

PRODUÇÃO ENZIMÁTICA DE BIODIESEL ETÍLICO EM REATOR DE LEITO FIXO E FLUXO CONTÍNUO UTILIZANDO CÉLULAS INTEGRAS DE *Mucor Circinelloides* IMOBILIZADAS EM ESPUMA DE POLIURETANO

A. L. L. RICO¹, H. F. DE CASTRO¹ e P. C. OLIVEIRA¹

¹ Escola de Engenharia de Lorena – USP, Departamento de Engenharia Química

RESUMO – O presente trabalho teve como objetivo avaliar os parâmetros de síntese (tempo espacial e razão molar) do biodiesel etílico de babaçu, produzido em reator de leito fixo e fluxo contínuo, utilizando células íntegras de *Mucor circinelloides* imobilizadas em espuma de poliuretano. Quatro razões molares (1:4, 1:6, 1:8 e 1:12) e três tempos espaciais (12h, 24h e 60h) foram testados. Amostras foram retiradas a cada 24h durante um período de 12 a 16 dias e submetidas à análise por cromatografia gasosa para determinação do perfil dos ésteres etílicos. Rendimentos da ordem de 64% foram obtidos na razão molar 1:6 e tempo espacial de 60h.

1. INTRODUÇÃO

A escassez das reservas de petróleo, associado ao crescente aumento do preço dos combustíveis fósseis e da poluição ambiental, torna urgente a procura por combustíveis de fontes renováveis que possam ser inseridos na matriz energética mundial. Dentro deste contexto, surge como uma opção tecnológica interessante o biodiesel, biocombustível com propriedades muito semelhantes as do óleo diesel e que além de ser renovável é biodegradável e possui baixa toxicidade (Nasir *et al.*, 2013).

Tradicionalmente produzido pela rota química com elevados rendimentos, o biodiesel tem sido amplamente pesquisado pela rota enzimática, que apresenta, como uma das principais vantagens, a eliminação de parte das etapas de separação do produto formado. Entretanto, baixa produtividade e alto custo de produção em consequência da necessidade de procedimentos complexos para a purificação das enzimas, tem tornado o processo inviável para a aplicação industrial. Dessa forma, a utilização de células íntegras com lipases intracelulares empregadas como biocatalisador em reatores contínuos que apresentam baixo custo e alta eficiência, são opções para otimização do processo de produção de biodiesel enzimático (Andrade *et al.*, 2012; Christopher, Kumar e Zambare, 2014).

A partir do panorama apresentado, o presente trabalho teve como objetivo estudar dois parâmetros de síntese na produção enzimática de biodiesel etílico a partir de óleo de babaçu em reator de leito fixo e fluxo contínuo utilizando células íntegras de *Mucor circinelloides* como biocatalizador.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

2.1. Materiais

Espumas de poliuretano (EPUs) foram sintetizadas na EVONIK® com densidade de $19,8690 \pm 0,8403 \text{ kg.m}^{-3}$ (100 g de Lupranol 3040, 52g de Tolueno diisocinato com 80% de isômero 2,4 e 20% de isômero 2,6, 0,8 g de Tegostab 8228, 0,18 g de Tegoamin 75, 0,12 g de Kosmos 29 e 4,025 g de água). A linhagem do fungo *Mucor circinelloides* URM-4182 foi adquirida da micoteca da Universidade Federal de Pernambuco. Como materiais de partida foram utilizados óleo de babaçu refinado (Mundo dos Óleos), etanol anidro 99,8% e *terc*-butanol 99% (Cromoline). Os demais reagentes utilizados foram de grau analítico.

2.2. Métodos

Preparo do biocatalisador

As células íntegras foram preparadas pela inoculação asséptica de 10^6 esporos do fungo em Erlenmeyers de 250 mL contendo 100 cubos de 6 mm de aresta e 100 mL de meio de cultura composto por: 70 g de Peptona, 1 g de NaNO_3 , 1g de KH_2PO_4 , 0,5 g de $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{ H}_2\text{O}$, 30g de azeite de oliva e 1L de tampão Citrato pH 4,5. Os experimentos foram conduzidos por 96 h na temperatura de 35°C com agitação orbital de 170 rpm. A biomassa imobilizada foi separada do meio de cultura por filtração a vácuo, lavada com acetona e seca em bomba de alto vácuo. Ao final do processo, foi determinada a atividade hidrolítica do biocatalisador de acordo com o método de Andrade *et al.* (2012).

Produção de biodiesel

As reações em fluxo contínuo foram conduzidas em reator de leito fixo (diâmetro interno = 44 mm, comprimento = 56 mm e volume total = 85 cm^3) com o auxílio de uma bomba peristáltica (SJ-1211-L ATTO ou SJ-1211-H ATTO), operando em vazões de $0,0163 \text{ mL min}^{-1}$, $0,0408 \text{ mL min}^{-1}$ e $0,0815 \text{ mL min}^{-1}$, por um período médio de 14 dias. A mistura reacional foi composta por óleo de babaçu e etanol (razão molar 1:4, 1:6, 1:8 ou 1:12 óleo/etanol) e *terc*-butanol como solvente (razão volumétrica 1:1,5 óleo/*terc*-butanol). O sistema foi mantido à temperatura de 35°C. A coluna foi empacotada com 120 unidades cúbicas de biomassa imobilizada correspondendo a um volume de $25,92 \text{ cm}^3$ e em seguida estabilizada pela recirculação do substrato através da coluna por um período de 24 h, eliminando bolhas de ar formadas durante a etapa do empacotamento da coluna. O tempo de residência foi calculado de acordo com Levenspiel (1972). Os ésteres etílicos formados foram quantificados por análise de cromatografia gasosa através de alíquotas retiradas diariamente (Urioste *et al.*, 2008).

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

As Figuras 1a e 1b mostram, respectivamente, os resultados dos experimentos conduzidos na razão molar de 1:6 quanto aos rendimentos de transesterificação vs tempo com variação da vazão e rendimento de transesterificação vs tempo espacial.

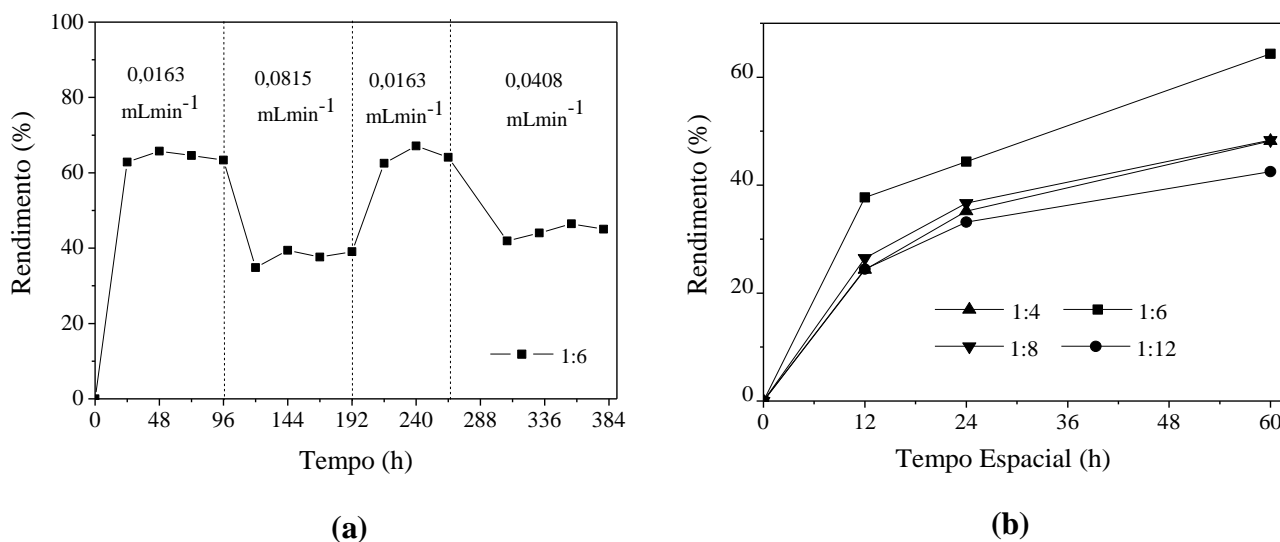


Figura 1 - a) Rendimentos de transesterificação em função do tempo para razão molar óleo:álcool de 1:6 em diferentes vazões e b) Rendimento médio em função do tempo espacial para razões molares de 1:4, 1:6, 1:8 e 1:12.

Na Figura 1a pode ser observado que o aumento na vazão da ordem de cinco vezes e o retorno ao valor original não afetou o rendimento operacional, indicando boa estabilidade do sistema. Na Figura 1b observa-se que os experimentos apresentaram comportamentos lineares quanto ao aumento do rendimento médio vs tempo espacial. O melhor rendimento foi atingido na razão molar de 1:6. Os experimentos foram analisados no programa Minitab 16.0 quanto ao comportamento estatístico. O gráfico de probabilidade de R apresentou comportamento normal e, portanto, não será apresentado neste trabalho. O gráfico de efeitos principais pode ser observado na Figura 2a. Pode ser verificado que com relação ao tempo espacial, o aumento do rendimento ocorre de forma linear, de maneira que o maior tempo espacial corresponde ao maior rendimento para todos os experimentos. Portanto, o tempo espacial de 60h, dentro das condições estudadas, foi o tempo que apresentou maiores valores para a variável resposta rendimento. Quanto ao parâmetro razão molar, o comportamento tende a formar uma superfície gaussiana, sendo o ponto de máximo o correspondente ao da razão molar 1:6.

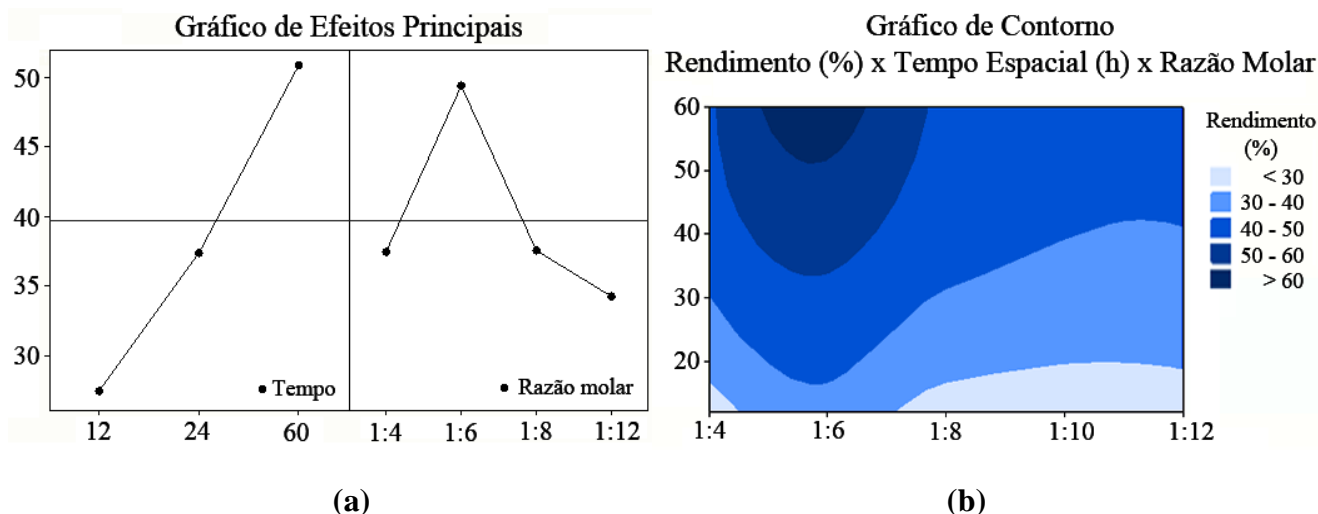


Figura 2 – a) Gráfico de Efeitos Principais, b) Gráfico de Contorno de R vs Tempo vs Razão Molar

Para analisar os resultados de forma conjunta foi plotado o gráfico de contorno do rendimento vs tempo espacial vs razão molar, apresentado na Figura 2b. Observa-se que o rendimento aumenta progressivamente da região mais clara para a região mais escura do gráfico. Portanto, a região mais escura representa as melhores condições para realização da reação de produção de biodiesel: tempo espacial de 60h e razão molar de 1:6. Estes dados estão de acordo com os do gráfico de efeitos principais (Fig. 2a).

Dos resultados ora discutidos, observa-se que o melhor rendimento, da ordem de 64%, foi obtido em um tempo espacial de 60 h e razão molar álcool:óleo de 1:6 com produtividade calculada em $8,14 \pm 0,21 \text{ mg éster g}^{-1} \text{ meio h}^{-1}$. Os resultados obtidos são similares aos encontrados na literatura, comprovando assim a eficiência do processo (Andrade, 2012). Entretanto, diversos estudos sugerem que o rendimento e a produtividade em reator de leito fixo podem estar associados com as dimensões do reator, indicando que quanto maior a razão diâmetro:altura maior a produtividade até um limite de 1:14 (Damstrup, 2007). Como a razão do reator utilizado foi de 1:1,27, a otimização na razão diâmetro:altura pode ser interessante para ser verificada em trabalhos futuros.

4. CONCLUSÃO

Dentro da faixa de valores estudada, a reação de transesterificação em reator de leito fixo em sistema contínuo com tempo espacial de 60h correspondente a uma vazão de $0,0163 \text{ ml min}^{-1}$, razão molar óleo:álcool de 1:6, foi a que apresentou maiores rendimentos, da ordem de 64%. O resultado de produtividade em torno de $8,14 \pm 0,21 \text{ mg éster g}^{-1} \text{ meio h}^{-1}$ pode ser melhorado em função de um estudo que leva em consideração a razão diâmetro:altura na configurações do reator.

5. REFERÊNCIAS

- ANDRADE, G. S. S.; Produção de biodiesel a partir de óleos vegetais usando Células Integras imobilizadas de Fungos Filamentosos com elevada atividade lipolítica (Glicerol Éster Hidrolase E.C. 3.1.1.3.) 158 p. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) – Escola de Engenharia de Lorena, Universidade de São Paulo, Lorena/SP, 2012.
- ANDRADE, G. S. S.; FREITAS, L.; OLIVEIRA, P. C.; DE CASTRO, H. F.; Screening, immobilization and utilization of whole cell biocatalysts to mediate the ethanolysis of babassu oil. *J. Mol. Catal. B: Enzym.* v. 84, p. 183-188, 2012.
- CHRISTOPHER, L. P.; KUMAR, H.; ZAMBARE, V. P. Enzymatic biodiesel: Challenges and opportunities. *Appl. Energ.*, v.119, p.497-520, 2014.
- DAMSTRUP, M. L; KIIL, S; JENSEN, A. D; SPARSO, F. V; 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.
- NASIR, N. F.; DAUD, W.R.W.; KAMARUDIN, S. K.; YAKOOB, Z. Process system engineering in biodiesel production: A review. *Renew. Sust. Energy Rev.* v. 22, p. 631-639. 2013.
- URIESTE, D.; CASTRO, M.B.A.; BIAGGIO, F.C.; BIAGGIO; 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.