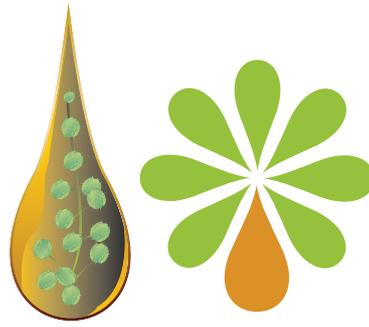


ISBN 978-85-65615-02-0



6° Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel
9° Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel

BIODIESEL: 10 ANOS DE PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO NO BRASIL



VOLUME 2
ANAIS - ARTIGOS CIENTÍFICOS
2016



6° Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel
9° Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel

BIODIESEL:
10 ANOS DE PESQUISA, DESENVOLVIMENTO E INOVAÇÃO NO BRASIL

Anais - Trabalhos Científicos

Editores:

Pedro Castro Neto

Antônio Carlos Fraga

Rafael Silva Menezes

Gustavo de Lima Ramos

Natal, 22 a 25 de Novembro de 2016

Rio Grande do Norte - Brasil

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel
(6. : 2016 : Natal, RN).

Anais do 6. Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia
de Biodiesel, 9. Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas,
Óleos, Gorduras e Biodiesel, Natal, RN, 22 a 25 de novembro
de 2016 / Editores: Pedro Castro Neto ... [et al.]. – Lavras :
UFLA, 2016.

1432 p.

Bibliografias

ISBN 978-85-65615-02-0

1. Biodiesel. 2. Plantas oleaginosas. 3. óleos vegetais. I

Castro Neto, Pedro et al. II. Congresso Brasileiro de Plantas
Oleaginosas, óleos, Gorduras e Biodiesel.

CDD – 633.85

APRESENTAÇÃO

O Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC) possui papel fundamental no processo de aprimoramento tecnológico do biodiesel brasileiro. No âmbito do Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel (PNPB), o módulo de Desenvolvimento Tecnológico é coordenado pelo MCTIC e objetiva organizar e fomentar a base tecnológica existente no País e norteá-la a gerar resultados que atendam às demandas do PNPB.

Nesse sentido, foi implantada a Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel (RBTB), que articula os diversos atores envolvidos, permitindo a convergência de esforços e a otimização de investimentos públicos na busca por soluções para os desafios tecnológicos da cadeia produtiva, levando em consideração aspectos de sustentabilidade, geração de empregos e desenvolvimento regional.

Como ferramenta de avaliação e divulgação dos resultados dos projetos fomentados, o MCTIC promove, desde 2006, o Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel e a Universidade Federal de Lavras promove, desde 2004, o Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel. Eventos que em suas edições anteriores foram um sucesso, tanto em termos de público, como na divulgação do conhecimento gerado por pesquisadores de inúmeras universidades e institutos de pesquisa de todo o país. A partir de 2010 esses dois eventos foram realizados simultaneamente constituindo o maior evento técnico científico em biodiesel do mundo. Este evento é referência para as áreas de produção de plantas oleaginosas, óleos, gorduras e biodiesel.

APRESENTAÇÃO

É estratégico para o setor de biodiesel possuir fóruns de discussão para se debater temas ligados à pesquisa, desenvolvimento e inovação em Biodiesel, como também promover encontros entre especialistas, estudantes, empresários e a sociedade civil para discutir meios para o desenvolvimento desse novo combustível.

Para o evento deste ano os organizadores receberam 884 trabalhos, dos quais 715 foram aprovados e serão expostos nas sessões de apresentação de pôster. Foram destacados trabalhos que também serão apresentados oralmente nas sessões temáticas. Busca-se atingir com a divulgação dos Anais do evento a difusão do conhecimento gerado, servindo como base para a continuidade das ações e como motivação para que a inovação tecnológica contribua de forma efetiva para os objetivos do PNPB.

Cordialmente,

Professor Pedro Castro Neto
Presidente do Congresso

Professor Antônio Carlos Fraga
Presidente da Comissão Técnico-Científica

Rafael Silva Menezes
**Coordenador de ações de
desenvolvimento
energético RBTB-MCTIC**

COMISSÃO ORGANIZADORA

Pedro Castro Neto
**Presidente do Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas,
Óleos, Gorduras e Biodiesel**

Rafael Silva Menezes
**Presidente do Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia
de Biodiesel**

Gustavo de Lima Ramos
Secretário-Geral

Antônio Carlos Fraga
Presidente da Comissão Técnico-Científica

Juliana Espada Lichston
Presidente da Comissão Local da UFRN

Rafael Peron Castro
Anderson Lopes Fontes
Secretários Comissão Local da UFRN

COMISSÃO TÉCNICO-CIENTÍFICA

Antônio Carlos Fraga (UFLA) - Presidente

Pedro Castro Neto (UFLA) - Vice-Presidente

Lucas Ambrosano (UEM) - Secretário

Geovani Marques Laurindo (G-Óleo/UFLA) - Secretário

Douglas Pelegrini Vaz-Tostes (G-Óleo/UFLA) - Secretário

MEMBROS DAS ÁREAS TEMÁTICAS

Aristeu Gomes Tininis (IFSP)

Bill Jorge Costa (TECPAR)

Bruno Galvêas Laviola (EMBRAPA)

Cláudio José de Araujo Mota (UFRJ)

Danilo Luiz Flumignan (IFSP)

Donato Alexandre Gomes Aranda (UFRJ)

Eduardo Homem de Siqueira Cavalcanti (INT)

Fátima Menezes Bento (UFRGS)

Gustavo Lima Ramos (SETEC/MCTIC)

Iêda Maria Garcia dos Santos (UFPB)

Luiz Pereira Ramos (UFPR)

Maria Aparecida Ferreira César-Oliveira (UFPR)

Nelson Roberto Antoniosi Filho (UFG)

Paulo Anselmo Ziani Suarez (UnB)

Rafael Silva Menezes (SETEC/MCTIC)

Roberto Bianchini Derner (UFSC)

Rosenira Serpa da Cruz (UESC)

Sérgio Peres Ramos da Silva (UPE)

Simoni Margaretta Plentz Meneghetti (UFAL)

COMISSÃO EXECUTORA

Associação dos
Pesquisadores em Plantas Oleaginosas,
Óleos, Gorduras e Biodiesel



Rede Brasileira de
Tecnologia de Biodiesel

SECRETARIA DE
DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO
E INOVAÇÃO

MINISTÉRIO DA
CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES



REVISÃO E EDITORAÇÃO

Pedro Castro Neto (UFLA)
Antônio Carlos Fraga (UFLA)
Lucas Ambrosano (UEM)
Douglas Pelegrini Vaz-Tostes (G-Óleo/UFLA)
Geovani Marques Laurindo (G-Óleo/UFLA)

COMISSÃO DE TECNOLOGIA DA INFORMAÇÃO

Pedro Castro Neto (UFLA) - Presidente
Antônio Carlos Fraga (UFLA)
Gilson Miranda Júnior (BCC/UFLA)
Jaime Daniel Corrêa Mendes (BCC/UFLA)
João Paulo de Araújo (BCC / G-Óleo/UFLA)
Fergunson Antônio Gomes Peres de Souza (G-Óleo/UFLA)
Henrique Fidencio (G-Óleo/UFLA)
Arnon de Castro Oliveira (G-Óleo/UFLA)
Saulo Kirchmaier Teixeira (G-Óleo/UFLA)

AGRADECIMENTOS

Apoiadores, Autores, Congressistas, Expositores e Palestrantes.

MEMBROS DA G-ÓLEO

Associação dos Pesquisadores em Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel

Pedro Castro Neto (Presidente)
Lucas Ambrosano (Vice-Presidente)
Douglas Pelegrini Vaz-Tostes (Tesoureiro)
Vinícius Reis Bastos Martins (Secretário)
Antônio Carlos Fraga
Arnon de Castro oliveira
Bárbara Lemes
Camilla Freitas Maia
Camilo José Rodrigues Dal Bó
Carlos Henrique Santos Fonseca
Carlúcio Queiroz Santos
Clara de Almeida Filippo
Daniel Augusto de Souza Borges
Danilo da Silva Souza
Diego Flausino Brasileiro
Erika Tokuda
Ferguson Antonio Gomes Peres de Souza
Gabriel Dlouhy Alcon
Gabriele de Faria Castro
Geovani Marques Laurindo
Gilson Miranda Júnior
Guilherme de Oliveira Martins
Gustavo de Almeida Adolpho
Hamilton Olinto Pimenta Lima Junior
Henrique Fidencio
Jaime Daniel Corrêa Mendes
Janice Alvarenga Santos Fraga
João Paulo de Araújo
Julia Andrade de Ávila
Juliana de Xisto Silva
Maraiza Assis Mattar Silva
Marcela Santos Moreira
Matheus Sterzo Nilsson
Paulo Rogério Ribeiro Pereira
Pedro Henrique Barcelos Mota
Pedro Rodolfo Bianchim de Oliveira
Rafael Peron Castro
Rodrigo Martins Santos
Sandra Regina Peron Castro
Sandro Freire de Araújo
Saulo Kirchmaier Teixeira
Stênio Carvalho
Thalita Caroline Azevedo Gonçalves
Thiago Matiulli
Vitor Favareto Silva

REALIZAÇÃO

O Núcleo de Estudos em Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biocombustíveis (G-Óleo) idealizado

pelos professores Antônio Carlos Fraga

do Departamento de Agricultura

e Pedro Castro Neto do

Departamento de Engenharia

da Universidade Federal de

Lavras, desde 2006 promove a



G-ÓLEO

produção científica e realiza eventos acadêmicos voltados a estudantes, pesquisadores e empreendedores que atuam nas diversas etapas da cadeia produtiva do biodiesel, transferindo ao produtor rural por meio de eventos de extensão, onde inovações da pesquisa e indústria são levadas e apresentadas à comunidade.

A diversidade das áreas de atuação do grupo torna os projetos amplamente diversificados, englobando atividades em fitotecnia, química, projetos e manutenção de máquinas agrícolas e industriais, gerência e tecnologia de informação, administração, extração e purificação de óleos e gorduras, gestão de coprodutos e resíduos, todas associadas à produção científica visando inovação para a indústria e melhoria na produção rural.

REALIZAÇÃO

Com o objetivo de impulsionar o desenvolvimento tecnológico e a inovação do biodiesel no Brasil, o Ministério da Ciência, Tecnologia, Inovações e Comunicações (MCTIC) promove diversas ações, principalmente por meio da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel (RBTB), que envolve diversos atores da cadeia produtiva. Isso permite a convergência de esforços e a otimização de investimentos públicos, buscando soluções para os desafios tecnológicos do setor. Desde 2006, a Secretaria de Desenvolvimento Tecnológico e Inovação (SETEC/MCTIC) promove o Congresso da RBTB com objetivo de disseminar os conhecimentos tecnológicos gerados, a divulgação das potencialidades da Rede, as competências e os trabalhos em andamento. A realização do evento envolve a comunidade científica e empresarial e abrange sete diferentes áreas temáticas: Matéria Prima; Armazenamento, Estabilidade e Problemas Associados; Caracterização e Controle da Qualidade; Co-Produtos; Produção do Biocombustível; Uso de Biodiesel; e Políticas Públicas e Desenvolvimento Sustentável.



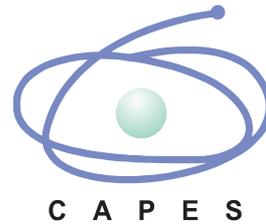
REALIZAÇÃO

SECRETARIA DE
**DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO
E INOVAÇÃO**

MINISTÉRIO DA
**CIÊNCIA, TECNOLOGIA,
INOVAÇÕES E COMUNICAÇÕES**



APOIO





6° Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel
9° Congresso Brasileiro de Plantas Oleaginosas, Óleos, Gorduras e Biodiesel

**TRABALHOS
CIENTÍFICOS
APROVADOS**

Natureza do sedimento de um tanque de estocagem de biodiesel de soja com aditivo

Juciana Clarice Cazarolli (LAB-BIO/UFRGS, jucianacazarolli@gmail.com), Sabrina Beker (LAB-BIO/UFRGS, sabrinabeker@gmail.com), Gabriela Boelter (LAB-BIO/UFRGS, boelter.gabriela@gmail.com), Patrícia Dorr Quadros (LAB-BIO/UFRGS, patiquadros11@yahoo.com.br), Adriano Signor (3 Tentos, adriano.signor@3tentos.com.br), Marcia Bisol (3 Tentos, marcia.bisol@3tentos.com.br) Camila Correa (IQ/UFRGS, camilacorrea@outlook.com.br), Marco Flôres Ferrão (IQ/UFRGS, marco.ferrao@ufrgs.br), Eduardo Homem de Siqueira Cavalcanti (LACOR/INT, eduardo.cavalcanti@int.gov.br) Fátima Menezes Bento (LAB-BIO/UFRGS, fatima.bento@ufrgs.br)

Palavras Chave: fungos; bactérias; biodiesel; RMN; Potencial de Biodegradação

1 - Introdução

Durante o armazenamento de biodiesel podem ocorrer reações de natureza química e biológicas, resultando na formação de precipitados e borras no fundo dos tanques, um lodo de aspecto viscoso, que pode acarretar em perdas e danos ao sistema de armazenamento. No lodo dos tanques de estocagem podemos encontrar microrganismos deteriorativos, os quais, em contato com o biodiesel produzido podem ser levados para a mistura com diesel. A presença de água livre nos tanques das misturas com diesel promove o crescimento microbiano, além de facilitar as reações de degradação abiótica do combustível [1]. Entre outras propriedades, o biodiesel apresenta uma grande afinidade com água (higroscopicidade), o que eleva consideravelmente seu teor de água, somente entrando em contato com a umidade do ar [2]. Neste sentido, o combustível pode sair da Usina, contaminado com uma comunidade microbiana deteriorativa natural, mas em baixas densidades, mas as chances de desenvolvimento aumentam, à medida que o biodiesel agrega mais água. Ao entrar em contato com o óleo diesel, e na presença de água livre que se forma durante a estocagem, pode ocorrer a formação de biomassa, comprometendo a qualidade da mistura estocada. O objetivo do trabalho foi caracterizar a natureza de uma borra originária de um tanque de estocagem de biodiesel puro comercial (B100), quanto a composição química e microbiana, através de análises de ressonância magnética nuclear de hidrogênio (RMN ¹H) e dependentes de cultivo.

2 - Material e Métodos

Foi realizada a coleta de um resíduo viscoso, removido do lastro de um tanque de estocagem de biodiesel comercial (com a adição de aditivo antioxidante) de uma usina produtora de biodiesel. O material foi coletado em frascos plásticos estéreis, e mantido sob temperatura ambiente até as avaliações. A primeira etapa foi avaliar a composição química através de RMN ¹H, onde é possível obter o perfil dos compostos orgânicos através do sinal dos hidrogênios, e a presença de sódio (Na), potássio (K), cálcio (Ca) e magnésio (Mg) avaliada por espectroscopia de absorção atômica de chama (FAAS). Posteriormente, o material foi avaliado quanto a população microbiana cultivável nativa, através da adição de 2,5 g de borra em frascos erlenmeyer contendo 80 mL de meio mineral e água ultrapura como fase aquosa e 40 mL de biodiesel de soja como fase oleosa, com 2 repetições para cada condição. Os frascos foram incubados durante 15 dias. O isolamento de

fungos filamentosos e de bactérias foi realizado por diluição seriada da fase aquosa do experimento. A semeadura foi realizada em meios de cultura BDA e Ágar Malte (para fungos) e TSA e R2A (para bactérias), e as placas incubadas em estufa a 30°C por até 7 dias. Após o isolamento da microbiota cultivável, a sua capacidade de crescimento em biodiesel foi testada. Para os fungos filamentosos foi adicionado 5 mg de biomassa fúngica em microcosmos contendo meio mínimo mineral como fase aquosa e biodiesel de soja como fase oleosa. Este experimento foi incubado em estufa, sem agitação, durante 20 dias, e ao final o pH da fase aquosa foi medido e a biomassa formada foi recuperada dos frascos e avaliada por método gravimétrico. O crescimento dos isolados bacterianos em biodiesel foi observado através da quantificação de proteínas pelo método colorimétrico de Bradford, um método indireto de avaliar a multiplicação celular bacteriana. O inóculo de cada bactéria foi montado na concentração de 10⁵ células mL⁻¹ e adicionado a frascos de vidro contendo biodiesel de soja como fase oleosa e meio mínimo mineral como fase aquosa. Após, com o intuito de confirmar o crescimento bacteriano às expensas do biodiesel foi realizado um teste de crescimento em biodiesel em placa de Elisa com os indicadores redox TTC e DCPIP, cujas leituras foram realizadas em espectrofotômetro.

Tabela 1. Microrganismos provenientes do lastro do tanque de estocagem isolados por métodos dependentes de cultivo.

Identificação/Código LAB-BIO	GRAM	Morfologia Celular	Cor colônia
<i>Micrococcus aloeverae</i> (j1.2)	+	coco	amarela
<i>Microbacterium sp.</i> (j1.4)	+	bacilo	amarela
<i>Cellulomonas sp.</i> (j1.5)	+	bacilo	branca
<i>Curtobacterium flaccumfaciens</i> (j1.7)	+	bacilo	amarela
<i>Bacillus aryabhatai</i> (j2.4)	+	bacilo	branca
<i>Bacillus sp.</i> (j2.7)	+	bacilo	branca
<i>Bacillus pumilus</i> (j2.8)	+	bacilo	branca
Identificação	Coloração o Micélio	Produção de Pigmento	Esporos Presentes
Não Identificado (bn3)	rosa	não	não
<i>Penicillium sp.</i> (bn5)	verde	não	sim
<i>Xylariales sp.</i> (j2.5)	branco	sim	não
<i>Penicillium sp.</i> (j2.6)	verde	não	sim
<i>Penicillium sp.</i> (j1.A)	verde	não	sim

3 - Resultados e Discussão

O resultado de RMN indicou que a borra tem uma composição orgânica similar ao biodiesel, pois os sinais dos hidrogênios correspondem aos presentes nos ésteres metílicos constituintes deste. A análise por FAAS evidenciou uma alta concentração de Na: $10,8 \pm 0,54$ mg/g e baixa para K em $26,1 \pm 0,29$ μ g/g, de Ca em $18,3 \pm 0,54$ μ g/g e de Mg em $26,1 \pm 0,29$ μ g/g. Sódio, maior constituinte inorgânico presente nas amostras de lodo viscoso, pode ter sua origem nos catalisadores da transesterificação (NaOH) [3], e após a produção do biodiesel, decantar, junto com outros elementos do biodiesel, no lastro dos tanques de estocagem do biodiesel produzido, produzindo uma borra, a qual esse estudo vem provar, possui uma microbiota ativa e com capacidade de crescer e se desenvolver em biodiesel.

Os isolados e suas características estão apresentados na tabela 1. Ao final dos 15 dias de posse de todos os isolados foram selecionados aqueles com características iguais e agrupados para a identificação. Ao todo foram isolados 7 bactérias e 5 fungos filamentosos com morfologias e aspectos diferentes. Não foram observadas a presença de leveduras durante o procedimento de prospecção.

Alguns isolados fúngicos não apresentaram a produção de esporos. Para isso uma quantidade de suas biomassas foi utilizada como inóculo nos experimentos de crescimento. Após 20 dias os isolados fúngicos apresentaram crescimentos diferenciados utilizando biodiesel como fonte de carbono. As biomassas fúngicas foram recuperadas da fase aquosa (meio mineral) e pesadas ao final do experimento. O isolado identificado como sendo do gênero *Penicillium* (j1.A) apresentou a maior biomassa recuperada dos frascos ($51 \pm 2,5$ mg), 8 vezes maior do que a biomassa recuperada dos frascos contendo meio rico (caldo batata) e na ausência de biodiesel ($11,6 \pm 0,5$ mg). Os demais fungos tiveram desempenho semelhante, seu crescimento foi muito mais pronunciado em biodiesel do que em meio rico. Ao final de 20 dias o pH da fase aquosa diminuiu para $5,66 \pm 0,58$ no tratamento contendo o fungo *Penicillium* (j1.A) e o fungo *Penicillium* (j2.6). Os demais valores de pH não demonstraram uma diminuição significativa quando comparados aos controles.

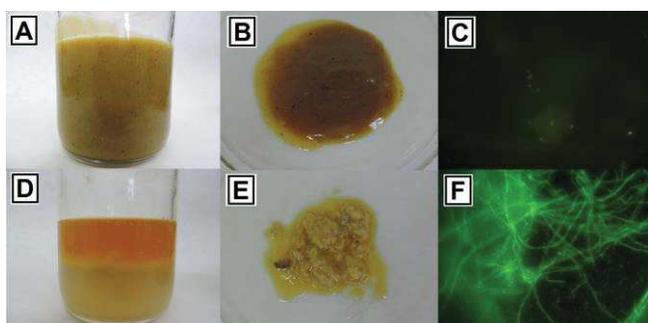


Figura 1. Aspecto do lodo coletado *in natura* (A e B) e um erlenmeyer durante o processo de obtenção da microbiota nativa do lodo (D e E); C e F: coloração com laranja de acridina de uma alíquota da amostra do lodo (C) e da fase aquosa do erlenmeyer (F) após 20 dias de incubação

(visualização em microscópio de imunofluorescência Aumento 1000x).

Entre os isolados bacterianos a bactéria identificada como *Cellulomonas* sp. apresentou, após 6 dias de experimento, um aumento de 5 vezes a quantidade de proteínas observadas nas primeiras 24h de crescimento no meio mínimo mineral e biodiesel como fonte de carbono, pelo método colorimétrico de Bradford. Os demais isolados apresentaram desempenho menor, destacando-se os isolados *Microbacterium* sp (com um aumento de 3,1 vezes) e *Curtobacterium flaccumfaciens* (cujas produção de proteínas foi observada como sendo 2,3 vezes maior que a inicial, após 6 dias de incubação). Ao final do experimento foi observado um decréscimo nos valores de pH do meio mineral quando comparado aos valores iniciais, sendo os isolados *Bacillus aryabhatai*, *Microbacterium* sp. e *Curtobacterium flaccumfaciens* responsáveis pelas maiores reduções estatísticas observadas ($6,62 \pm 0,025$, $6,58 \pm 0,015$ e $6,53 \pm 0,030$, respectivamente).

No experimento com os indicadores redox, o indicador DCPIP mostrou-se ineficaz para selecionar a capacidade de degradação de cada isolado ao longo de seis dias, visto que o tratamento controle do teste (sem microrganismos) apresentou mudança na coloração azul após 4 horas de incubação, igualando-se aos microrganismos testados. Foi observado o desempenho dos isolados apenas nos primeiros 15 minutos avaliados, onde o isolado *Curtobacterium flaccumfaciens* apresentou uma diminuição de 5,4 vezes a coloração do indicador redox DCPIP quando comparado ao controle.

Os resultados do indicador TTC, no entanto, puderam ser observados até o tempo final de incubação (72h), onde um melhor desempenho pelo isolado *Microbacterium* sp. (aumento de 3,5 vezes a coloração do TTC após 6 dias de incubação) foi detectado através das leituras em espectrofotômetro.

4 – Conclusões

Foi possível realizar uma prospecção de microrganismos a partir de um lodo de aspecto viscoso coletado do lastro de um tanque de estocagem de biodiesel comercial em uma Usina Produtora de biodiesel.

Os isolados apresentaram capacidade de crescer em biodiesel, o que sugere que, microrganismos presentes na estocagem de combustível em Usinas possuem uma capacidade deteriorígenica ainda negligenciada.

5 – Agradecimentos

Ao LABBIO-UFRGS pelo financiamento da pesquisa; CAPES ao CNPq, pelo apoio financeiro e concessão de bolsas.

6 - Bibliografia

- Bücker, F., et al. (2014) International Biodeterioration & Biodegradation, 95, 346-355.
- Lôbo, I. P., et al. (2009). Quim. Nova, Vol. 32, No. 6, 1596-1608.
- Lyra, F. H., et al. (2010). Microchemical Journal, 96(1), 180-185.