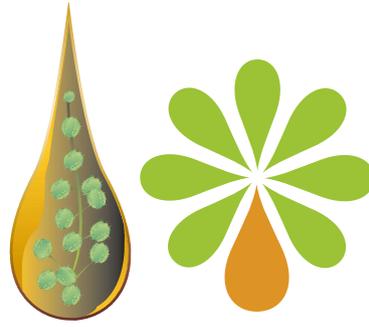


ISBN 978-85-65615-02-0



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)  
Ferguson 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

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.



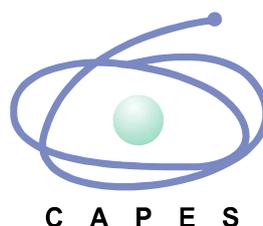
REALIZAÇÃO

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**

## Avaliação do uso de ultrassom durante a transesterificação *in situ* da biomassa da microalga *Scenedesmus obliquus* visando à produção de ésteres etílicos

Kemely Bruna Zandonadi Ferriani Branco (DEQ/UEM, kemelybruna@hotmail.com), Elias Trevisan (DEQ/UEM, eliastrrevisan@yahoo.com.br), André Bellin Mariano (PIPE/UFPR, andrebmario@gmail.com), Pedro Augusto Arroyo (DEQ/UEM, arroyo@deq.uem.br)

**Palavras Chave:** microalgas, transesterificação *in situ*, ultrassom, biodiesel

### 1 - Introdução

O interesse no uso das microalgas para a produção de biodiesel tem gerado uma grande demanda por pesquisas que buscam o desenvolvimento tecnológico da suas etapas de produção, com o intuito de viabilizar o processo do ponto de vista comercial e ambiental.

O processo tradicional para a produção de biodiesel a partir de microalgas possui as seguintes etapas: cultivo da microalga; colheita da biomassa; secagem; extração de lipídeos; transesterificação e purificação dos ésteres obtidos<sup>1</sup>. Dentre as etapas de produção de biodiesel a partir de microalgas, a extração de lipídeos demanda atenção especial. Isto ocorre porque a extração é o processo mais importante que acontece antes da transesterificação e sua eficiência está diretamente relacionada à produção de biodiesel<sup>2,3</sup>.

Como alternativa à etapa de extração, iniciaram-se estudos de transesterificação *in situ* ou transesterificação direta, que consistem em eliminar a etapa de extração do óleo, realizando a reação direta da biomassa seca da microalga. Isto simplifica o processo de produção de biodiesel, permitindo que a extração do óleo e a transesterificação ocorra em uma única etapa<sup>4,5,6</sup>. Ainda, visando minimizar as dificuldades decorrentes da extração, mesmo durante a transesterificação *in situ*, e aumentar o rendimento em ésteres, estudos são realizados para avaliar o efeito do ultrassom sobre o rendimento em ésteres.

A tecnologia de ultrassom de baixa frequência promove a transferência de massa entre fases imiscíveis, pois as ondas ultrassônicas podem comprimir e esticar o espaçamento molecular. Assim, estas moléculas permanecem continuamente a vibrar formando microbolhas, micro cavidades e gerando energia<sup>3</sup>. O ultrassom tem sido usado para auxiliar no rompimento celular nos processos de extração e transesterificação *in situ*, também, para reduzir o tempo de reação e o volume de álcool utilizado na transesterificação *in situ*<sup>7,8</sup>.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi estudar o efeito do ultrassom sobre o rendimento em ésteres etílicos durante a transesterificação *in situ* da biomassa da microalga *Scenedesmus obliquus*.

### 2 - Material e Métodos

A microalga *Scenedesmus obliquus* foi cultivada no Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento Sustentável (NPDEAS) da Universidade Federal do Paraná (UFPR), em fotobiorreatores (FBR) de 10 m<sup>3</sup>, utilizando como meio de cultivo dejetos suínos biodigeridos. A colheita da biomassa

foi realizada após 15 dias de cultivo, por flocculação prévia da biomassa, utilizando-se o flocculante natural Tanfloc – SL, e foram secas em estufa a 60 °C, até massa constante. Após a secagem, a mesma foi macerada e separada em peneira de 35 mesh, determinando o diâmetro médio das partículas em 0,5 mm. Posteriormente, a amostra foi armazenada em potes plásticos, em temperatura próxima a -8 °C (freezer), até serem utilizadas.

O teor de lipídeos totais presentes nas microalgas foi determinado por uma adaptação do método de Folch et al.<sup>9</sup>. Assim, aproximadamente 100 mg de biomassa seca foi misturada com 5 mL de solução, contendo hexano:metanol (1:2, v/v), e, em seguida, as amostras foram então levadas a um banho de ultrassom durante 1 hora. Em seguida, as amostras foram centrifugadas por 15 min a 4750 rpm e recolheu-se o sobrenadante para um tubo de massa conhecida, sendo este procedimento repetido por três vezes. Após a junção das três alíquotas de sobrenadante, o tubo foi levado a estufa de secagem a 60 °C, até massa constante. O teor de lipídios totais foi determinado por gravimetria.

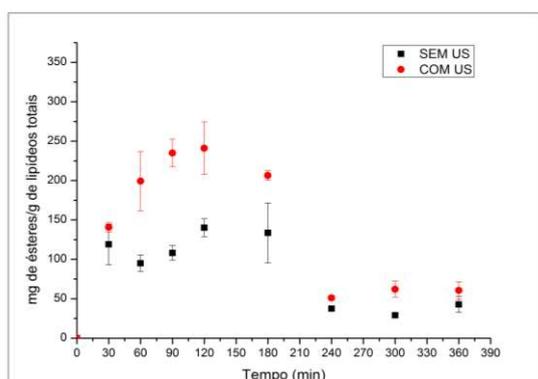
A metodologia utilizada para a transesterificação *in situ* foi determinada a partir dos resultados obtidos por Baumgartner et al.<sup>10</sup> e Cao et al.<sup>11</sup>. A transesterificação *in situ* foi realizada utilizando-se um tubo de ensaio de 30 mL, devidamente fechado. A reação foi conduzida utilizando-se 1 g de biomassa seca, 4 mL de álcool (etanol), 6 mL de cosolvente (n-hexano), 0,5 mL de catalisador (ácido clorídrico), na temperatura de 60 °C. Foram avaliados os tempos de 30, 60, 90, 120, 180, 240, 300 e 360 minutos, e as reações foram realizadas com e sem o uso de ultrassom *in situ*. No final da reação os tubos foram resfriados até atingir temperatura ambiente, em banho com água gelada. Depois de resfriados, foram adicionados 3 mL de água deionizada e, em seguida, adicionados 3 mL de n-hexano para induzir a separação de fases. Após a separação das fases o sobrenadante foi recolhido em um tubo, este procedimento foi repetido por três vezes, para assegurar uma remoção completa dos ésteres formados no meio reacional. Então, o solvente foi evaporado em estufa a 60 °C, por aproximadamente 15 horas, e os ésteres produzidos foram diluídos em uma solução de n-hexano e de éster metílico tricosanóico (C23:0) de concentração conhecida, que foi utilizado como padrão interno (PI). As amostras foram, então, armazenadas a -8 °C, por 24 horas, para posterior identificação e quantificação dos ésteres produzidos por meio de cromatografia gasosa, utilizando-se um cromatógrafo a gás (Varian, modelo CP-3800), com detector de ionização de chamas (DIC), contendo uma coluna capilar BP-X70 - SGE de 30 m x 0.25 mm. Como gás de arraste utilizou-se hélio, numa razão *split* de 1:10. A

análise foi realizada com programação de temperatura da coluna, iniciando a 140 °C, com aquecimento até 250 °C, a uma taxa de 5 °C/min. A temperatura do detector foi de 220 °C e do injetor de 260 °C. Para identificação os cromatogramas obtidos para as amostras analisadas foram comparados com o cromatograma de uma mistura padrão de ésteres (da marca Sigma-Aldrich), obtido nas mesmas condições de análise. A quantificação foi baseada no método proposto por Visentainer<sup>12</sup>.

### 3 - Resultados e Discussão

Por meio do método de extração, foi possível obter um teor de lipídeos totais de 13,01±1,36%. Valor este maior do que o obtido por Baumgartner et al.<sup>13</sup> e Branco et al.<sup>14</sup>, a partir da biomassa seca da microalga *Scenedesmus accuminatus*, e abaixo do descrito por Mata et al.<sup>15</sup>, que descreve um teor de lipídeos totais entre 19,6 e 21,1%. As diferenças encontradas no teor de lipídeos totais podem ocorrer, principalmente, pelo meio de cultivo e o método de extração utilizado. Logo, o valor obtido se mostra adequado já que a microalga utilizada neste trabalho foi cultivada em dejetos suínos (meio alternativo) e os demais autores utilizaram meio sintético para o cultivo das microalgas.

A Figura 1 apresenta o rendimento em ésteres etílicos obtidos em função do tempo, com e sem a utilização de ultrassom durante a transesterificação *in situ*.



**Figura 1.** Rendimento em ésteres etílicos obtidos na reação *in situ*, em função do tempo, com e sem a utilização do ultrassom.

Por meio das curvas cinéticas apresentadas na Figura 1, observa-se que a reação utilizando ultrassom possui uma velocidade de reação inicial maior do que a curva obtida para as reações sem o uso do ultrassom. Os rendimentos máximos obtidos em ésteres etílicos foram de 140,14±11,34 e 241,15±33,45 mg de ésteres/g de lipídeos totais, após 120 minutos, sem e com o uso de ultrassom, respectivamente. Os resultados obtidos mostraram um aumento significativo de 72% no rendimento em ésteres, devido ao uso do ultrassom durante a transesterificação *in situ* e corroboram com Ehimen et al.<sup>7</sup>, que obtiveram um aumento de 35,4% no rendimento quando passaram da agitação mecânica para o ultrassom durante a reação.

De acordo com Luo et al.<sup>15</sup>, o ultrassom possui duas funções na síntese de biodiesel, pois promove uma dispersão melhor, homogeneização e emulsificação entre os reagentes e o catalisador. Corroborando com isto, segundo

Hidalgo et al.<sup>3</sup> o ultrassom aplicado durante a transesterificação promove uma agitação eficiente do meio, a qual fornece energia de ativação suficiente para o início da reação. Já para Ehimen et al.<sup>7</sup> o aumento no rendimento em ésteres pode ser atribuído ao rompimento celular ocasionado pelo ultrassom de baixa frequência que, conseqüentemente, aumenta a disponibilidade dos lipídeos celulares para a participação no processo de transesterificação.

### 4 – Conclusões

Diante do estudo realizado, pode-se verificar que o ultrassom auxilia no rompimento celular, disponibilizando os lipídeos para a transesterificação *in situ*, além de promover a transferência de massa entre os lipídeos e os reagentes, acarretando, então, em um aumento significativo do rendimento em ésteres etílicos.

### 5 – Agradecimentos

À Capes pelo apoio financeiro, ao LCHBio e ao NPDEAS pela estrutura disponibilizada.

### 6 - Bibliografia

- Yanfeng, L., Zehao, H., Xiaoqian, M.; *Energy Policy*, **2012**, 45, 142-151.
- Iqbal, J., Theegala, C.; *Algal Res.*, **2013**, 2, 34-42.
- Hidalgo, P., Toro, C., Ciudad, G., Navia, R.; *Rev. Environ. Sci. Bio/Technol.*, **2013**, 12, 179-199.
- Ehimen, E. A., Sun, Z. F., Carrington, C. G.; *Fuel*, **2010**, 89, 3, 677-684.
- Lam, M. K., Lee, K. T.; *Biotechnol. Adv.*, **2011**, 30, 3, 673-690.
- Park, J.-Y., Park, M. S., Lee, Y.-C., Yang, J.-W.; *Bioresour. Technol.*, **2015**, 18, 267-275.
- Ehimen, E. A., Sun, Z., Carrington, C. G.; *Procedia Environ. Sci.*, **2012**, 15, 47-55.
- Zhang, X., Yan, S., Tyagi, R. D., Surampalli, R. Y., Valéro, J. R.; *Bioresour. Technol.*, **2014**, 169, 175-180.
- Folch, J., Lees, M., Sloane Stanley, G.H.; *J. Biol. Chem.*, **1957**, 226, 497-509.
- Baumgartner, T. R. D. S., Burak, J. A. M., Zanin, G. M., Baumgartner, D., Arroyo, P. A.; *Int. J. Chem. Eng.*, **2013**.
- Cao, H., Zhang, Z., Wu, X., Miao, X.; *BioMed Res. Int.*, **2013**.
- Visentainer, J. V.; *Quím. Nova*, **2012**, 35, 2, 274-279.
- Baumgartner, T. R. D. S., Burak, J. A. M., Zanin, G. M., Baumgartner, D., Sebastien, N. Y., Arroyo, P. A.; *Br J Anal Chem*, **2013**, 10, 441-445.
- Branco, K. B. Z. F., Trevisan, E., Reis, N. V. dos, Arroyo, P. A.; *Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química*, **2014**, 936-943.
- Mata, T. M., Martins, A. A., Caetano, N. S.; *Renewable Sustainable Energy Rev.*, **2010**, 14, 217-232.
- Luo, J. Fang, Z., Smith-Jr., R. L.; *Prog. Energy Combust. Sci.*, **2014**, 41, 56-93.