

PRODUÇÃO DE ÉSTERES ETÍLICOS DERIVADOS DE ÁCIDO GRAXO VEGETAL EM BANHO DE ULTRASSOM EMPREGANDO COMO CATALISADOR LIPASE *Candida antarctica* B (CAL-B) IMOBILIZADA EM POLIURETANO.

R. P. SCHERER¹; E. MORESCO¹; C. M. TRENTIN²; N. L. D. NYARI¹; D. de OLIVEIRA²; J. V. de OLIVEIRA².

1-Departamento de Engenharia de Alimentos, URI – Campus de Erechim,
CEP: 99700-000, Erechim, RS, Brasil.

2-Departamento de Engenharia de Alimentos UFSC, CEP:88040-900, Florianópolis, SC, Brasil.
rquimico@gmail.com

RESUMO – O presente trabalho visa na produção enzimática de ésteres etílicos em banho de ultrassom em modos batelada e contínuo empregando a lipase Cal-B imobilizada em poliuretano e ácido graxo vegetal de soja. Os experimentos foram realizados em tempos reacionais de 5 a 360 minutos, razão molar (ácido graxo/ etanol) 1:6, 65 °C, 10% (m/m) de enzima imobilizada CALB, potências de 0 e 132 Watts, para os modos batelada e contínuo. Para modo contínuo usou-se vazão de alimentação de 2,5 mL/min. Verificou-se que a potência do ultrassom no modo batelada apresentou influência positiva na conversão em ésteres etílicos com conversões em torno de 83% quando comparado ao seu não uso 56% no mesmo tempo reacional. Entretanto o modo contínuo demonstrou-se menos mais eficaz com conversões na faixa de 45% em ésteres, em quase todo o processo reacional. Este resultado deve-se a possível formação de glicerol dentro do reator, aderindo sobre o suporte enzimático e diminuindo a atividade catalítica da enzima.

1. INTRODUÇÃO

A produção de biodiesel apresenta-se hoje como uma solução ambientalmente correta e significativa na geração de energia limpa. A transesterificação de fontes oleaginosas, conduz à diminuição da viscosidade do óleo vegetal melhorando assim o desempenho do mesmo em motores movidos a diesel. Atualmente, o biodiesel é obtido através de reações de transesterificação entre um óleo vegetal e um álcool de cadeia curta na presença de catalisador. (Demirbas, 2007).

A síntese de biodiesel com base em fontes vegetais não comestíveis e óleos residuais têm sido desenvolvidos, entretanto a grande quantidade de ácidos graxos livres e umidade excessiva presentes nestas fontes requer o uso de um processamento adicional, aumentando o tempo reacional e consumindo muita energia. O emprego de processos e técnicas com o objetivo de fazer a síntese de biocombustíveis ser economicamente viável ganha espaço, e uma destas abordagens baseia-se no uso de reatores sonoquímicos (Stavarache *et al.*, 2005).

O processo de produção enzimática de biodiesel em ultrassom vem como alternativa ao processo convencional empregando-se agitação mecânica, uma vez que as cavitações (formação, aumento e implosão de bolhas no meio reacional) geradas pelo ultrassom, aumentam a miscibilidade entre os reagentes, fornecem energia necessária para a reação, reduzem o tempo de reação e a quantidade de reagentes empregadas no processo, além disso, aumentam o rendimento e a seletividade da reação (Yu *et al.*, 2010).

Segundo Veljkovic *et. al.*, (2012) poucos trabalhos são encontrados na literatura acerca da influencia do ultrassom nas reações enzimáticas para produção de biodiesel. Trabalhos utilizando Novozym 435 foram testados em estudos com ultrassom e alcoóis para reação de transesterificação de óleo de soja e resíduos de óleos com índice de acidez elevados (Yu et al., 2010; Lin et al., 1995; Sinisterra, 1992) relatando que a atividade da enzima nas reações de transesterificação é aumentada pela intensidade das ondas irradiadas pelo ultrassom.

Existem dois processos básicos para síntese de biodiesel, batelada e contínuo, que podem ser realizados a temperatura ambiente ou mais elevadas, a pressão atmosférica, na presença ou ausência de catalisadores adequados. O processo contínuo proporciona um menor custo de produção, a qualidade do produto é uniforme, facilita o controle do processo diminuindo o volume do reator, reduzindo o tempo de retenção necessária para atingir conversões desejadas. (Veljkovic *et.al.* 2012).

Desta forma, o presente estudo é uma sequência do trabalho desenvolvido pelo grupo de pesquisa e descrito por Trentin et.al (2014), empregando a lipase comercial Novozym 435. Assim este agora visa o estudo da produção de ésteres etílicos em ultrassom utilizando como substrato um ácido graxo vegetal proveniente de óleo de soja e álcool etílico em modos de processo batelada e contínuo, empregando como catalisador a lipase *Candida antarctica* tipo B (Cal-B) imobilizada em espuma de poliuretano.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Materiais

Nas reações de transesterificação utilizou-se como substrato, ácido graxo vegetal de soja obtido da SGS Agricultura e Industria LTDA de Ponta Grossa – PR, com índice de acidez de 199,8 mgKOH/g e composição química: (10,9% ácido palmítico, 3,5% ácido esteárico, 26,1% ácido oleico, 52,7% ácido linoléico e 5,1% ácido linolênico) , álcool etílico (Merck, 99,9 % de pureza) e a enzima *Candida antarctica* B (Cal-B), imobilizada em espuma de poliuretano.

Para a determinação da atividade enzimática os seguintes reagentes/solventes foram utilizados: acetona P.A ACS (Vetec, 99,5%), álcool etílico (Merck, 99,9 % de pureza). Ácido Óleico (Sigma Aldrich, 99% CG) e álcool etílico (Merck, P.A). Os experimentos para produção enzimática de biodiesel em modos batelada e contínuo foram realizados em um banho de ultrassom (Unique ultrasonic Cleaner, modelo: USC-1800A, frequência US: 40KHz, potência US: 132W).

2.2. Métodos

Procedimento experimental: Com base em trabalhos anteriores realizados pelo nosso grupo de pesquisa (Trentin *et.al.* 2014, Scherer *et.al.* 2013a), o estudo comparativo deste trabalho entre os processos em modos batelada e contínuo, foram realizados utilizando razão molar (ácido graxo/ etanol) 1:6, 10% (m/m) de enzima CALB, em relação à massa total de substratos (ácido graxo + etanol), temperatura 65°C, potências ultrassônicas (0 Watts e 132 Watts), equivalente a 0% e 100% da potência do equipamento. Para o modo batelada os experimentos foram realizados em balão de 50 mL conforme Figura 1(a).

No modo contínuo, além destas condições experimentais apresentadas anteriormente o sistema experimental utilizado consistiu num reator de polietileno de alta densidade (com 1/16 mm de diâmetro externo, espessura de 1,1 mm, diâmetro interno de 4,15 mm, comprimento de 2 metros e volume total de 27 mL conforme apresentado na Figura 1(b) com vazão de alimentação de 2,5 mL/min da mistura reacional carga ácida/etanol, e o reator empacotado com aproximadamente 8 g de catalisador, sendo este a enzima *Candida antarctica* B (CALB) imobilizada em espuma de poliuretano. O tempo espacial da 1ª gota percorrido pela mistura reacional no reator ocorreu após 13 minutos de reação, sendo realizadas coletas de amostras para análise a cada 5,5 minutos conforme trabalhos anteriores (Scherer *et.al.* 2013).

Figura 1 - Reação de transesterificação em modos batelada (a) e contínuo (b).



(a)



(b)

Neste estudo como a reação de esterificação produz além dos ésteres também água, as amostras coletadas foram analisadas através do método de titulação verificando a conversão dos ácidos graxos produzidos (Trentin *et. al.* 2014). Este é um método eficiente que substitui, neste caso, a utilização da cromatografia gasosa na quantificação dos ácidos graxos, sem a necessidade de secagem para a completa remoção da água presente na amostra e não necessitando também da evaporação do excesso de álcool remanescente no meio.

A técnica da titulação foi realizada de acordo com a IUPAC 2.201 o AOCS Cd 3d - 63 e consiste na determinação da acidez do meio reacional devido a presença dos ácidos graxos livres.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Produção de biodiesel: modo batelada versus modo contínuo.

Nas reações de transesterificação existem dois procedimentos básicos para a síntese de biodiesel, modo batelada e contínuo, que podem ser realizados a temperatura ambiente ou mais elevadas, à pressão atmosférica ou elevada e na presença ou ausência de catalisadores adequados.

No método batelada, as fases de reação e da separação são geralmente efetuadas no mesmo tanque, de modo que requer um maior volume do reator e tempos de reação e separação mais longos (Thanh *et al.*, 2010).

O processo contínuo proporciona um menor custo de produção, a qualidade do produto é uniforme, facilita o controle do processo e diminuindo o volume do reator, reduz-se o tempo de retenção necessário para atingir conversões desejadas (Veljkovic *et al.*, 2012).

A fim de realizarmos um comparativo entre os dois modos de produção de biodiesel, realizaram-se quatro testes conforme apresentados nas Figuras 2 e 3. Através dos mesmos, é possível verificar claramente que a potência ultrassônica apresenta influência na produção de ésteres etílicos para o modo de produção batelada. Já para o modo contínuo percebe-se que o ultrassom não demonstra influência sobre o processo apresentando conversões semelhantes.

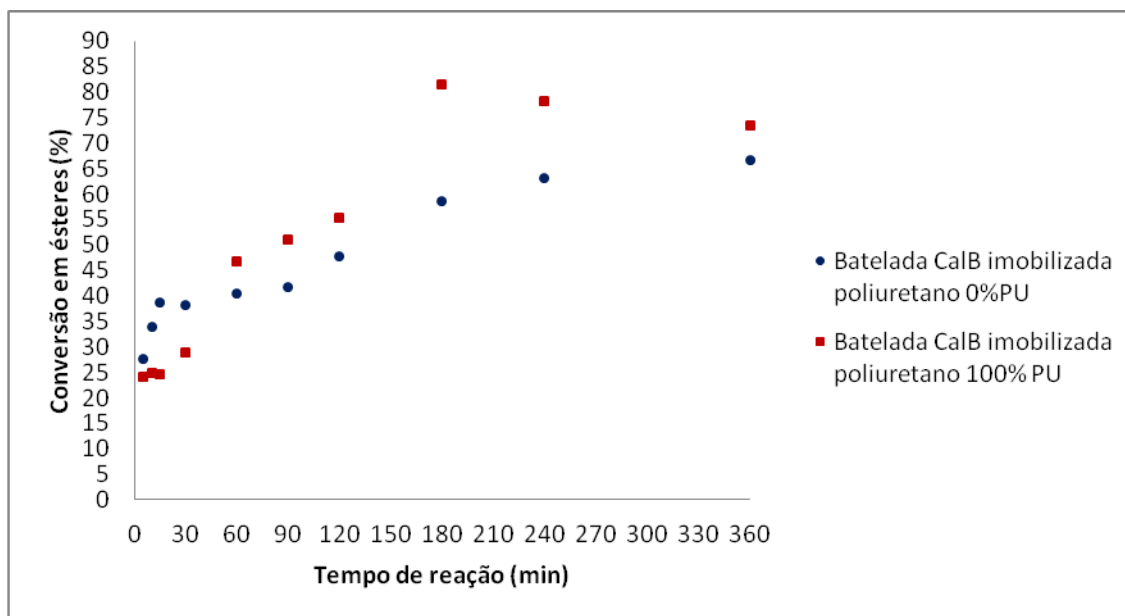


Figura 2 - Conversão em ésteres etílicos derivados de ácido graxo vegetal em modo batelada com potências ultrassônicas (PU) 0 Watts (0%) e 132 Watts (100%).

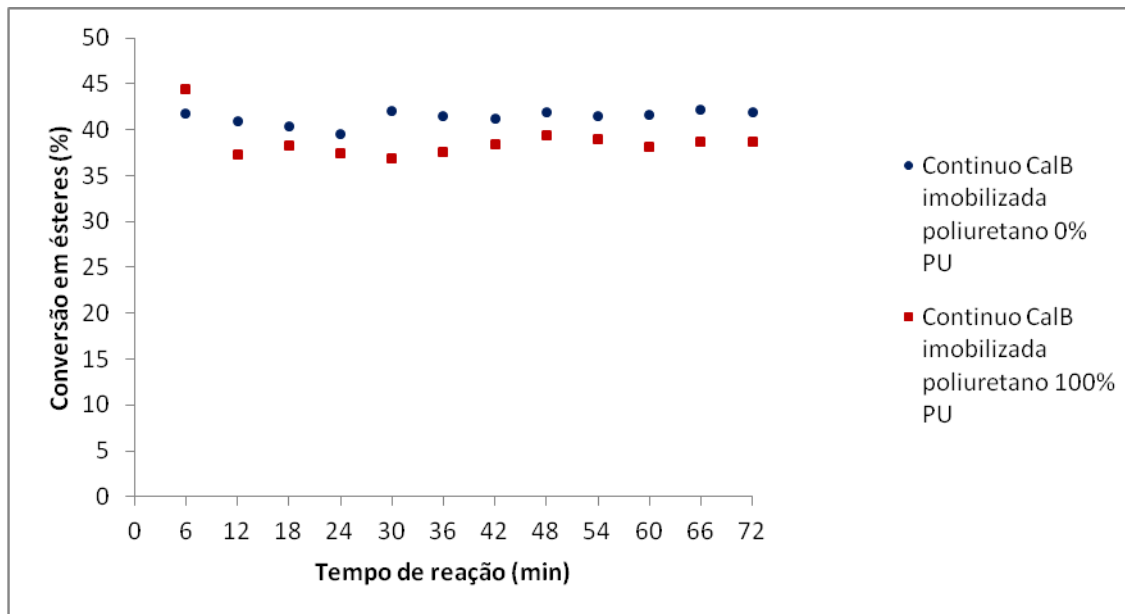


Figura 3 - Conversão em ésteres etílicos derivados de ácido graxo vegetal em modo contínuo com potências ultrassônicas (PU) 0 Watts (0%) e 132 Watts (100%).

Em relação às atividades enzimáticas, a atividade inicial da enzima CALB utilizada foi de 561,40 U/g e as atividades após reações para o modo batelada a 0 e 132 Watts foi respectivamente de 479,18 U/g e 367,23 U/g, já para o modo contínuo de produção de ésteres etílicos a atividade final após reações de transesterificação foi de 393,4 U/g e 274,71U/g para as potências de 0 e 132 Watts.

A partir destes resultados percebe-se que ocorreu uma redução da atividade da enzima em ambos os processos utilizados, porém para o modo contínuo essa redução foi maior ao utilizarmos a potência do ultrassom.

Ao realizarmos uma comparação entre os dois modos (batelada e contínuo) verifica-se por meio das Figuras 3 e 4 que o modo batelada apresenta-se mais eficaz que o modo contínuo sendo que para a produção de biodiesel em modo batelada com o uso de potência ultrassônica (132 Watts) obtém-se conversões em ésteres de 83% em tempo reacional de 180 minutos, neste mesmo tempo sem o uso do ultrassom (0 Watts) obteve-se conversão em ésteres bem inferior 56%. Em modo contínuo percebe-se que tanto com o uso de potências de 132 e 0 Watts as conversões durante todo o processo foram na faixa de 45% em ésteres. Este resultado provavelmente deve-se ao processo de redução da atividade catalítica da enzima, ocasionada pela incrustação do glicerol formado durante a reação, na superfície do suporte da lipase levando assim o impedimento ao acesso do substrato ao sítio ativo da enzima diminuindo sua atividade catalítica e consequentemente reduzindo o rendimento final em ésteres.

4. CONCLUSÕES

Ao final deste trabalho percebe-se que a potência do ultrassom exerce influência sobre a conversão em ésteres etílicos quando empregada em modo batelada mostrando assim como uma perspectiva promissora para o uso desta técnica.

Comparando a produção de biodiesel em modo batelada e em reator contínuo, pode-se concluir que o método batelada é efetivamente melhor, com conversões em ésteres na ordem de 83% em período de tempo de 180 minutos. No modo contínuo esses resultados foram bem inferiores (45%), devido à diminuição da atividade catalítica da enzima ocasionada pela possível formação de glicerol dentro do reator, aderindo este sobre o suporte enzimático.

5. REFERÊNCIAS

- DEMIRBAS, A. Importance of biodiesel as transportation fuel. *Energy Policy*. v. 35, 4661-4670, 2007.
- LIN, G.; LIU, H. Ultrasound promoted lipase catalyzed reactions. *Tetrahedron Lett*, 36(34) p. 6067-8, 1995.
- SINISTERRA, J. V. Application of ultrasound to biotechnology: an overview. *Ultrasonics*, v. 30, p. 180-184, 1992.
- SCHERER, R.P.; TRENTIN, C.M.; ZANATTA, J.; LEVANDOSKI, K.; DALLA ROSA, C.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J.V. Emprego de tecnologia ultrassônica para produção de biodiesel enzimático. *VIII Simpósio de Alimentos*, v. 8, 1-6, Passo Fundo-RS, Outubro, 2013.
- SCHERER, R.P.; TRENTIN, C.M.; ZANATTA, J.; LEVANDOSKI, K.; DALLA ROSA, C.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J.V. Estudo da produção de biodiesel via rota enzimática empregando ácido graxo vegetal em sistema de ultrassom livre de solvente. *17º Congresso Brasileiro de Catálise, VII Congresso de Catálise do Mercosul*, Gramado-RS, Setembro, 2013
- STAVARACHE, C.; VINATORU, M.; NISHIMURA, R.; MAEDA, Y. Fatty acids methyl esters from vegetable oil by means of ultrasonic energy. *Ultras. Sonochem.* v. 12, 367-372, 2005.
- THANH, L.T.; OKITSU, K.; SADANAGA, Y.; TAKENAKA, N.; MAEDA, Y.E.; BANDOW, H. A two-step continuous ultrasound assisted production of biodiesel fuel from waste cooking oils: A practical and economical approach to produce high quality biodiesel fuel. *Bioresour. Technol.* v. 101, 5394-5401, 2010.
- TRENTIN, C.M.; SCHERER, R.P.; DALLA ROSA, C.; TREICHEL, H.; OLIVEIRA, D.; OLIVEIRA, J.V.; Continuous lipase-catalyzed esterification of soybean fatty acids under ultrasound irradiation. *Bioprocess Biosyst Eng*, v. 37, 841-847, 2014.

YU, D.; TIAN, L.; WU, H.; WANG, S.; WANG, Y.; MA, D.; FANG, X. Ultrasonic irradiation with vibration for biodiesel production from soybean oil by Novozym 435. *Process Biochemistry*, v. 45, 519–525, 2010.

VELJKOVIĆ, V.B.; AVRAMOVIĆ, J.M.; STAMENKOVIĆ, O.S. Biodiesel production by ultrasound-assisted transesterification: State of the art and the perspectives. *Renew. Sustain. Energy Rev.* v. 16, 1193–1209, 2012.