de destilação a vácuo. Este princípio baseia-se na diferença entre o ponto de ebulição da água ($100 \text{ }^\circ\text{C}$) e do álcool (ex. etanol aprox. $78,4 \text{ }^\circ\text{C}$), que permite a vaporização do álcool a uma temperatura inferior, e sua consequente recuperação após passagem pelo condensador.

- Purificação do biodiesel

O método mais simples e frequentemente utilizado na purificação do biodiesel é a lavagem húmida. Neste método, a água é adicionada ao biodiesel, uma vez que as impurezas (sabões, glicerol e o álcool) nele existentes são solúveis na água e nela se irão dissolver. Essa fração de água é adicionada sob agitação e posteriormente separada, novamente por decantação. Como tal, uma vez que a lavagem húmida implica a adição de água ao biodiesel é necessário que exista uma fase de secagem que suceda à lavagem (Knothe et al., 1997). Contudo, tal como referido na catálise enzimática, não é necessário efetuar a lavagem húmida pelo que se passa diretamente para a etapa de secagem, caso existam ainda excessos de água e impurezas. Essa secagem pode realizar-se por adição de um agente secante que pode ser sulfato de magnésio anidro, óxido de magnésio ou outro agente, que depois terá que ser removido por filtração. Como desvantagens deste processo, além de exigir uma etapa de secagem, levando a custos de operação, os custos associados ao consumo de agente secante, gera-se um efluente quimicamente contaminado. Finda a purificação, tal como referido anteriormente, pretende-se que as características do biodiesel se enquadrem de acordo com as especificações da Norma Europeia EN 14214 e como tal, procede-se à caracterização do biodiesel resultante.

2.1.5. Principais parâmetros que afetam o processo de produção

São vários os fatores que afetam a reação de transesterificação, sendo que o co-solvente utilizado, tipo de álcool e razão molar álcool: óleo, tipo e quantidade de catalisador (enzima), temperatura e tempo de reação, teor de ácidos gordos livres e o teor de água são os principais parâmetros.

- Tipo de álcool e razão molar álcool: óleo

Teoricamente, na reação de transesterificação para se produzir 3 mol de ésteres de ácidos gordos e 1 mol de glicerol é necessário uma proporção molar de 3:1 de álcool: triglicerídeos, respetivamente. No entanto, uma vez que a reação é reversível, utiliza-se excesso de álcool para garantir que todo o óleo é convertido em ésteres (Knothe et al., 2005); (Gerpen, et al., 2004), sendo comum utilizar-se em catálise alcalina uma proporção molar álcool: gordura de 6:1. A otimização deste parâmetro visa assegurar a difusão do álcool no substrato, de modo a prevenir a desativação da lipase. Contudo, um elevado excesso de álcool pode ocasionar a inibição das enzimas, reduzindo a sua atividade enzimática, como tal o processo torna-se ineficaz (Noureddini et al., 2005). Isto é, na transesterificação catalisada por enzimas, o excesso de álcool insolúvel existente na forma de gotículas finas provoca efeitos negativos

sobre a atividade da enzima. Ora, o álcool altamente hidrófilo elimina a camada de água essencial das enzimas e também diminui o rendimento da reação (Yücel et al., 2013).

De acordo com (Shimada et al., 1999), a realização da reação de transesterificação utilizando como catalisador a *Lipase Candida antarctica* imobilizada, nas condições de temperatura de 30 °C, co-solvente na razão molar de 3:1 hexano/metanol, durante 24 h, demonstrou que quando a razão molar metanol/óleo é superior a 1,5:1 dá-se a inativação da lipase, conforme se apresenta na Figura 2.7.

O tipo de álcool também afeta significativamente o processo de transesterificação. Álcoois de cadeia mais curta, tais como o metanol, o etanol, o propanol e o butanol podem ser usados na reação de transesterificação, de forma a maximizar a taxa de conversão.

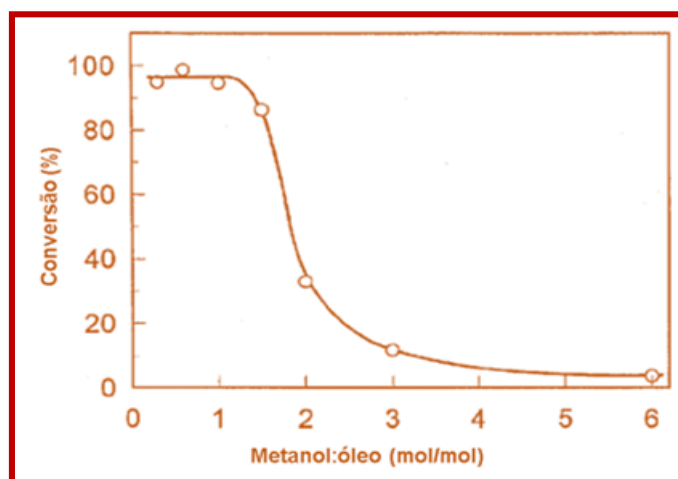


Figura 2.7 - Influência da razão molar metanol: óleo no processo de transesterificação (Adaptado de (Shimada et al., 1999)).

O metanol e o etanol são os comumente utilizados. Comparativamente com o etanol, o metanol apresenta uma cadeia mais curta e maior polaridade, a separação dos ésteres do glicerol é mais fácil e ainda apresenta maior disponibilidade e baixo custo (César et al., 2004). Em contrapartida, o etanol é produzido a partir de fontes renováveis, apresentando menor toxicidade, todavia é miscível com água, o que dificulta a separação do glicerol (Robles-Medina et al., 2009). Além disso, de acordo com o estudo efetuado por (Du et al., 2003), para uma reação com óleo de soja, cujas condições de reação são 4 h, 40 °C, num sistema isento de solvente, catalisada pela *lipase T. lanuginosa IM*, os rendimentos da reação variaram entre 75, 92 e 80 % para uma razão molar metanol: óleo de 3:1, 4:1, 5:1, respetivamente.

A fim de demonstrar o efeito de diferentes álcoois na taxa de conversão de biodiesel a partir de resíduo de óleo de pato cozido (WBDO), foram utilizados seis álcoois (metanol, etanol, propanol, isopropanol, isobutanol e álcool isoamílico) e três lipases imobilizadas (*Novozym*

435, *Lipozyme TLIM* e *Lipozyme RMIM*), em meio livre de solvente, a uma temperatura fixa de 45 °C, tempo de reação 20 h e razão molar óleo:álcool 1:4 (Liu et al., 2010). Os resultados experimentais são apresentados na Tabela 2.4.

Tabela 2.4 - Efeito do álcool e da enzima na taxa de conversão em ésteres (Liu et al., 2010).

Álcool \ Conversão (%)	Novozym 435	Lipozyme TLIM	Lipozyme RMIM
Metanol	63,2 ± 1,3	19,7 ± 0,9	20,1 ± 1,0
Etanol	58,4 ± 1,0	62,7 ± 1,1	57,9 ± 2,4
Propanol	43,5 ± 1,7	75,4 ± 2,0	65,8 ± 1,9
Isopropanol	64,1 ± 0,8	37,6 ± 0,7	28,4 ± 1,0
Isobutanol	79,6 ± 1,5	70,1 ± 0,9	72,3 ± 2,1
Álcool isoamílico	59,3 ± 2,6	82,4 ± 1,4	89,2 ± 3,0

Analisando a Tabela 2.4, cada lipase apresenta um padrão cinético diferente dependendo do álcool. Para os álcoois de cadeia linear, a *Novozym 435* exibe a mais elevada atividade quando se usa o metanol (63,2 ± 1,3 %), e a menor para o propanol (43,5 ± 1,7 %), dependendo-se que com o aumento do comprimento da cadeia de carbono, a taxa de conversão diminui.

Para os monoálcoois de cadeia ramificada, a *Novozym 435* apresenta atividade superior comparativamente com os álcoois de cadeia linear, e a maior taxa de conversão é observada quando se usa isobutanol (79,6 ± 1,5 %). No entanto, para a *Lipozyme TLIM* e *RMIM*, a taxa de conversão aumenta com o comprimento da cadeia de carbono.

A *Lipozyme TLIM* exibe elevada atividade na reação com o etanol, propanol, isobutanol, ou álcool isoamílico (3-metil, 1-butanol), e as taxas de conversão obtidas com estes álcoois são quase três vezes superiores às obtidas com metanol (19,7 ± 0,9 %) e duas vezes superiores à do isopropanol (37,6 ± 0,7 %). Para a *Lipozyme RMIM* a maior taxa de conversão resulta da utilização do álcool isoamílico (89,2 ± 3,0 %).

Para os álcoois de cadeia ramificada (isopropanol, isobutanol, álcool isoamílico), a taxa de conversão é mais elevada do que para os álcoois de cadeia linear com o mesmo número de átomos de carbono. A razão é provavelmente a diminuição da atividade catalítica resultante da cadeia carbônica ramificada, atribuída ao impedimento estérico da enzima.

- Co-solvente

Tanto a solubilidade como a estrutura da enzima são influenciadas pelas características do solvente orgânico. Existem duas grandes limitações à síntese catalisada por lipases. Uma delas é o custo mais elevado (o qual pode ser reduzido até certo ponto pela imobilização) e outra é a sua inativação por metanol e glicerol. Dada a imiscibilidade dos triglicerídeos

hidrofóbicos e do álcool hidrofílico (exemplo metanol) forma-se uma interface que conduz a resistência à transferência de massa, consequência da diminuição da atividade catalítica. Além disso, dado o carácter hidrofílico do glicerol, este também é insolúvel no óleo, de modo que é facilmente adsorvido na superfície da lipase imobilizada, diminuindo portanto a estabilidade operacional (Shimada et al., 2002). Ao adicionar um solvente orgânico adequado, aumenta a solubilidade do óleo no álcool e assim a concentração do álcool em torno da enzima pode ser controlada, melhorando a atividade da enzima durante a reação de transesterificação. Esse co-solvente hidrofílico visa controlar a difusão do álcool nos centros ativos da enzima, tal como se apresenta na Figura 2.8.

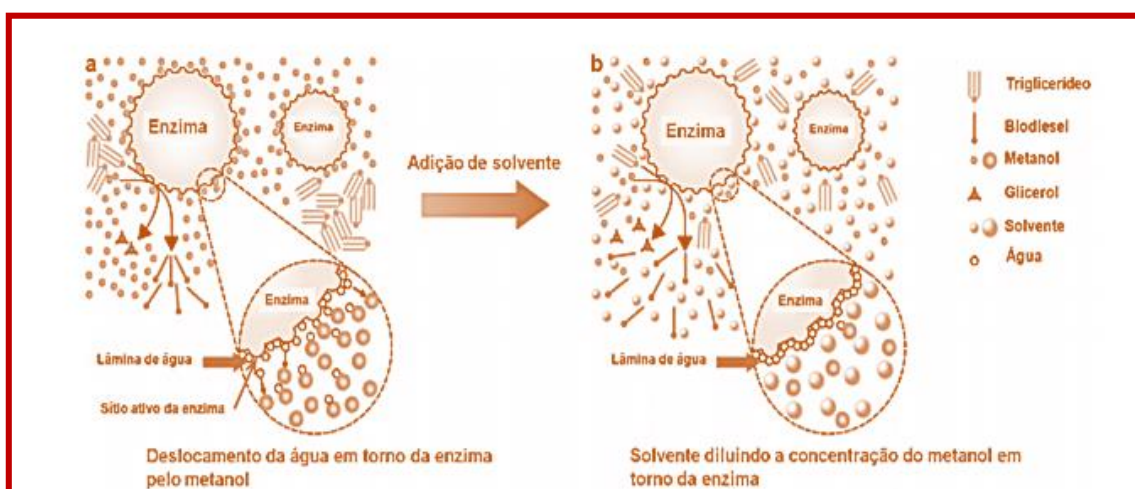


Figura 2.8- Influência da adição de co-solvente: (a) sistema isento de co-solvente; (b) presença de co-solvente orgânico (Pereira, 2013).

A utilização de co-solventes tem sido objeto de estudo no âmbito da maximização da produção de biodiesel. Soumanou et al (2003) realizaram um estudo, utilizando diferentes solventes orgânicos como o hexano, ciclohexano, heptano, iso-octano, acetona e o éter de petróleo, na produção de biodiesel de óleo de girassol por transesterificação, utilizando como álcool o metanol e as lipases (RM - *Rhizomucor miehei*; TL - *Thermomyces lanuginosa*; AK - *Pseudomonas fluorescens*) imobilizadas. Os resultados encontram-se na Figura 2.9.

Como pode ser observado, na generalidade, todas as lipases imobilizadas originaram uma elevada conversão quando na presença de solventes não polares. No entanto, quando foi utilizado um solvente orgânico polar, tal como a acetona, a conversão foi significativamente menor, tendo-se obtido apenas ~ 5% para a *Lipase R. miehei*. Finalizando, o n-hexano foi o melhor solvente para a reação com a *Lipase P. fluorescens*, enquanto que o iso-octano e o éter de petróleo foram os melhores, para a reação com as *Lipases T. Lanuginosa* e *R. miehei*, respetivamente.

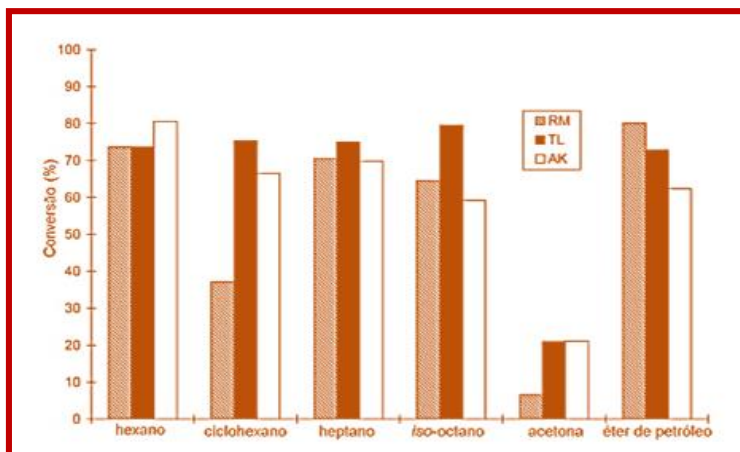


Figura 2.9- Influência do co-solvente no processo de transesterificação, usando lipases imobilizadas (Adaptado de (Soumanou et al., 2003)).

- Tipo e quantidade de catalisador

A quantidade de lipase utilizada é importante, especialmente devido à sua disponibilidade e custo. De acordo com (Vinod et al., 2014) que estudou a influência da concentração da *Lipase P. aeruginosa* na conversão dos triglicerídeos do óleo de Karanja, para uma concentração entre 5 – 15 % de enzima, os resultados mostram que a conversão máxima a ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME) (74,5 %) foi obtida utilizando 5 % de lipase. Para concentrações inferiores (1-2,5 %), a conversão a FAME não foi significativa. A uma concentração de enzima mais elevada (5%), a percentagem de conversão diminuiu, podendo dever-se à indisponibilidade de uma quantidade suficiente de substrato para a enzima. No entanto, aumentando ainda mais a concentração de enzima, acima de 10%, não houve qualquer aumento adicional. Um aumento da conversão foi evidenciado, 85,9 %, utilizando a lipase a uma concentração de 5 %, razão molar óleo: metanol de 1:4 e hexano como co-solvente, a uma temperatura de 45 °C, comprovando-se mais uma vez que o hexano é um co-solvente que proporciona elevadas conversões quando comparado com outros.

Na América do Sul (Brasil), o biodiesel é produzido principalmente a partir de óleo de girassol. A sua transesterificação é catalisada de forma eficiente em sistemas de solventes orgânicos (hexano), pela *Lipase Rhizomucor miehei* (*Lipozyme RM IM*, aplicável para o butanol e metanol) e por *Lipases* de *Aspergillus niger*, de *C. rugosa*, *P. cepacia*, *R. oryzae* e *P. fluorescens*. Em sistemas sem solventes, as reações de transesterificação do óleo de girassol com metanol são eficientemente catalisadas por *Lipases* de *R. miehei*, *P. fluorescens* e *T. lanuginosa* (Antczak et al., 2009).

Em contrapartida, de acordo com Banerjee et al. (2013), recorrendo à *Lipase Novozym 435* (10% em massa de óleo) o teor máximo de éster obtido foi de 88% em 8 h e a 40 °C.

Por fim, de acordo com Bharathiraja et al. (2014), utilizando a *Lipase Rhizopus oryzae* como catalisador para a conversão de resíduos de óleo alimentar e metanol, após otimização, foi possível obter uma elevada conversão (94,0%), para uma razão molar óleo: metanol de 1:3, concentração de enzima de 10 % (m/m óleo) a 30 °C, após 24 h.

- Temperatura e tempo de reação

No âmbito da catálise enzimática, o efeito da temperatura na atividade enzimática é relevante. A transesterificação enzimática decorre a baixas temperaturas entre os 25 e 60 °C (Yücel et al., 2013).

À medida que a temperatura sobe, a taxa de atividade da enzima aumenta até atingir o seu máximo, e simultaneamente há uma progressiva inativação por desnaturação da proteína, que se acentua quando a temperatura está acima do ótimo.

Geralmente, inicialmente a velocidade de reação aumenta com a elevação da temperatura de reação. Uma temperatura de reação mais elevada pode diminuir a viscosidade do óleo e resultar num aumento da velocidade de reação e num tempo de reação menor. No entanto, o aumento da temperatura acima da temperatura ótima leva à desnaturação e inativação térmica da enzima, o que diminui a atividade catalítica (Yücel et al., 2013).

Vários estudos foram realizados para encontrar o efeito da temperatura na produção de biodiesel, observando-se que a temperatura ótima é específica para cada conjunto de variáveis (óleo/álcool/catalisador) a estudar.

De acordo com (Antczak et al., 2009) a temperatura ótima para a atividade de várias lipases utilizadas na transesterificação de óleos com metanol, etanol, propanol, isopropanol, butanol e isobutanol em hexano varia entre os 30 e 55 °C.

Assim, de acordo com (Kumari et al., 2009), na transesterificação de óleo de *Jatropha* com metanol, utilizando a *Lipase E. aerogenes*, como catalisador enzimático, em terc-butanol (solvente orgânico), a temperatura ótima que proporciona a máxima atividade enzimática sem desnaturar a enzima situa-se aproximadamente nos 55 °C.

São vários os estudos incidentes no tempo da reação de transesterificação. Segundo (Odin et al., 2013), variando o tempo de reação entre 1-4 h, enquanto se mantinha a razão molar óleo: metanol (9:1) à temperatura a 60 °C, pode ser observado que a taxa de conversão do óleo Quássia aumenta com o tempo de reação nas primeiras 2,5 h, sendo o máximo de conversão 98,6 %. Seguidamente, esta sofreu uma diminuição devido à reação inversa de transesterificação, resultando numa perda de ésteres, bem como originando que mais ácidos gordos formassem sabões.

- Teor em água e teor de ácidos gordos livres

A água é adicionada ao sistema reacional para aumentar a eficiência catalítica (Antczak et al., 2009). No entanto pode ter um efeito negativo no processo de produção de biodiesel, uma vez que pode levar à hidrólise dos triglicéridos, formando-se ácidos gordos livres e diglicérideos, tal como representado na equação da Figura 2.10.

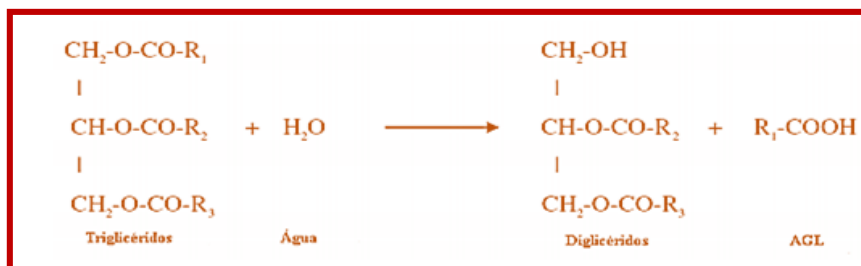


Figura 2.10 - Hidrólise dos triglicérideos em diglicérideos e ácidos gordos livres (Leung et al., 2010).

A título exemplificativo, na Figura 2.11 apresenta-se a síntese de biodiesel por transesterificação do óleo do farelo de arroz, utilizando a *Lipase Candida* e metanol, para uma razão molar 1:2 óleo: metanol, a uma temperatura de 40 °C e tempo de reação de 10 h.

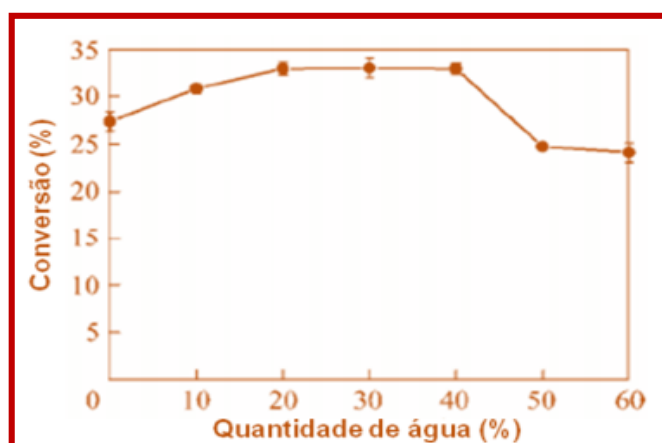


Figura 2.11 – Influência do teor de água (%) na taxa de conversão, utilizando óleo de farelo de arroz. Adaptado de (LI et al., 2010).

De acordo com este estudo conclui-se que a quantidade ideal de água se situou entre 20 e 40 %, para as quais se obteve a máxima conversão. Assim, acima de 40 % a conversão diminui. Este teor de água ótimo resulta do compromisso entre a minimização da reação de hidrólise e a maximização da atividade enzimática para a reação de transesterificação.

2.1.6. O Biodiesel obtido a partir de óleo da borra de café- Revisão bibliográfica

Tendo sido anteriormente demonstrada a relevância de diferentes variáveis para a reação de transesterificação, nesta secção pretende-se identificar e analisar alguns dos estudos efetuados no âmbito da produção de biodiesel através da borra e/ou óleo do café, a fim de

otimizar (maximizar) a produção de biodiesel, tendo em conta as variáveis que mais afetam a sua produção e as características desejadas. Pretende-se também que estes estudos sirvam de possível base comparativa para os subseqüentes estudos a ser efetuados.

Inicia-se esta revisão bibliográfica apresentando o teor de óleo existente em distintas matrizes, como o óleo de amendoim, colza, soja e girassol, entre outros, a fim de demonstrar a potencialidade do café, como matéria-prima para a produção de biodiesel. Em média, as borras de café podem conter 15 % de óleo, que pode ser convertido para uma quantidade semelhante de biodiesel utilizando métodos de transesterificação. Isto é muito significativo, em comparação com outras matérias-primas usadas na produção do biodiesel, tais como o óleo de semente de colza (40-45 %), óleo de girassol (35-45 %) e óleo de soja (18-20 %), tal como se apresenta na Tabela 2.5.

A maior parte do conhecimento existente acerca do teor de óleo do café em grão é baseada na espécie *Coffea Arabica* (Arábica), dado que é a mais económica. Pela mesma razão existe também informação disponível para a *Coffea Canephora* (Robusta), a segunda mais amplamente cultivada no mundo do café.

Tabela 2.5 - Principais fontes vegetais oleaginosas e seus conteúdos em óleo.

Oleaginosa (Santos, 2010)	Teor em óleo (%)	Oleaginosa (Mazzafera et al. 1998)	Teor em óleo (%)
Copra	66-68	<i>C.Arabica Nacional</i>	11,98±1,39
Babaçu	60-65	<i>C.Arabica Mundo Novo</i>	13,96±2,56
Gergelim	50-55	<i>C. Canephora Robusta</i>	9,83±0,45
Popa de palma	45-50	<i>C.CanephoraKouillou</i>	8,08±1,09
Caroço de palma	45-50	<i>C. Dewevrei Excelsa</i>	9,35±0,95
Amendoim	45-50	<i>C. DewevreiGarani</i>	9,85±0,91
Colza	40-45	<i>C. Congensis Uganda</i>	9,58±1,12
Girassol	35-45	<i>C. CongensisBangelan</i>	8,86±1,70
Açafrão	30-35	<i>C.Eugenioides</i>	13,25±0,34
Oliva	25-30	<i>C. Kapakata</i>	12,97±1,60
Algodão	18-20	<i>C.Salvatrix</i>	29,18±1,84
Soja	18-20	<i>C.Stenophylla</i>	12,02±0,96
Café cru arábica	15	<i>C.Liberica</i>	8,87±1,00
Café cru robusta	10	<i>C.Racemosa</i>	10,39

Destas espécies, o *C. Arabica*, *C. Racemosa*, *C. Stenophylla*, *C. Eugenioides*, *C. Kapakata* e *C. Salvatrix* apresentam um teor de óleo superior às restantes espécies, cujo conteúdo mais elevado, 29,18 %, foi observado com *C. Salvatrix*. O café Arábica apresenta um teor de óleo inferior às sementes oleaginosas. No entanto, o teor está próximo do da Soja, considerada

uma das principais oleaginosas no mercado de óleo vegetal. Observa-se ainda que o teor em óleo do café Arábica e Robusta é aproximadamente 15 % e 10 % para cada um destes, diferença esta associada às características específicas de cada espécie da planta do café. Também de acordo com (Mazzafera, et al., 1998), o teor de óleo em espécies de café do continente Africano, este verificou um teor de 15,6-16,1% em *C. Eugenoides*, 14,6-15,6% em *C. Dewevrei Excelsa*, 14,3-15,4% em *C. Congensis*, 11,1-11,9% em *C. Abeokutae*, 10,6-12,6% em *C. Canephora* e 11,9-12,0% em *C. liberica*.

Diversas classes de ácidos gordos são encontradas no óleo produzido através do café, cuja composição pode ser analisada por cromatografia gasosa, tal como se apresenta na Tabela 2.6.

Tabela 2.6 - Composição em ácidos gordos para o óleo de café cru e torrado de diferentes fontes bibliográficas.

Ácido gordo	Referências				
	(Turatti, 2001)		(Camargos et al., 2007)	(Nikolova-Damyanova, et al., 1998)	(Speer et al., 2006)
	Torrado % (m/m)	Cru % (m/m)	Cru % (m/m)	Cru % (m/m)	Cru % (m/m)
Palmítico (16:0)	34,5	33,7	31,1	34,2-34,6	26,6-27,8
Estearico 18:0)	8,9	9,1	9,6	7,8-8,0	5,6-6,3
Oleico (18:1)	10,2	10,4	9,6	8,4-8,6	6,7-8,2
Linoleico (18:2)	40,3	41,0	43,1	42,3-44,9	52,2-54,3
Araquídico (20:0)	4,0	3,9	4,1	2,9-3,1	2,6-2,8
Linolênico (18:3)	1,1	1,0	1,8	1,5-1,9	2,2-2,6
Mirístico (14:0)	-	-	-	0,04-0,16	-
Palmitoleico (16:1)	-	-	-	0,05-0,15	-
Behénico (22:0)	0,7	0,6	0,9	0,7-0,9	0,5-0,6

Observa-se uma similaridade entre o teor de ácidos gordos obtidos pelas diversas fontes, cujas diferenças mínimas existentes resultam dos métodos analíticos utilizados. O ácido palmítico e linoleico são os ácidos gordos predominantes, sendo que o ácido esteárico e oleico existem também numa quantidade moderada. O ácido araquídico representava entre 3 a 4 % e o ácido linolênico (C18:3) entre 1 a 2 % para as diversas fontes. Quantidades vestigiais de ácido mirístico, palmitoleico e behénico representavam menos que 1 %.

Precedente ao controlo dos parâmetros no biodiesel, dever-se-ão controlar os parâmetros das matérias-primas e do processo de produção. Um controlo inadequado das matérias-primas traduz-se não só num produto final cujas especificações se encontram fora do seu limite mas também numa possível paragem de toda a linha de produção.

Pretendendo-se que os parâmetros de qualidade do óleo e biodiesel se encontrem de acordo com a Norma Europeia EN 14214 apresentam-se aqui os resultados obtidos por um estudo efetuado por (Deligiannis et al., 2011). As borras de café foram coletadas a partir de cafés locais, e o óleo foi extraído através de um *Soxhlet* à temperatura entre 65-70 °C e utilizando n-hexano como solvente. A reação de transesterificação foi realizada com metanol anidro na proporção molar de metanol para óleo de 9:1, utilizando-se hidróxido de sódio (NaOH) como catalisador na quantidade de 1% (m/m). A reação foi levada a cabo a 65 °C durante 1h. As propriedades do óleo de café e do biodiesel são apresentadas na Tabela 2.7.

Tabela 2.7 - Propriedades do óleo de café e do biodiesel (Deligiannis et al., 2011).

Propriedade	Unidades	Método	Óleo de café	Biodiesel	Limites (Biodiesel)
Densidade (15 °C)	g/cm ³	ISO 12185	0,9338	0,8943	0,86-0,90
Viscosidade cinemática	mm ² /s	ASTM D7042	46,965	5,612	3,5-5
PCS	MJ/kg	ASTM D240	39,49		-
Ponto de nuvem	°C	ASTM D2500	13		-
Teor de Enxofre	mg/kg	ISO 20846	4,5		< 10
Número de iodo	gl ₂ /100g	EN 14111	82	-	<120
Teor em água	mg/kg	EN 12937	795,4	255,6	< 500
Índice de acidez	mgKOH/g	EN 14104	0,62	0,36	<0,5
Flash Point	°C	EN 22719	-	>120	> 101
Teor em ésteres	% m/m	EN 14103	-	81,29	>96,5

A viscosidade cinemática do biodiesel encontrava-se acima da especificação, possivelmente devido à ineficiente purificação do biodiesel, tendo ficado glicerol na fase de éster. Além disso, o teor em ésteres também era inferior ao valor limite, estando os restantes parâmetros de acordo com o esperado.

(Camargos et al., 2007) efetuou um estudo incidente na viabilidade da conversão de amostras de óleos de soja e de óleo de café proveniente de grãos sadios e de grãos defeituosos. Num outro estudo efetuado por (Al-Hamamre et al., 2012), relativo ao efeito da extração de óleo da borra de café, utilizando diferentes solventes (polar e não polar) e propriedades químicas e físicas, incluindo o conteúdo de ácidos gordos livres (FFA), densidade, viscosidade e a composição elementar. O método de extração *Soxhlet* foi utilizado para a extração de óleo da borra de café. Foram utilizados isopropanol, etanol e acetona como solventes polares e tolueno, clorofórmio, hexano e n -pentano como solventes não polares. A influência do tempo de contacto na extração do óleo de café e a temperatura também foram estudados. Para cada solvente, para diferentes intervalos de tempo, foi determinado o rendimento em óleo. A Tabela

2.8 mostra as variações do rendimento em óleo em função do tempo para diferentes solventes de extração

Tabela 2.8 - Variação do rendimento em óleo com o tempo para as diferentes solventes (Al-Hamamre et al., 2012).

Solvente de extração	Rendimento (óleo extraído (%))										
	Tempo (min)	15	20	25	30	35	40	50	55	60	70
Solventes não polares											
Pentano		11,95	11,57	12,53	15,18						
Hexano		11,60	14,57	11,20	15,28						
Tolueno		11,25			14,32						
Clorofórmio					8,60		11,15	10,98			
Solventes polares											
Acetona			12,53		12,92	12,60	12,30				
Isopropanol					10,68		10,52	10,92			11,43
Etanol			11,10		9,18		11,90				

Os resultados mostram que o rendimento mais elevado foi conseguido utilizando como solvente de extração o hexano (15,3 %), após 30 min de contato, seguido por pentano com 15,18 % no mesmo período de tempo. Por exemplo, os rendimentos obtidos com o hexano (solvente apolar) são significativamente diferentes dos obtidos com solventes polares (isopropanol, etanol e acetona). Ora, o rendimento é de 15,28 % (tempo de extração 30 min) quando o hexano é usado como solvente. A quantidade de óleo extraído pelos solventes polares varia entre 11,43 % (tempo de extração para o isopropanol-70 min) e 12,92 % (tempo de extração de 30 min para a acetona). Estes valores são maiores do que os obtidos com solventes polares (acetona (12,92 %), etanol (11,90 %), e isopropanol (10,92 %)). Isto pode ser devido à formação de substâncias complexas entre os ácidos gordos e monoglicéridos que possam inibir a extração (Al-Hamamre et al., 2012).

Observou-se também que o aumento do tempo de extração pode originar um ligeiro aumento do rendimento. Isto é válido para a extração com etanol, isopropanol, clorofórmio, pentano e acetona. Após um determinado momento, onde o pico do rendimento de óleo é atingido, este começa a diminuir novamente. Mais especificamente, para a extração com hexano, para 15 e 20 min, o rendimento em óleo sobe (11,67 % e 14,57 %), posteriormente diminui para 11,20 % e, seguidamente sobe novamente durante 30 min (15,28 %). Este comportamento pode ser atribuído ao teor de humidade. A presença de humidade devido à secagem ineficiente da amostra de pó de café usado pode reduzir a eficácia da extração do solvente, resultando em baixas recuperações de óleo. A Tabela 2.9 resume as propriedades físicas do óleo extraído com diferentes solventes. Em suma, o rendimento máximo de óleo (15,28 %) é conseguido

usando hexano (solvente apolar) como solvente de extração, para um tempo de extração de 30 min.

Tabela 2.9 - Propriedades físicas de óleo de café moído extraído com solventes diferentes (Al-Hamamre et al., 2012).

Solvente de extração	Densidade a 25 °C (g /cm ³)	Temp. (°C)	Viscosidade cinemática (mm ² /s)	Densidade (g /cm ³)
Solventes não polares				
Pentano	1,1116	40	53,06	0,923
		100	9,7162	0,883
Hexano	1,1084	40	55,473	0,9192
		100	9,9189	0,8787
Tolueno	1,1194	40	72,502	0,9322
		100	12,284	0,8913
Clorofórmio	1,149	40	121,22	0,967
		100	16,605	0,9249
Solventes polares				
Acetona	1,1156	40	58,881	0,9277
		100	10,336	0,8881
Isopropanol	1,1372	40	238,04	0,9532
		100	24,598	0,9119
Etanol	1,1156	40	54,797	0,9277
		100	9,8347	0,8872

A fim de selecionar o solvente de extração adequado, vários fatores devem ser considerados, incluindo o rendimento de extração, aspectos de segurança e económicos e propriedades físicas e químicas. Durante o processo de extração, solventes com pontos de ebulição elevados, tais como o tolueno (111 °C) e o isopropanol (82 °C) consomem mais energia do que os solventes com pontos de ebulição baixos (hexano (69 °C) e pentano (36 °C)). Por outro lado, durante a extração, utilizando solventes com pontos de ebulição baixos resultam perdas substanciais de solvente. Por conseguinte, esses solventes podem ser economicamente inviáveis quando utilizado para a extração. Dado o exposto e pretendendo-se um solvente de baixa solubilidade em água e de baixo ponto de ebulição, o hexano é um dos solventes mais utilizados pelas suas características. Além disso, (Banerjee et al., 2013) incidiram o seu estudo na borra de café de uma mistura de *Coffea arábica* e Robusta (*Coffea canephora*) como material de partida para a extração do óleo do café. Neste estudo foram utilizados 0,5 g de óleo, etanol na razão 1:4 e 10% de enzima (m/m óleo).

Diferentes lipases influenciam diferentemente a conversão do óleo de café em ésteres etílicos de ácidos gordos, tal como se apresenta na Figura 2.12. As lipases foram abreviadas como se segue: Lipase de *Pseudomonas cepacia* : PS, Lipase imobilizada em partículas de cerâmica: PS C, Lipase imobilizada sobre terra de diatomáceas: PS D, Lipase de *Cândida rugosa* : Lipase AYS; forma imobilizada da Lipase B de *CAL: Novozym 435, Rhizomucor*

miehei Lipase imobilizada em resina de troca aniônica macroporosa: *Lipase RMIM*; *Lipase* de *Mucor javanicus* : *Lipase M*; *Lipase* de *Aspergillus niger* : *Lipase AP12*; *Lipase* de *Penicillium camemberti* : *Lipase G*.

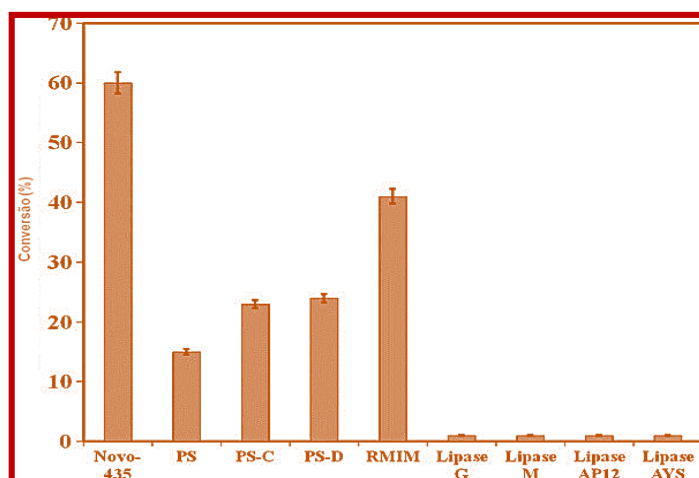


Figura 2.12 – Efeito de diferentes lipases na taxa de conversão em ésteres etílicos (Banerjee et al., 2013).

Neste estudo, a *Lipase RMIM* e *Novozym 435* foram os biocatalisadores que proporcionaram uma maior conversão para os ésteres, tendo sido esta última que proporcionou uma maior conversão. Então, a fim de avaliar o efeito da temperatura sobre a reação de transesterificação de óleo de café com etanol, em condições livres de solvente, utilizou-se a *Novozym 435* (10% em peso de óleo). Para a reação consideraram-se três temperaturas diferentes: 40, 50 e 60 °C, tendo-se testado também a influência da razão enzima: óleo, uma vez que o custo da enzima é uma variável importante (Figura 2.13).

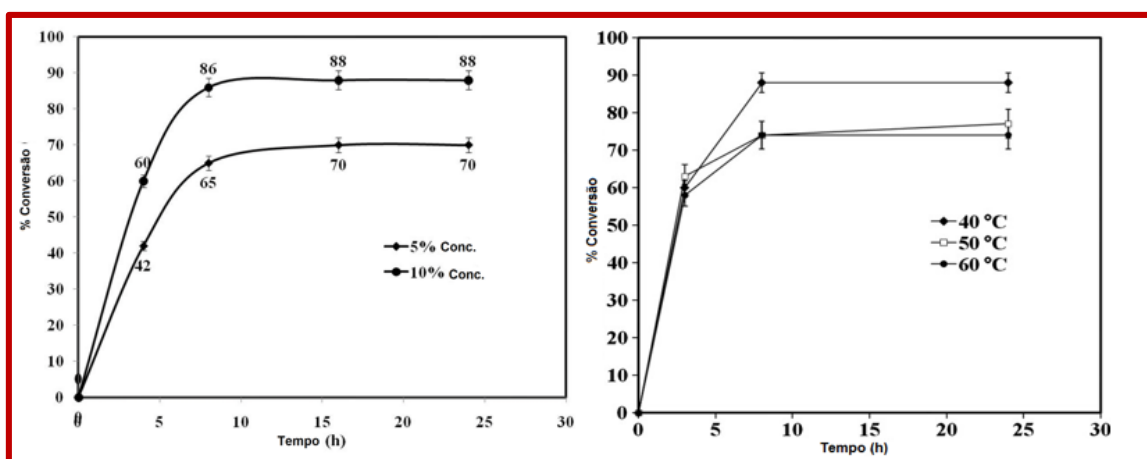


Figura 2.13 – Efeito da temperatura e da concentração de enzima na taxa de conversão em ésteres etílicos (Banerjee et al., 2013).

O teor máximo de éster obtido foi de 88% em 8 h a 40 °C. Pela Figura 2.13 à direita verificou-se que com 5% (m/m) da enzima, para um tempo de reação de 16 h a conversão atingiu os 70%. Continuar a reação até 24 h não resulta em qualquer conversão adicional, mostrando que a reação tinha atingido o equilíbrio às 16 h. Esta foi menos eficiente, em comparação com

a conversão de 88% com 10% (m/m) de enzima em 8 h (esquerda). Assim, a redução da quantidade de enzima não era desejável.

2.1.7. Planeamento Experimental

Tempo disponível e custo são dois dos pontos fulcrais a ter em conta na realização de um trabalho experimental. Planear experiências com o objetivo de otimizar eficientemente a qualidade dum produto alimentar com o menor tempo e custo possível pode ser visto como um processo em duas fases:

1. Determinar quais as variáveis e quais as interações entre variáveis que afetam significativamente a resposta. Nesta fase, os planos experimentais fatoriais 2^k são extremamente úteis e eficazes.
2. Otimização dos fatores de forma a atingir os objetivos pretendidos no que concerne ao comportamento da variável-resposta, isto é, determinar a quais valores de variáveis corresponde o valor ótimo da resposta, bem como a expressão para a resposta, válida para a gama de valores considerada para cada uma das variáveis.

Existem várias estratégias de experimentação para estudar a influência dos fatores numa determinada resposta, sendo que se pode variar uma variável de cada vez (efeito da variável na resposta de cada um dos fatores, mantendo os restantes constantes). A principal desvantagem desta estratégia, muito comum na prática industrial, é não permitir estudar as possíveis interações entre fatores. Assim sendo, nos casos que envolvem vários fatores dever-se-á realizar a experimentação fatorial variando simultaneamente todos os níveis dos fatores em estudo.

Um experimento fatorial é definido por k fatores representados por n níveis, isto é, valores sendo então definido como um planeamento fatorial n^k . Quando se recorrem apenas a dois níveis, comumente representados por nível mais elevado (+) e menos elevado (-) tem-se um experimento 2^k .

Para se planear o conjunto de experiências a realizar, a fim de testar quais os principais parâmetros que necessitariam de ser estudados para otimizar o rendimento e qualidade do produto considerou-se um desenho composto central (DCC) incidente em três variáveis independentes que afetam a qualidade do biodiesel que são a temperatura, massa ou concentração de catalisador, razão álcool: óleo/gordura. Assim sendo, para cada uma destas variáveis realizou-se um experimento fatorial 2^3 . Isto é, estão envolvidos quatro fatores, cada um com dois níveis (-1/+1), tendo sido expandido para os níveis extremos (-2/+2), de modo a aumentar as hipóteses de resposta e três ensaios ao centro (0).

Sendo $\alpha=2$, tal como se apresenta na Figura 2.14, os pontos $(-1,0)$, $(1,0)$, $(0,-1)$ e $(0,1)$ estão localizados a uma distância $\alpha=2$ à partir do centro.

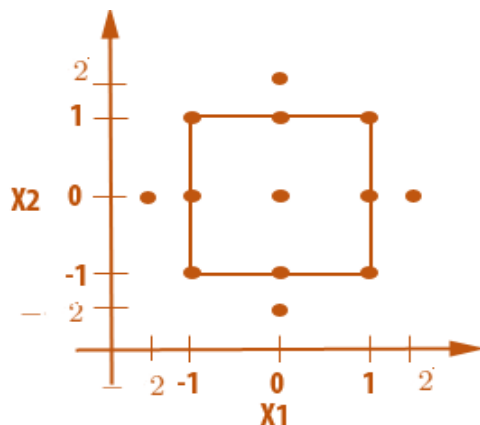


Figura 2.14 – Experimento de composição central com $\alpha=2$.

Na descrição técnica, capítulo seguinte, encontra-se descrito o planeamento efetuado.

3. DESCRIÇÃO TÉCNICA

Neste capítulo apresenta-se a metodologia utilizada para a realização deste trabalho. Sendo a matéria-prima utilizada para a síntese de biodiesel a borra de café, o trabalho inicia-se justamente com a sua caracterização, indicando-se aqui quais os parâmetros a estudar e qual o procedimento a seguir. Segue-se a descrição do processo de extração e recuperação do óleo, para o qual se determinou os parâmetros de qualidade do óleo, e novamente da borra, mas agora após a sua extração. Finalmente descreve-se a metodologia para produção do biodiesel a partir do óleo do café, iniciando-se o seu estudo, através de ensaios preliminares, para seleção da lipase e álcool mais adequados (dentre os disponíveis). Sendo um dos objetivos do estudo, a otimização da produção de biodiesel a partir da borra de café por catálise enzimática, apresentam-se aqui os vários ensaios efetuados, bem como as razões para a sua escolha. Uma vez realizados os ensaios do planeamento experimental com vista à otimização, alguns dos parâmetros de qualidade foram avaliados no biodiesel daí resultante. Finalmente, procurou-se avaliar o efeito da presença de água no óleo, na produção de biodiesel realizada nas condições otimizadas. Na Figura 3.1 apresenta-se o esquema adotado no processo de produção de biodiesel efetuado neste trabalho experimental.

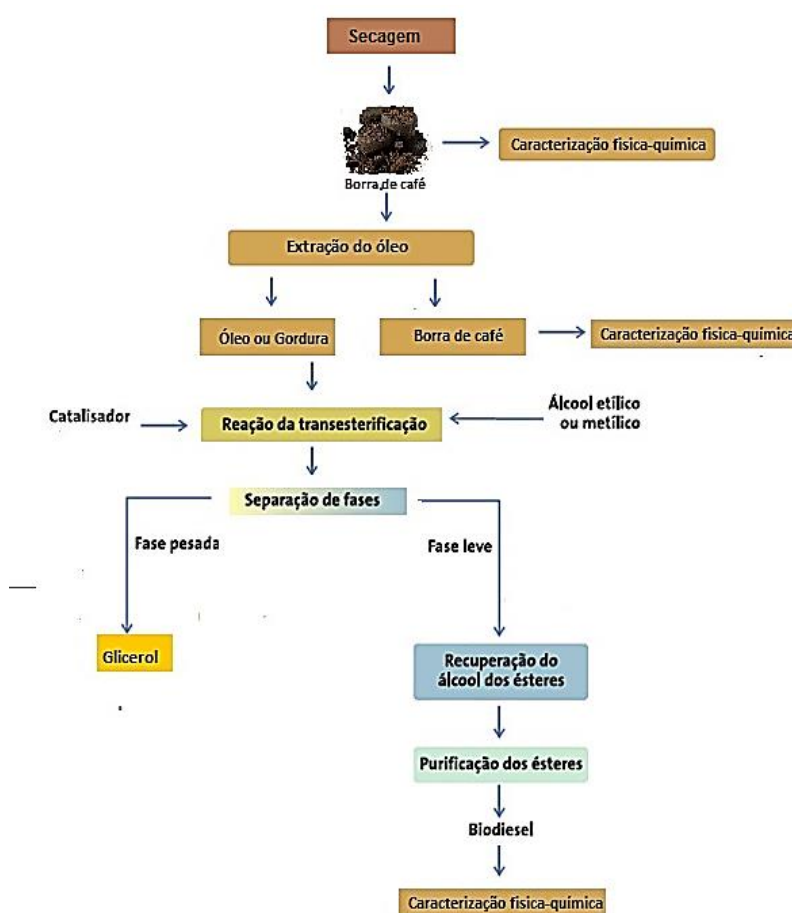


Figura 3.1- Etapas do processo adotado para a produção do biodiesel.

No processamento do café como bebida, ocorre a humidificação do pó durante a extração da cafeína, dos aromas e dos pigmentos, pelo que o resíduo gerado é húmido. A água presente na borra interfere no processo de extração do óleo que se pretende recuperar e, por conseguinte, na sua qualidade. Então, numa etapa inicial, para colmatar esta situação, a amostra de borra de café sofre um processo de secagem ao ar. Segue-se a etapa de extração do óleo/gordura da borra de café.

3.1. Caracterização das amostras de borra de café

Sendo o café, um produto que apresenta uma certa variabilidade na sua composição química e propriedades, dependendo da sua qualidade e processo de produção, é extremamente relevante a caracterização da borra de café antes e após a sua extração. Sendo assim, neste subcapítulo pretende-se descrever sumariamente quais os métodos utilizados na caracterização da amostra de borra de café, para a qual se pretendem avaliar diversos parâmetros, a saber: o teor de humidade, carbono, azoto, proteínas, cinzas, celulose, lenhina e poder calorífico. O procedimento adoptado para cada um destes parâmetros encontra-se descrito no Anexo B.1.

- **Determinação do Teor de Humidade**

O teor de humidade foi determinado pelo método direto, através de ciclos repetidos de secagem numa estufa (*WTB Binder*), a 105 ± 5 °C, seguido de arrefecimento num exsiccador até estabilização da temperatura. O término dá-se quando o peso da amostra estabiliza (Caetano et al., 2012).

- **Determinação do Teor de Celulose**

O teor de celulose foi determinado de acordo com os procedimentos da norma Portuguesa *NP-1005: 1974*, utilizando para tal uma placa de aquecimento (*SELECTA, Agimatic-E*), aparelho de filtração a vácuo e bomba de vácuo (*Neuberger*), balança analítica (*Kern ALJ 220-4*), mufla (*Vulcan A-550*) e estufa (*WTB Binder*).

- **Determinação do Teor de Lenhina**

O teor de lenhina *Klason* e solúvel foram determinados de acordo com a norma *TAPPI T222 om-06*. Neste método de determinação, a lenhina (também conhecida como "lenhina *Klason*") é definida como um componente da celulose insolúvel em ácido sulfúrico a 72%. Utiliza-se uma placa de aquecimento (*SELECTA, Agimatic-E*) e um espectrofotómetro de UV-Vis (*Shimadzu*). Este último é utilizado para determinar o teor de lenhina solúvel pela medição da

absorvância a um comprimento de onda de 205 nm, sendo a lenhina total o somatório entre a lenhina de *Klason* e a lenhina solúvel.

- **Determinação do Teor de Carbono**

A determinação do teor de Carbono Orgânico Total (COT) por combustão a alta temperatura pressupõe a determinação do teor de carbono total (CT) e do teor de carbono inorgânico (CI). Resumidamente, a quantificação do carbono total pressupõe a injeção da amostra numa câmara a alta temperatura (900 °C) dando-se a decomposição completa dos carbonatos presentes na amostra em dióxido de carbono. O dióxido de carbono resultante da oxidação da matéria orgânica e do carbono inorgânico é depois transportado por um gás de arraste (oxigénio) e quantificado.

Na determinação do CI, a amostra injetada na câmara de reação é acidificada com ácido fosfórico. Nestas condições, todo o carbono inorgânico é convertido em dióxido de carbono, o qual é transferido para o detetor e medido. Assim sendo, apenas se quantifica o carbono inorgânico, uma vez que o carbono orgânico não é oxidado.

O teor de Carbono Orgânico Total (COT) foi determinado de acordo com o procedimento descrito no manual do aparelho Analisador de COT (*Shimadzu, TOC-VCSM*), usando o módulo para amostras sólidas *TOC-V Series SSM-5000*.

- **Determinação do Teor de Azoto Total (Kjeldahl)**

Este é o método de *Kjeldahl* convencional e baseia-se na digestão da amostra por aquecimento com ácido sulfúrico concentrado num digestor (*Raypa*), na presença de um catalisador. As formas azotadas existentes na amostra são transformadas em sulfato de amónio que, por destilação num destilador (*Raypa DNP1500*) por ação de uma solução de hidróxido de sódio a 40%, liberta amoníaco que é fixado numa solução de ácido bórico de título conhecido. Segue-se a titulação com ácido clorídrico de título conhecido e na presença de um indicador, determinando-se a quantidade de amoníaco e conseqüentemente, a quantidade de azoto contido na amostra.

- **Determinação do Teor de Proteínas**

O teor de proteína foi estimado através do teor de azoto, tal como sugerido por (Hatalita et al., 2007), de acordo com a equação 3.1

$$\text{Teor de Proteínas} = 6,25 \times \text{Teor de Azoto} \quad (\text{Equação 3.1})$$

- **Determinação do Teor de cinzas**

O teor de cinzas foi determinado de acordo com o método da *AOAC 923.03.44*, colocando uma dada massa de borra seca em estufa num cadinho e calcinando-a numa mufla (*Vulcan A-550*) a 550 ± 5 °C durante um determinado período de tempo.

- **Determinação do Poder Calorífico Superior**

O poder calorífico superior é definido como o calor produzido pela combustão completa de uma substância e da energia gasta na vaporização da água que se forma numa reação de oxidação. A sua determinação regeu-se pelo procedimento descrito na *norma ASTM D5865-10*, usando um calorímetro (*PARR 6200 Calorimeter*).

3.2. Produção de Biodiesel

Resumidamente, a produção de biodiesel pode ser dividida em três etapas fundamentais, a extração do óleo/gordura da borra de café e sua recuperação; a síntese (reação de transesterificação) e purificação do produto final. O processo utilizado para a síntese de biodiesel neste trabalho experimental foi a transesterificação por catálise enzimática.

3.2.1. Etapa I: Extração e Recuperação do óleo da borra de café

Após seca, uma amostra de aproximadamente 2 kg de borra de café foi colocada dentro de um cartucho de celulose, vedado com algodão para evitar o arraste de amostra com o solvente, no extrator *Soxhlet* à escala piloto, à temperatura de 60-70 °C. O solvente, hexano, foi colocado no balão de fundo redondo (cerca de 8 L), sendo também adicionado juntamente com a borra cerca de 3 L de hexano para acelerar o processo de extração e humidificar mais rapidamente a borra.

O cartucho foi previamente pesado e tarado para posterior contabilização do teor de humidade da borra. O procedimento de extração foi interrompido quando duas medições consecutivas do índice de refração do solvente foram constantes e próximas do valor correspondente ao solvente puro, isto é após quatro contatos. Na Figura 3.2 apresenta-se uma fotografia representativa da unidade de extração *Soxhlet* à escala piloto.



Figura 3.2 – Unidade de extração *Soxhlet* à escala piloto.

É de referir que os solventes foram reutilizados no lote seguinte de extração. A cada duas cargas o óleo foi separado do solvente, por destilação a vácuo em evaporador rotativo (Rotavapor, *Buchi*), à temperatura constante (60 °C), e à pressão de 360 mbar (usando uma bomba de vácuo, *Vacuum Pump V-700*), a fim de diminuir o ponto de ebulição do hexano (69 °C). O solvente e o óleo são recolhidos do balão recetor para posterior reutilização (Figura 3.3) e do balão de evaporação, para posterior contabilização do rendimento, respetivamente, através da Equação 3.2.

$$\% \text{ óleo} = \frac{W_1}{W_2} \times 100 \quad (\text{Equação 3.2})$$

Onde,

W_1 – Massa de óleo (g);

W_2 – Massa de borra de café (g).



Figura 3.3 – Balão recetor com o óleo da borra de café.

- **Caracterização do óleo e da borra após extração**

Após extração, foram determinadas as propriedades do óleo e da borra.

Neste tópico descrevem-se sumariamente os métodos utilizados para a caracterização das amostras de óleo, cujo procedimento se encontra descrito em detalhe no Anexo B.2.

Para caracterização do óleo avaliaram-se as seguintes propriedades: índice de acidez, índice de iodo, viscosidade cinemática, densidade, teor de ácidos gordos, teor de água, ponto de inflamação e poder calorífico superior. A sua determinação foi efetuada de acordo com as normas indicadas na *norma NP EN14214:2009*.

A caracterização da borra foi efetuada nas mesmas condições, tal como descrito no tópico 3.1, acrescentando-se a determinação do teor de matéria gorda. A determinação do teor de matéria gorda consiste na extração da massa da matéria gorda (g) existente na massa total de borra de café tratada. Todos os experimentos foram realizados em triplicado e os valores médios foram registados.

- **Determinação do Índice de Iodo**

A determinação do índice de iodo segue a metodologia descrita na Norma Europeia *EN 14111*. Entende-se por índice de iodo a quantidade de halogéneo, expressa em gramas de iodo, que reage com 100 g de amostra.

Para fazer esta determinação faz-se reagir uma amostra de óleo ou biodiesel com uma solução de um halogéneo. Posteriormente através de uma reação de oxidação-redução, o halogéneo em excesso converte uma solução iodada em iodo livre. A quantidade de iodo libertada é determinada por titulação com uma solução de tiosulfato de sódio. A diferença entre a quantidade de iodo libertada e a quantidade de iodo gasta no ensaio branco (ensaio sem amostra resulta na quantidade de iodo que reagiu, e permite determinar o grau de insaturação do óleo ou biodiesel. O procedimento executado utiliza o reagente de Wijs.

- **Determinação do Índice de Acidez**

O índice de acidez representa a massa de hidróxido de potássio, expressa em miligramas, necessária para neutralizar os ácidos gordos livres contidos num grama de gordura ou óleo. Este parâmetro avalia-se segundo a metodologia descrita na Norma Portuguesa *EN 14104*, para derivados de gorduras e óleos alimentares, por titulação volumétrica. Consiste na neutralização, por reação ácido-base, dos ácidos gordos livres contidos numa amostra de óleo, gordura ou biodiesel, previamente diluída num solvente apropriado e na presença do indicador fenolftaleína.

- **Determinação da Densidade a 15 °C**

A massa volúmica, vulgarmente designada por densidade, representa a massa de substância expressa em quilogramas, dividida pelo volume, expresso em metros cúbicos.

A metodologia seguida encontra-se descrita na Norma Portuguesa EN ISO 3675, utilizando-se um densímetro.

- **Determinação da Viscosidade Cinemática**

A viscosidade cinemática consiste na resistência ao escoamento de um fluido, sob a ação da gravidade. Na sua determinação seguiu-se a metodologia descrita na Norma *ISO 3104:1999*. Este parâmetro foi determinado usando um viscosímetro capilar (*Cannon Fenske*), imerso num banho de água (*Thermomix BM*), à temperatura controlada de 40 °C e um cronómetro.

- **Determinação do Teor de Água**

Para determinação do teor de água recorreu-se ao método de titulação por coulometria de *Karl Fischer*, de acordo com a Norma *ISO 12937:2003*.

O seu princípio consiste na injeção de uma porção previamente pesada, no recipiente de titulação do coulómetro (*Methrom K 684*), em cujo ânodo se gera coulometricamente iodo para a reação de *Karl Fischer*. Quando toda a água estiver titulada, o excesso de iodo é detetado por um detetor eletrométrico de ponto final e a titulação está terminada.

- **Determinação do Poder Calorífico Superior**

A determinação do Poder Calorífico Superior (PCS) foi feita de acordo com o procedimento descrito na norma *ASTM D5865-10*, usando um calorímetro *Parr 6722*.

- **Determinação do Teor em Ácidos Gordos**

Para a sua determinação seguiu-se a metodologia apresentada por (Abou-Shanab et al., 2011), em que se procedeu à derivatização da amostra de óleo/gordura após o que se realizou a análise cromatográfica, usando um cromatógrafo de fase gasosa (*DANI, GC 1000 DPC Digital Pressure Control*).

3.2.2. Etapa II: Síntese do Biodiesel

Várias reações de transesterificação enzimática foram realizadas recorrendo a várias lípases, utilizando metanol e etanol como álcool, de modo a optar por um destes. A matéria-prima utilizada na síntese de biocombustível foi o óleo extraído da borra de café.

Tal como referido anteriormente, os catalisadores em estudo foram as enzimas imobilizadas *Lipozyme TL IM*, *Lipozyme RM IM* e a *Lipozyme CALB L*, com vista a escolha daquela que proporciona rendimentos em ésteres mais elevados.

O co-solvente utilizado foi o hexano, pois de acordo com (Soumanou et al., 2003), (Bajaj et al., 2010), (Al-Hamamre et al., 2012), (Vinod et al., 2014), entre outros autores, este solvente proporciona elevados rendimentos de conversão em biodiesel. Além disso adicionar um solvente orgânico adequado aumenta da solubilidade do óleo no álcool e assim a concentração do álcool em torno da enzima pode ser controlada, melhorando a atividade da enzima durante a reação de transesterificação.

Efetou-se um conjunto aleatório de ensaios, avaliando o rendimento da conversão do biodiesel, cujo resumo se encontra na Tabela 3.1.

Tabela 3.1 – Ensaios preliminares efetuados.

Ensaio	Catalisador	Concentração Catalisador (%)	Razão álcool: óleo (%)	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Co-solvente (%)
1	Lipozyme TL 100L	2,5	óleo: etanol (1:4)	35	48	Hexano 20
2	Lipozyme TL 100L		óleo: metanol (1:4)			
3	Lipozyme RM IM		óleo: etanol (1:4)			
4	Lipozyme RM IM		óleo: metanol (1:4)			
5	Lipozyme CALB L		óleo: etanol (1:4)			
6	Lipozyme CALB L		óleo: metanol (1:4)			
7	Lipozyme CALB L+RMIM		óleo: etanol (1:4)			

Exemplificando, para as condições do 1º ensaio:

Pesou-se cerca de 40,3 g de óleo para um frasco de vidro pyrex com tampa de roscar, graduado de 200 mL. Como catalisador utilizou-se a enzima *Lipozyme TL 100L* a uma concentração de 2,5 % (p/p) em óleo, isto é, cerca de 1 g de enzima (Figura 3.4).



Figura 3.4 – Catalisadores enzimáticos utilizados nos ensaios preliminares.

A razão molar óleo: álcool utilizada foi de 1:4 e de co-solvente de 20 % (v/v) relativamente ao álcool, isto é, utilizou-se um volume de cerca de 7,22 mL de etanol e de cerca de 1,44 mL de hexano como co-solvente. Estes foram medidos na *hotte* como procedimento de segurança. Nota: O recurso a 20% v/v de hexano como co-solvente manteve-se para os restantes estudos.

O frasco de reação foi mantido fechado, aquecendo-se numa placa de aquecimento com agitação magnética, até à temperatura desejada (Figura 3.5).



Figura 3.5 – Aquecimento dos frascos de reação em banho com agitação magnética.

A reação de transesterificação decorreu durante 48 h num banho termostatzado a 35 °C e com agitação para promover a homogeneização da mistura dos reagentes. Finda a reação, o frasco foi retirado do banho termostatzado.

3.2.3. Etapa III: Purificação do Biodiesel

A recuperação da enzima imobilizada foi realizada através da filtração a vácuo (Figura 3.6).

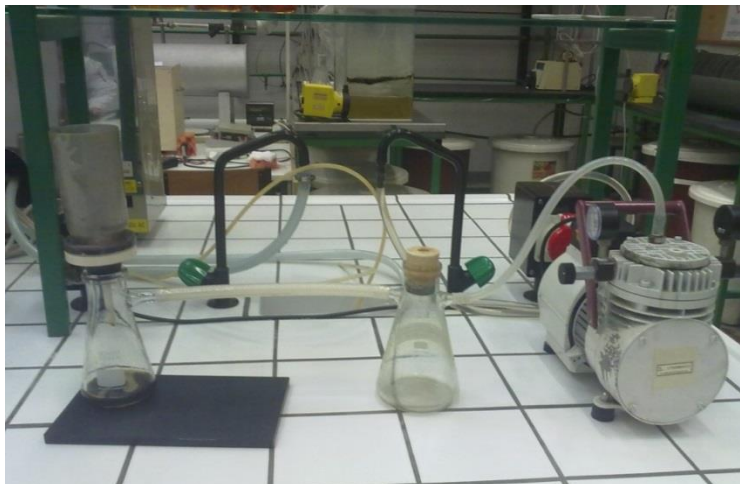


Figura 3.6 – Filtração a vácuo do biodiesel para recuperação da enzima.

Pretendendo-se um biodiesel de elevada pureza, a separação de fases é fundamental, tal como se apresenta na Figura 3.7 e Figura 3.8



Figura 3.7 – Separação de fases após adição de glicerina.

Dada a diferença nas massas volúmicas, o glicerol e os ésteres são imiscíveis, pelo que foram separados por decantação. Para remover a glicerina formada foi necessário misturar numa ampola de decantação juntamente com o produto da reação, cerca de 25% de glicerina pura (relativamente ao óleo inicial (m/m)). Assim sendo, o produto mais denso, o glicerol, é

separado por gravidade (camada inferior) do menos denso, os ésteres (camada superior). A fase aquosa (mistura de álcool, água e glicerol) foi colocada num frasco devidamente rotulado.



Figura 3.8 – Decantação: parte superior (ésteres) e inferior (glicerina).

Sucedese a etapa de secagem (Figura 3.9), onde um agente secante, nomeadamente o óxido de magnésio, foi adicionado à mistura, numa proporção de cerca de 3 g para 40 g de óleo inicial, seguindo-se um processo de agitação de forma a promover o contacto com o biodiesel para facilitar a remoção da água e outras impurezas. Findo esse período o agente secante é removido por filtração a vácuo.



Figura 3.9 – Adição de óxido de magnésio, como agente secante, ao biodiesel.

Na Figura 3.10 apresentam-se os frascos com o biodiesel produzido nos ensaios preliminares, devidamente identificados para posterior caracterização.



Figura 3.10 – Biodiesel produzido nos ensaios preliminares.

- **Caracterização do Biodiesel**

Após a purificação, segue-se a caracterização do biodiesel. Tal como foi realizado na caracterização do óleo da borra de café, será analisado o índice de acidez, índice de iodo, teor em água, viscosidade cinemática, densidade, poder calorífico superior e teor em ésteres dos ácidos gordos, de acordo com os procedimentos que se encontram descritos no Anexo B.2.

3.3. Estudo do Planeamento Experimental

A escolha assertiva da melhor estratégia do planeamento experimental depende essencialmente do número de variáveis independentes.

Um dos objetivos deste trabalho experimental consistiu na otimização da produção de biodiesel. Tal como referido anteriormente, recorreu-se ao planeamento estatístico DCC, de modo a estudar a influência da temperatura, concentração de enzima e razão molar álcool: óleo no processo de transesterificação enzimática.

Pretendeu-se aqui identificar quais as condições reacionais que permitem maximizar a conversão do óleo em biodiesel, cujo teor em ésteres deve ser superior a 96,5% de acordo com a Norma *EN 14214*. De acordo com essas condições efetua-se a comparação entre os resultados obtidos com os encontrados na bibliografia.

Os resultados dos ensaios realizados com o planeamento estatístico DCC foram avaliados através da aplicação de Metodologia de Superfície de Resposta (MSR) e Análise de Resíduos. Em suma, a otimização do processo de produção do biodiesel etílico seguiu as seguintes etapas:

1. Através de um levantamento bibliográfico foram pré-selecionadas as variáveis que mais influenciam o processo de produção de biodiesel;
2. Através do planeamento estatístico DCC foram selecionadas três variáveis independentes (razão óleo: álcool, concentração de enzima e temperatura), consistindo num planeamento fatorial 2^3 com oito ensaios, acrescentando seis pontos axiais e três pontos centrais (PC), totalizando o equivalente a dezassete experiências, procurando-se avaliar a influência dos fatores, através do programa computacional JMP 8.0.
3. Os efeitos das variáveis com os respetivos erros foram calculados e analisados estatisticamente a 95% do intervalo de confiança;
4. A Análise de Resíduos foi efetuada e baseada na Análise de Variância (ANOVA), para verificar a qualidade do ajuste; na determinação do Coeficiente de Determinação (R^2), através da Equação de Regressão e no Teste F, que avalia se essa análise de regressão foi significativa;

5. Finalizando, apresentam-se as Curvas de Contorno e Superfícies de Resposta que facilitam a visualização das faixas ótimas operacionais de cada variável.

Assim, para otimizar os resultados optou-se por realizar um conjunto de experiências, onde a escolha dos valores para os níveis de cada um dos parâmetros a variar teve em consideração a informação disponível na literatura.

A escolha da lipase a utilizar teve por base os resultados obtidos nos ensaios preliminares. O co-solvente utilizado foi o hexano, a uma proporção de 20 % (v/v, relativamente ao álcool), tal como referido anteriormente.

A Figura 3.11 ilustra o planeamento fatorial efetuado com cinco níveis, respetivamente o nível -2 , -1 , 0 , $+1$ e $+2$.

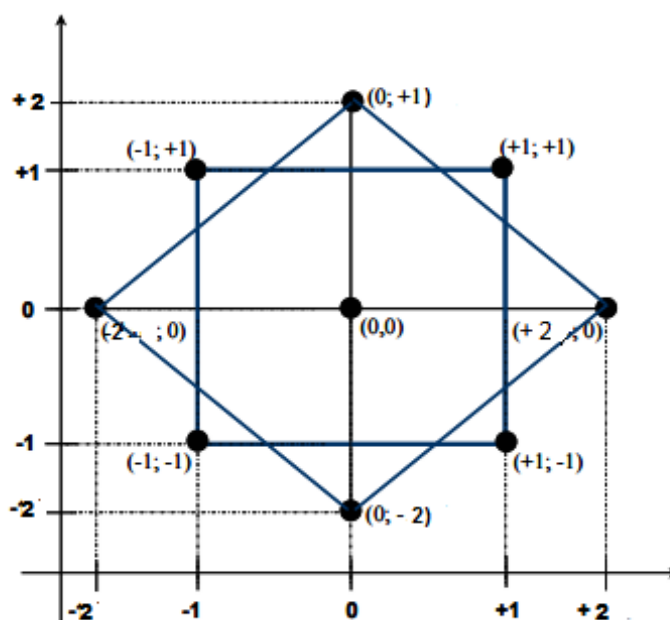


Figura 3.11 – Planeamento fatorial com cinco níveis (Adaptado de Costa (2008)).

Portanto, a gama de valores escolhida para a otimização das variáveis é a seguinte:

- Temperatura de reação: [25; 35; 45; 55; 65] °C
- Concentração de catalisador: [0,5; 2,5; 4,5; 6,5; 8,5] % (m/m relativamente ao óleo)
- Razão molar óleo: álcool: [1:3; 1:4; 1:5; 1:6; 1:7]
- Tempo de reação: constante e igual a 24 h.

A Tabela 3.2 traduz matematicamente este planeamento experimental. Na linguagem estatística, diz-se que o pretendido é descobrir como a resposta (o rendimento da reação) dependerá dos três fatores mencionados: temperatura, concentração de catalisador e razão molar óleo: álcool.

Tabela 3.2 – Gama dos parâmetros estudados, no DCC, traduzida nos diferentes níveis.

Níveis	Temperatura (°C)	Concentração de catalisador (% m/m)	Razão molar álcool: óleo	Tempo (h)
-2	25	0,5	1:3	24
-1	35	2,5	1:4	
0	45	4,5	1:5	
1	55	6,5	1:6	
2	65	8,5	1:7	

Recorreu-se ao *software* JMP 8.0, usando a metodologia de superfície de resposta para avaliar o efeito das variáveis estudadas no rendimento e qualidade do produto obtido. Na Tabela 3.3 apresenta-se o planeamento dos ensaios realizados traduzido em variáveis codificadas e respetivos valores, em função das condições reacionais definidas no desenho composto central, onde a variável “T” corresponde à temperatura, “C” a concentração de catalisador, “R” a razão molar óleo: álcool. A matriz de planeamento lista os ensaios na ordem padrão. Todas as colunas começam com o nível inferior (-) e posteriormente os sinais vão alternando. Quer isto dizer que, parâmetro a parâmetro os sinais alternam entre um a um na primeira coluna (- + - +), dois a dois (- - + +), e finalmente quatro sinais negativos e quatro positivos na última coluna.

Tabela 3.3 – Planeamento para os ensaios expresso em variáveis codificadas e nos respetivos valores a ensaiar.

Ensaio	Variáveis codificadas			Ensaio		
	T	C	R	T (°C)	C (%)	R (mol:mol)
1	-1	-1	-1	35	2,5	1:4
2	+1	-1	-1	55	2,5	1:4
3	-1	+1	-1	35	6,5	1:4
4	+1	+1	-1	55	6,5	1:4
5	-1	-1	+1	35	2,5	1:6
6	+1	-1	+1	55	2,5	1:6
7	-1	+1	+1	35	6,5	1:6
8	+1	+1	+1	55	6,5	1:6
9	0	0	0	45	4,5	1:5
10	0	0	0	45	4,5	1:5
11	0	0	0	45	4,5	1:5
12	-2	0	0	25	4,5	1:5
13	+2	0	0	65	4,5	1:5
14	0	-2	0	45	0,5	1:5
15	0	+2	0	45	8,5	1:5
16	0	0	-2	45	4,5	1:3
17	0	0	+2	45	4,5	1:7

A resposta (Y) estudada foi o rendimento da reação, a qual pode ser representada num modelo matemático genérico em função das variáveis estudadas (temperatura, concentração de enzima e razão molar álcool: óleo), através da regressão quadrática que se apresenta na Equação 3.3, que tem em conta os efeitos lineares, de interação entre as variáveis e efeitos quadráticos.

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \beta_3 X_3 + \beta_{11} X_1^2 + \beta_{22} X_2^2 + \beta_{33} X_3^2 + \beta_{12} X_1 X_2 + \beta_{13} X_1 X_3 + \beta_{23} X_2 X_3$$

(Equação 3.3)

Onde,

X_1, X_2, X_3 - Variáveis referentes aos fatores;

β_0 - Ponto de interseção;

$\beta_1, \beta_2, \beta_3$ - Fatores referentes aos efeitos lineares;

$\beta_{11}, \beta_{22}, \beta_{33}$ - Fatores referentes aos efeitos quadráticos;

$\beta_{12}, \beta_{13}, \beta_{23}$ - Fatores referentes aos efeitos de interseção.

Após otimização estudou-se o efeito da adição de água.

O conteúdo de água é um dos fatores-chave para a reação de transesterificação enzimática, pois os biocatalisadores necessitam de uma pequena quantidade de água para manter a sua atividade. Embora a água não participe nas reações de etanolise, o seu controlo é relevante, por diversos fatores entre os quais, a água atua como um "lubrificante", mantendo a enzima na sua conformação ativa; participa em muitos mecanismos que causam a inativação da enzima; promove a agregação de partículas de enzima; dado o seu elevado teor podem ocorrer limitações difusionais do substrato; pode promover a hidrólise do substrato, diminuindo assim o rendimento da reação (Salis et al., 2005).

A quantidade de água necessária, para proporcionar uma atividade enzimática ótima, varia de acordo com o tipo de enzima e a composição do meio reacional. Um teor ótimo não só proporciona a minimização da hidrólise das ligações éster, mas também garante a reação de transesterificação. Deste modo, é muito importante um controlo adequado do teor de água para o processo enzimático (Rodrigues, 2009).

O teor ótimo de água será, portanto, uma combinação entre a minimização da reação de hidrólise e a maximização da atividade da enzima para a reação de transesterificação.

Assim, na Tabela 3.4 apresenta-se o resumo das condições usadas no estudo referente ao efeito da adição de água ao etanol a fim de verificar de que modo é que a sua presença afeta a reação de transesterificação.

Tabela 3.4 – Condições usadas no estudo do efeito da adição de água ao etanol (para as condições otimizadas com álcool anidro).

Ensaio	Catalisador	Concentração Catalisador (% m/m)	Razão álcool: óleo (mol:mol)	Temperatura (°C)	Tempo (h)	Co-solvente (% v/v)	% (v/v) água no álcool
1	<i>Lipase RMIM</i>	4,5	óleo: etanol (1:5)	45	24	Hexano 20	75
2							85
3							92

4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste Capítulo apresentam-se os principais resultados dos ensaios experimentais realizados. Os resultados da caracterização da matéria-prima e do óleo extraído encontram-se nos subcapítulos 4.1 e 4.2, respetivamente. No capítulo 4.3, apresentam-se os resultados do estudo de otimização da produção de biodiesel a fim de selecionar as melhores condições das variáveis que potenciam o rendimento da produção de biodiesel e sua caracterização. Apresenta-se no capítulo 4.4 o resultado dos ensaios efetuados no estudo do efeito da adição de água ao etanol para as condições otimizadas. Por fim,, no capítulo 4.5 apresenta-se uma estimativa dos custos resultantes do processo de produção do biodiesel neste estudo.

4.1. Caracterização da matéria-prima: borra de café

Pretende-se neste subcapítulo efetuar uma análise rigorosa e cuidada das principais características da borra de café. Dos vários parâmetros suscetíveis de ser estudados avaliou-se o teor de humidade, cinzas, carbono orgânico total, azoto, proteínas, lenhina total, celulose bruta, matéria gorda e poder calorífico superior (P.C.S). Na Tabela 4.1 encontram-se os resultados experimentais obtidos no âmbito da caracterização da borra de café antes da extração (A.E) e depois de extração (D.E) do óleo da borra de café, bem como valores de referência disponíveis na bibliografia (Tabela 4.1). Os exemplos de cálculo correspondentes podem ser consultados no Anexo D.

Tabela 4.1 – Resultados experimentais da caracterização da borra de café e valores de referência.

Parâmetro ^a	Borra de café		(Caetano et al., 2014)		(Li et al., 2014)	(Deligiannis et al., 2011)
	A.E	D.E	A.E	D.E		
Teor Humidade (%)	16,97 ^b	6,79	65,7 ^c	9,40	8,1	
Teor Cinzas (%)	1,91	1,57	2,2	1,65	1,7	4,2
Teor Carbono (%)	70,2	71,7	67,3	69,5	54,5	52,03
Teor Azoto (%)	1,71	2,30	2,2	2,0	2,4	0,492
Teor Proteínas (%)	10,7	14,4	13,7	12,3	15,0	
Teor Lenhina solúvel (%)	2,82	1,51	1,7	1,6		
Teor Lenhina insolúvel	28,21	29,46	31,9	30,9		
Teor Celulose bruta (%)	14,77	18,48	13,8	15,3		
P.C.S (MJ/kg)	19,5	19,9	19,3	19,0	23,2	21,16

^aTodas as % estão em base seca, exceto o teor de Humidade A.E, segundo Caetano et al (2014).

^bBorra de café seca ao ar

^cBorra de café húmida

Sumariamente, analisando os resultados obtidos constata-se que a maioria dos parâmetros não difere substancialmente face aos valores encontrados nas referências bibliográficas.

Sendo o teor de humidade um dos parâmetros mais comuns analisados na biomassa notou-se que o seu teor (16,97%) é notoriamente inferior ao valor de referência, confirmando-se que nem sempre os resultados são idênticos aos descritos na bibliografia. Essas diferenças advêm de possíveis disparidades nos tempos de secagem ao ar da borra de café após recolha.

Relativamente ao teor de cinzas (1,91 e 1,57%), teor de azoto (1,71 e 2,30%), teor de carbono (70,2 e 71,7%) e teor de celulose bruta (14,77 e 18,48%), estes valores situam-se dentro da gama dos valores expectáveis de acordo com os dados encontrados na literatura (Tabela 4.1). No caso da borra extraída estes parâmetros são ligeiramente superiores aos encontrados na borra bruta antes da extração do óleo, fato este possivelmente associado à remoção do óleo da borra de café que resulta num decréscimo da massa da borra.

Já o teor de proteínas (10,7 e 14,4%) é semelhante ao valor relatado por Mussatto et al (2011c) e Ravindranath et al. (1972) para este resíduo de café ($\pm 14\%$) mas um pouco inferior ao valor relatado por Borrelli et al. (2004) - 18,6 %. Estas diferenças podem também ser originadas pelas condições utilizadas para a preparação de café instantâneo e pela variedade de grãos de café utilizada.

Tal como se denota, a lenhina é também uma fração presente em quantidades significativas na borra de café. O seu teor na borra (Li et al., 2006) de café é substancialmente maior que os valores reportados para outros materiais lignocelulósicos, tais como o bagaço da cana-de-açúcar (18,93 %) (Mesa et al., 2011), casca de arroz (17,20 %) (Roberto et al., 2003) , e casca de cevada (15,50 %) (Sun et al., 2002).

Verifica-se ainda que o teor de humidade influi significativamente na quantidade de matéria seca e, conseqüentemente, na produção de energia sob a forma de calor. Quanto menor o teor de humidade na borra maior era o P.C.S, o qual para uma amostra com um teor de humidade de 16,97 % apresentava um PCS igual a 19,5 MJ/kg e com o seu decréscimo para 6,79%, o P.C.S aumentou para 19,9 MJ/kg.

Além disso, é notório que além do aumento do poder calorífico superior após a extração, ocorre simultaneamente o incremento do teor de carbono, teor de azoto e teor de proteínas e contrariamente decresce o teor de cinzas. O mesmo foi observado por Rodrigues (2009) quando estudou a modelagem do poder calorífico superior em função dos componentes elementares e minerais da biomassa vegetal.

O poder calorífico superior obtido (19,5-19,9 MJ/kg) encontra-se dentro da gama de valores encontrados na literatura (19,0-23,2 MJ/kg). Pode-se referir para efeitos comparativos o P.C.S obtido para diferentes biomassas, nomeadamente a casca de grão de arroz (15,96 MJ/kg) vagem de feijão (17,66 MJ/kg), aparas de madeira (17,97 MJ/kg), bagaço da cana-de-açúcar (17,90 MJ/kg) e a palha de milho (19,32 MJ/kg). Assim sendo é bastante notório o potencial da utilização desta biomassa, comparativamente com as restantes, como fonte calorífica para queima e geração de energia.

Por fim, uma vez que estes resíduos são ricos em polissacarídeos, lenhina, proteínas e minerais, é relevante o seu alto valor biotecnológico para ser usado, por exemplo, como substrato ou suporte sólido em processos fermentativos, para a extração e produção de compostos com importantes aplicações nas indústrias alimentar e farmacêutica (Mussatto. et al., 2011a).

4.2. Caracterização do óleo da borra de café

Sendo a caracterização do óleo extraído da borra de café um dos objetivos antecedentes à produção do biodiesel, procura-se agora quantificar e comparar os diferentes parâmetros de acordo com os valores presentes na Norma Europeia EN 14214 e com os resultados obtidos por diferentes autores e disponíveis na literatura.

A importância da sua caracterização reside no fato de determinadas propriedades afetarem o biodiesel com ele produzido. Assim, os dois parâmetros que mais afetam a qualidade e o processo de produção de biodiesel são o teor de ácidos gordo livres e o conteúdo em água. Vários estudos mostraram que o índice de acidez deve ser inferior a 1,0 mg de KOH /g e que todas as matérias-primas devem ser anidras (teor de água <0,3%) (Haas, 2005; Leung et al., 2006). Se as condições acima não forem satisfeitas ainda é possível produzir o biodiesel, contudo o rendimento global da reação é significativamente reduzido devido à desativação do catalisador e à formação de sabões. Por outro lado, a viscosidade e a densidade influem negativamente nas características do combustível podendo inviabilizar a sua utilização.

O estudo da produção de biodiesel através do óleo extraído da borra de café ainda se encontra pouco explorado, pelo que as características do óleo obtido através desta matéria-prima ainda não se encontram regulamentadas, Sendo assim tentou-se efetuar uma aproximação às características pretendidas para o óleo da borra de café segundo a norma europeia EN 14214 e também comparar com resultados de autores que efetuaram publicações de estudos com esta mesma matéria-prima.

Assim sendo, procede-se à caracterização destes parâmetros no óleo, apresentando-se os valores médios dos resultados obtidos para os diferentes ensaios experimentais na Tabela 4.2.

Tabela 4.2 – Resultados da avaliação dos diferentes parâmetros do óleo obtido nos ensaios experimentais.

Parâmetro	Valor experimental	EN 14214	(Haile, 2014)	(Deligiannis et al., 2011)	(Caetano et al., 2012)
Cor	Castanha escura	-	-	-	
Estado físico	Solidifica a T _{ambiente}	-	-	-	
Densidade (g/cm ³)	0,903	0,86– 0,90	0,917	0.9338	0,917
Viscosidade cinemática (mm ² /S)	38,04	3,5– 5,0	42,65	46.965	22,23
Índice de acidez (mg KOH/g amostra)	44,78	0,5 máx.	9,85	0,63	118,4
Índice de iodo (g I ₂ /100g amostra)	62,98	120 máx.	79	82	54,3
Teor em água (%)	0,1458	0,5 máx.	0,03	0,07954	0,2004
P.C.S (MJ/kg)	37,96	.	38,22	39,48	36,40
Ponto de inflamação (°C)	>120	101 min.	-	-	
Massa molecular (g/mol)	904,584	-	-	-	-
Teor em ácidos gordos(%)	82,30	96,5 min.	-	81.28	-

O aspeto do óleo da borra de café é um parâmetro deveras importante. Uma análise preliminar, onde se procura identificar visualmente a presença de impurezas, das quais partículas em suspensão, sedimentos ou turvação na amostra, podem indicar a presença de água. O óleo resultante apresentava uma tonalidade escura, isenta de matérias em suspensão. Pretende-se com isto obter um biodiesel límpido e isento de impurezas.

Comparativamente com a Norma Europeia EN 14214, os resultados de caracterização do óleo demonstram que para o biodiesel ser utilizado em motores a diesel, a sua viscosidade deve situar-se entre 3,5 e 5,0 mm²/s, uma vez que se obteve 38,04 mm²/s, confirma-se que esta é demasiado alta para que o óleo possa ser utilizado em motores de combustão direta.

Além disso pretende-se que a densidade se situe entre 860 e 900 g/m³. Os resultados obtidos mostraram que o óleo apresentava uma densidade ligeiramente superior, o que invalida a sua utilização direta como combustível; uma vez que esta conduz à formação de depósitos no motor dos veículos.

Com relação ao índice de iodo, este apresenta um valor igual a 62,98 gI₂/ 100 g amostra, resultado bastante inferior ao valor que se encontra na norma europeia (120 gI₂/100g amostra). O seu baixo índice sugere que o óleo extraído da borra está saturado, isto é, apresenta uma quantidade baixa de ligações triplas e duplas, ocorrendo mais dificilmente a oxidação do óleo quando em contacto com o ar, e uma menor formação de depósitos (Mittelbach, 1996). O valor encontrado encontra-se dentro da gama dos valores de índice de para os restantes autores - 54,3-82 gI₂/ 100 g amostra.

O óleo extraído também apresenta uma acidez elevada (44,78 mg KOH / g amostra, sendo o máximo admissível no biodiesel de 0,5 mg KOH/g amostra) para ser diretamente convertido

em biodiesel sem qualquer pré-tratamento, o que pode indicar um maior grau de oxidação e suscetibilidade para a ocorrência de reações de hidrólise (Knothe et al., 2005). A fim de contornar este problema, o óleo sofre normalmente uma primeira esterificação, usando ácido sulfúrico como catalisador antes da transesterificação. Sendo portanto transesterificado segundo o método proposto por Abou-Shanab et al. (2011). Alguns dos fatores que podem ter induzido este resultado podem ser a composição e a marca desconhecida das amostras de borra de café recolhidas, o solvente utilizado no processo de extração, o tempo de contato da borra ao ar que resulta na sua oxidação. Estabelecendo um paralelismo com o teor em ácidos gordos do óleo produzido (82,80%), conclui-se que a amostra de óleo possui um elevado teor de ácidos gordos livres em solução. Note-se ainda que somente Deligiannis et al (2011) encontrou um índice de acidez equivalente a 0,63 mg KOH/g amostra, o qual é próximo do pretendido e um teor em ácidos gordos bastante similar (81,28%).

Efetivamente, um combustível contaminado com água pode causar a corrosão do motor ou conduzir ao entupimento dos filtros. Portanto, a norma EN 14214 impõe um teor máximo de 0,5% de água no biodiesel. Neste estudo, o teor de água no óleo foi de 0,15 %, o qual se encontra abaixo dos limites de especificação.

O Poder Calorífico Superior relativamente elevado (37,96 MJ/kg) sugere que este óleo pode ser usado como combustível para a geração de energia. Comparativamente com outras matérias-primas, como o óleo de amendoim (10,00 MJ/kg) (Taiwo et al., 2013) ou o óleo de soja (12,94 MJ/kg) (Enweremadu et al., 2004), o seu P.C.S é substancialmente superior e similar ao do diesel (41,87 MJ/kg) e ao do gás natural (52,33 MJ/kg) (CNGEurope, 2015).

O conteúdo energético e qualidade de combustão do combustível produzido neste estudo é suficiente para produzir o calor necessário para aplicações domésticas e também aplicações industriais, especialmente para fazer face a necessidades energéticas de indústrias de pequena dimensão.

O seu ponto de inflamação elevado (> 120 °C) torna-o adequado para a produção de biodiesel, no que diz respeito à segurança durante o armazenamento e transporte, uma vez que este não é facilmente inflamável.

Finalizando, o biodiesel obtido apresentou um teor de ésteres igual a 82,80 % o que invalida a sua utilização segundo a Norma EN 14214:2009, cujo valor mínimo admissível equivale a 96,5 %. Uma vez que o óleo tem um elevado teor de ácidos gordos livres, demonstrado pelo elevado índice de acidez, encontrando-se muito acima do valor admissível para a produção de biodiesel, justifica-se assim uma baixa formação de ésteres. É evidente que as condições reacionais implementadas, nomeadamente a temperatura, razão molar óleo/álcool, entre outros, afetam o teor de ésteres obtido.

4.3. Ensaio preliminares de produção de biodiesel

Após a caracterização do óleo, procurou-se identificar alguns parâmetros, nomeadamente o álcool e enzima que mais afetam a qualidade e maximizam a produção de biodiesel por catálise enzimática. Adicionalmente, este estudo possibilitou uma eficaz preparação para os ensaios subsequentes de planeamento experimental.

Assim sendo, nesta etapa do trabalho foi realizada a reação de transesterificação com metanol e etanol por catálise enzimática, recorrendo a três enzimas distintas (enzima *Lipozyme TL IM*, *Lipozyme RM IM* e *Lipozyme CALB L*), usando hexano como co-solvente, com um tempo de reação de 48 h e a uma temperatura de 35 °C. Na Tabela 4.3 encontra-se o rendimento da reação, bem como a densidade e viscosidade cinemática para o biodiesel produzido com cada uma das enzimas e álcool utilizado.

Tabela 4.3 – Resultados obtidos no biodiesel produzido no estudo preliminar para escolha da lipase potencialmente mais adequada.

Ensaio	Enzima e Álcool	Rendimento da reação (%)	Densidade (g/cm ³)	Viscosidade cinemática (mm ² /s)
1	100L Etanol	74,69	0,9119	27,21
2	100L Metanol	-	-	-
3	RMIM Etanol	83,46	0,8803	7,90
4	RMIM Metanol	78,80	0,8986	29,92
5	CalB Etanol	80,00	0,9102	27,10
6	CalB Metanol	30,25	0,9155	23,15
7	RMIM+ CalB Etanol	97,26	0,8940	12,99

Tendo-se verificado que a *Lipase RMIM*, tanto com etanol como com metanol, e *CALB L* com etanol originaram rendimentos elevados, efetuou-se uma mistura destas duas enzimas, utilizando o etanol, que deu origem ao ensaio 7.

De acordo com os resultados obtidos é possível concluir que o rendimento mais elevado (97,27%) é obtido misturando na mesma proporção a *Lipase RMIM* e *CALB L*, e utilizando como álcool o etanol.

Porém, observa-se que a viscosidade do biodiesel produzido com a enzima *RMIM* e com etanol é relativamente mais baixa e viscosidades elevadas diminuem a eficiência de atomização na câmara de combustão, ocasionando a deposição de partículas nas partes internas dos motores, reduzindo a sua eficiência. Procurando-se portanto efetuar uma escolha assertiva da enzima a utilizar efetuou-se a determinação do seu teor em ésteres por cromatografia gasosa. Para o biodiesel produzido com a mistura de lipases obteve-se somente um teor em ésteres etílicos de 30,08%, enquanto que para o biodiesel produzido com a *Lipase RMIM* o teor em ésteres foi substancialmente superior e igual a 71,39%.

Dado o elevado índice de acidez, o que corresponde a um elevado teor de ácidos gordos livres, este pode influenciar bastante o teor em ésteres obtidos.

Não obstante, é notório o baixo teor em ésteres obtido com a mistura de enzimas que poderá resultar não só da presença do glicerol (difícil separação, sobretudo quando é usado etanol), que resultante da sua baixa solubilidade no biodiesel pode revestir a enzima imobilizada, afetando a sua atividade catalítica. Outro motivo poderá ser proveniente de alguma falha nas condições reacionais implementadas que levaram à desnaturação da enzima, ou sobretudo, a uma baixa seletividade das enzimas para os ácidos gordos livres presentes no óleo.

Além disso, ao invés das enzimas se terem ligado ao substrato, poderão ter-se ligada uma na outra e como tal a reação foi inibida.

É claro que as enzimas são específicas para determinados substratos, possuindo um centro ativo, onde se liga o substrato, sendo lípases com diferentes características, vão possuir diferentes atividades e conformações, pelo que atuam de modo diferentes nos triglicéridos.

Em suma, de acordo com os resultados obtidos, a lipase escolhida foi a *RM IM*, e o etanol foi o álcool escolhido para esta reação.

Como já foi referido no tópico 3.3, construiu-se um DCC para otimização do processo de transesterificação enzimática, conjugando o efeito de três variáveis independentes: temperatura, concentração de enzima e razão molar óleo: etanol.

Uma vez que a intenção do uso de um DCC era simplificar o estudo de otimização através da realização de cada experimento uma única vez, a repetibilidade do método foi obtida através da realização em triplicado de experiências no ponto central das variáveis selecionadas (Tabela 4.4, Ensaio 9, 10 e 11). O desvio padrão destas repetições foi de 0,193.

Os ensaios para o DCC foram realizados usando óleo extraído da borra de café e a *Lipase Lipozyme TL IM*. O tempo reacional nos vários ensaios foi constante e igual a 24 horas, sendo que a quantidade de óleo usado em cada ensaio foi de aproximadamente 40 g.

Tendo sido já apresentadas no tópico 3.2.2 as condições de operação através do qual o estudo preliminar se encontra alicerçado (Tabela 3.1), apresentam-se agora na Tabela 4.4 os principais resultados obtidos.

No Anexo C, Tabela C. 31 encontram-se os valores das massas de óleo utilizadas, bem como do biodiesel obtido para cada um dos ensaios realizados.

Tabela 4.4 – DCC para otimização do efeito das três variáveis independentes (temperatura, quantidade de enzima e razão molar óleo: etanol).

Ensaio	T	C	R	Rendimento (%)	Rendimento estimado (%)
1	-1	-1	-1	84,29	78,99
2	+1	-1	-1	76,63	75,13
3	-1	+1	-1	85,62	82,49
4	+1	+1	-1	80,12	75,89
5	-1	-1	+1	55,73	50,07
6	+1	-1	+1	45,61	38,85
7	-1	+1	+1	90,31	81,92
8	+1	+1	+1	72,54	67,95
9	0	0	0	96,41	99,98
10	0	0	0	96,85	99,98
11	0	0	0	96,78	99,98
12	-2	0	0	35,76	33,15
13	+2	0	0	20,64	24,24
14	0	-2	0	61,21	65,87
15	0	+2	0	93,25	98,48
16	0	0	-2	76,63	75,13
17	0	0	+2	34,16	41,91

A melhor condição reacional, em termos de resultados experimentais obtidos, foi a que decorreu a uma temperatura de 45 °C, usando uma concentração de enzima de 4,5% e uma razão molar óleo: álcool de 1:5, obtendo-se um rendimento em ésteres estílicos de 96,85%. Todavia, com as condições reacionais de temperatura de 45 °C, usando uma concentração de enzima de 8,5% e uma razão óleo: álcool de 1:5, obteve-se um rendimento em ésteres etílicos de 93,25%, sendo o valor expectável obtido através do modelo otimizado, um rendimento de 98,48%.

Em termos genéricos pode-se afirmar que um aumento da razão molar, mantendo temperatura e concentração de enzima contantes, leva a um decréscimo no rendimento de transesterificação.

Variando apenas a quantidade de enzima, as diferenças nas percentagens de transesterificação são significativas, uma vez que inicialmente para o acréscimo da concentração entre 0,5 % e 4,5 %, mantendo a temperatura em 45 °C e razão molar em 1:5, levam a uma diferença no rendimento de 35,20%.

Procura-se agora através do DCC uma análise muito mais detalhada e profunda de cada parâmetro e suas interações.

A Análise de Variância (ANOVA) foi efetuada através do teste F, recorrendo ao software disponível (JMP 8.0), para verificar a qualidade do ajuste, tendo sido também calculado o Coeficiente de Determinação (R^2).

Pode-se considerar a análise de variância como um teste de hipóteses sobre os efeitos dos tratamentos segundo: H_0 : não existem diferenças entre os efeitos dos tratamentos.

Se H_0 for falsa, existem pelo menos dois efeitos de tratamentos diferentes. Inversamente, se for verdadeira os efeitos dos tratamentos são iguais, ou seja, não há evidências de diferenças significativas entre os tratamentos, ao nível α de significância escolhido ($\alpha=0,05$).

Portanto, para avaliar a qualidade do ajuste do modelo foi efetuado o teste F, Tabela 4.5, na qual constam a somas de quadrados, graus de liberdade, média quadrática e a estatística F e $\text{Prob} > F$, isto é, a probabilidade de se obter um valor, no mínimo, igual ao valor F observado quando a hipótese nula é verdadeira.

Antes de mais refira-se que a Soma Quadrática Residual do modelo presente, conforme os dados apresentados na Tabela 4.5, é obtida somando o erro puro com a falta de ajuste. A Média Quadrática corresponde à razão da Soma Quadrática pelo Grau de Liberdade. O F calculado (F_o) corresponde à razão entre a Média Quadrática da Regressão e a Média Quadrática Residual.

Tabela 4.5 – Análise da Variância (ANOVA).

Efeitos	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	$F_{\text{calculado}} (F_o)$	F tabelado	Prob > F
T	317,641506	1	317,641506			0,05634769
C	1062,92301	1	1062,92301			0,00415214
R	1358,10676	1	1358,10676			0,00215343
T*T	5406,72287	1	5406,72287			3,16574e-5
C*C	383,59937	1	383,59937			0,04043415
R*R	1901,78117	1	1901,78117			0,00082683
T*C	3,7675125	1	3,7675125			0,81074142
T*R	27,1216125	1	27,1216125			0,52599431
C*R	401,719513	1	401,719513			0,03711846
Regressão	9066,9889	9	1007,44	16,5376	3,68	0,0006
Resíduos	426,42876	7	60,92			
Varição Total	9493,4177	16				
Falta de ajuste	426,316966	5	85,2634	1525,284		0,0007
Erro puro	0,1118	2	0,0559			
Erro total	426,42876	7				
R^2	0,955082	-	-			

Então, fazendo uma análise de significância estatística dos resultado da Tabela 4.5 verifica-se que no nível de 95% de confiança o valor de F correspondente a 9 graus de liberdade é 16,5376. Então, o efeito só poderá ser considerado estatisticamente significativo caso o seu valor absoluto seja superior.

Portanto, pelo Teste F observou-se que a análise de regressão foi significativa, dado que F_0 (16,5376) $> F_{\text{Crítico}}$ (3,68), rejeita-se H_0 e pode-se afirmar, com 95% de confiança, que o modelo é significativo. Assim sendo, não há necessidade de um ajuste no modelo.

Vem ainda reforçar que na maioria dos programas computacionais está incluído o valor p (Prob > F). Com este parâmetro estatístico é possível concluir acerca da hipótese nula sem recorrer a uma tabela de valores críticos da distribuição F. Isto é, se o valor-p for inferior ao nível de significância selecionado, $\alpha=0,05$, a hipótese nula é rejeitada.

Verifica-se também que o desenho composto central apresentou um coeficiente de determinação R^2 , uma medida descritiva da qualidade do ajuste obtido, igual a 0,955, revelando uma boa correlação entre os dados experimentais e os valores teóricos previstos pela equação do modelo. É claro que quanto mais próximo este estiver do valor 1, melhor será a representatividade. Isto é, 95,5% da variação na resposta pode ser absorvida pelo ajuste do modelo. Além disso, o rendimento tem uma probabilidade de significância observado (Prob > F) de 0,0006, que é significativo, em comparação com 0,05.

- **Análise dos resíduos**

Os coeficientes de primeira e de segunda ordem são desconhecidos e, portanto, foram estimados a partir dos resultados experimentais, utilizando o princípio estatístico de mínimos quadrados.

Na Tabela 4.6 apresentam-se os coeficientes das variáveis analisadas e seus respectivos efeitos principais e interações.

Tabela 4.6 – Coeficientes das variáveis analisadas e seus efeitos principais e interações.

Fatores	Coeficiente de Regressão	Erro padrão	Prob > t
Interseção	99,97739	$\pm 8,02$	$< 0,0001^*$
Efeitos Lineares			
T	-4,4556	$\pm 3,63$	0,0563
C	8,1506	$\pm 3,63$	0,0042*
R	-9,2131	$\pm 3,63$	0,0022*
Efeitos quadráticos			
T*T	-16,7078	$\pm 3,30$	$< 0,0001^*$
C*C	-4,4503	$\pm 3,30$	0,0404*
R*R	-9,9091	$\pm 3,30$	0,0008*
Interações			
T*C	-0,6863	$\pm 5,14$	0,8107
T*R	-1,8413	$\pm 5,14$	0,5260
C*R	7,0863	$\pm 5,14$	0,0371*

Conforme a Figura 4.1, apresenta-se a curva de Pareto representativa da significância dos resultados com 95 % de confiança (linha contínua azul), correspondente ao valor de $p = 0,05$, confirmando-se os resultados obtidos na Tabela 4.6.

As alturas das barras fornecem os resultados dos efeitos das variáveis e estão dispostas de modo decrescente.

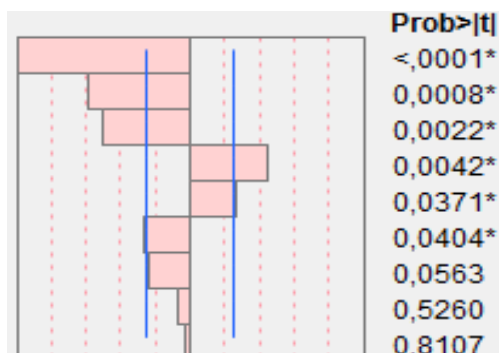


Figura 4.1 – Curva de Pareto representativa dos resultados.

Neste exemplo, os valores de Prob> t, tanto para a razão molar como para a concentração de enzima são ambos inferiores ao nível de significância de 0,05, isto indica que estes dois efeitos contribuem significativamente para prever o rendimento da reação.

O termo com maior relevância correspondeu à razão molar, seguido da concentração de enzima e por último não significativo para o modelo a temperatura. Em termos de interação entre dois fatores, somente o binómio concentração/razão molar foi o que se mostrou mais relevante, tendo-se notado um forte efeito quadrático da temperatura, razão molar e concentração de enzima, respetivamente.

Acrescenta-se ainda que a estimativa dos efeitos lineares e quadráticos (Tabela 4.6) indica o quanto é relevante o efeito para ter significado estatisticamente. As variáveis com sinal positivo significam que o aumento dos seus níveis proporciona um maior rendimento da reação, e sinais negativos o inverso. Isto significa então que o aumento da temperatura e razão molar, ambos de sinal negativo, afetam negativamente o rendimento da reação, e contrariamente, a concentração de enzima afeta positivamente o rendimento. Na Figura 4.3 apresenta-se a representação dos efeitos de interação entre variáveis.

Este gráfico de interação confirma a importância da interação CR (% de catalisador e razão molar óleo:álcool), tal como afirmado anteriormente. A interação ocorre quando um fator não produz o mesmo efeito sob a resposta a diferentes níveis de um outro fator. Por isso, se as linhas de dois fatores são paralelas não há nenhuma interação. Pelo contrário, quando as linhas não são paralelas existe interação.

Em todo o caso, o rendimento de resposta aumenta quando a linha se move a partir do nível baixo para o mais elevado.

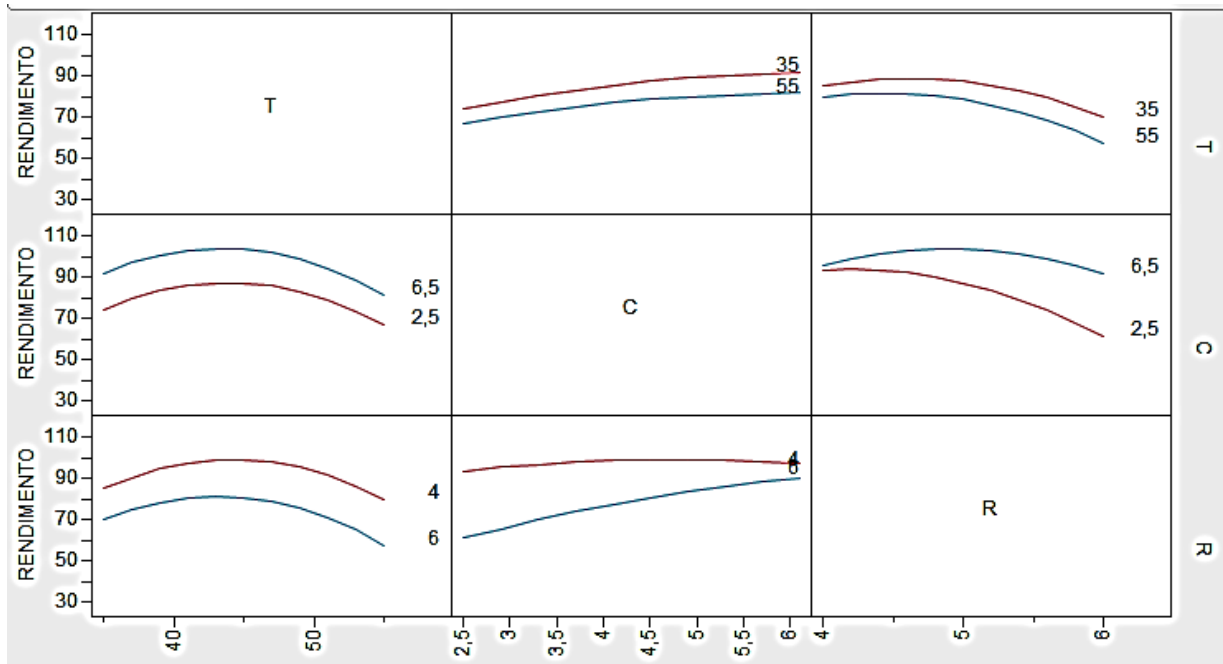


Figura 4.2 – Representação dos efeitos de interação.

Para que os resultados da ANOVA sejam válidos assume-se que os erros são variáveis aleatórias independentes e com distribuição normal de média igual a zero e variância (σ^2) e, ainda, que a variância é constante para todos os tratamentos.

Uma vez que toda a inferência estatística no modelo de regressão linear se baseia nesses pressupostos, a sua verificação é fundamental. A análise dos resíduos possibilita a verificação de possíveis violações aos pressupostos básicos Figura 4.3.

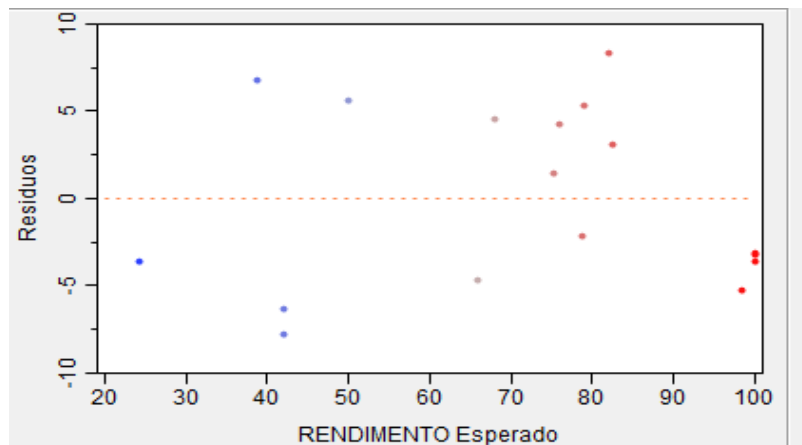


Figura 4.3 - Representação dos resíduos em função do Rendimento esperado.

Quando os resíduos não se comportam de forma aleatória, isto é, seguem um padrão em torno da reta que se associa ao resíduo nulo, a condição de independência não é satisfeita. Dessa forma não será de esperar que os erros sejam independentes, apresentem média nula nem variância constante.

Uma vez que os resíduos estão distribuídos aleatoriamente em torno da reta, com dispersão constante, é de crer que não são observáveis violações aos pressupostos.

Na Figura 4.4 apresenta-se a distribuição dos resíduos, onde se apresentam valores previstos pelo modelo em função dos valores observados experimentalmente para o rendimento da reação.

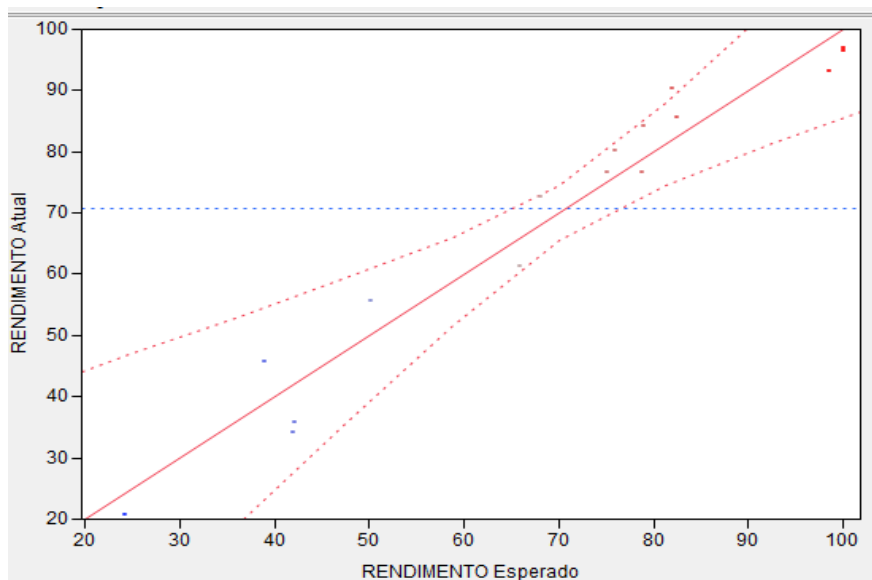


Figura 4.4 – Distribuição dos resíduos previstos pelo modelo.

Observa-se que os pontos do gráfico estão próximos da reta vermelha de declive 1 que passa na origem, o qual evidencia que a distribuição dos erros é normal, não havendo um comportamento tendencioso.

Com base nos coeficientes polinomiais, o modelo, segundo uma regressão múltipla linear, pode ser descrito da seguinte forma, Equação 4.1:

$$\text{Rendimento (\%)} = 99,9774 - 4,4557 \times T + 8,150625 \times C - 9,213125 \times R - 0,686250 \times T \times C - 1,84125 \times R \times T + 7,08625 \times C \times R - 16,707826 \times T \times T - 4,4503 \times C \times C - 9,90908 \times R \times R \quad (\text{Equação 4.1})$$

Considerando somente os termos lineares, quadráticos e de interação significativos ao nível de 5 %, o modelo somente com os termos significativos pode ser descrito da seguinte forma, (Equação 4.2):

$$\text{Rendimento (\%)} = 99,9774 + 8,150625 \times C - 9,213125 \times R + 7,08625 \times C \times R - 16,707826 \times T \times T - 4,4503 \times C \times C - 9,90908 \times R \times R \quad (\text{Equação 4.2})$$

- **Metodologia da superfície de resposta**

Com os modelos validados, para compreender as relações entre os fatores e a resposta, utiliza-se a Metodologia de Superfície de resposta que permite visualizar o comportamento de cada variável independente na resposta. Através das superfícies de resposta geradas pelo

modelo reduzido é possível observar as condições de reação que resultam numa maior conversão.

Seguidamente, apresentam-se três tabelas (Tabela 4.7, Tabela 4.8 e Tabela 4.9) com as respetivas representações gráficas (Figura 4.5, Figura 4.6 e Figura 4.7), na qual se averigua o efeito conjugado dos vários fatores, relativamente ao rendimento da reação (valores teóricos expectáveis).

Tabela 4.7 – Percentagem de transesterificação teórica, face ao efeito conjugado da temperatura e razão molar, assumindo uma quantidade fixa de 4,5% para a concentração de catalisador.

Temperatura (°C)	Razão molar				
	3	4	5	6	7
25	11,94	32,45	33,15	14,02	0
35	62,06	82,57	83,27	64,15	25,21
45	78,77	99,28	99,98	80,86	41,91
55	62,06	82,57	83,27	64,15	25,21
65	11,94	32,45	33,15	14,02	0

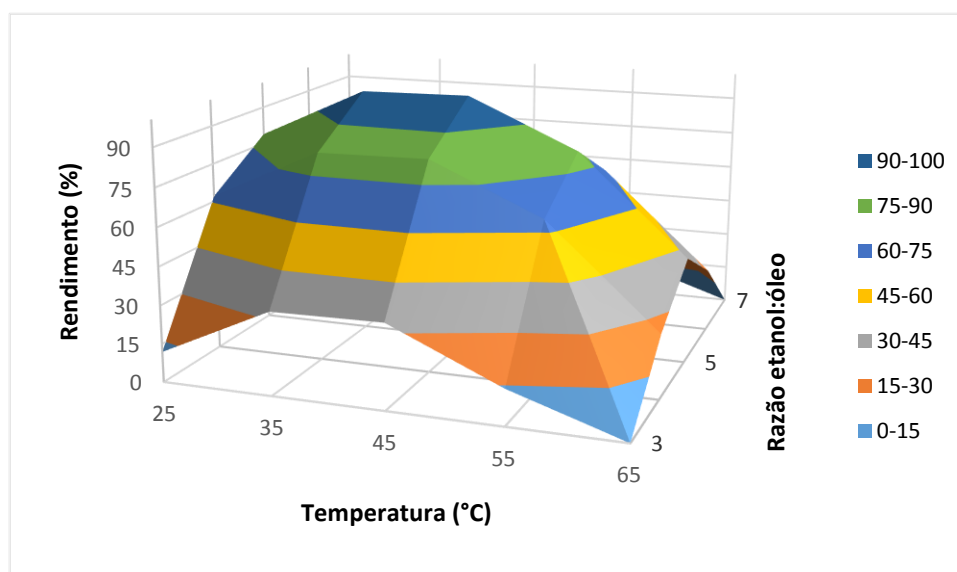


Figura 4.5 – Representação gráfica da superfície de resposta dos resultados da Tabela 4.7.

Na Tabela 4.7, os dois valores que se encontram a vermelho (0 %) correspondem a valores percentuais de rendimento abaixo de zero pelo que se colocou o valor mínimo teórico admissível. A Figura 4.5 expõe a superfície de resposta dos resultados expressos na Tabela 4.7.

Através da análise da Figura 4.5 e Tabela 4.7, correspondentes ao efeito conjugado da temperatura e da razão molar etanol: óleo no rendimento da reação nota-se um aumento do rendimento à medida que a temperatura aumenta até aos 45 °C, independentemente da quantidade de etanol presente. Para temperaturas superiores o rendimento decai, sendo

evidente que a taxa de transesterificação a temperaturas elevadas diminui resultante nomeadamente da evaporação do álcool e da desnaturação da enzima.

Independentemente da temperatura, à medida que a razão molar álcool:óleo aumenta no sistema, a percentagem de ésteres formados aumenta até uma razão molar etanol: óleo de 5:1, a partir do qual decresce o que deverá estar associado ao efeito da inibição da lipase pelo álcool.

Menores proporções molares requerem um tempo mais longo para completar a reação. Para proporções molares superiores a produção é aumentada, mas a recuperação é diminuída devido à difícil separação do glicerol. À proporção molar óleo:álcool 1:5 ocorre uma relação molar ótima que contribui para um rendimento mais elevado e uma mais fácil separação do glicerol.

Na Tabela 4.8, os dois valores que se encontram a azul (100 %) correspondem a valores percentuais de rendimento acima de cem, pelo que se utilizou o valor máximo teórico admissível. A Figura 4.6 expõe a superfície de resposta dos resultados expressos na Tabela 4.8.

Tabela 4.8 – Percentagem de transesterificação teórica, face ao efeito conjugado da concentração de enzima e razão molar, assumindo uma Temperatura fixa de 45°C.

Concentração de enzima (%)	Razão molar				
	3	4	5	6	7
0,5	73,01	79,35	65,88	32,58	0
2,5	80,34	93,77	87,38	61,17	15,14
4,5	78,77	99,28	99,97	80,86	41,91
6,5	68,29	95,90	100	91,64	59,79
8,5	48,92	83,61	98,48	93,53	68,76

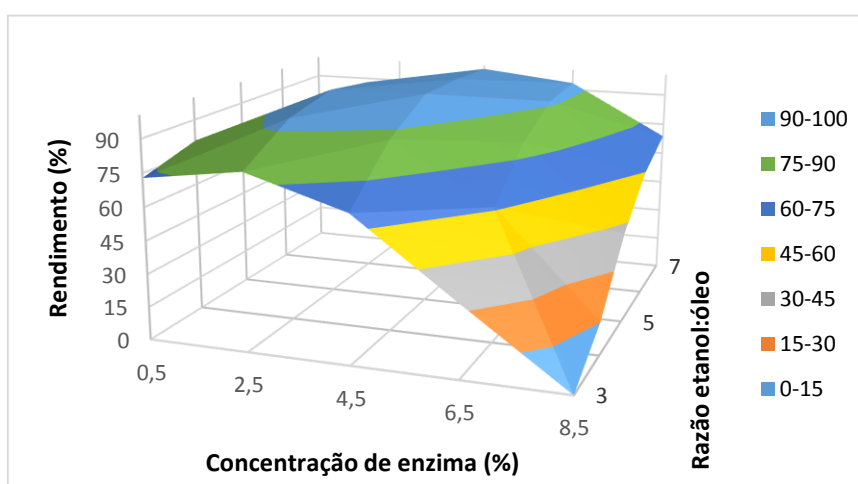


Figura 4.6 – Representação gráfica da superfície de resposta dos resultados da Tabela 4.8.

Nas reações catalisadas pela lipase, que envolvem um equilíbrio químico, o aumento da quantidade de álcool ajuda a deslocar a reação no sentido dos produtos. Porém, a partir de

determinada concentração, o que se observa é que o aumento do teor de álcool pode inibir a ação enzimática.

Regista-se, assim, um aumento do rendimento, até uma razão molar etanol: óleo de 5:1 para concentrações mínimas de enzima adicionada de 4,5%, efeito que é invertido, associado à inibição da lipase pela presença de elevadas concentrações de etanol.

Durante a etanolise, a baixa solubilidade do etanol no óleo requer a constante agitação do meio reacional. Os reagentes inicialmente representados por um sistema binário, com a adição da enzima imobilizada assumem um sistema ternário. Em concentrações elevadas de lipase (aprox. 6,5%), a ausência de um sistema com homogeneização adequada reduz a transferência de massa necessária à reação, o que pode justificar o menor rendimento em ésteres etílicos.

As melhores condições de rendimento verificam-se até uma razão molar de 5:1 e concentração de catalisador 4,5%.

A Figura 4.7 expõe a superfície de resposta dos resultados expressos na Tabela 4.9.

Tabela 4.9 – Percentagem de transesterificação teórica, face ao efeito conjugado da concentração de enzima e Temperatura, assumindo uma razão molar fixa de 5:1.

Temperatura (°C)	Concentração de enzima (%)				
	0,5	2,5	4,5	6,5	8,5
25	0	20,55	33,15	36,86	31,65
35	49,17	70,67	83,27	86,97	81,77
45	65,88	87,38	99,98	100	100
55	49,17	70,67	83,27	86,97	81,77
65	0	20,55	33,15	36,85	31,65

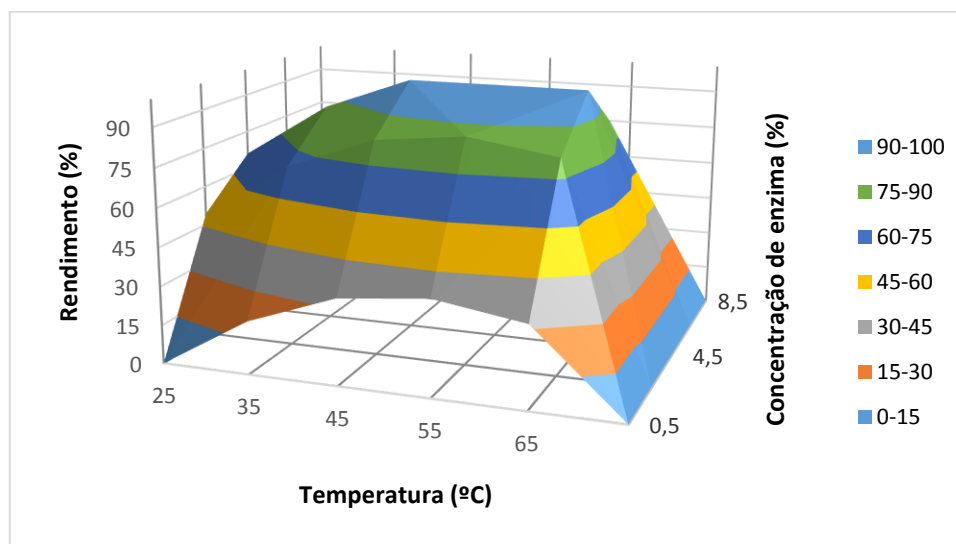


Figura 4.7 – Representação gráfica da superfície de resposta dos resultados da

Da sua análise verifica-se que um aumento da temperatura é positivo na transesterificação, até um valor de 45 °C, a partir do qual o rendimento decai, devido, provavelmente, à desativação da lipase por efeito da temperatura.

Verifica-se, identicamente que, qualquer que seja o valor a temperatura ocorre um aumento do rendimento até a uma concentração de catalisador de 6,5%, após a qual decresce.

A elevação da temperatura leva ao aumento de velocidade de reação, resultante do incremento do choque efetivo entre as moléculas constituintes do sistema. Esse efeito é observável no intervalo de temperatura compatível com a manutenção da estrutura espacial da enzima, neste caso, até aos 45 °C. Temperaturas mais altas levam à desnaturação da enzima, ou seja, dada a ocorrência da quebra das ligações de hidrogênio, bastante termolábeis, desencadeia-se uma série de alterações estruturais, levando a que a enzima adquira uma nova conformação ou uma estrutura indefinida (Wagner, 1976).

Resumidamente as melhores condições situam-se a uma razão molar etanol: óleo de 5:1, concentração de enzima 4,5% (m/m) e uma temperatura de 45 °C.

As Figura 4.8, Figura 4.9 e Figura 4.10 ilustram os gráficos de contorno, auxiliares na localização de um possível ponto ótimo (curvas de nível) para o rendimento da reação, obtidos através do programa JMP 8.0.

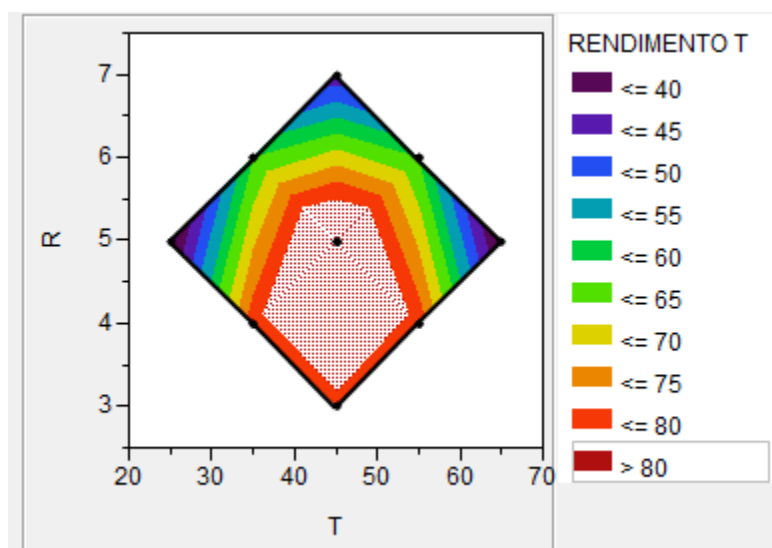


Figura 4.8 – Gráfico de contorno, variando a razão molar álcool:óleo e a temperatura.

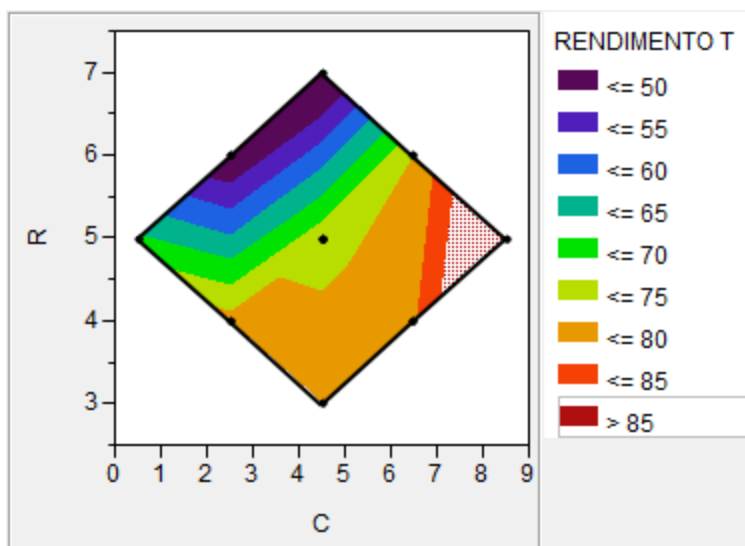


Figura 4.9 – Gráfico de contorno, variando a concentração de enzima e a razão molar álcool: óleo.

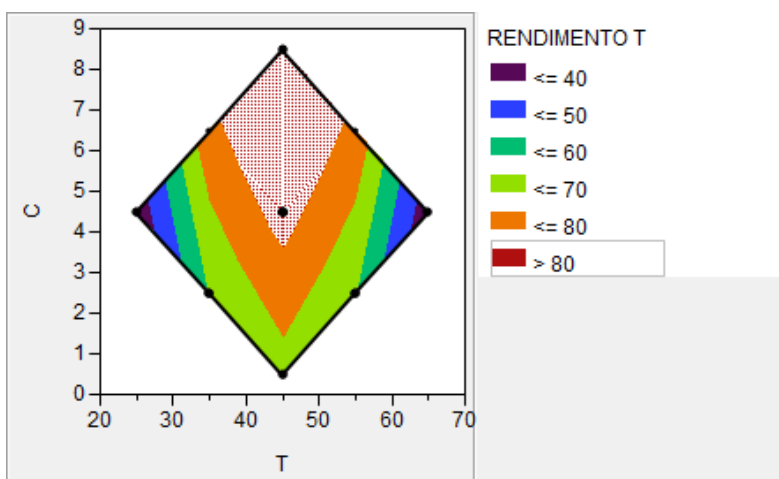


Figura 4.10 – Gráfico de contorno, variando a concentração de enzima e a temperatura.

Através do gráfico de contorno da Figura 4.8, os pontos máximos, correspondentes à maximização do rendimento da reação encontram-se na zona inferior do gráfico. É notório que para temperaturas entre os 35 °C e os 55 °C, bem como razões molares entre $\pm 3,5$ e os 5,5 o rendimento da reação é superior a 80%. Neste caso, os rendimentos mais baixos encontram-se nos extremos direito, esquerdo e canto superior. Isto comprova evidentemente os resultados obtidos na Tabela 4.7.

Contrariamente, no gráfico de contorno da Figura 4.9, e comparativamente com a Tabela 4.8, o rendimento máximo, superior ou igual a 85% encontra-se no extremo direito, para concentrações de enzima superiores a $\pm 7\%$. Além disso, é no canto superior que se encontram os rendimentos mínimos, isto é, para razões molares elevadas o rendimento da reação decresce, uma vez que o elevado teor de etanol leva à inativação da lipase.

Finalizando, no gráfico de contorno da Figura 4.10, é evidente que, para temperaturas entre 35 e 45 °C e concentrações entre ± 4 % e 8,5 % os rendimentos da reação são superiores a 80 %, o que comprova os resultados obtidos na Tabela 4.9.

Nos extremos da temperatura observam-se rendimentos bastante baixos e inferiores a 40 %, associados possivelmente à desnaturação da enzima.

4.4. Ensaio com adição de água ao álcool

Considerando as condições otimizadas, isto é, uma concentração de enzima igual a 4,5%, temperatura de 45 °C e uma razão molar etanol: óleo de 5:1, efetuou-se o estudo do efeito da adição de água ao etanol, isto é, da variação da concentração do etanol pela adição de água. Na Tabela 4.10 encontram-se os principais resultados obtidos quando se variou o teor de água no etanol, nomeadamente o rendimento da reação, densidade, viscosidade cinemática e teor em ésteres etílicos.

Tabela 4.10 – Resultados experimentais obtidos para o rendimento da reação, densidade e viscosidade cinemática, variando o teor de água no etanol.

Ensaio	% álcool	Rendimento da reação (%)	Densidade (g/cm ³)	Viscosidade cinemática (mm ² /s)	Teor em ésteres etílicos (%)
1	75	84,33	0,9012	20,27	77,16
2	85	91,9	0,9020	24,73	89,87
3	92	97,24	0,9001	20,38	92,15
Otimizado	99,8	96,58	0,8909	10,59	87,64

Para quantidades elevadas de água, observa-se um decréscimo no rendimento da reação e no teor em ésteres, indicando que ocorre a reação de hidrólise, prejudicando o desvio do equilíbrio para o sentido contrário à reação para formação dos produtos, isto é, os ésteres. Até 92% de álcool decorreu um aumento do rendimento da transesterificação, pelo que teores superiores de água adicionada induzem uma redução do teor em ésteres no sistema que passou dos 92,15% para os 89,87% e 77,16%, respetivamente segundo um teor em etanol de 85 % e 75 %.

A ausência de água origina a perda da atividade catalítica da lipase, provavelmente devido ao fato do álcool originar a remoção da camada de hidratação da enzima. Este efeito pode estar associado à competição entre a água e o álcool para a reação, pois a lipase pode ocasionar tanto reações de hidrólise como de transesterificação.

Deve ser referido que estes três últimos ensaios foram realizados utilizando enzima reutilizada, uma vez que não havia mais enzima disponível para finalizar o estudo, pelo que, os resultados obtidos, neste caso, em termos de rendimento de transesterificação e teor em ésteres podem ter sido afetados. Aquando da sua recuperação, o granulado transformou-se praticamente num pó, ponderou-se portanto a hipótese de que a lipase pode ter perdido capacidade catalítica.

4.5. Custos associados à produção de biodiesel

Considerando as várias caracterizações efetuadas à escala laboratorial e com o intuito de averiguar a viabilidade da possibilidade da produção à escala industrial efetuou-se a estimativa dos custos da produção de biodiesel, incidindo nos custos energéticos e nos custos dos reagentes. O custo dos reagentes foram maioritariamente obtidos através do site da empresa SIGMA-ALDRICH, salvo exceções pontuais em que os valores foram fornecidos pelo CIETI (Centro de Inovação em Engenharia e Tecnologia Industrial), José Manuel Gomes dos Santos, Continente e pelo site da empresa Zaubas (Zaubas, 2013) e da SKPRO (SkPRO, 2015). É de referir que esta estimativa é considerada grosseira, uma vez que foi efetuada a produção de biodiesel em escala bastante diminuta pelo que os custos aqui apresentados devem ser considerados sobrevalorizados. Produções superiores proporcionariam então uma minimização de custos. No Anexo C.4 apresentam-se os consumos elétricos e de reagentes pormenorizadamente. Os exemplos de cálculo encontram-se no Anexo D.5.

Na Tabela 4.11 apresentam-se os custos totais do consumo energético associados à caracterização da borra de café, óleo e biodiesel, respetivamente.

Tabela 4.11 – Custos energéticos resultantes da caracterização da borra de café, óleo e caracterização e produção de biodiesel.

	Consumo (kW.h)	Custo/ensaio (€)	Custo total (€)
Caracterização da borra de café	16,533	2,247	13,480
Caracterização do óleo	1,208	0,164	0,596
Caracterização e Produção do Biodiesel	70,667	9,602	111,940
Total	88,408	12,013	126,016

Relativamente aos consumos energéticos, o consumo do equipamento é bastante inferior comparativamente com o consumo de reagentes. Existe um consumo energético total por ensaio de 88,408 kWh. Porém existem algumas parcelas que se diferenciam bastante. Estas provêm do consumo do extrator soxhlet referente à extração do óleo da borra de café, do bloco de aquecimento e agitador magnético multiposições, estes dois últimos ambos utilizados na produção de biodiesel, mais precisamente na reação de transesterificação.

É verdade afirmar que sendo o rendimento da extração entre 3,042 e 10,14 % de óleo face à borra de café é evidente que para se obter a massa de óleo necessária à realização dos ensaios laboratoriais foram efetuadas inúmeras extrações consecutivas que resultaram num custo de 5,987 €. Este custo contabiliza essencialmente o elevado consumo energético, devido sobretudo à necessidade de paragem e arranque frequentes, com as consequentes perdas energéticas associadas.

Quanto à produção do biodiesel, uma vez que as reações de transesterificação por catálise enzimática são demoradas, os períodos de tempo de operação elevados, é razoável esperar que vão acarretar custos energéticos crescentes, que no total corresponderam a 111,940 €. O custo total não tem em conta o custo de mão-de-obra, atendendo a um preço médio atual de energia eléctrica (0,13 €/kWh).

Além disso pode dizer-se que a caracterização do biodiesel que acarreta mais custos energéticos é a determinação do teor em ésteres, cerca de 2,472 €, seguido da determinação do viscosidade cinemática, cerca de 2,312 €, uma vez que é um dos parâmetros de maior importância que invalidam a utilização do combustível. O custo mais elevado associado à produção de biodiesel resulta do do consumo do agitador magnético multiposições (72,077 €) e do bloco de aquecimento (34,930 €). Finalizando observou-se que o custo energético de cada ensaio foi de 12,013 €, sendo o custo total de 126,016 €.

Os valores considerados para estimar o custo por litro do biodiesel são cautelosos, assumindo preços elevados de reagentes. Os respetivos valores de custo por ensaio e custo total são apresentados na Tabela 4.12.

Tabela 4.12 – Custo dos reagentes usados na caracterização da borra de café, óleo e caracterização e produção de biodiesel.

	Custo/ensaio (€)	Custo total (€)
Caracterização da borra	9,572	57,625
Extração do óleo da borra de café	-	42,0
Caracterização do óleo	3,134	17,970
Caracterização e Produção de biodiesel	variável	38,567
Total	-	156,162

Analisando a Tabela 4.12 é possível concluir que o custo mais avultado de reagentes centra-se na caracterização da borra de café, onde o teor em celulose bruta foi o que apresentou um custo de reagentes mais elevado de 35,115 €. Segue-se o custo da extração do óleo que requereu quantidades muito elevadas de hexano comercial, que totalizaram aproximadamente os 20 L, resultando portanto num total de 42,0 € (apesar de se ter recuperado o hexano após a extração da borra, podendo este ser reutilizado, uma parte era

perdido na própria borra e uma outra parte era perdida por evaporação no processo de extração).

Com um custo ligeiramente inferior é a caracterização e produção de biodiesel (38,567 €), uma vez que foram realizados um total de 27 ensaios que evidentemente requerem um consumo elevado enzimas, etanol, glicerina e dos restantes reagentes. Além disso foram efetuados um conjunto de 24 caracterizações (considerando já as replicas), cujo custo do reagente metilheptadecanoato é bastante elevado, tendo-se gasto 20,664 € neste reagente. Por fim a caracterização do óleo (17,970 €), onde a determinação do índice de iodo com um custo de 7,768 € foi o parâmetro cuja avaliação foi mais dispendiosa.

Em suma, os custos totais da produção de biodiesel foram de 282,18 €, e sabendo que se produziu um total de 767,4 g de biodiesel, é claro afirmar que estes custos são bastante avultados, contudo é necessário ter em consideração que para quantidades industriais de biodiesel produzido os custos serão bastantes inferiores. Finalizando é importante referir que na contabilização dos custos associados à determinação do teor em ésteres não se entrou em linha de conta com as amortizações de equipamento, entre outros, pelo que o seu custo seria bastante superior se comparado com uma análise real.

5. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

Este trabalho visou a valorização da borra de café e subsequente otimização do processo de produção de biodiesel via transesterificação enzimática.

Como se sabe, dada a agravada e contínua dependência de países terceiros para abastecimento energético a partir de combustíveis fósseis e o seu crescente ritmo de consumo, Portugal procura aproveitar as potencialidades naturais através de fontes de energia renováveis, que não ponham em causa o desenvolvimento económico e social. Os biocombustíveis emergem como a solução para responder às solicitações energéticas atuais.

De entre uma vasto leque de biocombustíveis é de salientar o biodiesel. Este é um combustível renovável, produzido a partir dos triglicéridos, presentes na natureza sob a forma de óleos vegetais ou gorduras animais.

O biodiesel é normalmente produzido através da reação de transesterificação alcalina. Sendo ainda notória a inexploração da transesterificação usando como matéria-prima a borra de café, é aqui que se abrem um leque de possibilidades de investigação.

Inicialmente neste trabalho foi efetuada a caracterização da matéria-prima (borra de café), tendo-se verificado que a maioria dos parâmetros não divergiu significativamente quando comparado com os valores encontrados nas referências bibliográficas. Antes e depois de extração do óleo da borra de café obtiveram-se os seguintes resultados para os vários parâmetros: o teor de humidade (16,97% e 6,79%), teor de cinzas (1,91 e 1,57%), teor de azoto (1,71 e 2,30%), teor de proteínas (10,7 e 14,4%), teor de carbono (70,2 e 71,7%), teor de celulose bruta (14,77 e 18,48%), teor de lenhina (31,03% e 30,97%) e poder calorífico superior (19,5 MJ/kg e 19,9 MJ/kg).

Além disso foi possível verificar o potencial da utilização desta biomassa como fonte calorífica para a queima e geração de energia.

A extração do óleo da borra de café foi feita numa unidade piloto, do tipo Soxhlet, usando hexano comercial e fazendo 4 contactos antes da substituição da borra. Utilizou-se cerca de 10 L de hexano / 1,95 kg de borra seca ao ar, tendo sido feita a extração de duas cargas de borra, antes da recuperação do solvente para reutilização e do óleo para posterior processamento. No total recuperaram-se cerca de 1486,2 g de óleo de café, com cor castanho escuro e aspecto espesso, a partir de 23,36 kg de borra.

Posteriormente, sendo a caracterização do óleo extraído da borra de café um dos objetivos prévios à produção do biodiesel, uma vez que determinadas propriedades afetam a qualidade do biodiesel efetivamente produzido, procurou-se quantificar e comparar os diferentes parâmetros de acordo com os valores presentes na Norma Europeia EN 14214.

Comparativamente com a Norma Europeia EN 14214, os resultados de caracterização do óleo demonstram que o óleo produzido apresentava o índice de acidez elevado (44,8 mg KOH/g óleo), bem como a sua viscosidade cinemática (38,04 mm²/s).

Seguidamente deu-se início aos ensaios preliminares de produção de biodiesel, onde foram testadas três enzimas da Novozymes, a *Lipozyme TL 100L*, *Lipozyme RM IM* e *Lipozyme CALB L*, bem como o álcool mais adequado à reação, entre o metanol e etanol. Consequente destes ensaios verificou-se que, utilizando o etanol como álcool, embora tenha sido na mistura de enzimas (*Lipozyme CALB L com RM IM*), que se tenha observado um rendimento de reação superior (97,3%), o teor em ésteres etílicos obtido com a *Lipozyme RM IM* foi bastante superior (71,4%, e 30,1% para mistura das duas enzimas), acrescendo a sua inferior viscosidade cinemática (7,90 mm²/s) e densidade (0,8803 g/cm³). Assim sendo, decidiu-se utilizar a *Lipozyme RM IM* e o etanol para os ensaios seguintes de otimização.

Sendo um dos objetivos a otimização do processo de produção de biodiesel, foi elaborado um desenho composto central (DCC) para estudar o efeito de três variáveis, a razão molar etanol: óleo, concentração de enzima e temperatura, recorrendo ao Software JMP 8.0. Determinou-se como melhores condições, uma razão molar etanol: óleo 5:1, adição de 4,5% (m/m) de enzima e uma temperatura de 45 °C. Estas condições conduziram a um rendimento experimental equivalente a 96,7 %, teor de ésteres etílicos de 87,6% e rendimento teórico de 99,98%.

Verifica-se também que o DCC apresentou um coeficiente de determinação R² igual a 0,955, revelando uma boa correlação entre os dados experimentais (C, Concentração de catalisador; R, Razão molar óleo: álcool; T, Temperatura de reação) e os valores teóricos previstos pela equação do modelo, Equação 5.1:

$$\text{Rendimento (\%)} = 99,9774 + 8,150625 \times C - 9,213125 \times R + 7,08625 \times C \times R - 16,707826 \times T \times T - 4,4503 \times C \times C - 9,90908 \times R \times R \quad (\text{Equação 5.1}).$$

Da sua análise verificou-se também que o termo com maior relevância correspondeu à razão molar álcool:óleo (R), seguido da concentração de enzima (C) e por último, não significativo para o modelo, a temperatura (T).

Em termos genéricos, os resultados demonstraram que com o aumento da temperatura até aos 45 °C, aumenta o rendimento independentemente do teor de etanol presente. Para temperaturas superiores o rendimento decaiu, associado possivelmente à evaporação do álcool.

Independentemente da temperatura, à medida que a razão molar etanol: álcool aumenta no sistema, a percentagem de ésteres formados aumenta até uma razão molar etanol: óleo de 5:1, o que deverá estar associado ao efeito de inibição da lipase pelo álcool.

Todavia, para concentrações elevadas de catalisador, superiores a 6,5%, observou-se decréscimo do rendimento, porventura proveniente da ausência de uma adequada homogeneização que conseqüentemente reduz a transferência de massa necessária à reação.

Considerando as condições otimizadas, efetuou-se ainda o estudo do efeito da adição de água ao etanol, isto é, o efeito da variação da concentração do etanol pela adição de água, para teores de etanol de 92%, 85% e 75%.

Concluiu-se que a melhor condição de reação foi obtida com um teor em etanol de 92%, para o qual se obteve um rendimento de reação e teor em ésteres estílicos, respectivamente, 97,2% e 92,2%. Este efeito pode estar alocado à competição entre a água e o álcool para a reação, uma vez que a lipase pode levar a cabo tanto reações de síntese como de hidrólise, ou seja, pode ter ocorrido o desvio do equilíbrio para o sentido contrário à formação dos ésteres.

Quanto aos custos resultantes da realização desta dissertação, os quais foram divididos em duas parcelas, custos energético e de reagentes. Conclui-se que o custo energético médio de cada ensaio foi de 12,013 €, sendo o custo total de 126,02 €, enquanto que o custo dos reagentes ligeiramente superior e totalizou os 156,16 €.

Uma vez que *tempo* constituiu o fator limitante, para enriquecer os estudos aqui efetuados, para trabalhos futuros sugere-se:

1. Seria interessante a utilização de outros solventes na extração do óleo da borra de café e comparar, uma vez que nos ensaios se utilizou somente o hexano;
2. A realização de estudos mais detalhados incidentes no tempo de reação, para diferentes intervalos, a fim de se identificar com maior precisão o ponto de equilíbrio da reação de transesterificação;
3. Considera-se que seria também relevante estudar o número de vezes que é possível reutilizar as enzimas imobilizadas em ensaios sucessivos, sem perda de eficiência, a fim de promover poupanças substanciais ao invés da compra das enzimas;
4. Tendo sido utilizado como álcool o etanol, e uma vez que são vários os estudos que apontam para que a adição do álcool faseada apresenta vantagens competitivas, mantém a lipase estável por um período de tempo superior), seria interessante efetuar esse estudo comparando com o estudo aqui efetuado;
5. Efetuar a caracterização do óleo e do biodiesel de acordo com todos os parâmetros presentes na Norma EN 14214, uma vez que isto não foi efetuado por escassez de tempo;
6. Tendo sido somente utilizado três tipos de lípases, uma vez que eram as que existiam disponíveis pra efetuar os ensaios, seria útil a realização de ensaios subsequentes

recorrendo a outras enzimas e a outros óleos como termos comparativos. É claro que poderão existir outras enzimas de maior eficácia;

7. Poder-se-ia também estudar a utilização de outros co-solventes e comparar com o aqui utilizado, o hexano, procurando-se sempre minimizar os custos resultantes do processo de produção de biodiesel e também os riscos humanos e ambientais associados à manipulação dos solventes.
8. Uma vez que somente se abordou a temática da transesterificação enzimática, seria interessante efetuar alguns estudos através da transesterificação ácida e básica para valorizar e acrescentar as informações acerca do processo de produção de biodiesel através desta matéria-prima e sua viabilidade.

Face a tudo o que foi exposto pode-se sintetizar e concluir que existe um grande potencial na produção de biodiesel a partir da borra de café, sendo necessários ainda mais estudos e investigações para aprimorar este processo.

BIBLIOGRAFIA

- ABIC. (2009). Processo Produtivo. Retrieved May 7, 2015, from <http://www.abic.com.br/publique/cgi/cgilua.exe/sys/start.htm?sid=207>.
- Abou-Shanab, R.A.I., Hwang, J. H., Cho, Y., Min, B., & Jeon, B. H. (2011). Characterization of microalgal species isolated from fresh water bodies as a potential source for biodiesel production. *Applied Energy*, 88(10), 3300–3306.
- Adamczak, M., Bornscheuer, U. T., & Bednarski, W. (2009). The application of biotechnological methods for the synthesis of biodiesel. *European Journal of Lipid Science and Technology*, 111(8), 800–813.
- AICC. (2011). Origens e História • AICC. Retrieved September 8, 2015, from http://www.aicc.pt/origem_historia.html
- Alexandre, P., Verga, G., Engenheiro, O., Basto, A., & Fuels, S. (2007). Procedimentos laboratoriais para o controlo da qualidade do Biodiesel Engenharia Química.
- Al-Hamamre, Z., Foerster, S., Hartmann, F., Kröger, M., & Kaltschmitt, M. (2012). Oil extracted from spent coffee grounds as a renewable source for fatty acid methyl ester manufacturing. *Fuel*, 96, 70–76.
- Alves, F. (2009). Naturlink - Informação Ambiental, S.A. Retrieved from <http://naturlink.sapo.pt/>
- Alves, R. C. (2010, June 1). Café Expresso: Melhoria da Qualidade Química e Sensorial Visando a Saúde do Consumidor. FFUP. Retrieved from <http://repositorio-aberto.up.pt/handle/10216/23390>
- Al-Zuhair, S. (2007). Production of biodiesel: possibilities and challenges. *Biofuels, Bioproducts and Biorefining*, 1(1), 57–66.
- Antczak, M.S., Kubiak, A., Antczak, T., & Bielecki, S. (2009). Enzymatic biodiesel synthesis – Key factors affecting efficiency of the process. *Renewable Energy*, 34(5), 1185–1194.
- APA. (2013). *Relatório do Estado do Ambiente 2013*. Portugal.
- APA. (2014). Agência Portuguesa do Ambiente. Retrieved from <http://www.apambiente.pt/>
- Bajaj, A., Lohan, P., Jha, P. N., & Mehrotra, R. (2010). Biodiesel production through lipase catalyzed transesterification: An overview. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 62(1), 9–14.
- Bambase, M. E., Nakamura, N., Tanaka, J., & Matsumura, M. (2007). Kinetics of hydroxide-catalyzed methanolysis of crude sunflower oil for the production of fuel-grade methyl esters. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 82(3), 273–280.

- Banerjee, A., Singh, V., Solanki, K., Mukherjee, J., & Gupta, M. (2013). Combi-protein coated microcrystals of lipases for production of biodiesel from oil from spent coffee grounds. *Sustainable Chemical Processes*, 1(1), 14.
- Belitz, H.-D., Grosch, W., & Schieberle, P. (2001). *Food Chemistry. Food Chemistry* (Vol. 73).
- Bharathiraja, B., Raj, A. S., Jayamuthunagai, J., & Jayakumar, M. (2014). Optimization of biodiesel production from waste cooking oil using pure lipase and *Rhizopus oryzae* through response surface methodology, *Asian Jr. of Microbiol. Biotech. Env. Sc.*16(1), 63–70.
- Bhatti, H., Hanif, M., & Qasim, M. (2008). Biodiesel production from waste tallow. *Fuel*, 87(13-14), 2961–2966.
- Borrelli, R. C., Esposito, F., Napolitano, A., Ritieni, A., & Fogliano, V. (2004). Characterization of a new potential functional ingredient: coffee silverskin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(5), 1338–43.
- Brandão, K. S. R. (2005). Produção de Biodiesel a Partir do Óleo de Babaçu Utilizando Misturas dos Álcoois Metanol-Etanol. *Analysis*, 1(Ic), 135–140.
- Brookes, C. K. (2007). *Advancement of Biobased Products Through Design, Synthesis and Engineering of Biopolyesters*. ProQuest. Retrieved from <https://books.google.com/books?id=LsX0EwrlPSYC&pgis=1>
- Brum, A. A. S., Arruda, L. F., & Regitano-D'Arce, M. A. B. (2009). *Metodo De Extração E Qualidade Da Fração Lipídica De Materias-Primas De Origem Vegetal E Animal*. *Quimica Nova*.
- Caetano, N. S., Silva, V. F. M., Melo, A. C., Martins, A. A., & Mata, T. M. (2014). Spent coffee grounds for biodiesel production and other applications. *Clean Technologies and Environmental Policy*, 16(7), 1423–1430.
- Caetano, N. S., Silva, V. F. M., & Mata, T. M. (2012). Valorization of coffee grounds for biodiesel production. *Chemical Engineering Transactions*, 26, 267–272.
- Cafés, D. (2015). História do Café - O Café | Delta Cafés. Retrieved from <http://www.delta-cafes.pt/pt/o-cafe/historia>
- Camargos, R. R. da S., França, A. S., de Oliveira, L. S., & Ferraz, V. P. (2005). Study of the feasibility of converting oil from defective and healthy coffee beans in biodiesel. In: Anais do Simpósio de Pesquisa dos Cafés do Brasil (4. : 2005 : Londrina, PR). Brasília, D.F.: Embrapa Café, 2005.
- César, P., & Lima, R. (2004). O biodiesel e a inclusão social. Consultoria Legislativa da Câmara de deputados.

- Chang, H.-M., Liao, H.-F., Lee, C.-C., & Shieh, C.-J. (2005). Optimized synthesis of lipase-catalyzed biodiesel by *Novozym 435*. *Journal of Chemical Technology & Biotechnology*, 80(3), 307–312.
- Civita, V. (1979). Energia in Enciclopédia Ciência Abril, 568.
- CNGEurope. (2015). Fuel Calorific Values | CNG Europe. Retrieved from <http://cng europe.com/fuel-calorific-values/>
- Cornish-Bowden, A. (2014). Current IUBMB recommendations on enzyme nomenclature and kinetics. *Perspectives in Science*, 1(1-6), 74–87.
- Costa, A. T. (2008). *Otimização do processo de produção de biodiesel etílico do óleo de girassol (Helianthus annuus) aplicando um delineamento composto central rotacional (dccc)*. Dissertação de Mestrado em Química, Universidade Federal da Paraíba, Brasil.
- De Abreu, Y.V., de Oliveira, M.A.G., & Guerra, S.M.G. (2010). *Energia, Economia, Rotas Tecnológicas. Textos Selecionados*. Brasil: Málaga, Espanha: Eumed.Net, Universidad de Málaga, 330pp.
- Deligiannis, a, Papazafeiropoulou, A., Anastopoulos, G., & Zannikos, F. (2011). Waste Coffee Grounds as an Energy Feedstock. *Proceedings of the 3rd International CEMEPE & SECOTOX Conference, Laboratory of Fuel Technology and Lubricants, School of Chemical Engineering , National Technical University of Athens*, (617-622).
- Demirbas, A. (2007). *Biodiesel: A Realistic Fuel Alternative for Diesel Engines*. Springer Science & Business Media. Retrieved from http://books.google.com/books?id=0vBalrSH_OEC&pgis=1
- Du, W., Xu, Y., & Liu, D. (2003). Lipase-catalysed transesterification of soya bean oil for biodiesel production during continuous batch operation. *Biotechnology and Applied Biochemistry*, 38(Pt 2), 103–6.
- EBTP. (2011). Fatty Acid Methyl Esters (FAME). *European Biofuels Technology Platform*, 1, 1–2.
- ECF. (2014). Coffee consumption in Europe. Retrieved September 8, 2015, from <http://www.ecf-coffee.org/about-coffee/coffee-consumption-in-europe>
- EIA. (2012). International Energy Statistics - EIA. Retrieved September 8, 2015, from <http://www.eia.gov/cfapps/ipdbproject/iedindex3.cfm?tid=79&pid=81&aid=2&cid=r3,&syid=2000&eyid=2012&unit=TBPD>
- Enweremadu, C. C., Ojedian, J. O., Oladeji, J. T., & Afolabi, L. O. (2004). Evaluation of energy potentials in husks from Soy- bean and cowpea, 8, 18–23. *Science Focus*. 8:18-23
- EPA. (2002). *Analysis of Biodiesel Impacts on Exhaust Emissions Draft Technical Report*. U.S. Environmental Protection Agency. doi:EPA420-P-02-001

- Esquivel, P., & Jiménez, V. M. (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46(2), 488–495.
- Fagundes, F. ., Bezerra, J. P., Garcia, M. a., Medeiros, a. C. R., Borges, M., Garcia, R. ., & Costa, M. (2005). Avaliação Das Propriedades Do Óleo De Mamona Na Produção De Biocombustível, (3), 3–8.
- Farinhoto, R. (2012). Análise física e química de cafés verdes com diferentes origens geográficas. Dissertação para obtenção do Grau de Mestre em Tecnologia e Segurança Alimentar. Faculdade de Ciências e Tecnologia da Universidade Nova de Lisboa.
- Felizardo, P. (2003). Produção de biodiesel a partir de óleos usados de frituras. Relatório de Estágio, Instituto Superior Técnico e Quercus.
- Ferreira, A. (2011). Influência da borra de café no crescimento e nas propriedades químicas e biológicas de plantas de alface (*Lactuca sativa* L .). Dissertação de Mestrado em Qualidade e Segurança Alimentar, Instituto politécnico de Bragança.
- Ferreira, P.J., Sousa, H.S., & Caetano, N.S. (2008). Biodiesel production from vegetable frying oil and ethanol using enzymatic catalysis. In: Bioenergy: Challenges and Opportunities. International Conference and Exhibition on Bioenergy, April 6th – 9th 2008, Universidade do Minho, Guimarães, Portugal
- Gazzoni, L. (2013). Glicerina, biocombustíveis e bioprodutos. Retrieved September 8, 2015, from <http://www.biodiesels.com.br/glicerina-biocombustiveis-e-bioprodutos/>
- Gerpen, J. Van, Shanks, B., Pruszko, R., & Clements, D. (2004). Biodiesel Production Technology. *Contract*, 87(July), 3170–3175. Retrieved from <http://www.sciencedirect.com/science/article/B6V3B-4ST3TT8-3/2/21b3cfdb45a2d9f773faee9fe41274e3>
- Gog, A., Roman, M., Toşa, M., Paizs, C., & Irimie, F. D. (2012). Biodiesel production using enzymatic transesterification – Current state and perspectives. *Renewable Energy*, 39(1), 10–16.
- Granda, C. B., Zhu, L., & Holtzaple, M. T. (2007). Sustainable liquid biofuels and their environmental impact. *Environmental Progress*, 26(3), 233–250.
- Haas, M. J. (2005). Improving the economics of biodiesel production through the use of low value lipids as feedstocks: vegetable oil soapstock. *Fuel Processing Technology*, 86(10), 1087–1096.
- Haile, M. (2014). Integrated volarization of spent coffee grounds to biofuels, *Biofuel Research Journal* 2(2), 65–69.
- Hatalita, B., & Alves, P. (2007). Composição química de cafés torrados do cerrado e do sul Chemical Composition of Brazilian Roasted Coffees From “ Cerrado ” and, 2, 9–15.

- IEA. (2012). *IEA Statistics - Energy balances of non-OECD countries*. (I. E. Agency, Ed.). France. doi:10.1787/energy_bal_non-oecd-2013-en
- Ieltstime. (2012). Time for IELTS: Sample Answer IELTS Writing Task 1 - Process Diagram 1. Retrieved September 28, 2015, from <http://ieltstime.blogspot.pt/2012/05/sample-answer-ielts-writing-task.html>
- JMP v8.0 (2007) SAS Institute Inc., Cary, NC, 1989-2007.
- Knothe, G. (2001). Historical perspectives on vegetable oil based diesel fuels. *Inform*, 12(November), 1103–1107.
- Knothe, G., Dunn, R. O., & Bagby, M. O. (1997). Biodiesel : The Use of Vegetable Oils and Their Derivatives as Alternative Diesel Fuels. *Energy*, 666 SV -, 172.
- Knothe, G., Gerpen, J. H. Van, & Krahl, J. (2005). *The Biodiesel Handbook*. Applied Sciences (Vol. 2).
- Kumari, A., Mahapatra, P., Garlapati, V. K., & Banerjee, R. (2009). Enzymatic transesterification of Jatropha oil. *Biotechnology for Biofuels*, 2(1), 1.
- Leung, D. Y. C., & Guo, Y. (2006). Transesterification of neat and used frying oil: Optimization for biodiesel production. *Fuel Processing Technology*, 87(10), 883–890.
- Leung, D. Y. C., Wu, X., & Leung, M. K. H. (2010). A review on biodiesel production using catalyzed transesterification. *Applied Energy*, 87(4), 1083–1095.
- Li, L., Du, W., Liu, D., Wang, L., & Li, Z. (2006). Lipase-catalyzed transesterification of rapeseed oils for biodiesel production with a novel organic solvent as the reaction medium. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 43(1-4), 58–62.
- Li, X., Strezov, V., & Kan, T. (2014). Energy recovery potential analysis of spent coffee grounds pyrolysis products. *Journal of Analytical and Applied Pyrolysis*, 110, 79–87.
- Li, Z., Deng, L., Lu, J., Guo, X., Yang, Z., & Tan, T. (2010). Enzymatic Synthesis of Fatty Acid Methyl Esters from Crude Rice Bran Oil with Immobilized *Candida*. *Chinese Journal of Chemical Engineering*, 18(5), 870–875.
- Liquide, A. (2014). Biocombustíveis - Air Liquide Portugal. Retrieved September 8, 2015, from <http://www.airliquide.pt/pt/produtos-e-servicos/como-funciona/biocombustiveis-2.html#.Ve41iCVVikp>
- Liu, Y., Tan, H., Zhang, X., Yan, Y., & Hameed, B. H. (2010). Effect of monohydric alcohols on enzymatic transesterification for biodiesel production. *Chemical Engineering Journal*, 157(1), 223–229.

- Lucas, R. E. (2002). *Lectures on Economic Growth*. Retrieved from https://books.google.pt/books/about/Lectures_on_Economic_Growth.html?id=-giwZy0FpkC&pgis=1
- Luque de Castro, M. D., & Priego-Capote, F. (2010). Soxhlet extraction: Past and present panacea. *Journal of Chromatography. A*, 1217(16), 2383–2389.
- Macedo, G. (2003). Biodiesel. *Biotecnologia Ciência & Desenvolvimento*, 38.
- Macrae, A. R., & Hammond, R. C. (1985). Present and Future Applications of Lipases. *Biotechnology and Genetic Engineering Reviews*, 3(1), 193–218.
- Madehow. (2015). How coffee is made - material, manufacture, making, used, parts, machine, Raw Materials. Retrieved from <http://www.madehow.com/Volume-1/Coffee.html>
- Marchetti, J. M., Miguel, V. U., & Errazu, A. F. (2007). Possible methods for biodiesel production. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 11(6), 1300–1311.
- Mata, T. M., Cardoso, N., Ornelas, M., Neves, S., & Caetano, N. S. (2011). Evaluation of Two Purification Methods of Biodiesel from Beef Tallow, Pork Lard, and Chicken Fat. *Energy & Fuels*, 25(10), 4756–4762.
- Maurício, S. S. D. S. (2008). *A Produção de Biodiesel Alimentares Usados a partir de Óleos*. The production of Biodiesel from waste cooking oil. Universidade de Aveiro.
- Mazzafera, P., Soave, D., Zullo, M. A. T., & Guerreiro Filho, O. (1998). Oil content of green beans from some coffee species. *Bragantia*, 57(1).
- Meher, L., Vidyasagar, D., & Naik, S. (2006). Technical aspects of biodiesel production by transesterification—a review. *Renewable and Sustainable Energy Reviews*, 10(3), 248–268.
- Mesa, L., González, E., Cara, C., González, M., Castro, E., & Mussatto, S. I. (2011). The effect of organosolv pretreatment variables on enzymatic hydrolysis of sugarcane bagasse. *Chemical Engineering Journal*, 168(3), 1157–1162.
- Mittelbach, M. (1996). Diesel fuel derived from vegetable oils, VI: Specifications and quality control of biodiesel. *Bioresource Technology*, 56(1), 7–11.
- Moita, F. (2010). Energia Solar Passiva.
- Moreira, S. R. (2008). *Influência do Biodiesel nas emissões poluentes de um motor turbo diesel*. Dissertação de Mestrado da Faculdade de Engenharia da Universidade do Porto, Porto:
- Mussatto., S. I., Ballesteros, L. F., Martins, S., & Teixeira, J. A. (2011b). Extraction of antioxidant phenolic compounds from spent coffee grounds. *Separation and Purification Technology*, 83(1), 173–179.

- Mussatto, S. I., Carneiro, L. M., Silva, J. P. A., Roberto, I. C., & Teixeira, J. A. (2011c). A study on chemical constituents and sugars extraction from spent coffee grounds. *Carbohydrate Polymers*, 83(2), 368–374.
- Mussatto, S. I., Machado, E. M. S., Martins, S., & Teixeira, J. a. (2011a). Production, Composition, and Application of Coffee and Its Industrial Residues. *Food and Bioprocess Technology*, 4(5), 661–672.
- NCBI. (2004). National Center for Biotechnology Information, U.S. National Library of Medicine. Retrieved September 8, 2015, from <http://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/glycerol#section=Depositor-Supplied-Synonyms>
- Nikolova-Damyanova, B., Velikova, R., & Jham, G. N. (1998). Lipid classes, fatty acid composition and triacylglycerol molecular species in crude coffee beans harvested in Brazil. *Food Research International*, 31(6-7), 479–486.
- Noureddini, H., Gao, X., & Philkana, R. S. (2005). Immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase for biodiesel fuel production from soybean oil. *Bioresource Technology*, 96(7), 769–77. doi:10.1016/j.biortech.2004.05.029
- NP EN14214, 2014, Produtos petrolíferos líquidos Ésteres metílicos de ácidos gordos (FAME) para utilização em motores diesel e para aquecimento Especificações e métodos de ensaio, IPQ.
- Observ'ER. (2007). Energia Renovável. Retrieved September 8, 2015, from <http://www.energies-renouvelables.org/>
- Odin, E.M., Onoja, P.K., Ochala, A. . (2013). Effect of process variables on biodiesel production via transesterification of *Quassia undulata* seed oil , Using Homogeneous Catalyst. *International Journal of Scientific & Technology Research*, 2(9), 267–276.
- Ognjanovic, N., Bezbradica, D., & Knezevic-Jugovic, Z. (2009). Enzymatic conversion of sunflower oil to biodiesel in a solvent-free system: process optimization and the immobilized system stability. *Bioresource Technology*, 100(21), 5146–54.
- Patil, P. D., & Deng, S. (2009). Optimization of biodiesel production from edible and non-edible vegetable oils. *Fuel*, 88(7), 1302–1306.
- Pereira, J. E. S. (2013). Síntese de biodiesel a partir do farelo de arroz via catálise enzimática. Porto Alegre. Retrieved from <http://repositorio.pucrs.br:80/dspace/handle/10923/5500>
- Poa, M. E. T., Agropecu, N., Emiss, O. A., & Met, E. (2013). Determinação de Nitrogênio Total em Leite e derivados Lácteos pelo método Determinação de Nitrogênio Total em Leite e derivados Lácteos pelo método de Micro-Kjedahl, 2–9.
- Pottering, G., & Necas, P. (2009). Especificações da gasolina e do gasóleo rodoviário e não rodoviário.

- Rabaçal, M. (2010). *Influência das características do combustível no desempenho energético e ambiental de caldeiras domésticas*. Retrieved from <https://fenix.tecnico.ulisboa.pt/downloadFile/2589869386403/dissertacao.pdf>
- Rashid, U., & Anwar, F. (2008). Production of biodiesel through optimized alkaline-catalyzed transesterification of rapeseed oil. *Fuel*, 87(3), 265–273.
- Ravindranath, R., Khan, R. Y. A., Obi Reddy, T., Thirumala Rao, S. D., & Reddy, B. R. (1972). Composition and characteristics of Indian coffee bean, spent grounds and oil. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 23(3), 307–310.
- Roberto, I. C., Mussatto, S. I., & Rodrigues, R. C. L. . (2003). Dilute-acid hydrolysis for optimization of xylose recovery from rice straw in a semi-pilot reactor. *Industrial Crops and Products*, 17(3), 171–176.
- Robles-Medina, A., González-Moreno, P. a., Esteban-Cerdán, L., & Molina-Grima, E. (2009). Biocatalysis: Towards ever greener biodiesel production. *Biotechnology Advances*, 27(4), 398–408.
- Rocha, S. (2001). *Composição química da célula - simbiótica; rede simbiótica de biologia e conservação*. Retrieved September 8, 2015, from <http://www.simbiotica.org/composicaoquimicacelula.htm>
- Rodrigues, R. C. (2009). *Síntese de biodiesel através de transesterificação enzimática de óleos vegetais catalisada por lipase imobilizada por ligação covalente multipontual*. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, Brasil, 183 p.
- Salis, A., Pinna, M., Monduzzi, M., & Solinas, V. (2005). Biodiesel production from triolein and short chain alcohols through biocatalysis. *Journal of Biotechnology*, 119(3), 291–299.
- Santos, D. (2010). *Desenvolvimento de método para a obtenção de energia a partir da produção de biodiesel via extração de óleo de borra de pó de café em escala laboratorial*. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo.
- Sarin, A. (2012). *Biodiesel: Production and Properties*. Royal Society of Chemistry. Retrieved from <http://books.google.com/books?id=72kIFb2goSUC&pgis=1>
- Shimada, Y., Watanabe, Y., Samukawa, T., Sugihara, A., Noda, H., Fukuda, H., & Tominaga, Y. (1999). Conversion of vegetable oil to biodiesel using immobilized *Candida antarctica* lipase. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(7), 789–793.
- Shimada, Y., Watanabe, Y., Sugihara, A., & Tominaga, Y. (2002). Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 17(3-5), 133–142.
- Silva, S. (2003). *Resíduos de óleos alimentares: inquérito aos empresários da restauração*. Lisboa : Gabinete Técnico Alimentar da ARESP - Apoio à Restauração - Segurança Alimentar.

- SkPRO. (2015). Glicerina Líquida Farmacêutica 5Lt | Produtos para profissionais de estética e cabeleireiro. Retrieved October 22, 2015, from <http://www.skpro.pt/pt/product/glicerina-liquida-farmaceutica-5lt>
- Sofia, C., & Ventura, S. (2010). Biodiesel Obtido de Gordura Animal: Caracterização e Utilização como Combustível.
- Soumanou, M. M., & Bornscheuer, U. T. (2003). Improvement in lipase-catalyzed synthesis of fatty acid methyl esters from sunflower oil. *Enzyme and Microbial Technology*, 33(1), 97–103.
- Spagarino, D. (2012). *Denise Tavares Lima de Almeida*. Dissertação apresentada à Escola Politécnica da Universidade de São Paulo.
- Speer, K., & Kölling-Speer, I. (2006). The lipid fraction of the coffee bean. *Brazilian Journal of Plant Physiology*, 18(1), 201–216.
- Sun, R. C., Sun, X. F., Fowler, P., & Tomkinson, J. (2002). Structural and physico-chemical characterization of lignins solubilized during alkaline peroxide treatment of barley straw. *European Polymer Journal*, 38(7), 1399–1407.
- Taiwo, J., & Ropo, O. (2013). Investigations into Physical and Fuel Characteristics of Briquettes Produced from Cassava and Yam Peels. *Journal of Energy Technologies and Policy*, 3(7), 2007–2014.
- Turatti, M. (2001). Extração e caracterização de óleo de café. *II Simpósio de Pesquisa Dos Cafés Do Brasil*, 1533–1539.
- Vardon, Derek R., Bryan R. Moser, Wei Zheng, Katie Witkin, Roque L. Evangelista, Timothy J. Strathmann, Kishore Rajagopalan, and Brajendra K. Sharma. (2013). Complete Utilization of Spent Coffee Grounds To Produce Biodiesel, Bio-Oil, and Biochar. *ACS Sustainable Chemistry & Engineering*, 1 (10), 1286–1294.
- Vieira, A. C. (2012). Caracterização da biomassa proveniente de resíduos agrícolas, 72.
- Vinod, K., Firdaus, J., & Rk, S. (2014). Efficient Production Methodology For Biodiesel From Non-Edible Karanja Oil and Its Fuel Characterization Study. *Process Biochemistry*, 36–40.
- Wagner, M. (1976). Enzyme kinetics, behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme systems (Segel, Irwin H.). *Journal of Chemical Education*, 53(11), A472.
- Wu, W. H., Foglia, T. A., Marmer, W. N., & Phillips, J. G. (1999). Optimizing production of ethyl esters of grease using 95% ethanol by response surface methodology. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 76(4), 517–521.
- Yücel, S., Terzioğlu, P., & Özçimen, D. (2013). Lipase Applications in Biodiesel Production. *Biodiesel - Feedstocks, Production and Applications*, 209–250.

Zaub. (2013). Import Data and Price of lipozyme | Zaub. Retrieved from <https://www.zaub.com/import-lipozyme-hs-code.html>

Zhang, Y. (2003). Biodiesel production from waste cooking oil: 1. Process design and technological assessment. *Bioresource Technology*, 89(1), 1–16.

Normas consultadas

ASTM D 5865-10 - Standard Test Method for Gross Calorific Value of Coal and Coke

EN ISO 3104 - Petroleum products - Transparent and opaque liquids - Determination of Kinematic viscosity and calculation of dynamic viscosity , CEN

EN ISO 3675 - Crude petroleum and liquid petroleum products - Laboratory determination of density - Hydrometer method , CEN

EN ISO 3679 - Determination of flash point - Rapid equilibrium closed cup method, CEN

EN ISO 12937 - Produtos petrolíferos - Determinação de água - Método de titulação Karl Fischer por coulometria, CEN

EN 14103 - Fat and oil derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of ester and linolenic acid methyl ester contents, CEN

EN 14104 - Fat and oil derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of acid value, CEN

EN 14111 - Fat and oil derivatives - Fatty Acid Methyl Esters (FAME) - Determination of iodine value, CEN

NP EN 14214 - Automotive fuels - Fatty acid methyl esters (FAME) for diesel engines - Requirements and test methods, IPQ

Method AOAC 923.03.44 - Method for the determination of ash in cereals and cereal products

TAPPI T222om-02- Acid-insoluble lignin in wood and pulp

NP 1005:1974 - Cereais e leguminosas- Determinação do teor em celulose bruta, IPQ

NP 856 - Oleaginosas- Determinação do teor de matéria gorda, IPQ

Legislação

Decreto-Lei 117/2010. Diário da República I – Serie A, nº207. 25 Outubro de 2010. 4782-4795

Diretiva 2003/30/CE, de 8 de Maio de 2003, relativa à promoção da utilização de biocombustíveis ou de outros combustíveis renováveis nos transportes

Diretiva 2008/28/CE, de 11 de Março de 2008, que altera a Directiva 2005/32/CE relativa à criação de um quadro para definir os requisitos de concepção ecológica dos produtos que consomem energia, bem como a Directiva 92/42/CEE do Conselho e as Directivas 96/57/CE e 2000/55/CE, no que diz respeito às competências de execução atribuídas à Comissão

Diretiva 2009/28/CE, de 23 de abril de 2009, relativa à promoção da utilização de energia proveniente de fontes renováveis que altera e subsequentemente revoga as Diretivas 2001/77/CE e 2003/30/CE.

Anexo A - Especificações Técnicas e Estudos de Produção de Biodiesel

Na Tabela A.1 apresenta-se um resumo das especificações técnicas para o biodiesel, em vigor em Portugal, de acordo com a norma NP EN 14214..

Tabela A. 1 - Especificações da norma europeia EN 14214:2014, referente à qualidade do biodiesel (NP EN 14214, 2014).

Propriedades	Unidades	Limites		Método de ensaio
		Mínimo	Máximo	
Teor em ésteres	% (m/m)	96,5	-	EN 14103
Densidade a 15 °C	kg/m ³	860	900	EN ISO 3675 / EN ISO 12185
Viscosidade a 40 °C	mm ² /s	3,5	5,00	EN ISO 3104
Ponto de Inflamação	°C	>101	-	EN ISO 3679 / EN ISO 2719
Teor em enxofre	mg/kg	-	10	EN ISO 20846 / EN ISO 20884
Índice de cetano	-	51	-	EN ISO 5165
Teor em água	mg/kg	-	500	EN ISO 12937
Cinzas sulfatadas	% (m/m)	-	0,02	ISO 3987
Contaminação total	mg/kg	-	24	EN 12662
Corrosão do cobre, 3 h a 50 °C	-	Classe 1	Classe 1	EN ISO 2160
Estabilidade à oxidação, 110 °C	h	6	-	EN 15751/EN 14112
Índice de acidez	mg KOH/g	-	0,50	EN 14104
Índice de iodo	-	-	120	EN 14111
Metiléster do ácido linoleico	% (m/m)	-	12,0	EN 14103
Metilésteres polinsaturados	% (m/m)	-	1,00	EN 14103
Teor em metanol	% (m/m)	-	0,20	EN 14110
Teor em monoglicéridos	% (m/m)	-	0,80	EN 14105
Teor em diglicéridos	% (m/m)	-	0,20	EN 14105
Teor em triglicéridos	% (m/m)	-	0,20	EN 14105
Glicerol livre	% (m/m)	-	0,02	EN 14105 / EN 14106
Glicerol total	% (m/m)	-	0,25	EN 14105
Metais alcalinos	mg/kg	-	5,0	EN 14108 / EN 14538
Teor de fósforo	mg/kg	-	4,0	EN 14107

Na Tabela A.2 apresentam-se, resumidamente, os principais efeitos que o biodiesel de fraca qualidade e os seus contaminantes podem ter nos motores automóveis.

Tabela A. 2 - Principais efeitos e falhas nos motores a biodiesel de baixa qualidade (Felizardo, 2003).

Característica do combustível	Efeito	Falha
Metil esteres	Corrosão e rompe os elastómeros	Fuga de combustível
Metanol Livre	Baixa ponto de inflamação e corrói alumínio e zinco	Corrosão
Água em mistura	Aumenta condutividade térmica; propicia a existência de bactérias	Formação de depósitos; Corrosão
Ácidos gordos livres	Corrosão do zinco; formação de sais de compostos orgânicos	Corrosão; formação de depósitos; entupimento de filtros
Elevada viscosidade	Excessiva temperatura. Localmente nas bombas de distribuição; aumenta tensão entre componentes	Falha nas bombas; Baixa atomização do combustível
Impurezas sólidas	Problemas de lubrificades	Reduz o tempo de serviço dos equipamentos

Anexo B - Procedimentos Analíticos

Neste Anexo apresentam-se os procedimentos gerais efetuados para a caracterização da matéria-prima, a borra de café, caracterização do óleo da borra de café e do biodiesel.

B.1. Caracterização da borra de café

Pretendendo-se caracterizar a borra de café foram analisados os seguintes parâmetros:

- Teor de humidade;
- Teor de cinzas;
- Teor de azoto;
- Teor de carbono orgânico total;
- Teor de matéria gorda;
- Teor de celulose bruta;
- Teor de lenhina;
- Poder calorífico superior.

Seguidamente apresentam-se os procedimentos efetuados, iniciando-se cada um destes pela enumeração do material e reagentes necessários para a sua realização.

B.1.1. Determinação do teor de humidade

O teor de humidade de um material representa a percentagem de material que é volatilizado por secagem de uma amostra em estufa, em condições padronizadas. Neste caso, esta determinação foi feita de acordo com o procedimento estipulado pelo método direto e que seguidamente se descreve.

Material:

- Cadinho de porcelana;
- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Estufa a 105 ± 5 °C (*Binder*);
- Exsicador.

Reagentes/Soluções:

- Amostra de borra.

Procedimento:

1. Pesar um cadinho de porcelana, previamente seco em estufa a 105 °C;
2. Pesar para o cadinho, rigorosamente $5 \pm 0,001$ g de amostra;

3. Levar à estufa a 105°C durante aproximadamente 2 horas;
4. Colocar num exsiccador até à estabilização da temperatura e posteriormente efetuar a sua pesagem;
5. Repetir a secagem e pesagem até estabilização do peso.

O teor de humidade (%) pode ser determinado pela Equação A.1:

$$\text{Teor de Humidade} = \frac{m_{\text{amostra}} - m_{\text{amostra seca}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.1})$$

Onde,

m_{amostra} – Massa de amostra de borra de café (g);

$m_{\text{amostra seca}}$ – Massa de amostra de café seca (g);

B.1.2. Determinação do teor de cinzas

O teor de cinzas de um material representa a percentagem de matéria que resulta após a calcinação de uma amostra em condições padronizadas. Neste caso, esta determinação foi feita de acordo com o procedimento estipulado método da AOAC 923.03.44 e que seguidamente se descreve.

Material:

- Cadinho de porcelana;
- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Mufla (*Nabertherm B1500*);
- Exsiccador.

Reagentes:

- Amostra de borra.

Procedimento:

1. Colocar um cadinho de porcelana a calcinar em mufla a 550 °C e arrefecê-lo posteriormente em exsiccador durante 1 hora;
2. Pesar o cadinho vazio e adicionar cerca de 2 g ± 0,0001 g de amostra seca, tarando-o previamente;
3. Calcinar na mufla a 550 °C durante 1 hora;
4. Retirar cuidadosamente para um exsiccador durante cerca de 30 minutos;
5. Pesar rigorosamente o cadinho que contém a amostra;
6. Voltar a colocar na mufla e repetir o processo até peso constante, isto é, combustão completa da matéria orgânica.

O teor de cinzas (%) pode ser determinado pela equação A.2:

$$\text{Teor de Cinzas} = \frac{m_{\text{cinzas}}}{m_{\text{amostra seca}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.2})$$

Onde,

m_{cinzas} - Massa de cinzas (g).

B.1.3. Determinação do teor matéria gorda

O teor de matéria gorda de um material representa a percentagem da referida matéria que é extraível por um procedimento padronizado. Neste caso, esta determinação foi feita de acordo com o procedimento estipulado na norma NP 856 e que seguidamente se descreve.

Material:

- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Cartucho de celulose;
- Algodão;
- Suporte universal;
- Proveta de 250 mL;
- Balão de aquecimento de 250 mL;
- Balão de aquecimento de 500 mL;
- Manta de aquecimento (*Selecta*);
- Pipeta de 1 mL;
- Refratómetro de ABBE (*Atago 1T*);
- Banho termostaticado (*Heating Bath B-491*);
- Extrator *Soxhlet*;
- Condensador de refluxo;
- Rotavapor (*BUCHI*);
- Bomba de vácuo (*Vacuum Pump V-700*).

Reagentes/Soluções:

- Solução de Hexano (José M. Vaz Pereira);
- Amostra de borra.

Fase 1. Extração do óleo da borra de café

Procedimento:

1. Secar a amostra em estufa a 105 ± 5 °C;
2. Pesar cerca de $10 \pm 0,001$ g de amostra seca numa balança analítica;

3. Colocar a amostra dentro do cartucho de celulose, previamente seco, dispondo algodão para evitar o arrastamento da amostra;
4. Colocar o cartucho na coluna de extração *Soxhlet*;
5. Pesquisar um balão de aquecimento de 250 mL, previamente seco e vazio;
6. Colocar cerca de 200 mL de solvente hexano no balão de aquecimento;
7. Colocar o balão na manta de aquecimento à temperatura de 65-70 °C, seguindo-se a união do *Soxhlet* ao balão e do condensador ao *Soxhlet*;
8. Retirar uma amostra de cerca de 1 mL de líquido que envolve o cartucho, com o auxílio de uma pipeta, antes da finalização de cada contacto, para determinação do índice de refração no refratômetro de *Abbe*. Como critério de paragem: estabilização do índice de refração entre contactos, anotando a temperatura do banho termostaticado e o número de contactos, respetivamente.

Nota: Ter em atenção a lubrificação de todas as juntas esmeriladas com vaselina ou silicone.



Figura B. 1 - Extrator *Soxhlet*.

Fase 2. Recuperação do óleo (Destilação sob vácuo)

Procedimento:

1. Colocar a mistura de óleo/Hexano num balão de aquecimento de 500 mL, devidamente posicionado;
2. Montar o equipamento, unindo o balão ao evaporador e o balão recetor ao condensador acoplado no equipamento;
3. Ligar sistema de refrigeração do condensador e sistema de vácuo, definindo a temperatura do banho de aquecimento (65°C);
4. Efetuar ensaio até vaporização do solvente;

5. Pesar o balão de aquecimento com o óleo.

O teor de matéria gorda (%) pode ser determinado pela Equação A.3.

$$\text{Teor de Matéria Gordas} = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.3})$$

Onde,

$m_{\text{óleo}}$ – Massa de óleo obtida (g).



Figura B. 2 - Rotavapor.

B.1.4. Determinação do teor em celulose bruta

O teor em celulose bruta de um material representa a percentagem de matéria que resulta após tratamento sucessivo do material pelo ácido sulfúrico e pelo hidróxido de sódio nas condições indicadas no processo. Neste caso, esta determinação foi feita de acordo com o procedimento estipulado pela norma NP 1005:1974 e que seguidamente se descreve.

Material:

- Balão de aquecimento de 500 mL;
- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Manta de aquecimento (*Selecta*);
- Esferas de vidro;
- Provetas;
- Condensador de refluxo;
- Bomba de vácuo (*Neuberger Knf*);
- Membrana de fibra de vidro;
- Mufla (*Nabertherm B1500*);
- Exsicador;
- Cadinho de porcelana.

Reagentes/soluções:

- Solução de H₂SO₄ a 0,1 N;
- Solução de NaOH a 0,1 N;
- Água destilada;
- Álcool etílico a 95 %;
- Amostra de borra.

Procedimento:

Após extração da gordura:

1. Pesar $2 \pm 0,0001$ g de amostra e introduzi-la num balão de aquecimento;
2. Adicionar cerca de 200 mL de uma solução de H₂SO₄ a 0,1 N aquecida à ebulição, colocando algumas esferas de vidro para evitar uma ebulição excessiva;
3. Efetuar a ligação do balão a um condensador de refluxo e proceder ao seu aquecimento numa manta de aquecimento, tendo em atenção a regulação da temperatura de forma a proporcionar a ebulição da mistura ao fim de um minuto;
4. Manter a ebulição durante 30 minutos;
5. Proceder de seguida à decantação do líquido, fazendo-o passar por um sistema de filtração por vácuo com uma membrana de fibra de vidro;
6. Lavar o bolo de filtração com 50 mL de água desionizada em ebulição até pH neutro; Caso tenha passado algum resíduo para o dispositivo de filtração efetuar os pontos 7 a 14, senão passar para o ponto 12;
7. Transferir todo o resíduo para o balão com a ajuda de 200 mL de uma solução de NaOH a 0,1 N em ebulição;
8. Ligar novamente o balão ao condensador e levar à ebulição por 30 minutos;
9. Efetuar filtração a vácuo, lavando o bolo de filtração com água em ebulição até pH neutro;
10. Lavar agora com 50 mL de álcool etílico a 95 %;
11. Transferir o resíduo para um cadinho previamente calcinado e tarado;
12. Efetuar a secagem do resíduo numa estufa, a $103 \pm 2^\circ\text{C}$, até peso constante;

13. Calcinar o resíduo, durante 30 minutos a $600 \pm 25^\circ\text{C}$. E, após arrefecimento em exsiccador, efetuar a pesagem final.



Figura B. 3 – Condensador de Refluxo.



Figura B. 4 – Sistema de filtração de vácuo.

O teor em celulose bruta (%) pode ser dado pela equação A.4:

$$\text{Teor em Celulose Bruta} = \frac{(m_1 - m_2) \times [100 - (H + G)]}{2} \quad (\text{Equação A.4})$$

Onde,

m_1 – Massa de borra seca (g);

m_2 – Massa de borra calcinada (g);

H – Teor de Humidade (%);

G – Teor de Matéria Gorda (%).

B.1.5. Determinação do teor em carbono orgânico total

Material:

- Analisador de COT (SHIMADZU, TOC-VCSN Analyser)
- Balança analítica (METTLER AE 200);

Reagentes/ Soluções:

- Ácido fosfórico puro.

Fase 1. Determinação do teor em carbono total (TC)

Procedimento:

1. Ligar a botija de oxigênio, definindo como pressão os 300 kPa;

2. Ligar o teor de carbono total e carbono inorgânico, respetivamente;
3. Pesar para uma barquinha aproximadamente $0,02 \pm 0,0001\text{g}$;
4. Colocar a barquinha com a amostra no equipamento e seguir as instruções para o seu correto funcionamento;
5. Quando a operação terminar, mover o manípulo para “cooling”, o equipamento arrefece.
6. Registrar os valores da área e concentração que aparecem no visor.

Fase 2. Determinação do teor em carbono inorgânico (IC)

Para a determinação do carbono inorgânico segue-se o mesmo procedimento que para o TC, contudo, após colocar a barquinha no equipamento é necessário efetuar duas bombadas de ácido fosfórico puro, o equivalente a 5 mL de ácido.



Figura B. 5 - Analisador COT (à esquerda), *Solid Sample Module* (à direita).

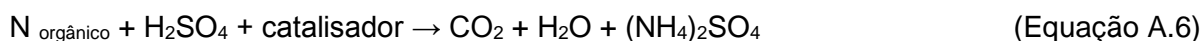
O Teor de carbono orgânico total pode ser obtido de acordo com a Equação A.5.

$$COT = CT - CI \quad \text{(Equação A.5)}$$

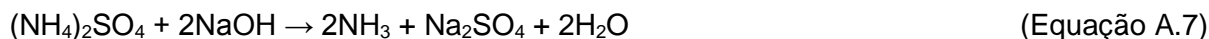
B.1.6. Determinação do teor de azoto total

Este é o método de *Kjeldahl* convencional, onde decorre uma digestão ácida (digestão de amostras com H_2SO_4) num digestor (*Raypa*), seguido de uma destilação num destilador (*Raypa DNP1500*).

Este método baseia-se na digestão da amostra por aquecimento com ácido sulfúrico concentrado, na presença de determinados catalisadores, sendo as formas azotadas existentes na amostra transformadas em sulfato de amónio, Equação A.6 (Poa et al., 2013).



Este, por ação de uma solução de hidróxido de sódio a 40%, liberta amoníaco que é fixado numa solução de ácido de título conhecido, Equação A.7.



A solução resultante, que contém NH_3 , é destilada com vapor, que arrasta consigo o NH_3 , sendo este recolhido numa solução de ácido bórico, Equação A.8:



Por titulação com ácido clorídrico de título conhecido e na presença de um indicador, determina-se a quantidade de amoníaco e conseqüentemente, a quantidade de azoto contida na amostra.

Material:

- Tubos *Kjeldahl*;
- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Digestor de *Kjeldahl*;
- Destilador (*Trade Raypa DNP 1500*);
- Provetas de 75, 50, 25 e 15 mL;
- Matrizes de 250 mL;

Reagentes/soluções:

- Octanol (*Panreac*);
- Pastilhas de catalisador;
- H_2SO_4 concentrado (*Sigma Aldrich*);
- Ácido bórico a 4%;
- HCl 0,01 N;
- NaOH a 40%;
- Água desionizada;
- Indicador misto (verde de bromocresol + vermelho de metilo);
- Amostra de borra.

Fase 1. Digestão

Procedimento:

1. Medir rigorosamente $0,05 \pm 0,0001$ g de amostra seca para um tubo *Kjeldahl*;
2. Adicionar lentamente 12,0 mL de H_2SO_4 concentrado;
3. Adicionar 6 a 8 gotas de octanol;
4. Juntar duas pastilhas de catalisador;

5. Fazer duas réplicas de cada amostra e um ensaio em branco, isto é ausência de amostra;
6. Colocar algumas esferas de vidro e homogeneizar a mistura;
7. Colocar os tubos no digestor, adaptar o sistema de sucção dos gases e ligar o digestor;
8. Programar o controlador para efetuar um patamar de meia hora a 180 °C. Caso não haja formação de espumas, faz-se um aumento gradual até 380 °C, com patamar de uma hora e meia a esta temperatura;
9. Desligar o digestor, deixando arrefecer os tubos. Os tubos que após digestão se apresentem límpidos com um tom azul/verde ou incolor passam para a destilação. Os restantes, que contiverem resíduo, adicionar mais ácido e repetir a digestão.
10. Retirar os tubos *Kjeldahl*, posto o seu arrefecimento e adicionar 75,0 mL de água desionizada.

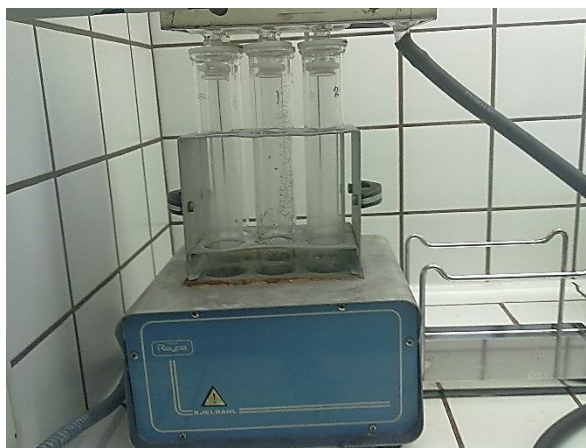


Figura B. 6 - Digestor de Kjeldahl.

Fase 2. Destilação e titulação:

Procedimento:

1. Num matraz colocar 25,00 mL de ácido bórico a 4%;
2. Colocar o matraz no destilador;
3. Colocar o tubo *Kjeldahl* no destilador, previamente lavado (lavagem com água 4 minutos), e adaptar o tubo digestor;
4. Ao tubo de digestão adicionar uma bombada de 50,0 mL de NaOH a 40%;
5. Abrir a válvula de vapor e de água e destilar durante 4 minutos;
6. Titular o NH_3 recolhido no matraz com HCl a 0,01 N, usando o indicador misto, sendo que se deteta o ponto final pela passagem da cor verde para rosa;
7. Efetuar uma nova lavagem com água desmineralizada, seguida de uma nova destilação da amostra.



Figura B. 7 - Destilador.



Figura B. 8 - Matrazes antes e após titulação.

A determinação do Teor de Azoto (%) pode ser efetuada de acordo com a Equação A.9:

$$\text{Teor de Azoto} = \frac{(V_A - V_B) \times N \times MM_N \times 100}{m_{\text{amostra}} \times 1000} \quad (\text{Equação A.9})$$

Onde,

V_A – Volume de titulante gasto na titulação da amostra (mL);

V_B – Volume de titulante gasto na titulação do branco (mL);

N – Normalidade do ácido clorídrico (N);

MM_N – Massa molar do azoto (14,007 g/mol);

B.1.7. Determinação do teor de proteínas

O teor de proteínas é calculado a partir do conteúdo de azoto total. O fator de 6,25 é empregue para converter o azoto em proteína, Equação A.10 (AOAC, 1980):

$$\text{Teor de Proteínas} = 6,25 \times \text{Teor de Azoto} \quad (\text{Equação A.10})$$

B.1.8. Determinação do teor de lenhina

A lenhina é um dos constituintes dos materiais lenhocelulósicos que protege as cadeias de celulose e hemiceluloses. A determinação deste parâmetro é feita de acordo com os procedimentos descritos na norma TAPPI T222om-02,, que a seguir se descrevem.

Fase 1. Lenhina de *Klason*

Material:

- Pipeta volumétrica de 15 mL;
- Balança analítica (*METTLER AE 200*);
- Vidro de relógio;
- Banho termostaticado (*LTD 6, GRANT*);
- Balão de destilação de 1000 mL;
- Manta de aquecimento (*Selecta*);
- Esferas de vidro;
- Sistema de filtração por vácuo (*Neuberger Knf*);
- Balão de fundo plano de 1000 mL;
- Estufa (*Binder*).

Reagentes/Soluções:

- Água desionizada;
- Solução de H₂SO₄ 72 %;
- Amostra de borra.

Procedimento:

1. Pesar 1 g $\pm 0,0001$ g de borra seca para um vidro de relógio;
2. Transferir para um balão de fundo plano de 1000 mL;
3. Juntar 15,00 mL de H₂SO₄ a 72%, de forma lenta;
4. Manter balão num banho a 2 ± 1 °C durante a dispersão do material;
5. Depois de dispersa a amostra, tapar o balão e mantê-lo num banho termostaticado a 20 ± 1 °C durante 2 horas sob agitação constante;
6. Após 2 horas de reação, para o balão, previamente marcado com 575 mL, adicionar cerca de 575 mL de água (a solução é diluída para uma concentração de 3 % em ácido sulfúrico);
7. Levar a mistura à ebulição durante 4 horas, procurando manter o volume total por adição de água quente;
8. Aguardar a estabilização da solução e deposição de todas as partículas;

9. Sem agitar a solução, filtrá-la num sistema de filtração a vácuo;
10. Com o auxílio de água desionizada em ebulição efetuar a lavagem do resíduo;
11. Colocar o resíduo resultante na estufa, medindo previamente a massa do cadinho (secando previamente durante 2 horas na estufa a 105 °C) e papel de filtro;
12. Antes de cada leitura da massa de lenhina, a amostra é colocada num exsiccador durante cerca de 30 minutos;
13. Efetuar os pontos 12 e 13 até obtenção de peso constante.

O teor de lenhina de *Klason* (%) pode ser determinado através da Equação A.11:

$$\text{Lenhina de Klason} = \frac{m_{\text{Lenhina}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100 \quad (\text{Equação A.11})$$

Onde,

m_{Lenhina} – Massa da lenhina (g).

Fase 2. Lenhina Solúvel

Material:

- Espectrofotómetro UV-Vis (*Shimadzu UV-160 A*), $\lambda = 205 \text{ nm}$;
- Cuvetes de quartzo.

Reagentes/Soluções:

- H_2SO_4 a 4%.

Procedimento:

- Medir o volume de filtrado recolhido na análise anterior;
- Ler a sua absorvância a 205 nm, colocando-o na cuvette de vidro;
- Proceder à diluição do filtrado com ácido sulfúrico a 4% e voltar a ler a absorvância a 205 nm, enquanto a absorvância for superior a 1;

O Teor de lenhina solúvel (%) pode ser determinado de acordo com a Equação A.12:

$$\text{Lenhina Solúvel} = \frac{A_{205\text{nm}} \times V_{\text{filtrado}} \times f}{\varepsilon \times m_{\text{amostra seca}}} \times 100 \quad (\text{Equação A. 12})$$

Onde,

$A_{205\text{nm}}$ – Valor medido no espectrofotómetro UV-Vis para a absorvância a 205 nm;

V_{filtrado} – Volume de filtrado (mL);

f – Fator de de diluição empregue;

ε – Fator de conversão, equivalente a 100 dm³/g.cm;

O Teor de lenhina total (%) pode ser dado pela equação A.13:

$$\text{Lenhina Total} = \text{Lenhina de Klason} + \text{Lenhina Solúvel} \quad (\text{Equação A. 13})$$

B.1.9. Determinação do Poder Calorífico Superior

A determinação deste parâmetro é feita de acordo com os procedimentos descritos na norma *ASTM D5865-10*, que a seguir se descrevem.

Material:

- Calorímetro *Parr 6722*;
- Agitador;
- Termopar (*Testo 925*);
- Gobelé;
- Fio de fusão.

Reagentes/Soluções:

- Pastilha de Ácido Benzoico (*Parr*);
- Água desionizada;
- Amostra de borra.

Procedimento:

1. Pesar para o balde calorimétrico, previamente tarado, 2000,0g de água desionizada;
2. Introduzi-lo de seguida no aparelho *Parr 6772* na respetiva posição;
3. Medir e cortar 10 cm de fio de fusão, colocando-o no suporte;
4. Pesar para a cápsula, previamente tarada, $0,5 \pm 0,0001$ g de amostra de borra seca;
5. Colocar o fio de fusão sobre a amostra e por cima deste, uma pastilha de $0,5 \pm 0,001$ g de ácido benzoico;
6. Colocar o suporte da amostra no interior da bomba, de modo a que o fio de fusão contacte com a amostra;
7. Pipetar 1,0 mL de água desmineralizada para o fundo da bomba que atua como agente de absorção de gases formados durante a combustão;
8. Efetuar o fecho da bomba, mantendo a válvula de saída dos gases sempre aberta;
9. Fechar a válvula e encher lentamente a bomba com oxigénio até à pressão de 30 atm;
10. Colocar a bomba dentro do balde calorimétrico e, seguidamente, no interior do equipamento;
11. Após a colocação dos cabos e verificação da inexistência de borbulhamento, colocar a tampa do corpo do calorímetro, que contém um agitador e termopar.

12. Colocar a correia no topo do calorímetro e iniciar a sua rotação,
13. Programar o equipamento e iniciar o ensaio.



Figura B. 9 - Bomba calorimétrica (à esquerda); calorímetro Parr 6722 (à direita).

O Poder Calorífico Superior pode ser calculado pela Equação A.14:

$$PCS_{final} \times m_{final} = PCS_{amostra} \times m_{amostra} + PCS_{ácido} \times m_{ácido} \quad (\text{Equação A. 14})$$

Onde,

PCS_{final} – Poder calorífico superior final (cal/g);

m_{final} – Massa final (g);

$m_{amostra}$ – Massa da amostra de borra de café (g);

$PCS_{ácido}$ – Poder calorífico superior do ácido benzoico (cal/g);

$m_{ácido}$ – Massa de ácido benzóico (g);

$PCS_{amostra}$ – Poder calorífico superior da amostra de borra de café (cal/g).

Nota: No caso de amostras líquidas a pastilha de ácido benzoico não é utilizada.

B.2. Caracterização do óleo da borra de café e do biodiesel

Neste capítulo são descritos sumariamente os métodos utilizados na realização dos vários ensaios experimentais de caracterização de amostras de óleos e biodiesel.

B.2.1. Preparação de ésteres metílicos de ácidos gordos

As amostras de óleo foram transesterificadas segundo o método proposto por (Abou-Shanab et al., 2011).

Em conformidade com o autor deverá proceder-se da seguinte forma, tendo sempre em atenção que antecedente ao ensaio é necessário efetuar a lavagem de toda a vidraria com uma solução de clorofórmio e metanol 2:1 v/v, seguindo-se a sua passagem por água destilada e secagem em estufa a 60 °C.

Reagentes/soluções:

- Clorofórmio (*Merck*);
- Metanol (*Carlo Erba Reagents*);
- Água destilada;
- Ácido sulfúrico concentrado (*Sigma-Aldrich*).

Equipamento:

- Balança Analítica (*Kern ALJ 220-4 NM*);
- Vórtex (*Vórtex-Genie 2*);
- Centrifuga (*Centrifuge 5804 eppendorf*);
- Estufa (*Binder*);
- Provetas;
- Digestor de amostras (*Hanna Instruments*);
- Filtro *Whatman Puradisc 25 syringe filters 0,2 um (Sigma-Aldrich)*;
- Frasco âmbar para GC.

Procedimento:

1. Pesar na balança analítica para tubos de ensaio de 10 mL cerca de 20 mg de amostra de óleo;
2. Adicionar 4 mL da mistura clorofórmio: metanol (2:1) para redissolver os lípidos extraídos, colocando-a no vórtex a fim de promover a mistura da solução;
3. Juntar 2 mL de metanol e 600 µL de H₂SO₄, respetivamente o reagente e catalisador ácido da reação;
4. Colocar novamente no vórtex e seguidamente no digestor durante 15min à temperatura de 100°C;
5. Aguardar o arrefecimento dos tubos durante aproximadamente 45min, removendo-os do digestor;
6. Lavar o conteúdo com 2mL de água destilada levando o conteúdo à centrifuga cerca de 10 min a 4000 rpm;
7. Separar as fases descartando a fase superior rica em água, metanol e ácido sulfúrico, guardando a fase inferior rica em clorofórmio e esteres metílicos;
8. Repetir este procedimento de lavagem mais duas vezes;
9. Filtrar a fase inferior com o auxílio de filtros *Whatman*, transferindo o conteúdo para um frasco âmbar, deixando também evaporar o clorofórmio.

B.2.2. Análise Cromatográfica

Equipamento:

- Balança Analítica (*Kern ALJ 220-4 NM*);
- Cromatógrafo (DANI, GC 1000 DPC (*Digital Pressure Control*));
- FID e Coluna para FAME's/ FAEE's TRB- WAX.

Reagentes/Soluções:

- Solução de metil heptadecanoato 10 mg/mL (*Fluka Analytical*);
- Heptano (*Panreac*);
- Amostras de óleo e biodiesel.

Após transesterificação, as amostras foram analisadas por cromatografia em fase gasosa segundo a norma NP EN 14103:2010, no Cromatógrafo DANI, GC 1000 DPC, com o intuito de efetuar a determinação, qualitativa e quantitativa, da composição do óleo em termos de ácidos gordos. Para a sua determinação é requerida a preparação do padrão interno - solução de heptadecanoato de metilo de concentração 10,014 mg/mL (adicionar a massa de 500,7 mg para um balão volumétrico de 50 mL, perfazendo com heptano até ao menisco).

Este equipamento encontrava-se programado para fazer as análises de ésteres metílicos de ácidos gordos nas seguintes condições:

- Coluna – TRB-WAX (diâmetro interno: 0,32 mm; comprimento: 30 m; espessura do filme: 0,25 µm)
- Temperatura da coluna (oven temp.) – 195 °C
- Temperatura do injetor (inj. Temp.) – 250 °C
- Temperatura do detetor (det. Temp.) – 250 °C
- Caudais de gases e a razão de split de 1:100;
- Gás de arraste: Hélio
- Volume injetado: 0,1 µL
- Padrão interno: Éster metílico de ácido heptadecanóico (C17:0)
- Pressão de ar (1,07 Bar), H₂ (0,70 Bar), He (0,90 Bar)

Procedimento:

1. Ligar o cromatógrafo e abrir as válvulas dos gases;
2. Definir pressões de Ar, H₂ e He; fixar os caudais de gases e a razão de split, bem como as temperaturas;
3. Num frasco de cromatografia pesar cerca de 100 mg de amostra;

4. Adicionar 2 mL de solução padrão;
5. Injetar a amostra;
6. Efetuar a leitura da amostra, resultando um cromatograma.

O Cromatógrafo de Gás utilizado para efetuar a determinação do teor em ésteres dos ácidos gordos encontra-se representado na Figura B. 10.



Figura B. 10- Cromatógrafo DANI, GC 1000 DPC.

Para avaliar qualitativamente e quantitativamente os vários metil ésteres obtidos e inferir, deste modo, a percentagem de transesterificação obtida, proceder-se-á da seguinte forma tanto para o teor em ésteres parcial (Equação A.15) e teor em ésteres total (Equação A.16):

$$\% \text{ Ésteres}_{\text{parcial}} = \frac{A_{\text{Éster}}}{\sum A} \quad (\text{Equação A. 15})$$

$$\% \text{ Ésteres}_{\text{total}} = \frac{\sum A - A_{\text{padrão}}}{A_{\text{padrão}}} \times \frac{V_{\text{padrão}} \times C_{\text{padrão}}}{m_{\text{amostra biodiesel}}} \times 100 \quad (\text{Equação A. 16})$$

Onde,

$A_{\text{Éster}}$ – Área do éster parcial (mV.s);

$\sum A$ – Somatório das áreas (mV.s);

$A_{\text{padrão}}$ – Área do padrão interno (mV.s);

$V_{\text{padrão}}$ – Volume do padrão interno (mL);

$C_{\text{padrão}}$ – Concentração do padrão interno (mg/mL);

$m_{\text{amostra biodiesel}}$ – Massa da amostra de biodiesel injetada (mg).

B.2.3. Determinação do Índice de Iodo

Equipamento:

- Balança Analítica (*Mettler AE 200*);
- Bureta Automática.

Reagentes/Soluções:

- Iodeto de Potássio (KI) a 100g/L;
- Indicador de cozimento de amido;
- Solução de tiosulfato de sódio, 0,1 M;
- Mistura dissolvente: Ciclohexano (*Panreac*) e Ácido Acético Glacial (*José M. Vaz Pereira, SA*) (1:1);
- Reagente de Wijs (*Panreac*);
- Amostra de Óleo e biodiesel.

Procedimento:

1. Pesar amostras entre 0,13 e 0,15g e transferir para *erlenmeyers* de 500 mL, com o auxílio de 20 mL de mistura dissolvente (processo efetuado na *hotte*);
2. Adicionar, de seguida, com uma pipeta volumétrica 25 mL de reagente de *Wijs* (também na *hotte*);
3. Deixar repousar em local escuro durante 1 hora;
4. Adicionar 20 mL de solução de iodeto de potássio e 150 mL de água destilada;
5. Titular com a solução de tiosulfato de sódio, até a solução adquirir uma coloração amarela clara.
6. Adicionar 3 a 4 gotas de indicador de cozimento de amido e continuar a titulação até desaparecer a coloração azul escura, sob agitação forte. O final da titulação corresponde a uma solução de uma cor branca.
7. Efetuar dois ensaios por amostra e um ensaio em branco.

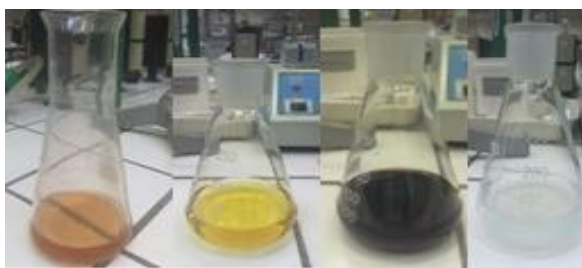


Figura B. 11 – Tonalidades durante a titulação da amostra.

O índice de Iodo pode ser calculado pela Equação A.17:

$$\text{Índice de Iodo} \left(\frac{\text{gI}_2}{100\text{g}} \right) = \frac{((V_b - V_a) \times N_T \times 12,69)}{m_{\text{amostra óleo}}} \quad (\text{Equação A. 17})$$

Onde,

V_b – Volume da solução padrão de tiosulfato de sódio gasta na titulação da amostra (mL);

V_a – Volume da solução padrão de tiosulfato de sódio gasta no ensaio em branco (mL);

N_T - Concentração da solução padrão de tiosulfato de sódio (mol/L);

$m_{amostra\ óleo}$ – Massa de amostra de óleo (g).

B.2.4. Determinação do Índice de acidez

Equipamento:

- Balança Analítica (*Mettler AE 200*);

Reagentes/Soluções:

- Solução de Hidróxido de Potássio (KOH) em etanol, $[KOH]=0,1$ mol/L (KOH: *José M. Vaz Pereira*);
- Mistura solvente: Éter Dietílico (*BDH Prolabo*) e Etanol 95% (*Carlo Erba reagents*) (1:1);
- Amostra de Óleo ou de biodiesel.

Procedimento:

1. Pesar cerca de $0,3$ a $0,5 \pm 0,0001$ g de amostra num matraz de 250 mL;
2. Adicionar 50 mL de mistura solvente neutralizada;
3. Adicionar à mistura umas gotas de fenolftaleína;
4. Proceder à titulação com a solução de KOH até ser atingido o ponto final da reação (mudança para cor de rosa ténue, mas persistente durante 15 segundos);
5. Anotar o volume gasto.

O índice de Acidez pode ser calculado pela Equação A.18:

$$\text{Índice de Acidez} \left(\frac{\text{mgKOH}}{\text{g}} \right) = \frac{((V_{KOH} \times N_{KOH} \times MM_{KOH}))}{m_{amostra\ óleo}} \quad (\text{Equação A. 18})$$

Onde,

V_{KOH} – Volume de Hidróxido de potássio gasto (mL);

N_{KOH} – Normalidade da solução de Hidróxido de potássio (N);

MM_{KOH} – Massa molecular do Hidróxido de potássio (56,11 g/mol);

B.2.5. Determinação da Massa volúmica

Método do picnómetro

Equipamento:

- Balança analítica (*Kern ALJ 220-4*);
- Banho Termostatizado (*LTD 6, GRANT*);

- Picnómetros.

Reagentes/ Soluções:

- Água destilada;
- Acetona (*Labchem*);
- Amostras de Biodiesel.

Procedimento:

1. Pesar picnómetro vazio previamente lavado e seco, m_1 ;
2. Encher o picnómetro com biodiesel e colocar num banho termostático durante 15 minutos;
3. Retirar do banho, limpar externamente e pesar na balança analítica;
4. Acertar o nível do líquido, no colo do picnómetro utilizando papel absorvente e medir a massa, m_2 .
5. Repetir os passos 2 e 3, utilizando água, massa m_3 .
6. Medir a temperatura, t , da água.

A densidade do biodiesel, d , é dado pela equação A.19:

$$d = \frac{mb - mv}{ma - mv} \quad (\text{Equação A. 19})$$

Onde,

m_v – Massa do picnómetro vazio (g);

m_a – Massa do picnómetro com água destilada (g);

m_b – Massa do picnómetro com biodiesel (g).

Torna-se necessário efetuar a correção da temperatura através da equação A.20:

$$d' = d \times d_{\text{água a } \theta^\circ\text{C}} \quad (\text{Equação A. 20})$$

Onde,

d' – Densidade do material à temperatura a que se realiza a medição (g/cm^3);

$d_{\text{água a } \theta^\circ\text{C}}$ – Densidade da água à mesma temperatura (g/cm^3).

B.2.6. Determinação da Viscosidade cinemática

Equipamento:

- Termopar (*Testo 922*);
- Viscosímetro capilar 100 (Biodiesel) e 200 (Óleo) (*Cannon Fenske*);
- Banho com controlo de temperatura (*Thermomix BM*).

Reagentes/Soluções:

- Acetona (*Labchem*);
- Amostras de Óleo ou Biodiesel.

Procedimento:

1. Programar e manter temperatura do banho termostatzado a 40 °C;
2. Encheu-se o bolbo do viscosímetro, com a amostra de óleo ou Biodiesel;
3. Montou-se o viscosímetro na posição correta, imerso no banho de água com controlo de temperatura, até que seja atingido o equilíbrio;
4. Com o auxílio de uma pompete, elevar a amostra do bolbo até ao bolbo na parte superior;
5. Registrar o tempo que demora o líquido a escoar entre as marcas de cronometragem existentes no viscosímetro;
6. Repetir os pontos anteriores, caso haja concordância o ensaio termina, senão repetir novamente os pontos até concordância de resultados.

Entre cada amostra lavar o viscosímetro com acetona e secar com ar comprimido. A viscosidade cinemática pode ser determinada através da equação A.21:

$$v = K (t - \partial) \quad (\text{Equação A. 21})$$

Onde,

v – Viscosidade cinemática (mm²/s);

K – Constante;

t – Tempo experimental de passagem do fluido (seg);

∂ – Fator de correção da tabela de fatores de correção de Hagenbach.

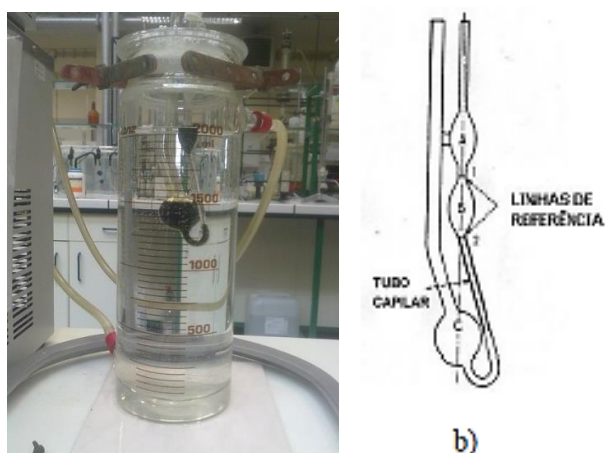


Figura B. 12 – a) Equipamento utilizado na determinação da viscosidade b) Representação esquemática do viscosímetro capilar

B.2.7. Determinação do Poder Calorífico Superior

Procedimento similar ao procedimento como para a borra, diferindo que sendo amostras líquidas, não foi necessário colocar a pastilha de ácido benzoico.

B.2.8. Determinação do Teor em água

A determinação do teor de água foi feita de acordo com o procedimento descrito na norma ISSO 12937:2003, usando um coulômetro *Karl Fischer*.

Com base na estequiometria da reação, 1 mole de iodo reage com 1 mole de água, e assim, a quantidade de água é proporcional à corrente integrada total, de acordo com a lei de *Faraday*. A reação entre o iodo e a água é representada pela Equação A.22.

**Equipamento:**

- Seringa (*Hamilton Syringe 1001 RN 1ml*);
- Balança Analítica (*Kern ALJ 220-4*);
- Coulômetro (*Methrom K 684*);
- Agitador (*Metrohm 703 Ti Stand*).

Reagentes/Soluções:

- Solução Coulomat A AQUAMETRIC (líquido anódico) (*Panreac*);
- Solução Coulomat C AQUAMETRIC (líquido catódico) (*Panreac*);
- Amostra de Óleo e Biodiesel.

Procedimento:

1. Ligar o equipamento e aguardar que o próprio proceda ao seu condicionamento;
2. Retirar pelo menos três porções da amostra do laboratório, com uma seringa limpa e seca e desprezar;
3. Retirar uma toma de óleo ou biodiesel;
4. Limpar a agulha com papel absorvente e pesar a seringa com o seu conteúdo, com uma aproximação ao 0,1 mg;
5. Introduzir a agulha através do septo de injeção, e dá-se início à titulação e, com o bico da agulha logo abaixo da superfície do líquido, injeta-se toda a toma de ensaio contida na seringa;
6. Retirar a seringa, limpar a agulha com papel absorvente limpo e tornar a pesar a seringa com uma aproximação ao 0,1 mg;

7. Introduzir no aparelho o valor da massa injetada;
8. Registrar o valor do teor de água em % ou ppm.

B.2.9. Determinação do ponto de Inflamação

Equipamento:

- Seringa;
- *Petrotest, Rapid Tester S.3.*

Reagentes/soluções:

- Amostra de óleo e biodiesel.

Procedimento:

1. Injetar a amostra no reservatório do equipamento, recorrendo a uma seringa de 4 mL;
2. Definir a temperatura no interior do compartimento;
3. Aguardar a sua homogeneidade ligar a chama, colocando-a em contato com o óleo;
4. Se a amostra inflamar, a temperatura de inflamação é a escolhida. Caso não inflame, definir nova temperatura.



Figura B. 13 - Equipamento para a determinação do ponto inflamação.

C- Resultados experimentais

Nesta secção expõe-se os principais resultados experimentais obtidos, respetivamente na caracterização da borra de café, caracterização do óleo, caracterização do biodiesel, bem como na otimização do processo de produção do biodiesel.

C.1- Caracterização da borra de café

Seguidamente apresentam-se os resultados obtidos no âmbito da caracterização da borra de café, cujos parâmetros e seu respetivo procedimento foram mencionados ao longo deste documento.

Na Tabela C.1 apresentam-se os resultados experimentais obtidos, antes e após extração do óleo da borra de café, quanto ao seu teor em humidade.

Tabela C. 1 - Resultados experimentais para a determinação do teor em humidade antes e após a extração do óleo.

Extração	Ensaio	m_{cadinho} (g)	$m_{\text{borra húmida}}$ (g)	$m_{\text{cadinho+borra}}$ (g)	$m_{\text{borra+cadinho seco}}$ (g)	$m_{\text{borra seca}}$ (g)	% H
Antes	1	41,0726	5,0992	46,1718	45,3125	4,2399	16,85
	2	39,0567	5,0016	44,0583	43,2091	4,1524	16,98
	3	44,4378	5,0912	49,5290	48,6593	4,2215	17,08
						Média	16,97
Após	1	41,0736	3,7637	44,8373	44,6197	3,5461	5,78
	2	45,1334	4,9945	50,1279	49,7546	4,6212	7,47
	3	44,9742	4,5676	49,5418	49,2162	4,2421	7,13
						Média	6,79

Na Tabela C. 2 apresentam-se os resultados obtidos, antes e após extração do óleo da borra de café, quanto ao seu teor em cinzas.

Tabela C. 2- Resultados experimentais para a determinação do teor em cinzas da borra de café, antes e após extração do óleo.

Extração	Ensaio	$m_{\text{cadinho seco}}$ (g)	$m_{\text{borra seca}}$ (g)	$m_{\text{borra +cadinho seco}}$ (g)	$m_{\text{cinza+cadinho seco}}$ (g)	m_{cinza} (g)	% Cinzas
Antes	1	29,5110	2,1178	31,6288	29,5520	0,0410	1,94
	2	28,1314	2,0574	30,1888	28,1683	0,0369	1,79
	3	29,5636	2,1714	31,7350	29,6075	0,0439	2,02
						Média	1,91
Após	1	45,1307	2,2476	47,3783	45,1623	0,0316	1,41
	2	45,8451	1,9884	47,8335	45,8756	0,0305	1,53
	3	45,2458	2,015	47,2608	45,2814	0,0356	1,77
						Média	1,57

Nas Tabela C. 3, Tabela C. 4 e Tabela C. 5 apresentam-se os resultados obtidos, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de celulose bruta.

Tabela C. 3- Resultados experimentais, até obtenção de massa constante, teor de humidade e massa obtida após calcinação da amostra, para a determinação do teor de celulose bruta.

Ensaio	Estufa						
	Momento	tempo de estufa (h)	tempo exsicador (h)	massa final (g)	% Humidade		
Antes	1	0	0	0	29,3279	-	
		1	24	0,5	28,6264	2,39	
	2	Calcinação					
		Momento	tempo calcinação (h)	tempo exsicador (h)	massa calcinada+cadinho+filtro (g)		
		final	0,5	0,5	28,0756		
		Estufa					
	Após	1	0	0	0	29,4587	-
			1	24	0,5	28,6986	2,58
		2	Calcinação				
			Momento	tempo calcinação (h)	tempo exsicador (h)	massa calcinada+cadinho+filtro (g)	
final			0,5	0,5	28,1234		
Estufa							
3		0	0	0	29,2458	-	
		1	24	0,5	28,5698	2,31	
		Calcinação					
		Momento	tempo calcinação (h)	tempo exsicador (h)	massa calcinada+cadinho+filtro (g)		
final	0,5	0,5	27,9012				
Antes	1	0	0	0	28,2145	-	
		1	24	0,5	27,5694	2,29	
	2	Calcinação					
		Momento	tempo calcinação (h)	tempo exsicador (h)	massa calcinada+cadinho+filtro (g)		
		final	0,5	0,5	28,0756		
		Estufa					
	3	0	0	0	29,2458	-	
		1	24	0,5	28,5698	2,31	
		Calcinação					
		Momento	tempo calcinação (h)	tempo exsicador (h)	massa calcinada+cadinho+filtro (g)		
final	0,5	0,5	27,9012				
Após	1	0	0	0	28,1458	-	
		1	24	0,5	27,5145	2,24	
	2	Calcinação					
		Momento	tempo calcinação (h)	tempo exsicador (h)	massa calcinada+cadinho+filtro (g)		
		final	0,5	0,5	28,1856		
		Estufa					

Tabela C. 4- Resultados experimentais, para a determinação do teor de matéria gorda, antes e depois da extração do óleo da borra de café.

Ensaio Antes	m _{borra} (g)	m _{balão} (g)	m _{balão+óleo} (g)	m _{óleo} (g)	% MG
1	10,0266	107,4083	108,3686	0,9603	9,58
2	10,1265	110,4895	111,4785	0,989	9,77
3	10,1845	104,2456	105,2459	1,0003	9,82
				Média	9,72
Ensaio Após	m _{borra} (g)	m _{balão} (g)	m _{balão+óleo} (g)	m _{óleo} (g)	% MG
1	9,6545	108,6589	109,8925	1,2336	12,78
2	10,2356	109,6578	111,0214	1,3636	13,32
3	10,2146	106,0259	107,3569	1,331	13,03
				Média	13,04

Tabela C. 5 - Resumo dos resultados experimentais, para a determinação do teor em celulose bruta, antes e depois da extração do óleo da borra de café.

Ensaio Antes	m _{borra seca} (g)	m _{calcinação} (g)	% H	% MG	% celulose
1	1,0963	0,763	2,39	9,58	14,68
2	0,9885	0,6556	2,58	9,77	14,59
3	1,0365	0,7129	2,36	9,82	14,21
			Média	9,20	14,64
Ensaio Após	m _{borra seca} (g)	m _{calcinação} (g)	% H	% MG	% celulose
1	1,1985	0,763	2,29	12,78	18,51
2	1,0256	0,5883	2,31	13,32	18,45
3	1,2983	0,8727	2,24	13,03	18,03
			Média	13,04	18,48

Apresentam-se agora as curvas de calibração utilizadas na determinação do teor de carbono total e inorgânico. Nas Tabela C.6 e Tabela C.7 apresentam-se os resultados experimentais obtidos para o carbono total e para o carbono inorgânico, cuja diferença representa o carbono orgânico total antes e após extração da borra de café. Assim sendo, nas Figuras C.1 e C.2 apresentam-se as curvas de calibração para o carbono total e inorgânico, utilizando como padrão a glucose monohidratada e o carbonato de sódio, respectivamente.

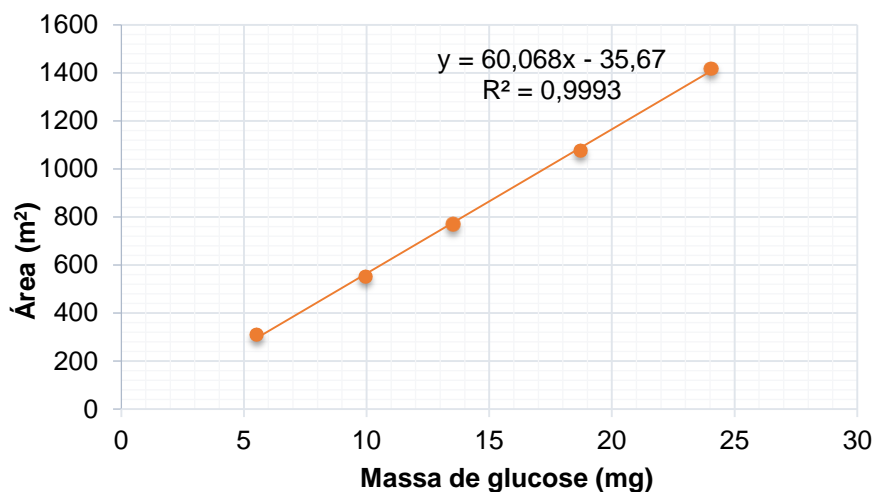


Figura C.1- Curva de calibração do teor de Carbono Total, utilizando como padrão a glicose monohidratada.

Tabela C.6- Dados experimentais para o teor de Carbono Total da borra de café, antes e após extração do óleo.

Extração	Ensaio	m _{borra} (mg)	Área	m _{Carbono} (mg)	% CT
Antes	1	15,3	693,5	12,11	79,2
	2	11,9	552,9	9,769	82,1
	3	12,1	574,0	10,12	83,6
				Média	81,6
Após	1	10,1	398,6	7,195	71,2
	2	12,3	475,9	8,848	71,9
	3	11,9	480,7	8,568	72,0
				Média	71,7

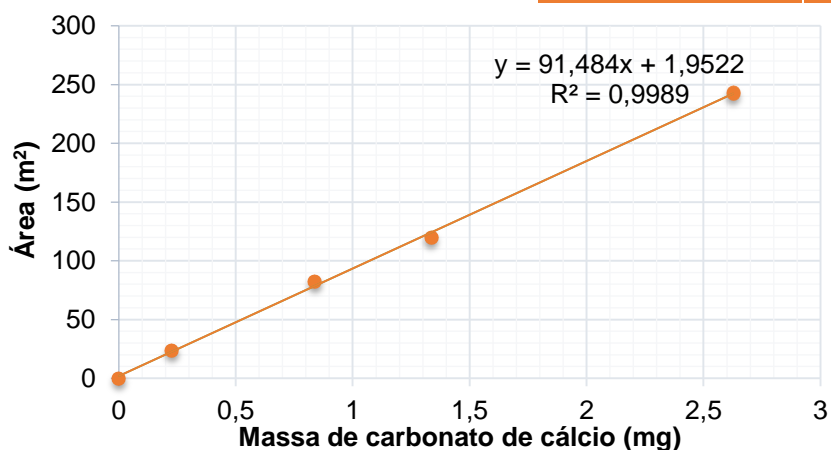


Figura C.2- Curva de calibração do teor de Carbono Inorgânico, utilizando como padrão o carbonato de cálcio.

Tabela C.7- Resultados experimentais para a determinação do teor de carbono orgânico total da borra de café, antes e após extração do óleo.

Extração	Ensaio	m _{borra} (mg)	Área	m _{Carbono} (mg)	% COI	%COT
Antes	1	25,7	0,00	0,00	0	79,2
	2	23,0	0,00	0,00	0	82,1
	3	24,2	0,00	0,00	0	83,6
				Média	0	81,6
Após	1	14,6	0,00	0,00	0	71,2
	2	13,2	0,00	0,00	0	71,9
	3	12,9	0,00	0,00	0	72
				Média	0	71,7

Na Tabela C. 8 e Tabela C. 9 apresentam-se os resultados obtidos, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de azoto e teor de proteínas respectivamente.

Tabela C. 8 - Resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de azoto.

Extração	Ensaio	V _{i HCl} (mL)	V _{f HCl} (mL)	V gasto (mL)	C _{HCl} (N)	m _{borra}	N Azoto (g _N /100g _{am})	% Azoto
Antes	Branco	2,2	2,3	0,1	0,1083	-	-	-
	R1	2,5	4	1,5		0,1258	1,70	13,48
	R2	4	5,3	1,3		0,1056	1,73	16,40
						Média	1,71	14,94
Após	Branco	5,4	5,5	0,1	0,1083	-	-	-
	R1	5,5	7,1	1,6		0,0999	2,29	22,90
	R2	7,1	8,4	1,3		0,0791	2,31	29,22
						Média	2,30	26,06

Tabela C. 9- Resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de proteínas.

Extração	Ensaio	N azoto	Fator	Teor Proteínas
Antes	R1	1,70	6,25	10,6
	R2	1,73		10,8
			Média	10,7
Após	R1	2,29	6,25	14,3
	R2	2,31		14,4
			Média	14,4

Na Tabela C. 10 e Tabela C.11 apresentam-se os resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de Lenhina de Klason e Solúvel.

Tabela C. 10- Resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação de Lenhina de Klason.

Extração	Ensaio	Tempo (h)	m cadinho+amostra inicial+filtro	Lenhina Klason (%)
Antes	1	0	40,4589	28,25
		72	39,7085	
	2	0	40,7256	28,02
		72	39,9856	
	3	0	40,4156	28,36
		72	39,63398	
			Média	28,21
Após	1	0	39,2874	29,31
		72	38,5604	
	2	0	39,6684	29,67
		72	38,8957	
	3	0	40,6745	29,41
		72	39,9576	
			Média	29,46

Tabela C. 11- Resultados experimentais, antes e após extração do óleo da borra de café, para a determinação do teor de Lenhina solúvel.

	Ensaio	Réplica	diluição	Abs (nm)	Média	Lenhina Solúvel (%)
Antes	1	1	0x	1,234	1,233	-
		2		1,230		
		3		1,236		
	2	1	10x	0,845	0,846	44,52
		2		0,847		
		3		0,845		
	3	1	40x	0,214	0,214	2,82
		2		0,214		
		3		0,215		
Após	1	1	0x	1,125	1,125	-
		2		1,127		
		3		1,124		
	2	1	8x	0,856	0,853	56,15
		2		0,853		
		3		0,851		
	3	1	50x	0,117	0,115	1,51
		2		0,114		
		3		0,113		

Pretendendo-se também caracterizar a borra de café antes e após extração do óleo, na Tabela C.12 apresenta-se os resultados obtidos para a determinação do poder calorífico superior.

Tabela C.12- Resultados experimentais para a determinação do poder calorífico superior da borra de café, antes e após extração do óleo.

Extração	Ensaio	m _{borra seca} (g)	m _{ácido} (g)	m _(ácido+borra) (g)	PCS _{ácido} (cal/g)	PCS _{final} (cal/g)	PCS _{amostra} (cal/g)	PCS _{amostra} (MJ/kg)
Antes	1	0,5002	0,4718	0,9720	6311,22	5510,27	4754,79	19,9
	2	0,5007	0,3483	0,8490		5267,26	4541,05	19,0
	2	0,5025	0,3678	0,8703		5365,14	4672,66	19,6
						Média	4647,9	19,5
Após	1	0,503	0,5255	1,0285	6311,22	5548,68	4752,03	19,9
	2	0,5012	0,5381	1,0393		5569,14	4772,42	20,0
	3	0,4813	0,4785	0,9598		5487,52	4668,61	19,5
						Média	4762,2	19,9

Na Tabela C.13 apresenta-se os resultados experimentais obtidos na determinação do teor em azoto.

Tabela C.13- Resultados experimentais para a determinação do teor em azoto da borra de café, antes e após extração do óleo.

	Ensaio	V _{i HCl} (mL)	V _{f HCl} (mL)	V _{gasto} (mL)	C _{HCl} (N)	m _{borra} (g)	N _{Azoto} (gN/100 g _{am.})	% N
Antes	Branco	2,2	2,3	0,1	0,1083	-	-	-
	R1	2,5	4	1,5		0,1258	1,70	13,48
	R2	4	5,3	1,3		0,1056	1,73	16,40
						Média	1,71	14,94
Após	Branco	5,4	5,5	0,1	0,1083	-	-	-
	R1	5,5	7,1	1,6		0,0999	2,29	22,90
	R2	7,1	8,4	1,3		0,0791	2,31	29,22
						Média	2,30	26,06

Através dos resultados obtidos para a determinação do teor em azoto, contabilizou-se o teor em proteínas tal como se apresenta na Tabela C.14.

Tabela C.14- Resultados experimentais para a determinação do teor em proteínas da borra de café, antes e após extração do óleo.

	Ensaio	N _{Azoto}	Fator	Teor Proteínas
Antes	R1	1,70	6,25	10,6
	R2	1,73		10,8
				Média
Após	R1	2,29	6,25	14,3
	R2	2,31		14,4
				Média

C.2- Caracterização do óleo da borra de café

Nesta subsecção, tal como o seu nome indica, apresentam-se os principais resultados obtidos no âmbito da caracterização do óleo obtido a partir da borra de café. Estes mesmos parâmetros são utilizados na caracterização do biodiesel produzido.

De seguida são apresentados os dados experimentais usados para os cálculos do índice de acidez (Tabela C.15), viscosidade cinemática (Tabela C.16), teor em água (Tabela C.17 e Tabela C.18), índice de lodo (Tabela C.19) e poder calorífico superior (Tabela C.20) para a matéria-prima (óleo vegetal), cujos exemplos de cálculo podem ser consultados no Anexo C.

Tabela C.15- Resultados experimentais para a determinação do índice de acidez do óleo da borra de café.

Ensaio	m_{amostra} (g)	C_{KOH} (M)	$V_{\text{inicial KOH}}$ (mL)	$V_{\text{final KOH}}$ (mL)	$V_{\text{gasto KOH}}$ (mL)	I.A ($\text{mg}_{\text{KOH}}/\text{g}_{\text{amostra}}$)
1	0,5501	0,07827	8,60	14,50	5,90	47,09
2	0,3099		15,00	18,10	3,10	43,92
3	0,3395		12,95	16,30	3,35	43,33
Média						44,78

Tabela C.16- Resultados experimentais para a determinação da viscosidade cinemática do óleo a 40 °C.

Ensaio	Tempo (min)	Tempo (s)	K 40°C (Viscosímetro 200)	Viscosidade (mm^2/s)
1	06:05:38	365	0,1067	38,95
2	06:05:75	365		38,95
3	06:05:80	365		38,95
Média				38,95

Ensaio	Tempo (min)	Tempo (s)	K 40°C (Viscosímetro 200)	Viscosidade (mm^2/s)
1	05:48:68	348	0,1067	37,14
2	05:48:43	348		37,14
3	05:48:40	348		37,14
Média				37,14

Tabela C.17- Resultados experimentais obtidos recorrendo ao padrão, para a determinação do teor em água do óleo.

Ensaio	$m_{\text{injetada padrão}}$ (g)	Teor em água (%)	Teor em água (ppm)
1	0,2499	0,1052	1052
2	0,2363	0,1074	1074
Média		0,1063	1063

Tabela C.18- Resultados experimentais para a determinação do teor em água do óleo.

Ensaio	$m_{\text{injetada óleo}}$ (g)	Teor em água (%)	Teor em água (ppm)
1	0,0155	0,1509	1509
2	0,0617	0,1408	1408
3	0,0429	0,1457	1457
	Média	0,1458	1458

Tabela C.19- Resultados experimentais para a determinação do índice de iodo do óleo.

Ensaio	m_{amostra} (g)	$C_{\text{Tiosulfato}}$ (M)	V_{branco} (mL)	V_{amostra} (mL)	V_{gasto} (mL)	I.I (g/100 g_{amostra})
1	0,1123	0,05329	40,55	30,20	10,35	62,33
2	0,2003			21,70	18,85	63,64
	0,1657			24,70	16,35	63,55
				Média		64,23

Tabela C.20- Resultados experimentais para a determinação do poder calorífico superior do óleo.

Ensaio	$m_{\text{óleo}}$ (g)	PCS_{amostra} (cal/g)
1	0,5034	8968,4325
2	0,5234	9245,3697
3	0,5066	8988,2657
	Média	9067,3560

Os resultados obtidos na extração do óleo da borra de café no extrator *Soxhlet* e no Rotavapor por destilação a vácuo, encontram-se na Tabela C.21, Tabela C.22 e Tabela C.23.

Tabela C.21- Resultados obtidos nas extrações do óleo da borra de café, utilizando como solvente o hexano.

Extração	Contato	Índice	Índice médio	T (°C)	T média (°C)
1	1	1,3775	1,3755	21,5	21,6
	2	1,3765		21,5	
	3	1,3745		21,6	
	4	1,3745		21,6	
	5	1,3745		21,6	
2	1	1,3805	1,3768	22,1	22,2
	2	1,3770		22,1	
	3	1,3755		22,2	
	4	1,3755		22,2	
	5	1,3755		22,2	
3	1	1,3985	1,3815	22,8	22,7
	2	1,3830		22,8	
	3	1,3760		22,8	
	4	1,3750		22,8	
	5	1,3750		22,5	
4	1	1,3845	1,3777	22,8	22,8
	2	1,3785		22,8	
	3	1,3755		22,8	
	4	1,3750		22,8	
	5	1,3750		22,8	
5	1	1,3920	1,3806	21,8	22,2
	2	1,3805		22,3	
	3	1,3785		22,3	
	4	1,3760		22,4	
	5	1,3760		22,4	
6	1	1,3920	1,3807	22,4	21,4
	2	1,3800		21,2	
	3	1,3775		21,2	
	4	1,3770		21,2	
	5	1,3770		21,2	
7	1	1,3955	1,3849	21,1	21,34
	2	1,3950		21,4	
	3	1,3800		21,4	
	4	1,3770		21,4	
	5	1,3770		21,4	
8	1	1,3895	1,3796	21,1	21,1
	2	1,3787		21,1	
	3	1,3770		21,1	
	4	1,3765		21,1	
	5	1,3765		21,1	

Tabela C. 22- Resultados obtidos nas extrações do óleo da borra de café, utilizando como solvente o hexano Continuação da **Tabela C.21**.

9	1	1,3910	1,3773	21,3	21,2
	2	1,3825		21,2	
	3	1,3750		21,2	
	4	1,3690		21,2	
	5	1,3690		21,2	
10	1	1,3875	1,3741	22,4	21,4
	2	1,3800		21,2	
	3	1,3720		21,2	
	4	1,3655		21,2	
	5	1,3655		21,2	
11	1	1,3890	1,3722	21,1	21,3
	2	1,3760		21,4	
	3	1,3680		21,4	
	4	1,3640		21,4	
	5	1,3640		21,4	
12	1	1,3875	1,3734	21,1	21,1
	2	1,3790		21,1	
	3	1,3715		21,1	
	4	1,3645		21,1	
	5	1,3645		21,1	

Tabela C.23- Resultados experimentais obtidos na destilação sob vácuo.

Extração do óleo	Massa de borra (g)	Massa de óleo (g)	Rendimento (%)
1	5170,9	157,3	3,042
2	3401,8	344,9	10,14
3	3615,1	318,7	8,816
4	3745,6	280,2	7,481
5	3674,2	259,7	7,068
6	3754,4	125,4	3,340

Finalizando, pretendendo-se ainda determinar a massa molecular do biodiesel, efetuou-se a determinação do teor em ésteres metílicos dos ácidos gordos. Na Tabela C. 24 e na Tabela C. 25 apresentam-se, respetivamente, o tempo de retenção, área dos picos e respetiva percentagem de cada éster obtidos na 1ª e 2ª injeção da primeira amostra de biodiesel.

Tabela C. 24-Caracterização e dados auxiliares ao cálculo da massa molecular do óleo para o 1ºensaio, 1ªinjeção.

Ácido gordo	Estrutura	MM ácido gordo	Tempo retenção (min)	Área (min. %)	% Éster
Mirístico	C14:0	256,43	2,427	41,153	0,04
Palmítico	C16:0	254,41	3,333	28393,562	27,42
Metil Heptadecanoato (Padrão)	C17:0	270,46	4,253	20432,217	19,73
Estearico	C18:0	284,48	5,507	6632,574	6,40
Oleico	C18:1	282,47	5,82	8510,237	8,22
Linoleico	C18:2	280,45	6,687	33726,022	32,57
Linoleico	C18:2	280,45	7,24	223,291	0,22
Linolénico	C18:3	278,44	7,833	817,082	0,79
Araquídico	C20:0	308,51	9,567	2939,043	2,84
Araquídico	C20:0	308,51	9,773	64,88	0,06
Araquídico	C20:0	308,51	9,96	339,657	0,33
Gadoleico	C20:1	310,52	10,473	121,277	0,12
Eicosatetraenóico	C20:2	304,47	10,64	71,161	0,07
Araquidónio	C20:4	304,47	11	42,797	0,04
Eicosapentaenoico	C20:5	302,52	11,827	87,222	0,08
Behénico	C22:0	340,59	14,02	569,74	0,55
Lignocérico	C24:0	368,65	15,153	138,92	0,13
Nervonico	C24:1	366,62	16,093	98,421	0,10
Somatório				103558,77	100
% Ésteres				83,23	
MM _{molecular} (g/mol)				902,649	

Tabela C. 25- Caracterização e dados auxiliares ao cálculo da massa molecular do óleo para o 1ºensaio, 2ªinjeção.

Ácido gordo	Estrutura	MM ácido gordo	Tempo de retenção (min)	Área (min %)	% Éster parcial
Mirístico	C14:0	256,43	2,187	87,980	0,09
Palmítico	C16:0	254,41	3,333	28127,063	27,40
Metil Heptadecanoato (Padrão)	C17:0	270,46	3,587	20421,392	19,90
Estearico	C18:0	284,48	4,26	6613,730	6,44
Oleico	C18:1	282,47	5,52	8552,481	8,33
Linoleico	C18:2	280,45	5,833	33617,238	32,75
Linoleico	C18:2	280,45	6,7	229,574	0,22
Linolénico	C18:3	278,44	7,253	821,864	0,80
Araquídico	C20:0	308,51	7,853	2841,053	2,77
Araquídico	C20:0	308,51	9,587	95,040	0,09
Araquídico	C20:0	308,51	9,973	374,042	0,36
Gadoleico	C20:1	310,52	10,26	102,118	0,10
Behénico	C22:0	340,59	11,847	89,128	0,09
Lignocérico	C24:0	368,65	14,04	529,434	0,52
Nervonico	C24:1	366,62	15,18	139,854	0,14
Somatório				102641,9	100
% ésteres				82,37	
MM _{molecular} (g/mol)				906,519	

C.3- Otimização da produção de Biodiesel

Tendo-se pretendido efetuar um estudo preliminar para a escolha da lípase mais adequada que maximize o rendimento da reação na Tabela C.26 encontram-se as massas de óleo utilizada e de biodiesel obtido para cada um dos ensaios preliminares.

Uma vez que a densidade e viscosidade são dois dos parâmetros que invalidam a sua utilização como combustível e que podem induzir o desgaste prematuro dos motores, na Tabela C.27 e na Tabela C.28 apresentam-se os resultados experimentais obtidos para a densidade e viscosidade do biodiesel obtido.

Tabela C. 26- Resultados experimentais representativos das massas de óleo utilizada e de biodiesel obtido para cada um dos ensaios preliminares.

Ensaio	Massa de óleo (g)	Massa de biodiesel (g)	Rendimento da reação (%)
1	40,31	30,11	74,69
2	-	-	-
3	40,30	33,63	83,46
4	40,10	31,60	78,80
5	40,04	32,03	80,00
6	40,05	12,12	30,25
7	40,12	39,02	97,26

Tabela C. 27- Resultados experimentais para a densidade do biodiesel obtido, recorrendo a diferentes lipases.

Ensaio	m _{pic. vazio} (g)	m _{pic. +água} (g)	m _{pic. +biodiesel} (g)	densidade (g/cm ³)	densidade corr. (g/cm ³)
100L Etanol	27,8921	52,3485	50,2358	0,9136	0,9119
100L Metanol	-	-	-	-	-
RMIM Etanol	10,1945	17,0142	16,2092	0,8820	0,8803
RMIM Metanol	13,1198	40,0634	37,3778	0,9003	0,8986
CaIB Etanol	29,3277	53,4398	51,3172	0,9120	0,9102
CALB Metanol	12,1647	38,3193	36,1545	0,9172	0,9155
RMIM+ CaIB Etanol	12,4806	38,2687	35,5752	0,8956	0,8940

Tabela C. 28- Resultados experimentais para a viscosidade do biodiesel obtido, recorrendo a diferentes lipases.

Ensaio	Tempo (s)	k40 °C (Viscosímetro 400)	Viscosidade (mm ² /s)
100L Etanol	241	0,1129	27,209
100L Metanol	-		-
RMIM Etanol	70		7,903
RMIM Metanol	265		29,919
CaIB Etanol	240		27,096
CaIB Metanol	205		23,145
RMIM+ CaIB Etanol	115,06		12,990

Na Tabela C.29 e C.30 apresentam-se os resultados experimentais obtidos na determinação dos ésteres etílicos para os ensaios preliminares, respetivamente para o ensaio utilizando a lipase *RM IM* e para o ensaio da mistura *RM IM* com *CALB L*, ambos para o 1^o ensaio, 2^a injeção.

Posto a escolha da lipase efetuou-se a otimização da produção de biodiesel, tal como referido variando diferentes parâmetros que afetam a reação de transesterificação. A ordem dos ensaios aqui apresentada segue a ordem apresentada pelo DCC apresentado na discussão de resultados. Então, na Tabela C.31 e Tabela C.32 encontram-se as massas de óleo utilizada e de biodiesel obtido para cada um dos ensaios de otimização. Os resultados experimentais para a viscosidade cinemática e densidade encontram-se na Tabela C.31 e Tabela C.32.

Tabela C. 29- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel para o ensaio preliminar com a lipase *RMM* e *CALB L*, 1ºensaio, 2ºinjeção.

Estrutura	MM ácido gordo	Tempo retenção (min)	Área (m ²)	% Éster
C14:0	256,43	2,34	15,074	0,03%
C16:0	254,41	3,293	18,387	0,03%
C17:0	270,46	3,6	11700	22,05%
C18:0	284,48	4,253	21309,123	40,15%
C18:1	282,47	5,534	432,123	0,81%
C18:2	280,45	6,04	2673,962	5,04%
C18:2	280,45	6,367	3001,98	5,66%
C18:3	278,44	7,267	11400	21,48%
C20:0	308,51	8,607	229,773	0,43%
C20:0	308,51	9,678	234,35	0,44%
C20:0	308,51	10,347	1050,4	1,98%
C20:1	310,52	10,74	107,634	0,20%
C22:0	340,59	14,74	202,887	0,38%
C24:0	368,65	15,16	668,512	1,26%
C24:1	366,62	16,78	27,367	0,05%
Somatório			53071,572	100%
% ésteres			30,12%	

Tabela C. 30- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel para o ensaio preliminar com a lipase *RMM*, 1ºensaio, 2ºinjeção.

Estrutura	MM ácido gordo	Tempo retenção (min)	Área (m ²)	% Éster
C14:0	256,43	2,333	47,824	0,05%
C16:0	254,41	2,853	12,865	0,01%
C17:0	270,46	3,627	26300	25,12%
C18:0	284,48	4,253	23033,211	22,00%
C18:1	282,47	5,245	7890,543	7,54%
C18:2	280,45	6,067	5771,233	5,51%
C18:2	280,45	6,393	7656,04	7,31%
C18:3	278,44	7,353	29785,231	28,45%
C20:0	308,51	8,613	686,813	0,66%
C20:0	308,51	9,876	456,784	0,44%
C20:0	308,51	10,36	2289,558	2,19%
C20:1	310,52	10,733	325,294	0,31%
C22:0	340,59	14,023	198,54	0,19%
C24:0	368,65	15,153	218,098	0,21%
C24:1	366,62	16,527	37,059	0,04%
Somatório			104709,093	100%
% ésteres			71,66%	

Tabela C. 31- Resultados experimentais representativos das massas de óleo e biodiesel intrínsecas a cada ensaio de otimização.

Ensaio	Massa de óleo (g)	Massa de biodiesel (g)	Rendimento da reação (%)
1	39,91	33,64	84,29
2	40,10	30,73	76,63
3	40,09	34,33	85,62
4	44,02	35,27	80,12
5	40,11	22,35	55,73
6	40,12	18,30	45,61
7	39,21	35,41	90,31
8	39,10	28,36	72,54
9	40,21	38,77	96,41
10	38,19	36,99	96,85
11	38,30	37,07	96,78
12	38,51	13,77	35,76
13	38,61	7,97	20,64
14	39,89	24,42	61,21
15	40,01	37,31	93,25
16	40,10	30,73	76,63
17	39,99	13,66	34,16

Tabela C. 32- Resultados experimentais da viscosidade cinemática obtidos na otimização da produção de biodiesel.

Ensaio	Tempo (s)	k40 °C (Viscosímetro 400)	Viscosidade (mm ² /s)
1	99	0,1067	10,563
2	88	0,1129	9,935
3	90	0,1067	9,603
4	82,5	0,1129	9,314
5	155	0,1129	17,500
6	161	0,1067	17,179
7	89	0,11299	10,056
8	180	0,11299	20,338
9	96	0,11299	10,847
10	93,5	0,1067	9,976
11	97	0,11299	10,960
12	96,5	0,1067	10,297
13	140	0,11299	15,819
14	111,5	0,1067	11,897
15	83	0,11299	9,378
16	106	0,1067	11,310
17	96	0,11299	10,847

Tabela C. 33- Resultados experimentais da densidade obtidos na otimização da produção de biodiesel.

Ensaio	m pic. vazio (g)	m pic. +água (g)	m pic. +biodiesel (g)	Densidade (g/cm ³)	Densidade corr. (g/cm ³)
1	13,1197	39,6021	36,9450	0,8997	0,8974
2	14,6037	40,5317	37,4381	0,8807	0,8785
3	13,1197	39,6021	36,7620	0,8928	0,8905
4	14,6037	40,5317	37,6678	0,8895	0,8873
5	13,3120	41,2411	38,5356	0,9031	0,9010
6	14,3329	40,3288	37,9232	0,9075	0,9053
7	16,9100	41,9350	38,9119	0,8792	0,8771
8	14,3328	40,3567	37,9521	0,9076	0,9055
9	14,3325	40,3561	37,5142	0,8908	0,8887
10	14,3325	40,3561	37,4543	0,8885	0,8869
11	13,3126	41,0194	38,2336	0,8995	0,8973
12	14,6042	40,2098	37,6916	0,9017	0,8995
13	13,3126	41,0194	38,3883	0,9050	0,9029
14	13,3118	41,2764	37,9647	0,8816	0,8791
15	14,3337	40,4837	37,6389	0,8912	0,8887
16	13,3114	41,2760	38,0378	0,8842	0,8817
17	14,3332	40,4833	37,5696	0,8886	0,8861

Na Tabela C.34 apresenta-se o teor em ésteres etílicos obtidos para o ensaio 12, após otimização.

Tabela C. 34- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel para o ensaio 12, otimizado, 1ºensaio, 2ªinjeção.

Estrutura	MM ácido gordo	Tempo retenção (min)	Área (m ²)	% Éster
C14:0	256,43	2,447	58,725	0,05%
C16:0	254,41	3,453	29467,567	27,11%
C17:0	270,46	3,633	20369,430	18,74%
C18:0	284,48	4,467	7600,230	6,99%
C18:1	282,47	5,547	8967,980	8,25%
C18:2	280,45	5,727	35467,850	32,63%
C18:2	280,45	6,053	567,900	0,52%
C18:3	278,44	7,353	1120,340	1,03%
C20:0	308,51	8,700	3413,540	3,14%
C20:0	308,51	9,655	131,456	0,12%
C20:0	308,51	10,073	375,530	0,35%
C20:1	310,52	10,433	190,113	0,17%
C22:0	340,59	13,920	198,540	0,18%
C24:0	368,65	15,080	612,270	0,56%
C24:1	366,62	15,500	162,436	0,15%
Somatório			108703,907	100
			% ésteres	87,64%

Seguindo-se os ensaios com adição de água, na Tabela C.35 encontram-se as massas de óleo utilizada e de biodiesel obtido para cada um dos ensaios.

Tabela C. 35- Resultados experimentais representativos das massas de óleo e biodiesel intrínsecas a cada ensaio de adição de água ao etanol.

Ensaio	% etanol	Massa de óleo (g)	Massa de biodiesel (g)	Rendimento da reação (%)
1	75	40,21	33,91	84,33
2	85	40,02	36,78	91,90
3	92	40,23	39,12	97,24

Na Tabela C. 36 e na Tabela C. 37 apresentam-se os resultados experimentais para a viscosidade cinemática e densidade do biodiesel segundo diferentes teores de água adicionados. Enquanto que na Tabela C.38, Tabela C.39 e Tabela C.40 encontram-se representados os Teores em ésteres etílicos, considerando um teor em etanol de 75%, 85% e 92%, respetivamente.

Tabela C. 36- Resultados experimentais da viscosidade cinemática obtidos nos ensaios com adição de água ao etanol.

Ensaio	% etanol	Tempo (s)	k40 °C (Viscosímetro 400)	Viscosidade (mm ² /s)
1	75	190	0,1067	20,2730
2	85	219	0,11299	24,7251
3	92	191	0,1067	20,3797

Tabela C. 37- Resultados experimentais da densidade obtidos nos ensaios com adição de água ao etanol.

Ensaio	% etanol	m pic. vazio (g)	m pic. +água (g)	m pic. +biodiesel (g)	densidade (g/cm ³)	densidade corr. (g/cm ³)
1	75	16,8446	41,7381	39,2790	0,9012	0,8995
2	85	14,4286	40,4512	37,9008	0,9020	0,9003
3	92	13,0814	39,8008	37,13190	0,9001	0,8984

Tabela C. 38- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel, para um teor de etanol de 75%.

Estrutura	MM ácido gordo	Tempo retenção (min)	Área (m ²)	% Éster
C14:0	256,43	2,257	39,729	0,04%
C16:0	254,41	3,513	9550,452	8,79%
C17:0	270,46	3,647	23896,549	21,99%
C18:0	284,48	4,373	23789,772	21,89%
C18:1	282,47	5,547	4143,825	3,81%
C18:2	280,45	5,867	7370,662	6,78%
C18:2	280,45	6,120	29198,055	26,86%
C18:3	278,44	7,353	7480,556	6,88%
C20:0	308,51	8,713	1118,073	1,03%
C20:0	308,51	9,456	120,560	0,11%
C20:0	308,51	10,093	866,444	0,80%
C20:1	310,52	10,453	1775,621	1,63%
C22:0	340,59	13,874	150,780	0,14%
C24:0	368,65	14,847	122,091	0,11%
C24:1	366,62	15,267	5015,181	4,61%
Somatório			114638,350	100
% Ésteres			77,16%	

Tabela C. 39- Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel, para um teor de etanol de 85%.

Estrutura	MM ácido gordo	Tempo retenção (min)	Área (m ²)	% Éster
C14:0	256,43	2,429	89,237	0,08%
C16:0	254,41	3,527	9605,994	8,84%
C17:0	270,46	3,667	19830,056	18,24%
C18:0	284,48	4,380	24352,415	22,41%
C18:1	282,47	5,560	6146,089	5,65%
C18:2	280,45	5,873	8180,060	7,53%
C18:2	280,45	6,140	23433,754	21,56%
C18:3	278,44	7,360	10081,112	9,27%
C20:0	308,51	8,720	210,324	0,19%
C20:0	308,51	10,093	67,158	0,06%
C20:0	308,51	10,460	1228,445	1,13%
C20:1	310,52	10,847	114,642	0,11%
C22:0	340,59	14,240	219,492	0,20%
C24:0	368,65	14,833	4134,773	3,80%
C24:1	366,62	15,253	998,120	0,92%
Somatório			108691,671	100
% ésteres			89,87%	

Tabela C. 40 - Teor de ésteres etílicos presentes no biodiesel, para um teor de etanol de 92%.

Estrutura	MM ácido gordo	Tempo retenção (min)	Área (m ²)	% Éster
C14:0	256,43	2,627	61,123	0,06%
C16:0	254,41	3,513	30477,222	28,04%
C17:0	270,46	3,653	20101,282	18,49%
C18:0	284,48	4,367	8224,540	7,57%
C18:1	282,47	5,547	9113,240	8,38%
C18:2	280,45	5,860	36159,376	33,27%
C18:2	280,45	6,127	680,490	0,63%
C18:3	278,44	7,353	964,271	0,89%
C20:0	308,51	8,700	3744,864	3,45%
C20:0	308,51	9,655	130,450	0,12%
C20:0	308,51	10,073	457,836	0,42%
C20:1	310,52	10,433	190,113	0,17%
C22:0	340,59	14,020	219,931	0,20%
C24:0	368,65	14,827	879,601	0,81%
C24:1	366,62	15,247	139,911	0,13%
Somatório			111544,250	100
% ésteres			92,15%	

C.4- Custos da produção de Biodiesel

Considera-se que se efetuou a estimativa dos custos da produção de biodiesel, incidindo nos custos energéticos e nos custos dos reagentes para a caracterização da borra de café, óleo e caracterização e produção de biodiesel.

Na Tabela C. 41, Tabela C. 42 e na Tabela C. 43 encontram-se representados os custos energéticos resultantes da caracterização da borra de café, óleo e caracterização e produção de biodiesel. É necessário referir que uma vez que a resistência dos equipamentos não está a funcionar à sua potência máxima durante todo o seu período de funcionamento, nomeadamente do extrator soxhlet, mufla, estufa, manta de aquecimento e banho termostaticado, foi necessário portanto considerar uma fração de tempo para cada um destes: 30% do período de funcionamento para o extrator e bloco de aquecimento, 20% para o banho termostaticado e manta de aquecimento e 10% para a estufa e mufla.

Tabela C. 41- Consumos energéticos resultantes da caracterização da borra de café.

Equipamento	Potência (kW)	Tempo operação/ensaio (h)	Consumo (kW.h)	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo total (€)
Estufa a 105 ± 5 °C	0,12	2,6	0,312	0,042	6	0,254
Mufra	2,9	0,15	0,435	0,059		0,355
Manta de aquecimento	0,27	1,08	0,058	0,008		0,048
Bomba de vácuo	0,12	0,17	0,020	0,003		0,016
Banho termostaticado	1,7	4,25	1,445	0,196		1,178
Rotavapor	0,06	4,25	0,255	0,035		0,208
Bomba de vácuo	0,21	4,25	0,893	0,121		0,728
Extrator Soxhlet	3,3	7,42	7,343	0,998		5,987
Analizador Shimadzu	2,03	0,25	0,508	0,069		0,414
Calorímetro	0,115	0,1	0,012	0,002		0,009
Bomba Calorimétrica	0,0345	0,1	0,003	0,000		0,003
Coluna de destilação	1,5	3,5	5,250	0,713		4,281
Total			16,533	2,247	Total	13,480

Tabela C. 42- Consumos energéticos resultantes da caracterização do óleo da borra de café.

Equipamento	Potência (kW)	Tempo operação/ensaio (h)	Consumo (kW.h)	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo total (€)
Titulador Karl Fischer	0,015	0,083	0,001	0,000	3	0,00041
Thermomix BM	2,1	0,1	0,210	0,029	3	0,086
Calorímetro	0,115	0,25	0,029	0,004	3	0,012
Bomba calorimétrica	0,0345	0,25	0,009	0,001	3	0,004
Rapid Tester S.3	0,46	0,42	0,192	0,026	3	0,078
GC 1000 DPC	2,3	0,33	0,767	0,104	4	0,416
Total			1,208	0,164	Total	0,596

Tabela C. 43- Consumos energéticos resultantes da caracterização e produção do biodiesel.

Equipamento	Potência (kW)	Tempo operação/ensaio (h)	Consumo (kW.h)	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo total (€)
Thermomix BM	2,1	0,1	0,210	0,029	81	2,312
Rapid Tester S.3	0,46	0,42	0,192	0,026	3	0,078
GC 1000 DPC	2,3	0,33	0,767	0,103	24	2,472
Bloco de aquecimento	1,05	14,4	15,12	2,055	7	14,383
		7,2	7,560	1,027	20	20,547
Agitador magnético multiposições	0,65	48	31,2	4,240	7	29,679
		24	15,6	2,120	20	42,398
Bomba a vácuo	0,22	0,083	0,018	0,002	27	0,067
Total			70,667	9,602	Total	111,940

Na Tabela C. 44, Tabela C. 45, Tabela C. 46, Tabela C. 47, Tabela C. 48 e na Tabela C. 49 encontram-se representados os custos dos reagentes resultantes da caracterização da borra de café. As referências dos produtos foram retiradas do site da empresa SIGMA ALDRICH (SA), salvo exceção da água desionizada (Continente) e restantes pelo CIETI. As enzimas provêm do site da Zaubra (Zaubra, 2013) e a glicerina da SKPRO (SkPRO, 2015). O etanol, metanol e hexano comercial provêm do orçamento concedido pelo fornecedor José Manuel Gomes dos Santos.

Tabela C. 44- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de matéria gorda.

Reagentes	Preço compra (€)	Quantidade/ensaio (mL)	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo total (€)	Referência
Hexano	2,1 €/L	200	0,42	6	2,520	JMGS

Tabela C. 45- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de celulose bruta.

Reagentes	Preço compra (€)	Quantidade/ensaio (mL)	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo total (€)	Referência
Ácido sulfúrico	29,2125 €/L	200	5,8425	6	35,055	SA-258105
Água desionizada	0,2 €/L	50	0,01	6	0,060	Continente
Total					35,115	

Tabela C. 46- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de carbono.

Reagentes	Preço compra (€)	Quantidade/ensaio (mL)	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo total (€)	Referência
Ácido fosfórico	53,751 €/L	5	0,269	6	1,613	SA-30417

Tabela C. 47- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de azoto.

Reagentes	Preço compra	Quantidade /ensaio (mL)	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo total (€)	Referência
Octanol	desprezável					
Ácido sulfúrico	29,2125 €/L	12	0,351	6	2,103	SA-258105
Acido bórico 4%	52,029 €/Kg	25 ¹	0,052	6	0,312	SA-B0394
Ácido clorídrico	32,1769 €/L	5,90	0,190	6	1,139	SA- 258148
Hidróxido de sódio 40%	28,57 €/Kg	50 ²	0,571	6	3,428	SA- 06103
Água desionizada	0,2 €/L	75	0,01	6	0,060	Continente
Pastilha catalisador	113,529 €/250 unid	2 unid.	0,908	6	5,449	SA-31108
Total					12,492	

Tabela C. 48- Custo dos reagentes associado à determinação do teor de lenhina.

Reagentes	Preço compra (€)	Quantidade/ensaio (mL)	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo Total (€)	Referência
Água desionizada	0,2 €/L	595	0,119	6	0,714	Continente
Ácido sulfúrico	29,2125 €/L	6,95	0,203026875	6	1,411	SA-258105
Total					2,125	

Tabela C. 49- Custo dos reagentes associado à determinação do Poder Calorífico Superior.

Reagentes	Preço compra (€)	Quantidade/ensaio	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo Total (€)	Referência
Água desionizada	0,2 €/L	2 L	0,4	6	2,4	Continente
Ácido benzoico	49,815 €/100g	0,455	0,227		1,36	SA-33045
Total					3,76	

Na Tabela C.50 à Tabela C. 54 encontram-se representados os custos dos reagentes resultantes da extração e caracterização do óleo da borra de café. Na Tabela C.55 encontram-se os custos dos reagentes inerentes à caracterização e produção de biodiesel.

Tabela C. 50- Custo dos reagentes associado à extração do óleo da borra de café.

Reagentes	Preço de compra		Quantidade usada		Custo total (€)	Referência
	Unidades	Preço	Unidades	Quantidade		
Hexano comercial	€/L	2,1	mL	20	42,0	JMGS

Tabela C. 51- Custo dos reagentes associado à determinação do índice de acidez.

Reagentes	Preço compra	Quantidade/ensaio	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo Total (€)	Referência
Éter dietílico Fishcer	39,63 €/L	25 mL	0,991	3	2,972	SA-34942
Etanol 96%	2,4231 €/L	25 mL	0,061		0,182	CIETI
Hidróxido de potássio	26,691 €/Kg	12,35 mL	0,000		0,001	SA- 484016
Total					3,155	

Tabela C. 52- Custo dos reagentes associado à determinação do índice de iodo

Reagentes	Preço compra	Quantidade/ensaio	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo Total (€)	Referência
Ciclohexano	22,06 €/L	10 mL	0,221	3	0,663	SA-C100307
Ácido acético glacial	35,30 €/L	10 mL	0,353		1,059	SA-ARK2183
Reagente wijs	60,024 €/L	25 mL	1,501		4,502	SA-35071
Iodeto de potássio	97,17 €/Kg	20 mL de uma Solução 100g/L, ou seja, 2g	0,194		0,583	CIETI
Água desionizada	0,2 €/L	2 L	0,030		0,090	Continente
Tiosulfato de sódio	35,916 €/Kg	15,18 mL	0,00721		0,022	SA-72049.
Total					7,768	

Tabela C. 53- Custo dos reagentes associado à determinação do Poder Calorífico Superior.

Reagentes	Preço compra	Quantidade/ensaio	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo Total (€)	Referência
Água desionizada	0,2 €/L	2 L	0,4	3	1,2	Continente

Tabela C. 54- Custo dos reagentes associado à determinação do teor em ésteres.

Reagentes	Preço compra	Quantidade/ensaio	Custo/ensaio (€)	nº ensaios	Custo Total (€)	Referência
Metil heptadecanoato	215,25 €/5 g	0,02 g	0,861	4	3,444	CIETI
Hélio	3,767 €/L	0,020 L	0,075		0,298	AIR LIQUIDE
Hidrogéno	2,338 €/L	0,198 L	0,463		1,851	AIR LIQUIDE
Ar	1,599 €/L	0,040 L	0,063		0,253	AIR LIQUIDE

Tabela C. 55- Custo dos reagentes associado ao processo de produção do biodiesel.

Reagentes	Preço de compra		Quantidade usada		Custo total (€)	Referência
	Unidades	Preço	Unidades	Quantidade		
Lipozyme TL 100L	€/kg	19,1634	g	2	0,038	(Zauba, 2013)
Lipozyme RMIM	€/kg	29,8152	g	30,2	0,900	(Zauba, 2013)
Lipozyme CALB L	€/kg	66,2601	g	2,5	0,166	(Zauba, 2013)
Glicerina	€/L	5	mL	267,5	1,338	(SkPRO, 2015)
Etanol Absoluto >99,8	€/L	3,665	mL	203,83	0,747	JMGS
Metanol 99,9%	€/L	11,07	mL	15,22	0,168	JMGS
Hexano comercial	€/L	2,1	mL	0,044	0,092	JMGS
Metil heptadecanoato	€/5 g	215,25	g	0,48	20,664	CIETI
Hélio	€/L	3,767	L	0,020	1,808	AIR LIQUIDE
Hidrogéno	€/L	2,338	L	0,198	11,110	AIR LIQUIDE
Ar	€/L	1,599	L	0,040	1,535	AIR LIQUIDE
Total					38,567	

D- Exemplos de Cálculo

A fim de potenciar a compreensão dos resultados experimentais obtidos aquando da sua execução experimental, expõe-se aqui os exemplos de cálculo associados à caracterização da borra de café, óleo e do biodiesel, respetivamente. Estes exemplos de cálculo terão por base o ensaio 1 para cada parâmetro.

D.1. Caracterização da borra de café

Os exemplos de cálculo seguidamente aqui apresentados no âmbito da caracterização da borra de café foram efetuados para a borra de café antes da extração do óleo. O raciocínio é efetuado para a borra de café após extração do seu óleo. Iniciando-se pelo teor de humidade:

- Teor de humidade:

$$\text{Teor de Humidade} = \frac{m_{\text{amostra}} - m_{\text{amostra seca}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

Onde,

m_{amostra} – Massa de amostra de café utilizada (g);

$m_{\text{amostra seca}}$ – Massa de amostra de café seca (g).

$$\text{Teor de Humidade} = \frac{5,0992 - 4,2399}{5,0992} \times 100 = 16,85 \%$$

- Teor de cinzas:

$$\text{Teor de Cinzas} = \frac{m_{\text{cinzas}}}{m_{\text{amostra seca}}} \times 100$$

Onde,

m_{cinzas} – Massa de cinzas (g).

$$\text{Teor de Cinzas} = \frac{0,0410}{2,1178} \times 100 = 1,94 \%$$

- Teor de carbono orgânico total:

$$COT = CT - CI$$

Onde,

COT – Carbono Orgânico Total;

CT – Carbono Total;

CI – Carbono Inorgânico.

$$COT = \left(\frac{12,11}{15,60} - 0 \right) \times 100$$

$$COT = 79,2\%$$

- Teor de matéria gorda:

$$\text{Teor de Matéria Gorda} = \frac{m_{\text{óleo}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

Onde,

$m_{\text{óleo}}$ – Massa de óleo obtida (g).

$$\text{Teor de Matéria Gorda} = \frac{0,9603}{10,0266} \times 100 = 9,58\%$$

- Teor de celulose bruta:

$$\text{Teor em Celulose Bruta} = \frac{(m_1 - m_2) \times [100 - (H + G)]}{2}$$

Onde,

m_1 – Massa de borra seca (g);

m_2 – Massa de borra calcinada (g);

H – Teor de Humidade (%);

G – Teor de Matéria Gorda (%).

$$\text{Teor em Celulose Bruta} = \frac{(1,0963 - 0,763) \times [100 - (2,39 + 9,58)]}{2} = 14,68\%$$

- Teor de azoto:

$$\text{Teor de Azoto} = \frac{(V_A - V_B) \times N \times 14,007 \times 100}{m_{\text{amostra}} \times 1000}$$

Onde,

V_A – Volume de titulante gasto na titulação da amostra (mL);

V_B – Volume de titulante gasto na titulação do branco (mL);

N – Normalidade do ácido clorídrico (N);

MM_N – Massa molar do azoto (14,007 g/mol);

$$\text{Teor de Azoto} = \frac{(1,5 - 0,1) \times 0,1083 \times 14,007 \times 100}{0,1258 \times 1000}$$

$$\text{Teor de Azoto} = 1,70 \text{ g}_N / 100 \text{ g}_{\text{amostra}}$$

- Teor de proteínas:

$$\text{Teor de Proteínas} = 6,25 \times \text{Teor de Azoto}$$

$$\text{Teor de Proteínas} = 6,25 \times 1,70$$

$$\text{Teor de Proteínas} = 10,6 \text{ g}_{\text{proteína}} / 100 \text{ g}_{\text{amostra}}$$

- Teor de lenhina total:

$$\text{Lenhina de Klason}_{\text{antes}} = \frac{m_{\text{Lenhina}}}{m_{\text{amostra}}} \times 100$$

Onde,

m_{Lenhina} – Massa da lenhina (g).

$$\text{Lenhina de Klason}_{\text{antes}} = \frac{0,2954}{1,0458} \times 100 = 28,25\%$$

Para uma diluição de 10X:

$$\text{Lenhina Solúvel}_{\text{antes}} = \frac{A_{205\text{nm}} \times V_{\text{filtrado}} \times f}{\varepsilon \times m_{\text{amostra seca}}} \times 100$$

Onde,

$A_{205\text{nm}}$ – Valor medido no espectrofotômetro UV-Vis para a absorvância a 205 nm;

V_{filtrado} – Volume de filtrado (mL);

f – Fator de diluição empregue;

ε – Fator de conversão, equivalente a 100 dm³/g.cm.

$$\text{Lenhina Solúvel}_{\text{antes}} = \frac{0,846 \times 580 \times 1/10}{110 \times 1,0016} \times 100 = 44,52\%$$

- Poder calorífico superior:

$$PCS_{\text{final}} \times m_{\text{final}} = PCS_{\text{amostra}} \times m_{\text{amostra}} + PCS_{\text{ácido}} \times m_{\text{ácido}}$$

Onde,

PCS_{final} – Poder calorífico superior final (cal/g);

m_{final} – Massa final (g);

m_{amostra} – Massa da amostra de borra de café (g);

$PCS_{\text{ácido}}$ – Poder calorífico superior do ácido benzoico (cal/g);

$m_{\text{ácido}}$ – Massa de ácido benzóico (g);

PCS_{amostra} – Poder calorífico superior da amostra de borra de café (cal/g);

$$PCS_{\text{final}} \times 0,9720 = 5510,27 \times 0,5002 + 6311,22 \times 0,4718$$

$$PCS_{\text{final}} = 4754,79 \text{ cal/g}$$

D.2. Caracterização do óleo da borra de café e do biodiesel

- Cálculo da massa molecular do óleo da borra de café:

O cálculo da massa molecular do óleo foi determinado com base no biodiesel obtido através do método proposto por (Abou-Shanab et al., 2011), segundo o procedimento que se encontra no Anexo B.

Tendo sido a composição do biodiesel determinada através de cromatografia gasosa, a fim de proporcionar um melhor entendimento de como se obteve o resultado final para a massa molecular apresenta-se aqui um exemplo de cálculo elucidativo e simplificado. De seguida é apresentada a Tabela D. 1 que resume os ésteres metílicos presentes no biodiesel produzido em causa para o 1^o ensaio, 2^a injeção

Tabela D. 1- Teor de ésteres metílicos presentes no biodiesel.

Éster metílico	Estrutura	Fórmula geral	% Éster parcial
Mirístico	C14:0	C ₁₅ H ₃₀ O ₂	0,09
Palmítico	C16:0	C ₁₇ H ₃₄ O ₂	27,40
Metil Heptadecanoato (Padrão)	C17:0	C ₁₈ H ₃₆ O ₂	19,90
Esteárico	C18:0	C ₁₉ H ₃₈ O ₂	6,44
Oleico	C18:1	C ₁₉ H ₃₆ O ₂	8,33
Linoleico	C18:2	C ₁₉ H ₃₄ O ₂	32,97
Linolénico	C18:3	C ₁₉ H ₃₂ O ₂	0,80
Araquídico	C20:0	C ₂₁ H ₄₂ O ₂	0,45
Gadoleico	C20:1	C ₂₁ H ₄₀ O ₂	0,10
Behénico	C22:0	C ₂₄ H ₄₆ O ₂	0,09
Lignocérico	C24:0	C ₂₅ H ₅₀ O ₂	0,52
Nervónico	C24:1	C ₂₅ H ₄₈ O ₂	0,14
		% Ésteres	82,37

De acordo com a fórmula geral (C_xH_yO_z) para o biodiesel é possível encontrar as suas três incógnitas através das seguintes equações (Equações D.1 e D.2):

$$x = \sum w_i \times x_i \quad \text{Equação D. 1}$$

Onde,

x – Número de átomos de carbono na fórmula geral do biodiesel;

w_i – Fração mássica do componente i;

x_i – Número de átomos de carbono do componente i;

$$y = \sum w_j \times y_j \quad \text{Equação D. 2}$$

Onde,

y – Número de átomos de hidrogénio na fórmula geral do biodiesel;

w_j – Fração mássica de hidrogénio do componente j ;

y_j – Número de átomos de hidrogénio do componente j .

A incógnita z assume o valor constante e igual a 2, uma vez que o número de átomos de oxigénio não varia.

Em suma, obtém-se a seguinte expressão para o número de átomos de carbono, x , e de hidrogénio, y :

$$x = 15 \times 0,09 + 17 \times 27,40 + 18 \times 19,90 + 19 \times 6,44 + 19 \times 8,33 + 19 \times 32,75 + 19 \times 0,80 + 21 \times 0,45 + 21 \times 0,10 + 24 \times 0,09 + 25 \times 0,52 + 25 \times 0,14 = 18,359$$

$$y = 30 \times 0,09 + 34 \times 27,40 + 36 \times 19,90 + 38 \times 6,44 + 36 \times 8,33 + 34 \times 32,7 + 32 \times 0,80 + 42 \times 0,45 + 40 \times 0,10 + 46 \times 0,09 + 50 \times 0,52 + 48 \times 0,14 = 35,179$$

Deduz-se então como fórmula geral a seguinte expressão - $C_{18.567}H_{35.342}O_2$.

Sabendo que a molécula é constituída por uma cadeia alquilo (R) e a outra metiléster (COOCH₃), a fórmula geral pode ser apresentada como RCOOCH₃, em que R representa C _{x'} H _{y'} . Uma vez que se deduzem dois carbonos e três hidrogénios na anterior expressão, de facto, é possível calcular a composição da cadeia alquilo (R) através das duas equações que se seguem:

$$x' = x - 2 \quad \text{Equação D. 3}$$

$$y' = y - 3 \quad \text{Equação D. 4}$$

$$x' = 18,359 - 2 = 16,359$$

$$y' = 35,179 - 3 = 32,179$$

Aplicando as equações D.3 e D.4, a fórmula geral para R fica como C_{16.359}H_{32.179}.

Uma vez que R representa a composição média da cadeia alquilo existente nos ésteres metílicos, considerou-se que os ácidos gordos ligados aos triglicéridos continham a mesma cadeia na sua composição. Deste modo, sabendo que os ácidos gordos apresentam uma composição do tipo RCOOH pode-se considerar que a composição dos ácidos gordos de origem é representada pela fórmula geral C_{16.359}H_{32.179}COOH, ou C_{17.359}H_{33.179}O₂.

Então, o produto entre o número total de átomos e a massa molecular de cada átomo obtém-se a massa molecular do ácido gordo (MM_{AG}), da seguinte forma:

$$MM_{AG} = MM_C \times 17,359 + 33,179 \times MM_H + 2 \times MM_O$$

Onde,

MM_{AG} – Massa molecular em ácidos gordos (g/mol);

MM_C – Massa molecular em ácidos gordos (g/mol);

MM_H – Massa molecular do hidrogénio (g/mol);

MM_O – Massa molecular do oxigénio (g/mol).

$$MM_{AG} = 12 \times 17,359 + 33,179 \times 1,01 + 2 \times 16 = 273,49 \frac{g}{mol}$$

Sendo óleo constituído por moléculas de triglicerídeos, por três grupos de ácidos gordos aos quais se retira um hidrogénio, ligado a um grupo $C_3H_5O_3$, tem-se que a massa molecular do óleo será:

$$MM_{\text{óleo}} = 3 \times [MM_{AG} - MM_H] + MM_{C_3H_5O_3}$$

Onde,

$MM_{\text{óleo}}$ – Massa molecular do óleo (g/mol);

$MM_{C_3H_5O_3}$ – Massa molecular do lactato (g/mol)

$$MM_{\text{óleo}} = 3 \times [273,49 - 1,01] + 89,07 = 906,52 \text{ g/mol}$$

O teor em ésteres pode ser calculado, tendo em consideração os dados da Tabela C. 25 de acordo com a seguinte expressão,

$$\% \text{ Ésteres} = \frac{\sum A \times A_{\text{padrão}}}{A_{\text{padrão}}} \times \frac{V_{\text{padrão}} \times C_{\text{padrão}}}{m_{\text{biodiesel}}}$$

Onde,

$\% \text{ Ésteres}$ – Teor em ésteres etílicos (%);

$A_{\text{Éster}}$ – Área do éster parcial (mV.s);

$\sum A$ – Somatório das áreas (mV.s);

$A_{\text{padrão}}$ – Área do padrão interno (mV.s);

$V_{\text{padrão}}$ – Volume do padrão interno (mL);

$C_{\text{padrão}}$ – Concentração do padrão interno (mg/mL);

$$\% \text{ Ésteres} = \frac{102641,991 \times 20421,392}{20421,392} \times \frac{2 \times 10,014}{97,9}$$

$$\% \text{ Ésteres} = 82,37\%$$

- Índice de acidez

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{((V_{KOH} \times N_{KOH} \times 56,11))}{m_{\text{óleo}}}$$

Onde,

$m_{\text{óleo}}$ – Massa de amostra de óleo (g);

V_{KOH} – Volume de Hidróxido de potássio gasto (mL);

N_{KOH} – Normalidade da solução de Hidróxido de potássio (N);

MM_{KOH} – Massa molecular do Hidróxido de potássio (56,11 g/mol).

$$\text{Índice de Acidez} = \frac{((5,90 \times 0,07827 \times 56,11))}{0,5590}$$

$$\text{Índice de Acidez} = 47,09 \left(\text{mg} \frac{\text{kOH}}{\text{g}} \right)$$

- Índice de iodo

$$\text{Índice de Iodo} = \frac{((V_b - V_a) \times N \times 12,69))}{m_{\text{óleo}}}$$

Onde,

V_b – Volume da solução padrão de tiosulfato de sódio gasta na titulação da amostra (mL);

V_a – Volume da solução padrão de tiosulfato de sódio gasta no ensaio em branco (mL);

N - Concentração da solução padrão de tiosulfato de sódio (mol/L);

$$\text{Índice de Iodo} = \frac{((40,55 - 30,20) \times 0,05329 \times 12,69))}{0,1123}$$

$$\text{Índice de Iodo} = 62,33 \text{ gI}_2/100\text{g}$$

- Massa volúmica

Para a amostra de óleo:

$$d = \frac{m_3 - m_1}{m_2 - m_1}$$

Onde,

d – Densidade do material antes da correção da temperatura (g/cm³);

m_1 – Massa do picnómetro vazio (g);

m_2 – Massa do picnómetro com água destilada (g);

m_3 – Massa do picnómetro com biodiesel (g);

$$d = \frac{41,2887 - 13,3116}{38,6582 - 13,3116}$$

$$d = 0,9060 \text{ g/cm}^3$$

Efetuada a correção da temperatura e sabendo que d água a $25,3^\circ\text{C}$ é o equivalente a $0,9969 \text{ g/cm}^3$ a densidade corrigida fica:

$$d' = d \times d \text{ água a } \theta^\circ\text{C}$$

Onde,

d' – Densidade do material à temperatura a que se realiza a medição (g/cm^3);

d água a $\theta^\circ\text{C}$ – Densidade da água à mesma temperatura (g/cm^3);

$$d' = 0,9120 \times 0,9969$$

$$d' = 0,9032 \text{ g/cm}^3$$

Em contrapartida, para o primeiro ensaio preliminar da produção de biodiesel:

$$d = \frac{51,3172 - 29,3277}{53,4398 - 29,3277}$$

$$d = 0,9120 \text{ g/cm}^3$$

Efetuada a correção da temperatura e sabendo que d água a $20,3^\circ\text{C}$ é o equivalente a $0,9981 \text{ g/cm}^3$ a densidade corrigida fica:

$$d' = 0,9120 \times 0,9981$$

$$d' = 0,9102 \text{ g/cm}^3$$

- Viscosidade cinemática

$$v = K (t - \partial)$$

Onde,

K – Constante;

t – Tempo experimental de passagem do fluido (seg);

∂ – Fator de correção da tabela de fatores de correção de *Hagenbach*.

Recorreu-se a um viscosímetro nº 200 cuja constante k a 40°C assume o valor $0,1067$ e ∂ , fator de correção, segundo a Tabela de *Hagenbach* assume valor nulo. Assim sendo:

$$v = 0,1067 (355 - 0)$$

$$v = 38,95 \text{ mm}^2/\text{s}$$

- Poder Calorífico Superior

A determinação do poder calorífico superior é obtida diretamente através do calorímetro e assumiu o valor de 8968,4325 cal/g para uma massa de óleo de 0,5034 g.

- Teor em água

A determinação do teor em água realizada pelo método de *Karl Fisher* por coulometria leu-se diretamente no equipamento, tendo-se obtido o valor de 0,1509 %, o equivalente a 1509 ppm.

- Ponto de inflamação

O ponto de inflamação determinado pelo método de tentativa/erro lido diretamente no equipamento *Petrotest* resultou num ponto superior a 120 °C.

D.3. Otimização da produção de biodiesel

- Rendimento da reação:

O rendimento da reação para o primeiro ensaio preliminar pode ser calculado de acordo com a seguinte expressão,

$$\eta = \frac{m_{\text{biodiesel}}}{m_{\text{óleo}}} \times 100$$

Onde,

η – Rendimento da reação (%).

$$\eta = \frac{30,1}{40,3} \times 100 = 74,69 \%$$

De seguida apresentam-se os exemplos de cálculo que auxiliaram na determinação do volume de álcool, hexano e massa de enzima necessários para cada um dos ensaios de preliminares, seguindo-se o mesmo procedimento para os ensaios de otimização. Para o primeiro ensaio, tendo-se utilizado uma massa de óleo equivalente a 40,3 g:

- Volume de álcool para razão molar 1:4:

Para obter o volume de Metanol tem-se que,

$$n_{\acute{o}leo} = \frac{m_{\acute{o}leo}}{MM_{\acute{o}leo}}$$

$$n_{\acute{o}leo} = \frac{40,31}{904,58}$$

$$n_{\acute{o}leo} = 0,0446 \text{ mol}$$

$$n_{\acute{a}lcool} = 4 \times n_{\acute{o}leo}$$

$$n_{\acute{a}lcool} = 4 \times 0,0446$$

$$n_{\acute{a}lcool} = 0,1784 \text{ mol}$$

$$m_{\acute{a}lcool} = n_{\acute{a}lcool} \times MM_{\acute{a}lcool}$$

Onde,

$m_{\acute{a}lcool}$ – Massa de álcool necessária (g);

$n_{\acute{a}lcool}$ – Número de moles de álcool (mol);

$MM_{\acute{a}lcool}$ – Massa molecular de álcool (g/mol).

$$m_{\acute{a}lcool} = 0,1784 \times 32,04$$

$$m_{\acute{a}lcool} = 5,716 \text{ g}$$

$$V_{\acute{a}lcool} = \frac{m_{\acute{a}lcool}}{\rho_{\acute{a}lcool}}$$

Onde,

$V_{\acute{a}lcool}$ – Volume de álcool necessário (mL);

$\rho_{\acute{a}lcool}$ – Massa volúmica do álcool (g/cm³).

$$V = \frac{5,716}{0,7918} = \pm 7,22 \text{ mL}$$

O volume de Etanol é calculado da mesma forma, substituindo somente $MM_{\acute{a}lcool}=46,07$ g/mol e $\rho_{\acute{a}lcool}=0,789$ g/cm³.

- Volume de co-solvente:

Para obter o volume de hexano correspondente a 20% do volume em álcool tem-se que,

$$V_{co-solvente} = 0,2 \times V_{\acute{a}lcool}$$

Onde,

$V_{co-solvente}$ – Volume de co-solvente necessário (mL).

$$V_{co-solvente} = 0,2 \times 7,22$$

$$V_{co-solvente} = \pm 1,44 \text{ mL}$$

- Massa de enzima:

Para uma concentração de enzima 2,5% tem-se que,

$$m_{enzima} = 0,025 \times m_{óleo}$$

Onde,

m_{enzima} – Massa de enzima necessária (g).

$$m_{enzima} = 0,025 \times 40,31$$

$$m_{enzima} = \pm 1,00 \text{ g}$$

D.4. Ensaio com adição de água ao etanol

Pretende-se que as condições otimizadas sejam mantidas, isto é, uma concentração de enzima de 4,5 %, razão molar 5:1 e temperatura de 45°C, procurou-se determinar o volume de água necessário adicionar ao álcool para que este passasse de um teor de 99,8 % para um teor de 75 %, 85 % e 92 %, respetivamente. Como tal, exemplificando para um teor de 75%:

$$C_1 \times V_1 = C_2 \times V_2$$

Onde,

C_1 – Concentração do etanol puro (%);

V_1 – Volume de etanol a adicionar (mL);

C_2 – Concentração do etanol pretendida (%);

V_2 – Volume de mistura etanol e água necessário (mL).

$$99,8 \times V_1 = 75 \times 9,2$$

$V_1 = 6,91 \text{ mL}$ de etanol, perfazendo com água até aos 9,2 mL.

Para um teor de 85% e de 92% são necessários $\pm 7,84$ e 8,48 mL de etanol, respetivamente.

D.5. Custos de produção de biodiesel

Exemplo de cálculo do consumo energético e custo energético total para a estufa (*Binder*):

Sendo a potência do equipamento 0,12 kW para um tempo de operação total por ensaio de 26 horas, tem-se que:

$$\text{Consumo energético} = 0,12 \text{ kW} \times 2,6 \text{ horas} = 0,312 \text{ kW} \cdot \text{h}$$

Para o preço médio da tarifa de energia elétrica, o tarifário enquadra-se nos horários de Baixa Tensão Especial, longas utilizações de acordo com os dados fornecidos pela EDP.

Tabela D. 2- Tarifário de baixa tensão especial para longas utilizações.

Tarifa de Energia Elétrica		
Horas	Horas de Ponta	Horas Cheias
Horário Inverno (h.min)	9.30-12.00 18.30-21.00	7.00-9.30 12.00-18.30 21.00-24.00
€/kWh	0,1546	0,1215

O preço médio da tarifa de energia elétrica, sabendo que não existem horas de vazio normal e super vazio durante o período de realização dos ensaios de 11,5 horas, das quais 5 horas enquadram-se nas horas de ponta e as restantes nas horas cheias é dada por:

$$\text{Preço médio da tarifa de energia elétrica} = \frac{\text{Horas de ponta} \times \text{tarifa de Horas de ponta} + \text{Horas cheias} \times \text{arifa Horas cheias}}{n^{\circ} \text{ de Horas totais}}$$

$$\text{Preço médio da tarifa de energia elétrica} = \frac{5 \text{ h} \times 0,1546 \frac{\text{€}}{\text{kW}} \cdot \text{h} + 6,5 \text{ h} \times 0,12 \text{ €/kW} \cdot \text{h}}{11,5 \text{ h}}$$

$$\text{Preço médio da tarifa de energia elétrica} = 0,135 \text{ €}$$

Sabendo que o preço médio da tarifa elétrica é de 0,135 €/kW.h, o custo por ensaio é dado por:

$$\frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} = \text{Consumo energético} \times \text{Preço médio da tarifa da energia elétrica}$$

$$\frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} = 0,312 \text{ kW} \cdot \text{h} \times 0,135 \frac{\text{€}}{\text{kW}} \cdot \text{h} = 0,042 \text{ €}$$

Tendo-se efetuado um total de 6 ensaios, tem-se que o custo total:

$$\text{Custo Total} = \frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} \times n^{\circ} \text{ Total de ensaios}$$

$$\text{Custo Total} = 0,042 \times 6 = 0,254 \text{ €}$$

Exemplo de cálculo do custo total do reagente tiosulfato de sódio usado na determinação do número de iodo:

Como a solução de tiosulfato de sódio é de 0,05329 mol/L e usou-se 15,18 mL para cada ensaio pode-se determinar qual foi a massa de tiosulfato de sódio usada para cada ensaio na caracterização do óleo. Assim, vem:

$$\frac{\text{Quantidade}}{\text{ensaio}} = \text{Concentração}_{\text{solução}} \times \text{Volume}_{\text{solução}} \times \text{Massa molar}_{\text{Tioissulfato}}$$

$$\frac{\text{Quantidade}}{\text{ensaio}} = 0,05329 \frac{\text{mol}}{\text{L}} \times 0,01518 \text{ L} \times 248,18 \frac{\text{g}}{\text{mol}} = 0,2 \text{ g}$$

O custo por ensaio é dado por:

$$\frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} = \frac{\text{Quantidade}}{\text{ensaio}} \times \text{Custo do reagente}$$

$$\frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} = 0,2 \text{ g} \times 0,035916 \text{ €/g} = 0,007 \text{ €}$$

O custo total é dado por:

$$\text{Custo total} = \frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} \times n^{\circ} \text{ ensaios}$$

$$\text{Custo total} = 0,007 \text{ €} \times 3 = 0,022 \text{ €}$$

Exemplo de cálculo do custo total do reagente metil heptadecanoato para a determinação do teor de ésteres na caracterização do óleo:

Considerando que a solução de metil heptadecanoato é de aproximadamente 10 mg/mL e que se usou 2 mL para cada ensaio, a massa de metil heptadecanoato usada para cada ensaio é dada por:

$$\frac{\text{Quantidade}}{\text{ensaio}} = \text{Concentração}_{\text{solução}} \times \text{Volume}_{\text{solução}}$$

$$\frac{\text{Quantidade}}{\text{ensaio}} = 10 \frac{\text{mg}}{\text{mL}} \times 2 \text{ mL} = 20 \text{ mg}$$

O custo por ensaio é dado por:

$$\frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} = \frac{\text{Quantidade}}{\text{ensaio}} \times \text{Custo do reagente}$$

$$\frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} = 20 \text{ mg} \times 0,4305 \text{ €/mg} = 0,861 \text{ €}$$

O custo total é dado por:

$$\text{Custo total} = \frac{\text{Custo}}{\text{ensaio}} \times n^{\circ} \text{ ensaios}$$

$$\text{Custo total} = 0,861 \text{ €} \times 4 = 3,444 \text{ €}$$