

# INFLUÊNCIA DA RELAÇÃO GEOMÉTRICA DO REATOR DE LEITO FIXO NA PRODUÇÃO CONTÍNUA DE BIODIESEL ENZIMÁTICO EM MEIO ISENTO DE SOLVENTE

L. RAMOS<sup>1</sup>, L. F. TEIXEIRA<sup>1</sup>, P. C. OLIVEIRA<sup>1</sup> e H. F. DE CASTRO<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Escola de Engenharia de Lorena-USP(EEL-USP), Departamento de Engenharia Química  
E-mail para contato: lucas.eng12@usp.br

**RESUMO** – O presente trabalho teve como objetivo avaliar a influência da razão entre a altura ( $l$ ) e o diâmetro ( $d$ ) do reator de leito fixo na etanólise do óleo de macaúba catalisada pela lipase de *Burkholderia cepacia* imobilizada em sílica-PVA. As reações foram operadas continuamente por 20 dias, utilizando óleo: etanol numa razão molar de 1:12 na ausência de solvente e tempo espacial de 14h. Dois reatores foram testados: Reator I ( $l = 55$  mm e  $d = 15$  mm) e Reator II ( $l = 210$  mm e  $d = 14$  mm), apresentando relação geométrica  $l/d$  de 3,7 e 15, respectivamente. O melhor desempenho foi obtido pelo sistema experimental que empregou o reator II, atingindo  $89,7 \pm 4,8\%$  de rendimento e  $40,4 \pm 2,2$  mg/g.h de produtividade, enquanto que o sistema operacional que utilizou o reator I forneceu rendimento de  $83,9 \pm 4,4\%$  e 38 mg/g.h de produtividade. Esses dados comprovam a influência das dimensões da coluna empacotada na produção de biodiesel, observando-se que, nas condições testadas, a maior razão não interferiu na transferência de massa do fluido através do reator de coluna.

## 1. INTRODUÇÃO

A síntese de biodiesel a partir da transesterificação enzimática de óleos vegetais oferece consideráveis vantagens, 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 (De Castro *et al.*, 2010; 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 a elevada toxicidade do metanol (Brunschwing *et al.*, 2012).

Dependendo do bioprocesso, enzimas imobilizadas são preferidas às enzimas livres, devido a estabilidade da enzima ligada ao suporte, o que facilita os processos de recuperação e purificação do produto, pois reduz a contaminação do produto pela enzima, permite o uso repetido do biocatalisador, possibilita o desenvolvimento de processos contínuos e portanto, mais econômicos e permite a interrupção rápida da reação a partir da fácil remoção da enzima do meio reacional (Christopher *et al.*, 2014).

A seleção do tipo de biorreator a ser utilizado em processos com enzimas imobilizadas depende da análise criteriosa de uma série de fatores, tais como: (a) a forma da enzima imobilizada – partículas, membranas, fibras; (b) a natureza do substrato – solução, sólidos em suspensão, coloidal; (c) requisitos operacionais da reação – controle de pH, temperatura; (d) cinética da reação – inibição por substrato, produto, ou ambos; (e) a superfície catalítica por unidade de volume de reator; (f) características de transferência de massa externa e interna; (g) facilidade de substituição do catalisador e sua regeneração; (h) facilidade de construção do biorreator; e (i) custo do biorreator (Zanin, Moraes, 2004).

Os reatores de tanque agitado (STR) e de leito fixo (PBR) são as configurações de reatores mais comumente empregadas em processos multifásicos, como por exemplo, na síntese de biodiesel empregando lipases imobilizadas. Em larga escala a produção é normalmente realizada em STR, devido à sua facilidade de construção e operação (Balcão *et al.*, 1996). Esta configuração apresenta, entretanto, algumas desvantagens, uma vez que os sistemas imobilizados não podem ser carregados em grande quantidade e são susceptíveis à quebra devido às altas tensões de cisalhamento impostas pela agitação mecânica, reduzindo a possibilidade de reutilização da enzima imobilizada e consequentemente a viabilidade econômica do processo (Zanin, Moraes, 2004). Assim, reatores de leito fixo tornam-se mais atrativos, devido a sua alta eficiência, baixo custo, facilidade de construção, operação, ampliação de escala, controle automático e menor grau de cisalhamento (Balcão *et al.*, 1996; Wang *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014). No entanto, essa configuração, pode ser mais influenciada por limitações de transferência de massa e calor, refletida, por exemplo, pela relação geométrica do reator (Xu *et al.*, 2000).

Nesse contexto, o presente trabalho teve como objetivo avaliar o desempenho de um sistema de produção contínua de biodiesel enzimático a partir do óleo de macaúba, empregando reator de leito fixo com diferentes relações geométricas ( $l/d$ ), visando aumentar a conversão em ésteres de etila.

## **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 de sílica-PVA preparado pela técnica sol-gel (Da Rós *et al.*, 2010), resultando em derivados imobilizados com atividade hidrolítica média de  $20563 \pm 52$  U/g. Como materiais de partida foram utilizados: etanol anidro (99,5%, Cromoline) e óleo da amêndoa de macaúba adquirido da Paradigma Óleos Ltda (Carmo da Parnaíba - MG), apresentando composição aproximada em ácidos graxos de: 6,2% Octanóico, 5,3% Decanóico, 43,6% Láurico, 8,5% Mirístico, 5,3% Palmítico, 2,4% Esteárico, 25,5% Oléico e 3,3% Linoléico e massa molecular de  $716,47 \text{ g.mol}^{-1}$ .

### **2.2. Síntese de biodiesel em reator de leito fixo operado em modo contínuo**

As sínteses de biodiesel a partir da etanolise do óleo de macaúba foram realizadas em colunas de vidro encamisadas com capacidade de 10 mL (diâmetro interno = 15 mm e comprimento = 55 mm) e 32 mL (diâmetro interno = 14 mm e comprimento = 210 mm),

designadas como Reator I e Reator II, respectivamente. A mistura reacional contendo óleo da amêndoa de macaúba e etanol numa razão molar de 1:12 (óleo: etanol) foi mantida em um frasco de alimentação, sob agitação magnética (150 rpm) e temperatura de 50°C. O substrato foi bombeado através do reator de leito fixo com o auxílio de uma bomba peristáltica (SJ-1211-Atto) na vazão correspondendo a um tempo espacial de 14 horas. Para evitar perda de etanol no sistema, foi acoplado um condensador de refluxo ao frasco de alimentação. Em cada experimento a coluna foi empacotada com suspensão do derivado imobilizado no meio reacional e em seguida estabilizada pela circulação do substrato através da coluna por um período equivalente a 3 tempos espaciais. Amostras diárias foram recolhidas e estocadas a -2°C, para realização de análises cromatográficas, de viscosidade e densidade. Ao final dos experimentos a enzima foi recuperada e lavada com terc-butanol para a remoção de substrato e produtos eventualmente retidos nas partículas da matriz para realização da atividade hidrolítica. O esquema experimental está ilustrado na Figura 1.

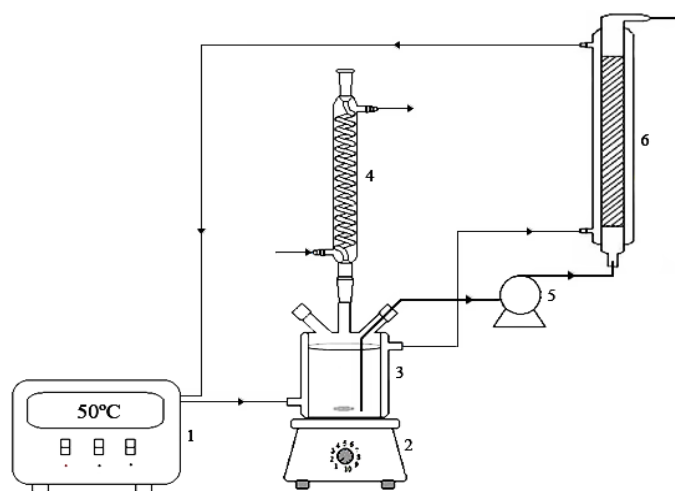


Figura 1 - Esquema experimental do reator de leito fixo. 1- Banho termostatzado; 2- Agitador magnético; 3- Tanque de alimentação; 4- Condensador de refluxo; 5- Bomba peristáltica; 6- Reator de leito fixo.

## 2.4. Métodos de Análises

Atividade hidrolítica: A atividade hidrolítica da lipase imobilizada foi determinada pelo método de hidrólise do azeite de oliva, conforme metodologia modificada por Soares *et al.* (1999). A constante de desativação térmica do biocatalisador ( $k_d$ ) e o tempo de meia-vida ( $t_{1/2}$ ) foram determinados por meio das Equações 1 e 2, respectivamente.

$$\frac{A}{A_0} = e^{-k_d \cdot t} \quad (1) \quad t_{1/2} = \frac{\ln 2}{k_d} \quad (2)$$

Em que  $A_0$  e  $A$  referem-se, respectivamente, às atividades hidrolíticas inicial e final do biocatalisador.

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 metodologia estabelecida por Urioste *et al.* (2008), empregando amostras previamente tratadas com Lewatit® GF202 para remoção do glicerol. 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.

Purificação das amostras de biodiesel: O volume das amostras foi medido e transferido para um funil de decantação, no qual foi adicionado o mesmo volume de água destilada. Efetuou-se uma agitação vigorosa e a mistura foi deixada em repouso por 24 h para a separação das fases. Esse procedimento foi realizado por três vezes consecutivas. A fase superior composta pelos ésteres de etila (biodiesel) foi submetida à evaporação em rota-evaporador e a fase inferior composta por glicerol e água de lavagem foi descartada.

Dosagem de monoglicerídeos (MAG) e diglicerídeos (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.

Determinação da viscosidade e densidade do biodiesel: Os valores da viscosidade absoluta dos produtos purificados foram medidos em viscosímetro Brookfield Modelo LVDVII (Brookfield Viscometers Ltd, Inglaterra) empregando o cone CP 42. As medidas foram realizadas a 40 °C empregando 1,0 mL de fluido. A densidade dos ésteres de etila foi determinada em densímetro digital Modelo DMA 35N EX (Anton Paar). As medidas foram realizadas a 15°C utilizando 5 mL de amostra.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Estudos de reações catalisadas por lipases imobilizadas em reator de leito fixo têm mostrado que a taxa de reação é afetada pela variação de fluxo linear do fluido. Assim, limitações de transferência de massa, seja entre os reagentes do meio reacional para o sítio ativo da lipase ou do transporte ineficiente do produto para a mistura, são fatores plausíveis de investigação nesta configuração de reator (Xu *et al.*, 2000). Trabalhos descritos na literatura indicam que colunas que apresentem maior relação altura/diâmetro ( $l/d$ ) sofrem menor limitação de transferência de massa (Damstrup *et al.*, 2007).

Nesse contexto, visando verificar a influência da relação geométrica ( $l/d$ ) da coluna de leito fixo na síntese de biodiesel contínua do óleo de macaúba empregando lipase *B. cepacia* imobilizada em sílica-PVA, foram efetuados testes em dois reatores apresentando as seguintes

dimensões: Reator I ( $l = 55\text{mm}$  e  $d = 15\text{ mm}$ ) e Reator II ( $l = 210\text{mm}$  e  $d = 14\text{ mm}$ ), expressando relação geométrica  $l/d$  de 3,7 e 15, respectivamente. Buscou-se manter um carregamento constante entre a massa de biocatalisador (g)/volume total do reator (mL), sendo constatado carregamento de 75% no Reator I e 82% no Reator II. O perfil de formação dos ésteres de etila em função do tempo de reação está ilustrado na Figura 2 (a, b).

Verifica-se que em ambos os testes, a formação dos ésteres de etila apresentou correlação com os principais ácidos graxos presentes na composição do óleo de macaúba, sendo evidenciado valores mais elevados do éster laurato de etila (C12). O valor médio obtido em concentração mássica de ésteres foi de  $54,8 \pm 3,3$  e  $56,6 \pm 3,0\text{ g/g\%}$ , respectivamente para o Reator I e II.

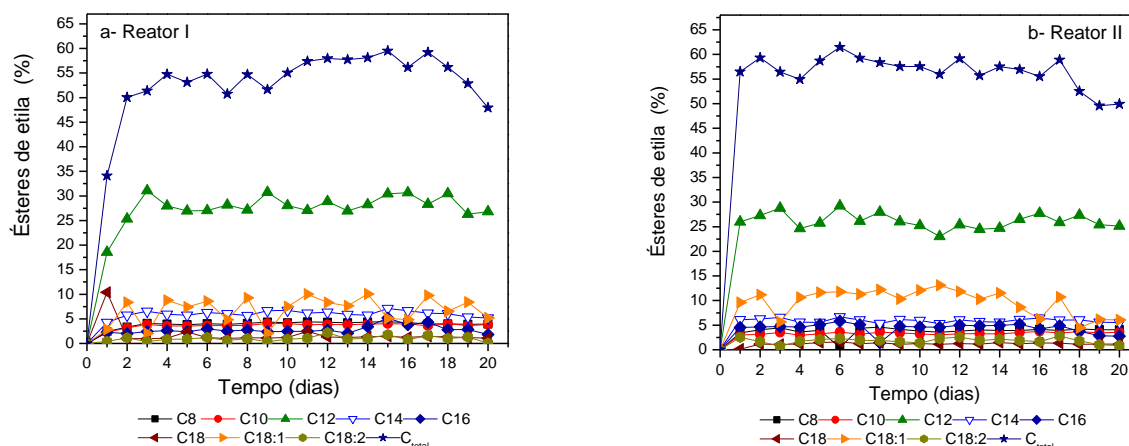


Figura 2 – Perfil de formação dos ésteres de etila na etanólise contínua do óleo de macaúba em reator de leito fixo, empregando diferentes relações geométricas ( $l/d$ ): a) Reator I e b) Reator II.

A Figura 3 ilustra que a alteração da relação geométrica ( $l/d$ ) nos reatores de leito fixo interferiu no rendimento de transesterificação que variou, após o alcance do estado estacionário, de 75,9 a 91,0% para o teste que empregou razão de 3,7 e de 89,1 a 94,0% para a razão de 15. Os sistemas contínuos foram operados por 20 dias, sendo o regime estacionário alcançado em 72 h (5 tempos espaciais) no sistema experimental que empregou o Reator I e em 48h (3 tempos espaciais) no Reator II, demonstrando melhor estabilidade operacional. Além disso, nessa condição, foi alcançada uma produtividade média de  $40,4 \pm 2,2\text{ mg}_{\text{éster}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{meio}} \cdot \text{h}^{-1}$ , superior a obtida pelo Reator I ( $37,7 \pm 4,2\text{ mg}_{\text{éster}} \cdot \text{g}^{-1}_{\text{meio}} \cdot \text{h}^{-1}$ ).

Destaca-se ainda que não foram detectados problemas de estabilidade operacional relacionados ao desempenho do reator, sendo obtido tempo de meia-vida satisfatório para os biocatalisadores utilizados em ambos os testes. A Tabela 1 resume o desempenho dos biorreatores na etanólise contínua do óleo de macaúba.

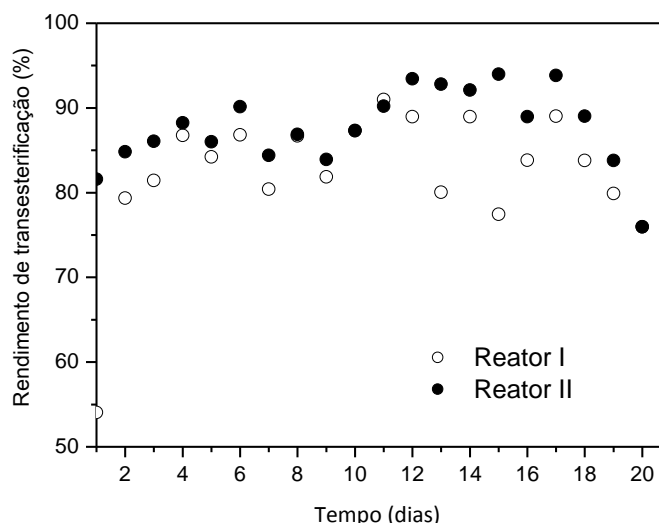


Figura 3 - Rendimento da produção de ésteres de etila em função do tempo reacional na etanólise contínua do óleo de macaúba realizada em reator de leito fixo.

Tabela 1 – Quadro comparativo do desempenho do reator de leito fixo na etanólise contínua do óleo de macaúba mediada pela lipase *B. cepacia* imobilizada em sílica-PVA

Parâmetros	Reator I ( $l/d = 3,7$ )	Reator II ( $l/d = 15,0$ )
Atividade inicial do biocatalisador ( $U \cdot g^{-1}$ )	$1655 \pm 52$	$2155 \pm 63$
Atividade residual do biocatalisador ( $U \cdot g^{-1}$ )	$613 \pm 39$	$856 \pm 25$
Constante de desativação ( $k_d, h^{-1}$ ) $\times 10^3$	1,7	1,9
Tempo de meia-vida (h)	402	358
Concentração de ésteres de etila ( $g \cdot g^{-1}$ )	$52,8 \pm 5,9$	$56,6 \pm 3,0$
Produtividade ( $mg \text{ éster} \cdot g_{\text{meio}}^{-1} \cdot h^{-1}$ )	$37,7 \pm 4,2$	$40,4 \pm 2,1$
Rendimento de transesterificação (%)	$83,9 \pm 4,4$	$89,7 \pm 4,8$
Viscosidade cinemática 40°C ( $mm^2/s$ )	$5,3 \pm 0,63$	$5,6 \pm 0,62$

De acordo com a Tabela 1, observa-se que o Reator II apresentou melhor desempenho, provavelmente porque os problemas de transferência de massa entre enzima e substrato foram minimizados pela relação geométrica ( $l/d = 15$ ) adequada. Com o intuito de verificar se o produto obtido atendia as especificações da ANP, foram efetuadas análises adicionais às amostras de biodiesel purificadas. A Figura 4 mostra o perfil da concentração de ésteres de etila, monoglicerídeos (MAG) e diglicerídeos (DAG) no produto purificado, obtido a partir da etanólise contínua do óleo de macaúba.

Embora promissores, os resultados mostram que a qualidade do produto final não atendeu a todos os parâmetros exigidos pelas normas competentes, visto que, o Regulamento Técnico da

ANP (nº 14/2012), especifica um valor mínimo de 96,5% em massa de ésteres e valores máximos de 0,8 e 0,2% em massa de MAG e DAG, respectivamente. Uma alternativa para elevar o rendimento do processo e reduzir os teores de MAG e DAG seria o emprego de um segundo reator em série (processo contínuo em duplo estágio), que proporcionaria um incremento na formação de ésteres de etila em relação ao primeiro estágio.

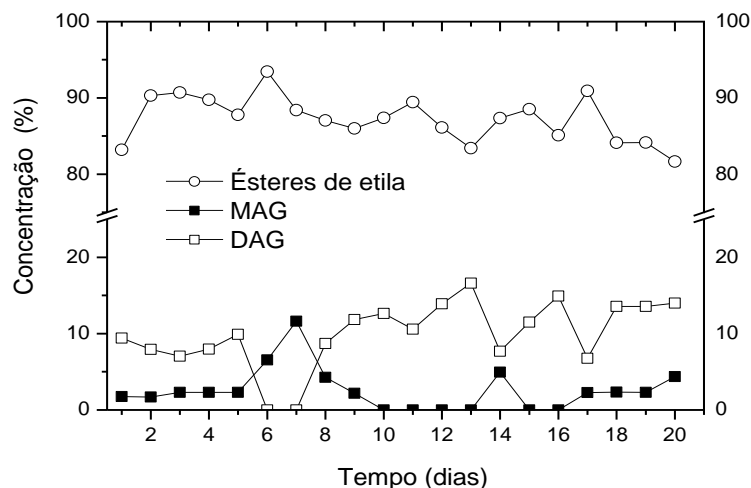


Figura 4 – Relação entre concentração de ésteres de etila, monoglicerídeos e diglicerídeos quantificados no produto purificado obtido em fluxo contínuo (Reator II).

## 4. CONCLUSÃO

Os resultados obtidos indicaram que o sistema experimental que empregou o Reator II (razão  $l/d = 15$ ), apresentou melhor desempenho na síntese de biodiesel a partir da etanolise contínua do óleo de macaúba. Esse fato pode ser comprovado pelas concentrações mais elevadas de ésteres de etila, da ordem de  $56,6 \pm 3,0$  g/g%, correspondendo a rendimentos médios de  $89,7 \pm 4,8\%$  e produtividade de  $40,4 \pm 2,2$  mg<sub>éster</sub>·g<sup>-1</sup>meio·h<sup>-1</sup>. A lipase de *B. cepacia* imobilizada em sílica-PVA demonstrou satisfatória estabilidade operacional, apresentando tempo de meia-vida de 402 h e a eficiência do sistema experimental foi comprovada pelo alcance do estado estacionário em apenas 3 tempos espaciais. Trabalhos futuros serão realizados com reatores em duplo estágio, visando adequar o produto às especificações da ANP e viabilizar a síntese enzimática de biodiesel a partir de óleo vegetal de composição predominantemente láurica, mediada pela lipase de *B. cepacia* imobilizada em sílica-PVA em meio isento de solvente operada em modo contínuo.

## 5. REFERÊNCIAS

BALCÃO, V. M.; PAIVA, A. L.; MALCATA, F. X. Bioreactors with immobilized lipases: State of the art. *Enzyme Microb. Technol.*, v. 18, p. 392-416, 1996.



- BRUNSCHWING, 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.
- DAMSTRUP, M.; KIIL, S.; JESE, A. D.; SPARSO, F. D.; XU, X. Process development of continuous glycerolysis in an immobilized enzyme-packed reactor for industrial monoacylglycerol production, *J. Agric. Food Chem.*, v.55, p. 7786-7792, 2007.
- DA RÓS, P. C. M.; SILVA, G. A. M.; MENDES, A. A.; SANTOS, J. C.; DE CASTRO, H. F. Evaluation of the catalytic properties of *Burkholderia cepacia* lipase immobilized on non-commercial matrices to be used in biodiesel synthesis from different feedstocks. *Bioresour. Technol.*, v. 101, p. 5508-5516, 2010.
- DE CASTRO, H. F.; MENDES, A. A.; FREITAS, L; SANTOS, J. C. Modificação enzimática de óleos e gorduras para a obtenção de biocombustíveis e produtos de interesse do setor alimentício. In: MARSAIOLI, A.J., PORTO, A.L.M. Biocatálise e Biotransformação: Fundamentos e Aplicação. Salto, Brasil: Schoba. v.1, p. 275-317, 2010.
- 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.
- SOARES, C. M. F.; CASTRO, H. F.; MORAES, F. F.; ZANIN, G. M. Characterization and utilization of *Candida rugosa* lipase immobilized on controlled pore silica. *Appl. Biochem. Biotechnol.*, v.77-9, p. 745-757, 1999.
- 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 X.; FOMUSO, L. B.; AKOH, C. C. Production of specific-structured triacylglycerols by lipase-catalyzed reactions: a review. *Eur. J. Lipid. Sci. Technol.*, v. 48, p. 287-303, 2000.
- WANG, X.; LIU, X.; ZHAO, C.; DING, Y; XU, P. Biodiesel production in packed-bed reactors using lipase-nanoparticle biocomposite. *Bioresour. Technol.*, v.102, p.6352-6355, 2011.
- ZANIN, G. M.; MORAES, F. F. Enzimas Imobilizadas. In SAID, S.; PIETRO, R. C. L. R. Enzimas como agentes biotecnológicos. Ribeirão Preto: Legis Summa, 2004. Cap. 4. p. 35-85.