

**ANA PAULA FAGUNDES**

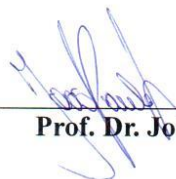
**PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE ÉSTERES METÁLICOS A PARTIR DE  
MATÉRIA-PRIMA ALTERNATIVA**

Trabalho de conclusão de curso de graduação apresentado como requisito  
para obtenção de grau de Bacharel em Engenharia Ambiental da  
Universidade Federal da Fronteira Sul.

Orientadora: **Prof. João Paulo Bender**

Este trabalho de conclusão de curso foi defendido e  
aprovado pela banca em: 02/12/2016

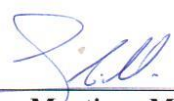
**BANCA EXAMINADORA**



**Prof. Dr. João Paulo Bender – UFFS**



**Prof. Dr. José Vladimir de Oliveira – UFSC**



**Prof. Me. Guilherme Martinez Mibielli - UFFS**

# Produção enzimática de ésteres metílicos a partir de matéria-prima alternativa

Ana Paula Fagundes\*, Guilherme Martinez Mibielli, João Paulo Bender

Curso de Engenharia Ambiental, Universidade Federal da Fronteira Sul, Brasil

## RESUMO

O consumo de biodiesel no Brasil está em crescimento acelerado devido as leis que determinam a inserção do biodiesel no diesel de petróleo. Porém, o país não possui matéria-prima suficiente para suprir a demanda para os próximos anos. Assim sendo, é necessário estudar novas matérias-primas, com baixo custo e grande disponibilidade para atender a produção, e uma possibilidade atrativa é a utilização de resíduos. Desta maneira, o objetivo deste trabalho foi estudar as variáveis: temperatura; equivalentes de metanol; percentual de água e adições de metanol no processo de obtenção de biodiesel pela catálise enzimática utilizando matéria-prima alternativa (resíduo da extração do óleo de soja). Realizou-se dois planejamentos experimentais utilizando o software Statistica versão 7.0 e, os resultados foram expressos em porcentagem de remoção de acidez. Os resultados demonstraram que a melhor resposta para a esterificação dos ácidos graxos foi para a temperatura de 37°C, 2 equivalentes de metanol, 3% de água (m/m) e 6 adições de metanol, usando como catalisador a solução enzimática NS-40116 da Novozymes, com agitação mecânica de 200 rpm e tempo de reação igual a 12 horas. O melhor resultado removeu 96,15% da acidez demonstrando que a utilização desta matéria-prima residual é uma alternativa viável.

**Palavras-chave:** Biodiesel. Solução enzimática. Esterificação. Biomassa. Energia.

## ABSTRACT

The consumption of biodiesel in Brazil is growing fast due to the laws that determine the insertion of biodiesel in petroleum of diesel. However, the country does not have a sufficient raw material to supply the demand for the coming years. Therefore, it is necessary to study new raw materials, with low cost and great availability to meet the production, and an attractive possibility is the use of waste. In this way, the objective of this work was to study the variables: temperature; methanol equivalents; percentage of water and additions of methanol in the process of obtaining biodiesel by enzymatic catalysis using alternative raw material (residue from the extraction of soybean oil). Two experimental designs were performed using Statistica software version 7.0 and the results were expressed as a percentage of acidity removal. The results demonstrated that the best response for esterification of fatty acids was 37°C, 2 equivalents of methanol, 3% of water (m/m) and 6 additions of methanol, using as catalyst the enzymatic solution NS-40116 from Novozymes, with mechanical agitation of 200 rpm and reaction time equal to 12 hours. The best result removed 96.15% of the acidity demonstrating that the use of this residual raw material is a viable alternative.

\* Autor correspondente.

Endereço de e-mail: anapaula.caea@gmail.com

**Keywords:** Biodiesel. Enzymatic solution. Esterification. Biomass. Energy.

## 1. Introdução

O meio ambiente é explorado de forma degradante pelo crescimento populacional e pelo consumo sem limite de seus recursos. O consumo está associado a um ciclo de descarte interminável, que visa satisfazer as necessidades supérfluas da população, quando na verdade deveria servir, apenas, para suprir necessidades básicas. Junto a isso, tem-se o 'alto' nível de industrialização, que demanda quantidade energética muito grande, porém necessária ao desenvolvimento das atividades industriais (Gomes, 2009; Viomar, 2013).

A escassez global dos combustíveis fósseis, os impactos ambientais que ocasionam, e ainda, o alto preço em virtude dos elevados custos de produção, induzem a busca por fontes renováveis de energia. Segundo a Agência Nacional de Petróleo Gás Natural e Biocombustíveis (ANP), cerca de 55% da energia, e 82% dos combustíveis consumidos no Brasil são não-renováveis. No mesmo caminho, tratando-se do cenário global, 86% da energia consumida também vêm de fontes energéticas não-renováveis. Por tais motivos, o Brasil é apontado como modelo no uso de energias renováveis, bem como é considerado o pioneiro mundial no uso de biocombustíveis (Paiva, 2010).

A nível mundial, a situação é favorável para a produção de biocombustíveis, sendo que, em 2013 o aumento foi de 7%. Nesse mesmo ano, o etanol teve um crescimento de 5% e o biodiesel de 11%, representando 87,2 bilhões e 26,3 bilhões respectivamente. A Europa continua sendo a maior produtora e consumidora de biodiesel, no entanto, os Estados Unidos registraram aumento de um terço na sua produção no ano de 2013, se tornando o maior produtor mundial. O país é seguido pela Alemanha e pelo Brasil, que também aumentaram suas produções. De acordo com relatório da European Commission (2011), 19 países da União Europeia já possuem metas de misturas obrigatórias e, 14 destes contam com isenções tributárias, favorecendo a produção e as pesquisas para melhores resultados (Fernandes et al., 2015).

O Brasil é destaque devido ao seu grande potencial energético, pela variedade de matérias-primas e alternativas de produção. Dentro dessa diversidade,

um biocombustível que vem se destacando é o biodiesel, que atua como substituto natural e renovável do diesel de petróleo, podendo ser produzido pela alcoolização de óleos vegetais e/ou gorduras animais ou pela esterificação de ácidos graxos, empregando álcoois mono-hidroxilados de cadeia curta (Ramos et al., 2011).

No tocante ao consumo desse biocombustível, conforme dados da ANP, ele cresceu 17,2% no ano de 2014 se comparado ao ano de 2013, totalizando 3,4 bilhões de litros. Assim, o consumo de óleo diesel cresceu 2,49% na comparação entre os anos de 2013 e 2014, passando de 58,5 bilhões para 60,0 bilhões de litros. Deste montante, o biodiesel representou 4,2 bilhões de litros em 2014. Esse aumento no consumo de biodiesel no Brasil é resultado da implantação de Leis, em sua maioria de iniciativa do Conselho Nacional de Política Energética – CNPE, que estabelecem a utilização obrigatória de biodiesel no diesel convencional.

Nesse aspecto, em 2014, foi aprovada a Lei 13.033 que estabeleceu a porcentagem de 6% (B6) na mistura de biodiesel no diesel, e com a complementação da Lei de Conversão 14/2014, foi definido o aumento da mistura para 7% (B7) a partir de 1º de novembro de 2014. Já em março de 2016, foi sancionada a lei que alterou a porcentagem de aplicação do biodiesel no diesel, passando dos atuais 7% para 8% em 2017; e ainda os seguintes aumentos: 9% em 2018 e 10% em 2019.

Já no tocante ao processo de produção comercial de biodiesel, este é fundamentalmente realizado pela via química (Ramos et al., 2011), que utiliza o metóxido de sódio como catalisador, exigindo assim óleos neutros, com baixo teor de ácidos graxos livres e com baixo teor de água, óleos estes que competem em quantidade e preço com a indústria de alimentos (Dabdoub; Bronzel e Rampin, 2009).

Porém, o emprego de enzimas no processo de produção do biodiesel já vem sendo estudado há algum tempo. Segundo Borzani (2001, p. 155) “as enzimas são proteínas globulares e, como todas as proteínas são heteropolímeros de vinte diferentes aminoácidos”. Na produção enzimática de biodiesel os biocatalisadores empregados são as lipases, enzimas cuja função biológica é a de catalisar hidrólise e esterificação de gorduras e óleos, os quais na presença de álcoois são transformados em biodiesel (Ramos et al., 2011).

No que se refere a matéria-prima para produção do biodiesel, segundo dados da ANP, a soja continua sendo a principal. Sendo que, em 2015 representou cerca

de 77% das matérias-primas utilizadas, seguida pela gordura animal com 19%, o óleo de algodão com 2%, o óleo residual de cozinha com 1% e as demais fontes com apenas 1%. Mas, com o aumento na produção e consumo de biodiesel estimado para os próximos anos, a disponibilidade deste óleo para atender a nova demanda não será suficiente. Ainda, a utilização de alimentos para a produção de biocombustíveis apresenta alguns aspectos negativos, como reflexo econômico precisamente, pois contribui para o desequilíbrio entre a oferta e a demanda de alimentos no mundo, sendo um dos principais elementos para a manutenção dos altos preços (Vieira, 2011; Alves e Pacheco, 2014; Zenevicz, 2015).

No entanto, o Brasil tem grande potencial de produção, à partir de insumos residuais, oriundos do extrativismo e cultivados. Por isso, os estudos têm se focado na utilização de fontes alternativas de matérias-primas e na otimização dos seus processos de produção.

Segundo dados da revista Biodieselbr (2016), em 2015 a demanda pelo biodiesel foi de aproximadamente 4 bilhões de litros, tendo como base o consumo de diesel. Ainda, segundo estimativas, o fato de o Brasil não possuir estrutura para produção dos níveis acima do B15 (mistura de 15% de biodiesel no diesel) torna necessário o investimento em novas usinas e matérias-primas para que essa demanda seja atendida.

Diante dessa necessidade, é necessário que se aponte uma solução. E a produção enzimática de ésteres metílicos pode ser uma alternativa viável, pois nesse processo pode se utilizar uma grande variedade de matérias-primas independente de sua qualidade.

Nesse contexto, o ácido graxo extraído durante a purificação do óleo de soja, apresenta-se como um resíduo com grande potencial energético. Este resíduo é resultante do processo de produção de biodiesel pela rota química empregando o óleo de soja como matéria-prima. No entanto, como a acidez desse resíduo é elevada (aproximadamente 100%), torna-se inviável a sua utilização como uma matéria-prima alternativa, pois na transesterificação química não é aconselhável a utilização de um substrato com acidez superior a 0,5% (Knothe, Gespen e Krahl, 2006).

Esse resíduo, nomeado como ácido graxo, é gerado durante a etapa de pré-tratamento do óleo vegetal, na fase de destilação (refino físico). Neste processo, realiza-se a degomagem e o branqueamento do óleo e, então submete-o à

destilação a vácuo, com o objetivo de remover os ácidos graxos livres. Esse sistema de refinamento físico reduz as perdas do óleo e produz ácidos graxos com 80% à 90% de pureza (Mandarino e Roessing, 2001).

No entanto, esta área necessita de muitas pesquisas e avanços para que sua utilização ganhe aplicação prática e seja competitiva. As vantagens oferecidas por esses processos, ainda não tem se mostrado suficientes para atingir o objetivo desejado. Objetivo esse que visa substituir a catálise alcalina homogênea na escala industrial, principalmente no que tange ao aumento da eficiência econômica global do processo e rendimento de reação (Cammarota e Freire, 2006). Ainda, segundo estudo realizado por Gomes (2009), a hidroesterificação química se mostrou muito eficaz, e seu rendimento foi melhor que a esterificação enzimática.

Assim sendo, procura-se estabelecer as condições ideais de processo a serem utilizadas na produção de biocombustível com o uso de enzimas. Por tais motivos, o objetivo deste trabalho foi otimizar temperatura, percentual de água, equivalentes de metanol e adições de metanol para a produção enzimática de ésteres metílicos a partir de matéria-prima alternativa.

## **2. Materiais e métodos**

**Item não permitido, pesquisa envolve segredo industrial.**

## **3. Resultados**

**Item não permitido, pesquisa envolve segredo industrial.**

## **4. Conclusão**

O estudo das variáveis do processo de produção de biodiesel por esterificação dos ácidos graxos apontou que a condição mais satisfatória para obtenção do biocombustível é com temperatura de 37°C, 2 equivalentes de metanol, 3% de água ( $m_{\text{água}}/m_{\text{ácido graxo}}$ ) e 6 adições de metanol.

Quanto à etapa de esterificação dos ácidos graxos foram obtidos ótimos resultados, comprovando a eficiência da solução enzimática frente a uma matéria-prima de baixa qualidade, pois o óleo utilizado é resíduo de um processo e não passou por um pré-tratamento.

Dos parâmetros analisados, a água foi a variável mais importante, pois sua quantidade afeta positivamente ou negativamente a reação. Além disso, a presença de água não propicia a formação de sabão durante a reação por ser uma catálise enzimática. No caso da ausência de água, a enzima fica sem proteção e a alta temperatura associada ao álcool presente no meio reacional acabam por desnaturar a enzima, ou seja, ocorre a perda de sua estrutura nativa anulando sua atividade. Porém, a possibilidade de um excesso de água também prejudica a produção do biodiesel, pois sua alta concentração pode ocasionar a hidrólise dos ésteres, formando álcool e liberando ácido graxo, ou seja, a reação inversa da esterificação.

Os resultados mostraram que o processo de produção de biodiesel utilizando o ácido graxo residual da extração do óleo de soja é uma alternativa promissora, pois conseguiu-se até 96,15% de remoção da acidez em 12 horas de processo. Dessa forma, o processo descrito utilizando enzimas superou as expectativas, utilizando-se de materiais com elevada acidez e baixo valor agregado, resultando em uma produção de biodiesel viável economicamente.

## Referências

Alves, A. A. e Pacheco, B. T. G., 2014, Síntese do biodiesel a partir de óleo residual através da esterificação homogênea dos ácidos graxos livres e transesterificação alcalina. TCC, Engenharia Química, Universidade Federal de Alfenas, Poço de Caldas, 35 f.

ANP – Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis. Disponível em: <<http://www.anp.gov.br/?id=470>>. Acesso em 06 abr. 2016.

Associação Brasileira de Normas Técnicas. NBR 1115: Insumos - Substâncias graxas - Determinação do índice de acidez. Rio de Janeiro, 2014, 6 f.

Babicz, I.; Leite, S. G. F.; Souza, R. O. M. A. e Antunes, O. A. C., 2010, Lipase-catalyzed diacylglycerol production under sonochemical irradiation. *Ultrasonics Sonochemistry*, 17(1): 4-6.

Batistella, L., 2011, Produção enzimática de biodiesel em solvente orgânico em banho de ultrassom. Dissertação de Mestrado, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, RS.

Biodiesel BR. O tamanho do mercado de biodiesel do Brasil até 2020. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com/noticias/usinas/producao/tamanho-mercado-biodiesel-brasil-ate-2020-290316.htm>>. Acesso em: 02 abr. 2016.

Borzani, W.; Schmidell, W.; Lima, U. A. e Aquarone, E., 2001, *Biotecnologia Industrial*. Vol. I, Fundamentos. Editora Edgard Blücher Ltda. São Paulo.

Brasil, Lei nº 13.033 de 24 de setembro de 2014.

Cammarota, M. C. e Freire, D. M. G., 2006, A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. *Bioresour Technol*, 97, 2195-2210.

Cesarini, S.; Diaz, P. e Nielsen, P. M., 2013, Exploring a new, soluble lipase for FAMES production in water-containing systems using crude soybean oil as a feedstock. *Elsevier*, 484-487.

Cesarini, S.; Haller, R. F.; Diaz, P. e Nielsen, P. M., 2014, Combining phospholipases and a liquid lipase for one-step biodiesel production using crude oils. *Biotechnology for Biofuels*, 7-29.

Chang, S.W.; Yang, C. J.; Chen, F. Y.; Akoh, C. C. e Shieh, C. J., 2005, Optimized synthesis of lipase-catalyzed l-ascorbyl laurate by Novozym® 435. *Journal of Chemical Technology and Biotechnology*, 80: 307-312.

Dabdoub, M. J.; Bronzel, J. L. e Rampin, M. A., 2009, Biodiesel: visão crítica do status atual e perspectivas na academia e na indústria. *Química Nova*, 23(3): 776-792.

European Commission, 2011, *Energy, sustainability* (Site institucional).

Faccio, C., 2004, Estudo da produção de ésteres etílicos a partir da alcoólise de óleos vegetais. Dissertação de Mestrado, Universidade Regional Integrada do Alto Uruguai e das Missões – URI, Erechim, RS.

Fernandes, F. M., Silva, M. S., Lima, A. M. F., Rocha, A. M., Soares, P. M. e Konish, F., 2015, Biodiesel no mundo e no Brasil: situação atual e cenários futuros, *AGRENER - 10º Congresso sobre Geração Distribuída e Energia no Meio Rural*, São Paulo.

Gomes, M. M.R., 2009, Produção de biodiesel a partir da esterificação dos ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleo de peixe. Tese, Programa de pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Rio de Janeiro, 93 f.

Karra-châabouni, M.; Ghamghi, H.; Bezzine, S.; Rekik, A. e Gargouri, Y., 2006, Production of flavour esters by immobilized *Sthaphylococcus simulans* lipase in a solvent-free system. *Process Biochemistry*, 41: 1692-1698.

Knothe, G.; Gespen, J. V. e Krahl, J., 2006, *Manual de biodiesel*. Edgar Blucher, São Paulo.



Li, L.; Du, W.; Liu, D.; Wang, L. e Li, Z., 2006, Lipase-catalyzed transesterification of rapeseed oils for biodiesel production with a novel organic solvent as the reaction médium. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Elsevier, 43: 58-62.

Li, S. F.; Fan, Y. H.; Hu, R. F. e Wu W. T., 2011, *Pseudomonas cepacia* lipase immobilized onto the electrospun PAN nanofibrous membranes for biodiesel production from soybean oil. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Elsevier, 72: 40-45.

Lucena, I. L., 2008, Otimização do processo de obtenção de biodiesel através da adsorção de água formada durante a reação de esterificação. Dissertação, Mestrado de Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 122 f.

Mandarino, J. M. G. e Roessing, A. C., 2001, Tecnologia para produção do óleo de soja: descrição das etapas, equipamentos, produtos e subprodutos. Embrapa Soja, Londrina.

Paiva, E. J. M., 2010, Estudo da produção de biodiesel a partir de óleo de babaçu e etanol utilizando a transesterificação alcalina tradicional com agitação mecânica e assistida por ultrassons. Dissertação, Programa de pós-graduação em Engenharia Química, Escola de Engenharia de Lorena, São Paulo, 173 f.

Pedersen, A. T.; Nordblad, M.; Nielsen, P. M. e Woodley, J. M., 2014, Batch production of FAEE - biodiesel using a liquid lipase formulation. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, Elsevier, 89-94.

Ramos, L. P.; Silva, F. R.; Mangrich, A. S. e Cordeiro, C. S., 2011, Tecnologias de Produção de Biodiesel. *Revista Virtual de Química*, 3(5): 385-405.

Rodrigues, R. C., 2009, Síntese de biodiesel através de transesterificação enzimática de óleos vegetais catalisada por lipase imobilizada por ligação covalente multipontual. Tese, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade do Rio Grande do Sul, Porto Alegre, 183 f.

Salis, A.; Pinna, M.; Monduzzi, M. e Solinas, V., 2005, Biodiesel production from triolein and short chain alcohols through biocatalysis. *Journal of Biotechnology*, 119: 291-299.

Santos, F. F. P., 2009, Produção de biodiesel assistida por ultra-som. Dissertação, Curso de Pós-Graduação em Engenharia Química, Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 128 f.

Shieh, C. J.; Liao, H. F. e Lee, C. C., 2003, Optimization of lipase-catalyzed biodiesel by response surface methodology. *Bioresource Technology*, 88: 103-106.

Vieira, S. S., 2011, Produção de biodiesel via esterificação de ácidos graxos livres utilizando catalisadores heterogêneos ácidos. Dissertação, Programa de Pós-graduação em Agroquímica Universidade Federal de Lavras, Minas Gerais, 117 f.

Viomar, A., 2013, Estudo das variáveis da produção de biodiesel. Dissertação, Programa de Pós-Graduação em Bioenergia, Universidade Estadual do Centro-Oeste, Guarapuava-PR, 91 f.

Zenevicz, M. C. P., 2015, Hidroesterificação enzimática de óleos de soja e de fritura em sistema de ultrassom. Tese - Universidade Federal de Santa Catarina – UFSC/SC, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Florianópolis, 174 f.