

**Extração, Hidro-Esterificação e Metilação dos Lipídios da Macroalga *Gracilaria caudata*,
Aplicando Catalise Heterogenea na Preparação do Biodiesel**

**Extraction, Hydro-Lipid Methylation and Esterification of Macroalgae *Gracilaria caudata*,
Applying Heterogeneous Catalysis in Preparation of Biodiesel**

Iolanda Cristiny Nascimento Duarte¹, Luiz Gonzaga de Oliveira Matias¹, Luiz Di Souza¹,
Carlos Henrique Catunda Pinto¹, Rosinere Ferreira da Costa Rebouças¹, Anderson Fernandes
Gomes²

*Universidade do Estado do Rio Grande do Norte*¹
iolandaduarte88@hotmail.com, Luizmatias@uern.br
souzaluzdi@gmail.com, carloscatunda@uern.br
roseuern@yahoo.com.br

*Instituto Federal do Rio Grande do Norte*²
gomesfisica007@hotmail.com

RESUMO: O biodiesel se enquadra perfeitamente nas exigências ambientais requeridas por ser um biocombustível renovável, biodegradável e não-tóxico apresentando-se como uma possível solução para amenizar os problemas atuais provocado pela dependência do petróleo pela sociedade, reduzindo alguns efeitos causadores do aquecimento global. O presente trabalho relata a extração dos lipídios da macroalga *Gracilaria caudata* e a utilização dos mesmos na preparação do biodiesel. A metodologia utilizada para extração dos lipídios foi extração à quente usando hexano como solvente e também o método de extração a frio, usando a mistura de solventes, clorofórmio/metanol numa proporção de 2:1. O método de conversão foi hidro-esterificação usando iodo sublimado na presença de álcool, etílico ou metílico. Com essa metodologia pode-se obter resultados interessantes para a aplicação do biodiesel feito a partir da matéria prima.

PALAVRAS-CHAVE: Biodiesel; Catalise; macroalgas

ABSTRACT: Biodiesel has the features and fits perfectly in environmental demands required to be a biofuel renewable, biodegradable and non-toxic presenting as a possible solution to alleviate the current problems caused by oil dependence by society, reducing some effects cause of global warming. This project reports the extraction of oils from macroalgae *Gracilaria caudata* and their use in the preparation of biodiesel, with the goal of extracting lipids from algae biofuel studied and prepared from the same. The methodology used to extract vegetable oils were hot extraction using hexane as the solvent and also the cold-extraction method using the solvent mixture chloroform/methanol 2:1. The conversion method has been dihydro-esterification using sublimed iodine in the presence of alcohol, ethyl or methyl. This methodology and study can obtain interesting results for the application of biodiesel made from the raw material, even with low yield in the extraction of lipids believe a possible solution to this problem.

KEYWORDS: Biodiesel; Catalysis; Macroalgae

1. INTRODUÇÃO

A busca por novas matérias-primas para serem testadas como reagentes na fabricação de biodiesel. Levou os pesquisadores a investirem mais em uma parte extremamente importante da química, que é a biotecnologia. Sendo assim, muitos estudos estão sendo feitos com a finalidade de utilizar as micro-algas e as macroalgas para produção de biodiesel ((HALLENBECK, ADBELAZIZ, LEITE, 2013; CRUZ, FRANCO, LOBO, 2013; FILHO et al, , 2013; YANG et al, , 2013; WANG, GENG, DAROCH, 2013; MACEIRAS et al, , 2011; PARK, KIM, LIM, JUNG, 2013, RENGANATHAN, SUGANYA, KASIRAJAN, 2014; CHIDAMBARAM, BALA, MISRA, 2014; CHENG et al, 2014; SEIDER et al, 2014; DENG et al, 2014; BUX et al, 2014).

Apesar das macroalgas apresentarem uma quantidade baixa de óleo na extração, isso não impede os pesquisadores de estudá-las. Uma vez, que as mesmas são de fácil produção e os métodos de extração e aplicação dos lipídios seguem os mesmos procedimentos usados para microalgas (REBOUÇAS, 2013).

Recentes trabalhos na literatura descrevem que as micro-algas apresentam elevada concentração de lipídeos comparada às oleaginosas, mas apresentam um fator muito importante, são produzidas 200 toneladas de óleo por hectare/ano, enquanto que a mamona produz apenas 1 tonelada de óleo por hectare/ano (CRISTI, 2008).

Entre as matérias-primas para produção de biodiesel de óleo vegetal, o método via micro-algas foi sem dúvida o que ganhou mais espaço na mídia por apresentar duas características

básicas que são: utilizar terras não agrícolas e fácil cultivo das algas. As micro-algas e as macroalgas podem ser criadas em terras não agrícolas, ajudando na conservação das terras, pois elas são cultivadas em cativeiros (AZEVEDO, 2012; REBOUÇAS, 2013).

Assim o presente trabalho tem como objetivo principal, um estudo da extração dos lipídios a partir da macroalga *Gracilaria caudata* (figura 1), que foram coletadas no litoral do Ceará, na cidade de Icapuí - CE, além de preparar biocombustíveis a partir dessas macroalgas, através da metodologia de hidroesterificação.



Fig. 1. *Gracilaria Caudata*
Fonte : Meireles (1991)

2- METÓDOS DE EXTRAÇÃO DA MATÉRIA ORGÂNICA

Os lipídios contidos nas algas podem ser extraídos por diversos métodos. Sendo que os métodos mais conhecidos são: os métodos à quente, como a extração Soxhlet e os métodos a frio, como o de Blich e Dyer, o de Folch e a extração ultra sônica.

2.1- Extração Soxhlet

A extração Soxhlet é o mais antigo e mais utilizado método para extração de óleo de amostras sólidas. Ela consiste na extração líquido-líquido do material orgânico contido na amostra pelo seu contato com um solvente em ebulição, sendo o solvente apolar mais utilizado o hexano. O tempo desse processo de extração varia de 1 até 72 horas (MIGUEL,1989). Nesse equipamento utiliza-se um refluxo de solvente, onde o mesmo quente entra em contato com a amostra, salientando que ocorre um gasto excessivo de solvente.

2.2- Extração por Ultrassom

O processo de ultrassom utiliza a energia sonora que é transmitida a uma frequência maior que a capacitada pelo ouvido humano. Essa técnica é uma extração alternativa ao método Soxhlet e tem sido usada para a extração de diversos compostos orgânicos de uma ampla diversidade de materiais, podendo ser considerada igual ou melhor que a extração Soxhlet. Esse processo baseia-se na agitação mecânica causada pela onda ao se propagar pelo meio e na cavitação produzida quando o meio de propagação é um líquido (LUZ, 1998).

A tecnologia adotada na utilização de ultrassom pode ser dividida entre duas principais áreas: alta potência e baixa potência. O ultrassom de alta potência caracteriza-se pela elevada frequência, pequenas translocações, moderada velocidade e alta aceleração. Sua principal utilidade está nos banhos de limpeza soldas, reações químicas, emulsificações, dentre outras. As ondas ultrassônicas de baixa frequência e baixa amplitude de propagação são muito usadas em campos da ciência, engenharia e medicina, para ensaios e diagnósticos (BARBOSA et al., 1992).

2.3- Extração Folch

Nesse método é utilizada a junção do clorofórmio e metanol com a amostra a ser extraída o material oleoso. Várias técnicas de extração com solventes têm sido utilizadas para extração de lipídios em carnes. A maioria dos métodos para determinação de lipídios totais é baseada no método de Folch et al. (1957). Entretanto, vale ressaltar que o clorofórmio é apontado como cancerígeno e o metanol causador de danos visuais, pesquisadores têm desenvolvido métodos que utilizam substâncias menos tóxicas, porém eficientes.

2.4- Extração Blich e Dyer (Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, v.37. 1959).

O método Blich-Dyer utiliza a mistura de três solventes, clorofórmio-metanol-água. A amostra é misturada com o metanol e clorofórmio que estão numa proporção que formam uma só fase com a amostra. Onde ao adicionar o clorofórmio a solução começa a possuir duas fases, que facilita a remoção dos lipídios pela evaporação.

O método tem uma série de vantagens em relação à extração a quente:

- Ocorre a extração de todas as classes de lipídeos, inclusive os polares que representam um alto teor em produtos de trigo e soja e são importantes para avaliações dietéticas;

- Os lipídeos são extraídos sem aquecimento e os extratos podem ser utilizados para avaliação de deterioração dos lipídeos através dos índices de peróxidos e ácidos graxos livres, além da determinação do teor de carotenóides, vitamina E, composição de ácidos graxos e esteróis;

- Pode ser utilizado em produtos com altos teores de umidade, além dos produtos secos;

- A determinação completa pode ser realizada em tubos de ensaio não necessitando de equipamentos especializados e sofisticados (CECCHI, 1999).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

A seguir apresentamos o desenvolvimento da metodologia aplicada nesse trabalho, juntamente com os materiais utilizados.

2.1- Obtenção da Matéria Prima

As macroalgas são criadas em cativeiro na colônia de pescadores na cidade de Icapuí – CE com distancia de 84 km da cidade de Mossoró-RN. As macroalgas foram selecionadas de acordo com a quantidade de lipídeos que apresentam. Onde foram coletadas em período de maré baixa, tratadas, lavadas com água purificada e pesadas.

2.2- Preparação da Amostra

Uma parte da amostra foi estocada em freezer a -15 °C, e a outra foi liofilizada. A liofilização foi realizada com 30g de macroalga, por 24h. As macroalgas liofilizadas também foram estocadas em freezer. No momento das análises as amostras foram transferidas para um multiprocessador de alimentos, onde foram trituradas. Após a trituração do material ocorreu à extração do material sólido.

2.3- Análise Biométrica

As macroalgas foram previamente pesadas para obter informações relacionadas à umidade da amostra e o percentual lipídico contido nas mesmas, onde esses dados possuem um grande grau de importância de análises no custeio do processo.

2.4- Determinação da Umidade da Matéria Prima

A umidade foi determinada pesando três amostras de 30 g de macroalgas. Em seguida foram submetidas a uma temperatura de 105 °C durante 24 horas em uma estufa. O valor da umidade foi expresso em percentagem, tomando como base a perda de massa em relação ao valor inicial. O valor adotado como a umidade das macroalgas foi à média aritmética das três medidas.

2.5- Extração à Quente

As macroalgas foram secas e trituradas em um liquidificador usual, em seguida foram separadas as amostras em um peso de aproximadamente 30g em cada extrator sendo submetido à extração do sistema Soxhlet por 24 horas, utilizando o hexano como solvente. Depois de extraído o material, o solvente foi evaporado em um rotaevaporador Quimis Q344B2, para obtenção do material lipídico.

2.6- Extrações à Frio

Neste tópico o material lipídico foi extraído com solvente a temperatura ambiente, utilizando os métodos descritos a seguir.

2.6.1- Metodo de Bligh e Dyer

Foi pesado 10g de macroalgas em um erlenmeyer de 250 ml, adicionou-se 50 ml de metanol, 25 ml de clorofórmio e 10 ml de água. Manteve sob agitação a temperatura ambiente por 4 horas, após esse tempo filtrou e colocou a mistura num funil de separação para ocorrer à separação das fases. Separou-se a fase orgânica, secou sob sulfato de sódio anidro e evaporou o solvente a vácuo.

2.6.2. - Método Ultrasom

Pesou-se 1g da macroalga e em seguida adicionou-se os solventes clorofórmio e metanol numa proporção de 2:1, e durante 1 hora num equipamento Lavadora Ultra-Sonica Plus 3LD (figura 2) para proceder a extração. Após esse

processo foi utilizado o mesmo procedimento com os solventes diclorometano e metanol na proporção 2:1 com a mesma quantidade das amostras.



Figura 2 - Lavadora Ultra Sonica 3LD.
Fonte: Duarte 2011

2.7- Reação de Transesterificação *In Situ* da *Gracilaria caudata*

Colocou-se para refluxar, 10 g macroalga em pó, 30 mL de etanol absoluto, 50 mg de iodo e 50 mL de hexano. A mistura foi refluxada por 30 horas. Após esse tempo, resfriou-se a temperatura ambiente, evaporou-se o solvente a vácuo, diluiu-se com 20 ml de éter etílico e lavou-se três vezes com uma solução saturada de tiosulfato de sódio. Em seguida colocou-se sulfato de sódio anidro, filtrou-se, evaporou-se o solvente a vácuo e obteve-se 0,1000 g (10%) de um óleo amarelado escuro.

2.8- Hidrólise dos Lipídios

Pesou-se 1,0000 g dos lipídios da macroalga em um balão de fundo redondo. Em seguida, adicionou-se 10 ml de uma solução etanólica 1 Molar de KOH. Refluxou-se por 1 hora, resfriou-se a temperatura ambiente. Transferiu-se para um funil de separação e extraiu-se cuidadosamente com éter de petróleo, três vezes de 30 mL. Em seguida, acidificou-se até pH próximo de 2, com HCl 6 Molar. Logo após, extraiu-se os ácidos graxos com éter etílico, quatro vezes de 30 mL. Em seguida, secou-se com sulfato de sódio anidro, evaporou-se o solvente a vácuo e obteve-se após evaporação 0,8000g (80%) dos ácidos graxos.

2.9- Reação de Esterificação dos Ácidos Graxos

Pesou-se 0,5000g dos ácidos graxos da macroalga em um balão de 50 mL de fundo redondo, adicionou-se 15 mL de metanol anidro e adicionou-se 30 mg de iodo sublimado. A reação foi mantida sob refluxo por 24 horas, após esse tempo, resfriou-se a temperatura ambiente e transferiu-se para um funil de separação. Diluiu-se com 20 mL de éter etílico e lavou-se a fase orgânica com uma solução saturada de tiosulfato de sódio. Em seguida, colocou-se o secante, no caso o sulfato de sódio, filtrou-se e evaporou-se o solvente a vácuo no rotoevaporador para obter os ésteres metílicos com 89% de rendimento.

3. RESULTADOS E DISCUSSÕES

Serão relatados os resultados obtidos com as análises realizadas na tabela 1 a seguir.

Tabela 1 - Dados biométricos da *Gracilaria caudata*, relacionando o rendimento de cada extração.

Rendimento da Extração à Quente (%)	Rendimento da Extração à Frio (%)	Rendimento da Extração Ultrassom Bliger (%)	Rendimento da Extração Ultrassom com Hexano (%)
0,15	0,7	1,2	0,2

O método de BLIGH, já era esperado apresentar um ótimo rendimento, já que a técnica de ultrassom aumentou muito a velocidade da reação. A umidade da matéria prima sempre favorece a utilização do método de extração por solvente à frio (método de Bligh e Dyer), uma vez que a extração do material lipídico independe da umidade e acidez da amostra. Onde se tem a informação que quanto maior o índice de insaturações dos ácidos graxos, menor sua estabilidade oxidativa, conseqüentemente o material é degradado com maior facilidade.

O método de extração à frio apresentou melhor rendimento se comparado ao método à quente (Soxhlet), devido ao fato do clorofórmio ser um solvente orgânico para qualquer classe de lipídio, e o metanol ter a função dupla de facilitar a umectação da amostra e desfazer as fortes ligações entre os lipídios e as membranas celulares ou sua ligação nas lipoproteínas (BLIGH E DYER, 1959; CHRISTIE, 1982 APUD FELTES, 2006).

Na extração pelo método a quente ocorre uma perda significativa do material lipídico, devido grande parte do material ficar no balão de destilação. A menor proporção dos lipídios extraídos à quente em relação aos lipídios extraídos pelo método à frio, está relacionada com a utilização do hexano que extraiu apenas os compostos apolares.

Os resultados adversos obtidos na reação de transesterificação *in situ* da *Gracilaria caudata* nos levou a abandonar essa proposta de síntese e optar pela hidro-esterificação..

O processo de hidrólise levou à formação dos saponificáveis. Os insaponificáveis devem ser removidos, pois o referido material contamina a amostra, dificultam a reação de esterificação e compromete a qualidade do biodiesel. Em contrapartida, o material saponificável consiste em um material passível de transformação em monoésteres pelo processo de transesterificação (CORDEIRO, 2008), ou depois de acidificada pode convertida em biodiesel via esterificação dos ácidos graxos. Os saponificáveis são solubilizados pela água por apresentarem parte de sua estrutura com caráter hidrofílico, o que possibilita sua dissolução em meio aquoso. Conseqüentemente, permitindo sua separação dos insaponificáveis por meio de extração com solventes. O material saponificado é acidificado, pois tal procedimento promove a formação de ácidos graxos. O produto então é separado, dos sais gerados nas reações anteriores, para, então, ser submetido à esterificação (GOMES, 2011).

Após a hidrólise, com remoção dos insaponificáveis e acidificação, pode-se obter a matéria prima com um acentuado rendimento. Esse aspecto pode-se atribuir o fato dos ácidos graxos apresentarem um elevado grau de insaturação. O resultado obtido favoreceu o emprego da esterificação dos ácidos graxos e sua eventual conversão em ésteres. Vale salientar, que a esterificação consiste em um processo reversível e um excesso de álcool desloca o equilíbrio no sentido de formação do biodiesel. Após a esterificação o material deve ser diluído em éter etílico, pois o procedimento ajuda na visualização das fases durante a remoção do catalisador. O iodo sublimado é removido com a solução de tiosulfato de sódio, pois o mesmo sofre uma reação de oxirredução gerando o íon iodeto. A taxa de conversão em massa dos ácidos graxos em biodiesel foi de 89,0 %. Ressaltando que a matéria-prima (*Gracilaria caudata*) empregada para síntese do biodiesel, mesmo depois do procedimento da remoção de boa parte das impurezas, ainda pode conter material insaponificável e parte dos ácidos graxos pode ter ficado sem reagir, em virtude de não se ter otimizado o processo (RAMALINGA, 2002).

Os ésteres metílicos foram caracterizados por infravermelho, pois apresentou uma banda de absorção em 1740 cm^{-1} , característica de C = O de ésteres e por ressonância magnética nuclear de prótons, onde apresentou um singlete de $-\text{OCH}_3$, típico de metoxila (SILVERSTEIN, 1991).

4. CONCLUSÕES

Os resultados obtidos são bastante interessantes e demonstram a viabilidade da aplicação da macroalga *Gracilaria Caudata*, como matéria prima para produção do biodiesel. Apesar no baixo rendimento na etapa de extração dos lipídios, acreditamos que esse problema pode ser resolvido,

aplicando uma extração via supercrítico, onde os dados da literatura apresentam excelentes resultados, (ARESTA, 2005a; ARESTA, 2005b. Mais além desses fatos, pode-se notar:

- O método de Bligh e Dyer é mais positivo para extração do material lipídico;
- Em algum instante a umidade interferiu na obtenção do material orgânico para a produção do biodiesel.

5. AGRADECIMENTOS

Ao BNB, pela concessão da bolsa de mestrado, no Programa de Pós-Graduação do Mestrado em Ciências Naturais da UERN - PPGCN. Ao PIBIC – UERN pela aprovação do projeto em caráter voluntário e a Fundação das Mulheres de Icapui - CE pela doação das macroalgas.

6. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ARESTA, M.; DIBENEDETTO, A.; CARONE, M.; COLONNA, T.; FRAGALE, C., **Production of biodiesel from macroalgae by supercritical CO₂ extraction and thermochemical liquefaction**, Environ. Chem. Lett., (3), 136-139, 2005a.

ARESTA, M.; DIBENEDETTO, A.; BARBERIO, G., **Utilization of macro-algae for enhanced CO₂ fixation and biofuels production: development of a computing software for an LCA study**, Fuel Processing Technology, (86), 1679-1693, 2005b.

AZEVEDO, V.B.S.; **Produção de Biodiesel a partir do Cultivo de Microalgas Estima de Custos e Perspectivas para o Brasil**, Dissertação de Mestrado, COPPE –UFRJ, 2012.

BARBOSA, J.C.S.; SERRA, A.A.; **Ultra-som (i): influência do ultra-som na química**, Química Nova (15), 302-316, 1992.

BLIGH, E.G. e DYER, W.J. **A rapid method of total lipid extraction and purification**. Canadian Journal of Biochemistry and Physiology, (.37),. 911-917, 1959.

BUX, F.; SINGH, B.; GULDHE, A.; RAWAT, I., **Towards a sustainable approach for development of biodiesel from plant and microalgae**, Renewable and Sustainable Energy Reviews, (29), 216-245, 2014.

CECCHI, H. M.. **Fundamentos Teóricos e Práticos em Análise de Alimentos**, 2ª Edição, Campinas, SP, Editora da UNICAMP, 2003.

CHENG, J.; HUANG, R.; YU, T.; LI, T.; ZHOU, J.; CEN, K., **Biodiesel production from lipids in wet microalgae with microwave irradiation and bio-crude production from algal residue through hydrothermal liquefaction**, Bioresource Technology, (151), 415-418, 2014.

- CHIDAMBARAM, D.; BALA, D.D.; MISRA, M., **Single step esterification of algae oil using mesoporous solid acid catalyst**, Fuel, (117), 1093-1095, 2014.
- CHISTI, Y., **Biodiesel from microalgae beats bioethanol**. Trends Biotechnol., (26), 126–131, 2008.
- CHRISTIE, W. W. **Lipid Analysis**. 2 ed. Oxford: Pergamon Press, 207, 1982.
- CORDEIRO, C. S.; **Compostos Lamelares Como Catalisadores Heterogêneos em Reações de (Trans) Esterificação (M)Étilica**. ; Tese (Doutorado em Química) – Universidade Federal do Paraná, Curitiba, PR, 2008.
- CRUZ, R.S.; FRANCO, A.L.C.; LOBO, I.P., **Biodiesel de Microalgas: Avanços e Desafios**, Química Nova, 36(3), 437-448, 2013.
- DENG, S.; REDDY, H.K.; MUPPANENI, T.; PATIL, P.D.; PONNASAMY, S.; COOKE, P.; SCHAUB, T., **Direct conversion of wet algae to crude biodiesel under supercritical ethanol conditions**, Fuel, (115), 72-726, 2014.
- DUARTE, Y.C.N., **Preparação de biodiesel a partir das macroalgas: *Gracilaria caudata*, *Gracilaria birdiae*, *Gracilaria domingensis***, Departamento de Química – UERN, 2012.
- FELTES, M. M. C.; **Estudo da síntese enzimática de triglicerídeos a partir de óleo de peixe**. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis, 2006.
- FILHO, N.R.A., MENEZES, R.S.; LELES, M.I.G.; SOARES, A.T.; MELO FRANCO, P.I.B., **Avaliação da potencialidade de microalgas dulcícolas como fonte de matéria-prima graxa para a produção de biodiesel**, Química Nova, 36 (1), 10-15, 2013.
- FOLCH, J., LEES, M., STANLEY, G.H.S., **A simple method for the isolation and purification of total lipides from animal tissues**. J. Biol. Chem. (226), 497–509, 1957.
- GOMES, A.F., **Extração do Óleo das Vísceras de Sardinha, Síntese e Caracterização do Biodiesel**, Departamento de Química – UERN, 2011.
- HALLENBECK, P.C.; ADBELAZIZ, A.E.M.; LEITE, G.B., **algal biofuels: challenges and oppoutnities**, Bioresource Techonology, (145), 134-141, 2013.
- LUZ, L.P., **Estudo do ultrassom como técnica de extração de carvões e caracterização dos hidrocarbonetos poli aromáticos**., Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, UFRGS, 1998
- MACEIRAS, R.; RODRIGUEZ, M.; CANCELA, A.; URREJOLA, S.; SANCHEZ, A., **Macroalgae: raw material for biodiesel production**, applied Energy, (88), 3318-3323, 2011.
- MEIRELES, A.J.A. (1991): **Mapeamento geológico/geomorfológico da planície costeira de Icapuí, extremo leste do Estado do Ceará**. Diss. Mestrado, Centro de Tecnologia, Departamento de Geologia da Universidade Federal de Pernambuco - UFPE. Recife, 178, 1991.
- MIGUEL, A.; ANDRADE, J.B. **Rapid Quantification Of Tem Polycyclic Aromatic Hydrocarbons In Atmospheric Acrosols By Direct HPLC Separation After Ultrasonic**

Acetonitrile Extraction. Internaciona Journal Of Environmental Analytical Chemistry, (35), 35-41. 1998.

PARK, J.M.; KIM, Y.; LIM, S.R.; JUNG, K.A., **Potentials of macroalgae as feedstocks for biorefinery**, Bioresource Technology, (135), 182-190, 2013.

RAMALINGA, K; VIJAYALAKSHMI, P.; **A Mild and Efficient Method for Esterification and Transesterification Catalyzed by Iodine**, Tetrahedron Letters, (43), 879-882, 2002.

REBOUÇAS, R.F.C., **Estudo do Teor de Lipídios e Avaliação dos Resíduos das Algas marinhas: Gracilaria caudata, Gracilaria birdiae, Gracilaria domingensis para preparação de Biodiesel e Biofertilizante**, Dissertação de Mestrado em Ciências Naturais – UERN , 2013.

RENGANATHAN, S.; SUGANYA, T.; KASIRAJAN, R., **Ultrasound-enhanced rapid in situ transesterification of marine macroalgae Enteromorpha compressa for biodiesel production**, Bioresource Technology, (156), 283-290, 2014.

SEIDER, W., D.; SILVA, C.; SOLIMAN; CAMERON, G.; FABIANO, L.A., **Comercial-scale Biodiesel production from algae**, Ing. Eng. Chem. Res., (53), 5311-5324, 2014.

SILVERSTEIN RM, BASSLER GC, MORRILL T., **Spectrometric Identification of Organic Compounds**. New York: Wiley;1991.

YANG, J.W.; PARK, M.S; KIM, C.W.; KIM, K.; LIM, J.; LEE, H.; YOO, G.; KIM, J., **Methods of downstream processing for the production of biodiesel from microalgae**, Biotechnology advances, (31), 862-876, 2013.

WANG, G.; GENG, S.; DAROCH, M., **Recent advances in liquid biofuel production from algal feedstocks**, Applied Energy, (102), 1371-1381, 2013.

Recebido: 28/05/2014

Aprovado: 02/02/2015