

XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

Síntese de biodiesel via transesterificação do óleo ácido de macaúba (*Acrocomia aculeata*) utilizando preparados enzimáticos sólidos como biocatalisadores

Erika C. G. Aguietas¹, Aline M. de Castro², Marta A. P. Langone³ e Denise M. G. Freire¹

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro – Instituto de Química
Caixa Postal 21949-909 Rio de Janeiro – RJ - E-mail: erikaaguieiras@gmail.com

² PETROBRAS/CENPES/PDEDS/Biotecnologia
Caixa Postal 21941-915 Rio de Janeiro – RJ

³ Universidade do Estado do Rio de Janeiro – Instituto de Química
Caixa Postal 20550-013 Rio de Janeiro – RJ

RESUMO

*Este trabalho teve como objetivo estudar a síntese de biodiesel a partir do óleo ácido de macaúba pela rota de transesterificação/esterificação enzimática. Como biocatalisador foi utilizado o preparado enzimático sólido (PES) de *Rhizomucor miehei* obtido por fermentação em estado sólido (FES) em torta de babaçu. Teores de ésteres etílicos de 85% foram obtidos em 96 h, empregando 13 U de atividade hidrolítica por g de óleo, etanol hidratado (95%) e razão molar etanol:triglicerídeos de 6:1 a 40°C, em meio sem solvente.*

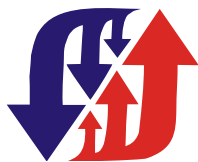
Palavras-chave: biodiesel; lipases; transesterificação; macaúba; óleo ácido; preparado enzimático sólido

INTRODUÇÃO

A utilização de lipases como biocatalisadores alternativos para a produção de biodiesel viabiliza a utilização de matérias-primas de baixo custo e com altos teores de ácidos graxos livres (AGLs) que não podem ser utilizadas para a síntese de biodiesel pela rota alcalina (Robles-Medina *et al.*, 2009). Exemplos desses óleos incluem os óleos vegetais ácidos como o obtido da polpa de macaúba (*Acrocomia aculeata*). Preparados enzimáticos sólidos (PES) consistem em biocatalisadores obtidos por fermentação em estado sólido (FES), nos quais as lipases encontram-se adsorvidas no próprio suporte utilizado para o crescimento do micro-organismo. O emprego do PES como biocatalisador direto das reações de esterificação e de transesterificação reduz os custos com extração, purificação e imobilização enzimática (Fernandes *et al.*, 2007; Aguietas *et al.*, 2014). O objetivo desse trabalho foi estudar a síntese de ésteres monoalquílicos (biodiesel) a partir do óleo ácido obtido da polpa de macaúba e utilizando como biocatalisador o PES de *R. miehei* obtido por FES em torta de babaçu.

MATERIAL E MÉTODOS

2.1 Produção do biocatalisador



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

O PES de *R.miehei* foi obtido a partir da fermentação do micro-organismo em torta de babaçu moída e peneirada (partículas com tamanho inferior a 1,18 mm). As fermentações foram conduzidas em biorreatores cilíndricos contendo 15 g de torta com umidade ajustada para 65%. Cada biorreator foi esterilizado a 121°C por 15 minutos por autoclavagem e a torta de babaçu foi inoculada com 10^7 esporos por grama de sólido (peso seco) e incubada a 30°C em estufa com injeção de ar umidificado por 72 h. Ao final da fermentação, o meio foi liofilizado e estocado a 4°C.

2.2 Reações de transesterificação

As reações de transesterificação foram conduzidas em reator batelada fechado, com capacidade de 30 mL e provido de agitação magnética. O sistema reacional consistiu na mistura dos reagentes (óleo de macaúba com acidez de 8% e álcool) e do PES. A temperatura do meio reacional foi mantida constante a 40°C pela circulação de água pela camisa do reator. O progresso das reações foi acompanhado pela retirada de alíquotas do meio reacional (100 μ L, em triplicata), que foram analisadas por cromatografia gasosa. As reações foram conduzidas com 15 g de óleo de macaúba e 13U de atividade do PES por g de óleo, durante 96h. Foi estudada a influência dos seguintes parâmetros: razão molar etanol:óleo, tipo de álcool e concentração de água no meio.

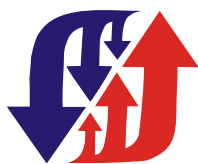
2.3 Determinação do teor de éster metílico ou etílico

O teor de éster foi determinado em cromatógrafo GC-2010 (Shimadzu Co.) equipado com detector por ionização de chama e coluna capilar Omegawax (30 m x 0.25 mm x 0.25 μ L), de acordo com descrito em Aguiéiras *et al.* (2014).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

3.1 Influência da razão molar dos reagentes

A influência da razão molar dos reagentes nas reações de transesterificação do óleo ácido de macaúba foi avaliada nas razões molares etanol:TAGs: 3:1, 4:1 e 6:1, com o álcool adicionado por completo no início da reação ($T = 0$ h). A adição do etanol em etapas foi estudada nas razões molares 4:1 (1/2 em $T = 0$ h e 1/2 em $T = 6$ h), 6:1 (1/2 em $T = 0$ h e 1/2 em $T = 6$ h), 6:1 (1/2 em $T = 0$ h e 1/2 em $T = 24$ h) e 6:1 (1/6 em $T = 0$, 1 e 2 h e 1/2 em $T = 4$ h). Como pode ser observado na Figura 1, com a adição de todo o volume de etanol no início da reação, o aumento da razão molar acarretou em redução das taxas de reação. Esses resultados estão relacionados ao efeito de desativação da lipase pelo excesso de álcool no meio (Shimada *et al.*, 1999). Com a adição do etanol em etapas foram obtidos teores de 76 a 79%, com exceção da condição com razão 6:1 (1/2 em $T = 0$ h e 1/2 em $T = 6$ h). A razão molar de 6:1 (1/2 em $T = 0$ h e 1/2 em $T = 24$ h) foi escolhida para os estudos posteriores.



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

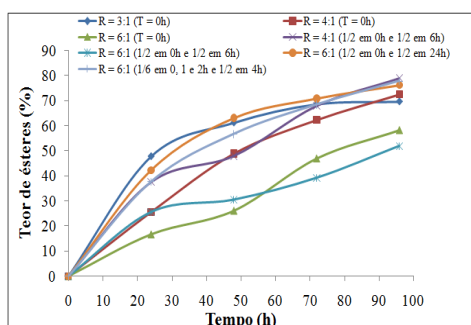


Figura 1. Influência da razão molar e da forma de adição do álcool nas reações de transesterificação do óleo ácido de macaúba (15 g) com etanol, com 13 U de atividade hidrolítica do PES por g de óleo a 40°C.

3.2 Influência do tipo de álcool: etanol e metanol

A possibilidade de utilização do metanol como aceptor nas reações de síntese de biodiesel foi avaliada e os resultados foram comparados aos obtidos empregando etanol como aceptor (Figura 2). Os teores de ésteres obtidos com metanol foram inferiores aos observados com o emprego de etanol. Esses resultados já eram esperados e podem ser atribuídos ao fato de que o metanol, por ser mais polar, pode promover maior desativação da enzima (Talukder *et al.*, 2009).

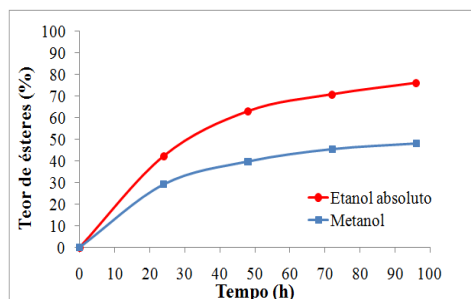
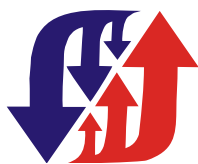


Figura 2. Influência do tipo de álcool nas reações de transesterificação do óleo ácido de macaúba (15 g) com etanol e metanol, com razão molar álcool:TAGs de 6:1 (1/2 em 0 h e 1/2 em 24 h) e 13 U de atividade hidrolítica do PES por g de óleo a 40°C.

3.3 Influência do teor de água no meio

A influência do teor de água no meio foi avaliada utilizando etanol hidratado (95%), e teores de água de 1 a 15% (m/m) em relação à massa de óleo nas reações conduzidas com etanol absoluto (99,8%). Os resultados estão apresentados na Figura 3 e mostram que maiores teores de ésteres foram alcançados utilizando o álcool hidratado e teores de água de 1 a 3% (m/m). Após 96 h, os teores de ésteres obtidos empregando álcool hidratado ou 1, 2 e 3% (m/m) de água, foram superiores a 84%. Com teores de água superiores a 5% (m/m) foi observada redução nos teores de ésteres em relação à reação conduzida sem adição de água. Nesse caso, a água presente no meio pode ter atuado como um inibidor competitivo da reação de alcoólise, deslocando o equilíbrio no sentido da hidrólise dos TAGs e ésteres formados.



XII Seminário Brasileiro de Tecnologia Enzimática ENZITEC 2016

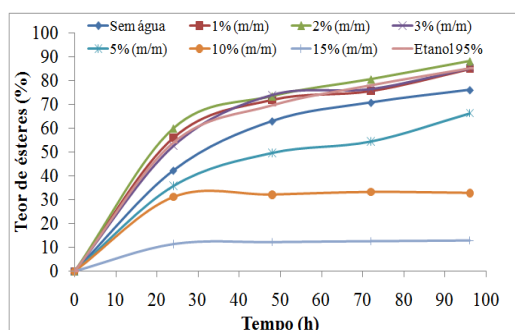


Figura 3. Influência do teor de água nas reações de transesterificação do óleo ácido de macaúba com razão molar etanol:TAGs de 6:1 (1/2 em 0 h e 1/2 em 24 h) e 13 U de atividade hidrolítica do PES a 40°C.

O produto final não purificado apresentou boas propriedades de viscosidade (5,12 mm²/s) e densidade (871,2 kg/m³), determinadas pelas metodologias ASTM D445 e ASTM D4052, respectivamente.

CONCLUSÕES

Os resultados obtidos nesse trabalho mostram que o PES de *R. miehei* obtido por FES em torta de babaçu é um biocatalisador promissor para ser utilizado em reações de simultâneas de esterificação/transesterificação do óleo ácido de macaúba. A utilização do etanol hidratado (95%) apresenta-se como uma alternativa interessante do ponto de vista econômico, pois propicia a utilização desse álcool amplamente produzido no Brasil e proveniente da biomassa, ao contrário do metanol de origem fóssil.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aguieiras ECG, Cavalcanti-Oliveira ED, de Castro AM, Langone MAP, Freire DMG. 2014. Biodiesel production from *Acrocomia aculeata* acid oil by (enzyme/enzyme) hydroesterification process: Use of vegetable lipase and fermented solid as low-cost biocatalysts. *Fuel* 135: 315-321.
- Fernandes MLM, Saad EB, Meira JA, Ramos LP, Mitchell DA, Krieger N. 2007. Esterification and transesterification reactions catalysed by addition of fermented solids to organic reaction media. *J Mol Catal B: Enzym* 44:8-13.
- Robles-Medina A, González-Moreno PA, Esteban-Cerdán L, Molina-Grima E. 2009. Biocatalysis: Towards ever greener biodiesel production. *Biotechnol Adv* 27:398-08.
- Shimada Y, Watanabe Y, Samukawa T, Sugihara A, Noda H, Fukuda H, et al. 1999. Conversion of vegetable oil to biodiesel using immobilized *Candida antarctica* lipase. *J Am Oil Chem* 76:789-93.
- Talukder MdMR, Wu JC, Nguyen TBV, Fen NM, Melissa YLS. 2009. Novozym 435 for production of biodiesel from unrefined palm oil: Comparison of methanolysis methods. *J Mol Catal B: Enzym* 60:106-12.