



XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE BIODIESEL A PARTIR DO ÓLEO DE MACAÚBA EM REATOR DE LEITO FIXO EM DUPLO ESTÁGIO INCORPORANDO COLUNA EXTRATORA DE GLICEROL

L. RAMOS¹, L. FREITAS¹, J. C. SANTOS², H. F. DE CASTRO¹

¹ Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP), Departamento de Engenharia Química

² Escola de Engenharia de Lorena (EEL-USP), Departamento de Biotecnologia

E-mail para contato: heizir.dequi@eel.usp.br

RESUMO –O objetivo deste trabalho foi estabelecer as condições operacionais de síntese enzimática de biodiesel catalisada pela lipase de *Burkholderia cepacia* imobilizada em SiO₂-PVA em reator de leito fixo duplo estágio acoplado a uma coluna empacotada com Lewatit[®] GF202 para remover o glicerol formado como subproduto. Os ensaios de produção foram realizados a 50 °C, empregando os materiais de partida na proporção molar de 1:12 (óleo de macaúba:etanol) na ausência de solventes, sendo investigado o efeito do tempo espacial (10 a 16 h) no rendimento de transesterificação e na produtividade. O melhor desempenho do sistema foi obtido empregando tempo espacial de 16 h, proporcionando valores de rendimento de (96,3 ± 2,1)% e produtividade de (36,7 ± 2,4) mg_{éster}/g_{meio}/h. As amostras de biodiesel resultantes apresentaram-se límpidas e isentas de impurezas, exibindo os seguintes parâmetros de qualidade: teor de éster de 96,3%; viscosidade cinemática a 40 °C de 5,8 ± 0,2 mm²/s; 3,7% m/m de monoacilglicerol e ausência de diacilglicerol. A estabilidade do sistema foi também comprovada quantitativamente para longos períodos de operação (30 dias), revelando tempo médio de meia-vida (t_{1/2}) do biocatalisador de 1512 h, com manutenção de suas características morfológicas.

1. INTRODUÇÃO

A síntese de biodiesel a partir da transesterificação enzimática de óleos vegetais oferece vantagens relevantes, incluindo menor consumo de energia, obtenção de produtos com maior grau de pureza, fácil recuperação do glicerol e diminuição da poluição causada por processos químicos convencionais, tornando o processo enzimático uma alternativa promissora a catálise homogênea alcalina (Zhao *et al.*, 2015; Christopher *et al.*, 2014). Esta opção quando associada ao uso de etanol como agente acilante pode tornar a produção de biodiesel um processo totalmente inserido nos conceitos de rotas ambientalmente amigáveis, devido à elevada toxicidade do metanol (Brunschwing *et al.*, 2012).

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO





XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

Reatores de tanque agitado (STR) e de leito fixo (PBR) são as configurações comumente empregadas em processos multifásicos, como na síntese de biodiesel utilizando lipases imobilizadas. Em larga escala a produção é normalmente realizada em STR, devido a sua facilidade de construção e operação (Poppe *et al.*, 2015). Esta configuração apresenta, no entanto, algumas desvantagens, uma vez que os sistemas imobilizados não podem ser carregados em grande quantidade no reator e são susceptíveis à quebra devido às altas tensões de cisalhamento impostas pela agitação mecânica, reduzindo a possibilidade de reutilização da enzima imobilizada e comprometendo a viabilidade econômica do processo (Xu *et al.*, 2012). Desta forma, reatores de leito fixo (PBRs) tornam-se mais atrativos, devido ao baixo custo, facilidade de construção, e menor grau de cisalhamento do biocatalisador (Chisti, 2006; Poppe *et al.*, 2015).

Em função das vantagens apresentadas PBR tem sido adotado com relativo sucesso na síntese enzimática de biodiesel a partir de diferentes matérias-primas lipídicas (Dors *et al.*, 2012; Silva *et al.*, 2014; Simões *et al.*, 2015). Entretanto, o desempenho deste sistema operacional tem sido limitado devido à adsorção de compostos polares no suporte de imobilização impondo limitações difusionais e inibição da lipase, devido a formação de uma camada hidrofílica ao redor da enzima, o que dificulta o acesso ao substrato hidrofóbico e afeta a eficiência da catálise (Simões *et al.*, 2015). Entre as estratégias pesquisadas para remoção do glicerol e consequente aumento do rendimento do processo pelo deslocamento do equilíbrio, a resina Lewatit® GF202, que apresenta elevada capacidade de adsorção do glicerol (250 g glicerol/L), tem demonstrado resultados satisfatórios, como descrito por Hama *et al.* (2011) e Fidalgo *et al.* (2014).

Tomando por base as propriedades adequadas desta resina em adsorver glicerol, o presente trabalho, teve como objetivo avaliar o desempenho de um sistema operacional de leito empacotado em dois estágios, incorporando na saída do primeiro estágio uma coluna empacotada com resina catiônica (Lewatit® GF 202) para adsorção do glicerol formado. Desta forma, espera-se proporcionar a alimentação da segunda coluna com meio isento de impurezas, reduzindo as limitações do biocatalisador e favorecendo a conversão total do óleo nos ésteres correspondentes. A matéria-prima selecionada foi o óleo de macaúba, devido a sua ampla disponibilidade no país (Nobre *et al.*, 2014) e etanol foi utilizado como agente acilante, tendo em conta as vantagens oferecidas em relação ao metanol (Brunschwing *et al.*, 2012).

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Os experimentos foram realizados com a lipase de *Burkholderia cepacia* adquirida na forma solúvel da Amano Enzyme Inc. (Japão) e posteriormente imobilizada em suporte híbrido polissiloxano-álcool polivinílico (SiO₂-PVA), preparado pela técnica sol-gel (Da Rós *et al.*, 2010) resultando em derivados imobilizados com atividade média de 1933 ± 115 U/g. Como materiais de partida foram utilizados: etanol anidro (99,5%, Cromoline) e óleo da amêndoa de macaúba adquirido da Paradigma Óleos Vegetais Ltda (Minas Gerais). Lewatit® GF202 (resina macroporosa, com densidade de 1,24 g/L) foi gentilmente cedida pela Lanxess (Leverkusen, Alemanha). Outros

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

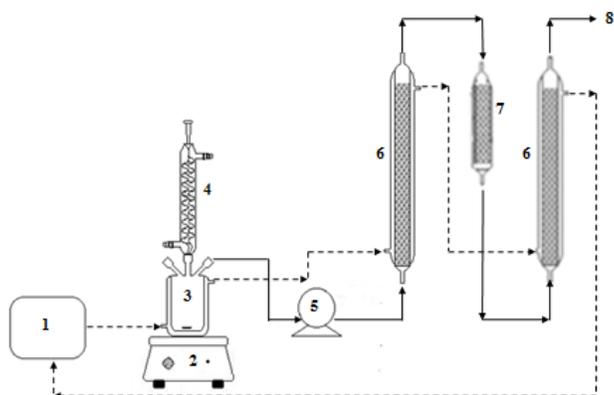
ORGANIZAÇÃO



reagentes utilizados foram: solventes (terc-butanol e hexano, Cromoline), álcool polivinílico (88%, Acros Organics), HCl (mínimo 36%, Isofar), epícloridrina (99%, Aldrich®), polietilenoglicol (MM 1500, Synth), tetraetilortossilicato (98%, Aldrich®), goma arábica em pó pura (Synth) e óleo de oliva comercial com baixo teor de acidez (Carbonell).

2.2. Síntese Contínua de Biodiesel em PBR de Duplo Estágio

O sistema reacional era constituído de duas colunas (diâmetro interno = 14 mm, comprimento = 210 mm e volume = 32 mL) ligadas em série, conforme ilustrado na Figura 1.



Legenda da figura:

- 1-Banho termostático;
- 2-Agitador magnético;
- 3-Frasco de alimentação;
- 4-Condensador de refluxo;
- 5-Bomba peristáltica;
- 6-Colunas empacotadas com o biocatalisador;
- 7-Coluna extratora de glicerol;
- 8-Saída do produto.

Figura 1 - Esquema experimental do reator de leito fixo em duplo estágio incorporando coluna extratora de glicerol.

A mistura reacional de óleo de macaúba e etanol (razão molar óleo: etanol de 1:12) foi mantida em um frasco de alimentação, sob agitação magnética (150 rpm) a 50 °C. O substrato foi bombeado através das colunas, contendo lipase *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-PVA (≈ 20 g), com o auxílio de uma bomba peristáltica (SJ-1211-Atto) na vazão adequada. Na saída do primeiro estágio foi acoplada uma coluna contendo 7,0 g da resina macroporosa Lewatit® GF 202 para adsorção do glicerol formado. O tempo espacial foi calculado de acordo com Levenspiel (2000). O desempenho do sistema operacional foi avaliado para diferentes vazões volumétricas correspondendo a tempos espaciais entre 10 e 16 h. Para cada condição, foi determinada a influência do tempo espacial no rendimento de transesterificação e produtividade. Selecionado o melhor tempo especial, foi verificado o desempenho e estabilidade operacional do sistema por longo período de tempo (30 dias). A coluna extratora de glicerol era regenerada a cada 7 dias, por lavagem com metanol (Fidalgo *et al.*, 2014). Amostras diárias foram recolhidas e estocadas a -2°C, para realização de análises cromatográficas, de viscosidade e densidade. As amostras recolhidas no segundo estágio foram purificadas por lavagem aquosa, conforme procedimento descrito anteriormente (Simões *et al.*, 2015).

2.3. Métodos de Análise

Dosagem dos ésteres de etila: Os ésteres de etila foram monitorados por cromatografia de fase gasosa (Modelo Varian CG 3800, Inc. Corporate Headquarters, Palo Alto, CA, EUA), conforme



XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

metodologia estabelecida por Urioste *et al.* (2008). O rendimento das transesterificações foi definido como o valor que expressa a massa total obtida de ésteres de etila em relação à massa teórica esperada.

Viscosidade: A viscosidade cinemática do biodiesel foi determinada de acordo com o método oficial ASTM D 445 utilizando um viscosímetro Brookfield LVDVII (Brookfield Viscometers Ltd, England), equipado com um cone CP 42. O teste foi realizado à 40 °C usando 0,5 mL de amostra.

Dosagem de monoacilceróis (MAG) e diacilgliceróis (DAG): Os teores de MAG e DAG foram quantificados nas amostras de biodiesel purificadas e determinados por cromatografia líquida de alta eficiência, em equipamento Agilent 1200 Series (Agilent Technologies, Inc. SP, Brasil), com detector evaporativo de espalhamento de luz e coluna de aço inoxidável Fenomenex Gemini C18 110 A (150 x 4,6 mm) (Allcrom, Ltd., SP, Brasil), nas seguintes condições: temperatura da coluna de 40 °C e do detector de 70 °C. As fases móveis utilizadas foram: acetonitrila (A) e metanol (B) numa proporção de 80% A e 20% B por 35 min em diferentes taxas de fluxo: 1 mL/min (6 min); 1,5 mL/min (24 min) e 3,0 mL/min (5 min). Todas as amostras foram dissolvidas em acetato de etila-hexano (1:1, v/v) e o volume de injeção foi de 10 µL.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O efeito da vazão de alimentação do substrato na conversão do óleo em éster foi investigado para diferentes vazões, que corresponderam a tempos espaciais entre 10 a 16 h, no reator de leito fixo em duplo estágio (Figura 2). Nas condições testadas verifica-se que para um tempo espacial inicial de 10 h, foram obtidos valores médios de rendimento de $77,8 \pm 1,3\%$ e produtividade de $49,1 \pm 1,8$ g_{éster}/g_{meio}/h. Os valores de rendimento aumentaram gradativamente com a redução do fluxo de alimentação, alcançando valores adequados de concentração de ésteres para uso como combustível ($\approx 96\%$), que correspondeu a um acréscimo de 22% em relação ao valor inicial. O melhor desempenho do sistema foi constatado para tempo espacial de 16 h (vazão volumétrica = 1,1 mL/h). Nessa condição $96,0 \pm 1,2\%$ dos ácidos graxos presentes no óleo de macaúba foram convertidos nos ésteres de etila correspondentes, alcançando uma produtividade média de $37,9 \pm 1,2$ mg_{éster}/g_{meio}/h. O valor médio de viscosidade cinemática obtido nessa condição foi de $5,85$ mm²/s. Considerando que no caso do biodiesel os parâmetros de qualidade estão associados aos teores de ésteres e valores de viscosidade, no experimento subsequente foi investigado o perfil de desempenho do sistema reacional operando num tempo espacial de 16 h mantendo fixas as demais variáveis, por um período de 30 dias, conforme ilustrado nas Figuras 3 (a,b).

A observação da Figura 3a indica que no primeiro estágio o sistema operou com oscilações nas concentrações de ésteres de etila, alcançando valor médio de 47,2 g/g (%) correspondendo a rendimentos de transesterificação da ordem de 77,1%. Por outro lado, a operação do estágio II foi mais estável (Figura 3b), não sendo detectada nenhuma evidência de problemas de perda de desempenho do reator em função da atividade catalítica do leito por 25 dias, mantendo o rendimento médio em ésteres de 96,3%. Além disso, os valores médios de viscosidade de $5,8 \pm 0,2$ mm².s⁻¹, atendem os critérios vigentes, que estabelece viscosidade cinemática do B100 na faixa entre 3,0 - 6,0 mm².s⁻¹.

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO



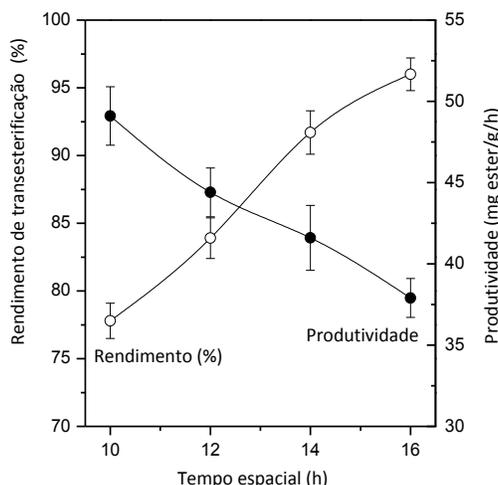


Figura 2 - Influência do tempo espacial no rendimento (○) e produtividade (●) da transesterificação contínua do óleo de macaúba conduzida em reator de leito fixo duplo estágio acoplado a uma coluna extratora de glicerol.

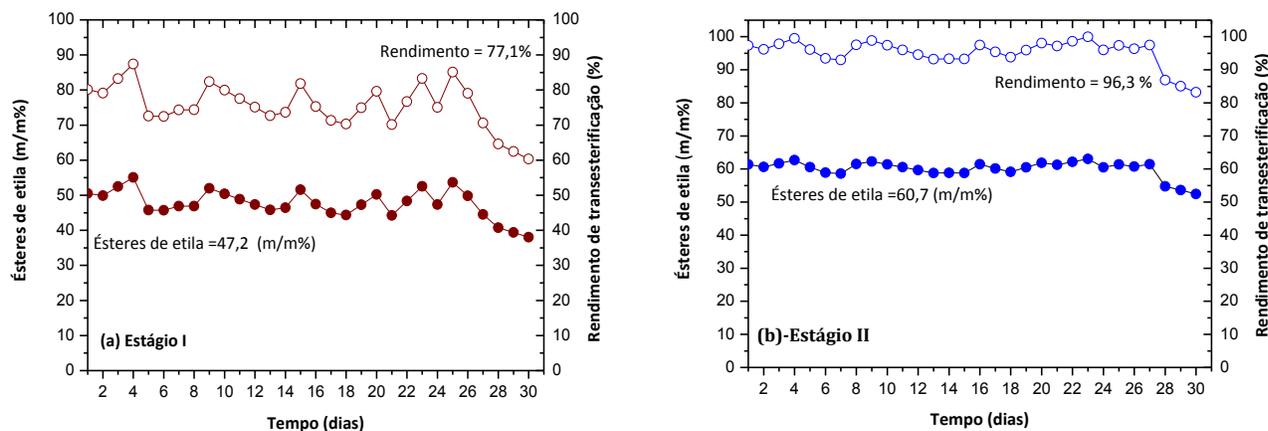


Figura 3- Concentração total de ésteres de etila e do rendimento de transesterificação no processo conduzido em reator de leito fixo em dois estágios: (a) estágio I, (b) estágio II.

A Tabela 1 sumariza o desempenho de cada estágio na transesterificação contínua do óleo de macaúba. É importante destacar que o tempo de meia-vida estimado para lipase imobilizada no primeiro estágio da ordem de 704 h foi 46% menor do que o tempo de meia-vida calculado no segundo estágio ($t_{1/2}=1512$ h). Desta forma, verifica-se que a estratégia de utilizar reator em duplo estágio incorporando coluna extratora de glicerol mostrou-se satisfatória, uma vez que a Lewatit é um composto hidrofílico, suscetível a adsorção de glicerol. Logo, a coluna extratora minimizou a limitação difusional e a inibição da enzima no segundo reator de PBR, proporcionando incrementos na formação de ésteres de etila em relação ao primeiro estágio e maior estabilidade operacional.

Tabela 1 – Quadro comparativo do desempenho do reator de leito fixo em duplo estágio na transesterificação do óleo de macaúba mediada pela lipase *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-PVA

Parâmetro	Estágio I	Estágio II
Tempo espacial (h)	8	16
Concentração em ésteres (m/m%)	47,6 ± 4,0	60,7±1,2
Produtividade (mg éster/g meio/h)	59,5 ± 0,5	37,9 ± 2,4
Rendimento da transesterificação (%)	75,1 ± 6,5	96,3 ±2,1
Constante de desativação (k _d x 10 ⁻³) h ⁻¹	0,984	0,458
Tempo de meia-vida (h)	704	1512

A Figura 4 apresenta o perfil da concentração de ésteres (CE%), monoacilgliceróis (MAG) e diacilgliceróis (DAG) no produto obtido a partir da transesterificação contínua do óleo de macaúba em duplo estágio.

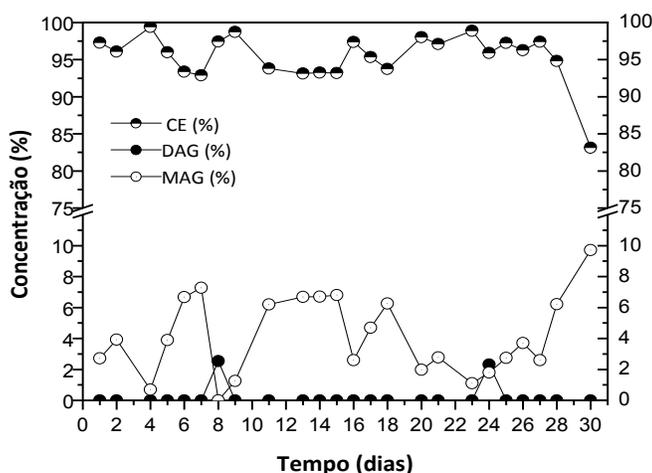


Figura 4 - Relação entre concentração de ésteres de etila (CE%), monoacilgliceróis (MAG %) e diacilgliceróis (DAG%) quantificados nas amostras obtidas em fluxo contínuo, na saída do segundo estágio.

Verifica-se que o produto purificado era praticamente isento de diacilgliceróis muito embora os teores de monoacilgliceróis residuais na faixa entre 0,2 a 6,2 m/m%, com valores médios (3,7 m/m%) ainda apresentassem valores superiores aos requeridos pela resolução ANP n°14/2012. Tais valores podem ser associados, a saturação da coluna extratora de glicerol que era trocada a cada 7 dias de operação, nota-se que uma grande oscilação dos valores residuais de MAG ocorre no intervalo mencionado. Desta forma, um refinamento do processo ainda é necessário, como por exemplo, promover um ajuste das condições operacionais da coluna empacotada com resina Lewatit® 202 visando diminuir os teores de glicerol no fluxo de alimentação do segundo estágio.

4. CONCLUSÃO

É possível operar um sistema contínuo para obtenção de biodiesel por via enzimática empregando uma configuração de reator de leito fixo em duplo estágio com substratos contendo óleo de macaúba e etanol na ausência de solventes. A lipase de *B. cepacia* imobilizada em SiO₂-PVA foi estável quanto a suas características morfológicas e catalíticas apresentando tempo de meia-vida médio da ordem de 1512 h. O funcionamento do sistema foi comprovado quantitativamente para tempos espaciais no sistema iguais ou superiores a 16 h, resultando em produtividades da ordem de 36,7±2,4 mg_{éster}/g_{meio}/h, com perdas mínimas de matéria-prima (rendimento de transesterificação= 96,3 ± 2,1 %). De uma forma geral, as propriedades das amostras atendem os limites exigidos pelas normas brasileiras (Regulamento Técnico ANP - Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis - nº4/2012), para utilização do produto obtido como combustível, com exceção da concentração de monoacilglicerol (MAG).

5. REFERÊNCIAS

- BRUNSWING, C., MOUSSAVOU, W., BLIN, J. Use of bioethanol for biodiesel production. *Prog. Energy Combust. Sci.*, v. 38, p. 283-301, 2012.
- CHRISTOPHER, L. P.; KUMAR, H.; ZAMBARE, V. P. Enzymatic biodiesel: Challenges and opportunities. *Appl. Energy*, v.119, p. 497-520, 2014.
- CHISTI, Y. Bioreactor design. In: Ratledge C, Kristiansen B. *Basic Biotechnology*, 3 ed. Cambridge University Press, Cambridge, 2006, p.181-200.
- DA RÓS, P. C. M.; SILVA, G. A. M.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C.; DE CASTRO, H. F. Evaluation of catalytic properties of *Burkholderia cepacia* lipase immobilized on non-commercial matrices to be used biodiesel synthesis from different feedstocks. *Bioresource Technol*, v.101, p.5508-5516, 2010.
- DORS, G.; FREITAS, L.; MENDES, A. A.; FURIGO, A.; DE CASTRO, H. F. Transesterification of palm oil catalyzed by *Pseudomonas fluorescens* lipase in a packed-bed reactor. *Energy Fuels* v. 26, p. 5977-5982, 2012.
- FIDALGO, W. R. R.; TEIXEIRA, L. F.; SANTOS, J. C.; DE CASTRO, H. F. Estabelecimento das condições operacionais para a síntese de biodiesel catalisada por Novozym® 435 em reator de leito fluidizado. In: Anais do XX Congresso Brasileiro de Engenharia Química - COBEQ 2014 [Blucher Chemical Engineering Proceedings, v.1, n.2, p.2173-2180]. São Paulo: Blucher, 2015. ISSN 2359-1757, DOI 10.5151/chemeng-cobeq2014-1551-18707-155999.
- HAMA, S.; TAMALAMPUDI, S.; YOSHIDA, A.; TAMADANI, N.; KURATANI, N.; NODA, H.; FUKUDA, H.; KONDO, A. Enzymatic packed-bed reactor integrated with glycerol separating system for solvent-free production of biodiesel fuel. *Biochem. Eng. J.*, v. 55, p. 66–71, 2011.
- LEVENSPIEL, O. Engenharia das Reações Químicas. São Paulo: Edgard Blucher, 2000. Cap. 5, p. 74-98.



XXI Congresso Brasileiro
de Engenharia Química

Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro



XVI Encontro Brasileiro sobre o
Ensino de Engenharia Química
Fortaleza/CE
25 a 29 de setembro

- NOBRE, D. A. C.; TROGELLO, E.; BORGUETTI, R. A.; DAVID, A. M. S. S. Macaúba: palmeira de extração sustentável para biocombustível. *Colloquium Agrariae*, v. 10, n. 2, p. 92-105, 2014.
- POPPE, J. K.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; RODRIGUES, R. C.; AYUB, M. A. Z. Enzymatic reactors for biodiesel synthesis: Present status and future prospects. *Biotechnol. Advances*, v.33, p. 2011-235, 2015.
- SILVA, W. C.; TEIXEIRA, L. F.; CARVALHO, A. K.F.; MENDES, A. A. DE CASTRO, H. F. Influence of feedstock source on the biocatalyst stability and reactor performance in continuous biodiesel production. *J. Ind. Eng. Chem.*, v. 20, p. 881-886, 2014.
- SIMÕES, A. S.; RAMOS, L.; FREITAS, L. T.; SANTOS, J. C.; ZANIM, G. M.; DE CASTRO, H. F. Performance of an enzymatic packed bed reactor running on babassu oil to yield fatty ethyl esters (FAEE) in a solvent-free system. *Biofuel Res. J.*, v. 2, p.242-247, 2015.
- URIOSTE, D.; CASTRO, M. B. A.; BIAGGIO, F. C.; DE CASTRO, H. F. Síntese de padrões cromatográficos e estabelecimento de método para dosagem da composição de ésteres de ácidos graxos presentes no biodiesel a partir do óleo de babaçu. *Quim. Nova*, v. 31, p. 407-412, 2008.
- XU. Y.; NORDBLAD. M.; WOODLEY. J. M. A two-stage enzymatic ethanol-based biodiesel production in a packed bed reactor. *J. Biotechnol.*, v. 162, p. 407-414, 2012.
- ZHAO, Z.; QI, F.; YUAN. C.; DU, W., LIU, D. Lipase-catalyzed process for biodiesel production: Enzyme immobilization, process simulation and optimization. *Renew Sust. Energ. Rev.*, v. 44, p. 182-197, 2015.

PROMOÇÃO

REALIZAÇÃO

ORGANIZAÇÃO

