

# Produção de biodiesel a partir do óleo ácido de macaúba usando lipase imobilizada em fibra de coco.

Rafaella Ferreira Nascimento<sup>1</sup>, Renata Gomes de Brito Mariano<sup>1</sup>,  
Ana Iraidy Santa Brigida<sup>1</sup>, Maria Helena Rocha-Leão<sup>1</sup>; Suely Pereira Freitas<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Escola de Química - Universidade Federal do Rio de Janeiro,  
Av. Horácio Macedo, 2030, Centro de Tecnologia, Bloco E,  
Cidade Universitária, Rio de Janeiro RJ, CEP 21941-909.

## Introdução

A exploração de produtos florestais é uma alternativa valiosa para as populações rurais que tradicionalmente dependem dos mesmos para sua subsistência. No Brasil esta prática tem sido responsável por mudanças importantes na vida de algumas comunidades que vivem da coleta de frutos nativos (Mariano *et al.*, 2009).

O uso de óleos vegetais para produção de biodiesel modificou o mercado internacional de oleaginosas. Nesse contexto, o crescimento da demanda por óleos vegetais vem contribuindo para sua menor disponibilidade, bem como para a elevação nos preços (IEA, 2008). Tendo em vista o cenário exposto acima, surge espaço para a exploração de oleaginosas nativas que necessitam de estudos específicos para sua incorporação na matriz energética de forma sustentável (Nascimento *et al.*, 2008).

A macaúba (*Acrocomia aculeata* Mart.) é uma matéria prima promissora para a obtenção de óleos vegetais tendo em vista seu alto teor de óleo na polpa (60 a 70%, em base seca) e na castanha (40 a 50%, em base seca) e sua elevada produtividade (cerca de 6,5 toneladas de óleo por hectare). No Brasil, a palmeira é nativa em Minas Gerais, Ceará, Mato Grosso e Mato

Grosso do Sul, sendo mais abundante na região do cerrado (CETEC, 1983).

A extração do óleo de macaúba é feita por prensagem dos frutos, coletados após queda natural do cacho e, em geral, armazenados de forma imprópria. Estes fatores contribuem para a baixa qualidade do óleo comercializado no cerrado brasileiro. O óleo da polpa é rico em ácidos graxos insaturados e pelas dificuldades associadas à colheita e ao processamento sua acidez é muito elevada (acima de 10 mg de KOH/g) restringindo seu uso como alimento (Silva, 2009).

A produção de biodiesel a partir de óleos ácidos usando biocatalisadores é um desafio para reduzir os impactos ambientais causados pelos catalisadores heterogêneos convencionais. A produção de biodiesel usando biocatalisadores é possível usando-se enzimas livres e imobilizadas. Dados reportados na literatura demonstram que a imobilização favorece a conversão se comparados com as enzimas livres e fornece produtos de mais alta pureza. Além disso, a imobilização permite a reciclagem do biocatalisador reduzindo custos operacionais e ampliando a competitividades do processo (Fukuda *et al.*, 2001). Lipases podem ser imobilizadas em diferentes suportes, entretanto,

novos materiais tem sido avaliados visando superar as dificuldades associadas aos custos elevados das matrizes comerciais. No Brasil a fibra de coco verde é um rejeito agroindustrial e pode ser encontrado em abundância em várias regiões do país sendo parcialmente destinada para produção de artesanato. A fibra de coco foi recentemente testada para imobilização de lipases por adsorção (Brígida *et al.*, 2007a) e por ligações covalentes (Brígida *et al.*, 2007b). Nestes estudos, *Candida antarctica* B lipase (CALB), mostrou ser termicamente estável em meios orgânicos (Brígida *et al.*, 2007b).

Os objetivos deste trabalho foram investigar os principais parâmetros do processo de produção de biodiesel, a cinética de síntese dos ésteres etílicos e o número de ciclos viáveis, usando como catalisador a enzima CALB imobilizada em fibra de coco e como fontes de ácidos graxos o óleo de macaúba.

## **Materiais e Métodos**

Matéria-prima: frutos de macaúba coletados na zona rural de Minas Gerais na cidade de Jabuticabas. O óleo foi produzido por prensagem da polpa de macaúba em uma mini-prensa piloto contínua do tipo parafuso sem fim. Para avaliar o teor de ácidos graxos livres o óleo foi diluído em solvente neutralizado e a seguir titulado com solução padrão de NaOH (0,1N) na presença de fenolftaleína como um indicador (AOCS, 2001). A composição em ácidos graxos do óleo foi determinada por cromatografia gasosa. Nesta análise, os ésteres metílicos foram preparados de acordo com a metodologia de Hartman & Lago (1973) analisados em cromatógrafo a gás e identificados por

comparação com os tempos de retenção dos padrões (AOCS 2001).

A enzima CALB foi imobilizada por adsorção em fibra de coco, na temperatura ambiente, mantendo a enzima em contato com o suporte por 2 horas nas seguintes condições: 1 grama de suporte, 10 mL de solução de lipase (1000 U/L) e 25 mM de tampão fosfato. Após imobilização, o biocatalisador era separado por filtração, lavado com tampão fosfato (10 mL) e seco a vácuo por 10 minutos.

Para síntese do biodiesel o óleo ácido de macaúba foi misturado com etanol em frasco erlenmeyer. Após homogeneização, a enzima imobilizada foi adicionada e a reação conduzida sob agitação constante (30 rpm) em um banho termostatizado. Ao final da reação a mistura foi filtrada sob vácuo para recuperação da enzima (Fukuda *et al.*, 2001). A glicerina e o biodiesel eram separados por decantação em funil de separação. Os experimentos foram realizados de acordo com um planejamento fatorial completo 2<sup>3</sup> utilizando-se dois níveis para cada parâmetro: concentração do catalisador (0,05 e 0,10 p/p), razão óleo/etanol (3:1 e 6:1) e temperatura (35 e 50 °C). O erro puro foi estimado a partir dos experimentos realizados em triplicata no ponto central. A técnica de superfície de resposta foi aplicada para avaliar o efeito destes parâmetros e estimar a região ótima de operação.

A cinética do processo foi avaliada nas condições operacionais otimizadas. Para fins comparativos, os experimentos foram conduzidos usando-se a enzima comercial imobilizada (Novozym ® 435).

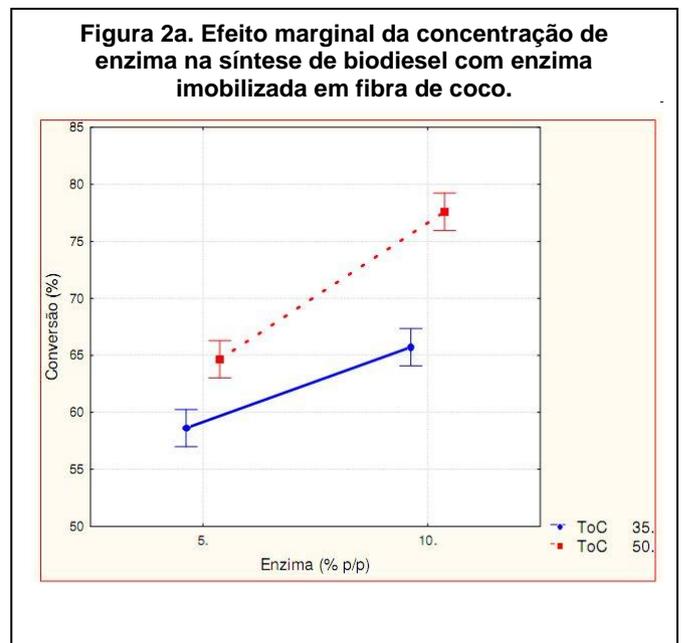
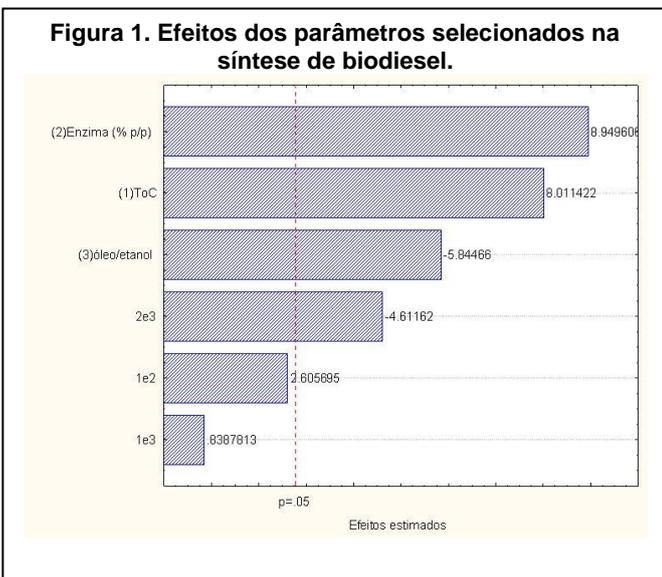
Para cálculo da conversão, o teor de glicerídeos no biodiesel foi determinado pelo método colorimétrico enzimático, baseado em

reações catalisadas com enzimas lipolíticas (Kit da Bioclin). Neste método, uma série de reações enzimáticas conduz à formação de um composto de cor cereja. Esse composto tem absorção máxima em torno de 500 nm e pode ser medido fotometricamente. A intensidade de cor é diretamente proporcional à concentração de glicérides na amostra (Bondioli & Bella, 2005).

## Resultados

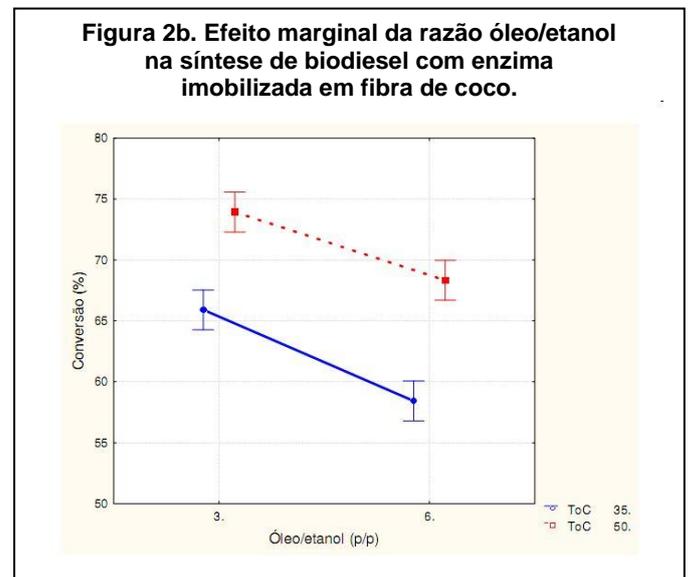
O óleo de macaúba apresentou entre 27 e 30% de ácidos graxos livres, expresso como ácido oléico. Os principais ácidos graxos identificados no óleo foram: ácido palmítico (19 ± 1%); ácido oléico (61 ± 2%) e ácido linoléico (14 ± 1%).

Os resultados mostrados no gráfico de pareto (Figura 1) indicam que a conversão depende fortemente dos parâmetros avaliados e que a concentração de enzima foi o fator mais relevante, seguido da temperatura. É importante registrar que o efeito da concentração de enzima é mais significativo a 50°C que a 35°C (Figura 2a). Além disso, quando a razão óleo/etanol aumenta maior é o efeito da temperatura na conversão do óleo em biodiesel (Figura 2b). Isto se deve a reversibilidade da reação que favorece a síntese de biodiesel quando o etanol é usado

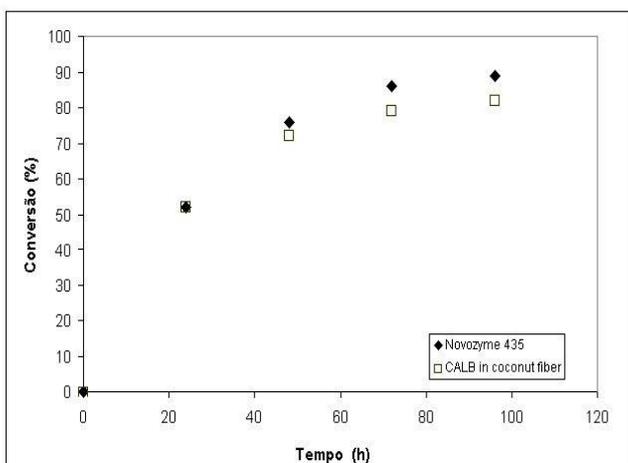


em excesso. Hernández-Martín & Otero compararam o efeito da temperatura na síntese de biodiesel de soja para diferentes lipases comerciais e concluíram que o aumento da temperatura favorece a conversão quando catalisada pela Novozyme® 435 na presença de etanol. Os autores concluíram também que esta enzima é mais estável que a Lipozyme® TL IM quando o etanol é usado em excesso.

A máxima conversão alcançada com a CALB imobilizada em fibra de coco foi de 79 ± 2%, após 72 horas de incubação. Nas mesmas condições a lipase comercial Novozyme® 435



**Figura 3. Cinética de conversão do óleo de macaúba em ésteres etílicos usando CALB imobilizada em fibra de coco e uma enzima comercial (Novozyme® 435).**



alcançou conversão ligeiramente superior  $82 \pm 2\%$ . De acordo com teste de Fisher ( $p < 0,5$ ), nas primeiras 48 horas a conversão foi estatisticamente igual para as duas enzimas utilizadas (Figura 3). Segundo dados de Hernandez-Martin & Otero (2008) o tempo de reação pode ser reduzido drasticamente para cerca de 7 horas aplicando-se concentrações elevadas de enzima, superior a 25% em relação ao peso do óleo.

Para uma razão molar etanol/óleo igual a 9, não se observou uma variação significativa na conversão entre o primeiro e o décimo ciclo, de acordo com análise de variância e teste de Fisher ( $p < 0,05$ ). Este resultado foi também observado por Hernandez-Martin & Otero (2008). Os autores constataram que a enzima Novozym® 435 preserva 85% de sua atividade inicial após síntese de biodiesel de soja para valores de razão molar etanol/óleo variando entre 4,5 e 9 e portanto esta enzima não sofre desativação significativa na presença de etanol. O mesmo não se observa com a Lipozyme® TL IM que reduz 90% de sua atividade após o primeiro ciclo.

## Conclusões e Sugestões

A partir da análise estatística pode-se concluir que, na faixa selecionada para o estudo experimental, a concentração de enzima foi o parâmetro mais relevante. Como esperado este fator teve uma influência positiva na taxa de conversão. Entretanto, o custo da enzima é o principal limitante do processo e seu uso deve ser reduzido para viabilizar economicamente a tecnologia proposta.

CALB imobilizada em fibra de coco foi efetiva para síntese de biodiesel a partir do óleo ácido de macaúba com conversão de  $79 \pm 2\%$ . A conversão foi ligeiramente superior ( $85 \pm 2\%$ ) para a enzima imobilizada comercial (Novozym® 435).

Se comparadas com o processo convencional, as etapas de separação e purificação do biodiesel sintetizados por biocatalisadores imobilizados são mais simples. Isto se deve à facilidade de recuperação da enzima por filtração e a ausência dos produtos de saponificação que se formam na presença dos catalisadores alcalinos. Neste caso, os produtos da reação formam emulsões entre o glicerol, biodiesel e glicerídeos residuais, dificultando a separação do biodiesel. Adicionalmente, a glicerina formada no processo enzimático é de alta pureza dispensando a etapa de destilação e minimizando substancialmente o consumo de energia do processo.

## Agradecimentos

Os autores agradecem a FAPERJ, ao CNPq e a CAPES pelo suporte financeiro.

## Referências

AOCS, (2001) Official methods and recommended practices of the American Oil

- Chemists' Society. American Oil Chemists' Society, Champaign.
- Bondioli, P., and Bella, L.D. (2005) An alternative spectrophotometric method for the determination of free glycerol in biodiesel, *European Journal Lipid Science Technology*, v. 107, p. 153-157,
- Brígida, A.I.S., Pinheiro, A.D.T., Ferreira, A.L.O., Pinto, G.A.S., Gonçalves, L.R.B. (2007a) Immobilization of *Candida antarctica* lipase B by covalent attachment to green coconut fiber. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 137, 67-80.
- Brígida, A.I.S., Pinheiro, A.D.T., Ferreira, A.L.O., Pinto, G.A.S., Gonçalves, L.R.B. (2007b) Immobilization of *Candida antarctica* lipase B by adsorption to green coconut fiber. *Applied Biochemistry and Biotechnology*, 137, Published online.
- CETEC - Fundação Centro Tecnológico de Minas Gerais. Programa Energia (1983) Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais. Belo Horizonte.
- Fukuda, H., Kondo, A., Noda, H. (2001) Biodiesel fuel production by transesterification of oils. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, v.92, p.405-416,
- Hernandez-Martín, E., Otero, C. (2008) Different enzyme requirements for the synthesis of biodiesel: Novozym® 435 and Lipozyme TL IM. *Bioresource Technology*, v. 99, p.277–286,
- Mariano, R.G.B., Couri, S., Freitas, S.P. (2009) Enzymatic technology to improve oil extraction from *Caryocar brasiliense* camb. (Pequi) Pulp. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 31, p. 637-643.
- Silva I.C.C. da. Uso de processos combinados para aumentar do rendimento da extração e a qualidade do óleo de macaúba. (2009) Dissertação (Mestrado em Processos Químicos e Bioquímicos) - UFRJ- Escola de Química.

## Fusão no Mercado Sucroalcooleiro

O anúncio da fusão dos ativos da ETH Bioenergia com a Companhia Brasileira de Energia Renovável (Brenco) anunciada em fevereiro deste ano confirma que o setor sucroalcooleiro terá grande desenvolvimento e impacto em 2010.

A Brenco tem duas usinas em Goiás e Mato Grosso do Sul e capacidade para processar 3,8 milhões de toneladas de cana-de-açúcar.

A ETH Bioenergia, controlada pelo grupo Odebrecht, tem cinco usinas nos estados de São Paulo, Goiás e Mato Grosso do Sul com capacidade para processar 11 milhões de toneladas de cana-de-açúcar e para produzir 720 milhões de litros de etanol por ano.

Os acionistas da Brenco controlarão 35% da nova companhia enquanto os da ETH ficarão com os outros 65%. Surgiu no mercado o comentário de que a Petrobrás estaria interessada em participar da nova empresa.