



**UNIVERSIDADE FEDERAL DO PAMPA – CAMPUS BAGÉ
ENGENHARIA DE ENERGIAS RENOVÁVEIS E AMBIENTE**

RENATA TONINI BASTIANELLO

**SÍNTESE DE BIODIESEL VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA EM MEIO
ORGÂNICO E EM LÍQUIDOS IÔNICOS**

Bagé
2011

RENATA TONINI BASTIANELLO

**SÍNTESE DE BIODIESEL VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA EM MEIO
ORGÂNICO E EM LÍQUIDOS IÔNICOS**

Trabalho de Conclusão apresentado ao Curso de Engenharia de Energias Renováveis e Ambiente da Universidade Federal do Pampa – Campus Bagé, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Energias Renováveis e Ambiente.

Orientador:
Prof. Dr. Alexandre Augusto Moreira Lapis

Bagé

2011

Bastianello, Renata Tonini.

Síntese de Biodiesel via Catálise Enzimática em Meio Orgânico e em Líquidos Iônicos / Renata Tonini Bastianello. 29 de julho de 2011. 63 f.: Il.

Monografia (Graduação) Universidade Federal do Pampa, 29 de julho de 2011. Orientação: Alexandre Augusto Moreira Lapis.

1. Biodiesel. 2. Transesterificação. 3. Catálise Enzimática. 4. Líquidos iônicos. I. Lapis, Alexandre Augusto Moreira.

RENATA TONINI BASTIANELLO

**SÍNTESE DE BIODIESEL VIA CATÁLISE ENZIMÁTICA EM MEIO
ORGÂNICO E EM LÍQUIDOS IÔNICOS**

Monografia aprovada como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia de Energias Renováveis e Ambiente, da Universidade Federal do Pampa.

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Alexandre Augusto Moreira
Lapis (Orientador)
Licenciatura em Química/UNIPAMPA

Prof. Dr. Flávio André Pavan
Licenciatura em Química/UNIPAMPA

Prof. Dr. Elenilson Freitas Alves
Licenciatura em Química/UNIPAMPA

Profa. Dra. Cristine Machado Schwanke
Coordenadora do curso

AGRADECIMENTOS

Ao prof. Dr. Alexandre A. M. Lapis, por ter aceitado me orientar num momento difícil para mim, mesmo sem eu ter sido sua aluna, e por estar sempre disposto a me ajudar, tornando possível a realização deste trabalho.

Ao prof. Dr. Mauricio Girardi por todo o carinho, apoio e por ter sido o mais querido e atencioso professor do mundo.

Aos profs. Drs. Cristine Schwanke, Jocemar Parizzi, Márcia Lucchese e Evandro Steffani, pelos ensinamentos e dicas durante o curso.

Aos técnicos de laboratórios da Unipampa, pelas ajudas no laboratório. Em especial ao Jackson, técnico do curso de Engenharia de Energias Renováveis e Ambiente, pela amizade e por ser sempre gentil.

Aos meus colegas, Taise, Mainardi, Luciana, Janice e Mirtô, pela amizade, pelo companheirismo e por todos os momentos de estudo, conversas engraçadas e chimarrão.

Ao colega Pedro Hidalgo, por ter ajudado na minha primeira CCD e pelas conversas e dicas sobre biodiesel e enzimas.

À minha amada vó, Elzira, e à minha amada nonna, Teresa, por todo o carinho e apoio incondicionais. Obrigada!

Ao meu irmão, João Eduardo, pelos momentos de “distração” durante os estudos.

Ao André, meu namorado e colega de curso, pelo amor, pela parceria, pela cumplicidade, companhia e todas as trocas durante o curso.

Ao meu gato de quatro patas e bigode, Chumbo, por estar sempre ao meu lado e ser meu motivo de felicidade. Meu companheiro inseparável de estudos e leituras durante o curso.

À minha dinda pós-moderna, viajada, minha alavanca, minha conselheira e inspiração, profa. Dra. Ivaine Maria Tonini, pelos constantes e incondicionais apoios emocionais, materiais e, além disso, dicas sobre o meio acadêmico... Dinda, o que seria de mim sem ti?!

E, por fim, àqueles sem os quais eu não seria o que sou: meus amados pais, Elaine e Bruno, pelo apoio durante o curso para que eu seguisse em frente e pelo amor e carinho a mim dedicados.

“C'est une triste chose de penser que la nature parle
et que le genre humain n'écoute pas”

Victor Hugo

RESUMO

BASTIANELLO, Renata Tonini. **Síntese de Biodiesel via Catálise Enzimática em Meio Orgânico e em Líquidos Iônicos**. Bagé: UNIPAMPA, 2011. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Engenharia de Energias Renováveis e Ambiente. Universidade Federal do Pampa – Campus Bagé, Bagé, 2011.

O presente trabalho tem como objetivo a obtenção de biodiesel, em escala laboratorial, pela transesterificação do óleo de soja utilizando um sistema catalítico enzima/líquido iônico. A reação foi realizada com álcool etílico e permaneceu sob agitação magnética a temperatura ambiente por sete dias. A partir da combinação das lipases *Pseudomonas cepacia* PSC-I e *Pseudomonas fluorescens* com os líquidos iônicos MEP.CH₃SO₃⁻, DMEI.NTf₂⁻, MEP.NTf₂⁻, NBNMEP.NTf₂⁻ e MEMI.NTf₂⁻, produziu-se dez amostras de biodiesel. Estas amostras foram analisadas qualitativamente pelo método de Cromatografia em Camada Delgada e comparadas com a síntese do biodiesel utilizando o sistema catalítico enzimas / solvente orgânico (álcool butílico). Obteve-se a formação de ésteres alquílicos em todas as amostras, exceto nas catalisadas pelos sistemas *Pseudomonas fluorescens* / MEP.CH₃SO₃⁻ e *Pseudomonas fluorescens* / MEMI.NTf₂⁻. Notou-se o bom desempenho dos líquidos iônicos compostos pelo ânion NTf₂⁻, capazes de tirar o glicerol da fase apolar para a fase polar (líquido iônico), impedindo a reversão da reação de transesterificação, além de proporcionar melhora na atividade catalítica das lipases, resultando em menor tempo reacional necessário para a conversão completa dos triglicerídeos em ésteres alquílicos.

Palavras-chave: Biodiesel; Transesterificação; Catálise enzimática; Líquidos iônicos.

ABSTRACT

BASTIANELLO, Renata Tonini. **Síntese de Biodiesel via Catálise Enzimática em Meio Orgânico e em Líquidos Iônicos**. Bagé: UNIPAMPA, 2011. 63 f. Trabalho de Conclusão de Curso – Curso de Engenharia de Energias Renováveis e Ambiente. Universidade Federal do Pampa – Campus Bagé, Bagé, 2011.

This work aims the biodiesel production in laboratory scale, by the soybean oil transesterification using a catalyst system enzyme / ionic liquid. The reaction was conducted with ethyl alcohol and was kept under magnetic stirring at ambient temperature for seven days. Combining the *Pseudomonas cepacia* PSC-I and *Pseudomonas fluorescens* lipases with the ionic liquids MEP.CH₃SO₃⁻, DMEI.NTf₂⁻, MEP.NTf₂⁻, NBNMEP.NTf₂⁻ e MEMI.NTf₂⁻, it was produced ten samples of biodiesel. These samples were qualitatively analyzed by Thin Layer Chromatography method and compared with the biodiesel synthesis using the catalytic system enzyme / organic solvent (butyl alcohol). It was obtained the formation of alkyl esters in all samples, but in the samples catalyzed by the systems *Pseudomonas fluorescens* / MEP.CH₃SO₃⁻ and *Pseudomonas fluorescens* / MEMI.NTf₂⁻. It was observed the good performance of the ionic liquids compounds by the anion NTf₂⁻, which were able to separate the glycerol from the non-polar phase to the polar phase (ionic liquid), preventing the reversion of transesterification reaction, and improving the lipases catalytic activity, that results in a shorter reaction time required for the triglycerides complete conversion in alkyl esters.

Keywords: Biodiesel; Transesterification; Enzyme catalysis; Ionic liquids.

LISTA DE ABREVIATURAS E SÍMBOLOS

AG:	Ácidos graxos.
ANP:	Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis.
Bx:	Mistura diesel + biodiesel, onde x é a porcentagem de biodiesel misturada ao óleo diesel.
CCD:	Cromatografia em camada delgada.
CO:	Monóxido de Carbono.
CPAs:	Compostos poliaromáticos.
DG:	Diglicerídeo.
DMEI. NTf ₂ ⁻ :	Di-metóxi-etil-imidazólio-NTf ₂ ⁻ .
EtOH:	Etanol.
GL:	Glicerol.
HC:	Hidrocarbonetos.
IA:	Índice de acidez.
II:	Índice de iodo.
IPEA:	Instituto de Pesquisa Econômica Aplicada.
IUBMB:	União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular.
KOH:	Hidróxido de potássio.
LI:	Líquido iônico.
LIs:	Líquidos iônicos.
MEMI. NTf ₂ ⁻ :	Metóxi-etil-metil-imidazólio-NTf ₂ ⁻ .
MeOH:	Metanol.
MeOK:	Metóxido de potássio.
MeONa:	Metóxido de sódio.
MEP. CH ₃ SO ₃ ⁻ :	Metóxi-etil-piridínio-CH ₃ SO ₃ ⁻ .
MEP. NTf ₂ ⁻ :	Metóxi-etil-piridínio-NTf ₂ ⁻ .
MG:	Monoglicerídeo.
MP:	Materiais particulados.
NaOH:	Hidróxido de sódio.
NBNMEP. NTf ₂ ⁻ :	N-butil-N-metóxi-etil-pirrolidinium-NTf ₂ ⁻ .
NC:	Número de Cetano.
PCD-I:	Lipase <i>Pseudomonas cepacia</i> suportada em terra diatomácea.

PF:	Ponto de fulgor.
PN:	Ponto de névoa.
PSC-I:	Lipase <i>Pseudomonas cepacia</i> suportada em cerâmica.
PSC-II:	Lipase <i>Pseudomonas cepacia</i> suportada em cerâmica modificada.
PT:	Ponto de turbidez.
PNPB:	Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel.
R _f :	Fator de retenção.
SO _x :	Óxidos de enxofre.
TAG:	Triacilglicerol.
TG:	Triglicerídeo.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1.1:	Evolução dos biocombustíveis no Brasil	20
Figura 1.2:	Distribuição das principais oleaginosas utilizadas na produção de biodiesel no território brasileiro	21
Figura 1.3:	Dados estatísticos da produção de biodiesel nos últimos seis anos	22
Figura 1.4:	Produção mundial de biodiesel em 2008 (em milhões de litros)	23
Figura 1.5:	Fórmula estrutural dos triglicerídeos	24
Figura 1.6:	Ácidos graxos livres com 0, 1, 2 e 3 insaturações, respectivamente	24
Figura 1.7:	Fórmulas geral e estrutural dos ácidos (a) oléico e (b) linoléico	25
Figura 1.8:	Reação geral de transesterificação, onde R é uma mistura de várias cadeias de ácidos graxos	27
Figura 1.9:	As três etapas da reação de transesterificação	27
Figura 1.10:	Estrutura genérica de um polipeptídeo mostrando à direita o resíduo C-terminal e à esquerda o N-terminal	36
Figura 1.11:	Principais reações catalisadas por lipases	38
Figura 1.12:	Estrutura dos cátions imidazólio, amônio e fosfônio	40
Figura 1.13:	Esquema de classificação das diferentes técnicas de cromatografia	43
Figura 1.14:	Exemplo de cromatograma obtido por camada delgada	44
Figura 2.1:	Análise por Cromatografia em Camada Delgada das amostras catalisadas pelas enzimas (a) <i>Lipozyme</i> , (b) <i>Pseudomonas cepacia</i> PSC-I, (c) <i>Pseudomonas fluorescens</i> , (d) G “Amano” 50, (e) A “Amano” 12-K e (f) AY “Amano” 30G	47
Figura 2.2:	Fórmula estrutural dos Lis: (1) MEP.CH ₃ SO ₃ ⁻ , (2) DMEI.NTf ₂ ⁻ , (3) MEP.NTf ₂ ⁻ , (4) NBNMEP.NTf ₂ ⁻ e (5) MEMI.NTf ₂ ⁻	49
Figura 2.3:	Amostras durante o período reacional, expostas a agitação magnética e temperatura ambiente	51
Figura 2.4:	Cuba cromatográfica contendo (a) solvente e (b) iodo	52
Figura 3.1:	Placa cromatográfica obtida a partir da CCD para as amostras catalisadas pela enzima <i>Pseudomonas cepacia</i> PSC-I suspensa, respectivamente, nos Lis MEP.CH ₃ SO ₃ ⁻ (amostra 1), DMEI.NTf ₂ ⁻ (amostra 2), MEP.NTf ₂ ⁻ (amostra 3), NBNMEP.NTf ₂ ⁻ (amostra 4) e MEMI.NTf ₂ ⁻ (amostra 5)	54

- Figura 3.2:** Placa cromatográfica obtida a partir da CCD para as amostras catalisadas pela enzima *Pseudomonas fluorescens* suspensa, respectivamente, nos LIs MEP.CH₃SO₃⁻ (amostra 6), DMEI.NTf₂⁻ (amostra 7), MEP.NTf₂⁻ (amostra 8), NBNMEP.NTf₂⁻ (amostra 9) e MEMI.NTf₂⁻ (amostra 10) 55
- Figura 3.3:** Glicerol solubilizado no líquido iônico, impedindo a reversão da reação de transesterificação 56

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.1:	Dados comparativos entre as propriedades do biodiesel metílico obtido de diferentes matérias-primas e do diesel mineral	32
Tabela 1.2:	Sistema de classificação funcional das enzimas, segundo a IUBMB	37
Tabela 1.3:	Rendimento de ésteres (em %) obtidos através da reação de transesterificação via catálise enzimática do óleo de girassol	39
Tabela 1.4:	Vantagens e desvantagens da catálise enzimática comparada à catálise química	39
Tabela 2.1:	Enzimas utilizadas para as amostras de biodiesel preparadas com solvente orgânico (sem o uso de líquidos iônicos)	47
Tabela 2.2:	Enzimas utilizadas para as amostras de biodiesel preparadas com o uso de líquidos iônicos como solventes	48
Tabela 2.3:	Líquidos iônicos usados nas amostras de biodiesel	48
Tabela 3.1:	Relação das dez amostras produzidas, com a combinação enzima/líquido iônico utilizada para cada amostra	53

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO	13
1 REFERENCIAL TEÓRICO	18
1.1 História do Biodiesel	18
1.2 O Biodiesel no Brasil	20
1.3 O Biodiesel no Mundo	22
1.4 Triglicerídeos	23
1.5 Biodiesel	26
1.5.1 Transesterificação	26
1.6 Propriedades do Biodiesel	30
1.6.1 Número de Cetano	30
1.6.2 Viscosidade Cinemática	31
1.6.3 Ponto de Fulgor	31
1.6.4 Ponto de Névoa e Ponto de Entupimento	32
1.6.5 Teor de Água	33
1.6.6 Teor de Enxofre	33
1.6.7 Índice de Acidez	33
1.6.8 Índice de lodo	34
1.7 Vantagens e Desvantagens do Uso do Biodiesel	34
1.7.1 Vantagens do Uso do Biodiesel	34
1.7.2 Desvantagens do Uso do Biodiesel	35
1.8 Enzimas	35
1.8.1 Lipases	37
1.9 Vantagens e Desvantagens da Catálise Enzimática	39
1.10 Líquidos Iônicos	40
1.11 Biodiesel Catalisado por Enzimas Suspensas em Líquidos Iônicos	41
1.12 Cromatografia	43
1.12.1 Cromatografia em Camada Delgada	44
2 METODOLOGIA	46
2.1 Geral	46
2.2 Seleção das Enzimas	46
2.3 Líquidos Iônicos	48
2.4 Seleção do Álcool	49
2.5 Quantidade de Reagentes	50
2.6 Preparo e Síntese do Biodiesel	51
2.7 Análise das Amostras de Biodiesel	51
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	53
CONSIDERAÇÕES FINAIS	58
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	60

INTRODUÇÃO

Com o aumento da demanda mundial de energia e tendo em vista a poluição causada pelo uso de combustíveis fósseis, houve a necessidade de buscar fontes alternativas para a geração de energia. Os biocombustíveis, as energias solar fotovoltaica e solar térmica, eólica, hídrica, maremotriz e geotérmica surgem como alternativas para suprir esta demanda energética causando pouco ou nenhum impacto ambiental.

O biodiesel é um biocombustível que pode ser utilizado como substituto ao óleo diesel em motores de combustão interna ciclo diesel, sem a necessidade de adaptações mecânicas, pelo fato de que suas propriedades são similares às do combustível derivado de petróleo. O biodiesel pode ser produzido a partir de diversas matérias-primas, como gordura animal (sebo), óleos vegetais de soja, girassol, mamona, palma, algodão, amendoim, colza/canola, entre outras oleaginosas, e óleos de descarte, como é o caso de óleos usados em frituras.

Por ser um combustível biodegradável e não tóxico, livre de compostos sulfurados e aromatizados e com baixa emissão de poluentes durante a queima, o biodiesel tornou-se um forte candidato a substituir totalmente o diesel e a gasolina (B 100). Atualmente o Brasil conta com o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel¹ (PNPB), que visa à diminuição da importação de petróleo, juntamente com a preservação do meio ambiente e a inclusão social de pessoas de baixa renda. A partir deste programa, o Governo Federal publicou, em 13 de janeiro de 2005, a Lei nº 11.097, estabelecendo o uso obrigatório de 2% de biodiesel misturado ao óleo diesel (B2) a partir de 2008, procurando a progressão percentual desta mistura até o B100. As metas iniciais eram utilizar 5% (B5) em 2013 e 20% (B20) em 2020. Atualmente está em vigor, desde o início de 2010, o B5, que foi antecipado.

O método mais utilizado para a obtenção de biodiesel é através do processo químico da transesterificação, na qual ocorre uma reação entre óleos vegetais e

¹ Mais informações sobre o PNPB em: <http://www.biodiesel.gov.br>.

alcoóis (metanol ou etanol), na presença de catalisadores (ácidos ou básicos). O resultado é a geração de dois produtos: ésteres de ácidos graxos (o biodiesel propriamente dito) e glicerol (subproduto). A produção de biodiesel via catálise básica é mais utilizada industrialmente por ser mais barata. Nesta observa-se o aparecimento de reações de saponificação, formando sabões que reduzem a eficiência dos catalisadores e aumentam a viscosidade, o que dificulta a separação dos ésteres e do glicerol. Já a catálise ácida é mais lenta e necessita de uma quantidade maior de álcool para a obtenção satisfatória de biodiesel. Ambos os métodos utilizam altas temperaturas e causam a corrosão dos sistemas reacionais, pelo uso de uma base ou de um ácido, havendo a necessidade de purificar os ésteres. Esta purificação consiste na lavagem do pH feita com água, gerando resíduos aquosos com pH inadequado para descarte.

Portanto o desenvolvimento de novos métodos para a fabricação de biodiesel, bem como o uso de novos catalisadores, a fim de se obter maior eficiência no processo, custos menos elevados e menor geração de resíduos poluentes, vêm sendo estudados.

A produção de biodiesel por transesterificação utilizando enzimas como catalisadores é uma alternativa para a melhora da produção de biodiesel. Apesar de ainda se encontrar em fase de pesquisas, possui um grande potencial, uma vez que as enzimas são catalisadores naturais encontrados em seres vivos e biodegradáveis.

A catálise com enzimas suspensas em líquidos iônicos sintetiza especificamente ésteres alquílicos, permite a fácil separação do glicerol, a transesterificação de glicerídeos com alto teor de ácidos graxos, a transesterificação total dos ácidos graxos livres e o uso de baixas temperaturas no processo, podendo realizar a reação à temperatura ambiente. Os rendimentos obtidos são altíssimos, pois o líquido iônico torna as enzimas mais estáveis e ativas, fazendo o uso desse sistema uma alternativa comercialmente interessante. Sua desvantagem é o alto custo das enzimas comerciais e da fabricação dos líquidos iônicos, havendo a necessidade de aprimoramento dos métodos de produção destes.

Neste contexto, este trabalho propõe a realização de um estudo da produção de biodiesel, em escala laboratorial, via catálise enzimática com líquidos iônicos. A partir do uso de diferentes líquidos iônicos e enzimas, procurou-se encontrar a melhor combinação catalisador/solvente para a transesterificação de óleo de soja.

Definição do Problema

O biodiesel, combustível renovável e pouco poluente, é um potencial substituto ao óleo diesel em motores de combustão interna. Porém observa-se que as tecnologias de fabricação do biodiesel ainda não estão completamente consolidadas, uma vez que mesmo os processos utilizados em escala industrial, a transesterificação via catálise básica ou ácida, ainda possuem diversas desvantagens. Dentre estas se pode citar a produção de rejeitos aquosos de pH insatisfatório para descarte e a grande quantidade de glicerol restante da reação de transesterificação.

Surgiu assim a necessidade de desenvolver novos métodos para a obtenção de biodiesel. O uso de enzimas como catalisador na reação de transesterificação do óleo vem sendo estudado, mas ainda não é viável em escala comercial, principalmente devido ao alto preço das enzimas imobilizadas. Quando suspensas em líquidos iônicos, tem-se um método verde para a produção de biodiesel, além de que as enzimas passam a ser mais estáveis e ativas, aumentando a eficiência da reação de transesterificação. Este trabalho propõe analisar qualitativamente a produção de biodiesel com diferentes enzimas e líquidos iônicos, buscando obter combinações catalisador/solvente que possuam melhores rendimentos para este processo.

Justificativa e Relevância deste Estudo

Atualmente um dos grandes problemas enfrentados pelos países trata da demanda energética mundial, que aumenta com o crescimento da população e com o desenvolvimento econômico dos países. Estes eventos têm gerado impactos ambientais causados pelo uso de combustíveis fósseis. Para satisfazer esta

demanda de forma sustentável, a diversificação da matriz energética com o uso de fontes alternativas de energia tornou-se uma opção atraente. Entre estas opções está o biodiesel, combustível de origem renovável.

O uso de biodiesel como substituto ao óleo diesel em motores de combustão interna reduz a emissão de gases poluentes e tóxicos na atmosfera, tais como o monóxido de carbono (CO), hidrocarbonetos (HC), compostos poliaromáticos (CPAs) de alto potencial carcinogênico, materiais particulados (MP), óxidos de enxofre (SOx), entre outros.

Entretanto, a produção de biodiesel via catálise ácida ou básica, sendo essa a mais utilizada industrialmente, gera subprodutos. Este é o caso do glicerol que, além de diminuir a eficiência da reação de transesterificação, requer diversas lavagens para ser separado do biodiesel. Estas lavagens originam resíduos aquosos, poluentes ao meio ambiente.

Neste contexto, nota-se a necessidade da realização de pesquisas que venham a contribuir para a melhora do rendimento da reação de transesterificação de ácidos graxos para adquirir biodiesel de forma mais limpa, eficiente e com menos custos energéticos.

Objetivos

Objetivo Geral

Este trabalho teve por objetivo geral realizar uma análise qualitativa do biodiesel obtido a partir da transesterificação do óleo de soja comercial, com o uso de diferentes tipos de enzimas como agentes catalisadores, suspensas em diferentes líquidos iônicos. Também teve a finalidade de comparar qualitativamente os resultados obtidos com os resultados da reação usando butanol invés de líquidos iônicos.

Objetivos Específicos

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Produzir biodiesel em escala laboratorial a partir de óleo de soja catalisado por enzimas suspensas em líquidos iônicos;
- Produzir biodiesel a partir de óleo de soja via catálise enzimática, utilizando butanol como solvente;
- Realizar uma análise qualitativa das amostras de biodiesel produzidas, por meio de cromatografia em camada delgada;
- Comparar os resultados qualitativos obtidos na reação de transesterificação enzimas/líquidos iônicos com os resultados obtidos pela reação enzimática utilizando o butanol como solvente.

1 REFERENCIAL TEÓRICO

A busca por novas fontes alternativas de energia ou o desenvolvimento tecnológico das já existentes, bem como a preocupação com o meio ambiente e com os impactos ambientais causados pelos combustíveis fósseis, vêm crescendo a cada dia não só no Brasil, mas no mundo todo. Neste contexto, os biocombustíveis², entre eles o biodiesel, surgem como uma opção vantajosa para substituir o óleo diesel derivado de petróleo: além de ser um combustível renovável e biodegradável, o biodiesel reduz significativamente a emissão de poluentes durante sua queima, se comparado ao óleo diesel.

1.1 História do Biodiesel

O primeiro modelo de motor a diesel que funcionou de forma eficiente foi criado por Rudolf Diesel (1858-1913) no ano de 1893. Suas idéias surgiram dos princípios da Termodinâmica e seu objetivo com esta criação foi o de desenvolver uma máquina com rendimento satisfatório. Segundo Knothe et al. (2006, p. 6):

No último capítulo do seu livro intitulado “Combustíveis Líquidos”, Diesel mencionou o uso combustível de óleos vegetais: “Para completar, é importante que, nos idos de 1900, óleos vegetais já vinham sendo utilizando em máquinas diesel com sucesso. Durante a Exposição de Paris de 1900, a companhia francesa Otto demonstrou o funcionamento de um pequeno motor diesel com óleo de amendoim. Esta experiência foi tão bem sucedida que apenas alguns dos presentes perceberam as circunstâncias em que a mesma havia sido conduzida. O motor, que havia sido construído para consumir petróleo, operou com óleos vegetais sem qualquer modificação.

Assim, nota-se que o uso de óleos vegetais em motores é quase tão antigo quanto o próprio motor diesel. Knothe et al. cita, ainda, que o uso do óleo de amendoim no motor diesel foi idéia do Governo Francês, pela sua produção em grandes quantidades nas colônias africanas. Porém, por mudanças políticas, não foi

² Biocombustível é um combustível de origem biológica não fóssil, ou seja, é uma fonte renovável de energia que se deriva de matérias agrícolas, como plantas oleaginosas, biomassa florestal, cana-de-açúcar, entre outras matérias orgânicas. Pode-se citar como exemplo de biocombustível o biodiesel, o bioetanol e o biogás.

dada continuidade à esta questão. Porém, Diesel já tinha certeza da possibilidade de uso de óleo vegetal em seus motores e acreditava que isto poderia ajudar no desenvolvimento da agricultura. Demirbas (2008, p. 113) diz que:

Na Feira Mundial de 1911 em Paris, Dr. Diesel fez funcionar seu motor com óleo de amendoim e declarou “o motor diesel pode ser alimentado com óleos vegetais e ajudará consideravelmente no desenvolvimento da agricultura dos países que o utilizarem” (T.L. da autora)³.

Nas décadas de 30 e 40 outros trabalhos utilizando óleos vegetais foram realizados, mas problemas como depósitos nos injetores e pistões foram encontrados devido à elevada viscosidade dos fluidos. A conversão do óleo em alquilésteres foi realizada e reduziu-se a viscosidade aos níveis do diesel comum, produzindo um combustível com propriedades similares, que pode ser utilizado nos motores a diesel sem a necessidade de modificar o motor: o biodiesel. De acordo com Demirbas (2008, p. 113):

Um dos primeiros usos do óleo vegetal transesterificado foi na alimentação de veículos pesados na África do Sul antes da Segunda Guerra Mundial. O nome “biodiesel” foi dado para o óleo vegetal transesterificado para descrever seu uso como um combustível diesel (T.L. da autora)⁴.

O pioneiro do uso de biocombustíveis no Brasil foi o Conde Francisco de Matarazzo. Nos anos 60, as Indústrias Matarazzo buscavam produzir óleo através dos grãos de café. O álcool da cana de açúcar foi utilizado para lavar as impurezas do café. A reação entre o álcool e o óleo de café resultou na liberação de glicerina e ésteres etílicos, ou seja, biodiesel.

A crise do petróleo e a crise energética enfrentadas entre o fim dos anos 70 e início dos anos 80 afetaram diversos países, em especial aqueles que estavam em

³ At the 1911 World's Fair in Paris, Dr. Diesel ran his engine on peanut oil and declared “the diesel engine can be fed with vegetable oils and will help considerably in the development of the agriculture of the countries which use it”.

⁴ One of the first uses of transesterified vegetable oil was powering heavy-duty vehicles in South Africa before World War II. The name “biodiesel” has been given to transesterified vegetable oil to describe its use as a diesel fuel.

desenvolvimento, como o Brasil. Houve então a necessidade da busca por novas fontes energéticas, e o uso dos óleos vegetais como combustível para motores diesel foi lembrado. Porém, sua produção comercial só teve início no final dos anos 90. A Figura 1.1 mostra a evolução dos biocombustíveis no Brasil, entre eles o biodiesel.

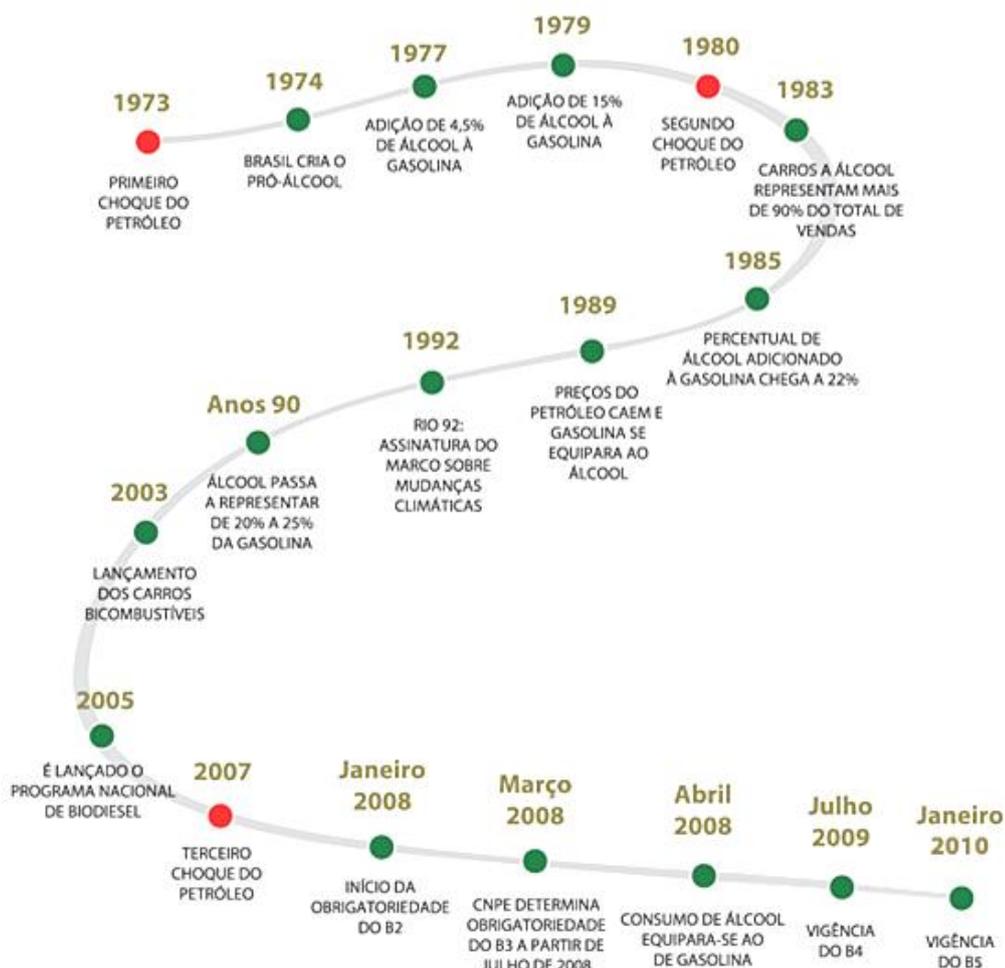


Figura 1.1: Evolução dos biocombustíveis no Brasil.

Fonte: Ecomassa, 2010.

1.2 O Biodiesel no Brasil

Devido à sua extensão, o Brasil é um país que apresenta uma ampla variedade de culturas oleaginosas. A Figura 1.2 mostra a distribuição das principais culturas utilizadas na produção de biodiesel, que reflete diretamente na distribuição das fábricas de biodiesel no país. O cultivo de oleaginosas destinadas à produção de biocombustíveis favorece o pequeno produtor e promove o desenvolvimento de

regiões, mesmo das mais distantes dos grandes centros urbanos e tecnológicos do país.



Figura 1.2: Distribuição das principais oleaginosas utilizadas na produção de biodiesel no território brasileiro.

Fonte: Sebrae, 2010.

A produção total de biodiesel no Brasil (B100), entre os anos de 2005 e 2010, está disposta no gráfico da Figura 1.3. Nesta, observa-se o grande crescimento da produção por ano, sendo de 736 m³ em 2005, 69.002 m³ em 2006, 404.329 m³ em 2007, 1.1167.128 m³ em 2008, 1.608.448 m³ em 2009 e 1.780.532 m³ em 2010. Em 2010, os estados com maior produção de biodiesel foram: Mato Grosso, Rio Grande do Sul, Goiás e São Paulo, respectivamente (ANP, 2010).



Figura 1.3: Dados estatísticos da produção de biodiesel nos últimos seis anos.

Fonte: ANP, 2010.

1.3 O Biodiesel no Mundo

A Figura 1.4 mostra os principais produtores de biodiesel no mundo, com suas produções em no ano de 2008. A Alemanha é o maior produtor e consumidor de biodiesel no mundo, incentivando a sua produção com isenção total de impostos, proteção da agricultura e restrições à importação. Utiliza nos veículos não só a mistura biodiesel + óleo, como também o B100. Sua principal matéria-prima utilizada é a colza, cultura já bem desenvolvida no país.

Os Estados Unidos é segundo maior produtor de biodiesel, existindo incentivos federais e estaduais para o seu consumo. O B20 é a mistura mais utilizada e as principais matérias-primas são a soja e o óleo residual de frituras.

A França e a Itália também possuem incentivos fiscais para a produção do biodiesel. A França utiliza o B5 no transporte comum e o B30 para frotas. Já a Itália utiliza o B100 em indústrias e residências e o B5 e B25 nos meios de transporte. Ambos os países produzem o biodiesel a partir de óleo de colza e de girassol.

A malásia é o país que mais exporta biodiesel (B100) no mundo. Sua matéria-prima utilizada é a palma (dendê).

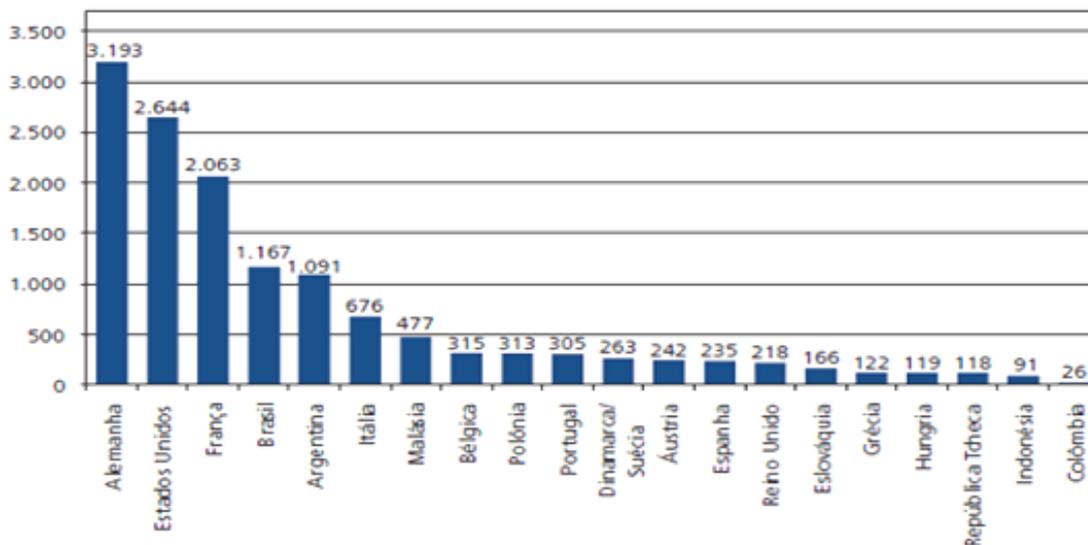


Figura 1.4: Produção mundial de biodiesel em 2008 (em milhões de litros).

Fonte: IPEA, 2010.

1.4 Triglicerídeos

O glicerol, ou propano-1,2,3-triol, é um composto orgânico pertencente à função álcool, líquido à temperatura ambiente, higroscópico, inodoro, viscoso e de sabor adocicado. Seu produto na forma comercial, com pureza acima de 95% é chamado de glicerina. Óleos⁵ e gorduras⁶ de origem vegetal e animal possuem glicerol em sua forma combinada, ou seja, ligado a ácidos graxos (AG), formando uma molécula de triacilglicerol (TAG).

Quimicamente as gorduras são sintetizadas pela união de três ácidos graxos a uma molécula de glicerol, formando um triéster. Desta forma, as gorduras podem ser chamadas de triacilgliceróis, também conhecidos por triglicerídeos (TG),

⁵ O termo óleo refere-se a uma classe de substâncias que, por convenção, deve apresentar-se no estado líquido e viscoso nas condições ambientes de temperatura e pressão ao nível do mar. Os óleos são hidrofóbicos (não se misturam com a água) e lipofílicos (misturam-se com outros óleos). Os óleos podem ser de origem vegetal, animal ou mineral.

⁶ A gordura é um termo genérico para uma classe de lipídeos. As gorduras, ou graxas, produzidas por processos orgânicos, tanto por vegetais como por animais, consistem de um grande grupo de compostos geralmente solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água. As gorduras têm sua cadeia "quebrada" no organismo pela ação de uma enzima chamada lipase, produzida pelo pâncreas.

mostrados na Figura 1.5. O termo gordura se refere ao TG no seu estado sólidos, enquanto que o termo óleo se refere o TG no seu estado líquido.

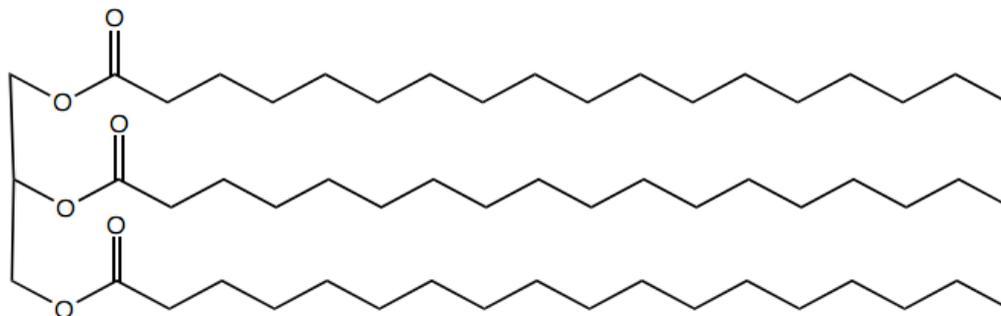


Figura 1.5: Fórmula estrutural dos triglicerídeos.

Fonte: Gamba, 2009.

Os ácidos graxos são ácidos monocarboxílicos de cadeia normal, que apresentam o grupo carboxila (-COOH) ligado a uma cadeia longa alquílica, podendo ser saturados, quando possuem apenas ligações simples entre os carbonos, ou insaturados, quando possuem uma ou mais ligações duplas na sua cadeia carbônica. Os ácidos graxos insaturados podem ser classificados em monoinsaturados, como é o caso do ácido oléico, com apenas uma ligação dupla, e poliinsaturados, como o ácido linoléico, com duas ligações duplas e o ácido linolênico, com três ligações duplas. A Figura 1.6 mostra a fórmula estrutural de ácidos graxos livres com 0, 1, 2 e 3 insaturações, respectivamente. Já a Figura 1.7 mostra a fórmula geral e a fórmula estrutural dos ácidos oléico e linoléico.

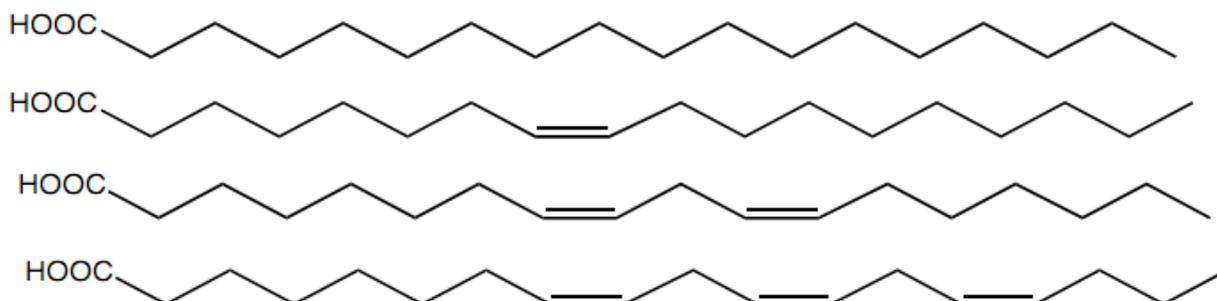


Figura 1.6: Ácidos graxos livres com 0, 1, 2 e 3 insaturações, respectivamente.

Fonte: Gamba, 2009.

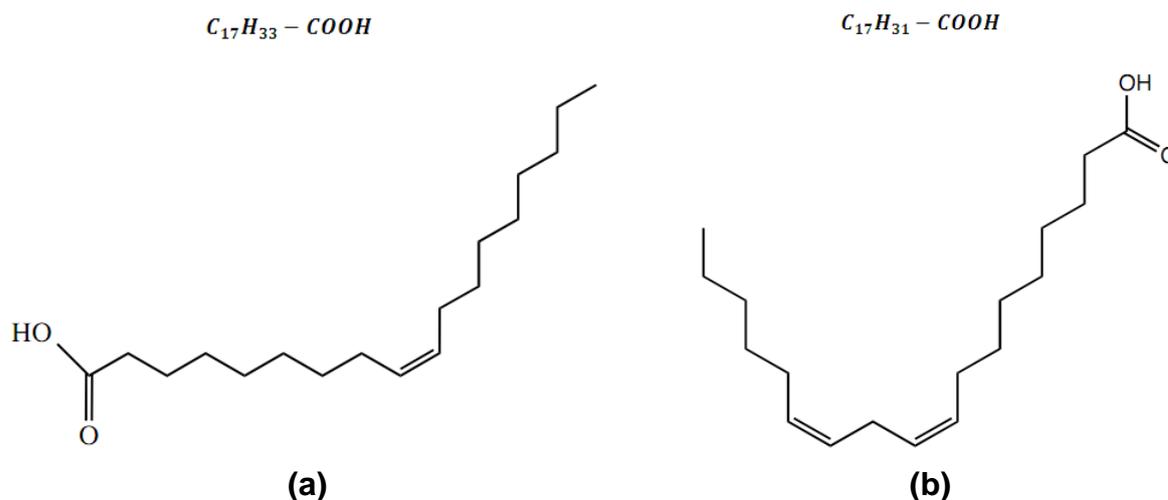


Figura 1.7: Fórmulas geral e estrutural dos ácidos **(a)** oléico e **(b)** linoléico.
Fonte: Gamba, 2009.

Os lipídeos, ou lipídios, são compostos que englobam todas as substâncias gordurosas existentes tanto no reino animal como vegetal, sendo importantes componentes de plantas, animais e micróbios. Gamba (2009, p. 3) diz que:

A definição de um lipídeo é baseada num conjunto de substâncias químicas que, ao contrário das outras classes de compostos orgânicos, não são caracterizadas por algum grupo funcional comum, e sim pela sua alta solubilidade em solventes orgânicos e baixa solubilidade em água. Em termos químicos, os lipídeos são uma mistura de compostos que partilham algumas propriedades baseadas em similaridades estruturais, principalmente grupos apolares.

Os lipídeos podem ser simples ou complexos. Lipídeos simples são ésteres de ácidos graxos com os mais variados alcoóis, sendo que o glicerol é o mais freqüente e, como já explicado, responsável pela formação de óleos animais e vegetais. Exemplos deste tipo de lipídeo são: a glicerina, o glicerídeo e a cera. Já os lipídeos complexos não são ésteres, mas sim moléculas grandes, freqüentemente cíclicas, contendo N, P e outros. Pode-se citar como exemplos destes os hormônios e os componentes das células nervosas e cerebrais.

1.5 Biodiesel

O biodiesel é um combustível composto por álquilésteres de ácidos graxos de cadeia longa, derivados de óleos vegetais ou de gorduras animais, conforme a especificação contida na Resolução ANP nº 7 (Agência Nacional de Petróleo, 2010). De acordo com o Programa Nacional de Produção e Uso do Biodiesel, é definido como:

biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento, para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente combustíveis de origem fóssil (nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, Art. 4, Inc.XXV).

O uso de óleos vegetais *in natura* em motores de injeção movidos a diesel pode causar uma série de problemas no motor, devido, principalmente, à alta viscosidade, baixa volatilidade, ao caráter poliinsaturado e à acidez do óleo. É possível, ainda, após longo tempo de uso do óleo vegetal para abastecer o motor, ocorrer a formação de depósitos de carbono por combustão incompleta, a diminuição da eficiência de lubrificação do óleo pela ocorrência de polimerização e o entupimento dos sistemas de injeção. Assim, há a necessidade da produção de biodiesel para o uso no motor a fim de se obter um combustível com características próximas à do diesel. O biodiesel pode ser obtido a partir de diferentes rotas tecnológicas, tais como a transesterificação, esterificação⁷ e craqueamento.

1.5.1 Transesterificação

O processo de transesterificação para a obtenção de biodiesel (Figura 1.8) é o mais utilizado atualmente nas indústrias, no qual ocorre a transformação de triglicerídeos em moléculas menores de ésteres de ácidos graxos. Neste, um éster é transformado em outro pela mudança na porção alcóxi, como mostra a Figura 1.9,

⁷ A esterificação é uma reação química na qual ácidos carboxílicos, encontrados nos óleos vegetais, reagem com um álcool, produzindo éster e água. Esta reação é, normalmente, catalisada por ácidos inorgânicos. Porém é reversível e o ácido catalisa tanto a reação direta (esterificação) como a reação inversa (hidrólise do éster). Assim, para que o deslocamento do equilíbrio seja em favor dos produtos, pode-se utilizar dois métodos: a remoção de um dos produtos, preferencialmente a água, ou utilizar um excesso de um dos reagentes, como o álcool.

por meio de três etapas: as moléculas de triglicerídeos são convertidas em diglicerídeos, depois em monoglicerídeos e, então, em glicerol⁸, produzindo um mol de éster alquílico a cada etapa reacional. Quando um éster alquílico reage com um álcool, o processo de transesterificação é denominado alcoólise (GAMBA, 2009).

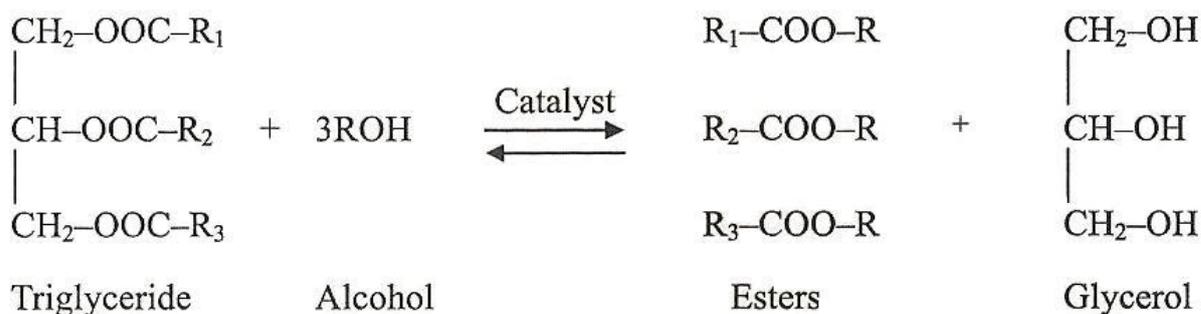


Figura 1.8: Reação geral de transesterificação, onde R é uma mistura de várias cadeias de ácidos graxos.

Fonte: Demirbas, 2008.

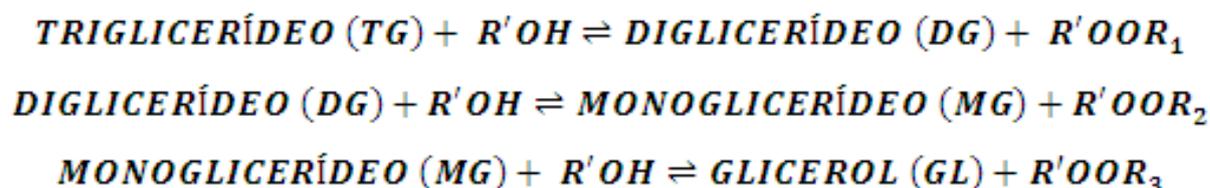


Figura 1.9: As três etapas da reação de transesterificação.

Os alcoóis, agentes da transesterificação, de uso mais comum são os metílico (metanol), etílico⁹ (etanol), propílico, butílico e amílico. O metano é mais freqüentemente utilizado por ter um preço mais acessível, mas o etanol vem ganhando espaço, principalmente no Brasil, por ser de origem renovável e pela sua disponibilidade¹⁰.

⁸ O glicerol é um sub-produto do processo de transesterificação, também conhecido por glicerina. Em média, para cada 1 tonelada de biodiesel que é fabricado, 100 kg de glicerol são produzidos. Este deve ser separado dos ésteres após a reação, geralmente via decantação ou centrifugação.

⁹ O etanol é um composto orgânico, obtido através da fermentação de substâncias amiláceas ou açucaradas, como a sacarose existente no caldo-de-cana, e também mediante processos sintéticos. Quando sua produção é feita a partir do uso de biomassa como matéria-prima, o etanol torna-se um combustível totalmente renovável, podendo ser chamado, então, de bioetanol.

¹⁰ O Brasil conta com o PróAlcool (Programa Brasileiro de Álcool), criado em 14 de novembro de 1975 pelo decreto nº 76.593, com o objetivo de estimular a produção do álcool e de suas matérias-primas. Por exemplo, na safra 2009/2010 foram produzidos 25,7 bilhões de litros de álcool no Brasil (BRASIL, 2010b).

A reação de transesterificação é reversível, logo seu rendimento dependerá do deslocamento do equilíbrio químico em favor dos ésteres e, para tal, deve-se utilizar álcool em excesso. Outros fatores que influenciam o bom rendimento da reação são a concentração de catalisador, a temperatura e a agitação do meio reacional. De acordo com Gamba (2009, p.12):

Deve-se considerar cada processo individualmente, estabelecendo a relação ideal de álcool/óleo, pois uma quantidade muito excessiva de álcool dificulta a recuperação do glicerol. Devido esse excesso, há um aumento na solubilidade, e quando a glicerina permanece na solução ocorre deslocamento do equilíbrio no sentido dos reagentes, diminuindo o rendimento dos ésteres.

A reação de transesterificação pode ser realizada via catálise ácida, básica ou enzimática¹¹, por craqueamento térmico¹² (pirólise) ou por fluidos supercríticos¹³.

1.5.1.1 Transesterificação Via Catálise Básica

O uso de uma base como catalisador no processo de transesterificação geralmente se dá quando a quantidade de ácidos graxos livres encontrada no triglicerídeo empregado possui baixo teor (menor que 3%), pois com porcentagens elevadas desses haveriam reações de saponificação, diminuindo a eficiência da conversão. As bases mais comumente empregadas são o hidróxido de sódio (NaOH), o hidróxido de potássio (KOH), o metóxido de sódio (MeONa) e o metóxido de potássio (MeOK), numa razão molar variando de 1:1 a 6:1 em relação ao álcool. A transesterificação alcalina ocorre, aproximadamente, 4000 vezes mais rápida do que a ácida (o tempo de reação varia de 30 minutos a 8 horas).

¹¹ A transesterificação via catálise enzimática será comentada separadamente, por fazer parte do objeto de estudo deste trabalho.

¹² O craqueamento térmico é o processo que provoca a quebra de moléculas por aquecimento a temperaturas superiores à 450°C, na ausência de ar ou oxigênio. O resultado é a formação de uma mistura de compostos químicos (ésteres etílicos ou metílicos de ácidos graxos e frações de alcanos e alcenos) com propriedades muito semelhantes às do diesel de petróleo (SILVA, 2010).

¹³ Na transesterificação por fluidos supercríticos, o álcool reage com o óleo a altas pressões (19 MPa) e altas temperaturas (350°C), vaporizando a mistura homogeneamente, e fazendo com que o solvente supercrítico assuma natureza hidrofílica, com baixa constante dielétrica.

O metanol é mais utilizado que o etanol quando se trata de transesterificação por bases. O metanol reage rapidamente com o triglicerídeo, dissolvendo facilmente o catalisador básico. A mesma reação com o uso do etanol é mais complicada, pois se deve aplicar álcool anidro para minimizar a formação de ácidos graxos livres e a consequente formação de sabões.

Os catalisadores alcalinos são mais baratos e menos corrosivos que os ácidos, agredindo em menor escala os equipamentos. Além disso, exigem menores razões molares entre o álcool e o óleo vegetal e altas conversões são facilmente alcançadas. Portanto, é o catalisador mais empregado comercialmente.

Após a reação, deve-se separar os ésteres formados dos sabões, do catalisador residual e do glicerol. Isto é realizado através de repetitivas lavagens, as quais usam grande quantidade de água, e a adição de ácido para neutralizar o pH do biodiesel.

1.5.1.2 Transesterificação Via Catálise Ácida

Apesar de ser mais lenta que a transesterificação via bases, a via ácidos é mais eficiente quando o óleo usado possui alta concentração de ácidos graxos livres e água, como é o caso de óleos residuais de frituras, podendo obter conversões de até 99% dos ácidos graxos.

Os ácidos mais utilizados como catalisadores são o ácido sulfúrico (H_2SO_4), o ácido clorídrico (HCl), o ácido fosfórico (H_3PO_4) e ácidos sulfônicos orgânicos. A razão molar do óleo é geralmente de 30:1 em relação ao álcool. Para bons resultados, a temperatura geralmente deve ser maior que $100^\circ C$ e o tempo de reação maior que 3 horas.

Como na catálise básica, os resíduos de catalisador devem ser completamente eliminados do produto final, o que leva à uma série de lavagens com

água. A contaminação do biodiesel com ácidos residuais pode causar corrosão de partes metálicas do motor.

1.6 Propriedades do Biodiesel

O biodiesel é composto por álquilésteres de ácidos graxos. Estes ácidos graxos diferem entre si a partir de três características: o tamanho da sua cadeia hidrocarbônica, o grau de insaturação e a presença de ramificações. Estas características estruturais das moléculas de ácidos graxos determinam as propriedades finais do biodiesel.

Quanto maior a cadeia hidrocarbônica dos AG, maior será o número de cetano (NC), a lubricidade, o ponto de névoa e o ponto de entupimento do combustível. Quanto menor o número de insaturações (duplas ligações) nas moléculas, maior será o número de cetano do combustível. Porém um grande aumento no número de cetano ocasiona aumento no ponto de névoa e de entupimento. Já um elevado número de insaturações torna as moléculas menos estáveis quimicamente, provocando oxidações, degradações e polimerizações do combustível.

1.6.1 Número de Cetano

O número de cetano é um indicativo adimensional da qualidade de ignição de um combustível diesel. Este pode ser determinado pelo tempo de retardamento da ignição, isto é, pelo tempo que passa entre a injeção do combustível nos cilindros e a ocorrência da ignição. Os valores do número de cetano do combustível fora da faixa adequada para combustíveis diesel ocasionam problema no desempenho do motor. Para combustíveis com alto número de cetano, a combustão pode ocorrer antes do combustível e do ar estarem corretamente misturados, resultando em uma combustão incompleta e emissão de fumaça. Já baixos valores de número de cetano ocasionam trepidações no motor, falhas no funcionamento, aumento excessivo na temperatura do ar e aquecimento lento do motor na partida fria. Os

fabricantes de motores a diesel recomendam o uso de combustível com número de centro na faixa de 40 a 50 (SILVA, 2009).

1.6.2 Viscosidade Cinemática

A viscosidade é considerada a propriedade mais importante do biodiesel, uma vez que afeta a operação de injeção do combustível, principalmente em baixas temperaturas, quando o aumento da viscosidade afeta a fluidez do combustível (DEMIRBAS, 2008).

A viscosidade cinemática pode ser definida como uma resistência à vazão, associada à fricção ou atrito interno de uma parte do fluido que escoa sobre a outra. Quanto maior a viscosidade do combustível, maior é a tendência de ocasionar problemas no processo de atomização e a conseqüente formação de depósitos dentro do motor, pode levar à entupimento de bicos injetores e graves danos no sistema de injeção.

A determinação experimental da viscosidade cinemática é efetuada pela medição do tempo de escoamento de um volume de biodiesel, fluindo sob gravidade, através de um viscosímetro capilar de vidro calibrado, na temperatura de 40°C.

1.6.3 Ponto de Fulgor

O ponto de fulgor (PF) é a menor temperatura na qual o combustível, em presença de uma chama ou faísca, gera uma quantidade de vapores suficiente para formar uma mistura inflamável. Assim, este parâmetro está relacionado à inflamabilidade do produto, sendo um indicativo dos procedimentos de segurança a serem adotados durante o uso, transporte, armazenamento e manuseio do biodiesel. A ANP estabelece o valor mínimo de 100 °C para o ponto de fulgor do biodiesel.

1.6.4 Ponto de Névoa e Ponto de Entupimento

Quando o biodiesel é resfriado abaixo de certa temperatura, algumas moléculas agregam-se, formando cristais. O combustível começa a apresentar-se turvo à medida que os cristais se tornam maiores do que um quarto do comprimento de onda da luz visível. Esta temperatura é definida como o ponto de névoa (PN), ou ponto de turbidez (PT). O ponto de entupimento, ou ponto de entupimento de filtro a frio, é a menor temperatura na qual o combustível pode passar por um filtro de 45 microns.

A Tabela 1.1 traz uma comparação entre as propriedades do diesel mineral e do biodiesel metílico obtido a partir de diferentes matérias-primas. A partir desta, é possível notar a semelhança entre estes dois combustíveis, a qual faz com que seja possível o uso do biodiesel em motores diesel, bem como a realização da mistura diesel + biodiesel.

Tabela 1.1: Dados comparativos entre as propriedades do biodiesel metílico obtido de diferentes matérias-primas e do diesel mineral.

Matéria prima	Viscosidade Cinemática (37,8°C; mm ² /s)	Número de Cetano	Ponto de Névoa (°C)	Ponto de Fulgor (°C)	Densidade (g/L)
Amendoim	4,9	54	5	176	0,883
Soja	4,5	45	1	178	0,885
Babaçu	3,6	63	4	127	0,869
Palma	5,7	62	13	164	0,880
Girassol	4,6	49	1	183	0,860
Sebo bovino	4,99	61,8	15,6	187,8	-
Milho (residual)	6,23	63,9	-	166	0,884
Colza (residual)	9,49	53	-	192	0,895
Colza	4,2	51-59,7	-3,9	-	0,882
Diesel nº 2	2,7	47	-15	52	0,83-0,84

Fonte: Demirbas, 2008; Knothe et al., 2006.

1.6.5 Teor de Água

A água pode estar presente no combustível da forma dispersa em gotículas ou dissolvida. Embora geralmente insolúvel, o biodiesel absorve maior quantidade de água que o diesel, podendo conter 1500 mg/kg de água dissolvida, enquanto que o diesel tem 50 mg/kg. A quantidade limite para ambos é de 500 mg/kg. A água em suspensão representa problemas para o sistema de injeção de combustível do motor, pois pode contribuir para a corrosão de componentes e comprometer seu funcionamento.

1.6.6 Teor de Enxofre

O teor de enxofre e de hidrocarbonetos aromáticos são características importantes relacionadas aos impactos ambientais das emissões de gases. Geralmente óleos vegetais são livres de enxofre e o biodiesel possui quantidades muito baixas. O valor máximo de enxofre estabelecido para o biodiesel é de 10 mg/kg.

1.6.7 Índice de Acidez

O índice de acidez (IA) é definido como a massa (em mg) de hidróxido de potássio ou sódio necessária para neutralizar os ácidos graxos livres não esterificados. É responsável por revelar o estado de conservação do biodiesel, pois, com o tempo, ocorre a hidrólise dos ésteres, diminuindo o pH devido ao aumento do teor de ácidos graxos livres.

Um elevado índice de acidez do óleo utilizado com matéria-prima para o biodiesel dificulta a reação de transesterificação. Já um biodiesel com elevado IA pode provocar processos corrosivos em componentes do motor ou se deteriorar.

1.6.8 Índice de Iodo

O índice de iodo (II) indica o número de ligações duplas na estrutura molecular dos ésteres que compõem o biodiesel. Influencia na duração da estabilidade das propriedades do biodiesel, tais como densidade, viscosidade e estabilidade de oxidação.

A estabilidade de oxidação representa o pré-envelhecimento do biodiesel. Sua oxidação ocorre quando exposto ao ar ou estocado por longos períodos, causando modificações na viscosidade, densidade, índice de acidez, de peróxidos e calor de combustão.

1.7 Vantagens e Desvantagens do Uso do Biodiesel

Como os demais combustíveis existentes, o biodiesel possui vantagens e desvantagens, as quais devem ser levadas em consideração durante a escolha do tipo de combustível a ser utilizado.

1.7.1 Vantagens do Uso do Biodiesel

Em comparação ao diesel de petróleo:

- Possui caráter não-tóxico e biodegradável, sendo proveniente de fontes renováveis
- É essencialmente livre de enxofres e aromáticos.
- É um ótimo lubrificante, pode aumentar a vida útil do motor.
- Possui alto ponto de fulgor (cerca de 170°C, enquanto que o do diesel é de 52°C), o que leva a um menor risco de explosão. Assim, é de fácil transporte e armazenamento.
- O calor produzido por litro de biodiesel queimado é quase igual ao do diesel.
- Pode ser produzido em pequenas escalas e ajuda na redução da importação de petróleo (MACEDO; MACEDO, 2010; WOLFF; BAGGIO; ANTUNES; FURIGO, 2010).

Em relação ao meio ambiente:

- Sua obtenção e queima não contribuem para o aumento das emissões de CO₂ na atmosfera. A emissão de gases dos veículos que utilizam biodiesel é zerada pelas plantações de oleaginosas destinadas à sua fabricação.

Em relação à sociedade:

- O produtor estará fazendo rotação de culturas em sua propriedade, incorporando nutrientes na sua lavoura.
- Contribui para a geração de empregos no setor primário, ajudando no desenvolvimento social.
- Evita o êxodo do trabalhador rural, reduzindo o crescimento demasiado das grandes cidades (WOLFF; BAGGIO; ANTUNES; FURIGO, 2010).

1.7.2 Desvantagens do Uso do Biodiesel

- A grande quantidade de glicerina obtida como subproduto da produção do biodiesel pode ultrapassar a quantidade suportada pelo mercado.
- A queima parcial da glicerina gera acroleína, produto suspeito de ser cancerígeno.
- Existe uma preocupação com o crescimento das lavouras de oleaginosas destinadas ao biodiesel, que pode invadir diversas áreas, como florestas, mudando a flora e a fauna natural.
- Há, também, uma preocupação com o aumento do preço dos alimentos, ocasionado pelo aumento da demanda de matéria-prima para a produção de biodiesel (WOLFF; BAGGIO; ANTUNES; FURIGO, 2010).

1.8 Enzimas

As enzimas são um grupo de substâncias orgânicas de natureza normalmente protéica que atuam como catalisadores biológicos de altíssima eficiência. Quimicamente, são macromoléculas de alta massa molecular formadas por subunidades conhecidas por aminoácidos, unidos por ligações peptídicas. A interação das cadeias laterais presentes força a enzima a adotar uma estrutura

tridimensional (estrutura terciária), que é responsável pela atividade química (sítio catalítico). A forma estrutural das enzimas é difícil de ser determinada, uma vez que as suas cadeias polipeptídicas são extensas e assumem um arranjo espacial complexo, como mostra a Figura 1.10 (NETO, 2002).

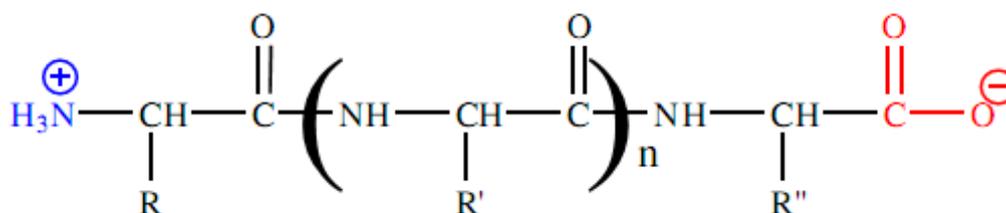


Figura 1.10: Estrutura genérica de um polipeptídeo mostrando à direita o resíduo C-terminal e à esquerda o N-terminal.

Fonte: Neto, 2002.

Como catalisadores, as enzimas possuem a vantagem de operar em condições suaves, como baixa pressão, temperatura ambiente. E pH próximo à neutralidade. As velocidades de reações catalisadas por enzimas podem ser até 10^{12} vezes maiores do que as não catalisadas. Segundo Neto (2002), “uma enzima geralmente catalisa uma única reação química ou um conjunto de reações intimamente relacionadas. Reações colaterais que levam ao desperdício de formação de produtos secundários raramente ocorrem”.

Quanto à nomenclatura das enzimas, o sufixo “ase” é muito utilizado, unido ao substrato da reação. Porém algumas enzimas mantêm seu nome original, que não fornece indicação sobre a reação enzimática associada. A União Internacional de Bioquímica e Biologia Molecular (IUBMB) reconhece a existência de 3000 diferentes enzimas (GAMBA, 2009, p. 19), classificadas em seis classes principais e várias subclasses, como pode ser visto na Tabela 1.2.

Todas as enzimas possuem um código EC do tipo A.B.C.D, onde EC representa Enzyme Commission, A é o tipo principal de reação, B indica a posição do substrato ou da molécula transferida, C indica a natureza do co-substrato e D é o número individual da enzima. Neto (2002) cita o exemplo do código 3.1.1.3, correspondente à lipase de *Chromobacterium viscosum*: “3 corresponde a classe das

hidrolases; 3.1 atua sobre as ligações de ésteres; 3.1.1 indica que é hidrolases de ésteres carboxílicos e 3.1.1.3 é o número de séria da enzima em sua subclasse”.

Tabela 1.2: Sistema de classificação funcional das enzimas, segundo a IUBMB.

Classes de Enzimas	Algumas subclasses	Tipos de Reações Catalisadas
Oxidoredutases	Desidrogenases	Formação de ligação dupla por eliminação de H ₂
	Oxidases	Oxidação
	Redutases	Redução
Transferases	Quinase	Transferência de um grupo fosfato
	Transaminase	Transferência de um grupo amino
Hidrolases	Nucleases	Hidrólise de um grupo fosfato
	Lapases	Hidrólise de um grupo éster
	Proteases	Hidrólise de um grupo amido
Lipases	Decarboxilases	Eliminação de CO ₂
	Desidrases	Eliminação de H ₂ O
Isomerases	Epimerases	Isomerização de um centro estereogênico
Ligases	Carboxilases	Adição de CO ₂
	Sintetases	Formação e clivagem de ligações C-O, C-S, C-N, C-C

Fonte: Gamba, 2009; Neto, 2002.

As enzimas utilizadas na reação de transesterificação podem ser imobilizadas. Esta técnica retém as suas atividades catalíticas e permite que a enzima seja usada repetida e continuamente. Desta forma, o produto da reação apresenta as seguintes vantagens: inexistência de rejeito aquoso alcalino, menor produção de outros contaminantes, maior seletividade, bons rendimentos e reutilização em outras reações, além de melhorar a estabilidade e atividade da enzima.

1.8.1 Lipases

As lipases são as enzimas que catalisam naturalmente a hidrólise de triglicerídeos em ácidos graxos, diacil gliceróis, monoacilgliceróis e glicerol. Estas podem ser encontradas na natureza e são produzidas intra e extracelularmente em

diversos microrganismos, predominantemente, nas bactérias (*Bukholdeira cepacia*, *Pseudomonas alcaligenes*, *Pseudomonas mendocina*, *Chromobacterium viscosum*), nos fungos (*Candida rugosa*, *Candida antarctica*, *Thermomyces lanuginosus*, *Rhizomucor miehei*) e nas leveduras (OBREGÓN, 2010). As lipases são usualmente estáveis em soluções aquosas neutras à temperatura ambiente. A maioria das lipases apresenta sua atividade ótima na faixa de temperatura de 30 a 40°C.

As principais reações catalisadas por lipases estão dispostas na Figura 1.11, sendo que as três últimas são chamadas, freqüentemente, de transesterificação. As lipases mais utilizadas na produção de biodiesel, em trabalhos científicos, são: *Pseudomonas cepacia*, *Pseudomonas fluorescens*, *Candida antarctica* e *Rhizopus oryzae* (GAMBA, 2009).

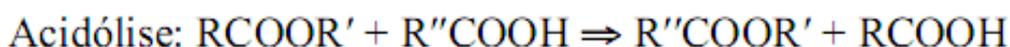
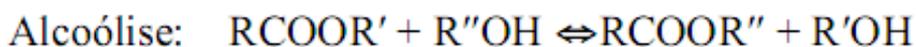
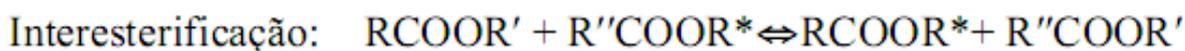
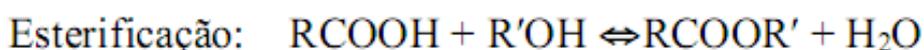
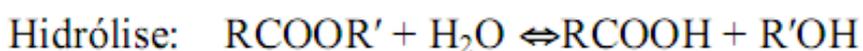


Figura 1.11: Principais reações catalisadas por lipases.

Fonte: Gamba, 2009.

De acordo com Rodrigues (2009, p. 6):

As razões para o enorme potencial biotecnológico de lipases microbianas incluem os fatos de que elas são (1) estáveis em solventes orgânicos, (2) não necessitam de co-fatores, (3) possuem uma grande especificidade de substrato e (4) exibem uma alta enantioseletividade.

A Tabela 1.3 mostra um estudo feito sobre a alcoólise do óleo de girassol a partir de três diferentes lipases, com o uso de etanol, metanol, n-propanol, n-butanol e n-pentanol, para as condições com e sem solvente. Nota-se que o melhor

rendimento obtido (99%) foi na reação de transesterificação com a lipase *Pseudomonas fluorescens* e etanol (NETO, 2002).

Tabela 1.3: Rendimento de ésteres (em %) obtidos através da reação de transesterificação via catálise enzimática do óleo de girassol.

	Álcoois	Lipases		
		<i>P.fluorescens</i>	<i>Mucor miehei</i>	<i>Candida sp</i>
Com solvente	MeOH	79	25	53
	EtOH (96%)	99	82	79
	n-PrOH	81	80	29
Sem solvente	MeOH	3	-	-
	EtOH (anidro)	70	-	-
	EtOH (96%)	82	-	-
	n-ButOH	76	-	-

Fonte: Neto, 2002.

1.9 Vantagens e Desvantagens da Catálise Enzimática

Tabela 1.4: Vantagens e desvantagens da catálise enzimática comparada à catálise química.

	Catálise enzimática	Catálise química
Vantagens:	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Facilidade da separação do catalisador; ▪ Fácil purificação dos ésteres alquílicos; ▪ Inexistência de rejeito aquoso alcalino ou ácido; ▪ Menor gasto energético (baixas temperaturas); ▪ Fácil recuperação do glicerol; ▪ Bons rendimentos; ▪ Alta seletividade. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Simplicidade; ▪ Alto rendimento; ▪ Curto tempo de reação; ▪ Uso de produtos mais baratos.
Desvantagens:	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Longo tempo de reação; ▪ Alto custo das enzimas. 	<ul style="list-style-type: none"> ▪ Dificuldade de separação do catalisador; ▪ Impossibilidade da reutilização do catalisador; ▪ Obtenção de produtos com menor grau de pureza; ▪ Necessidade de tratamento de água após a transesterificação.

Fonte: Macedo; Macedo, 2010; Wolff; Baggio; Antunes; Furigo, 2010.

A Tabela 1.4 compara as vantagens e desvantagens da obtenção de biodiesel via catálise enzimática e via catálise química (ácida ou básica). Nota-se, a partir desta, que o uso de enzimas para a produção de biodiesel é promissor, porém suas desvantagens ainda devem ser superadas. Este é o caso do alto preço de obtenção das enzimas e o baixo rendimento destas reações.

1.10 Líquidos Iônicos

Os líquidos iônicos¹⁴ (LI) são uma nova classe de compostos que vêm sendo utilizados como solventes em reações químicas e processos de extração. Podem ser definidos como sais constituídos de cátions orgânicos complexados com ânions orgânicos ou inorgânicos, líquidos à temperatura ambiente (SOLVIONIC, 2011). Algumas das famílias mais importantes dos LI são baseadas em imidazólio, piridínio, fosfônio, amônio, sulfônio e guanidínio (PACHECO, 2010). A Figura 1.12 mostra a estrutura dos cátions imidazólio, amônio e fosfônio respectivamente, onde R_x são os grupos constituintes.

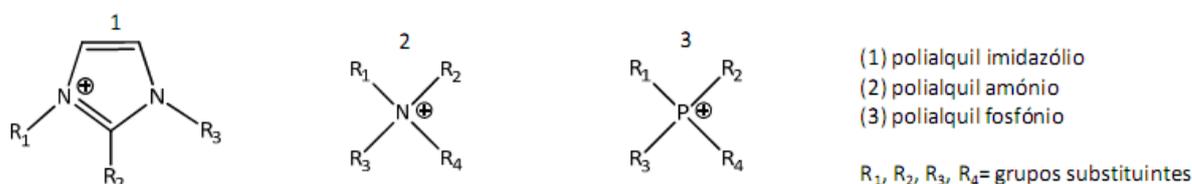


Figura 1.12: Estrutura dos cátions imidazólio, amônio e fosfônio.

Fonte: Pacheco, 2010.

As propriedades físico-químicas de um LI variam de acordo com a natureza e tamanho dos dois íons que o constituem. Dentre as propriedades gerais dos LI, pode-se citar (GAMBA, 2009; SOLVIONIC, 2011):

- Permanecem líquidos dentro de uma janela ampla de temperatura (<300°C);
- São excelentes solventes, possuindo estrutura organizada;
- São bons condutores de eletricidade (eletrólitos);
- Possuem boa estabilidade térmica e química;
- Possuem viscosidade relativamente baixa;

¹⁴ Também conhecidos como sais fundidos à baixa temperatura ou, ainda, como solventes iônicos (SOLVIONIC, 2011).

- Possuem ponto de fusão inferior à 100°C;
- Possuem pressão de vapor desprezível;
- Possuem densidade elevada;
- Não são inflamáveis; e
- Não são voláteis

Gamba (2009, p. 26) comenta a respeito da vantagem dos LI contra outros solventes orgânicos, devido à versatilidade de suas propriedades:

[...] uma vantagem óbvia de se usar líquidos iônicos ao invés de solventes orgânicos normais é que as propriedades como, polaridade, hidrofobicidade, viscosidade, miscibilidade do solvente, entre outras características, podem ser moduladas com a combinação adequada do ânion e dos substituintes alquila sobre o cátion [...] manipulando-se as propriedades, pode-se sintetizar um líquido iônico para condições específicas de reação.

Assim sendo, diversas pesquisas vêm sendo realizadas com o objetivo de produzir LI com diferentes combinações de íons, de forma a encontrar LI que possuam as melhores propriedades possíveis para cada aplicação desejada. Além disso, os LI ainda possuem custos elevados de fabricação, o que vem a ser um empecilho para seu uso como solvente na reação de transesterificação de óleos vegetais.

De acordo com Earle; Plechkova; Seddon, 2011, a síntese de biodiesel em líquido iônico pode ser dos seguintes tipos:

- Catálise ácida e básica de Bronsted e de Lewis;
- Catálise enzimática.

1.11 Biodiesel Catalisado por Enzimas Suspensas em Líquidos Iônicos

A transesterificação de óleos vegetais com catalisação enzimática em líquidos iônicos vem ganhando cada vez mais espaço em pesquisas. As enzimas possuem altíssima eficiência catalítica enquanto que os líquidos iônicos são considerados

solventes “verdes”, com grande potencial para a redução do impacto ambiental causado por processos químicos (GAMBA, 2009).

O biodiesel enzimático com LIs possui diversas vantagens quando comparado com o biodiesel com catalisadores ácidos ou básicos. O próprio fato de não haver uso de ácidos ou bases faz com que esse processo seja mais seguro e não-corrosivo. O LI pode ajudar a melhorar a estabilidade das enzimas, além das atividades desta em solventes orgânicos. A reação pode ser feita à temperatura ambiente, sem a necessidade de aquecimento, o que é uma grande vantagem quando se refere à produção de biodiesel em grandes quantidades.

O uso de álcool em excesso, para que o equilíbrio químico da reação não se desloque para o sentido dos reagentes, faz com que o glicerol formado se solubilize no biodiesel/enzima, diminuindo as atividades catalíticas da enzima. Entretanto, quando um LI é utilizado com solvente, a enzima se mantém suspensa no líquido, como um pó. Isto estabiliza a enzima e faz com que ela possua atividades catalíticas superiores, aumentando o rendimento de ésteres.

Após o término da reação, o sistema enzimas imobilizadas/LI pode ser facilmente separado do biodiesel e do glicerol por decantação, uma vez que não é solúvel em nenhum deste (RODRIGUES, 2009, p. 12). O sistema recuperado enzimas/LI pode ser reutilizado pelo menos quatro vezes, sem perder a atividade catalítica e seletividade (EARLE; PLECHKOVA; SEDDON, 2011; GAMBA, 2009).

A síntese de biodiesel com o uso de enzimas como catalisadores e líquidos iônicos como solventes não é viável atualmente para o uso em usinas de biodiesel, pelo fato de que estes são bastante caros. Assim, a busca pelo desenvolvimento de novos LI, que possam ser produzidos de forma mais econômica, além da busca por LI e enzimas que possuam maior eficiência para a transesterificação de ésteres é de grande importância para viabilizar o uso deste sistema, LI/enzimas, na produção em grandes escalas.

1.12 Cromatografia

A cromatografia pode ser definida como uma técnica de separação de misturas e identificação de seus componentes, a partir da passagem de uma mistura através de duas fases: uma estacionária e outra móvel. A interação dos componentes da mistura com estas duas fases é influenciada por diferentes forças intermoleculares, incluindo iônica, bipolar, apolar, e específicos efeitos de afinidade e solubilidade.

Existem diversas técnicas de cromatografia, estas são classificadas como mostra o esquema da Figura 1.13.

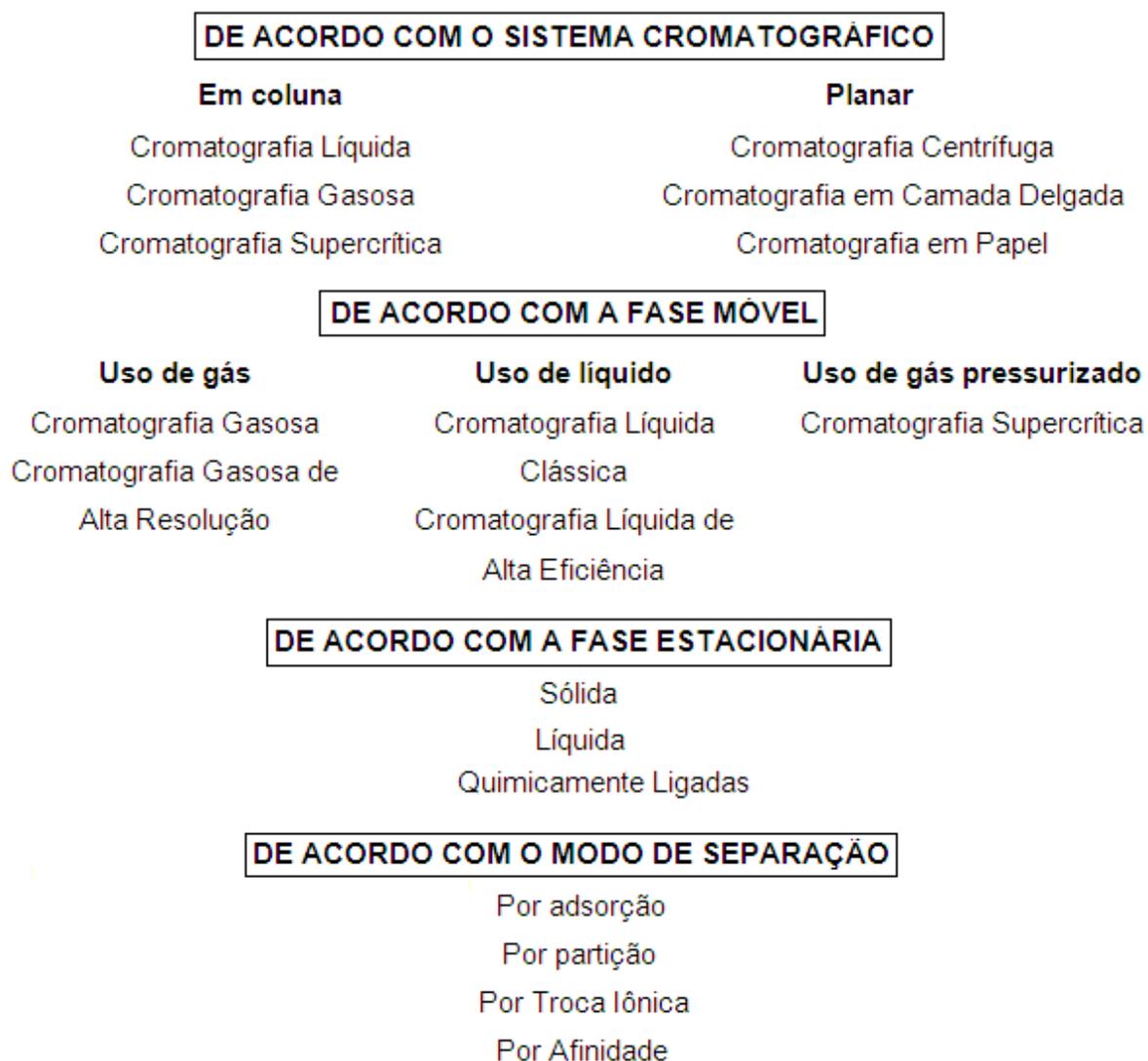


Figura 1.13: Esquema de classificação das diferentes técnicas de cromatografia.

1.12.1 Cromatografia em Camada Delgada

A Cromatografia em camada delgada (CCD) é uma técnica de adsorção líquido-sólido. Nesse caso, a separação se dá pela diferença de afinidade dos componentes de uma mistura pela fase estacionária.

A Figura 1.14 mostra um cromatograma obtido por camada delgada, no qual nota-se a diferença de afinidade das substâncias 1 e 2 pela fase estacionária, sendo a substância 1 mais retida que a 2. R_f é o fator de retenção, ou seja, a razão entre distância percorrida pela fase móvel.

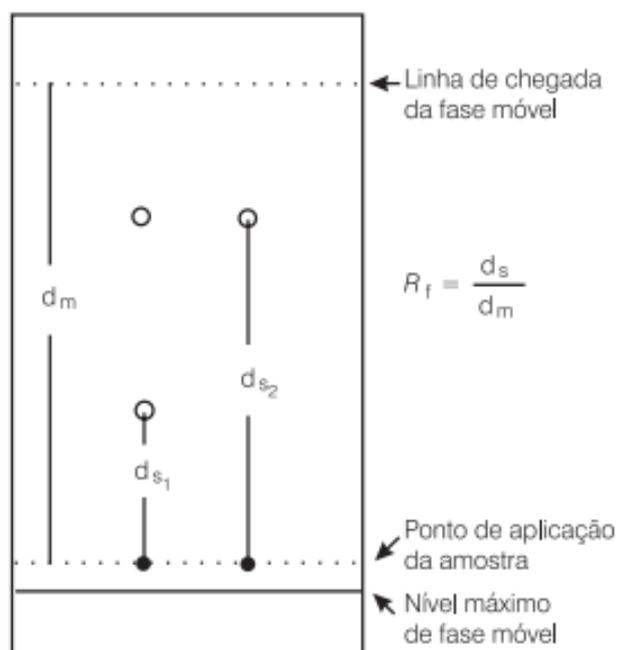


Figura 1.14: Exemplo de cromatograma obtido Por camada delgada.

Fonte: Degani; Cass; Vieira, 2010.

A fase estacionária mais utilizada é a sílica gel. As amostras a serem analisadas por CCD devem ser aplicadas a aproximadamente 1 cm da base inferior da placa, com a ajuda de um capilar. Após a aplicação da (s) amostra (s) sobre a placa, a mesma deve ser introduzida numa cuba contendo a fase móvel adequada (solvente), onde é deixada até que o solvente suba, por capilaridade, a aproximadamente 2 cm da extremidade superior. Na subida, o solvente irá arrastar

mais os compostos menos adsorvidos na fase estacionária, separando-os dos mais adsorvidos.

Um dos métodos de revelação da placa é o iodo. Este vale-se do fato de que o iodo complexa-se com compostos insaturados, de modo que placas que os contenham, ao serem colocadas em uma câmara com cristais de iodo, apresentarão pontos amarronzados (DEGANI; CASS; VIEIRA, 2010).

2 METODOLOGIA

2.1 Geral

Para o preparo das amostras de biodiesel utilizou-se álcool etílico ABS 99,5% disponível no laboratório¹⁵; enzimas adquiridas de fontes comerciais (Aldrich e Amano) e sem purificação adicional; líquidos iônicos preparados e gentilmente doados pelo Prof. Dr. José Eduardo Damas Martins¹⁶; e óleo de soja.

A análise das amostras foi realizada por meio de Cromatografia em Camada Delgada, como descrito na bibliografia¹⁷. Para tal, utilizou-se placas cromatográficas em sílica gel da marca Alugram® Sil G; hexano, acetato de etila e ácido acético como fase móvel, nas proporções 90:10:1; e vapor de iodo.

2.2 Seleção das Enzimas

Para a seleção das enzimas a serem suspensas em LI para a síntese do biodiesel fez-se, inicialmente, amostras de biodiesel sem o uso de LIs. Estas amostras foram preparadas com os seguintes reagentes:

- 0,1 g de lipase;
- 0,1 mL de óleo de soja;
- 3,5 mL de etanol (álcool etílico ABS 99,5%); e
- 5,0 mL de butanol (álcool N butílico 99%);

A reação ocorreu durante 192 horas (8 dias) sob agitação magnética a temperatura ambiente. A tabela 2.1 mostra a relação de enzimas utilizadas para as seis amostras feitas.

¹⁵ Cental de Laboratórios da UNIPAMPA – Campus Bagé.

¹⁶ Professor Adjunto I no Departamento de Química Orgânica da Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS).

¹⁷ Degani; Cass; Vieira, 2010, p. 2.

Estas amostras foram analisadas qualitativamente por CCD e os resultados podem ser vistos na Figura 2.1. Nota-se que, das seis amostras produzidas, as que apresentaram melhor resultado foram as amostras I (Figura 2.1 a), II (Figura 2.1 b) e IV (Figura 2.1 d), com as enzimas *Lipozyme*, *Lipase PSC-I* e *Lipase G “Amano” 50*, respectivamente.

Tabela 2.1: Enzimas utilizadas para as amostras de biodiesel preparadas com solvente orgânico (sem o uso de líquidos iônicos).

	Lipase
Amostra I	<i>Lipozyme</i>
Amostra II	<i>Pseudomonas cepacia</i> PSC-I
Amostra III	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
Amostra IV	<i>Lipase G “Amano” 50</i>
Amostra V	<i>Lipase A “Amano” 12-K</i>
Amostra VI	<i>Lipase AY “Amano” 30G</i>

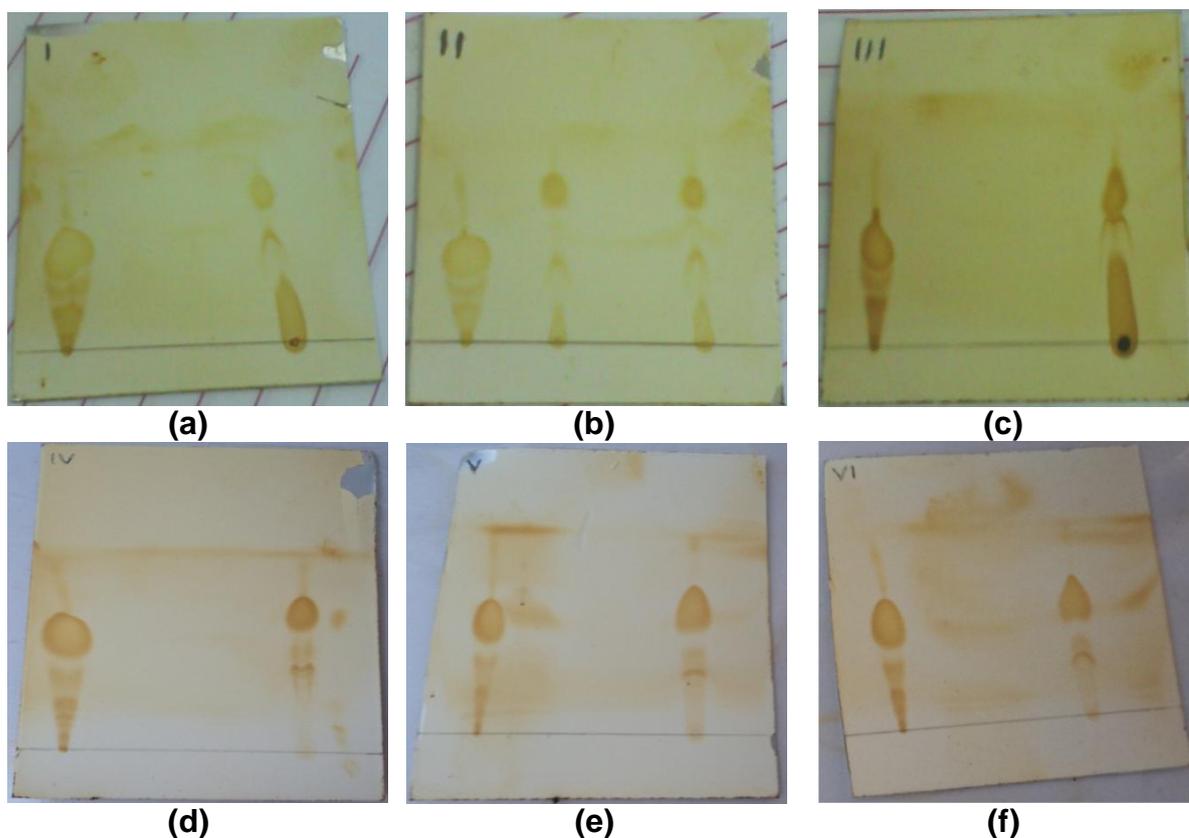


Figura 2.1: Análise por Cromatografia em Camada Delgada das amostras catalisadas pelas enzimas (a) *Lipozyme*, (b) *Pseudomonas cepacia* PSC-I, (c) *Pseudomonas fluorescens*, (d) *G “Amano” 50*, (e) *A “Amano” 12-K* e (f) *AY “Amano” 30G*.

A amostra II foi a que gerou melhor resultado, uma vez que os ácidos graxos contidos no óleo de soja desta foram quase totalmente transesterificados. Assim, a lipase *Pseudomonas cepacia* PSC-I foi selecionada para ser utilizada na síntese de biodiesel com líquidos iônicos.

A enzima *Pseudomonas fluorescens* foi a segunda lipase escolhida para catalisar a reação de transesterificação com LIs como solvente. Esta enzima foi escolhida aleatoriamente.

A Tabela 2.2 traz uma relação das enzimas utilizadas durante este trabalho.

Tabela 2.2: Enzimas utilizadas para as amostras de biodiesel preparada com o uso de líquidos iônicos como solventes.

	Lipase
Enzima 1	<i>Pseudomonas cepacia</i> PSC-I
Enzima 2	<i>Pseudomonas fluorescens</i>

2.3 Líquidos Iônicos

Utilizou-se cinco diferentes líquidos iônicos como solvente nas reações produzidas: Metóxi-etil-piridínio- CH_3SO_3^- ; Di-metóxi-etil-imidazólio- NTf_2^- ; Metóxi-etil-piridínio- NTf_2^- ; N-butil-N-metóxi-etil-pirrolidinium- NTf_2^- ; e Metóxi-etil-metil-imidazólio- NTf_2^- . Criou-se abreviatura para cada nome de LI, como mostra a Tabela 2.3. Já a Figura 2.2 traz a fórmula estrutural de cada LI utilizado.

Tabela 2.3: Líquidos iônicos usados nas amostras de biodiesel.

	Abreviatura	Líquido iônico
LI 1	MEP. CH_3SO_3^-	Metóxi-etil-piridínio- CH_3SO_3^-
LI 2	DMEI. NTf_2^-	Di-metóxi-etil-imidazólio- NTf_2^-
LI 3	MEP. NTf_2^-	Metóxi-etil-piridínio- NTf_2^-
LI 4	NBNMEP. NTf_2^-	N-butil-N-metóxi-etil-pirrolidinium- NTf_2^-
LI 5	MEMI. NTf_2^-	Metóxi-etil-metil-imidazólio- NTf_2^-

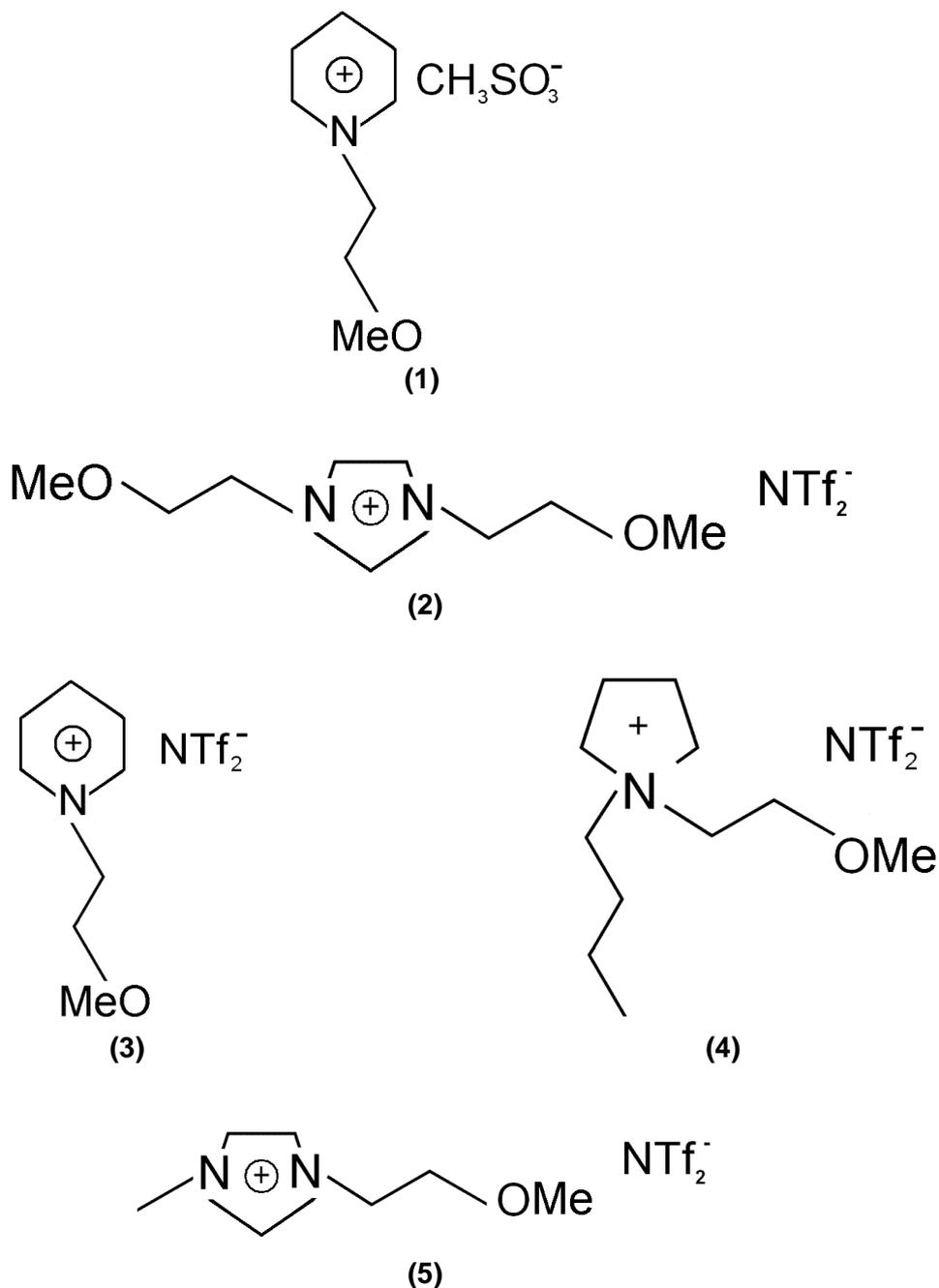


Figura 2.2: Fórmula estrutural dos LIs: (1) MEP. CH_3SO_3^- , (2) DMEI. NTf_2^- , (3) MEP. NTf_2^- , (4) NBNMEP. NTf_2^- e (5) MEMI. NTf_2^- .

2.4 Seleção do Álcool

O álcool mais utilizado para a produção de ésteres alquílicos atualmente é o metanol (MeOH), devido ao seu baixo custo e maior disponibilidade na Europa, Japão e Estados Unidos (MACEDO; MACEDO, 2010). Entretanto, o metanol é um produto tóxico, prejudicial aos seres humanos e ao meio ambiente.

A produção de biodiesel por rota etílica torna-se viável no Brasil, pois devido à existência do Proálcool, este é o maior produtor de etanol do mundo. Isso faz com que o preço do etanol seja mais barato que o do metanol no Brasil diminuindo, conseqüentemente, o preço do biodiesel. Além disso, o etanol é um produto 100% renovável, quando sua obtenção é feita utilizando biomassa como matéria-prima, enquanto que o metanol é adquirido a partir do petróleo (FERRÃO-GONZALES, 2010).

De acordo com Rodrigues (2009, p. 10), o etanol apresenta melhores resultados quando a reação é realizada a baixas temperaturas, pois nestes casos o metanol pode estar envolvido em processo de inativação das enzimas. Gamba (2009, p. 41) obteve, em suas pesquisas, diversos resultados favoráveis ao uso do etanol, como é o caso de reações catalisadas pelas lipases PSC-I, PSC-II, PSD-I e *Rhizomucor miehei* suspensas em LIs.

Assim, para a realização desta pesquisa utilizou-se o álcool etílico ABS 99,5% na reação de transesterificação do óleo de soja.

2.5 Quantidade de Reagentes

A quantidade de reagentes utilizada para a realização das amostras de biodiesel catalisadas pelo sistema enzima/líquido iônico foi retirada da bibliografia. Gamba (2009, p. 29) realizou testes para verificar a proporção de reagentes que gera melhor resultado, a partir da variação da quantidade de lipase *Pseudomonas cepacia*, líquido iônico BMI⁺NTf₂⁻, álcool (etanol e metanol) e óleo de soja. Assim, os reagentes foram utilizados nas seguintes quantidades:

- 0,2 g de lipase;
- 0,4 mL de líquido iônico;
- 0,25 g de óleo;
- 0,67 mL de álcool etílico.

2.6 Preparo e Síntese do Biodiesel

As amostras foram preparadas adicionando-se, em pequenos frascos, 0,2 g de lipase e 0,4 mL de líquido iônico. Após a suspensão da enzima em líquido iônico, adicionou-se 0,25 g de óleo de soja e 0,67 mL de etanol ao meio reacional. O sistema foi mantido sob agitação magnética (Figura 2.3) por 168 horas (7 dias). Durante este período, as amostras estiveram expostas à temperatura ambiente, o que é uma vantagem da catálise enzimática frente às catalises ácida e básica, que necessitam de altas temperaturas para que ocorra a reação, havendo desperdício de energia. Gamba (2009, p. 30) confirma isto, ao relatar que testou diversas temperaturas de reação, entre 20 e 60°C, obtendo o melhor resultado a 30°C, o que é próximo à temperatura ambiente.



Figura 2.3: Amostras durante o período reacional, expostas a agitação magnética e temperatura ambiente.

2.7 Análise das Amostras de Biodiesel

Após o período reacional de 7 dias, a agitação magnética foi desligada e as amostras foram analisadas por CCD. O óleo de soja e as amostras de biodiesel foram dispostos nas placas cromatográficas de sílica gel. Estas foram colocadas na cuba cromatográfica contendo o solvente, como mostra a Figura 2.4 a e, após a subida do solvente, foram expostas ao vapor de iodo para revelação, como Figura 2.4 b.

**(a)****(b)**

Figura 2.4: Cuba cromatográfica contendo **(a)** solvente e **(b)** iodo.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A fim de estudar a obtenção de biodiesel pela transesterificação do óleo de soja catalisada por diferentes combinações de sistemas enzima/líquido iônico, realizou-se dez amostras de biodiesel. Para estas amostras, fez-se a combinação das enzimas *Pseudomonas cepacia* PSC-I e *Pseudomonas fluorescens* com os líquidos iônicos MEP. CH_3SO_3^- , DMEI. NTf_2^- , MEP. NTf_2^- , NBNMEP. NTf_2^- e MEMI. NTf_2^- , como mostra a Tabela 3.1

Tabela 3.1: Relação das dez amostras produzidas, com a combinação enzima/líquido iônico utilizada para cada amostra.

	<i>Pseudomonas cepacia</i> PSC-I	<i>Pseudomonas fluorescens</i>
MEP. CH_3SO_3^-	Amostra 1	Amostra 6
DMEI. NTf_2^-	Amostra 2	Amostra 7
MEP. NTf_2^-	Amostra 3	Amostra 8
NBNMEP. NTf_2^-	Amostra 4	Amostra 9
MEMI. NTf_2^-	Amostra 5	Amostra 10

Para a análise das amostras utilizou-se a Cromatografia em Camada Delgada. A mistura de solventes (hexano, acetato de etila e ácido acético) permitiu evidenciar a formação dos ésteres alquílicos. Após a revelação da placa cromatográfica com o vapor de iodo, as manchas de ésteres foram visivelmente detectadas, como se pode observar nas Figuras 3.1 e 3.2.

A Figura 3.1 é a placa cromatográfica resultante da CCD das amostras 1, 2, 3, 4 e 5. Estas podem ser observadas na placa da esquerda para a direita, antecedidas pelo óleo de soja. Estas amostras foram catalisadas pela lipase *Pseudomonas cepacia* PSC-I suspensa, respectivamente, nos líquidos iônicos de 1 a 5. Nota-se que houve formação de ésteres alquílicos nas cinco amostras, entretanto, na amostra 1 restaram triglicerídeos que não foram transesterificados.

O resultado da amostra II (mostrado na Figura 2.1 b) pode ser utilizado como base de comparação para os resultados das amostras trazidos pela Figura 3.1, uma vez que todas estas amostras tiveram como catalisador a lipase *Pseudomonas*

cepacia PSC-I. Nota-se que, tanto em meio orgânico quanto em meio inorgânico, esta lipase foi capaz de alcançar bons resultados como catalisador na transesterificação de triglicerídeos em ésteres alquílicos. Entretanto, é importante ressaltar que, ao realizar análises parciais das amostras, as de número 2 e 4, referentes aos LIs DMEI.NTf_2^- e NBNMEP.NTf_2^- , já haviam completado a transesterificação após 2 dias de reação.

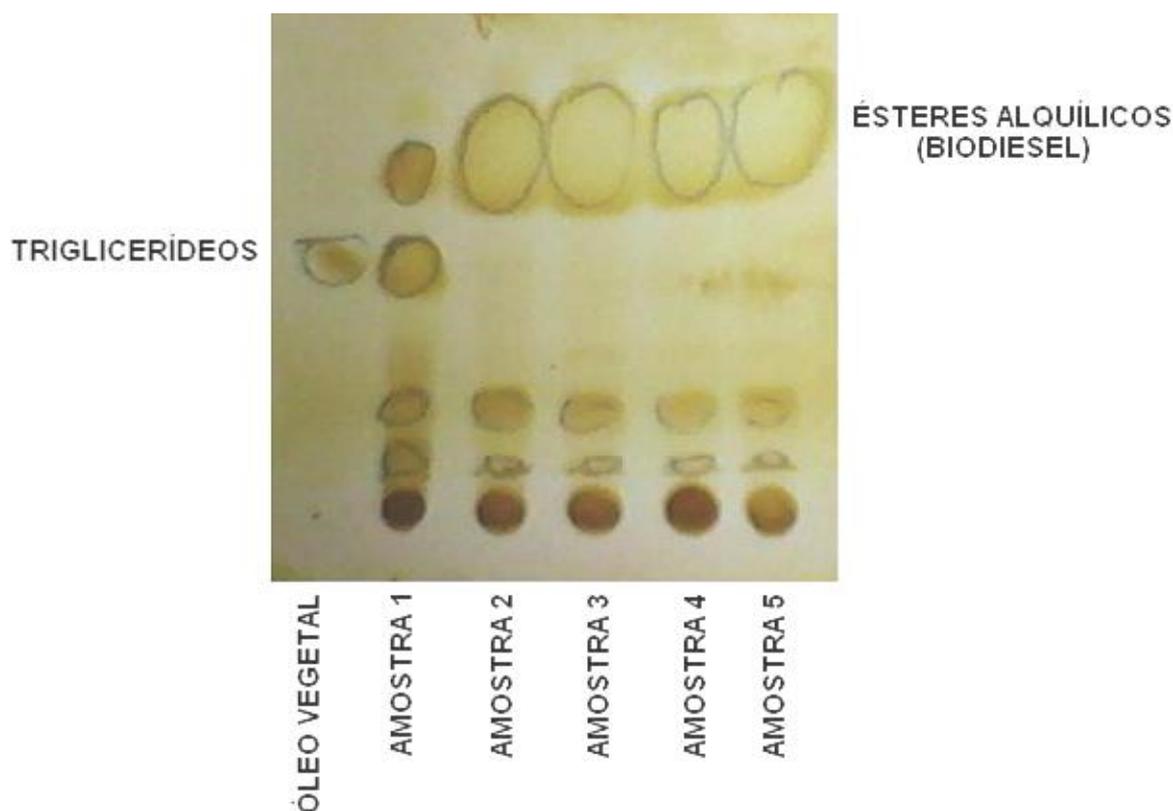


Figura 3.1: Placa cromatográfica obtida a partir da CCD para as amostras catalisadas pela enzima *Pseudomonas cepacia* PSC-I suspensa, respectivamente, nos LIs $\text{MEP.CH}_3\text{SO}_3^-$ (amostra 1), DMEI.NTf_2^- (amostra 2), MEP.NTf_2^- (amostra 3), NBNMEP.NTf_2^- (amostra 4) e MEMI.NTf_2^- (amostra 5).

A Figura 3.2 traz os resultados da CCD das amostras 6, 7, 8, 9 e 10, respectivamente, precedidas pelo óleo vegetal. Estas amostras foram catalisadas pela lipase *Pseudomonas fluorescens* suspensa em cada um dos cinco líquidos iônicos em estudo. Observa-se a formação de biodiesel (ésteres alquílicos) nas amostras 7, 8 e 9, sendo que uma pequena parte dos triglicerídeos não foram transesterificados. Já nas amostras 6 (referente ao sistema de catalisação *Pseudomonas fluorescens* / $\text{MEP.CH}_3\text{SO}_3^-$) e 10 (*Pseudomonas fluorescens* / MEMI.NTf_2^-) não houve transesterificação dos triglicerídeos.

Ao comparar os resultados das amostras 7, 8 e 9 com o obtido a partir da amostra III (Figura 2.1 c), que tem por solvente o butanol, mas que também usa a lipase *Pseudomonas fluorescens*, observa-se que os resultados com o solvente LI foram mais satisfatórios, uma vez que foi possível maior formação de ésteres alquílicos.

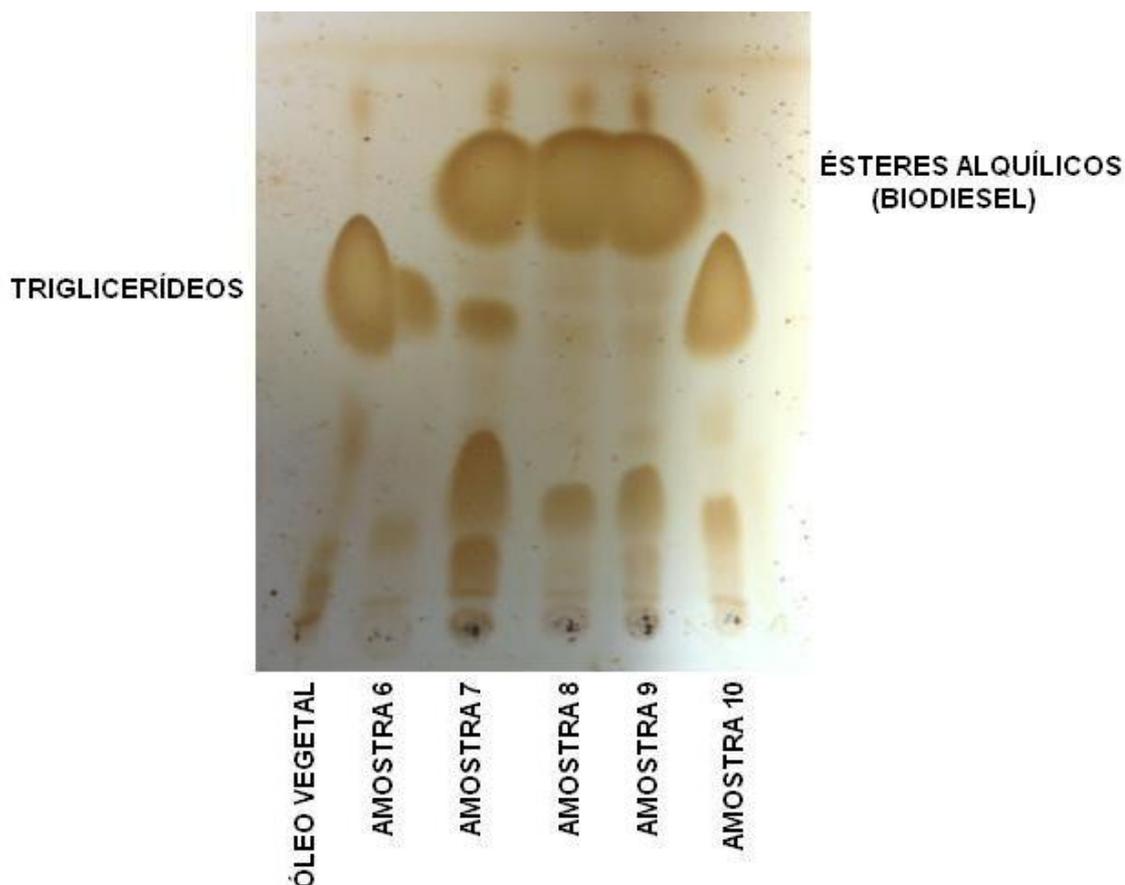


Figura 3.2: Placa cromatográfica obtida a partir da CCD para as amostras catalisadas pela enzima *Pseudomonas fluorescens* suspensa, respectivamente, nos LIs MEP. CH_3SO_3^- (amostra 6), DMEI. NTf_2^- (amostra 7), MEP. NTf_2^- (amostra 8), NBNMEP. NTf_2^- (amostra 9) e MEMI. NTf_2^- (amostra 10).

Assim, pode-se dizer que a lipase *Pseudomonas fluorescens*, quando suspensa nos líquidos iônicos 3 ou 4, forma um bom sistema de catalisação. Estes resultados foram satisfatórios, quando comparados aos obtidos por Gamba, 2009, p. 41, que alcançou baixo rendimento de ésteres alquílicos ao testar esta enzima com álcool etílico em BMI. NTf_2 , à 30°C (menos de 5% de triglicerídeos foram transesterificados até o fim da reação).

Ao comparar as amostras de 1 à 10, nota-se que ambas as reações com o LI MEP. CH_3SO_3^- e a reação catalisada pelo sistema *Pseudomonas cepacia* / MEMI. NTf_2^- foram as que obtiveram os rendimentos de biodiesel mais baixos. Pode-se dizer que o LI formado pelo ânion CH_3SO_3^- não é bom na reação de transesterificação de triglicerídeos, mas ao mudar este ânion pelo NTf_2^- , o novo LI (MEP. NTf_2^-) passa a apresentar os resultados desejados.

Os bons resultados obtidos a partir dos sistemas catalíticos enzima/líquido iônico estão relacionados, provavelmente, ao papel do LI em extrair o glicerol durante a reação. O glicerol é um produto que se forma ao decorrer da transesterificação e que, reagindo com o biodiesel, faz com que o equilíbrio se desloque para os reagentes, uma vez que esta reação é reversível. Além disso, o glicerol age reduzindo as atividades catalíticas das enzimas. A Figura 3.3 traz uma representação do que ocorre na transesterificação com LI como solvente: a polaridade do LI faz com que o glicerol seja solúvel nele, impedindo-o de entrar em contato e reagir com o biodiesel já transesterificado. Sabe-se que a polaridade é uma das características dos LIs que pode ser moldada através da combinação de diferentes ânions e cátions, ou seja, varia de LI para LI.

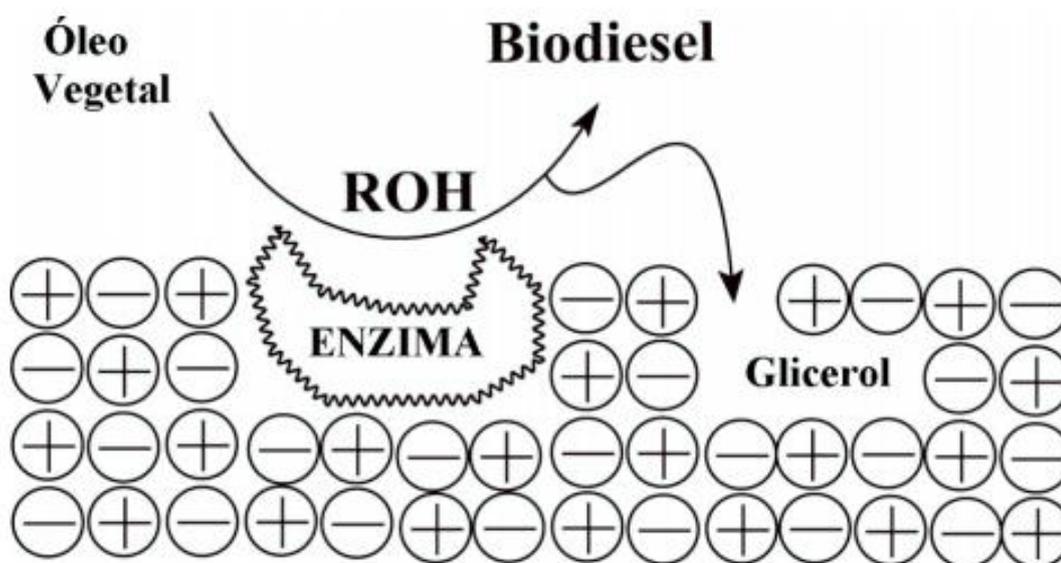


Figura 3.3: Glicerol solubilizado no líquido iônico, impedindo a reversão da reação de transesterificação.

Fonte: Gamba, 2009, p. 46.

Por fim, pode-se dizer que os resultados obtidos pela *Pseudomonas cepacia* foram mais favoráveis do que os obtidos pela *Pseudomonas fluorescens* devido ao fato de que a primeira é uma enzima suportada em cerâmica enquanto que a segunda não possui nenhum tipo de suporte. Isto está de acordo com a bibliografia, a qual afirma que a enzima suportada é sempre mais ativa que a livre para as mesmas condições reacionais (GAMBA, 2009).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Este trabalho propôs o estudo da síntese de biodiesel através da reação de transesterificação. Para tal realizou-se dez amostras de biodiesel a partir do óleo de soja, utilizando álcool etílico e um sistema catalítico enzima/líquido iônico. As lipases *Pseudomonas cepacia* PSC-I e *Pseudomonas fluorescens* foram testadas com cinco diferentes LI: MEP. CH_3SO_3^- , DMEI. NTf_2^- , MEP. NTf_2^- , NBNMEP. NTf_2^- e MEMI. NTf_2^- .

A Cromatografia em Camada Delgada mostrou-se rápida e eficiente para a análise das amostras. Verificou-se a formação de ésteres alquílicos nas amostras catalisadas por *Pseudomonas cepacia* PSC-I / MEP. CH_3SO_3^- , *Pseudomonas cepacia* PSC-I / DMEI. NTf_2^- , *Pseudomonas cepacia* PSC-I / MEP. NTf_2^- , *Pseudomonas cepacia* PSC-I / NBNMEP. NTf_2^- , *Pseudomonas cepacia* PSC-I / MEMI. NTf_2^- , *Pseudomonas fluorescens* / DMEI. NTf_2^- , *Pseudomonas fluorescens* / MEP. NTf_2^- e *Pseudomonas fluorescens* / NBNMEP. NTf_2^- . Entretanto, não ocorreu a transesterificação do óleo de soja nas amostras catalisadas pelos sistemas *Pseudomonas fluorescens* / MEP. CH_3SO_3^- e *Pseudomonas fluorescens* / MEMI. NTf_2^- .

Observou-se que para os Lis estudados, a enzima *Pseudomonas cepacia* PSC-I apresentou maior atividade catalítica que a *Pseudomonas fluorescens*, uma vez que a primeira é suportada em cerâmica enquanto que a segunda não possui nenhum tipo de suporte. Além disso, ao comparar estes resultados com os obtidos pelas amostras sintetizadas sem a presença de LI (com o álcool butílico como solvente), notou-se que o LI agiu de forma satisfatória, melhorando o rendimento de ésteres alquílicos e diminuindo o tempo necessário de reação. Ressalta-se, também, que para os Lis observados, o LI formado pelo ânion CH_3SO_3^- possui menor eficiência no tipo de reação desejada do que os LI composto pelo ânion NTf_2^- . Isto confirma o bom desempenho do NTf_2^- nas reações de transesterificação, como já citado pela bibliografia (GAMBA, 2009).

A partir dos resultados obtidos neste trabalho, foi possível comprovar a eficácia do uso de líquidos iônicos para a produção de biodiesel via catálise enzimática.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANP. *Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis*. Disponível em: <www.anp.gov.br>. Acesso em: 10 dez. 2010.

BIODIESELBR. Disponível em: <<http://www.biodieselbr.com>>. Acesso em: 11 dez. 2010.

BRASIL. *Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior*. Disponível em: <<http://www.mdic.gov.br>>. Acesso em: 11 dez. 2010a.

_____. *Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento*. Disponível em: <<http://www.agricultura.gov.br/>>. Acesso em: 16 dez. 2010b.

DEGANI, Ana Luiza G.; CASS, Quezia B.; VIEIRA, Paulo C. *Cromatografia: um breve ensaio*. Disponível em: <<http://qnesc.s bq.org.br/online/qnesc07/atual.pdf>>. Acesso em: 14 dez. 2010.

DEMIRBAS, Ayhan. *Biodiesel: A Realistic Fuel Alternative for Diesel Engines*. London: Springer, 2008.

DINIZ, Júlia R.; MEDEIROS, Gisele A.; SANTOS, Marcelo R. dos; LAPIS, Alexandre A. M.; NETO, Brenno A. D. *Síntese de Amidas Derivadas de Ácidos Graxos: um processo biocatalisado para obtenção de moléculas sinalizadoras potenciais*. Disponível em: <<http://sec.s bq.org.br/cdrom/34ra/resumos/T1511-1.pdf>>. Acesso em: 28 jul. 2011.

DRAPCHO, Caye M.; NHUAN, Nghiem Phu; WALKER, Terry H. *Biofuels Engineering Process Technology*. [s.l.]: McGraw-Hill, 2008.

DUARTE, Fernanda; TOBOUTI, Patrícia Lie; HOFFMANN, Davi. *Produção Enzimática de Biodiesel*. Disponível em: <http://webcache.googleusercontent.com/search?q=cache:F8WrcRt80oIJ:www.eng.ufsc.br/labs/probio/disc_eng_bioq/trabalhos_grad/trabalhos_grad_2006-1/biodiesel.doc+vantagens+da+cat%C3%A1lise+enzim%C3%A1tica&cd=1&hl=pt-BR&ct=clnk&gl=br>. Acesso em: 7 dez. 2010.

EARLE, Martyn J.; PLECHKOVA, Natalia V.; SEDDON, Kenneth R. *Green synthesis of biodiesel using ionic liquids*. Disponível em: <http://findarticles.com/p/articles/mi_m2DMT/is_11_81/ai_n45100102/>. Acesso em: 17 jul. 2011.

EARLE, Martyn J.; SEDDON, Kenneth R. *Ionic Liquids: Green solvents for the future*. Disponível em: <<http://www.iupac.org/publications/pac/2000/pdf/7207x1391.pdf>>. Acesso em: 17 jul. 2011.

ECOMASSA. Disponível em: <http://ecomassa.blogspot.com/2010_03_01_archive.html>. Acesso em: 16 dez. 2010.

ESTILLO BRASIL. *Tire suas dúvidas sobre biodiesel*. Disponível em: <<http://stillobrasil.blogspot.com/2011/04/tire-suas-duvidas-sobre-biodiesel.html>>. Acesso em: 25 jul. 2011.

FERRÃO-GONZALES, Atria D. et al. *Produção Experimental de Biodiesel por Transesterificação Enzimática*. Disponível em: <http://dialogos.ftc.br/index.php?option=com_content&task=view&id=152&Itemid=4>. Acesso em: 13 dez. 2010.

GAMBA, Muriell. *Produção de Biodiesel através de Catálise Enzimática em Líquido Iônico*. Porto Alegre: UFRGS, 2009. 68 f. Dissertação (Mestrado em Química) - Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

HERNÁNDEZ, F. J. et al. *Los Líquidos Iónicos em La Industria Química (I): propiedades y aplicaciones*. Disponível em: <<http://www.autoprofesional.com/html/files/pdf/amb/iq/460/13ARTICULOJUN.pdf>>. Acesso em: 14 jul. 2011.

INSTITUTO DE PESQUISA ECONÔMICA APLICADA (IPEA). *Biocombustíveis no Brasil: Etanol e biodiesel*. Disponível em: <<http://www.ipea.gov.br/>>. Acesso em: 17 dez. 2010.

KNOTHE, Gerhard; GERPEN, Jon Van; KRAHL, Jürgen; RAMOS, Luiz Pereira. *Manual de Biodiesel*. São Paulo: Edgard Blücher, 2006.

LAPIS, Alexandre A. M.; OLIVEIRA, Luciane F. de; NETO, Brenno A. D.; DUPONT, Jairton. *Síntese de Biodiesel Suportado em Líquidos Iônicos*. Disponível em: <http://www.furb.br/temp_sbqsul/_app/_FILE_RESUMO_CD/270.pdf>. Acesso em: 15 jul. 2011.

MACEDO, Gabriela Alves; MACEDO, Juliana Alves. *Biodiesel: produção de biodiesel por transesterificação de óleos vegetais*. Disponível em: <http://www.biocologia.com.br/revista/bio32/biodiesel_32.pdf>. Acesso em: 17 dez. 2010.

NETO, Pedro Ramos da Costa. *Obtenção de Ésteres Alquílicos (Biodiesel) por via Enzimática a partir do Óleo de Soja*. Florianópolis: Universidade Federal de Santa Catarina, 2002. 133 f. Tese (Doutorado em Química) – Programa de Pós-Graduação

em Química, Centro de Ciências Físicas e Matemáticas, Universidade Federal de Santa Catarina, 2002.

OBREGÓN, Celina Luízar. *Obtenção de biodiesel através da transesterificação enzimática: energia alternativa para auto-desenvolvimento*. Disponível em: <http://macae.iff.edu.br/publicacoes/artigos_cientificos/biodiesel_enzima.pdf>. Acesso em: 19 dez. 2010.

PACHECO, Maria Filipa. *Remoção de Vernizes de Pinturas Utilizando Líquidos Iônicos*. Lisboa: Universidade Nova de Lisboa, 2010. 43 f. Dissertação (Mestrado em Conservação e Restauro) – Faculdade de Ciências e Tecnologia, Departamento de Conservação e Restauro, Universidade Nova de Lisboa, 2010.

PORTAL DO BIODIESEL. Disponível em: <<http://www.biodiesel.gov.br>>. Acesso em: 6 dez. 2010.

RAMALHO, Hugo Farias de. *Síntese de Novos Derivados de Biodiesel de Soja via Reação de Carbonilação em Sistemas Bifásico*. Brasília: Universidade de Brasília, 2010. 65 f. Programa de Pós-Graduação em Química, Instituto de Química, Universidade de Brasília, 2010.

RODRIGUES, Rafael Costa. *Síntese de Biodiesel através de transesterificação enzimática de óleos vegetais catalisada por lipase imobilizada por ligação covalente multipontual*. Porto Alegre: Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009. 183 f. Tese (Doutorado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Departamento de Engenharia Química, Escola de Engenharia, Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2009.

SEBRAE. Disponível em: <<http://www.sebrae.com.br/>>. Acesso em: 14 dez. 2010.

SILVA, Albanise Enide da. *Estudo do Processo Enzimático de Produção de Biodiesel a partir de Óleos e Gorduras Residuais de Fritura*. Maceió: Universidade Federal de Alagoas, 2010. 62 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Unidade Acadêmica Centro de Tecnologia, Universidade Federal de Alagoas, 2010.

SILVA, Guilherme Augusto Martins da. *Síntese Enzimática, Caracterização Fico-Química e Térmica de Biodiesel de Sebo Bovino por Rota Etílica*. Lorena: Universidade de São Paulo, 2009, 97 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química) – Programa de Pós-Graduação em Engenharia Química, Escola de Engenharia de Lorena da Universidade de São Paulo, Universidade de São Paulo, 2009.

SOLVIONIC. *Líquidos iônicos: des solvants aux matériaux*. Disponível em: <<http://www.solvionic.com/index.php?lang=fr&context=45>>. Acesso em: 15 jul. 2011.

SOUZA, D. A. et al. *Utilização de Líquidos Iônicos na Síntese de Biodiesel*. Disponível em: <<http://www.abq.org.br/biocom/2011/trabalhos/67-9685.htm>>. Acesso em: 14 jul. 2011.

WOLFF; BAGGIO; ANTUNES; FURIGO. *Produção Enzimática de Biodiesel*. Disponível em: <[http://ruisoares65.pbworks.com/f/biodiesel+\(1\)+%5Bcatalise+enzimatica+diap.pdf](http://ruisoares65.pbworks.com/f/biodiesel+(1)+%5Bcatalise+enzimatica+diap.pdf)>. Acesso em: 14 dez. 2010.