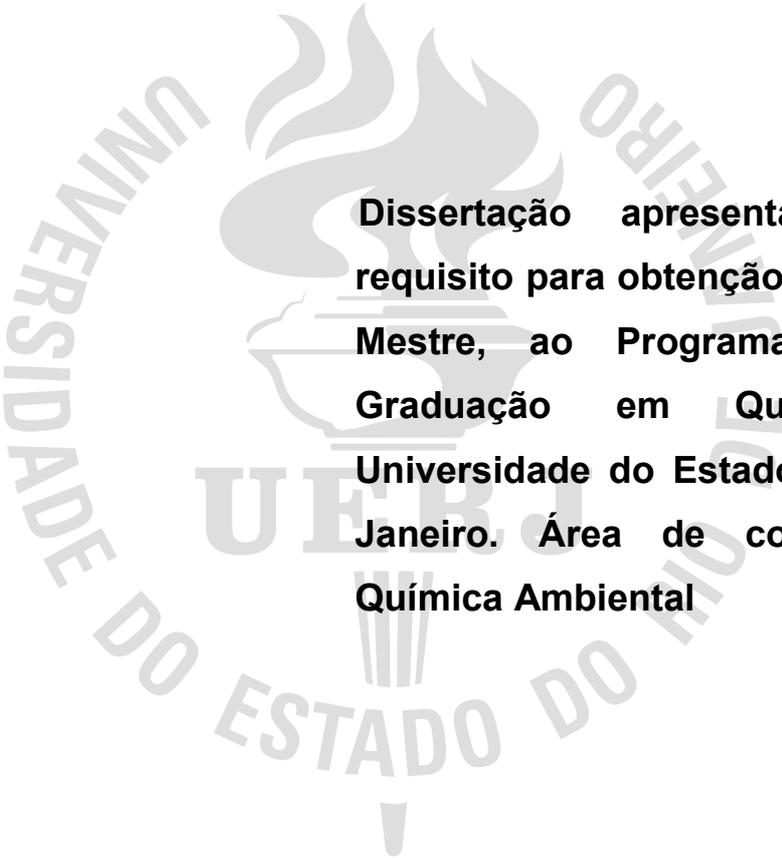


Otávio Luiz Bernardes

**Produção de biodiesel por transesterificação enzimática de
óleo de soja**



**Dissertação apresentada, como
requisito para obtenção do título de
Mestre, ao Programa de Pós-
Graduação em Química, da
Universidade do Estado do Rio de
Janeiro. Área de concentração:
Química Ambiental**

**Orientadores: Prof. Fábio Merçon
Prof^a. Marta Antunes Pereira Langone**

**Rio de Janeiro
2008**

Livros Grátis

<http://www.livrosgratis.com.br>

Milhares de livros grátis para download.

CATALOGAÇÃO NA FONTE
UERJ/REDE SIRIUS/CTC/Q

B521 Bernardes, Otávio Luiz.
Produção de biodiesel por transesterificação enzimática de
óleo de soja. / Otávio Luiz Bernardes – 2008.
92 f.

Orientador: Fábio Merçon.
Orientador: Marta Antunes Pereira Langone.
Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio
de Janeiro, Instituto de Química.

1. Biodiesel – Teses. 2. Lipase – Teses. 3. Alcoólise –
Teses. I. Merçon, Fábio. II. Langone, Marta Antunes
Pereira. III. Universidade do Estado do Rio de Janeiro.
Instituto de Química. IV. Título.

CDU 662.756.3

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta tese.

Assinatura

Data

Otávio Luiz Bernardes

Produção de biodiesel por transesterificação enzimática de óleo de soja

Dissertação apresentada, como requisito para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação do Instituto de Química, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Meio Ambiente.

Aprovado em _____

Banca Examinadora :

Prof. Fábio Merçon (Orientador)
Instituto de Química - UERJ

Prof^a. Marta Antunes Pereira Langone (Co-orientador)
Instituto de Química - UERJ

Prof^a. Mônica Antunes Pereira da Silva
Escola de Química - UFRJ

Prof. Sergio Machado Correa
Faculdade de Tecnologia - UERJ

Rio de Janeiro

2008

DEDICATÓRIA

A minha avó, Haydeé Berault Bernardes, que não pode mais estar aqui, mas que de tudo fez para que eu hoje estivesse. Um exemplo de coragem e dedicação incondicional.

AGRADECIMENTOS

À Deus, por esse breve momento no tempo chamado vida.

À Lygia Ayres, pela compreensão, carinho, incentivo e apoio incondicional durante todo o percurso, *my soul support*.

À Deborah e Lisa, que me estimulam ao melhor exemplo.

Aos meus orientadores, Marta Antunes Pereira Langone e Fábio Merçon , que foram além da amizade, foram exemplos de competência, experiência e que sempre me encorajaram ao longo de todo o processo, desde o convite para a orientação, meus sinceros agradecimentos.

Ao Prof. Luna e Prof^a. Christiane, meus coordenadores na UERJ, pelo apoio e incentivo.

Aos professores e amigos do Departamento de Química Analítica da UERJ por todo o apoio.

Aos amigos Cláudio Cruz, Cleber Santo, Gustavo Sant'Anna, Hércio Mello, e Roberto Penna pelas conversas revigorantes, que muito aliviaram o estresse.

Aquele que obtém uma vitória sobre os outros é forte, mas aquele que obtém uma vitória sobre si próprio é todo-poderoso.

Lao Tsé

RESUMO

BERNARDES, Otávio Luiz. ***Produção de Biodiesel por transestrificação enzimática de óleo de soja***, 2008. 92 f. Dissertação (Mestrado em Química Ambiental) – Instituto de Química, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2008.

Neste trabalho, foi investigada a alcoólise do óleo de soja com álcool utilizando uma lipase comercial imobilizada (Lipozyme RM IM). As reações foram realizadas em um reator batelada fechado acoplado a um condensador e com constante agitação. Foi determinada a influência do álcool (metanol ou etanol), quantidade de enzima, razão molar álcool/óleo de soja, solvente e temperatura na produção de biodiesel. A etanólise do óleo de soja por sucessivas adições de álcool foi investigada. As melhores condições foram obtidas em um sistema livre de solvente com razão molar etanol/óleo igual a 3,0, temperatura de 50°C e concentração de enzima de 7% em massa. A etanólise em batelada com 3 adições sucessivas foi a mais eficiente para a produção de biodiesel. Nessas condições, o rendimento em ésteres etílicos foi cerca de 55% após 2h de reação. A alcoólise de óleo de soja com metanol e etanol também foi estudada com KOH. O efeito do álcool (metanol ou etanol), concentração do catalisador e razão molar entre álcool e óleo de soja foi determinada. O maior rendimento (92%) na alcoólise do óleo de soja com KOH foi obtido com metanol.

Palavras-chave: Biodiesel. Lipase. Transesterificação. Alcoólise.

ABSTRACT

In this work, enzymatic alcoholysis of soybean oil with alcohol was investigated using a commercial immobilized lipase (Lipozyme RM IM). Reactions were carried out in a closed batch reactor with constant stirring and coupled with condenser. The influence of alcohol (methanol or ethanol), enzyme amount, molar ratio of alcohol to soybean oil, solvent (n-hexane) and temperature on biodiesel production was determined. The ethanolysis of soybean oil by successive additions of ethanol was also investigated. The best conditions were obtained in a solvent-free system with ethanol/oil molar ratio of 3.0, temperature of 50°C and enzyme concentration of 7.0% (w/w). Three-step batch ethanolysis was most effective for the production of biodiesel. In these conditions, ethyl esters yield was about 55% after 2 hours of reaction. Alcoholysis of soybean oil with methanol and ethanol were also investigated using KOH. The effects of alcohol (methanol or ethanol), catalyst concentration and molar ratio of alcohol to soybean oil was determined. The highest yield (92%) in the alcoholysis of soybean oil using KOH was obtained with methanol.

Keywords: Biodiesel. Lipase. Transesterification. Alcoholysis.

SUMÁRIO

	INTRODUÇÃO	15
1.	REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	18
1.1	Biodiesel	18
1.1.1	<u>Benefícios sociais</u>	18
1.1.2	<u>Benefícios econômicos</u>	19
1.1.3	<u>Benefícios ambientais</u>	19
1.2	Produção de biodiesel	21
1.2.1	<u>Mundial</u>	21
1.2.2	<u>Brasil</u>	22
1.3	Características do biodiesel	23
1.4	Rotas de obtenção	25
1.4.1	<u>Esterificação</u>	26
1.4.2	<u>Transesterificação</u>	28
1.4.2.1	Transesterificação por catálise alcalina	32
1.4.2.2	Transesterificação por catálise ácida	36
1.4.2.3	Transesterificação por catálise enzimática	37
1.5	Variáveis de processo na produção de biodiesel por Transesterificação	40
1.5.1	<u>Óleo vegetal</u>	40
1.5.2	<u>Álcool</u>	44
1.5.3	<u>Condições reacionais</u>	45
1.5.3.1	Influência da razão molar álcool / óleo e forma de adição do álcool	46
1.5.3.2	Influência da temperatura	47
1.5.3.3	Influência da agitação	47
1.5.3.4	Presença de impurezas	48
2.	MATERIAIS E MÉTODOS	49
2.1	Materiais	49
2.1.1	<u>Reagentes</u>	49
2.1.2	<u>Enzima</u>	49
2.1.3	<u>Equipamentos</u>	49

2.1.3.1	Reator	50
2.2	Produção de biodiesel	51
2.2.1	<u>Via enzimática</u>	51
2.2.1.1	Reações de transesterificação utilizando lipases	51
2.2.1.2	Reações de transesterificação utilizando lipases na presença de solvente	52
2.2.2	<u>Via química</u>	53
2.2.3	<u>Análise cromatográfica</u>	54
2.2.4	<u>Determinação da atividade enzimática</u>	55
3.	RESULTADOS E DISCUSSÃO	57
3.1	Atividade enzimática	57
3.2	Reações de Transesterificação Enzimática em meio sem Solvente	57
3.2.1	<u>Influência da razão molar dos reagentes</u>	57
3.2.2	<u>Influência da adição escalonada do álcool</u>	59
3.2.3	<u>Influência da concentração de enzima</u>	63
3.2.4	<u>Influência da adição escalonada de enzima</u>	66
3.2.5	<u>Influência da temperatura</u>	67
3.2.6	<u>Reutilização da enzima</u>	69
3.3	Transesterificação enzimática na presença de solvente	71
3.3.1	<u>Influência da razão molar dos reagentes</u>	71
3.3.2	<u>Influência da concentração de enzima</u>	73
3.3.3	<u>Influência do tipo de álcool</u>	74
3.4	Reações de transesterificação empregando KOH	76
3.4.1	<u>Efeito da razão molar etanol/óleo de soja e da concentração do catalisador</u>	76
3.4.2	<u>Efeito do tipo de álcool</u>	77
3.4.3	<u>Comparação dos catalisadores – KOH x Lipase</u>	78
4.	CONCLUSÕES E SUGESTÕES	81
4.1	Conclusões	81
4.2	Sugestões de trabalhos futuros	82
	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	83

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Redução das emissões do biodiesel comparado ao petrodiesel ...	21
Figura 2 - Reação de esterificação	28
Figura 3 - Reação de alcoólise	29
Figura 4 - Estrutura típica de uma molécula de triacilglicerol	29
Figura 5 - Reação de transesterificação	30
Figura 6 - Etapas das reações de transesterificação de triacilglicerol	30
Figura 7 - Levantamento da evolução da pesquisa e registro de patentes em biodiesel na rede mundial de computadores no período 2000 – 2004	31
Figura 8 - Mecanismo da reação de transesterificação catalisada	32
Figura 9 - Fluxograma de um processo de produção de biodiesel	34
Figura 10 - Mecanismo de transesterificação catalisada por ácidos	37
Figura 11 - Reação de saponificação de um ácido graxo	41
Figura 12 - Percentual de óleo e produção de óleo no Brasil	42
Figura 13 - Sistema reacional utilizado	50
Figura 14 - Influência da razão molar etanol/óleo de soja no rendimento em biodiesel utilizando 7% m/m de Lipozyme RM IM, a 40°C.	58
Figura 15 - Efeito da forma de adição do etanol no rendimento da reação de transesterificação com o óleo de soja, utilizando razão molar etanol/óleo igual a 3, 7% m/m Lipozyme RM IM, a 40°C.	60
Figura 16 - Efeito da forma de adição do etanol no rendimento da reação de transesterificação com o óleo de soja, utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 6, 7% (m/m) de Lipozyme RM IM, a 40°C.	61
Figura 17 - Efeito da adição escalonada do etanol na reação de transesterificação com o óleo de soja, utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 3, 7% m/m de Lipozyme RM IM, a 40°C.	62

Figura 18 - Efeito do tempo de adição escalonada do etanol na reação de transesterificação com o óleo de soja, utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 3, 7% (m/m) de Lipozyme RM IM, a 40°C.	63
Figura 19 - Rendimento máximo alcançado em cada concentração de Lipozyme RM IM na reação de transesterificação de óleo de soja a 40°C e razão molar etanol/óleo igual a 3, adicionado de modo escalonado.	64
Figura 20 - Efeito da concentração de Lipozyme RM IM no rendimento da reação de transesterificação do etanol com o óleo de soja, utilizando razão molar de etanol/óleo de soja igual a 3, com adição escalonada de etanol (1/3 em 0h, 1/3 após 30 min, 1/3 após 60min), a 40°C	65
Figura 21 - Influência da forma de adição da Lipozyme RM IM (adição única ou escalonada: 50% em 0h e 50% após 2h de reação) na reação de transesterificação do etanol com o óleo de soja, utilizando razão molar de etanol/óleo de soja igual a 3, com adição escalonada de etanol (1/3 em 0 h, 1/3 em 0,5 h e 1/3 em 1 hora) a 50°C.	67
Figura 22 - Influência da temperatura no rendimento da reação de transesterificação do etanol com o óleo de soja, utilizando razão molar de etanol/óleo de soja igual a 3, com adição escalonada de etanol (1/3 em 0h, 1/3 após 30 min e 1/3 após 60 min) e Lipozyme RM IM a 7 % m/m.	68
Figura 23 - Reutilização da Lipozyme RM IM na reação de transesterificação do etanol com o óleo de soja utilizando razão estequiométrica dos reagentes, com adição escalonada de etanol (1/3 em 0 h, 1/3 em 0,5 h e 1/3 em 1 hora) a 50°C. A enzima antes de ser reutilizada foi mantida em dessecador a temperatura ambiente por 12 horas.	70

Figura 24 - Influência da adição de solvente (hexano a 50% v/v) no rendimento em biodiesel, utilizando razões molares etanol/óleo de soja iguais a 6 e a 10, Lipozyme a 7% m/m, a 40°C.	72
Figura 25 - Influência da concentração de enzima (Lipozyme RM IM) no rendimento em biodiesel utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 6, na presença de hexano (50% v/v), a 40°C.	74
Figura 26 - Influência do tipo de álcool (metanol ou etanol) na produção de biodiesel utilizando razão molar álcool/óleo de soja igual a 6, Lipozyme a 7% (m/m), na presença de hexano (50% v/v), a 40°C.	75
Figura 27 - Influência da razão molar etanol/óleo de soja (R=3 e R=6) e da concentração de hidróxido de potássio (3%, 4,5% e 6% m/m) no rendimento em biodiesel após 4h de reação a 50°C.	77
Figura 28 - Efeito do tipo de álcool (etanol ou metanol) no rendimento em biodiesel na transesterificação de óleo de soja catalisada por KOH (6% m/m), a 50°C.	78
Figura 29 - Rendimento em ésteres etílicos após 4h de reação de transesterificação de óleo de soja a 50°C empregando 7% m/m de lipase (Lipozyme RM IM) ou 6% m/m de KOH.	79
Figura 30 - Rendimento em ésteres metílicos após 4h de reação de transesterificação de óleo de soja a 50°C empregando 7% m/m de lipase (Lipozyme RM IM) ou 6% m/m de KOH.	80

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 -	Propriedades físico-químicas do biodiesel e diesel.	24
Tabela 2 -	Características do biodiesel em relação ao diesel Convencional.	26
Tabela 3 -	Classificação dos principais ácidos graxos de cadeia longa.	27
Tabela 4 -	Efeito do catalisador no rendimento e na pureza do biodiesel. ...	35
Tabela 5 -	Características de alguns óleos vegetais com potencial para a produção de biodiesel.	44

INTRODUÇÃO

O petróleo foi descoberto em 1859, por George Bissel, no estado da Pensilvânia (Estados Unidos). Em função da sua abundância, facilidade de produção e larga utilização de seus derivados, o petróleo rapidamente ocupou lugar de destaque no cenário energético. Atualmente, os combustíveis fósseis representam 80% na matriz energética mundial (Biodieselbr.com, 2008).

As diversas crises do petróleo, a sua depleção, o impacto ambiental gerado pelo seu consumo e o crescente aumento da população mundial (aumento na demanda de energia) apontam para a utilização de fontes alternativas de energia. Os consumidores desejam um combustível mais limpo que possa reduzir os prejuízos ao meio ambiente e à saúde. Nesse sentido, o biodiesel, que é um combustível renovável, tem se destacado na função de substituto (total ou parcial) ao diesel de petróleo.

O biodiesel é uma mistura de ésteres graxos metílicos ou etílicos, obtido a partir de fontes renováveis como óleos vegetais e gordura animal, não-tóxico, biodegradável, com perfil de emissão de diversos poluentes, tais como monóxido de carbono (CO), material particulado (MP), derivados de enxofre (SO_x), mais baixo que o do diesel, podendo ser utilizado puro ou misturado ao diesel convencional, em qualquer proporção, sem necessidade de ajustes no motor. Uma mistura com 2% em volume de biodiesel em diesel é chamada B-2. Quando puro, é chamado B-100.

O biodiesel é renovável e não contribui para o aquecimento global devido ao seu ciclo do carbono ser fechado. Isto significa que parte do carbono lançado na atmosfera de origem, principalmente vegetal, retorna através da fotossíntese realizada pelos mesmos. Uma análise do ciclo de vida do biodiesel mostrou que toda a emissão de CO₂ foi reduzida em 78% comparada com o diesel de base fóssil (SHEENAN et al. apud GERPEN, 2005). Isto significa que parte do carbono lançado na atmosfera de origem, principalmente vegetal, retorna através da fotossíntese realizada pelos mesmos.

Nas emissões produzidas pela queima de biodiesel, há uma significativa redução na emissão de fuligem, monóxido de carbono (CO), hidrocarbonetos aromáticos e poliaromáticos (PAH) e óxidos de enxofre (SO_x). Sendo que para esse último grupo, sua produção é praticamente nula, o que reduz a possível produção de chuva ácida (SRIVASTAVA e PRASAD, 2000; FUKUDA, KONDO e NODA, 2001).

A produção mundial de biodiesel já supera 1,5 milhões de toneladas/ano, na qual se destacam países como Alemanha, França, Estados Unidos, Bélgica e Itália (Carbono Brasil, 2008). O Brasil se destaca entre as economias industrializadas pela elevada participação das fontes renováveis em sua matriz energética. Isso se explica por alguns privilégios da natureza, como uma bacia hidrográfica contando com vários rios de planalto, fundamental para a produção de eletricidade (14%), e o fato de ser o maior país tropical do mundo, um diferencial positivo para a produção de energia de biomassa (23%) (Biodieselbr.com, 2006). O Brasil em função de sua vocação para a agricultura, pode desempenhar papel de destaque no cenário mundial na produção de biodiesel, podendo alçar o posto de líder mundial, permitindo a substituição de até 60% do diesel convencional (PARENTE, 2003).

Para atender às necessidades almejadas pelo Protocolo de Kyoto, os países desenvolvidos devem reduzir, entre 2008 e 2012, suas emissões de CO₂ em 5% em relação aos níveis de 1990. Ainda que não seja um emissor potencial de CO₂, o Brasil deu importante passo no sentido de reduzir suas emissões quando o governo sancionou em 13 de janeiro de 2005 a Lei 11.097 (D.O.U, 13/01/2005). Nela, o país se obriga a acrescentar o mínimo de 2% em volume de biodiesel no diesel destinado ao consumidor final até 2008. Este percentual deve chegar a 5% até 2013. Com esta medida legal, o Brasil oficializa a necessidade de uma produção local que pode incentivar a fixação do homem no campo, a geração de empregos e a proteção do meio ambiente.

O processo de produção de biodiesel utiliza principalmente a transesterificação (alcoólise) de óleos. Esse processo consiste na mistura de óleos vegetais ou gordura animal com excesso de álcool e um catalisador, que pode ser químico ou enzimático. Dentre os catalisadores químicos, destacam-se os alcalinos (NaOH, KOH, alcóxidos e Na₂CO₃) e os ácidos (H₂SO₄ e HCl). Já na categoria de catalisadores enzimáticos, encontram-se as lipases. Industrialmente é utilizada a via alcalina para a obtenção de biodiesel.

O processo via catálise alcalina apresenta vantagens como alto rendimento, elevada velocidade da reação e baixo custo do catalisador. Entretanto, existem algumas desvantagens, tais como:

- Quando o óleo empregado na reação de transesterificação possui mais do que 5% de ácidos graxos livres uma quantidade adicional do catalisador alcalino deve ser adicionada, devido à perda do catalisador pela formação de sabão. Teores de ácidos graxos livres acima de 5% dificultam a separação dos ésteres metílicos e glicerol devido a formação de sabão, bem como contribui para a formação de emulsão com a água de lavagem (GERPEN, 2005);
- impossibilidade de reaproveitamento do catalisador;
- necessidade de tratamento dos produtos e sub-produtos e maior gasto energético em função da temperatura empregada na reação;
- uso de material resistente à corrosão.

O emprego de lipases, por outro lado, permite a utilização de condições reacionais brandas, tais como baixa temperatura e pressão atmosférica. Essas enzimas apresentam elevada seletividade. Quando imobilizadas, apresentam maior resistência à desnaturação, permitindo também sua recuperação para reutilização, o que reduz o custo do processo.

As reações de transesterificação enzimática podem utilizar como matéria-prima óleos não refinados que possuem maior índice de acidez, visto que as lípases também podem converter os ácidos graxos livres e, assim, aumentar o rendimento da reação, sem a necessidade de pré-tratamento. A separação dos produtos finais é mais simples do que no processo alcalino uma vez que não é necessária nenhuma etapa de tratamento dos rejeitos em função da acidez ou alcalinidade dos mesmos, o que simplifica o processo. Quando utiliza uma enzima suportada, sua recuperação é mais simples, acontecendo através de filtração/centrifugação. Outra vantagem é que não há necessidade de tratamento dos rejeitos reacionais, uma vez que a reação ocorre em meio isento de ácidos ou bases.

O processo de transesterificação enzimática pode ser uma alternativa com melhores condições reacionais para a obtenção deste combustível renovável, maximizando o seu rendimento, reduzindo custos e minimizando danos ambientais.

Dadas as condições peculiares da indústria nacional, cuja substantiva produção de etanol é a partir da cana-de-açúcar, e considerando que o Brasil é o segundo produtor de soja no mundo, é relevante aprofundar os estudos sobre rotas reacionais para produção de biodiesel que favoreçam a melhor utilização das

matérias-primas renováveis nacionais a partir de processos tecnologicamente mais limpos. Assim, o presente trabalho teve por objetivo estudar a produção enzimática de biodiesel a partir da reação de transesterificação de óleo de soja com etanol.

1 – REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1.1 – Biodiesel

Biodiesel é definido como a mistura de ésteres monoalquílicos de ácidos graxos de cadeia longa derivados de fontes renováveis como óleos vegetais (refinados ou usados) e gordura animal (MEHER, SAGAR e NAIK, 2006).

Por ser fonte de energia renovável, o emprego do biodiesel tende a aumentar e, com ele, a necessidade de uma infra-estrutura capaz de dar suporte a sua produção. Com isso, esperam-se benefícios não só econômicos, mas também no âmbito social e ambiental. A relevância de tais benefícios depende do estágio de desenvolvimento econômico e social dos países.

1.1.1 - Benefícios sociais

A expectativa de largo emprego de biodiesel no mercado energético brasileiro e mundial estimula a idéia de um imenso programa de geração de emprego e renda.

O ex-ministro do Desenvolvimento Social e Combate à Fome do Brasil, Patrus Ananias, afirmou que a implementação do biodiesel passa pelo trabalho de inclusão social orientado pelo Governo Federal: *“Isto implica em uma ação determinada que proteja o agricultor familiar, seja o produtor de sementes ou do biodiesel com pequenas usinas”*. Para ele, *“não haverá sucesso se não houver mecanismos de proteção do Estado e da sociedade”* (IDER, 2006).

Estudos desenvolvidos pelo Ministério do Desenvolvimento Agrário, Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento, Ministério da Integração Social e Ministério das Cidades mostram que para cada 1% de substituição de óleo diesel por biodiesel produzido através de um modelo de agricultura familiar pode-se gerar cerca de 45 mil empregos. Admitindo-se que para cada emprego no campo são gerados 3 empregos na cidade, estima-se que, em uma hipótese otimista, de 6% de participação da agricultura familiar na produção de biodiesel, seriam gerados mais de 1 milhão de empregos (Biodieselbr.com, 2006).

1.1.2 - Benefícios econômicos

Uma vez implementada uma rede para a produção de biodiesel, espera-se captar recursos através do Mecanismo de Desenvolvimento Limpo – MDL, Protocolo de Kyoto. O MDL permite que indústrias comprem Certificados de Emissões Reduzidas (CER) emitidos por um projeto florestal ou agrícola (submetido a uma vistoria técnica) através de um banco ou empresa especializada. Esse certificado informa a quantidade de CO₂ que será fixada por mês ou ano pelo projeto. Assim, uma empresa interessada ao comprar este certificado está pagando pela fixação desse número de toneladas de carbono, isto é, pagando pela sua produção excedente de CO₂. No Mercado de Carbono, indiretamente uma empresa estará pagando a alguém para transformar CO₂ em celulose. A produção de uma oleaginosa que gere óleo para a produção de biodiesel pode ainda receber créditos por essa produção (Biodieselbr.com, 2006).

A área plantada no Brasil necessária para atender ao percentual de mistura de 2% de biodiesel ao diesel de petróleo é estimada em 1,5 milhões de hectares, o que equivale a 1% dos 150 milhões de hectares plantados e disponíveis para agricultura. Esse número não inclui as regiões ocupadas por pastagens e florestas. As regras permitem a produção a partir de diferentes oleaginosas e rotas tecnológicas (Ministério da Ciência e Tecnologia, 2006).

A diminuição das importações de diesel fóssil também promove a retenção de divisas, favorecendo a balança econômica do país.

1.1.3 - Benefícios ambientais

O consumo de combustíveis fósseis tem um considerável impacto na qualidade do meio ambiente. A produção e uso desses combustíveis resultam em poluição do ar, mudanças climáticas, geração de resíduos sólidos etc. O biodiesel é um biocombustível renovável, biodegradável, não-tóxico e gera uma quantidade menor de gases responsáveis pelo efeito estufa (VICENTE, MARTÍNEZ e ARACIL, 2004).

A poluição atmosférica é, possivelmente, a mais facilmente percebida. O biodiesel é considerado carbono neutro. No biodiesel de origem etílica (via cana-de-

açúcar), o CO₂ emitido em sua combustão foi previamente absorvido na fotossíntese dos vegetais que originaram o álcool e o óleo. O biodiesel obtido com o emprego de metanol de origem fóssil tem uma produção positiva pequena decorrente do grupamento metil proveniente do metanol. Ainda assim, gera uma contribuição de CO₂ menor que a do diesel convencional (fóssil). O teor em massa de 10 a 12% de oxigênio no biodiesel favorece a sua queima. As emissões de SO_x, material particulado (MP), CO, hidrocarbonetos (HC), hidrocarbonetos policíclicos aromáticos (PAH) e outros compostos aromáticos são menores que a do diesel de petróleo, conforme pode ser constatado no gráfico apresentado na Figura 1. A emissão de NO_x é levemente superior ao do diesel, ± 10%, dependendo das condições de operação do motor (BARNWAL e SHARMA, 2005).

Segundo Correa e Arbilla (2006) o impacto do biodiesel no total de MAH e PAH é benéfico, baseado na redução média quando o biodiesel é adicionado ao diesel convencional.

Outra vantagem é que o biodiesel pode ser usado em qualquer motor de ciclo diesel, em baixas proporções com o diesel, com pouca ou nenhuma necessidade de adaptação.

Em estudo comparativo de emissões entre diesel e B20 (biodiesel 20% v/v) por motores de ônibus urbanos, há aumento da emissão de compostos carbonílicos e redução de aromáticos leves (TURRIO-BALDASSARRI, 2004).

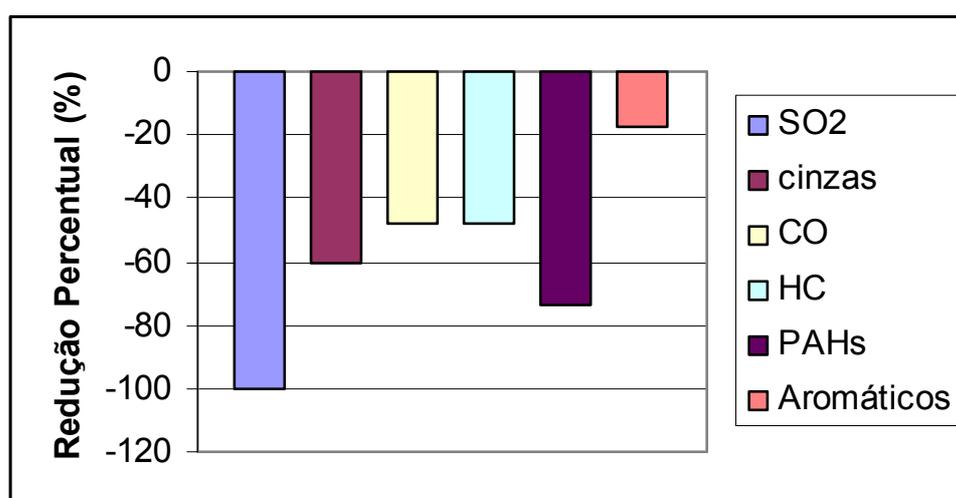


Figura 1 - Redução das emissões do biodiesel comparada ao petrodiesel (BARNWAL e SHARMA, 2005)

1.2 – Produção de biodiesel

1.2.1 - Mundial

As primeiras iniciativas de produção de biodiesel são reportadas desde 1981, na África do Sul e 1982 na Áustria, na Alemanha e na Nova Zelândia. Em 1985 uma pequena planta piloto testou o biodiesel de canola e em 1990 entrou em operação a primeira planta de biodiesel através de uma cooperativa de fazendeiros na Áustria (KÖRBITZ, 1999).

As refinarias de petróleo da Europa têm buscado a eliminação do enxofre do óleo diesel. Como a lubricidade do óleo diesel mineral dessulfurado diminui muito, a correção tem sido feita pela adição do biodiesel, já que sua lubricidade é extremamente elevada.

Na União Européia, há em torno de 50 indústrias produzindo biodiesel com capacidade anual instalada de aproximadamente 2,25 milhões de toneladas (KARINEN e KRAUSE, 2006).

A Alemanha estabeleceu um expressivo programa de produção de biodiesel a partir da canola, sendo hoje o maior produtor e consumidor europeu de biodiesel. A Alemanha conta com suporte governamental para novas tecnologias baseadas em fontes renováveis uma vez que não possui depósitos ativos de petróleo em seu território. O cultivo da canola favorece a nitrogação natural do solo exaurido. A capacidade alemã atual já ultrapassa 1 milhão de toneladas por ano. Após sua produção, o biodiesel é distribuído e comercializado na forma pura – B100, contando com benefícios tributários (Biodieselbr, 2006).

A França é o segundo maior produtor de biodiesel europeu. Sua capacidade gira em torno de 460 mil toneladas por ano. Suas motivações e sistemas produtivos são semelhantes aos alemães. Entretanto, sua distribuição é feita através de misturas com o óleo diesel de petróleo, na proporção atual de 5% v/v (B5), com tendência para fixar-se em 8% v/v (B8) em curto prazo (Biodieselbr, 2006).

A produção americana pode atingir 75,6 a 94,5 milhões de litros por ano (GERPEN, 2005). Se toda a produção de óleos e gorduras americanas fosse utilizada na produção de biodiesel, esta representaria 14% do óleo diesel consumido nas rodovias. A percentagem estimada para o biodiesel americano em óleo diesel é de 20% v/v (B20). Há um grande empenho daquelas autoridades para o uso desse

combustível nas grandes cidades, sendo a principal fonte de óleo, a soja (Biodieselbr, 2006).

A Argentina iniciou seu programa de biodiesel com um plano de incentivo tributário que desonera a produção, com subsídios que isentam de impostos por 10 anos a cadeia produtiva do biodiesel através do Decreto Governamental 1.396 de novembro de 2001(Biodieselbr, 2006).

A questão ambiental constitui uma grande força-motriz para a produção e consumo de combustíveis limpos oriundos da biomassa como o biodiesel. O Japão já demonstrou interesse em importá-lo. Países do norte e leste europeu, além da Itália e da Espanha, cogitam não somente produzir, mas também importar biodiesel (Biodieselbr, 2006).

A legislação de meio ambiente da União Européia estabeleceu que a partir de 2005, 2% dos combustíveis consumidos deveriam ser renováveis e esta meta deve aumentar para 5% em 2010 (Biodieselbr, 2006).

1.2.2 - Brasil

Por sua extensão territorial e excelentes condições climáticas, o Brasil é um dos mais promissores países para a exploração da biomassa. O Brasil possui cerca de 150 milhões de hectares com condições de plantio, em condições reais para se tornar um dos maiores produtores de biodiesel do mundo, pois dispõe de solo e clima adequados ao cultivo de oleaginosas. Isto o torna um país destacado no cenário mundial através de sua capacidade de expansão em sua produção. Assim, além de assegurar o suprimento interno, o biodiesel produzido no Brasil tem grande potencial de exportação.

O biodiesel pode ser um importante produto para exportação e para a independência energética nacional, associada à geração de empregos e renda nas regiões mais carentes do Brasil. O Brasil importa 10% do diesel consumido. O uso comercial do B2 cria um mercado potencial para a comercialização de 800 milhões de litros de biodiesel/ano, o que representa uma economia anual da ordem de US\$ 160 milhões na importação de diesel (Ministério da Ciência e Tecnologia, 2006).

O Brasil passa a se comprometer por força de lei com a produção e a utilização de biodiesel através da lei 11.097 de 13 de janeiro de 2005, que torna

obrigatória a adição de 2%, em volume, de biodiesel ao diesel comum e 5% a partir de 2013 (D.O.U, 2005).

1.3 - Características do biodiesel

Em termos de propriedades físico-químicas, existe grande semelhança entre o biodiesel e o diesel, conforme pode-se constatar, a partir dos valores apresentados na Tabela 1. Além disso, pela equivalência de suas propriedades físico-químicas e sendo o biodiesel completamente solúvel no diesel fóssil, tais misturas podem ser empregadas em qualquer proporção (PARENTE, 2003).

Tabela 1 - Propriedades físico-químicas do biodiesel e diesel

	Viscosidade cinemática (mm ² /s)	Número de cetano	Valor energético (MJ/kg)	Ponto de névoa (°C)	Ponto de fluidez (°C)	Ponto de fulgor (°C)	Densidade (kg/L)
Ésteres metílicos de óleos vegetais/ gordura animal (Biodiesel)							
Amendoim	4,9	54	33,6	5	-	176	0,883
Soja	4,5	45	33,5	1	-7	178	0,885
Babaçu	3,6	63	31,8	4	-	127	0,875
Palma	5,7	62	33,5	13	-	164	0,880
Girassol	4,6	49	33,5	1	-	183	0,860
Gordura bovina	-	-	-	12	9	96	-
Diesel	3,06	50	43,8	-	-16	76	0,855
B20 (20% v/v)	3,2	51	43,2	-	-16	128	0,859

Fonte: BARNWAL e SHARMA, 2005

A viscosidade, por ser uma medida da resistência ao escoamento de um líquido, é de considerável influência no processo de injeção do combustível, isto é,

durante sua atomização vai afetar a combustão no motor e, conseqüentemente, sua potência. A viscosidade do biodiesel é maior que a do diesel. Quando adicionado entre 1 e 2% ao diesel, o biodiesel aumenta as propriedades lubrificantes de um diesel de teor ultra baixo de enxofre, tornando-o um combustível aceitável (GERPEN, 2005).

O ponto de névoa é a temperatura na qual se inicia a cristalização do óleo. Essa variável influencia negativamente o sistema de alimentação do motor, bem como do filtro de combustível, principalmente em condições de baixa temperatura ambiente, facilitando o aparecimento de cristais.

O ponto de fluidez indica a temperatura na qual o combustível pára de escoar e é de grande importância em países de baixa temperatura ambiente.

O ponto de fulgor é a menor temperatura na qual a mistura de vapores do líquido com o ar se inflama na presença de uma fonte de calor (chama). Entretanto, ao se retirar a fonte de calor a chama se extingue. Trata-se de um dado importante no que tange à segurança dos combustíveis e indica a facilidade de queima.

O biodiesel também apresenta baixa pressão de vapor o que facilita o processo de estocagem.

O número de cetano de um óleo combustível corresponde ao percentual volumétrico de cetano e α -metil-naftaleno contido nesse óleo. Quanto maior for o número de cetano, menor será o retardo de ignição e, por conseguinte, melhor será sua qualidade de combustão. O número de cetano está para o diesel assim como a octanagem está para a gasolina. Sua escala varia também de 0 a 100. O valor de 0 é atribuído ao isocetano (2,2,4,4,6,8,8 – heptametil nonano), utilizado por razões de segurança no lugar do α -metil-naftaleno, e o valor 100 ao n-hexadecano. Apesar de possuir um menor poder calorífico (LHV), o número cetano e o ponto de fulgor do biodiesel são maiores do que os do diesel de petróleo. Estas características tornam o biodiesel um candidato à reposição do diesel, caso a demanda aumente (FUKUDA, KONDA e NODA, 2001).

Como produto, o biodiesel é praticamente livre de enxofre (<0,001%) e isento de compostos aromáticos (TAPANES, 2006), tem-se uma combustão mais limpa e sem formação de SO₂, um dos responsáveis pela deposição ácida. O biodiesel possui teor médio de oxigênio de 10% em massa, o que promove uma combustão mais completa frente ao diesel (FUKUDA, KONDA e NODA, 2001).

Na Tabela 2 encontram-se outros dados comparativos entre o biodiesel e o diesel. Fatores sociais, econômicos e ambientais estão presentes nessa comparação. O biodiesel traz vantagens interessantes, além das ambientais, que estão em grande evidência devido à maior preocupação com o meio ambiente, especialmente a questão do controle das emissões de gases de efeito estufa a partir do Protocolo de Kyoto, em 1997.

Tabela 2 - Características do biodiesel em relação ao diesel convencional

Característica do biodiesel	Conseqüências do uso de biodiesel
Menos poluente	redução sensível das emissões de MP, CO, SO _x e policíclicos aromáticos (PAH)
Reduz o aquecimento global	o CO ₂ liberado na combustão é absorvido pelas oleaginosas durante o crescimento, compensando aquele gerado pela sua combustão
Ambientalmente benéfico	baixo nível de toxicidade
Economicamente competitivo	completa as novas tecnologias do diesel com desempenho similar
Economicamente atraente	valorização de subprodutos de atividades agro-industriais, aumento da arrecadação de ICMS local, aumento da fixação do homem no campo.
Regionalização	pequenas e médias plantas para a produção de biodiesel podem ser implantadas em diferentes regiões do país.

Fonte: NETO et al. (2000).

1.4 - Rotas de obtenção

Os principais processos de produção de biodiesel (ésteres metílicos ou etílicos de ácidos graxos) consistem na transesterificação de óleos vegetais ou gordura animal com álcool (alcoólise) e a esterificação de ácidos graxos com álcool. Os dois processos citados podem ser conduzidos por via química ou enzimática.

1.4.1 - Esterificação

Ácidos graxos são ácidos monocarboxílicos de ocorrência natural, com cadeia alifática, normal, saturada ou insaturada. Os ácidos graxos possuem, em geral, números pares de átomos de carbono, mas existem também ácidos graxos com número de carbonos ímpares, apesar de raros. Os ácidos graxos saturados são geralmente sólidos na temperatura ambiente. Os ácidos graxos insaturados possuem uma ou mais duplas ligações e são geralmente líquidos na temperatura ambiente (VIEIRA, 2005).

Devido à extensão de suas cadeias carbônicas, os ácidos graxos são compostos de caráter hidrofóbico, sendo que sua hidrofobicidade aumenta à medida que aumenta o comprimento da cadeia carbônica. A Tabela 3 apresenta a classificação dos ácidos graxos de cadeia longa quanto ao comprimento da cadeia e à presença de duplas ligações.

Tabela 3 – Classificação dos principais ácidos graxos de cadeia longa

<i>Classificação</i>	<i>Ácido Graxo</i>	<i>Estrutura^a</i>	<i>Fórmula</i>
Saturados	ácido láurico	C12:0	C ₁₂ H ₂₄ O ₂
	ácido mirístico	C14:0	C ₁₄ H ₂₈ O ₂
	ácido palmítico	C16:0	C ₁₆ H ₃₂ O ₂
	ácido esteárico	C18:0	C ₁₈ H ₃₆ O ₂
	ácido araquídico	C20:0	C ₂₀ H ₄₀ O ₂
	ácido beênico	C22:0	C ₂₂ H ₄₄ O ₂
	ácido lignocérico	C24:0	C ₂₄ H ₄₈ O ₂
Insaturados	ácido palmitoléico	C16:1	C ₁₆ H ₃₀ O ₂
	ácido oléico	C18:1	C ₁₈ H ₃₄ O ₂
	ácido linoléico	C18:2	C ₁₈ H ₃₂ O ₂
	ácido linolênico	C18:3	C ₁₈ H ₃₀ O ₂
	ácido erúxico	C22:1	C ₂₂ H ₄₂ O ₂

^a *xx:y indica xx carbonos na cadeia de ácido graxo com y duplas ligações.*

Fonte: SRIVASTAVA e PRASAD, 2000; BARNWAL e SHARMA, 2005

A reação de esterificação (Figura 2) ocorre através da reação entre um ácido graxo e um álcool. Esse processo pode ser aplicado no aproveitamento de resíduos (ácidos graxos livres) de outros processos industriais (curtumes, resíduos de indústrias alimentícias, frigoríficos, abatedouros, etc) (SRIVASTAVA e PRASAD, 2000; BARNWAL e SHARMA, 2005).

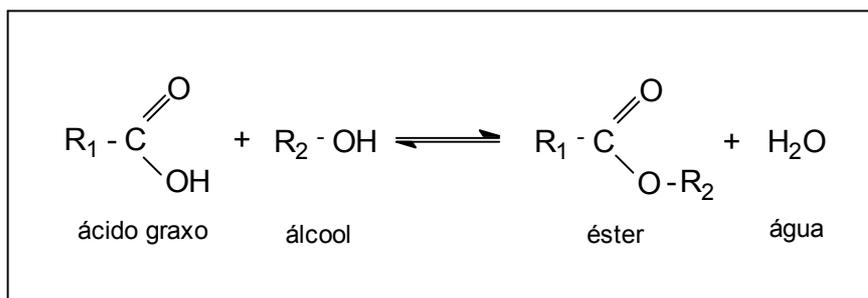


Figura 2 – Reação de esterificação

A produção de biodiesel pela esterificação direta do ácido graxo com álcool pode também ser realizada como um pré-tratamento, quando o óleo vegetal ou gordura possui elevado índice de acidez. Desse modo, evita-se a formação de sabões, minimizando-se a perda de rendimento. Outras impurezas também são removidas através desta reação, como os fosfolipídios e polipeptídios.

Essa reação pode ocorrer na presença de um catalisador ácido, como os ácidos sulfúrico (H₂SO₄), clorídrico (HCl) e o ácido metano sulfônico (H₃C-SO₃H), ou de enzimas (lipases). O emprego de catalisadores ácidos requer condições mais extremas de temperatura e pressão. Além disso, faz-se necessária uma etapa adicional de neutralização, bem como o uso de equipamentos resistentes à corrosão.

1.4.2 Transesterificação

Transesterificação ou alcoólise é a troca do álcool de um éster por um outro (Figura 3) em um processo similar a hidrólise, utilizando-se álcool no lugar da água (SRIVASTAVA e PRASAD, 2000). Este processo é amplamente utilizado para reduzir a viscosidade de triacilgliceróis (MEHER, SAGAR e NAIK, 2006).

A alcoólise consiste no principal processo de produção de biodiesel. É preferida à esterificação direta de ácidos graxos por que os triacilgliceróis são mais disponíveis do que os ácidos graxos livres (PINTO et al., 2005). A reação de transesterificação ocorre entre um lipídeo e um álcool para produzir éster e glicerol. O lipídeo (éster) inicial é um triacilglicerol (triacilgliceróis). Triacilgliceróis são ésteres derivados de ácidos, principalmente graxos, e do glicerol, sendo que os radicais derivados de ácidos graxos não são necessariamente iguais.

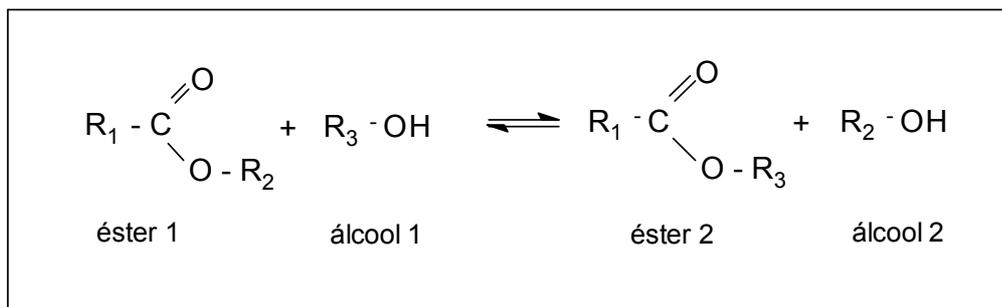


Figura 3 – Reação de alcoólise

A Figura 4 apresenta uma estrutura típica de uma molécula de triacilglicerol, sendo que R_1 é um resíduo de ácido esteárico, R_2 é um resíduo de ácido oléico e R_3 é um resíduo de ácido linoléico.

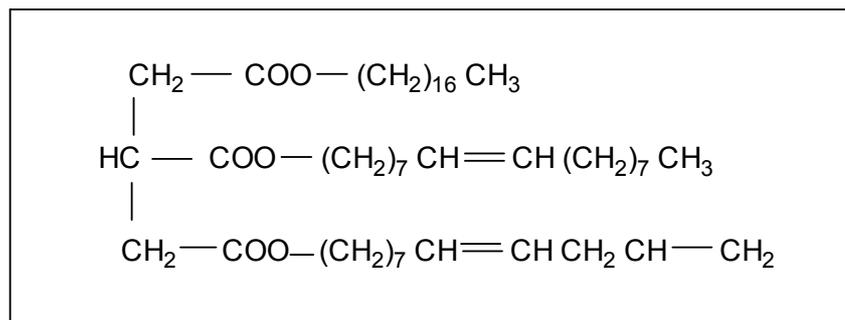


Figura 4 - Estrutura típica de uma molécula de triacilglicerol

Fonte: SRIVASTAVA e PRASAD, 2000; BARNWAL e SHARMA, 2005.

Conforme apresentado na Figura 5, a estequiometria da reação de transesterificação total requer 3 mol de álcool para 1 mol de triacilglicerol, produzindo 3 mol de ésteres de ácidos graxos e 1 mol de glicerol. Um excesso de

álcool favorece a formação do éster (biodiesel) através do deslocamento do equilíbrio da reação.

A transesterificação pode ser catalisada pelo emprego de álcalis, ácidos ou enzimas, em meios homogêneos ou heterogêneos.

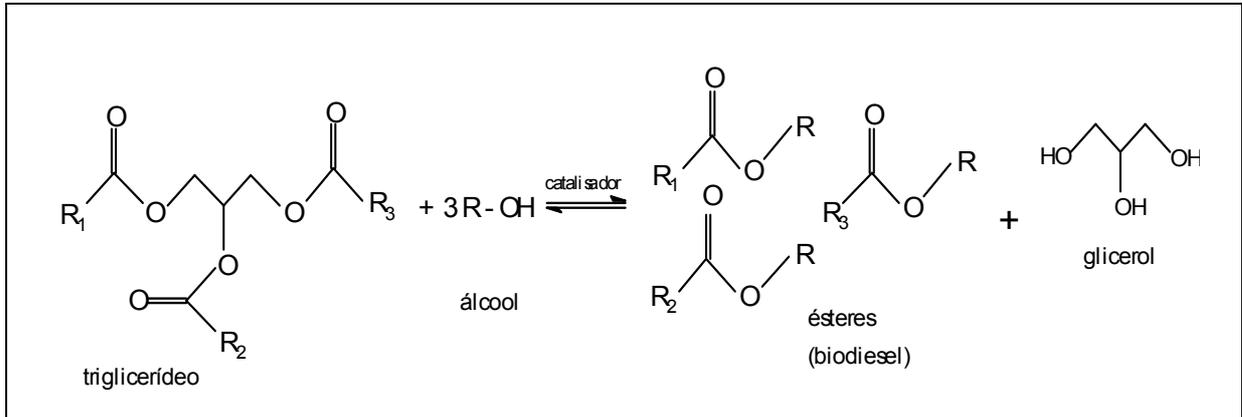


Figura 5 – Equação geral de transesterificação

Esta reação ocorre em etapas, tendo mono e diacilglicerol como intermediários, conforme apresentado na Figura 6.

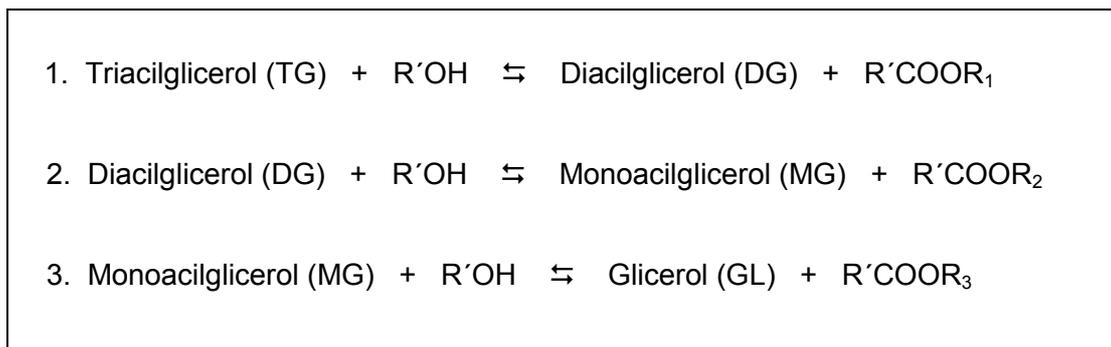


Figura 6 - Etapas das reações de transesterificação de triacilglicerol

Fonte: FUKUDA, KONDO e NODA, 2001; BARNWAL e SHARMA, 2005.

O processo pode ainda ser conduzido em fluidos supercríticos. No entanto, ainda há desafios referentes à produção de biodiesel, como a obtenção de um produto com alto rendimento, elevado grau de pureza, baixo custo

(energético/operacional e reacional) e menor impacto ambiental provocado pelos subprodutos da reação.

No período entre 2000 e 2004 observou-se um crescente interesse pelo biodiesel. Os números de publicações e patentes requeridas sobre biodiesel quase triplica nesse período, como se pode observar na Figura 7 (PINTO et al., 2005).

Em relação aos catalisadores empregados na reação de transesterificação, os hidróxidos de sódio e potássio se destacam pelo baixo custo e serem muito reativos. No entanto, eles provocam a formação de sabões como sub-produtos indesejáveis devido à saponificação do triacilglicerol (VICENTE, MARTÍNEZ e ARACIL, 2004). Isso reduz o rendimento da reação e dificulta a separação e purificação dos produtos finais. A remoção do catalisador é uma etapa difícil e eleva os custos do produto final.

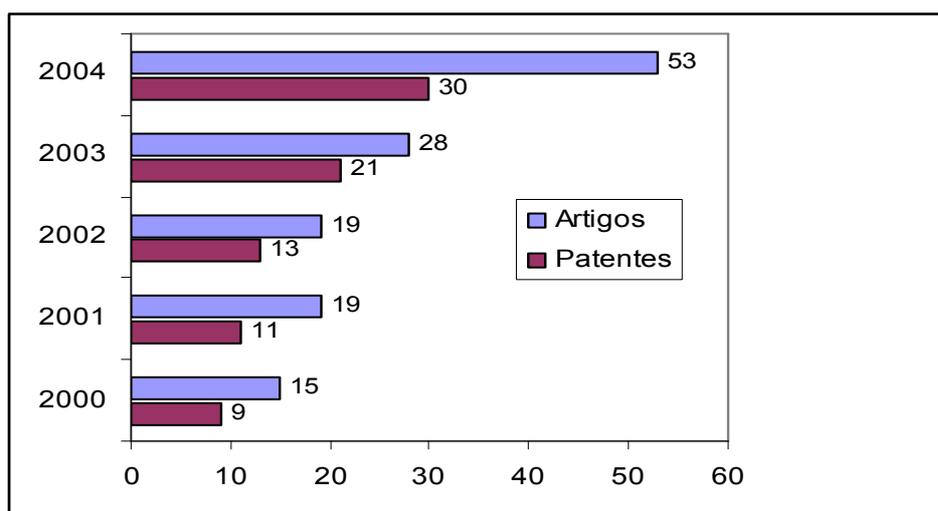


Figura 7 - Levantamento da evolução da pesquisa e registro de patentes em biodiesel na rede mundial de computadores no período 2000 – 2004

Fonte: PINTO et al., 2005

Já o emprego de catalisadores ácidos pode ocasionar a corrosão inconveniente dos equipamentos utilizados, além de proporcionar reações mais lentas, requerem temperaturas e pressões mais elevadas (VICENTE, MARTÍNEZ e ARACIL, 2004), o que eleva os custos.

Esses dados reforçam o interesse pela utilização de um processo de menor impacto ambiental e custo operacional. A catálise enzimática apresenta-se como um caminho alternativo aplicável.

As três rotas catalíticas de transesterificação (alcalina, ácida e enzimática) serão brevemente apresentadas a seguir.

1.4.2.1 Transesterificação por catálise alcalina

A catálise alcalina pode ser realizada em sistema homogêneo e heterogêneo. Dentre os catalisadores básicos temos os alcoóxidos, carbonatos e os hidróxidos de sódio e potássio. Os hidróxidos de sódio e potássio são comumente preferidos por serem muito reativos e relativamente de menor custo (PINTO et al., 2005).

A Figura 8 apresenta o mecanismo de reação para a reação de transesterificação catalisada por álcalis:

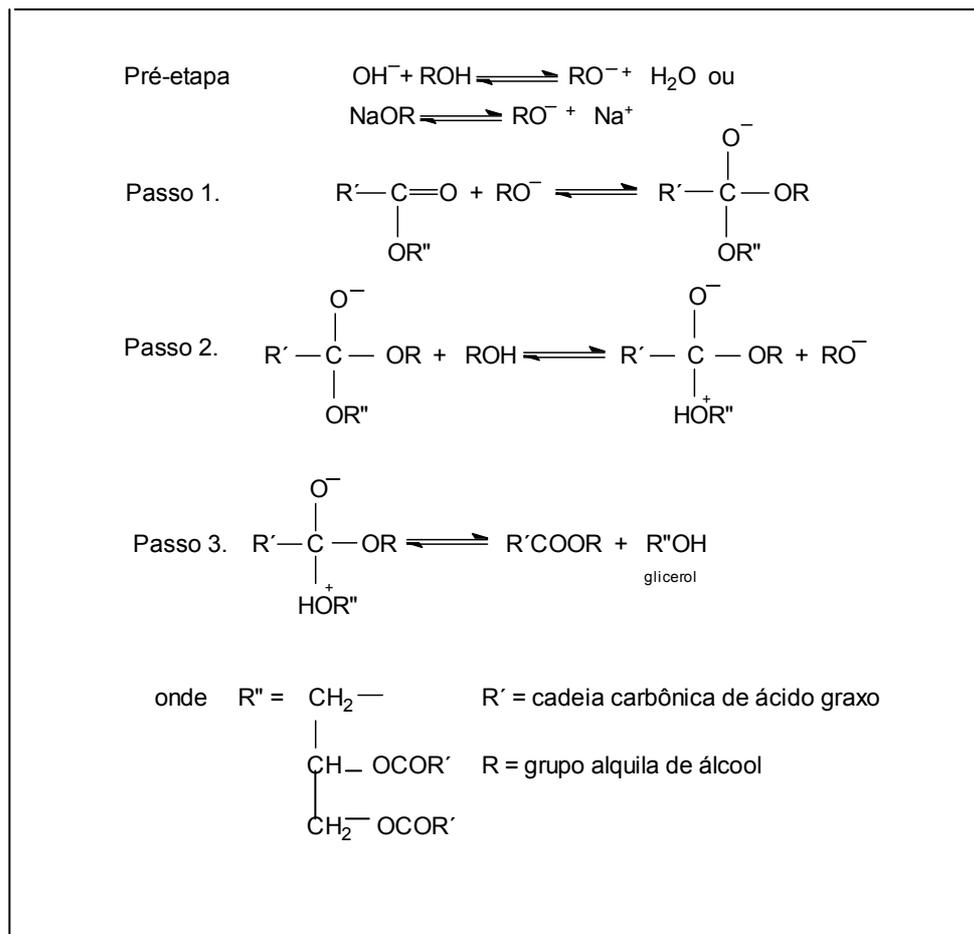


Figura 8 – Mecanismo da reação de transesterificação catalisada por álcalis

Fonte : MEHER, SAGAR e NAIK,2006

A razão molar álcool/óleo pode variar de 1:1 a 6:1, sendo esta última a mais empregada. Os tipos de álcool mais utilizados são o metanol e etanol, sendo que este último é menos tóxico. A quantidade de catalisador varia de 0,5 a 1% em massa. A temperatura usualmente empregada é de 60°C, podendo variar dependendo do catalisador variando também o rendimento final da reação. Sua grande vantagem industrial em relação à catalise ácida é a maior eficiência e menor corrosividade (MARCHETTI, MIGUEL e ERRAZU, 2007).

Os ácidos graxos livres do óleo são convertidos em sabões e podem dificultar a separação dos ésteres no processo alcalino. Há necessidade de eliminação dos ácidos graxos livres em etapas preliminares.

As principais vantagens da utilização de catalisadores alcalinos são: a elevada velocidade de reação, a baixa concentração empregada dos catalisadores e os elevados rendimentos e purezas obtidos na produção do biodiesel.

Vicente, Martinez e Aracil (2004) obtiveram elevados rendimento (99,3%) e pureza (98%) de biodiesel empregando metóxido de sódio e de potássio na reação de transesterificação de óleo de girassol refinado, a 60°C, com 1% de catalisador respectivamente, superiores aos obtidos com os respectivos hidróxidos (rendimento de 86,7% e pureza de 91,6%), com a vantagem de menor perda molar percentual em subprodutos, nas mesmas condições reacionais. O elevado custo e caráter higroscópico dos metóxidos são desvantagens consideráveis.

Uma planta básica de transesterificação alcalina com metanol emprega um reator em batelada para produções pequenas. Para produtividades acima de 4 milhões L/ano, é comum a utilização de um reator de fluxo contínuo. A Figura 9 apresenta um exemplo de fluxograma para a transesterificação alcalina. No reator entram o óleo, o álcool e o catalisador. A reação ocorre durante 1h a 60°C. A seguir, tem-se a etapa de separação dos produtos reacionais. Os ésteres formados são solúveis no glicerol e este é muito mais denso. É possível separá-los do meio reacional por decantação ou centrifugação. O álcool pode dificultar a separação dos ésteres do glicerol. Entretanto, o excesso de álcool ainda não é separado nesta fase para evitar a reversão da reação. Em uma etapa posterior, ele deve ser recuperado (evaporação do metanol por filme descendente ou por processo de destilação por flash à vácuo) e pode ser reaproveitado no início do processo (GERPEN, 2005).

Adições de ácidos são necessárias para a neutralização do catalisador. Como pode haver formação de sabão oriundo da reação dos ácidos graxos livres com o

O metanol tende a sequestrar toda a água que entra no processo. Essa água deve ser removida caso o álcool retorne ao processo. Para o caso do metanol, uma coluna de destilação é suficiente para sua remoção. Quando o álcool utilizado é o etanol ou o isopropanol são necessárias mais etapas de separação, pois são formadas misturas azeotrópicas com a água. Assim, peneiras moleculares podem ser usadas para remover a água (GERPEN, 2005).

Os alcoóxidos de metais alcalinos (NaOCH_3 e KOCH_3) são mais reativos como catalisadores, pois apresentam elevadas conversões (> 98%) em pequenos tempos de reação (30 min), mesmo quando aplicados em baixas concentrações molares (0,5% molar). No entanto, esses catalisadores apresentam alto custo e requerem ausência de água, o que os torna impróprios para os processos industriais típicos (SCHUCHARDT, SERCHELI e VARGAS, 1998 apud VIEIRA, 2005).

Vicente, Martinez e Aracil (2004) obtiveram elevados rendimentos em ésteres metílicos com diferentes concentrações e tipos de catalisadores. As reações foram feitas a 60°C, com razão molar metanol/óleo igual a 6,1% em massa de catalisador alcalino em relação a massa de óleo. Os resultados obtidos por esses autores estão apresentados na Tabela 4.

Tabela 4 – Efeito do catalisador no rendimento e pureza do biodiesel

	Catalisador			
	NaOH	KOH	NaOCH_3	KOCH_3
Pureza no biodiesel (% m/m)	99,7	99,8	99,7	99,5
Rendimento em biodiesel (% m/m)	86,7	91,7	99,3	98,5

Fonte: VICENTE, MARTÍNEZ e ARACIL, 2004

O rendimento inferior do processo com hidróxidos está ligado à reação de saponificação, que afeta a solubilidade dos ésteres metílicos em glicerol, ocasionando decréscimo no rendimento final.

A transesterificação catalisada por álcalis é aproximadamente 4.000 vezes mais rápida do que a reação catalisada, com mesma quantidade de um catalisador ácido (FUKUDA, KONDO e NODA, 2001). Além da questão cinética, os

catalisadores alcalinos são menos corrosivos do que os catalisadores ácidos. Logo, a grande maioria das reações comerciais de transesterificação é conduzida com catalisadores alcalinos (SRIVASTAVA e PRASAD, 2000). Os catalisadores básicos tradicionalmente utilizados são o hidróxido de sódio (NaOH) e o hidróxido de potássio (KOH). Na metanólise alcalina, tais bases são empregadas em baixa concentração no meio reacional (< 2% m/m óleo) (MEHER, SAGAR e NAIK, 2006).

1.4.2.2 Transesterificação por catálise ácida

Este é o segundo modo convencional para a produção de biodiesel. A reação é realizada com utilizar os triacilgliceróis e o álcool, empregando um ácido ao invés da base (MARCHETTI, MIGUEL e ERRAZU, 2007).

Os catalisadores ácidos mais empregados na produção de biodiesel são os ácidos sulfúrico, clorídrico, fosfórico, sulfônico, entre outros (FUKUDA, KONDO e NODA, 2001). O ácido sulfônico produz rendimento muito alto, embora sua reação seja mais lenta, requerendo muitas vezes mais de um dia para completar a reação (MARCHETTI, MIGUEL e ERRAZU, 2007).

Segundo Marchetti, Miguel e Errazu (2007), a faixa de temperatura usual na transesterificação ácida varia entre 55 a 80°C, utilizando razão molar álcool/óleo de 30:1 e uma concentração de ácido sulfúrico de 1% molar é suficiente para alcançar uma conversão final de 99%, em aproximadamente 50h de reação.

Algumas desvantagens da catálise ácida são: menor velocidade de reação, maior consumo de catalisador, maior relação molar álcool/óleo e maior gasto de energia, uma vez que a maioria dos processos precisa de temperaturas mais elevadas. Os resíduos finais requerem também cuidados no descarte, devido à elevada acidez. O emprego de equipamentos mais resistentes à corrosão se faz necessário.

A vantagem da catálise ácida é a possibilidade de utilizar óleos não refinados e resíduos industriais e domésticos ricos em triacilgliceróis. Esses materiais possuem elevados teores de ácidos graxos livres, que dificultam a transesterificação alcalina. A transesterificação ácida é um importante modo de produção de biodiesel se a matéria-prima possui um conteúdo de ácidos graxos livres relativamente alto (MARCHETTI, MIGUEL e ERRAZU, 2007). O emprego de catalisadores ácidos na

transesterificação dessas matérias-primas não promove a saponificação dos ácidos graxos livres, levando assim a um maior teor de ésteres alquílicos, o que aumenta a produção de biodiesel.

A Figura 10 ilustra o mecanismo de transesterificação catalisada por ácidos.

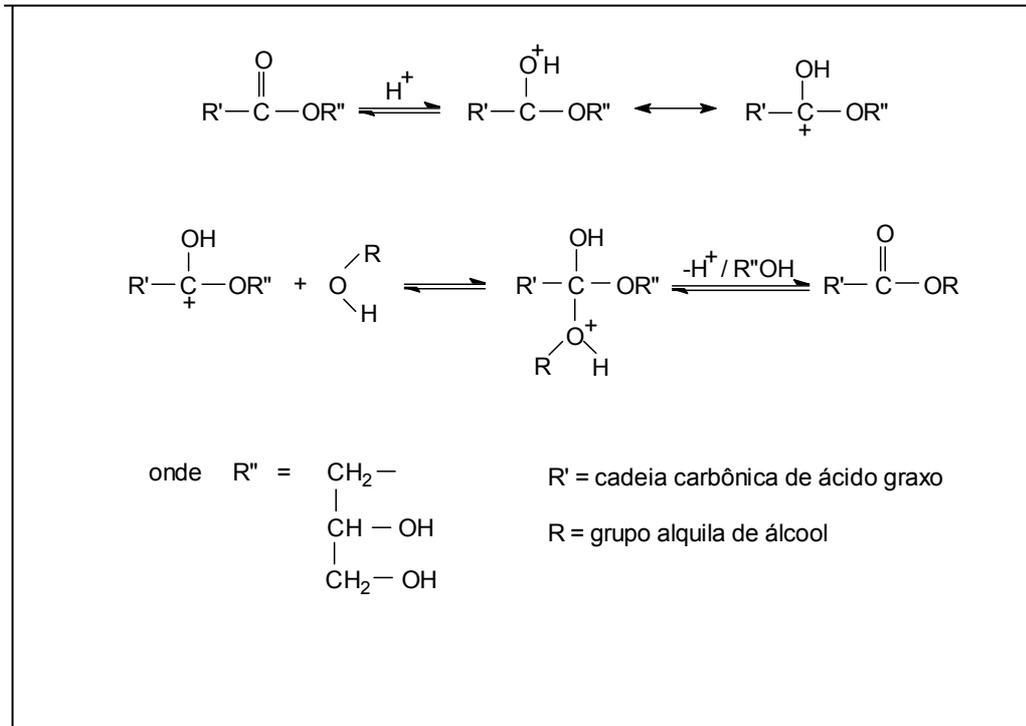


Figura 10.– Mecanismo de transesterificação catalisada por ácidos

Fonte: MEHER, SAGAR e NAIK, 2006

1.4.2.3 Transesterificação por catálise enzimática

- Lipases

As enzimas são proteínas com atividade catalítica capazes de aumentar a velocidade de reações químicas através da redução da energia de ativação das mesmas. As lipases são enzimas classificadas como hidrolases (triacilglicerol éster hidrolases E.C.3.1.1.3) e atuam sobre a ligação éster de vários compostos, sendo os acilgliceróis seus melhores substratos. A hidrólise de triacilgliceróis pelo emprego de lipases é um processo reversível.

A função biológica das lipases é catalisar a hidrólise de triacilgliceróis. No entanto, essas enzimas também catalisam a reação reversa de esterificação, a transesterificação (acidólise, interesterificação e alcoólise) e a aminólise em solventes orgânicos anidros, sistemas bifásicos e em soluções de micelas. O equilíbrio entre a reação direta (hidrólise) e a reação reversa (síntese) é controlado pela atividade da água na mistura reacional (VILLENEUVE, 2000).

As lipases podem ser de origem vegetal, animal ou microbiana. No passado eram predominantemente obtidas a partir do pâncreas animal, sendo utilizadas pelo homem, por exemplo, como auxiliar digestivo (MACRAE e HAMMOND, 1985).

- Propriedades das lipases

As lipases são estáveis em soluções aquosas neutras à temperatura ambiente, apresentando atividade ótima entre 30°C e 40°C. A estabilidade é função de sua origem e as mais termicamente estáveis são de origem microbiana. As lipases apresentam atividade em ampla faixa de pH, demonstrando maior eficiência entre 5 e 9, mas frequentemente empregadas entre 6 e 8 (MACRAE e HAMMOND, 1985).

- Especificidade das lipases

O emprego das lipases nos processos industriais ou analíticos decorre em função de suas especificidades. As lipases apresentam 4 tipos de especificidades:

(i) em relação à classe dos lipídios: a enzima pode ser específica em relação ao tipo de éster, como por exemplo, colesterol éster, tri-, di- ou mono-gliceróis, e outros (VAN DER PADT, 1993).

(ii) quanto à regioespecificidade: responde pela seletividade da enzima em relação à posição da ligação éster no substrato.

(iii) em relação ao resíduo de ácido graxo: a enzima é específica em relação ao comprimento da cadeia do ácido graxo ou em relação à presença de insaturação na cadeia do ácido.

(iv) quanto à esteroespecificidade; as lipases podem diferenciar os substratos isômeros, catalisando apenas a hidrólise ou esterificação de um deles (CASTRO e ANDERSON, 1995).

- Estrutura protéica

Na sua grande maioria, as lipases microbianas são glicoproteínas. Assim como outras hidrolases, as lipases possuem uma tríade catalítica, composta por 3 aminoácidos em seu centro ativo: um resíduo nucleofílico de serina, um resíduo ácido de aspartato (ou glutamato) e outro de histidina (JAEGER, DIJKASTRA e REETZ, 1999). Em geral, o sítio ativo fica oculto por uma tampa peptídica, na forma nativa da enzima, que o torna inacessível à moléculas de substratos que estejam isoladas em meio aquoso. Ao entrar em contato com uma interface hidrofóbica ou solvente orgânico, ocorre abertura dessa tampa polipeptídica e uma reorganização conformacional da lipase, criando uma região eletrofílica em torno do resíduo da serina. Ao ocorrer a abertura da tampa, há exposição da superfície apolar da enzima em torno do sítio catalítico. Esta tampa vira-se para trás encobrendo o lado hidrofílico em uma cavidade apolar, antes preenchida por moléculas de água. O sítio hidrofóbico da tampa quando exposto à fase lipídica, aumenta as interações hidrofóbicas entre a enzima e a superfície lipídica (PAIVA, BALCÃO E MALCATA, 2000).

- Transesterificação enzimática

A transesterificação enzimática supera alguns problemas encontrados na transesterificação química, tais como, a difícil recuperação do glicerol e a conversão incompleta dos ácidos graxos livres (FELIZARDO et al., 2006).

A separação do produto também é mais fácil pelo emprego de lipases (MARCHETTI, MIGUEL e ERRAZU, 2007). O processo de centrifugação permite a separação da enzima e do glicerol bruto. Isto simplifica a recuperação do glicerol e da própria enzima imobilizada para reuso.

Yagiz, Kazan e Akin (2007) produziram biodiesel a partir de óleo de cozinha utilizado através do emprego de uma lipase imobilizada em hidrotalcita (zeólita). A reação foi realizada a 24°C e 200 rpm por 105h. O teor de lipase utilizado foi de 4% em massa em relação ao óleo. O emprego de Lipozyme TL IM livre na mistura proporcionou 95% de rendimento. Após 7 ciclos de reuso, a enzima ainda exibiu atividade catalítica (36% da atividade inicial).

Shimada et al. (2002) conseguiram um aumento na estabilidade da lipase imobilizada de *Candida antactica* através de adições escalonadas de etanol a 40°C na reação de transesterificação de óleo de tuna empregando 4% m/m de enzima, com a razão estequiométrica entre álcool e óleo obtendo 97,3% de conversão após 48h. Na etanolise com adição de álcool em duas etapas, a atividade enzimática começou a declinar a partir do 35º ciclo, enquanto que com a adição em 3 etapas, ela se manteve ativa plenamente por mais de 50 ciclos de reuso.

Du et al. (2004) verificaram a transformação de óleo de soja em biodiesel com diferentes aceptores de grupos acila catalisada por lípase comercial imobilizada, Novozym 435, obtendo rendimento de 92% em ésteres metílicos e reutilizaram a enzima, sem perda de atividade, por 100 bateladas.

O alto custo das enzimas frequentemente se apresenta como o maior obstáculo para a sua utilização industrial. O passo chave no processo enzimático recai sobre o sucesso na imobilização da enzima, o qual permitirá a sua fácil recuperação e reuso (BALCÃO, PAIVA e MALCATA, 1996). A imobilização de enzimas pode aumentar sua estabilidade, possibilitando, por exemplo, o emprego de solvente. Há maior estabilidade térmica da enzima em relação ao seu estado nativo (MARCHETTI, MIGUEL e ERRAZU, 2007).

Assim sendo, o desenvolvimento da engenharia genética e de novos métodos para a imobilização de enzimas pode propiciar maior estabilidade operacional, permitindo a reutilização da mesma, reduzindo seu custo e tornando promissora a sua utilização em escala industrial.

1.5 – Variáveis de processo na produção de biodiesel por transesterificação

1.5.1 Matéria-prima

Para a produção de biodiesel utilizam-se como matérias-primas os óleos vegetais e gordura animal. Esta escolha deve ser de acordo com a disponibilidade da matéria-prima em cada região ou país. Cabe ainda a utilização, na forma de reaproveitamento, de óleos e gorduras residuais que são oriundos de curtumes, frigoríficos, bem como óleos que seriam descartados, utilizados em fritura, cozinhas comerciais ou residenciais. Estudos vêm sendo realizados no intuito de reaproveitar

materiais que até então deveriam ter no meio ambiente seu destino final, podendo provocar impacto negativo no mesmo. Watanabe et al. (2002 e 2007) estudaram a produção de biodiesel a partir de óleo degomado e borra ácida, respectivamente, catalisados por lipases imobilizadas.

O biodiesel proveniente de óleos de fritura usados tem a qualidade requerida para ser um substituto do diesel (FELIZARDO et al., 2006). A qualidade do óleo utilizado é determinada pelo conteúdo de ácidos graxos livres (índice de acidez) e pelo teor de água. Um alto teor de ácidos graxos livres é particularmente prejudicial para a transesterificação alcalina. A presença de água favorece a formação de sabão (Figura 11), com maior consumo de catalisador e redução da eficiência da reação. Óleos comestíveis usados para a produção de biodiesel contêm 2 a 7% de ácidos graxos livres, enquanto que a gordura animal contém de 5 a 30% (GERPEN, 2005).

Os óleos vegetais contêm, além de ácidos graxos livres, fosfolipídeos, esteróides, água, odorizantes e outras impurezas. A origem dos óleos vegetais é ampla, assim como as condições de cultura para a produção dos mesmos. As diferenças entre tais culturas tornam-se interessantes para o melhor aproveitamento da biodiversidade brasileira.

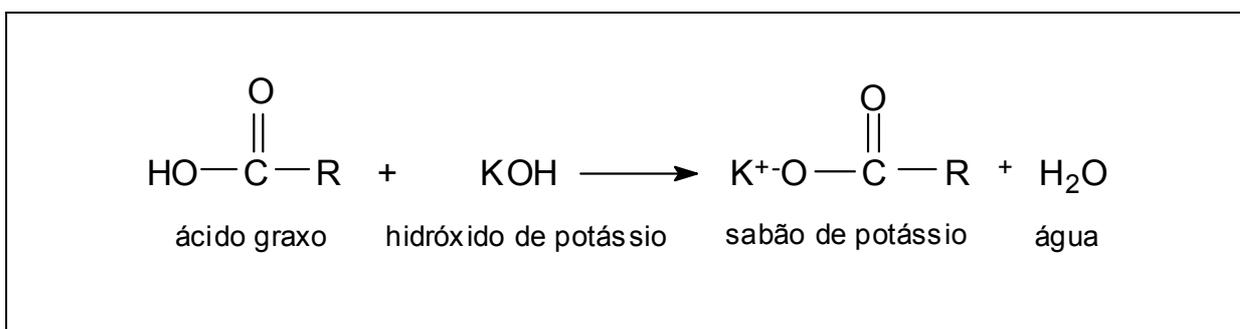


Figura 11 - Reação de saponificação de um ácido graxo

No Brasil, são cultivadas diversas espécies de oleaginosas que possuem potencial para se tornarem matéria-prima para a produção de biodiesel, tais como soja, mamona, dendê, algodão, girassol, amendoim, canola, linhaça, pinhão manso entre outros vegetais, na forma de sementes ou polpas. O dendê e o babaçu no norte, o girassol e o amendoim nas regiões sul, no sudeste e no centro-oeste, e a mamona e o algodão no nordeste. A mamona pode ser a melhor opção no semi-

árido nordestino. Apesar de seu baixo rendimento (600 a 1000 kg/ha.ano), estudos indicam que a sua produção pode atingir 3.000 kg/ha.ano com o melhoramento genético e cultivo irrigado (PINTO et al., 2005).

A escolha da fonte de óleo deve levar em consideração o percentual de óleo na planta bem como a sua produtividade, isto é, seu rendimento de óleo por hectare. A Figura 12 ilustra a produtividade e a produção de óleo de algumas oleaginosas (PINTO et al., 2005).

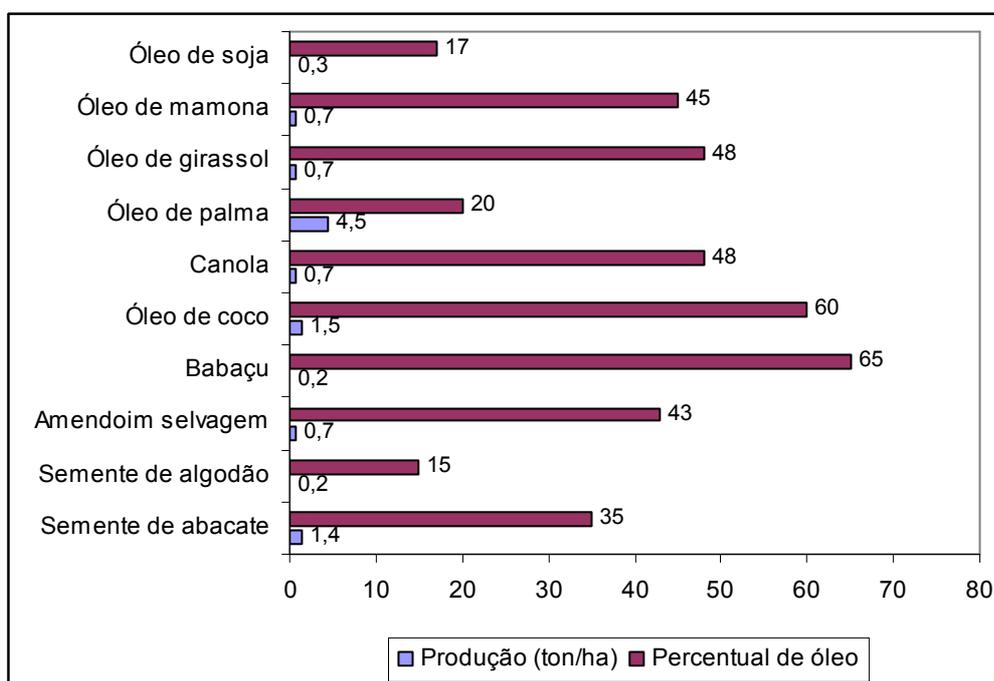


Figura 12 - Percentual de óleo e produção de óleo no Brasil

Fonte: PINTO et al., 2005.

Os óleos e as gorduras animais possuem estruturas químicas muito semelhantes a dos óleos vegetais, diferenciando-se no tipo e na distribuição dos ácidos graxos. Destacam-se, entre as gorduras, o sebo bovino, o óleo de peixe, a banha de porco, o óleo de mocotó entre outros (PARENTE, 2003).

Os óleos e as gorduras residuais são compostos resultantes do processamento doméstico, comercial ou industrial que representam um grande potencial de oferta. Outro benefício importante decorrente do emprego desses subprodutos é a redução do impacto ocasionado pelo descarte dos mesmos no ambiente ou o custo para adequá-los às condições de descarte (NETO et al., 2000).

As principais fontes são as lanchonetes, as cozinhas industriais, os esgotos

municipais (onde a nata sobrenadante é rica em matéria graxa), indústrias de couro e pescado, etc. O Brasil, por ser um país de importante indústria pecuária, apresenta elevado volume de sebo bovino, disponível nos abatedouros de médio e grande porte e curtumes.

Ao eleger uma matéria-prima para produção de biodiesel é necessário também observar se esta fonte compete no fornecimento para outras aplicações mais rentáveis. Em geral, o material para aplicações farmacêuticas tem seu valor majorado. No entanto, sua demanda usualmente é mais baixa (PINTO et al., 2005).

A soja, o amendoim, o girassol, a mamona, a canola, o babaçu e o dendê são culturas temporárias. Apesar de 90% da produção de óleo ser proveniente da soja, esta é uma enorme fonte de proteína. O amendoim tem um teor de óleo superior ao de proteína e sua produção pode ser facilmente mecanizável, além de gerar um farelo de excelentes qualidades nutricionais para alimentos e rações. Além disso, sua casca possui um potencial energético que pode ser aproveitada para a geração de vapor como parte da energia empregada. O dendê e o babaçu possuem culturas permanentes.

A produção de óleo a partir do dendê alcança um expressivo rendimento em relação à soja. A Tabela 5 apresenta características de diversas fontes de óleo para a produção de biodiesel (Ministério da Ciência e Tecnologia – PNB, 2005).

Tabela 5 – Características de alguns óleos vegetais com potencial para a produção de biodiesel

Éspecie	Origem do óleo	Conteúdo do óleo (% m/m)	Meses de colheita	Rendimento em óleo (t/ha)
Dendê (<i>Elaeis guineensis</i> N.)	Polpa	26	12	3,0 – 6,0
Babaçu (<i>Attalea speciosa</i> M.)	Amêndoa	66	12	0,4 – 0,8
Girassol (<i>Helianthus annuus</i>)	Grão	38-48	3	0,5 – 1,5
Colza (<i>Brassica campestris</i>)	Grão	40-48	3	0,5 – 0,9
Mamona (<i>Ricinus communis</i>)	Grão	43-45	3	0,5 – 1,0
Amendoim (<i>Arachis hipogaea</i>)	Grão	40-50	3	0,6 – 0,8
Soja (<i>Glycine Max</i>)	Grão	17	3	0,2 – 0,6

Fonte : Ministério da Ciência e Tecnologia , 2005

1.5.2 Álcool

Para a transesterificação de óleos vegetais para a produção de biodiesel são utilizados álcoois de cadeia curta, com até 5 átomos de carbonos. Os álcoois mais empregados são metanol, etanol, propanol, butanol e pentanol. O metanol é o mais frequentemente utilizado devido ao seu baixo custo e suas vantagens físicas e químicas (polar e menor cadeia carbônica) (MA e HANNA, 1999). Sua principal forma de obtenção é o material fóssil, que não é renovável. No Brasil, o etanol tem um maior apelo ecológico porque é um produto facilmente obtido a partir de uma fonte renovável (biomassa). O metanol também pode ser obtido a partir de biomassa, porém sua utilização requer maiores cuidados com a segurança devido a sua maior toxicidade. Entretanto, os ésteres etílicos tendem a serem mais solúveis no glicerol, o que dificulta a separação dos mesmos, reduzindo o rendimento do processo de obtenção do biodiesel (GERPEN, 2005).

O metanol e o etanol são os álcoois de maior produção industrial e com o maior uso nas reações de transesterificação. Os álcoois geralmente são empregados em excesso em relação a estequiometria da reação. Isso favorece o deslocamento do equilíbrio no sentido da formação dos ésteres (biodiesel). É necessário o uso de álcoois com baixo teor de água para evitar perda de catalisador e formação de sabão, no caso da transesterificação alcalina. A desidratação do álcool é feita normalmente por destilação. Na desidratação do metanol, a destilação é bastante simples e fácil de ser conduzida, uma vez que a volatilidade relativa dos constituintes dessa mistura é muito grande e não existe o fenômeno de azeotropia para dificultar a completa separação (PARENTE, 2003). O etanol forma mistura azeotrópica com a água o que dificulta (e encarece) a utilização de etanol anidro. Segundo *The Biodiesel Handbook* (2005), no Brasil, por exemplo, o etanol é mais barato que o metanol.

Nelson, Foglia e Marmer (apud FUKUDA, KONDO e NODA, 2001) observaram diferença significativa no rendimento da transesterificação de triacilgliceróis empregando vários álcoois de cadeia curta catalisada por diferentes lipases. A lipase obtida de *Mucor miehei* foi mais eficiente com álcoois primários enquanto a da *Candida antarctica* teve uma performance mais elevada com álcoois secundários. Foram obtidos rendimentos em biodiesel na faixa de 94,8 a 98,5% para a transesterificação com metanol, etanol, propanol, n-butanol e isobutanol, contra 83,3% para isopropanol e 2-butanol.

Quando da utilização de matéria-prima menos nobre, pode-se melhorar o rendimento do processo ao aproveitar os ácidos graxos livres e convertê-los também em ésteres (biodiesel). Hernández-Martin e Otero (2007) obtiveram 100% e 84% de conversão de ácidos livres em ésteres metílicos e etílicos de ácidos graxos a partir de óleo de soja, respectivamente, utilizando 50% m/m de Novozym 435, empregando razão molar álcool/ácido livre igual a 6,2 após 24h a 25°C.

1.5.3 Condições reacionais

As variáveis mais importantes que influenciam a conversão e a velocidade da reação de transesterificação para a produção de biodiesel são: a razão molar óleo/álcool, a temperatura de reação, a velocidade de agitação e a presença de impurezas.

1.5.3.1 Influência da razão molar álcool / óleo e forma de adição do álcool

A razão molar entre álcool e óleo é uma das mais importantes variáveis que afetam o rendimento da transesterificação. A estequiometria da reação é de 3 mol de álcool para cada mol de triacilglicerol. A alcoólise de um triacilglicerol é um sistema de várias etapas reacionais em equilíbrio, cuja utilização de excesso de álcool é conveniente para a maximização da produção. Este excesso desloca o equilíbrio no sentido do produto, aumentando a produção de ésteres monoalquílicos de ácidos graxos. Entretanto, esse aumento excessivo de álcool pode promover o aumento da solubilidade do glicerol, interferindo na separação dos ésteres. O aumento demasiado na concentração de glicerol desloca a reação no sentido dos reagentes, reduzindo o rendimento além de dificultar a separação do glicerol. A razão molar normalmente empregada de álcool/óleo utilizada é 6:1 na via química (MEHER, SAGAR e NAIK, 2006).

Encinar et al. (2002) estudaram a influência da razão molar etanol/óleo na alcoólise catalisada por álcalis do óleo de *Cynara* na faixa de 3:1 a 15:1. Para razões abaixo de 6:1 a reação foi incompleta. Os melhores resultados foram entre 9:1 e 12:1, indicando uma razão de 9:1 como sendo a mais apropriada.

A forma de adição do álcool também afeta o rendimento da reação. É amplamente conhecido que algumas enzimas são desativadas quando expostas à elevadas concentrações de álcool (HERNÁNDEZ-MARTÍN e OTERO, 2007). Várias medidas para contornar este problema têm sido adotadas. Alguns autores utilizam a alcoólise escalonada, isto é, a adição do álcool se faz por etapas, ao invés de uma única adição no início da reação. Nelson, Foglia e Marmer (apud FUKUDA, KONDO e NODA, 2001) e Shimada et al. (2003) utilizaram adição escalonada de álcool de modo elevar o rendimento final.

Shimada et al. (2002) empregaram 1/3 do total de álcool no início da reação, 1/3 10h após e 1/3 após 24h de reação. Nelson, Foglia e Marmer (apud FUKUDA, KONDO e NODA, 2001) reduziram a desativação pelo álcool pelo efeito de diluição utilizando um solvente orgânico (hexano) em suas reações.

Shimada et al. (2002) demonstraram que elevadas razões molares de etanol em relação aos triacilgliceróis levam à desativação da lipase devido ao contato da enzima com a fase orgânica polar imiscível formada (álcool), uma vez que que álcoois mais polares apresentam menor solubilidade em óleo.

Hernández-Martín e Otero (2007) sugerem que o volume ótimo de álcool (etanol) vai depender tanto do tipo de enzima imobilizada empregada como de sua quantidade no meio reacional, acenando assim para o estudo do caso.

1.5.3.2 Influência da temperatura

A temperatura é também uma variável de processo importante que afeta intensamente a velocidade das reações químicas. Em geral, a temperatura da reação fica próxima à temperatura de ebulição do álcool no caso da catálise alcalina ou ácida. Quando são utilizadas lipases, a temperatura deve considerar o comportamento da enzima. A temperatura não deve ser alta o suficiente para desnaturar a enzima.

Salis et al. (2005) obtiveram 100% de conversão (%mol) utilizando baixa temperatura (30°C) na transesterificação da trioleína com butanol catalisada por lipase imobilizada de *Pseudomonas cepacia* (PS-D) após 6h de reação.

1.7.3.3 Influência da agitação

A agitação promove o processo de transferência de massa no sistema. Sistemas heterogêneos, como o da síntese de biodiesel empregando lipases imobilizadas, têm maior necessidade de agitação para impedir a distribuição irregular do catalisador no meio reacional.

O metanol e o etanol são imiscíveis em triacilgliceróis. Na reação de transesterificação de óleos vegetais com metanol para produção de biodiesel, os

reagentes inicialmente formam um sistema bifásico. Nesse caso a reação é controlada pela difusão dos componentes entre as fases. Uma baixa taxa de difusão entre as fases resulta em baixa velocidade de reação. Quando a velocidade de agitação excede o mínimo necessário para a reação ocorrer, o fator tempo de reação é quem controla o rendimento da reação (MEHER, SAGAR e NAIK, 2006)

1.5.3.4 Presença de impurezas

Impurezas no óleo como água, ácidos graxos livres, entre outras, afetam consideravelmente o rendimento. O teor de água pode inibir a ação de lipases, e na presença de catalisadores alcalinos, facilita a formação de sabões. Os ácidos graxos livres também podem originar sabões em presença de álcalis. O grau de refino do óleo empregado também afeta o rendimento. Alguns autores já relataram queda no rendimento devido ao tipo de óleo utilizado como matéria-prima. Conversões de 94 a 97% em ésteres de um óleo refinado caíram para 65 a 84% quando se utilizou óleo bruto nas mesmas condições (BARNWAL e SHARMA, 2005).

Na transesterificação catalisada por lipases imobilizadas, a água pode promover a formação de uma camada que impede a migração dos substratos orgânicos até os centros ativos da enzima (YADAY e DEVI, 2004).

A presença de água afeta as reações de transesterificação catalisadas por enzimas. O conteúdo de água é importante por várias razões, pois a água: (a) age como “lubrificante” mantendo a enzima em sua conformação ativa; (b) participa de muitos mecanismos de reação que podem causar a desativação da enzima; (c) é responsável pela agregação das partículas da enzima; (d) induz a limitações na difusão do substrato em elevados teores de água; (e) pode promover a hidrólise do substrato, reduzindo o rendimento da reação (ADLERCREUTZ, 2000).

2 - MATERIAIS E MÉTODOS

2.1 - Materiais

2.1.1 Reagentes

O heptadecanoato de metila (95%) foi fornecido pela Sigma-Aldrich Co. (St. Louis, MO, USA). n-Hexano P.A., metanol P.A., etanol P.A. e hidróxido de potássio foram obtidos da Vetec (Brasil). O óleo de soja utilizado era da Sadia (Brasil).

2.1.2 Enzima

A lipase comercial imobilizada utilizada foi gentilmente doada pela Novozymes Latin Americas LTDA (Araucária, Brasil). A Lipozyme RM IM é uma lipase 1,3 específica, obtida a partir do microrganismo *Mucor miehei*, imobilizada em uma resina macroporosa aniônica cujo tamanho de partícula pode variar entre 0,2 e 0,6 mm.

2.1.3 Equipamentos

Os equipamentos utilizados neste trabalho estão listados abaixo:

- Agitador de tubos AP56 PHOENIX
- Balança analítica digital Sartorius BL 210S
- Banho termostático HAAKE DC10
- Bomba de Vácuo QUIMIS
- Cromatógrafo a gás VARIAN modelo CP 3380
- Placa de agitação e aquecimento CORNING PC 420
- Titulador automático Metler DL 25
- Centrífuga FANEM

2.1.3.1 Reator

As reações de transesterificação por via enzimática e química foram realizadas em um reator batelada fechado de capacidade de 15 mL, provido de condensador e de agitação magnética. Para evitar a perda do álcool por evaporação, a água que circula no condensador era resfriada com o auxílio de banho termostático. A temperatura do meio reacional foi mantida constante através da circulação de etilenoglicol pela camisa do reator, proveniente de um banho termostático. O sistema reacional utilizado está apresentado na Figura 13.



Figura 13 - Sistema reacional utilizado

O acompanhamento do rendimento das reações de transesterificação era realizado através da retirada de amostras de 50 μL (em duplicata), após a sedimentação por decantação da enzima do meio reacional (que ocorria em

aproximadamente em 5 minutos), em diferentes tempos de reação, que foram analisadas por cromatografia gasosa.

2.2 – Produção de biodiesel

2.2.1 - Via enzimática

2.2.1.1 - Reações de transesterificação utilizando lipases

A partir do momento no qual o banho termostático atingia a temperatura desejada, adicionava-se o volume de óleo de soja comercial e a enzima previamente pesada. Suspendia-se a enzima no óleo através da agitação magnética e adicionava-se o volume de álcool desejado.

Em alguns experimentos a adição de álcool e enzima foi efetuada de modo escalonado. Neste caso, tanto o volume de álcool como a massa de enzima não foram inteiramente adicionados no instante inicial. Quando realizados em etapas, tais adições eram efetuadas com iguais porções, distribuídas ao longo do período reacional, de acordo com o objeto do experimento.

Nas reações transesterificação utilizando lipases foram realizados os seguintes estudos na ausência de solvente:

- **Razão molar dos reagentes:** foi avaliada a influência da razão molar entre o álcool e o óleo, a 40°C, com 7% m/m de enzima. Utilizou-se as razões molares iguais a 3, 6 e 10, por adição única de álcool bem como a adição escalonada do álcool.
- **Temperatura:** no estudo da influência da temperatura, realizaram-se experimentos a 40, 50 e 60°C. Nestes ensaios a concentração de enzima foi mantida a 7% em massa e a razão molar álcool/óleo igual a 3 com adição escalonada de etanol em 3 etapas sucessivas com 1/3 do etanol total em cada etapa.

- **Concentração e forma de adição da enzima:** a concentração de enzima está expressa em % m/m em relação à massa do óleo. Nestes experimentos foram empregadas as seguintes concentrações de enzima: 3, 5, 7, 9 e 11% m/m. A enzima era adicionada logo após a introdução do óleo, seguida de agitação do meio. A temperatura utilizada foi de 40°C e a razão molar álcool/óleo igual a 3. O etanol foi introduzido de maneira escalonada, isto é, através de 3 adições sucessivas de 1/3 do volume total do álcool nos tempos 0, 30 e 60 minutos. Foi ainda testada a adição da enzima em etapas, a 50°C, com razão molar álcool/óleo igual a 3 e 7% m/m de enzima.
- **Recuperação e reutilização da enzima:** ao término das reações de transesterificação conduzidas, durante 4h, a 50°C com 7% m/m de enzima e razão molar álcool/óleo de soja igual a 3, a enzima foi inicialmente separada do meio reacional por decantação, seguida de lavagem com 10 mL de hexano com filtração à vácuo através de um funil de vidro sinterizado. A enzima recuperada foi mantida em dessecador durante toda a noite para secagem. Após este tratamento, bateladas consecutivas com o uso repetitivo da enzima foram realizadas.

2.2.1.2 - Reações de transesterificação utilizando lipases na presença de solvente

As reações de transesterificação de óleo de soja com lipases foram também realizadas na presença de solvente, isto é, com 50% do volume da mistura reacional (álcool + óleo) de hexano, adicionado logo após a introdução do óleo, promovendo a mistura dos mesmos. Nestas reações foram estudados os seguintes fatores:

- **Influência da razão molar dos reagentes:** a influência da adição de solvente foi avaliada no rendimento em biodiesel através da reação de transesterificação entre óleo de soja e etanol, conduzida a 40°C, com 7% em massa de Lipozyme RM IM e razões molares álcool/óleo iguais a 6 e a 10, empregando adição escalonada do álcool.

- **Influência da concentração de enzima:** investigou-se a influência da concentração de enzima na reação de transesterificação de óleo de soja com etanol utilizando razão molar álcool/óleo igual a 6 e temperatura de 40°C. Foram feitos experimentos com diferentes concentrações de enzima, isto é, com 7 e 20% em massa de Lipozyme RM IM.
- **Influência do tipo de álcool:** a influência do tipo de álcool foi investigada na reação de transesterificação do óleo de soja com etanol e metanol. A reação foi conduzida a 40°C, com razão molar álcool/óleo igual a 6 e 7% em massa de Lipozyme RM IM.

2.2.2 - Via química

A principal rota de obtenção de biodiesel segue a via química. Neste estudo, realizamos alguns experimentos utilizando o hidróxido de potássio como catalisador em condições equivalentes às aquelas empregadas na via enzimática para efeito comparativo.

As reações de transesterificação promovidas pelo uso de catalisador inorgânico (KOH) foram realizadas com 4h de duração e a 50°C. Nelas estudou-se o efeito da concentração do KOH. Reações foram realizadas empregando com diferentes concentrações de KOH, isto é, a 3, 4,5 e 6% m/m em relação à massa de óleo de soja. O KOH era previamente triturado com pistilo em gral de porcelana, pesado e dissolvido no volume integral do álcool a ser utilizado. Sua adição era feita logo após a introdução do óleo no reator. Este momento era considerado o tempo inicial da reação. A adição da mistura álcool/KOH provocava o escurecimento do óleo. Após alguns minutos de agitação, o óleo retornava a coloração original.

Foram estudadas reações de transesterificação para a produção de biodiesel empregando KOH como catalisador:

- **Efeito da razão molar dos reagentes e da concentração do catalisador:** a produção de biodiesel através da reação de transesterificação do óleo de soja catalisada por KOH foi investigada variando-se a razão molar dos reagentes (etanol e óleo de soja), com

R=3 e R=6 e a concentração de KOH, 3, 4,5 e 6% em massa de catalisador. As reações foram conduzidas à temperatura de 50°C.

- **Efeito do tipo de álcool:** o efeito do tipo de álcool na transesterificação catalisada por KOH foi avaliado nas reações conduzidas com etanol e metanol empregados em razões molares álcool/óleo iguais a 3:1 e 6:1 e com 6% em massa de KOH a 50°C.

2.2.3 – Análise cromatográfica

O método cromatográfico para cálculo da concentração de ésteres alquílicos foi adaptado da norma indicada pelo Comitê de Padronização Europeu (Draft prEN 14103, 2001). Alíquotas de 50 µL, em duplicata, do meio reacional, foram diluídas 10 vezes em hexano contendo heptadecanoato de metila (padrão interno). Em seguida, 2,0 µL da amostra diluída foram injetados no cromatógrafo a gás equipado com uma coluna CP WAX 52 CB (30m x 0,25mm x 0,25µm) e detector de ionização de chama (DIC), em sistema de injeção split com razão de 1:20. As temperaturas do injetor e do detector foram mantidas a 280°C. A pressão do gás de arraste (H₂) no sistema foi de 12 psi. A temperatura inicial do forno foi, inicialmente, mantida a 200°C por 4,5 min e, em seguida, aumentada a 210°C a uma taxa de 20°C/min e mantida por 30 segundos nesta temperatura. A seguir, a temperatura foi aumentada a 220°C, utilizando a mesma taxa de aquecimento, e mantida por 30 segundos. Finalmente, a temperatura do forno foi elevada a 260°C através da mesma taxa de aquecimento e mantida por 4,5 minutos. Um computador equipado com o software Star Workstation 6.2 foi conectado ao cromatógrafo a gás através do módulo de interface (Star 800) para integrar automaticamente os picos obtidos.

O cálculo utilizado para a determinação do rendimento em ésteres obtido em cada reação segue o critério indicado pela norma. A soma das áreas dos ésteres na amostra (previamente pesada) é comparada com a área de uma massa conhecida de padrão, dentro da faixa de resposta linear do detector para o heptadecanoato de metila (padrão) e calculado o conteúdo percentual em massa dos ésteres obtidos na reação (biodiesel) – equação 2.1.

$$C = \frac{(\sum A) - A_{PI}}{A_{PI}} \times \frac{C_{PI} \times V_{PI}}{M_{am}} \times 100 \quad (2.1)$$

onde:

$\sum A$ = área total dos picos dos ésteres;

A_{PI} = área do pico do padrão interno;

C_{PI} = concentração, em mg/mL, do padrão de heptadecanoato de metila em hexano;

V_{PI} = volume, em mL, da solução de padrão interno utilizada para dissolver a amostra;

M_{am} = massa, em mg, da amostra pesada;

2.2.4 – Determinação da atividade enzimática

A determinação da atividade enzimática das lipases comerciais imobilizadas foi determinada pelo consumo de ácido oléico na reação de esterificação com o butanol empregando razão molar ácido oléico/butanol igual a 1,0, a 45°C e concentração de enzima de 3,0% (m/m), conforme o método descrito por Dias et al. (2006). Uma unidade de atividade de esterificação foi definida como a quantidade de enzima que consome 1 μmol de ácido oléico por minuto (U.I.), nas condições citadas.

No procedimento de determinação da atividade enzimática, 30 mmols de ácido oléico e 30 mmols de butanol foram adicionados em um reator aberto de capacidade de 20 mL, provido de agitação magnética e conectado a um banho termostático. A reação de esterificação foi iniciada após a adição de 0,3 g da enzima ao meio reacional. Alíquotas de 100 μL, em duplicata, foram retiradas do meio reacional no tempo zero e após 15 minutos de reação, e foram diluídas em 20 mL de acetona/etanol 1:1.

A quantidade de ácido oléico consumido foi determinada nas soluções de alíquotas por titulação contra NaOH 0,04 mol/L, utilizando um titulador automático. Uma unidade de atividade foi definida como a quantidade de enzima que conduz ao

consumo de 1 μmol de ácido oléico por minuto nas condições experimentais descritas. A equação 2.2 descreve o cálculo da atividade enzimática de esterificação.

$$A = \frac{(V_1 - V_2) \times M}{t \times m} \times \frac{V_a}{V_{mr}} \times 1000 \quad (2.2)$$

onde:

A = atividade enzimática em unidades por grama de enzima (U/g ou $\mu\text{mol}/\text{min.g}$) ;

V_1 = volume, em mL, de NaOH consumido na titulação da amostra retirada no tempo zero de reação;

V_2 = volume, em mL, de NaOH consumido na titulação da amostra retirada no após 15 minutos de reação;

M = concentração, em mol.L^{-1} , da solução de NaOH;

t = tempo, em minutos, de reação;

m = massa, em gramas, de preparação enzimática utilizada na reação;

V_a = volume, em mL, da solução de amostra;

V_{mr} = volume, em mL, da solução do meio reacional;

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Neste capítulo é feita uma apresentação dos resultados obtidos no estudo da produção de biodiesel pela transesterificação do óleo de soja catalisada por lipase comercial imobilizada, Lipozyme RM IM. As variáveis analisadas foram: tipo de álcool, temperatura, concentrações de álcool e de enzima, possibilidade de reutilização da enzima, forma de adição do álcool, presença de solvente.

Em uma segunda etapa, foram realizadas reações de transesterificação do óleo de soja catalisadas por KOH com o propósito de comparar algumas variáveis e resultados com aqueles obtidos na catálise enzimática.

3.1 – Atividade enzimática

A atividade de esterificação da enzima comercial Lipozyme RM IM, foi determinada pelo consumo de ácido oléico na reação de esterificação com butanol, empregando razão molar ácido oléico/butanol igual a 1 e 3% (m/m) concentração de enzima a 45 °C, conforme descrito no item 2.2.4. Uma unidade de atividade de esterificação foi definida como a quantidade de enzima que consome 1µmol de ácido oléico por minuto. Nessas condições, a atividade da Lipozyme RM IM foi de 1510 U.

3.2 - Reações de Transesterificação Enzimática em meio sem Solvente

3.2.1 - Influência da razão molar dos reagentes

A influência da razão molar etanol/óleo de soja foi avaliada na reação de transesterificação conduzida a 40°C, com Lipozyme a 7% em massa em três condições distintas: R=3, R=6 e R=10. Os resultados obtidos são apresentados na Figura 14 da qual observa-se que a razão molar estequiométrica dos reagentes (razão molar etanol/óleo = 3) permitiu o maior rendimento em ésteres etílicos (17%) nestas condições reacionais, após 8h de reação. As reações conduzidas com excesso de etanol (R=6 e R=10) resultaram em rendimento de 3%.

Na reação de transesterificação de óleos vegetais são necessários, pelo menos, três mols de álcool para cada mol de óleo (Figura 2). Como esta reação é reversível, um aumento da quantidade de um dos reagentes resulta num aumento na quantidade de éster produzido. Uma razão molar álcool/óleo de 6:1 é normalmente usada nos processos industriais para obter rendimentos elevados (GERPEN, 2005; BARNWAL e SHARMA, 2005). Além disso, o excesso de álcool pode servir para manter o glicerol, produto da reação que fisicamente bloqueia a entrada dos poros do catalisador, em solução (HERNÁNDEZ-MARTIN e OTERO, 2008).

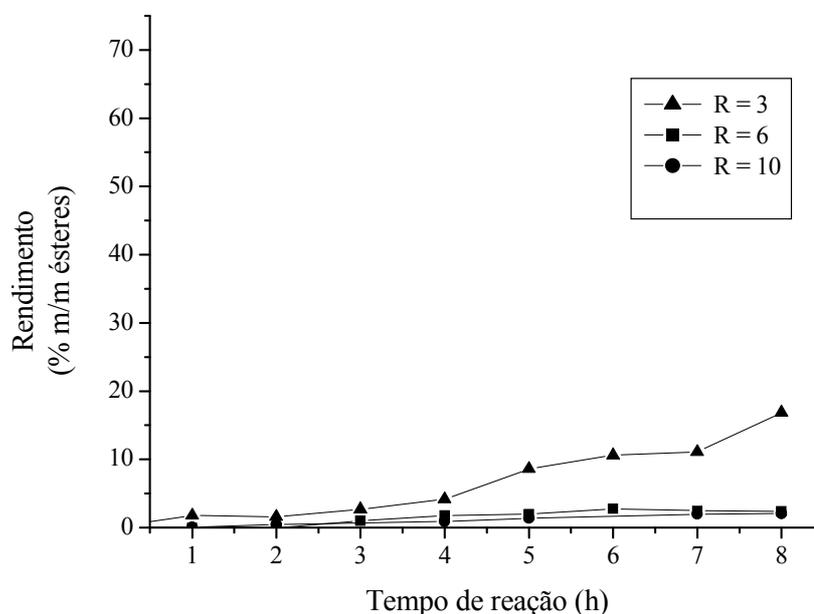


Figura 14 - Influência da razão molar etanol/óleo de soja no rendimento em biodiesel utilizando 7% m/m de Lipozyme RM IM, a 40°C.

No entanto, é conhecido que as proteínas geralmente são instáveis na presença de álcoois de cadeia curta, tais como o etanol e o metanol. Assim, o excesso de álcool produz efeitos contrários na reação enzimática: i) uma diminuição na estabilidade do biocatalisador e ii) um efeito positivo na cinética da reação por facilitar a formação de uma suspensão mais homogênea dos reagentes e do biocatalisador. Considerando os resultados obtidos, verificou-se que a desativação da lipase pelo excesso de álcool exerceu um efeito mais pronunciado sobre o rendimento da reação.

Shimada et al. (1999) reportaram que em presença de mais que 1,5 vezes a razão molar de álcool (metanol) equivalente ocorria a inativação da enzima (Novozym 435) utilizada na transesterificação de uma mistura de óleo de soja e algodão. De acordo com Köse, Tüter e Aksoy (2002), o álcool pode remover a camada de água essencial que estabiliza a enzima imobilizada, bem como formar complexos binários inibitórios álcool-lipase, justificando o efeito prejudicial da elevada concentração de álcool na atividade da lipase.

Salis et al. (2005) observaram resultados semelhantes na reação entre trioleína e 1-butanol, empregando razões molares butanol/trioleína iguais a 3 e 6. Ao elevar a razão molar, ocorreu diminuição no rendimento em ésteres. Segundo os autores, esse resultado pode ter sido ocasionado pelo efeito negativo provocado pelo aumento da polaridade do meio reacional, que acarreta na inativação do biocatalisador.

3.2.2 - Influência da adição escalonada do álcool

Para alcançar a completa conversão dos triacilgliceróis nos seus correspondentes ésteres etílicos é necessário, pelo menos, que seja utilizada a quantidade estequiométrica de etanol na reação de transesterificação. Mesmo nessas condições, de acordo com a Figura 14, o rendimento obtido foi baixo (17% em 8h). Para evitar a desnaturação da lipase pela alta concentração inicial de álcool na reação, investigou-se, então, a adição de etanol de forma escalonada. A adição escalonada foi efetuada introduzindo-se o etanol em três etapas sucessivas, isto é, 1/3 do volume foi adicionado no início da reação, 1/3 após 4 horas e 1/3 após 6 horas de reação. Na adição única, todo o volume de etanol foi misturado ao óleo e à enzima no início da reação. As reações foram conduzidas com Lipozyme a 7% m/m, a 40°C e utilizando a razão estequiométrica dos reagentes, isto é, 3:1. Os resultados obtidos estão apresentados na Figura 15. Observa-se um aumento significativo no rendimento da reação pelo emprego da adição escalonada de álcool. O rendimento em ésteres etílicos (60%), após 8h, foi muito maior do que o observado quando todo o etanol foi adicionado no início da reação (17%).

Quando se trata de álcoois de cadeia curta (mais polares) observa-se que estes têm solubilidade reduzida no óleo, o que acarreta diminuição do contato entre

as fases e conseqüentemente a interação necessária para a ocorrência da reação. Os ésteres produzidos possuem ação surfactantes, o que facilita a solubilização do álcool pouco solúvel em óleo, conseqüentemente favorecendo a reação de modo geral. O álcool não solubilizado pode ainda desnaturar a enzima.

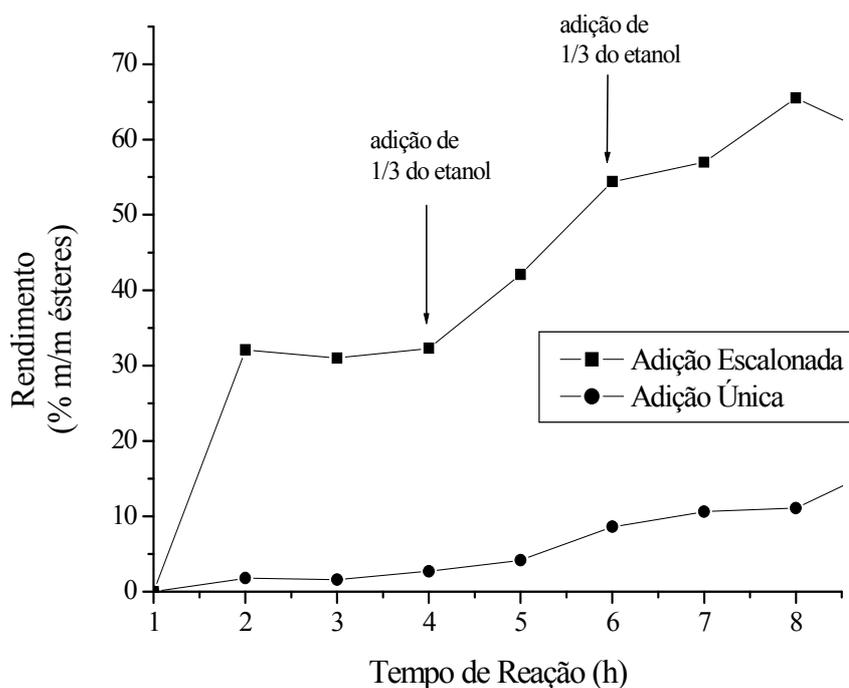


Figura 15 - Efeito da forma de adição do etanol no rendimento da reação de transesterificação com o óleo de soja, utilizando razão molar etanol/óleo igual a 3, 7% m/m Lipozyme RM IM, a 40°C.

Shimada et al. (2002) também verificaram uma maior conversão na metanólise de óleo vegetal utilizando lipase imobilizada de *Candida antarctica* a 4% m/m, com três adições sucessivas de metanol (0, 10 e 24h), com razão molar álcool/óleo igual a 3 e temperatura de 30°C, obtendo 95,9% de conversão em ésteres metílicos de ácidos graxos.

Considerando os resultados apresentados na Figura 15, um novo experimento foi realizado com condições semelhantes ao anterior, aumentando a razão molar etanol/óleo para 6 (Figura 16). Neste caso, o etanol foi adicionado em 6 etapas, nos tempos de reação iguais a 0, 30, 60, 90, 120 e 150 minutos.

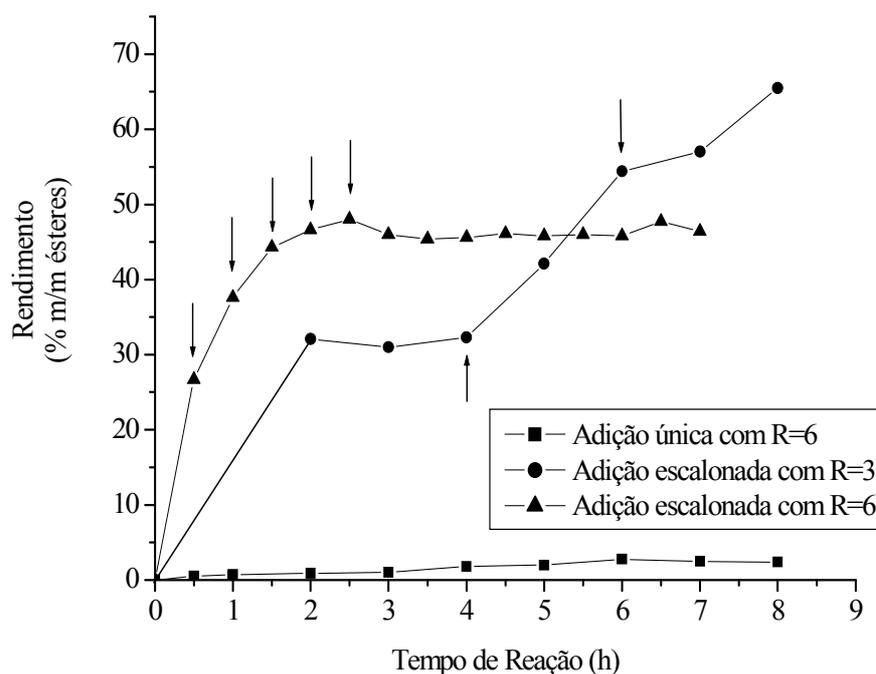


Figura 16 - Efeito da forma de adição do etanol no rendimento da reação de transesterificação com o óleo de soja, utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 6, 7% (m/m) de Lipozyme RM IM, a 40°C.

Pode-se observar que a adição escalonada permitiu um maior rendimento em ésteres etílicos mesmo quando se empregou excesso de álcool (razão molar etanol/óleo de soja igual a 6). No entanto, considerando os resultados obtidos no ensaio com adição em três etapas, verifica-se novamente que a melhor razão molar dos reagentes é a estequiométrica, mesmo com adição escalonada do etanol.

Visto que a adição de etanol de forma escalonada, utilizando a razão estequiométrica dos reagentes permitiu o maior rendimento em ésteres etílicos, investigou-se, também, tempos diferentes para adição de etanol. Desta forma, foram realizados três experimentos com tempos de adição de: 0, 2 e 4h para o primeiro ensaio, 0, 5 e 7h para o segundo e 0, 0,5 e 1h para o terceiro. Os resultados apresentados na Figura 17 mostram rendimentos finais semelhantes e também que a adição de etanol em tempos menores (0, 30 e 60 minutos) propiciou a obtenção de maior rendimento em tempos menores nas condições reacionais empregadas (58,2%).

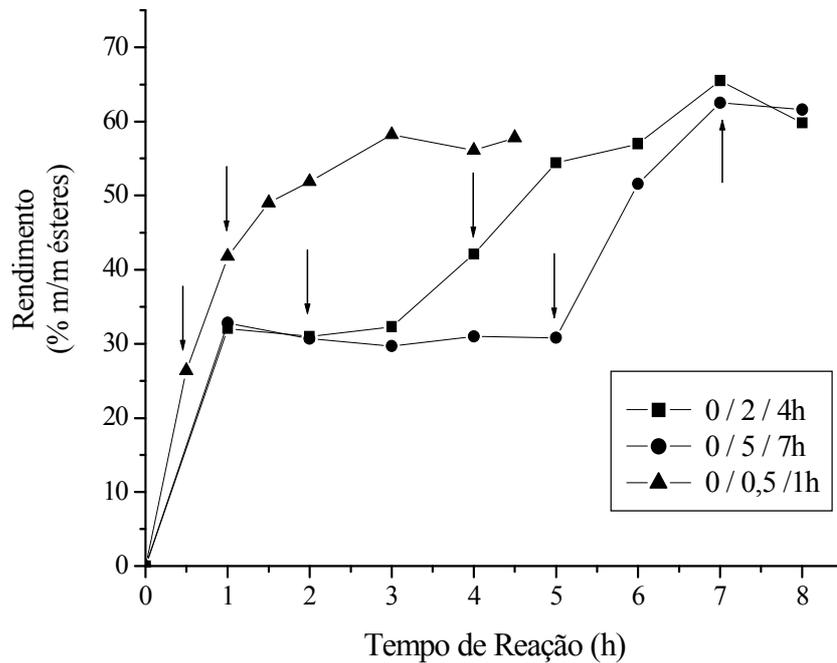


Figura 17 - Efeito da adição escalonada do etanol na reação de transesterificação com o óleo de soja, utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 3, 7% m/m de Lipozyme RM IM, a 40°C.

A partir desses resultados, avaliou-se a hipótese de que uma variação na quantidade escalonada poderia deslocar ainda mais o equilíbrio, de modo acelerar o processo. A adição de etanol foi estudada em dois experimentos paralelos, em tempos menores de reação, da seguinte forma: i) em uma reação 1/3 do etanol foi adicionado nos tempos 0, 30 e 60 minutos; ii) na segunda reação, 1/3 do etanol foi adicionado no tempo 0 e 2/3 no tempo 60 minutos. Os resultados obtidos neste experimento foram próximos para as duas condições testadas, não diferindo significativamente a ponto de sugerir melhoria na performance da reação (Figura 18).

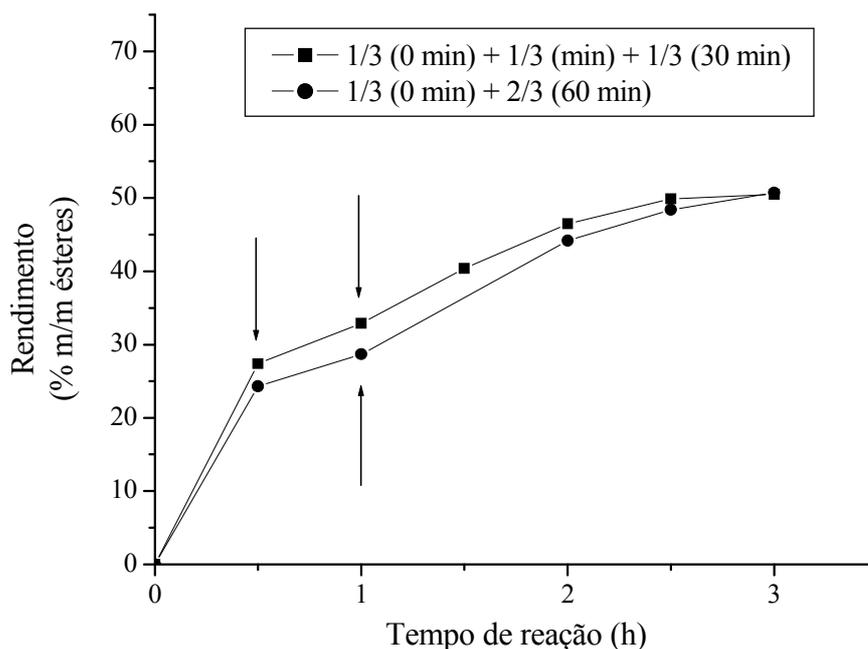


Figura 18 - Efeito do tempo de adição escalonada do etanol na reação de transesterificação com o óleo de soja, utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 3, 7% (m/m) de Lipozyme RM IM, a 40°C.

3.2.3 - Influência da concentração de enzima

Considerando as melhores condições reacionais encontradas (razão molar dos reagentes igual a 3, com adição escalonada do etanol nos tempos 0, 30 e 60 minutos), foi investigada a influência da concentração de enzima no rendimento da reação. Assim foram realizadas reações de transesterificação com diferentes concentrações de enzima (3, 5, 7, 9 e 11% em massa) a 40°C e razão molar etanol/óleo de soja igual a 3 adicionado de modo escalonado. De acordo com os resultados apresentados na Figura 19, o maior rendimento em ésteres etílicos foi obtido com a Lipozyme RM IM a 7% (m/m), isto é, 63% em ésteres. Durante a etanólise, devido à baixa solubilidade do etanol em óleo vegetal, a mistura reacional necessita de constante agitação. Os reagentes inicialmente formam um sistema composto de duas fases, que com a adição da enzima imobilizada passa a um sistema ternário.

Em concentrações elevadas de Lipozyme RM IM (9 e 11% m/m), a ausência de um sistema com homogeneização adequada do meio reacional reduz o processo de transferência de massa necessário para a ocorrência mais efetiva da reação, o que pode justificar o menor rendimento em ésteres etílicos.

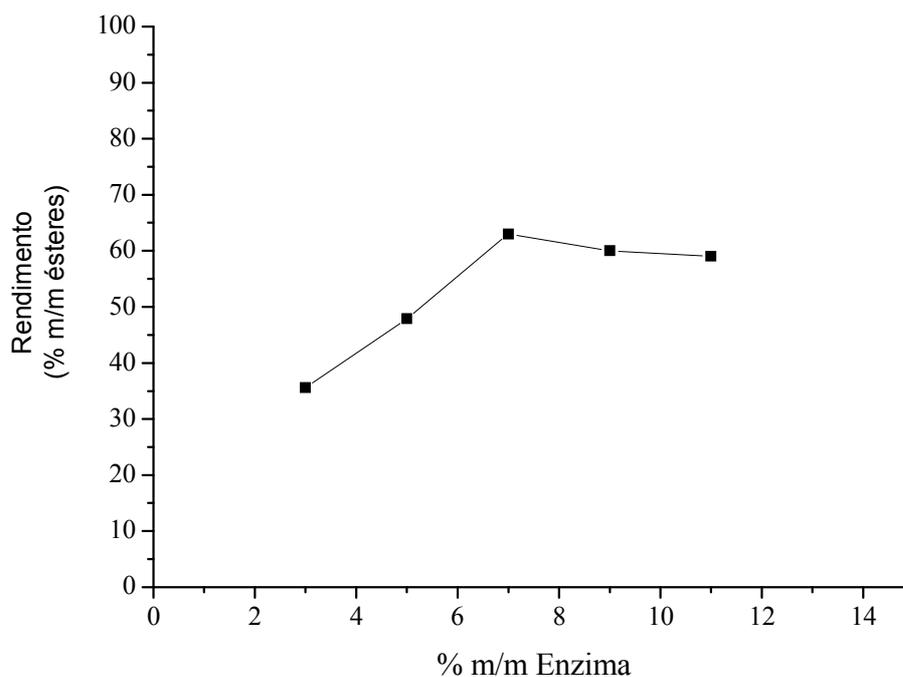


Figura 19 – Rendimento máximo alcançado em cada concentração de Lipozyme RM IM na reação de transesterificação de óleo de soja a 40°C e razão molar etanol/óleo igual a 3, adicionado de modo escalonado.

Dados mais detalhados da forma como a concentração de enzima influenciou o rendimento em ésteres estão apresentados na Figura 20. A grande quantidade de lipase utilizada nos experimentos com 9 e 11% m/m de Lipozyme RM IM pode acarretar na formação de grumos. O fenômeno de formação de grumos leva à formação de agregados e à distribuição não homogênea da lipase. As moléculas de enzima na superfície de tais partículas estão expostas a altas concentrações de substrato, mas a transferência de massa ao longo do grumo pode limitar severamente a concentração de substrato dentro do grumo, fazendo com que a enzima no interior dos grumos não participe da reação. Assim, a baixa atividade de

uma fração do catalisador reduz o rendimento global, diminuindo a eficiência por unidade de massa do biocatalisador (FORESTI e FERREIRA, 2005).

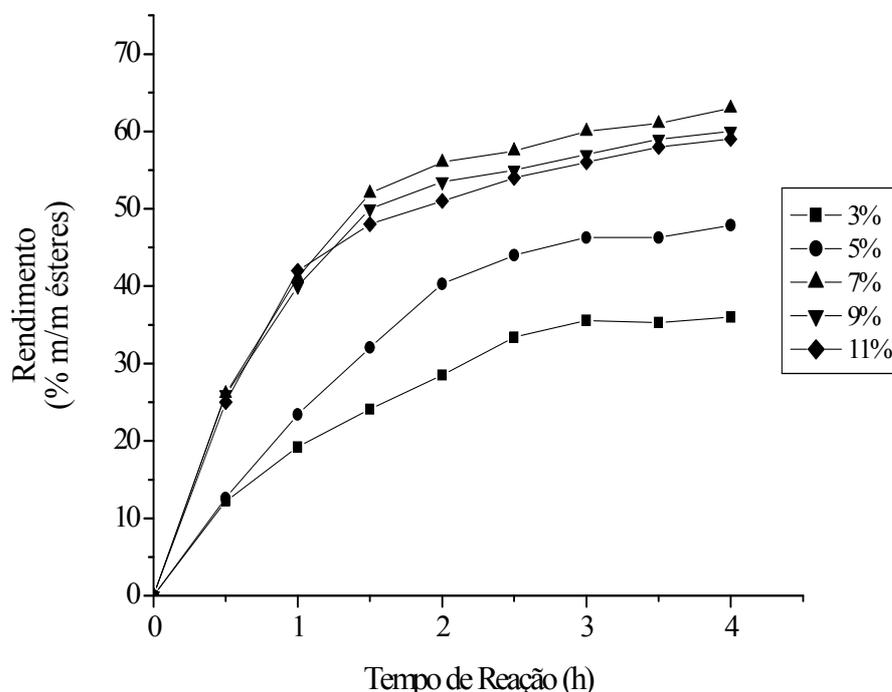


Figura 20 - Efeito da concentração de Lipozyme RM IM no rendimento da reação de transesterificação do etanol com o óleo de soja, utilizando razão molar de etanol/óleo de soja igual a 3, com adição escalonada de etanol (1/3 em 0h, 1/3 após 30 min, 1/3 após 60 min), a 40°C.

Modi et al. (2007) também analisaram o efeito da concentração de enzima imobilizada (Novozym 435) na produção de biodiesel a partir de óleos vegetais. Foi observado aumento significativo (~100%) ao passar de 5% para 10% em massa de enzima (em relação à massa de óleo). Entretanto, os valores de rendimento em ésteres para experimentos conduzidos com concentração de enzima de 20 e de 30% foram baixos. Provavelmente havia limitação na concentração de substrato e excesso de enzima.

A concentração pode ter relevância ainda maior diante de um sistema eficiente de agitação. A velocidade de agitação é um parâmetro que afeta de forma diferenciada os distintos sistemas biocatalíticos em fase orgânica. Uma intensa agitação favorece a formação de micelas reversas e mantém suspensas as

moléculas de enzimas em solventes anidros evitando limitações difusionais no transporte do substrato até o microambiente da enzima (ILLANES, 1994).

Os resultados da Figura 20 também permitem verificar que mesmo com o aumento da concentração de biocatalisador o rendimento após 4h manteve-se em torno de 60%. De acordo com Hernández-Martín e Otero (2007), para a lipase 1(3) – regioespecífica, como é o caso da Lipozyme RM IM, obter rendimentos acima de 66% na reação de transesterificação é necessário que ocorra um grau de migração dos grupos acil durante a reação. Os autores observaram que a regioespecificidade da Lipozyme TL IM (lipase 1(3) – regioespecífica) impede a obtenção de conversões maiores que 80%, após 7h de reação de etanolise de óleo de girassol com 17,5% m/m da preparação enzimática. Já a Novozyme 435 (lipase não específica), permitiu conversões quantitativas quando empregada em teores de 50% m/m.

3.2.4 - Influência da adição escalonada de enzima

Para evitar a desativação enzimática devido à presença de etanol no meio reacional, foi investigada a adição escalonada de Lipozyme RM IM, em duas etapas após 0 e 2h na reação conduzida a 50⁰C, empregando razão estequiométrica dos reagentes e Lipozyme RM IM a 7% m/m. Os resultados (Figura 21) mostram que o rendimento final após 4 horas de reação foi similar para as duas situações testadas, sendo que a taxa inicial de reação, evidentemente, foi muito maior na reação com adição total da enzima no tempo zero. Através desses resultados podemos supor que não ocorre desativação significativa da enzima nas condições do teste, visto que foram obtidos os mesmos resultados finais, variando apenas no tempo gasto para atingir tais valores. Para as condições experimentais utilizadas com a adição de lipase no início da reação, o equilíbrio parece ser alcançado em cerca de duas horas de reação.

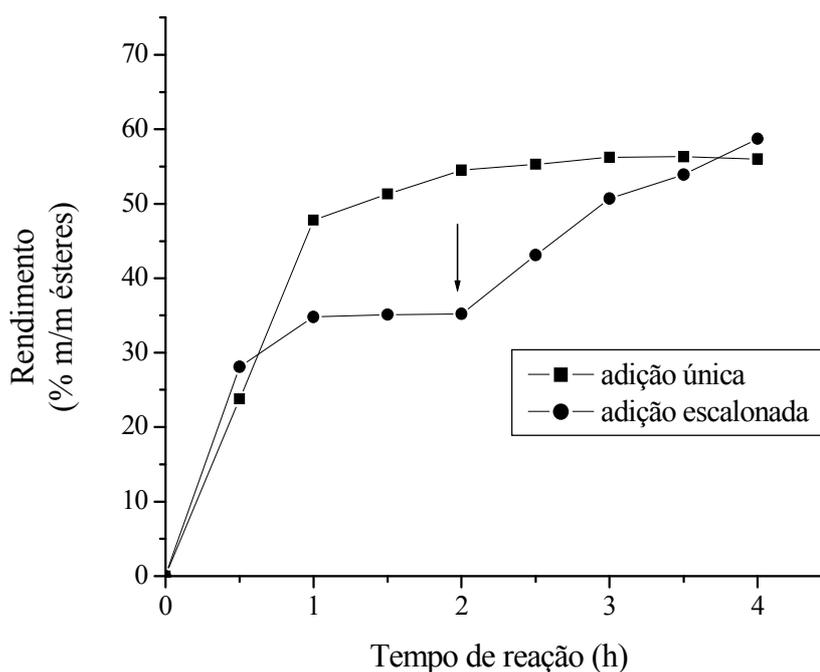


Figura 21 - Influência da forma de adição da Lipozyme RM IM (adição única ou escalonada: 50% em 0h e 50% após 2h de reação) na reação de transesterificação do etanol com o óleo de soja, utilizando razão molar de etanol/óleo de soja igual a 3, a 50°C.

3.2.5 - Influência da temperatura

O efeito da temperatura na produção de biodiesel pela transesterificação do óleo de soja com etanol, empregando 7% m/m de lipase imobilizada (Lipozyme RM IM) foi examinado nas temperaturas de 40°C, 50°C e 60°C. Todas as reações foram conduzidas empregando razão molar estequiométrica álcool:óleo, isto é, 3:1, com adição escalonada do álcool. O resultado desses experimentos está apresentado na Figura 22, onde se observa que o maior rendimento ocorreu a 50°C, em todo o intervalo de tempo avaliado. A 60°C pode-se notar o declínio no rendimento com o tempo da reação, o que pode estar relacionado com a perda de atividade enzimática.

A influência da temperatura sobre a cinética da reação enzimática deve ser entendida em duas fases distintas: em princípio, a elevação da temperatura leva a

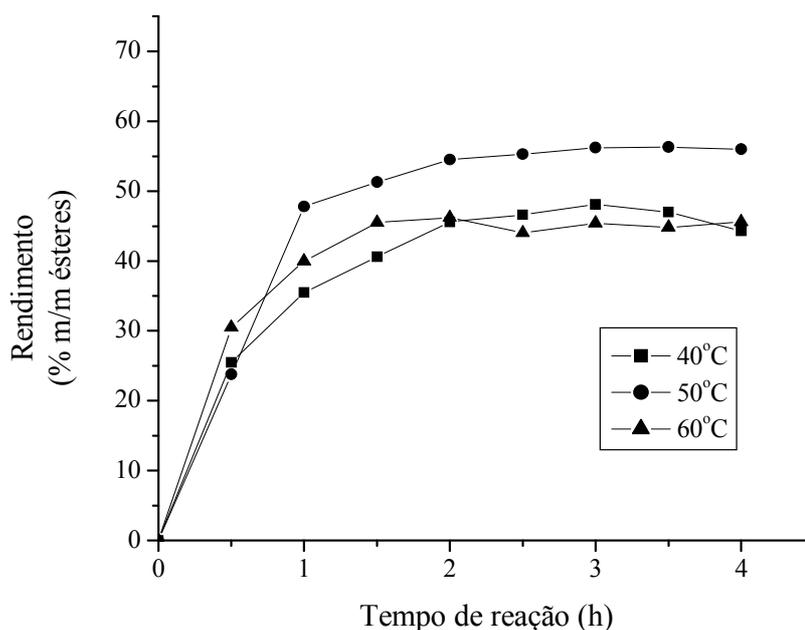


Figura 22 - Influência da temperatura no rendimento da reação de transesterificação do etanol com o óleo de soja, utilizando razão molar de etanol/óleo de soja igual a 3, com adição escalonada de etanol (1/3 em 0h, 1/3 após 30 min e 1/3 após 60 min) e Lipozyme RM IM a 7 % m/m.

aumento de velocidade de reação, por aumentar a energia cinética das moléculas componentes do sistema, aumentando a probabilidade de choques efetivos entre elas. Esse efeito é observado em um intervalo de temperatura compatível com a manutenção da estrutura espacial da enzima. Temperaturas mais altas levam à desnaturação da enzima, ou seja, à perda de sua estrutura nativa, catalítica, por alterarem as ligações químicas que mantêm sua estrutura tridimensional. Rompidas as ligações de hidrogênio, que são ligações bastante termolábeis, desencadeia-se uma cascata de alterações estruturais, levando a enzima a uma nova conformação ou a um estado sem estrutura definida: a enzima é dita, então, desnaturada. A temperatura que provoca a desnaturação naturalmente varia para cada enzima, mas geralmente está pouco acima de sua temperatura ótima (SEGEL, 1993).

A estabilidade térmica das enzimas também é dependente do meio reacional empregado. Solventes hidrofílicos, tais como o etanol, tendem a desativar as enzimas diminuindo sua estabilidade térmica.

Assim, de acordo com os resultados obtidos, a melhor temperatura para a transesterificação nas condições estudadas foi de 50°C.

Köse, Tüter, Aksoy (2002) também observaram o maior rendimento em ésteres metílicos na temperatura de 50°C na reação de metanólise de óleo de semente de algodão catalisada pela lipase imobilizada de *Candida antarctica*.

Na etanólise de ácidos graxos catalisada por Lipozyme RM IM, 5% em massa, com razão molar 3:1 álcool/óleo, em diferentes temperaturas, Hernández-Martín e Otero (2007) obtiveram melhores resultados na temperatura de 25°C, que reduz o gasto energético bem como o efeito da desativação da enzima pelo nucleófilo, que deve ser mais pronunciado em temperaturas mais elevadas.

3.2.6 - Reutilização da enzima

A possibilidade de reutilização da preparação enzimática é uma das grandes vantagens do emprego de enzimas imobilizadas, o que possibilita a redução do custo do processo. Para investigar a reutilização da enzima, a reação de etanólise do óleo de soja foi realizada nas condições ótimas determinadas (T= 50°C, R=3 com adição escalonada do etanol, sem solvente, concentração de Lipozyme RM IM de 7 % m/m). A enzima foi separada do meio reacional, lavada com 10 mL de hexano e filtrada à vácuo e mantida em dessecador por 12h. Após esse tratamento, a enzima foi reutilizada. Os resultados apresentados na Figura 23 indicam que a enzima perde drasticamente a sua atividade, quando reutilizada, obtendo-se rendimentos inferiores a 10% na segunda reutilização.

Segundo Lima, Pyle e Asenjo (1995) a perda da atividade catalítica da lipase após ser reutilizada sucessivamente em reações de esterificação é devida ao acúmulo de água sobre o suporte da enzima. Este efeito foi confirmado pelos autores quando a enzima recuperou sua atividade catalítica após a secagem até sua quantidade inicial de água.

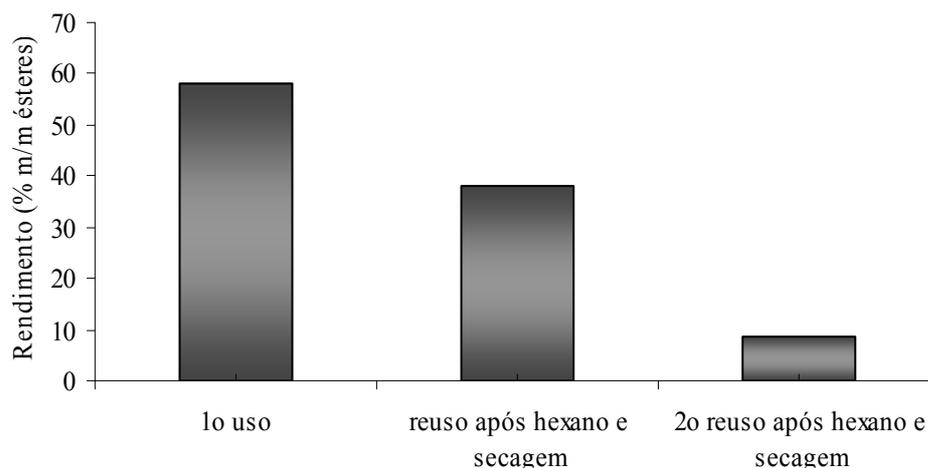


Figura 23 - Reutilização da Lipozyme RM IM na reação de transesterificação do etanol com o óleo de soja utilizando razão estequiométrica dos reagentes, com adição escalonada de etanol (1/3 em 0 h, 1/3 em 0,5 h e 1/3 em 1 hora) a 50°C. A enzima antes de ser reutilizada foi mantida em dessecador a temperatura ambiente por 12 horas.

Xu, Du e Liu (2005) admitem que, possivelmente, o glicerol, um dos produtos da reação de transesterificação pode ser adsorvido no suporte de imobilização da lipase, levando a uma modificação do microambiente da enzima e consequentemente a um decréscimo na sua atividade.

De acordo com Soumanou e Bornscheuer (2003), o glicerol pode também inibir a reação pela limitação da difusão de produto e substrato, devido a sua insolubilidade no óleo. O trabalho desses autores, foi observada retenção da atividade catalítica da enzima superior a 75% da atividade original após 5 ciclos de 24h com Lipozyme RM IM, a 10% m/m em relação ao óleo, a 40°C, empregando razão molar metanol/óleo de algodão igual a 3. Em condições semelhantes a Lipozyme TL IM reteve atividade superior a 75% até o 3º reuso, apresentando perda significativamente superior de atividade em relação a Lipozyme RM IM. Isto pode ser atribuído a diferentes fatores como a inativação da enzima na fase hidrofóbica (óleo), tipo de suporte utilizado na imobilização da enzima ou sensibilidade da enzima à longa exposição ao metanol.

Shah e Gupta (2007) também observaram perda na atividade catalítica da enzima de lipase imobilizada de *Pseudomonas cepacia* na transesterificação de óleo de Jatropha com etanol com razão molar etanol/óleo = 4, com 10% de lipase, a 40°C,

em meio sem solvente. As reações ocorreram sem perda de atividade até a 4ª reação.

Sanchez e Vasudevan (2006) observaram manutenção de 95% da atividade catalítica inicial da Novozym 435 na transesterificação de trioleína presente em óleo de oliva com metanol, adicionado em etapas, a 60°C, com razão molar álcool/óleo igual a 8:1, na presença de hexano, após reuso em 5 bateladas e mais de 70% de sua atividade inicial após 8 bateladas. Uma nova batelada de reagentes era introduzida a cada 24h de reação.

3.3 - Transesterificação enzimática na presença de solvente

3.3.1 - Influência da razão molar dos reagentes

A utilização de solvente orgânico não é muito adequada para a produção de biodiesel devido ao risco de acidentes. Além disso, se faz necessária uma etapa para a remoção do solvente (SHIMADA et al., 2002). Por outro lado, as lipases imobilizadas apresentam elevadas conversões em solventes orgânicos apolares e por isso existem diversos estudos de alcoólise enzimática de triacilgliceróis em solventes orgânicos (SOUMANOU e BORNSCHEUER, 2003).

A biocatálise de reações de síntese, tal como a reação de produção de biodiesel, é geralmente considerada possível em solventes imiscíveis em água. Pode-se comparar a miscibilidade através do coeficiente de partição (P) da substância. O coeficiente de partição de um composto é a relação entre as concentrações do mesmo em um sistema bifásico formado por uma fase orgânica (apolar) e água. O logaritmo do coeficiente de partição ($\log P$) é um dos parâmetros utilizados para determinar a hidrofobicidade de um solvente.

Os solventes com $\log P$ maior que 4 permitem expressar melhor a atividade catalítica da maioria das enzimas, o que pode ser explicado parcialmente pela capacidade dos solventes hidrofílicos ($\log P < 4$) em remover a água associada à enzima, que é essencial para a biocatálise (ILLANES, 1994). Um dos solventes mais empregados nas reações de síntese utilizando lipases é o hexano, que tem $\log P$ 3,5.

A influência da adição de solvente foi avaliada no rendimento em biodiesel obtido na reação de transesterificação entre óleo de soja e etanol, conduzida a 40°C, com Lipozyme RM IM a 7% (m/m) e razões molares álcool/óleo iguais a 6 e a 10. Os resultados desses experimentos estão apresentados na Figura 24, onde observa-se que a presença de hexano favoreceu a produção de biodiesel, visto que esse solvente apolar preserva a conformação ativa da enzima e, conseqüentemente, sua capacidade catalítica.

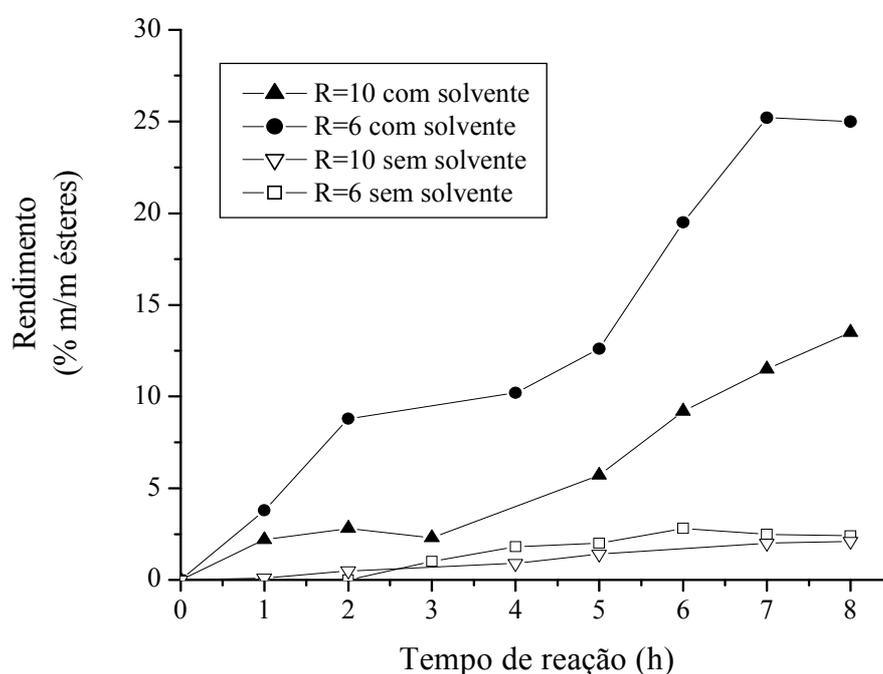


Figura 24 - Influência da adição de solvente (hexano a 50% v/v) no rendimento em biodiesel, utilizando razões molares etanol/óleo de soja iguais a 6 e a 10, Lipozyme a 7% m/m, a 40°C.

Sanchez e Vasudevan (2006) realizaram a transesterificação de trioleína com metanol catalisada por lipase, na presença de um volume de hexano igual a 4x o volume de óleo, à 60°C, 10h de reação e 1000 U de enzima (Novozym 435) obtendo conversão acima de 90%.

Iso et al. (2001) testaram a adição de solventes orgânicos (benzeno, clorofórmio, 1,4-dioxano e tetrahydrofurano) para aumentar solubilidade do metanol no óleo de açafrão e na trioleína para a transesterificação catalisada por lipase imobilizada de *Pseudomonas fluorescens* a 50°C com razão molar igual a 3:1

(álcool/óleo). A atividade enzimática foi extremamente baixa com benzeno, clorofórmio e tetrahidrofurano. A utilização de alta concentração de 1,4-dioxano produziu um aumento da atividade enzimática, elevando a razão de conversão de oleato de metila de 35% para 70% quando aumentou a concentração de solvente de 50% para 90% (em relação a massa de óleo). Segundo os autores, o uso de solvente orgânico não se faz necessário com álcoois como propanol e butanol que se solubilizam no óleo, promovendo uma reação em meio homogêneo, evitando um esforço extra e gasto energético adicional para remover o solvente posteriormente, seja através de destilação, extração, etc.

3.3.2 - Influência da concentração de enzima

Considerando os resultados apresentados na Figura 25, investigou-se a influência da concentração de enzima na produção de ésteres etílicos na reação utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 6, na presença de hexano (50% v/v), a 40°C, em reator fechado. Foram feitos dois experimentos, com concentrações de Lipozyme iguais a 7 e a 20% (m/m). De acordo com os resultados apresentados na Figura 15, pode-se observar que na reação empregando Lipozyme a 20% (m/m) houve um aumento, como esperado, no rendimento, obtendo-se após 8 horas de reação cerca de 25% de rendimento em ésteres etílicos, enquanto que com 7% m/m de Lipozyme RM IM obteve-se apenas 12%. No entanto, considerando os custos do processo e as dificuldades operacionais (o uso de elevada massa da enzima comercial torna mais difícil uma homogeneização adequada do meio reacional, bem como o aumento do custo final), a concentração escolhida para proceder aos experimentos posteriores foi de 7% (m/m).

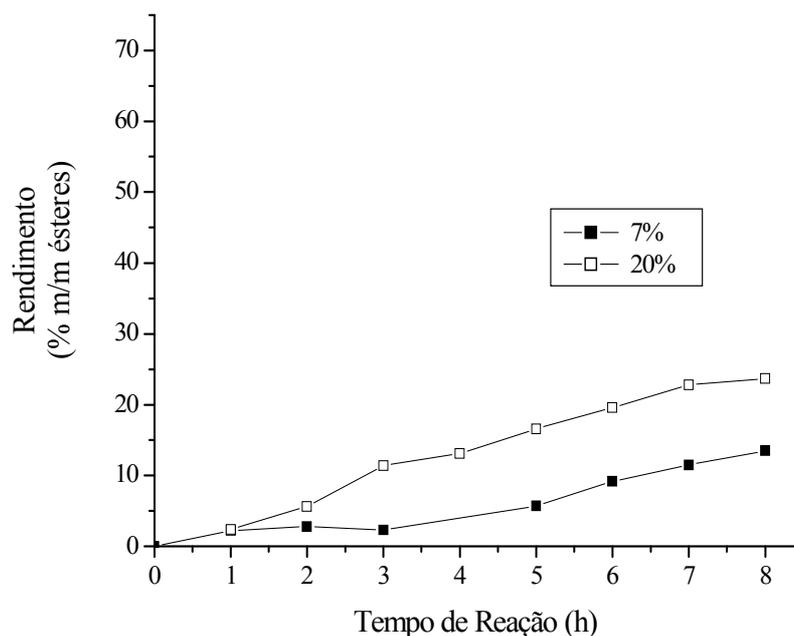


Figura 25 - Influência da concentração de enzima (Lipozyme RM IM) no rendimento em biodiesel utilizando razão molar etanol/óleo de soja igual a 6, na presença de hexano (50% v/v), a 40°C.

3.3.3 - Influência do tipo de álcool

A transesterificação de triacilgliceróis com metanol é preferencialmente a reação mais estudada para produção de biodiesel em função do baixo custo do metanol, que pode ser obtido também a partir de derivados do petróleo, o que reduz seu preço. No entanto, a alcoólise enzimática de triacilgliceróis também tem sido investigada utilizando outros álcoois, incluindo etanol, propanol, isopropanol, butanol e pentanol (GERPEN, 2005). Normalmente, o metanol é usado porque é o álcool de menor custo em muitos países. No entanto, no Brasil, é fato bastante conhecido a importância do álcool etílico no mercado energético nacional. A influência do tipo de álcool (metanol ou etanol) foi investigada, portanto, na reação conduzida a 40°C, com razão molar álcool/óleo igual a 6 e Lipozyme RM IM a 7% m/m. As reações foram conduzidas na presença de hexano 50 % v/v.

De acordo com os resultados apresentados na Figura 26, para o mesmo tempo de reação, verifica-se que o rendimento da reação utilizando etanol foi cerca

de 5 vezes maior do que na reação empregando metanol. Esse fato pode ser explicado pela maior desnaturação da enzima pelo álcool de menor número de átomos de carbono. O metanol é um solvente altamente hidrofílico e, portanto, é capaz de solubilizar e de remover a camada de água essencial que envolve as enzimas, o que pode causar a perda da atividade catalítica da lipase (ILLANES, 1994 e KOSKINEN e KLIBANOV, 1996). Desse modo, a eficiência da metanólise na transesterificação de triacilgliceróis é comumente mais baixa comparada com etanol, em meio com ou sem solvente (FUKUDA, KONDO e NODA, 2001).

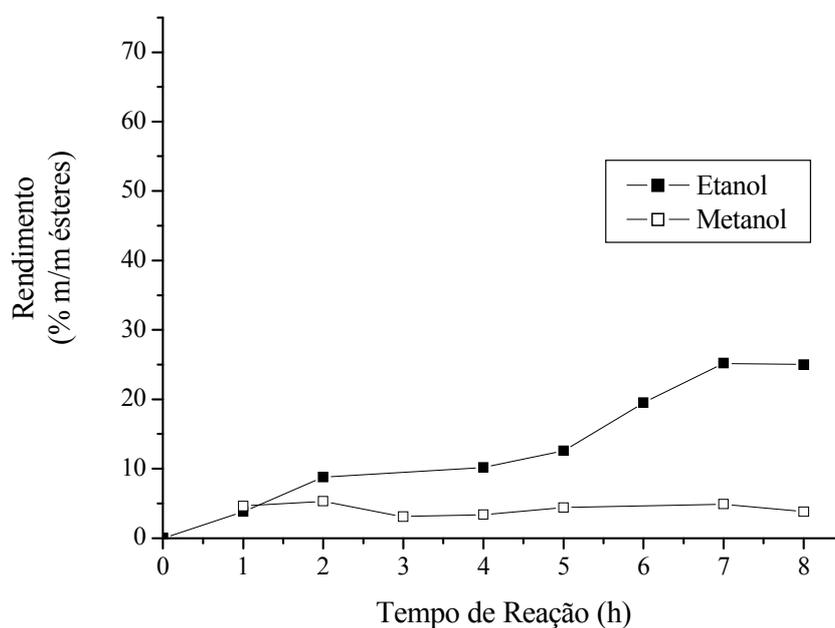


Figura 26 - Influência do tipo de álcool (metanol ou etanol) na produção de biodiesel utilizando razão molar álcool/óleo de soja igual a 6, Lipozyme a 7% (m/m), na presença de hexano (50% v/v), a 40°C.

3.4 – Reações de transesterificação empregando KOH

3.4.1 - Efeito da razão molar etanol/óleo de soja e da concentração do catalisador

Para efeito de comparação com as reações catalisadas por lipases, foram realizadas reações de transesterificação de óleo de soja com etanol e metanol empregando KOH.

A influência da razão molar dos reagentes etanol/óleo de soja (3:1 e 6:1) foi investigada empregando diferentes concentrações de hidróxido de potássio (3; 4,5 e 6% m/m). As reações foram conduzidas à temperatura de 50°C. Os resultados destes experimentos estão ilustrados na Figura 27 e indicam que um aumento da concentração de álcool favoreceu o deslocamento da reação no sentido da maior produção de éster. A reação foi conduzida com razão molar etanol/óleo igual a 6:1, com uma concentração de 6% de catalisador apresentou o melhor rendimento (63%). Nas reações catalisadas pela lipase, que envolvem um equilíbrio químico, o aumento do álcool ajudava a deslocar a reação no sentido dos produtos. Porém, a partir de determinada concentração, o que observamos foi que o aumento do álcool pode inibir a ação enzimática. Na catálise alcalina o aumento do teor de álcool favoreceu o rendimento da reação.

De acordo com Marchetti, Miguel e Errazu (2007), a razão molar álcool/óleo igual a 6 é a mais utilizada na via química e permite a obtenção de conversões elevadas nas reações de transesterificação de óleos empregando catalisadores alcalinos.

Usualmente, para que a reação de transesterificação seja completa, é necessário um excesso de álcool de 1,6 vezes a quantidade estequiométrica, empregando 0,1 a 0,5% m/m de KOH, a 80°C (GERPEN, 2005).

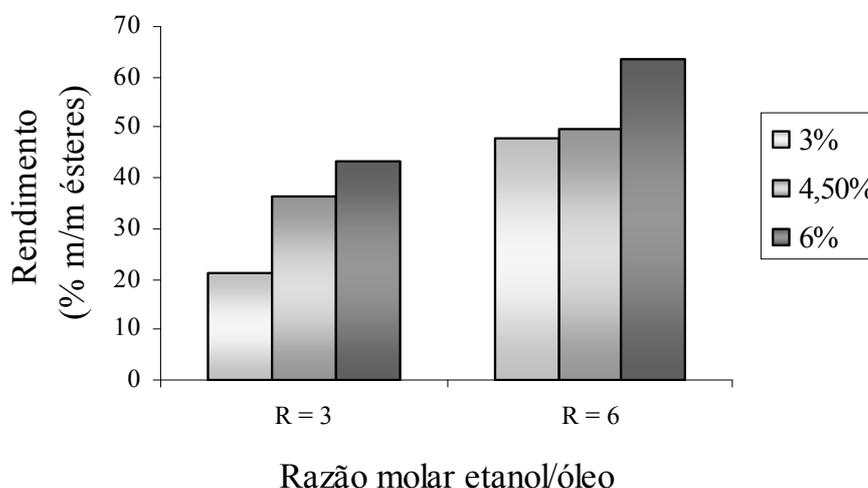


Figura 27 - Influência da razão molar etanol/óleo de soja (R=3 e R=6) e da concentração de hidróxido de potássio (3%, 4,5% e 6% m/m) no rendimento em biodiesel após 4h de reação a 50°C.

3.4.2 - Efeito do tipo de álcool

O efeito do tipo de álcool (metanol ou etanol) foi avaliado nas reações conduzidas com razão molar álcool/óleo de 3:1 e 6:1 com hidróxido de potássio a 6% m/m, a 50°C durante 4h. Os resultados desses experimentos estão ilustrados na Figura 28. Nela observa-se que os maiores rendimentos foram obtidos nas reações de transesterificação do óleo de soja com metanol.

A produção de ésteres etílicos catalisada por álcalis é mais difícil que a de ésteres metílicos, especificamente, devido à formação de uma emulsão estável durante a etanólise. Como o metanol e etanol não são miscíveis em triacilgliceróis à temperatura ambiente, é necessária uma agitação do meio reacional eficiente para contornar os problemas de transferência de massa. Entretanto, a emulsão formada na metanólise é mais facilmente quebrada, permitindo a separação do glicerol, que forma a camada inferior, enquanto que a camada superior concentra os ésteres metílicos. A emulsão decorrente da etanólise é mais estável e complica seriamente a

separação e purificação dos ésteres etílicos formados (ZHOU, KONAR e BOOCOOCK, 1999).

As emulsões são causadas em parte pela formação de mono- e diacilgliceróis intermediários, que exibem duplo caráter (hidroxilas polares e cadeia carbônica longa apolar). Estes intermediários são fortes agentes surfactantes. Na alcoólise, o KOH é dissolvido na fase alcoólica (polar) para onde o triacilglicerol deve ser transferir de modo a permitir a ocorrência da reação. A reação é inicialmente controlada pela transferência de massa. Quando a concentração desses intermediários alcança um nível crítico, a emulsão se forma. O maior grupo apolar do etanol, em relação ao metanol, é o fator crítico na estabilização da emulsão. Entretanto, a concentração de mono- e diacilgliceróis é muito baixa e a emulsão se torna instável. Isto enfatiza a necessidade de reduzir as concentrações de mono- e diacilgliceróis para tornar a reação completa (MEHER, SAGAR e NAIK, 2006).

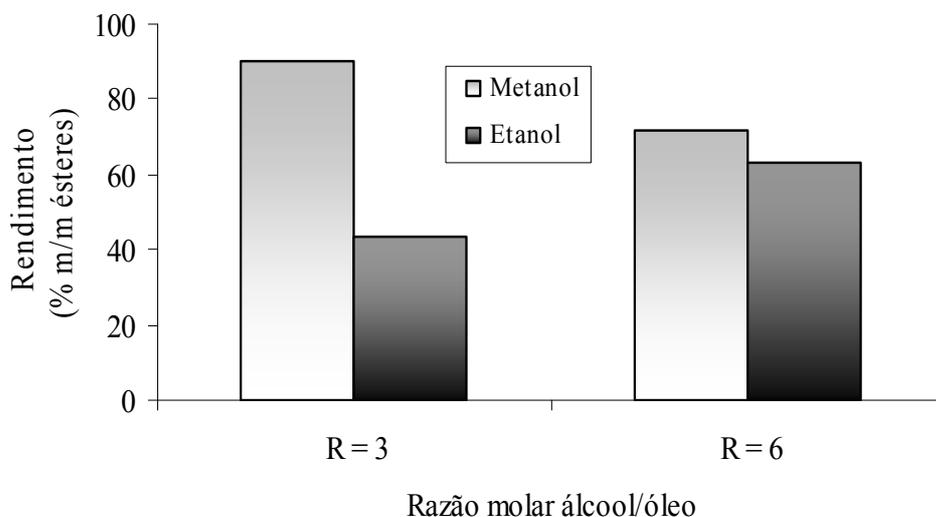


Figura 28 - Efeito do tipo de álcool (etanol ou metanol) no rendimento em biodiesel na transesterificação de óleo de soja catalisada por KOH (6% m/m), a 50°C.

3.4.3 - Comparação dos catalisadores – KOH x Lipase

Com o intuito de comparar os rendimentos alcançados pelas rotas enzimática e alcalina estão exibidos, no gráfico da Figura 29, os resultados da transesterificação do óleo de soja com etanol, a 50°C, obteve-se 59% de rendimento em ésteres

etílicos nas reações com a lipase comercial (Lipozyme RM IM), empregando razão molar estequiométrica dos reagentes com adição escalonada de etanol, resultado similar ao obtido nas reações com KOH (rendimento de 63%), utilizando maiores quantidades de álcool (razão molar etanol/óleo de soja igual a 6).

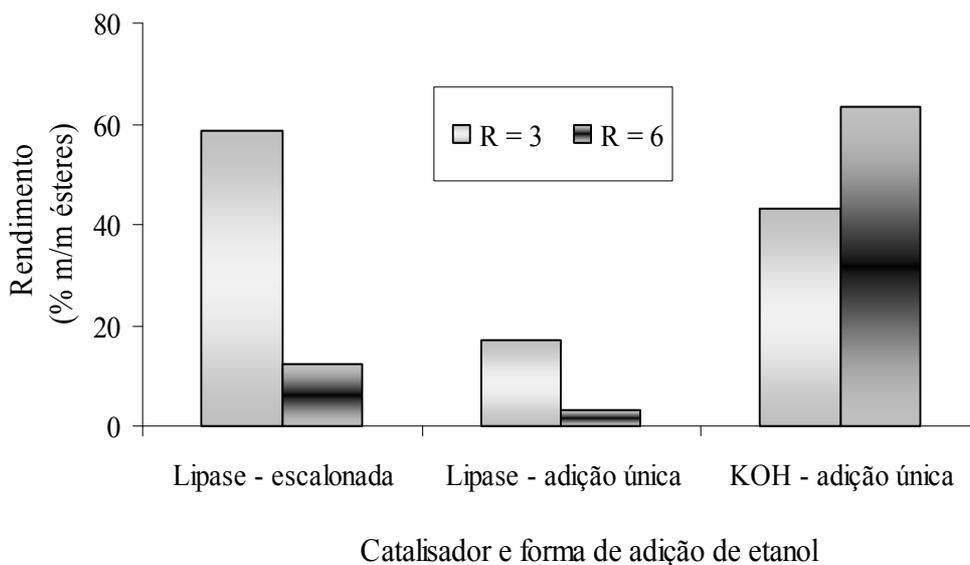


Figura 29 - Rendimento em ésteres etílicos após 4h de reação de transesterificação de óleo de soja a 50°C empregando 7% m/m de lipase (Lipozyme RM IM) ou 6% m/m de KOH.

Já nas reações empregando metanol, o maior rendimento foi obtido com KOH (92%). As reações catalisadas por lipase apresentaram um rendimento bem inferior, mesmo com a adição escalonada do álcool, como está ilustrado na Figura 30. Este menor rendimento está diretamente associado a desativação da enzima pela presença do álcool. Quando ocorre a mudança da forma de introdução do álcool, pode-se observar que o rendimento aumenta, tanto para o etanol como para o metanol. Este último tem esse baixo rendimento devido a sua capacidade de inativar a lipase.

Cabe ressaltar que biodiesel proveniente da reação do óleo com o etanol pode ser considerado um combustível totalmente renovável, visto que esse álcool, no Brasil, é obtido da fermentação da cana-de-açúcar, enquanto que o metanol, além de tóxico, é gerado a partir de uma fonte esgotável. Portanto, há um caminho a ser

percorrido em busca da otimização das reações empregando lipases e que essa comparação foi realizada em condições não ideais para o catalisador alcalino.

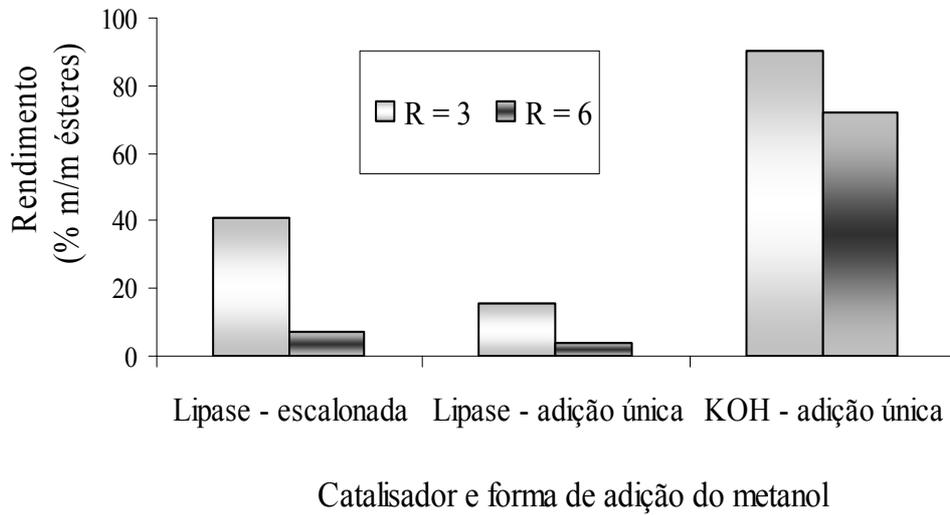


Figura 30 - Rendimento em ésteres metílicos após 4h de reação de transesterificação de óleo de soja a 50°C empregando 7% m/m de lipase (Lipozyme RM IM) ou 6% m/m de KOH.

4. CONCLUSÕES E SUGESTÕES

4.1 - Conclusões

O sistema experimental utilizando o preparado enzimático comercial Lipozyme RM IM demonstrou-se adequado para reação de transesterificação do óleo de soja com etanol.

A melhor razão molar etanol/óleo de soja foi igual a 3, sendo o álcool introduzido de forma escalonada, evitando possível inativação da enzima.

Ao se avaliar a influência da temperatura, verificou-se que a temperatura de 50°C foi a que proporcionou os melhores resultados para a reação enzimática de transesterificação do óleo de soja com etanol utilizando a Lipozyme RM IM. Este resultado acarreta um menor gasto energético, o que pode representar uma economia de energia em relação a processos que necessitam temperaturas mais elevadas.

A Lipozyme RM IM proporcionou um rendimento muito maior quando se utilizou um álcool menos polar. O metanol, ainda que utilizado de modo escalonado, inativa sensivelmente a lipase.

O uso de solvente alterou o rendimento da reação. O rendimento foi inferior ao processo sem solvente. O fato de não se empregar solvente representa um menor custo, redução nos riscos de acidentes e evita etapas de separação/aproveitamento do mesmo.

O rendimento da reação enzimática, na ausência de solvente, em biodiesel, com etanol foi de 58,7% e com metanol foi de 41%.

A transesterificação por via enzimática demonstrou ser uma alternativa viável. No entanto, este processo ainda requer maiores esforços no sentido de melhorar a sua produtividade, principalmente quando comparada com os processos alcalino e ácido. O elevado custo das enzimas comerciais também deve inspirar o desenvolvimento de novos biocatalisadores com menores custos.

4.2 - Sugestões de trabalhos futuros

Analisar a influência de outros sistemas de agitação para o reator, que podem melhorar o processo de transferência de massa e minimizar o atrito mecânico com as partículas do biocatalisador.

Aprimorar a etapa de recuperação da enzima, estudando a utilização de outros solventes bem como avaliar a adição contínua de álcool durante a reação.

Estudar o emprego de óleos não refinados ou reaproveitados, o que reduz os custos da matéria-prima e elimina o descarte de material que tem elevada dificuldade de degradação no meio ambiente.

Avaliar a extração dos produtos no decorrer da reação, como a separação do glicerol por centrifugação, favorecendo o deslocamento do equilíbrio da reação química no sentido da produção dos ésteres, aumentando o rendimento.

Realizar estudo cinético que pode fornecer mais detalhes sobre o comportamento da enzima.

Fazer uma avaliação econômica do processo, que pode mostrar os aspectos econômicos do processo.

REFERÊNCIAS

AGARWAL, A. K., Biofuels (alcohols and biodiesel) applications as fuels for internal combustion engines. **Progress in Energy and Combustion Science**. v.33, 233-271, 2007.

ADLERCREUTZ, P. Biocatalysis in non-convencional media. In: **Applied Biocatalysis**. Eds. Straathof e Adlercreutz, Ed. Harwood Academic Publishers, Holanda, 2000.

BALCAO, V. M.; PAIVA, A. L.; MALCATA, F. X. Bioreactors with immobilized lipases: state of the art. **Enzyme and Microbial Technology**. 18(6), p. 392-416, 1996.

BARNWAL, B.; SHARMA, M. P. Prospect of biodiesel production from vegetable oils in India. **Renewable & sustainable energy reviews**. v.9, p. 363 – 378, 2005.

BIODIESEL BR: Apresenta informações sobre o biodiesel. Disponível em: <www.biodieselbr.com/biodiesel> Acesso em 21 de out. 2006.

_____: Apresenta informações sobre o biodiesel. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/energia/agro-energia.htm>> Acesso em 21 de abr. 2008.

CARBONO BRASIL: Apresenta informações sobre energias alternativas. Disponível em: <<http://www.carbonobrasil.com/energias.htm>> Acesso em 21 de abr. 2008.

CORREA, S. M.; ARBILLA, G. Aromatic hydrocarbons emissions in diesel and biodiesel exhaust. **Atmospheric Environment**. v.40, p. 6821 – 6826, 2006.

DU, W. et al. Comparative study on lipase-catalyzed transformation of soybean oil for biodiesel production with different acyl acceptors **Journal of Molecular Catalysis B**. v. 30, p. 125, 2004.

DUBÉ, M. A.; TREMBLAY, A. Y.; LIU, J. Biodiesel production using a membrane reactor. **Bioresource Technology**. v. 98, p. 641, 2007.

ENCINAR, J. M. et al. Biodiesel fuel from vegetable oils: transesterification of *Cynara cardunculus* L. oils with ethanol. **Energy Fuels**. v. 16, p. 443 – 450, 2002.

FARIA, W. L. S. et al. Esterificação de ácido graxo para produção de biodiesel. **Anais do 12º Congresso Brasileiro de Catálise**. Angra dos Reis – RJ, v. 2, p. 943–946, 2003.

FELIZARDO, P., CORREIA, M. J. N., RAPOSO, I., MENDES, J. F., BERKEMEIER, R., BORDADO, J. M. Production of biodiesel from waste frying oils. **Waste Management**. v. 26, p. 487 – 494, 2006.

FEUGE, R. O.; GROSE, T. M. Modifications of vegetable oils. VII. Alkali catalyzed interesterification of peanut oil with ethanol. **Journal of American Oil Chemistry Society**. N. 26, p. 97 – 102, 1949 apud FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 92, n. 5, p. 405 – 416, 2001.

FORESTI, M. L., FERREIRA, M. L. Solvent-free ethyl oleate synthesis mediated by lipase from *Candida antarctica* B adsorbed on polypropylene powder. **Catalysis Today**. v. 107 – 108, p. 23 – 30, 2005.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 92, n. 5, p. 405 – 416, 2001.

FREEDMAN, B; PRIDE, E. H.; MOUNTS, T. L. Variables affecting the yield of fatty esters from transesterified vegetable oils. **J. Am. Oil Chem. Soc.** v.61(10), p. 1638 – 1643, 1984 apud BARNWAL, B.; SHARMA, M. P. Prospect of biodiesel production from vegetable oils in India. **Renewable & sustainable energy reviews**. v.9, p. 363 – 378, 2005.

FROST, G.M.; MOSS, D.A. “Production of enzymes by fermentation”. J. F. Kennedy (ed), **Biotechnology Enzyme Technology**. v. 7A, VCH Publishers, 1987.

GERPEN, J. V.; KNOTHE, G.; KRAHL, J. **The Biodiesel Handbook**. AOCS PRESS, Illinois, 2005.

GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1097 – 1107, 2005.

HERNÁNDEZ-MARTÍN, E.; OTERO, C. Different enzyme requirements for the synthesis of biodiesel: Novozym 435 and Lipozyme TL IM. **Biosource Technology**. v.99, 277-286, 2008.

HOELDERICH, W. F. Environmentally benign manufacturing of fine and intermediate chemicals. **Catalysis Today**, v. 62, p. 115 – 130, 2000 apud

HOLANDA, A. Biodiesel e inclusão social, Brasília: Câmara dos deputados, Coordenação de Publicações, **Série Cadernos de Altos Estudos**, v.1, 2004 apud PINTO, A. C. et al. Biodiesel : an overview. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 16, n. 6B, p. 1313 – 1330, 2005.

ILLANES, A. Biotecnologia de Enzimas. **Ediciones Universitarias de Valparaíso de la Universidad Católica de Valparaíso**. Chile, 1994.

INSTITUTO DE DESENVOLVIMENTO SUSTENTÁVEL E ENERGIAS RENOVÁVEIS (IDER). Ceará. Apresenta informações sobre desenvolvimento sustentável e energias renováveis. Disponível em: <www.oktiva.net/oktiva.net/1365/secao/4276> Acesso em:21 de out. 2006.

ISO, M. et al. Production of biodiesel fuel from triglycerides and alcohol using immobilized lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**. v. 16, p. 53 – 58, 2001.

JAEGER, K. E.; DIJKAstra, B. W.; REETZ, M. T. Bacterial biocatalysts: Molecular Biology, Three-dimensional structures and biotechnology applications of Lipases. **Annual Review of Microbiology**. v. 53, 315-351, 1999.

KARINEN, R.S.; KRAUSE, A.O.I. New biocomponents from glycerol. **Applied Catalysis A**. v.306, p. 128-133, 2006.

KORBITZ, W. Biodiesel production in Europe and North America, an encouraging prospect. **Renewable Energy**. v. 16, p. 1078 – 1083, 1999.

KÖSE, O.; TÜTER, M, AKSOY, H. A. Immobilized *Candida antarctica* lipase-catalyzed alcoholysis of cotton seed oil in a solvent-free medium. **Bioresource Technology**. v. 83, p.125, 2002.

KOSKINEN, A. M. D.; A.M. KLIBANOV, A. M. In: **Enzymatic Reactions in Organic Media** 1sted., Blackie Academic & Professional, London, 1996

LANGONE, M. A. P. **Síntese de triacilgliceróis catalisada por lipase**. 1998. 168 f. Tese (Doutorado em Engenharia pelo Programa de Engenharia Química/COPPE) - Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 1998.

LIMA, F. V.; PYLE, D. L.; ANSEJO, J. A. Factors affecting the esterification of lauric acid using a immobilized biocatalyst – Enzyme characterization and studies in a well-mixed reactor. **Biotechnology and Bioengineering**. v. 46, p. 69, 1995.

MA, F.; HANNA, M.A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, v. 70, n.1. p.1 - 15, 1999.

MACEDO, A. G.; MACEDO, J.A. Produção de biodiesel por transesterificação de óleos vegetais. **Revista Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, n.32, jan/jun. 2004.

MACRAE, A.R.; HAMMOND, R.C. “Present and future applications of lipases”. **Biotechnology and Genetic Reviews**. v. 3, Intercept Ltd., 1985.

MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U.; ERRAZU, A. F. Possible methods for biodiesel production. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**. v. 11, p. 1300-1311, 2007.

MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification – a review. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**. v.10, p. 248 – 268, 2006.

MINISTÉRIO DA CIÊNCIA E TECNOLOGIA (MCT). Brasília. 2005. Apresenta informações sobre o programa nacional de produção e uso do biodiesel (PNB). Disponível em: <www.biodiesel.gov.br>. Acesso em: 20 dez. 2005

_____ (MCT). Brasília. 2006. Apresenta informações sobre o programa nacional de produção e uso do biodiesel (PNB). Disponível em: <www.biodiesel.gov.br>. Acesso em: 21 out. 2006.

MODI, M. K. et al. Lipase-mediated conversion of vegetable oils into biodiesel using ethyl acetate as acyl acceptor. **Bioresource Technology**. v. 98, p. 1260-1264, 2007.

NELSON, L. A.; FOGLIA, A.; MARMER, W. N. Lipase-catalyzed production of biodiesel. **Journal of American Oil Chemistry Society**. v. 73, p. 1191 – 1195, (1996) apud FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, v. 92, n. 5, p. 405 – 416, 2001.

NETO, P. R. C.; ROSSI, L. F. S.; ZAGONEL, G. F.; RAMOS, L. P. Produção de biocombustível alternativo ao óleo diesel através da transesterificação de óleo de soja usado em frituras. **Química Nova**. v. 23 (4), 2000.

PAIVA, A. L.; BALCÃO, V. M.; MALCATA, F. X. Review: Kinetics and mechanisms of reactions catalysed by immobilized lipases. **Enzyme Microbial and Technology**, v. 27, p. 187 – 204, 2000.

PARENTE, E. J. S. em Biodiesel: Uma aventura tecnológica num país engraçado. UNIGRÁFICA, Gráfica Editora Ltda – ME, 2003.

PINTO, A. C. et al. Biodiesel : an overview. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 16, n. 6B, p. 1313 – 1330, 2005.

PROGRAMA PARANAENSE DE BIOENERGIA. Paraná. Apresenta informações sobre programa de biomassa no Paraná. Disponível em: <www.iapar.br/zip_pdf/bioenergia.pdf> Acesso em 21 de out. 2006.

ROSENBLUM, L. J. Feasibility of biodiesel for rural electrification in India. **Draft**. 2000 apud BARNWAL, B.; SHARMA, M. P. Prospect of biodiesel production from vegetable oils in India. **Renewable & sustainable energy reviews**. v.9, p. 363 – 378, 2005.

SANCHEZ, F.; VASUDEVAN, P. T. Enzyme catalyzed production of biodiesel from olive oil. **Applied Biochemistry and Biotechnology**. v.135 (1), p.1-14, 2006.

SALIS, A.; PINNA, M.; MONDUZZI, M.; SOLINAS, V. Biodiesel production from triolein and short chain alcohols through biocatalysis. **Journal of Biotechnology**. v.119, 291 – 299, 2005.

SAKA,S.; DADAN, K. Transesterification of rapeseed oils in supercritical methanol to biodiesel fuels. In: Proceedings of the 4th Biomass Conference of the Americas, 1999. Oakland, Overend, R.P.; Chornet, E. (Ed.). [s.n.].

_____. _____. Biodiesel fuel from rapeseed oil as prepared in supercritical methanol, **Fuel 80**, p.225-231, 2001.

SANTO, R. T. **Reações de esterificação para a produção de biodiesel e estimação de parâmetros cinéticos**. 2005. 107f. Projeto final (Engenharia Química) – Escola de Química, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

SEGEL, H. I.. Enzyme Kinetics – Behavior and analysis of rapid equilibrium and steady-state enzyme systems – 1975. John Wiley & Sons, Inc. Canada, 1993. 957p.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELI, R.; VARGAS, R. M. Transesterification of Vegetable Oils: a Review. **Journal of the Brazilian Oil Chemists Society**, v. 9, p. 199–210,

1998 apud PINTO, A. C. et al. Biodiesel : an overview. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 16, n. 6B, p. 1313 – 1330, 2005.

SHAH, S.; GUPTA, M. N. Lipase catalyzed preparation of biodiesel from Jatropha oil in a solvent free system. **Process Biochemistry**. v.42 (3), p. 409 - 414, 2007.

SHEENAN, J. et al. Life cycle inventory of biodiesel and petroleum diesel for use in an urban bus, final report for U.S. Dept. of Energy's Office of Fuel Development and the U.S. Dept. of Agriculture's Office of Energy, by the National Renewable Energy Laboratory, NREL/SR-580-24089 (May 1998) apud GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1097 – 1107, 2005.

SHIEH, C. J.; LIAO, H. F.; LEE, C.C. Optimization of lipase-catalyzed biodiesel by response surface methodology. **Bioresource Technology**. v. 88, p. 103 – 106, 2003.

SHIMADA, Y.; WATANABE, Y.; SUGIHARA, A.; TOMINAGA, Y. Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing. **Journal of Molecular Catalysis B**. v. 17, p. 133 - 142, 2002.

SOUMANOU, M. M.; BOURNSCHEUER, U. T. Lipase-catalyzed alcoholysis of vegetable oils. **European Journal of Lipid Science and Technology**. v. 105, p. 656 – 660, 2003.

SRIVASTAVA, A.; PRASAD, R. Triglycerides-based diesel fuels. **Renewable & Sustainable Energy Reviews**. v.4, p. 111 – 133, 2000.

SUBCHEFIA PARA ASSUNTOS JURÍDICOS DA CASA CIVIL DA PRESIDÊNCIA DA REPÚBLICA. Brasília. 2006. Apresenta informações sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira (Lei nº 11097, 13 de Janeiro de 2005). Disponível em: <www.biodiesel.gov.br> Acesso em: 10 out. 2006.

TAPANES, Neyda de la Caridad Om. **Produção de biodiesel a partir da transesterificação de óleo de pinhão manso (*Jatropha Curcas Lin*)**. *Estudo teórico e experimental*. 2006. 107 f. Exame de Qualificação de Tese (Doutorado em Ciências em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro, 2006.

TURIO-BALDASSARRI, L. et al. Emission comparison of urban bus engine fueled with diesel oil and 'biodiesel' blend. **Science of the Total Environment**, 327, p. 147-162, 2004.

U.S. PATENT. C.J. Arrowsmith, J. Ross. **Treating fatty materials**. n. 2.383.580, 1945 apud GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1097 – 1107, 2005.

_____. G.B. Bradshaw, W.C. Meuly. **Preparation of detergents**. n. 2.360.884, 1944 apud GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1097 – 1107, 2005.

_____. **Process of making pure soaps**. n. 2.271.619, 1942 apud GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1097 – 1107, 2005.

_____. H.D. Allen, W.A. Kline. **Process for treating fats and fatty oils**. n. 2.383.579, 1945 apud GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1097 – 1107, 2005.

_____. J.H. Percy. **Treatment of fatty glycerides**. n. 2.383.614, 1945 apud GERPEN, J. V. Biodiesel processing and production. **Fuel Processing Technology**. v. 86, p. 1097 – 1107, 2005.

_____. WIMMER, L. n. 5.399.731, 1992 apud PINTO, A. C. et al. Biodiesel : an overview. **Journal of Brazilian Chemistry Society**, v. 16, n. 6B, p. 1313 – 1330, 2005.

VAN DER PADT, A. **Enzymatic acylglycerol synthesis in membrane reactor**. 1993 Dissertação de Ph.D., Landbouwniversiteit Wageningen, Holanda, 1993.

VICENTE, G.; MARTÍNEZ, M.; ARACIL, J. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems. **Bioresource Technology**. v.92, p.297 – 305, 2004.

VIEIRA, A. P. A. **Síntese de ésteres monoalquílicos de ácido palmítico utilizando lipase imobilizada e zeólitas**. 2005.188f. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro.

VILLENEUVE, P. et al. Review: Customizing lipases for biocatalysis: a survey of chemical, physical and molecular biological approaches. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**. v. 9, p. 113 – 148, 2000

XU, Y.; DU, W.; LIU, D. Study on the kinetics of enzymatic interesterification of triglycerides for biodiesel production with methyl acetate as the acyl acceptor **Journal of Molecular Catalysis B**. v. 32, p. 241- 245, 2005.

YADAV, G. D.; DEVI, K. M. Immobilized lipase-catalysed esterification and transesterification reactions in non-aqueous media for the synthesis of tetrahydrofurfuryl butyrate: comparison and kinetic modeling. **Chemical Engineering Science**, v. 59, p. 373 – 383, 2004

YAGIZ, F.; KAZAN, D.; AKIN, A. N. Biodiesel production from waste oils by using lipase immobilized on hydrotalcite and zeolites. **Chemical Engineering Journal**. v.134, 262 - 267, 2007.

WANG, W. G. et al. Emission from 9 heavy duty trucks fuelled by diesel and biodiesel blend without engine modification. **Environmental Science & Technology**. v. 35, p. 1742 – 1747, 2001.

WATANABE, Y. et al. Continuous production of biodiesel fuel from vegetable oil using immobilized *Candida antarctica* lipase. **Journal of the American Oil Chemists Society**. v. 77, p. 355 – 360, 2000.

_____. Conversion of degummed soybean oil to biodiesel fuel with immobilized *Candida antarctica* lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**. v. 17, p.151-155, 2002.

_____. Conversion of acid oil by-produced in vegetable oil refining to biodiesel fuel by immobilized *Candida antarctica* lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**. v. 44, p.99 - 105, 2007.

ZHOU, W.; KONAR, S.K.; BOOCOCK, D.G.V. Ethyl esters from the single-phase base-catalyzed ethanolysis of vegetable oils. **Bioresource Technology**. v.69, 289 - 293, 1999.

Livros Grátis

(<http://www.livrosgratis.com.br>)

Milhares de Livros para Download:

[Baixar livros de Administração](#)

[Baixar livros de Agronomia](#)

[Baixar livros de Arquitetura](#)

[Baixar livros de Artes](#)

[Baixar livros de Astronomia](#)

[Baixar livros de Biologia Geral](#)

[Baixar livros de Ciência da Computação](#)

[Baixar livros de Ciência da Informação](#)

[Baixar livros de Ciência Política](#)

[Baixar livros de Ciências da Saúde](#)

[Baixar livros de Comunicação](#)

[Baixar livros do Conselho Nacional de Educação - CNE](#)

[Baixar livros de Defesa civil](#)

[Baixar livros de Direito](#)

[Baixar livros de Direitos humanos](#)

[Baixar livros de Economia](#)

[Baixar livros de Economia Doméstica](#)

[Baixar livros de Educação](#)

[Baixar livros de Educação - Trânsito](#)

[Baixar livros de Educação Física](#)

[Baixar livros de Engenharia Aeroespacial](#)

[Baixar livros de Farmácia](#)

[Baixar livros de Filosofia](#)

[Baixar livros de Física](#)

[Baixar livros de Geociências](#)

[Baixar livros de Geografia](#)

[Baixar livros de História](#)

[Baixar livros de Línguas](#)

[Baixar livros de Literatura](#)
[Baixar livros de Literatura de Cordel](#)
[Baixar livros de Literatura Infantil](#)
[Baixar livros de Matemática](#)
[Baixar livros de Medicina](#)
[Baixar livros de Medicina Veterinária](#)
[Baixar livros de Meio Ambiente](#)
[Baixar livros de Meteorologia](#)
[Baixar Monografias e TCC](#)
[Baixar livros Multidisciplinar](#)
[Baixar livros de Música](#)
[Baixar livros de Psicologia](#)
[Baixar livros de Química](#)
[Baixar livros de Saúde Coletiva](#)
[Baixar livros de Serviço Social](#)
[Baixar livros de Sociologia](#)
[Baixar livros de Teologia](#)
[Baixar livros de Trabalho](#)
[Baixar livros de Turismo](#)