

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
CENTRO DE ENERGIA NUCLEAR NA AGRICULTURA

NAIANE SANGALETTI

Transesterificação química e enzimática de miscela etanólica de óleo de soja

Piracicaba

2012

NAIANE SANGALETTI

**Transesterificação química e enzimática de miscela etanólica de óleo de soja
versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010**

Tese apresentada ao Centro de Energia Nuclear na
Agricultura da Universidade de São Paulo para
obtenção do título de Doutor em Ciências

Área de Concentração: Química na Agricultura e no
Ambiente

Orientador: Profa. Dra. Marisa Aparecida Bismara
Regitano d'Arce

Co Orientação: Prof. Dr. Rodrigo Javier Navia Diez

Piracicaba

2012

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTE TRABALHO, POR QUALQUER MEIO CONVENCIONAL OU ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE QUE CITADA A FONTE.

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Seção Técnica de Biblioteca - CENA/USP

Sangaletti, Naiane

Transesterificação química e enzimática de miscela etanólica de óleo de soja / Naiane Sangaletti; orientadora Marisa A. B. Regitano d'Arce; co-orientador Rodrigo Javier Navia Diez. - - versão revisada de acordo com a resolução CoPGr 5890 de 2010. - - Piracicaba, 2012.

151 p.: il.

Tese (Doutorado – Programa de Pós-Graduação em Ciências. Área de Concentração: Química na Agricultura e no Ambiente) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura da Universidade de São Paulo.

1. Biodiesel 2. Catalisadores 3. Esterificação 4. Etanol 5. Óleos vegetais como combustíveis I. Título

CDU 661.726 : 665.335.2

À minha mãe, Marlides Terezinha Sangaletti, a quem amarei eternamente!

DEDICO

Para meu pai Amilton, meu irmão Fernando e minha irmã Cassiane Sangaletti, pelo carinho e amor! Amo vocês!

OFEREÇO

AGRADECIMENTOS

À minha admirável orientadora Profa. Dra. Marisa A. B. Regitano d'Arce, pela orientação, ensinamento, confiança e carinho.

À Profa. Dra. Thais Vieira, pela disponibilidade, dedicação e contribuições valiosas para a melhoria deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Rodrigo Navia, pela excelente co-orientação e grande oportunidade em me integrar ao excelente grupo de pesquisadores da Universidad de La Frontera (UFRO).

À Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo auxílio financeiro para realizar este trabalho.

À Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP), pelo auxílio financeiro concedido para a realização deste trabalho.

Às empresas Cargill S/A e ADM, pela doação da soja laminada.

Ao Prof. Dr. Thiago Romanelli, pela disponibilidade, paciência e contribuições neste trabalho.

À Profa. Dra. Adriana Martinelli, pela sua atenção, paciência e competência nas resoluções dos problemas encontrados no decorrer desta tese.

À pesquisadora Dra. Mara Cea, a quem tenho muito carinho, obrigada pela contribuição científica e amizade.

Ao meu namorado Dr. Pedro Gerhard, que ajudou na interpretação de dados e abstract. Seus cuidados, amor, carinho, paciência e longas conversas contribuíram largamente no meu equilíbrio mental e energia.

Ao Prof. Dr. Severino Matias de Alencar, pelo empréstimo do Laboratório, contribuição nas dúvidas no decorrer da tese e pela amizade.

À equipe do Laboratório de Bioquímica, Iva, Adna, Pri, Ana Paula, Lucimara, Lu Mourão, Rosangela, Keiti, pelo apoio e auxílio laboratorial, além da amizade e descontrações vividas nestes quatro anos.

Ao Prof. Dr. André Alcarde, pelo empréstimo do laboratório e à sua equipe: Silvino, Rose e Pedrinho sempre dispostos a ajudar no laboratório.

À Profa. Dra. Solange Brazaca, Profa. Dra. Carmen Contreras e Profa. Dra. Marília Oetterer pelo empréstimo dos respectivos laboratórios. Especialmente a Lu (Já Era), sempre disposta a ajudar.

Aos estagiários, Joseanne e Samuel, pela ajuda, dedicação, companheirismo e amizade. Sem eles o trabalho não seria efetuado em tempo.

Aos funcionários do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição, Fábio Bortoletto, Gil, Wilson, Edmundo e Jeferson pelos socorros técnicos rapidamente prestados durante os ensaios experimentais. A Cleomar, Cecília, Rose, Regina Marafon, Márcia, Denise e Jair que de alguma forma colaboraram com a realização deste trabalho.

Aos funcionários da coordenação de Pós-graduação do CENA, Neuda, Cláudia, Sônia e Fábio pela atenção, disposição e paciência nos esclarecimentos de dúvidas e orientação de qualquer tramite que foi necessário durante o doutorado. A bibliotecária Marília, um encanto de pessoa! Obrigada pela paciência, compreensão e boa vontade.

Las personas de la Universidad de La Frontera, Sra. Noelia, Mara, Fabiola, Carito, Maria Eugenia, Aixa, Claudio, Laura, Gustavo, Eric, Oscar, Reinaldo, Robinson, Rodrigo Mey, Rodrigo Navia, Olga, Francisca, Saul, Gonzalo, Pamela, Freddy, Lesli, por el cariño, amistad, risas, bromas, cafecitos, golosinas y principalmente por la atención, ayuda en laboratorio y la contribución científica. Me encanta Chile e los chilenos!

Aos colegas de Laboratório de Óleos e Gorduras, Maria Fernanda de Almeida Prado (Danda) pelo apoio em laboratório e amizade. A Aline Bortoletto, Gus Bortoletto e Marilis pela amizade e desabafos.

Aos meus amigos Písgui (Priscila Villela) e Dija (Ricardo Brassaloti), por percorrerem Piracicaba/SP – Três Lagoas/MS - Piracicaba/SP e Bel (Isabel Viegas), Piracicaba/SP – Uberlândia/MG - Piracicaba/SP. Agradeço carinhosamente pela disposição e generosidade em buscar a soja laminada. Sem eles meu trabalho não seria realizado.

Ao meu pai Amilton, minha madrastra Mari e meus irmãos Fernando e Cassiane (Negri) pelo apoio e amor. A minha família, Tia Mel e Milena, que mesmo de longe sempre me proporcionaram muito amor e carinho. Aos novos integrantes da família, Júlio Cesar, Fernanda e Julinho (meu pitirico) pelo carinho. A D. Angelina e Seu Mário, pelo apoio e carinho.

À mi familia chilena, Carmencita, Carlito, Felipe, Auraluz y Benjamin por el amor, cariño, risas, amistad, convivio y atención durante mi estada en Chile. Yo los quiero mucho!

À minha querida e mais que amiga Tati (Cuma) por quem tenho muito amor, carinho e admiração. Seu apoio, amizade e longas conversas foram e continuam sendo fatores primordiais para o meu sucesso. Agradeço ao Cleverson (Cumo) e a Gabi por fazerem parte da minha vida, sempre muito carinhosos. Vocês fazem falta!

Aos meus amigos por quem tenho muito carinho, Renata, Xoio, Álvaro, Nilza, Renata, Sinho, Tchê, Mortão, Ana Luiza, Augusto, Sapão, Paxuxu a quem me ajudaram com sua amizade e descontração.

Às amigas da República, Písgui, Flipper, Esmerê, Kerli, Quinha e Bel pelas longas conversas, conselhos e diversão. Elas fazem falta!

A todos os amigos que contribuíram de alguma forma, e também aos amigos e familiares que deixei para trás em busca de um sonho e que mesmo de longe me apoiaram e me deram muito carinho.

RESUMO

SANGALETTI, N. **Transesterificação química e enzimática de miscela etanólica de óleo de soja**. 2012. 151 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

A matéria-prima na produção de biodiesel corresponde a mais que 70% do seu custo e o estudo de viabilidade tecnológica e econômica das diferentes matérias-primas se reveste de enorme importância. A extração do óleo de soja com solvente etanol resulta em duas misturas, uma rica em óleo (mistura rica) e outra rica em etanol (mistura pobre). A mistura pobre pode ser reutilizada no processo de extração e a mistura rica pode ser utilizada diretamente sem a necessidade de dessolventização e de etapas de refino. A mistura rica em óleo foi esterificada por dois processos diferentes: químico e enzimático, com diferentes concentrações em razão molar (óleo:etanol), diferentes temperaturas e catalisadores básico (NaOH) ou enzimático (Novozym[®]435), buscando o maior rendimento em ésteres etílicos. O objetivo desse estudo foi avaliar o rendimento de ésteres etílicos aplicando enzimas imobilizadas Novozym[®]435 e um catalisador básico (NaOH) e analisar a viabilidade energética da produção de biodiesel a partir da transesterificação da mistura rica (óleo:etanol) em óleo de soja, sem necessidade de refino do óleo. Foi adotado o planejamento experimental e análise de superfícies de resposta para a seleção das melhores condições de processo, tendo como variáveis respostas o rendimento e a qualidade do biodiesel. Foram realizados ensaios de esterificação pela via enzimática e química. A reutilização da enzima foi estudada pela lavagem com diferentes solventes (etanol 96%, isopropanol e terc-butanol) e reações de transesterificação na presença do co-solvente terc-butanol. A produção de ésteres em misturas permitiu a comparação dos custos entre o processo de catálise enzimática e catálise química com base na análise dos fluxos de materiais e energia. A mistura rica foi obtida após três banhos com mistura pobre e um último banho com etanol 99% (v/v), apresentando eficiência de 83% e um teor de óleo residual no farelo de 4,2%. Em sua composição, a mistura rica apresentou 90% em óleo de soja e até 7% de etanol. A transesterificação de mistura rica com catalisador NaOH foi otimizada e apresentou rendimento de ésteres etílicos (RE) 97,2% nas condições experimentais de: razão molar 1:12, concentração de catalisador 0,67% e temperatura de 30°C. Na transesterificação enzimática, o rendimento máximo foi de 85% nas condições reacionais de razão molar 1:4,5, concentração de catalisador 9,5% e temperatura de 40°C. A Novozym[®]435 não foi recuperada com sucessivas lavagens dos solventes. Entretanto, o terc-butanol como co-solvente aumentou o rendimento de ésteres para 94%. A análise dos fluxos de energia demonstrou que a obtenção da matéria-prima (laminação e extração) foi a etapa que mais demandou energia. A produção de mistura rica em escala semi-piloto demandou mais energia que a de óleo refinado, porém, a etapa de transesterificação a partir de mistura rica, utilizando o catalisador químico, demandou menos energia comparada ao processo com catalisador enzimático e o convencional com metanol e etanol. A esterificação de mistura rica é energeticamente viável, entretanto, com um *scale up* adequado, a etapa de extração com etanol deve ser ajustada para viabilizar energeticamente a cadeia de produção de biodiesel por esta via alternativa.

Palavras-chave: Solvente alternativo. Extração. Ésteres etílicos de ácidos graxos. Biodiesel. Fluxo de energia.

RESUMEN

SANGALETTI, N. **Transesterificación química y enzimática de miscela etanólica de aceite de soja**. 2012. 151 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

La materia prima en la producción de biodiesel representa más del 70% del costo y el estudio de la viabilidad tecnológica y económica de las distintas materias primas es de gran importancia. La extracción de soja utilizando solvente etanol resulta en dos miscelas, una rica en aceite (miscela rica) y otra rica en etanol (miscela pobre). La miscela pobre puede ser reutilizada en el proceso de extracción y la miscela rica puede ser utilizada directamente sin la necesidad de eliminar el solvente y de las etapas de refinamiento. La miscela rica en aceite fue esterificada por dos procesos distintos: químico y enzimático, a distintas concentraciones en razón molar (aceite: etanol), distintas temperaturas y catalizadores básico (NaOH) o enzimático (Novozym[®]435), con la finalidad de alcanzar el mayor rendimiento en producción de ésteres etílicos. El objetivo de este estudio fue evaluar el rendimiento de ésteres etílicos mediante la aplicación de enzimas inmovilizadas Novozym[®]435 y un catalizador básico (NaOH) y analizar la viabilidad energética de la producción de biodiesel a partir de la transesterificación de la miscela rica (aceite:etanol) obtenida de la extracción de soja, sin proceso de refinación. Se utilizó el diseño experimental y análisis de las superficies de respuesta para la selección de las mejores condiciones del proceso, con el rendimiento como respuesta y las variables de calidad del biodiesel. Se evaluó la reutilización de la enzima mediante el lavado con distintos solventes (96% de etanol, isopropanol y terc-butanol) y la transesterificación en presencia de co-solvente terc-butanol. Se realizó una comparación de los costos asociados a la producción de ésteres entre el proceso de catálisis enzimática y catálisis química basada en las análisis de los flujos de materiales y energía. La miscela rica se obtuvo después de tres baños reutilizando las miscelas pobres y un último baño con etanol 99% (v/v), la eficiencia fue de 83% y un contenido de aceite residual en la torta de 4,2%. La miscela rica estaba compuesta de 90% de aceite de soja y 7% de etanol. La transesterificación de micela rica con catalizador NaOH se optimizó obteniendo un rendimiento de (RE) 97,2% ésteres etílicos bajo las condiciones experimentales de: relación molar 1:12, concentración de catalizador 0,67% y la temperatura 30°C. Para la transesterificación enzimática, el rendimiento máximo fue 85% en las condiciones de reacción la relación molar 1:4,5, concentración de catalizador 9,5% y temperatura de 40°C. El Novozym[®]435 no se recuperó con lavados sucesivos de los solventes. Sin embargo, el terc-butanol utilizado como co-solvente aumentó el rendimiento de los ésteres hasta 94%. El análisis mostró que el flujo de la energía para la obtención de las materias primas (laminación y extracción) fue la etapa de mayor demanda de energía. La etapa de producción de micela rica a escala semi-piloto demandó mayor energía sobre el aceite refinado, sin embargo, la etapa de transesterificación de miscela rica utilizando el catalizador químico, se requirió menos energía en el proceso en comparación con el catalizador convencional enzimático, metanol y etanol. La esterificación de micela rica es energéticamente viable, sin embargo, con un adecuado *scale up* la extracción con etanol debe ser ajustado para permitir que la cadena de producción de energía de biodiesel por esta vía alternativa sea viable.

Palabras clave: Solvente alternativo de extracción. Ésteres etílicos de ácidos grasos. Biodiesel. Flujo de energía.

ABSTRACT

SANGALETTI, N. **Chemical and enzymatic transesterification of soybean oil ethanolic miscellae**. 2012. 151 p. Tese (Doutorado) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 2012.

The feedstock for biodiesel production represents more than 70% of the cost and technological and economic feasibility studies of different oil sources are of enormous importance. The extraction of soybean oil with ethanol solvent results in two miscellae, one rich in oil (rich miscellae) and another rich in ethanol (poor miscellae). The poor miscellae can be reused in the extraction process and the rich miscellae can be used directly without desolventizing and refining stages. The oil rich miscellae was esterified by two different processes: chemical and enzymatic, with different concentrations in the molar ratio (oil: ethanol), different temperatures and either basic catalyst (NaOH) or an enzyme (Novozym[®]435), searching for the highest production of ethyl esters. The study goal was to prove the feasibility of producing biodiesel from the transesterification of rich miscellae (oil-ethanol) in soybean oil, without oil refining and evaluating the performance of ethyl esters by applying immobilized enzymes Novozym[®]435 and a basic catalyst (NaOH). We adopted the experimental design and the surface response methodology for the best selection of process conditions, with the response variables the yield and the quality of biodiesel. Chemical and enzymatic esterification trials were conducted. The reuse of enzyme was studied by washing with different solvents (96% ethanol, isopropanol and tert-butanol) and the transesterification reaction in the presence of the co-solvent tert-butanol. The production of esters by enzymes in the miscellae allowed a comparison of the costs between the enzymatic and chemical catalysis process based on the energy flow analysis. The rich miscellae was obtained after three baths employing the poor miscellae and a last fourth bath with ethanol 99% (v/v), presenting efficiency of 83% and a residual meal oil content of 4.2%. In its composition, the rich miscellae showed 90% of soybean oil and up to 7% ethanol. The transesterification of the rich miscellae with NaOH catalyst was optimized and had a ethyl esters yield (RE) of 97.2% under the experimental conditions of: 1:12 molar ratio, catalyst concentration 0.67% and temperature 30° C. For the enzymatic transesterification, the maximum yield was 85% for the reaction conditions: molar ratio 1:4.5, catalyst concentration 9.5% and temperature 40° C. Novozym[®]435 was not recovered with successive washes of the solvents. However, the tert-butanol as a co-solvent increased the yield of esters to 94%. The energy flow analysis showed that obtaining the raw material (flaking and extraction) was the most energy demanding. The rich miscellae from the semi-pilot plant demanded more energy than the refined oil, however, the transesterification of the rich miscellae using chemical catalyst, required less energy compared to the enzymatic catalysis and the conventional process methanol and ethanol. The esterification of rich miscellae is feasible energetically, however, the extraction step with ethanol should be adjusted to enable energetically the chain of biodiesel production.

Keywords: Alternative solvent. Extraction. Fatty acid ethyl ester. Biodiesel. Energy flow.

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO.....	17
2. BIODIESEL: MATÉRIAS-PRIMAS E PROCESSOS DE OBTENÇÃO.....	19
RESUMO	19
ABSTRACT	20
2.1 HISTÓRIA DO BIODIESEL	21
2.2 PRODUÇÃO DE BIODIESEL	23
2.2.1 MATÉRIA-PRIMA (OLEAGINOSA)	25
2.2.1.1 EXTRAÇÃO DA MATÉRIA-PRIMA OLEAGINOSA	26
2.2.2 ÁLCOOL (ACCEPTOR DE ACILA).....	29
2.2.3 CATALISADORES	30
2.2.4. FATORES QUE AFETAM A REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO	32
2.2.5 QUALIDADE DO BIODIESEL.....	33
2.2.6 ASPECTOS ECONÔMICOS E AMBIENTAIS	34
2.3 CONCLUSÕES	34
REFERÊNCIAS	35
3. OBTENÇÃO DE MISCELAS ETANÓLICAS DE ÓLEO DE SOJA PARA PRODUÇÃO DE ÉSTERES ETÍLICOS	44
RESUMO	44
ABSTRACT	45
3.1 INTRODUÇÃO.....	46
3.2 MATERIAL E MÉTODOS.....	48
3.2.1 MATERIAL	48
3.2.2 EXTRAÇÃO DE ÓLEO DE SOJA	49
3.2.2.1 EXTRAÇÃO DE ÓLEO COM ETANOL	49
3.2.3 CARACTERIZAÇÃO DAS MISCELAS	50
3.2.4 CARACTERIZAÇÃO DA SOJA LAMINADA E FARELO	51
3.2.5 RENDIMENTO DE MISCELA RICA E EFICIÊNCIA DA EXTRAÇÃO	51
3.2.6 ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	52
3.3.1 EXTRAÇÃO DE ÓLEO COM REUSO DE MISCELA POBRE	52

3.3.2 CARACTERIZAÇÃO DE MISCELAS	55
3.3.3 CARACTERÍSTICAS DO FARELO DE SOJA.....	58
3.3.4 MISCELA RICA PARA PRODUÇÃO DE BIODIESEL	60
3.4 CONCLUSÕES	62
REFERÊNCIAS.....	63
4. TRANSESTERIFICAÇÃO QUÍMICA DIRETA DE MISCELA ETANÓLICA DE ÓLEO DE SOJA.....	68
RESUMO.....	68
ABSTRACT.....	69
4.1 INTRODUÇÃO	70
4.2 MATERIAL E MÉTODOS	73
4.2.1 MATERIAL.....	73
4.2.2 TRANSESTERIFICAÇÃO QUÍMICA BÁSICA	73
4.2.2.1 ETANÓLISE DE MISCELA RICA.....	73
4.2.2.2 DESENHO EXPERIMENTAL E ANÁLISE DE SUPERFÍCIE DE RESPOSTA	74
4.2.3 MÉTODOS ANALÍTICOS	76
4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	76
4.4 CONCLUSÕES	84
REFERÊNCIAS.....	84
5. TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE MISCELA ETANÓLICA RICA DE ÓLEO DE SOJA	89
RESUMO.....	89
ABSTRACT.....	90
5.1 INTRODUÇÃO	91
5.2 MATERIAL E MÉTODOS	94
5.2.1 MATERIAL.....	94
5.2.2 IMAGENS DA MISCELA RICA EM MICROSCÓPIO.....	94
5.2.3 REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO COM ENZIMA NOVOZYM [®] 435.....	94
5.2.3.1 ETANÓLISE.....	95
5.2.3.2 TEMPO DE REAÇÃO.....	95
5.2.3.3 DESENHO EXPERIMENTAL E ANÁLISE ESTATÍSTICA	96
5.2.4 ANÁLISE DOS ÉSTERES ETÍLICOS.....	97
5.2.5 REUTILIZAÇÃO DAS ENZIMAS IMOBILIZADAS	97
5.2.6 RECUPERAÇÃO DAS ENZIMAS IMOBILIZADAS	98

5.2.7 TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA COM CO-SOLVENTE	98
5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	99
5.3.1 ETANÓLISE EM ETAPAS	99
5.3.2 TEMPO DE REAÇÃO ÓTIMA	103
5.3.3 ETANÓLISE ENZIMÁTICA	104
5.3.4 REUTILIZAÇÃO E RECUPERAÇÃO DAS ENZIMAS IMOBILIZADAS	108
5.3.5 TRANSESTERIFICAÇÃO UTILIZANDO CO-SOLVENTE	112
5.4 CONCLUSÕES	114
REFERÊNCIAS	115
6. FLUXO DE ENERGIA NA CADEIA PRODUTIVA DE BIODIESEL	120
RESUMO	120
ABSTRACT	121
6.1 INTRODUÇÃO	122
6.2 MATERIAL E MÉTODOS	123
6.2.1 PROCESSAMENTO DE MISCELA RICA E REAÇÃO DE TRANSESTERIFICAÇÃO.	124
6.2.2 FLUXO DE MATERIAIS	124
6.2.3 FLUXOS DE ENERGIA	126
6.2.4 BALANÇO DE ENERGIA	127
6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO	128
6.4 CONCLUSÕES	135
REFERÊNCIAS	136
7. CONSIDERAÇÕES FINAIS	138
APÊNDICE	140

1. INTRODUÇÃO

Antes da década de 1960 já havia preocupação ambiental com as fontes de energia esgotáveis do mundo e o aquecimento global. Na década de 1970, em que foi previsto o esgotamento do combustível fóssil, iniciou-se a busca por combustíveis alternativos de fontes renováveis. Desde então, muitos institutos e empresas de pesquisas vêm desenvolvendo e aperfeiçoando formas de produção de biocombustíveis, entre eles o etanol e o biodiesel figuram como os mais produzidos e utilizados no mundo.

A transesterificação é uma das principais maneiras de se obter biodiesel. A reação ocorre entre acilglicerol (óleo vegetal ou gordura animal), álcool de cadeia curta (metanol ou etanol) na presença de um catalisador.

O Brasil possui grande potencial para produção de biocombustível com o cultivo principalmente de cana-de-açúcar e de oleaginosas. A soja é uma das oleaginosas mais cultivadas no mundo. Apesar do óleo de soja ser destinado à alimentação humana, atualmente, é a matéria-prima mais utilizada para a produção de biodiesel no Brasil. A extração do óleo é realizada com o hexano, derivado de petróleo, que solubiliza o óleo intracelular, sem reagir com outros componentes da matéria oleaginosa. Este solvente apresenta, contudo, algumas desvantagens tais como a inflamabilidade, toxidez, além do custo ser variável com o preço do petróleo. Portanto o uso de um solvente como o etanol, cuja tecnologia de produção é totalmente conhecida em nosso país, parece ser uma boa alternativa, além de ser renovável. A extração de óleo com o uso de etanol como solvente tem a vantagem de eliminar a etapa de dessolventização da miscela extraída (óleo + solvente), obtendo-se duas fases, uma miscela rica em óleo e outra miscela rica em álcool.

A produção de biodiesel a partir de óleo bruto permite reduzir o custo total de produção, entretanto a presença de alta acidez e de fósforo pode acarretar em redução da eficiência do catalisador. A extração de óleo com etanol mostrou-se viável tecnicamente quando foi utilizada semente de girassol (REGITANO-D'ARCE, 1985; BECKEL; SMITH, 1944) e soja (grãos e soja laminada) (SAAD et al., 2008; TOMAZIN JUNIOR, 2008).

A miscela rica em óleo pode ser utilizada para produção de biodiesel e a miscela rica em álcool voltar ao processo como solvente. A transesterificação diretamente da miscela rica em óleo foi realizada por Saad et al. (2008) e Tomazin Junior (2008) que obtiveram até 92% de conversão em ésteres etílicos com catalisador metóxido de sódio. Entretanto, não foram

testados outros catalisadores e os processos não foram otimizados para alcançar rendimento competitivo.

A proposta deste trabalho foi verificar a viabilidade técnica da produção de biodiesel por transesterificação direta de miscela etanólica, via química e enzimática, aperfeiçoando os processos de transesterificação, comparando-os com o processo convencional de extração com hexano e transesterificação a partir de óleo parcialmente refinado.

O Capítulo 1 foi atribuído à introdução.

O Capítulo 2 apresenta uma revisão da literatura sobre a produção de biodiesel no Brasil e no mundo, abordando as matérias-primas mais utilizadas, as etapas de extração de óleo e catalisadores, os fatores que afetam a produção e a qualidade do biodiesel.

O Capítulo 3 trata do processo de extração de óleo de soja para produção de miscela rica (oleosa) em extrator intermitente, através da recirculação da miscela pobre (etanólica), gerada pelo uso de etanol anidro comercial como solvente. A miscela rica em óleo foi estudada como matéria-prima alternativa para produção de biodiesel.

O Capítulo 4 aborda o processo de transesterificação direta de miscela rica aplicando o NaOH como catalisador. A metodologia de análise de superfícies de resposta foi utilizada para determinar as melhores condições de temperatura, teor de catalisador e relação óleo:etanol para o máximo rendimento em ésteres etílicos de ácidos graxos.

O Capítulo 5 avaliou o processo de transesterificação direta de miscela rica em óleo com catalisador enzimático Novozym[®]435. As condições experimentais (tempo, razão molar óleo:etanol, concentração de lipase e temperatura) foram estudadas. O método de análise de superfície de resposta foi aplicado visando o maior rendimento em ésteres etílicos. Ensaio de reutilização da enzima foram realizados através de sucessivas lavagens com miscela rica, isopropanol, terc-butanol e etanol 96%. O terc-butanol e isopropanol foram utilizados como co-solvente na reação.

O Capítulo 6 apresenta uma análise comparativa entre o processo convencional de produção de biodiesel empregado no país e o processo de transesterificação direta da miscela óleo-etanol, com base no fluxo de energia.

Os resultados aqui apresentados serviram para demonstrar a viabilidade de utilizar miscela rica em óleo de soja como matéria-prima alternativa na produção de biodiesel, além de indicar os ajustes que ainda deverão ser realizados para aplicação do processo em escala industrial.

2. BIODIESEL: MATÉRIAS-PRIMAS E PROCESSOS DE OBTENÇÃO

RESUMO

O Brasil possui grande potencial para produção de biocombustível, pois é um dos maiores produtores mundiais de cana-de-açúcar e de oleaginosas. A soja figura como uma das grandes opções fornecedoras de óleo e o etanol do grupo acila para a produção de biodiesel. Como substituto do hexano, derivado de petróleo, empregar o etanol no processo de extração de óleo vegetal é de grande importância por apresentar impactos positivos de ordem ambiental e econômica, ainda pouco explorados. Também é plenamente justificável no Brasil, onde a produção de etanol já é consagrada e reconhecida mundialmente. A extração do óleo com etanol é uma alternativa viável tecnicamente que produz misturas esterificáveis. A catálise utilizando NaOH tem maior espaço no mercado brasileiro por ser de baixo custo e fácil manuseio. Porém, este processo tem a desvantagem de gerar sabões, o que prejudica a qualidade do biodiesel final. Além disso, muita água de lavagem residual é gerada ao final do processo quando não se emprega a destilação. Enzimas são uma alternativa limpa, pois não geram resíduos na produção de ésteres de ácidos graxos, e os rendimentos podem ser maiores do que os obtidos com os catalisadores químicos. Entretanto a produtividade em geral é prejudicada pelos longos períodos requeridos para conversão em ésteres. A viabilidade energética, econômica e ambiental da produção do biodiesel ainda promove acaloradas discussões favoráveis e desfavoráveis entre empreendedores e pesquisadores. Os principais entraves encontrados para fixá-lo na matriz energética são a garantia de fornecimento de matéria-prima, sem comprometer a segurança alimentar, o processo de extração do óleo e eventual refino, além do próprio processo de produção do biodiesel. O objetivo deste capítulo foi apresentar em um contexto geral a história, as matérias-primas e os processos de obtenção do biodiesel. A qualidade da matéria-prima e os aspectos econômicos e ambientais também foram abordados.

Palavras-chave: Histórico do biodiesel. Transesterificação. Matéria-prima. Qualidade.

ABSTRACT

Brazil has great potential for biofuels production because it is one of the largest producers of sugar cane and oil seeds. Soy appears as a major supplier of oil options and ethanol acyl group to biodiesel production. As the replacement for petroleum-derived hexane, using ethanol in the extraction process of vegetable oil is of great importance as it has positive impacts on environmental and economic issues, not yet fully explored. It is also justified in Brazil, where ethanol production is already established and recognized worldwide. The oil extraction with ethanol is a technically viable alternative that produces sterifiable miscella. Catalysis using NaOH has more space in the Brazilian market because of its low cost and easy handling. However, this process has the disadvantage of generating soaps, which impairs the quality of the final biodiesel. Besides this, a large amount of wastewater produced as the production process is completed, when distillation is not employed. Enzymes are a cleaner alternative, as they do not generate waste in the production of fatty acid esters, and yields may be higher than with chemical catalysts. The quality of biodiesel is established by rules that prioritize the operation of the engine after combustion, and also facilitates the use of biofuel in the country. The energetic, economic feasibility and environmental impacts of biodiesel production also promotes heated discussions between businesses and researchers, either favorable or unfavorable. The main obstacles encountered to secure it in the energy matrix are the assurance of raw material supply without compromising food security, the process of oil extraction and refining, besides its production processes. The purpose of this chapter was to present a general context of the biodiesel history, the raw materials for its production and the processes for obtaining this fuel. Quality of feedstock and biodiesel were discussed, as well as economic and environmental issues.

Keywords: Biodiesel history. Transesterification. Feedstock quality.

2.1 História do Biodiesel

Combustíveis fósseis são largamente aplicados no setor industrial, agrícola e transporte, desempenhando função essencial na economia de um país (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006). Entretanto, a alta energia demandada nos setores industriais e domésticos, somada aos problemas de poluição causados pelo uso de combustível fóssil tem aumentado o interesse e necessidade de desenvolver formas de aproveitamento de energia de fontes renováveis de menor impacto ambiental (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006). O esgotamento das reservas de petróleo, o alto preço e as emissões decorrentes de seu uso, têm levado à implementação de programas que visam à utilização de combustíveis alternativos, dentre os quais se destacam o etanol e biodiesel (ANGARITA et al., 2008).

O biodiesel é um combustível que gera benefícios econômicos, sociais e ambientais, na medida em que gera emprego e renda, reduz a emissão de gases de efeito estufa e aumenta as divisas do país, mesmo quando utilizado em misturas com o óleo diesel (COSTA; HOESCHL, 2007; BILICH; SILVA, 2007). Como combustível, o biodiesel possui características que representam vantagens sobre os combustíveis derivados do petróleo, tais ausência de enxofre e de compostos aromáticos, alto número de cetano, maior ponto de fulgor, menor taxa de emissão de partículas tóxicas como hidrocarbonetos, CO e CO₂, sendo de estocagem e manuseio mais seguros (KNOTHE et al., 2006).

A utilização de biocombustíveis em motores de combustão interna é uma proposta de mais de 100 anos (SHAY, 1993). Em 1900, na exposição mundial de Paris, foi apresentado ao público um motor diesel operando com óleo bruto de amendoim. O uso de óleo de amendoim no motor partiu do governo francês, porém Rudolf Diesel conduziu testes semelhantes nos anos subsequentes tornando-se defensor deste conceito (KNOTHE, 2006). Diesel em 1912, em uma palestra no Instituto de Engenheiros Mecânicos da Grã-Bretanha, confirmou sua convicção acerca da viabilidade do uso de óleos vegetais em motores diesel, apontando-os como uma promissora alternativa energética (SHAY, 1993; KNOTHE, 2006).

No Brasil, na década de 1920, testes foram realizados com combustíveis alternativos e renováveis em motores pelo Instituto Nacional de Tecnologia (INT) (ANGARITA et al., 2008). Nos anos 60, as Indústrias Matarazzo produziram ésteres etílicos quando buscavam extrair óleo dos grãos de café, retirando suas impurezas com etanol de cana de açúcar (BIODIESELBR, 2012).

Com a crise do petróleo na década de 1970, o interesse por combustíveis alternativos aumentou. Nesta época, institutos e universidades desenvolveram projetos para a utilização de óleos vegetais como combustíveis. Em 1975 surgiu o Programa Nacional do Álcool (Pró-álcool), com o objetivo de substituir, em larga escala, os derivados de petróleo (ANGARITA et al., 2008; BIODIESELBR, 2012). Neste mesmo ano foi proposto o Plano de Produção de Óleos Vegetais para fins energéticos (Pró-óleo ou Pró-diesel), que foi efetivamente criado apenas em 1980. O Pró-óleo visava aumentar a produção de óleo vegetal para ser competitivo com o petróleo, antevendo uma mistura de 30% de óleo vegetal no óleo diesel, com perspectivas para sua substituição integral em longo prazo (BIODIESELBR, 2012).

No final da década de 1970, o Pró-álcool obteve grande incentivo governamental, época que o governo financiava até 100% do investimento da atividade realizada no setor agrícola. Todavia, o desenvolvimento de outros combustíveis alternativos não conseguiu esse apoio e com isso pouco progresso foi alcançado. Enquanto isso, a Comunidade Econômica Européia investia, com sucesso, no biodiesel de óleo de canola (colza), a matéria prima mais produzida na Europa. Na Malásia e nos Estados Unidos foram realizados experimentos bem sucedidos com palma e soja, respectivamente (BIODIESELBR, 2012). Atualmente a União Européia e os Estados Unidos figuram como o primeiro e segundo maior produtor mundial de biodiesel, respectivamente. O Brasil ocupa o quinto lugar (LIMA; CASTRO, 2010).

Em 1983, o Governo Federal, motivado pela alta nos preços de petróleo, lançou o Programa Nacional de Óleos Vegetais – OVEG, no qual foi testada a utilização de biodiesel e misturas combustíveis em veículos que percorreram mais de um milhão de quilômetros. No final da década de 1990 foram realizados testes com frotas de ônibus no Brasil com biodiesel (de soja) americano doado pela American Soybean Association (ASA) (BIODIESELBR, 2012).

Porém, a partir de 1986 o preço do petróleo caiu e as atividades de produção experimental de óleo diesel vegetal foram paralisadas. O pró-álcool perdeu o apoio das políticas governamentais e por pressões internacionais, o programa foi paralisado (BIODIESELBR, 2012).

Em 2002 foi retomada a ideia do Pró-óleo e foi anunciado o PROBIODIESEL (Programa Brasileiro de Desenvolvimento Tecnológico do Biodiesel), com o objetivo de estabelecer um arcabouço regulamentário para o desenvolvimento e a produção nacional de biodiesel (KÖRBITZ, 2006). O programa teve como intuito promover o desenvolvimento

científico e tecnológico de biodiesel, a partir de ésteres etílicos de óleos vegetais puros e/ou residuais (BRASIL, 2012).

Em 2005 foi implementado por lei o Programa Nacional de Produção de Biodiesel e Uso do Biodiesel (PNDB), em execução até os dias de hoje (ANGARITA et al., 2008; BRASIL, 2012). O programa incentiva a produção e uso do biodiesel de forma sustentável, com enfoque na inclusão social e no desenvolvimento regional, via geração de emprego e renda (BRASIL, 2012). O PNDB estabeleceu por lei a obrigatoriedade de misturar biodiesel ao diesel. Desde 1º de janeiro de 2010, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil contém 5% de biodiesel (ANP, 2012).

A produção e o uso do biodiesel no Brasil propiciam o desenvolvimento de uma fonte energética sustentável sob os aspectos ambiental, econômico e social e também trazem a perspectiva da redução das importações de petróleo. A produção vem crescendo de forma considerável nestes últimos anos, com um aumento de 100% entre os anos de 2008 e 2010 (ANP, 2012). Em 2010 o Brasil contava com uma produção anual de 2,4 bilhões de litros e uma capacidade instalada para cerca de 5,8 bilhões de litros (ANP, 2012).

2.2 Produção de biodiesel

A proposta de utilizar óleo vegetal como combustível alternativo ocupou uma posição de destaque no início do século XX, entretanto a queima deste material graxo apresentava problemas associados principalmente com sua combustão direta quando operado no motor por longo prazo (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006).

A alta viscosidade, a baixa volatilidade e a reatividade da cadeia de hidrocarbonetos insaturados dos óleos vegetais causam problemas no motor quando utilizados por muito tempo. A alta viscosidade provoca uma baixa atomização do óleo, reduzindo o poder de ignição, combustão e deixando depósitos no motor (KNOTHE, 2006). Os ácidos graxos poliinsaturados são susceptíveis à polimerização e à formação de gomas devido à oxidação durante a estocagem e à polimerização provocada pela alta temperatura e pressão durante a combustão. A goma não queima completamente, resultando em depósitos de carbonizados e, conseqüente entupimento dos injetores, comprometendo a vida útil do motor. (SHAY, 1993; MA; HANNA, 1999; MEHER; SAGAR; NAIK, 2006).

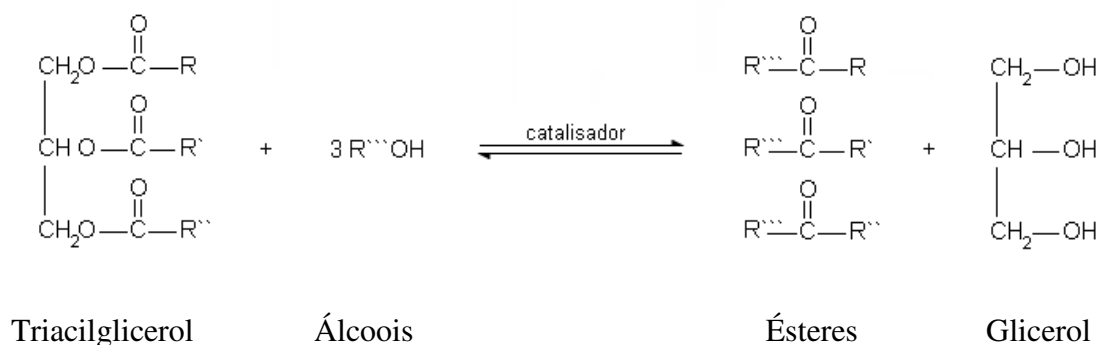
Visando reduzir a viscosidade dos óleos vegetais, diferentes alternativas têm sido aplicadas como diluição, microemulsificação, pirólise e reação de transesterificação com álcool de cadeia curta (MA; HANNA, 1999; CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010).

A diluição do óleo vegetal com diesel de petróleo foi realizada em diferentes proporções para diminuir a viscosidade do óleo. A Caterpillar Brasil, em 1980, usou uma mistura de 20% de óleo vegetal e 80% de óleo diesel conseguindo manter a potência dos motores de pré-câmara, sem necessidade de alteração ou ajuste (MA; HANNA, 1999; SINGH; SINGH, 2010). Entretanto, a solução foi temporária pois os problemas com o motor começaram após certo tempo de uso da mistura (MA; HANNA, 1999).

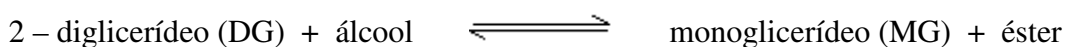
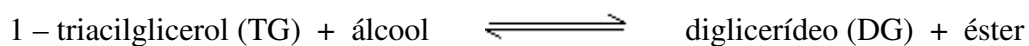
A pirólise ou craqueamento consiste na conversão de uma substância em outra por aquecimento a temperaturas muito altas (300° a 500° C) ou por aquecimento e ação de um catalisador na ausência de ar ou oxigênio. O óleo vegetal é degradado em moléculas menores como alcanos, alcenos, em sua maior parte, além de alcadienos, ácidos carboxílicos, compostos aromáticos e produtos gasosos (ALENCAR; ALVES; CRAVEIRO, 1983; MA; HANNA, 1999). O craqueamento catalítico produz uma mistura de hidrocarbonetos condensados com rendimento em torno de 80% em uma fase orgânica (CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010).

A produção de biodiesel por microemulsificação tem sido realizada com a mistura de diesel, óleo vegetal, álcool, surfactantes e cetano em proporções adequadas (MA; HANNA, 1999; FERNANDO; HANNA, 2004). As microemulsões produzidas são definidas como dispersões coloidais termodinamicamente estáveis, em que o diâmetro das partículas estão na faixa de 1-150 nm (SCHAWB; BAGBY; FREEDMAN, 1987). Combustíveis microemulsionados são às vezes chamados de "combustíveis híbridos", apesar de misturas de óleo diesel convencional com óleos vegetais também serem chamados assim (BALAT, 2007).

A transesterificação (ou alcoólise) é a reação entre óleos vegetais ou animais (triacilgliceróis) com um álcool de cadeia curta (etanol ou metanol), na presença de um catalisador, formando ésteres alquílicos e glicerol (MA; HANNA, 1999; BALAT, 2007). A reação de transesterificação está ilustrada a seguir:



Etapas da reação:



(Fonte: BALAT, 2007).

O processo de transesterificação pode ser catalisado por compostos homogêneos ou heterogêneos. Os catalisadores homogêneos incluem os alcalinos e ácidos. Os catalisadores alcalinos comumente usados são hidróxido de sódio, hidróxido de potássio, metóxido e etóxido de sódio; dos catalisadores ácidos, os mais usados são ácido sulfúrico, ácido clorídrico e ácido sulfônico. Os catalisadores heterogêneos incluem resinas trocadoras de íons, complexos metálicos, polímeros orgânicos e os biocatalisadores (enzimas) (BALAT, 2007).

A transesterificação pode ser realizada sem catalisadores com álcool em seu estado supercrítico (SAKA; KUSDIANA, 2001; RAGANATHAN et al., 2008), por microondas (LAM; LEE; MOHAMED, 2010; LIAO; CHUNG, 2011), ultrassom (JI et al., 2006; DENG; FANG; LIU, 2010; LAM; LEE; MOHAMED, 2010) ou cavitação hidrodinâmica (JI et al., 2006).

O Brasil possui grande potencial para a produção de biocombustível devido ao tradicional cultivo principalmente de cana-de-açúcar e de oleaginosas. A soja é uma das principais *commodities* produzidas pelo país e é atualmente a principal matéria-prima na produção de biodiesel. As demais matérias-primas que vem sendo usadas efetivamente são sebo, óleo de caroço de algodão, óleo de palma e óleo de fritura (LIMA; CASTRO, 2010; ANP, 2012). O etanol, cuja tecnologia de produção é totalmente conhecida em nosso país, referência mundial atualmente, oferece uma boa alternativa na produção de ésteres etílicos, por ser de fonte renovável e incentivada pelo governo (BRASIL, 2012).

2.2.1 Matéria-prima (oleaginosa)

As matérias-primas oleaginosas são atualmente as mais utilizadas para a produção de biodiesel: soja, canola (colza), dendê, amendoim, mamona, semente de girassol, caroço de algodão, palma, arroz, camelina, coco, pequi, macaúba, tucumã, babaçu (BILICH; DA SILVA, 2007, HAAS; FOGLIA, 2006; LIMA; CASTRO, 2010, SORIANO JUNIOR; NARANI, 2011). Entretanto, considerando que a matéria-prima representa 70 a 80% do custo na produção de biodiesel (HASS; FOGLIA, 2006; CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010),

fontes alternativas de óleo e gordura não comestíveis vem ganhando grande atenção de pesquisadores para reduzir o custo e evitar futuros problemas com a alimentação mundial. Algumas das matérias-primas alternativas são: óleo de fritura (ALCANTARA et al., 2000; FELIZARDO et al., 2006; ELCIMAR; GONZÁLEZ; RODRIGUES-REINARES, 2007; LAM; LEE; MOHAMED, 2010), sebo bovino (MA; CLEMENTS; HANNA, 1998; ALCANTARA et al., 2000; KURZIN et al., 2007), pinhão-manso (*Jatropha curcas*) (TIWARE; KUMAR; RAHEMAN, 2007), óleo de nim (*Azadirachta indica*) (RAGIT et al., 2011), óleo de castanha da Índia (*Sterculia foetida*) (BINDHU et al., 2011), microalgas, leveduras e fungos (MIAO; WU, 2006; CHISTI, 2007; SINGH; SINGH, 2010), gordura de frango, (SINGH; SINGH, 2010) entre outros materiais citados por Singh e Singh (2010) e Azócar et al. (2010).

Entretanto, a escolha da matéria-prima varia de uma localização à outra de acordo com a disponibilidade; a matéria graxa mais abundante é geralmente a mais usada (HAAS; FOGLIA, 2006), devido ao esperado menor custo. No Brasil a produção de biodiesel tem sido ajustada de acordo com a cultura predominante da região. No Norte, o dendê e a soja são as fontes mais usadas; no Nordeste, mamona, dendê, babaçu, soja e algodão; no Centro Oeste, soja, algodão, mamona e girassol; no Sudeste, soja, mamona, algodão e girassol; no Sul girassol, soja, canola e algodão (PINTO et al., 2005). Mesmo assim, a soja responde por 71% por toda a produção de biodiesel do país (ANP, 2012).

2.2.1.1 Extração da matéria-prima oleaginosa

O óleo pode ser extraído do grão ou fruto por prensagem ou por solvente. A extração por prensagem é realizada em materiais com elevados teores de lipídeos, sendo a prensa tipo Expeller, a mais conhecida. Para o bom rendimento dos processos, é necessário um preparo do grão, reduzindo o tamanho da partícula e aquecendo-a (REGITANO-D'ARCE, 2006a).

A extração por solvente teve sua patente depositada pelo francês Deiss no ano de 1855, utilizando o dissulfeto de carbono como solvente na extração de gordura animal (JOHNSON; LUSAS, 1983).

Por volta de 1870 a extração por solvente, descontínua, foi estabelecida como processo industrial na Europa. Os primeiros solventes aplicados na extração de sementes oleaginosas foram o dissulfeto de carbono, uma mistura de hidrocarbonetos, o tricloroetileno e o etano (JOHNSON; LUSAS, 1983).

O mecanismo que envolve a extração de óleos de frutos e grãos envolve os processos de: lixiviação, lavagem, difusão e diálise. O material oleaginoso é geralmente preparado por quebra, condicionamento e laminação. Estas operações deformam as células, rompendo a parede celular dos esferossomos, facilitando a saída do óleo (JOHNSON; LUSAS, 1983).

Os extratores frequentemente empregados são os modelos de células rotatórias (Rotocell) e de esteira em sistema de contra-corrente com recirculação de miscela. Os equipamentos operam com o mesmo princípio, em que o material oleaginoso movimentado dentro de câmaras ou em esteiras passa por distintos estágios com banhos de solvente e deixa o equipamento com concentração de óleo reduzido (ALMEIDA; RAVAGNANI; MODENES, 2010).

A extração com solventes aplicando ultrassom de alta intensidade (LI; PORDESIMO; WEISS, 2004) e combinações de ultrassom com soluções enzimáticas (SHAH; SHARMA; GUPTA, 2005) provaram-se mais rápidas e ainda mais eficientes quando foram utilizadas enzimas hidrolases, que quebram as paredes celulares, disponibilizando o óleo antes inacessível (KASHYAP et al., 2007). Estas técnicas de extração apresentadas vêm sendo aperfeiçoadas para recuperação dos lipídeos de fontes vegetais, assim como de microalgas (HALIM; DANQUAH; WEBLEY, 2012).

Atualmente o hexano é o solvente mais amplamente empregado nas plantas industriais extratoras de óleo. Entretanto, solventes alternativos como n-heptano, n-propanol, álcool isopropílico e etanol podem ser empregados, obtendo rendimentos de óleo equivalentes ao encontrado com hexano (GANDHI et al., 2003).

O solvente ideal deve atender a alguns requisitos, tais como alta seletividade por compostos lipídicos; baixa toxicidade aos seres vivos; fácil recuperação; baixa inflamabilidade; estabilidade à luz, calor e água; não reatividade ao óleo e farelo, equipamentos; alta pureza; e baixo custo (JOHNSON; LUSAS, 1983; REGITANO-D'ARCE, 1985).

Vários solventes podem ser usados no processo de extração e sua escolha dependerá primeiramente do produto desejado (óleo ou farelo). A extração com etanol normalmente resulta em óleos de coloração mais intensa e com maior teor de fosfolipídeos do que os extraídos com hexano. Comparado com o óleo bruto recuperado de vários solventes, o óleo proveniente do etanol é o que apresenta menor intensidade de cor e concentração de ácidos graxos livres (BECKEL; BELTER; SMITH, 1948).

O farelo proveniente da extração com etanol tem baixo teor de açúcares, fosfolipídeos, saponinas, pigmentos e coloração clara. Além disso, o etanol remove o amargo do material

oleaginoso e o sabor de feijão cru, dando origem a um farelo de sabor suave sem sabores amargos (BECKEL; SMITH, 1944; BECKEL; BELTER; SMITH, 1948; SANGALETTI et al., 2009).

A qualidade do farelo é que define seu destino final, seja para alimentação humana ou para ração animal. O farelo de soja tem cerca de 50% de proteína após extração com solvente (REGITANO D'ARCE; VIEIRA, 2008). A digestibilidade proteica está diretamente relacionada com a integridade da proteína e de seus aminoácidos os quais, devem ser preservados. Para isso fatores antinutricionais, tratamentos térmicos ou a forma química da proteína devem ser controlados e monitorados (LIU, 1999; REGITANO-D'ARCE, 2006b).

Os fatores indesejáveis da soja são inibidores de protease, lectinas, fitatos, saponinas, e oligossacarídeos, entre outros. Estas substâncias químicas geram problemas fisiológicos adversos aos animais que consomem leguminosas cruas e ainda interferem na utilização de nutrientes da dieta. Alguns destes fatores são inativados ou destruídos pelo calor, dependendo o tratamento térmico aplicado na soja (NWOKOLO, 1996; REGITANO-D'ARCE, 2006b). Entretanto, o excesso de calor pode levar à desnaturação proteica provocando a perda da função biológica das proteínas (LEHNINGER, 2006).

A atividade ureática da soja é um teste mais simples e rápido que indica a presença de inibidores de tripsina e de fitohemaglutininas, através da atividade da urease (AOCS, 2003). Destes compostos, até 98% em farinha de soja são destruídos em 15 minutos de tratamento no vapor a 100°C (REGITANO-D'ARCE, 2006b). O índice de solubilidade do nitrogênio (ISN) reflete a qualidade da proteína.

Independentemente da forma de extração do óleo, cada matéria-prima apresenta uma composição em ácidos graxos característica. Os ésteres alquílicos formados permanecem com a mesma estrutura dos ácidos graxos presentes no material graxo, com isso a composição dos ácidos graxos interfere diretamente na qualidade do biodiesel (RAMOS, et al, 2003; BRINGE, 2006).

A Tabela 2.1 apresenta a composição em ácidos graxos das principais oleaginosas atualmente aplicadas na produção de biodiesel no mundo.

Tabela 2.1 – Composição em ácidos graxos (%) do óleo das principais oleaginosas para produção de biodiesel

	Palmítico (16:0)	Palmitoléico (16:1)	Estearíco (18:0)	Oléico (18:1)	Linoléico (18:2)	Linolênico (18:3)	Estearidônico (18:4)	Ricino- léico
Soja	13,9	0,3	2,1	23,2	56,2	4,3		
Algodão	28,7		0,9	13,0	57,4			
Sebo	23,3	0,1	19,3	42,4	2,9	0,9	2,9	
Canola	3,5		0,9	64,1	22,3	8,2		
Girassol	6,4	0,1	2,9	17,7	72,9			
Palma	42,6	0,3	4,4	40,5	10,1	0,2	1,1	
Mamona	1,1		3,1	4,9	1,3			89,6

Fonte: Singh e Singh (2010)

A quantidade de duplas ligações na cadeia de ácidos graxos tem significativa influência na qualidade. Quanto maior o grau de insaturação de um ácido graxo, maior a probabilidade de oxidação do biodiesel. Entretanto, se predominarem os ácidos graxos saturados, o biodiesel poderá apresentar problemas de baixo ponto de solidificação e terá problemas em lugares de clima temperado (RAMOS, et al., 2003; BRINGE, 2006).

Os ácidos graxos que mais fortemente limitam a qualidade de fluxo a frio e viscosidade do biodiesel são o palmítico e o esteárico (BRINGE, 2006).

2.2.2 Álcool (acceptor de acila)

Ésteres podem ser produzidos com álcoois como metanol, etanol propanol, isopropanol, butanol e isobutanol (NIMCEVIC et al., 2000).

Entretanto, o metanol e etanol são os álcoois mais utilizados na reação de transesterificação. O metanol, proveniente do refino do petróleo, é o álcool predominantemente utilizado em todo o mundo para a produção de ésteres de ácidos graxos para uso como biodiesel (HAAS; FOGLIA, 2006). Isto é devido à menor proporção de metanol requerido e ao baixo custo em países como os Estados Unidos (HASS; FOGLIA, 2006; CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010). Entretanto, em países como o Brasil justifica-se plenamente o uso do etanol (HASS; FOGLIA, 2006).

A etanólise, cuja reação de transesterificação utiliza etanol como acceptor de acila, desperta cada vez mais interesse por este álcool ser de fonte renovável e menos tóxico quando comparado ao metanol. Além disso, os ésteres etílicos tem ponto de névoa e de fluidez menores do que os ésteres metílicos, evitando problemas com o fluxo do combustível em tubulações e filtros que compõem o motor diesel (DUNN, 2006; ENCINAR, et al, 2002).

O metanol, por ser de cadeia mais curta que o etanol, é mais reativo na transesterificação de óleo (NIMCEVIC, 2000), entretanto, o rendimento de ésteres etílicos e metílicos obtidos com diversas matérias-primas são muito próximos. Ambos os álcoois podem resultar em altas taxas de conversão em ésteres, na faixa de 96 a 98% (KUCEK et al., 2007; CENOCH; HÁJEK; SKOPAL, 2010a; NIMCEVIC et al., 2000; RASHID; ANWAR, 2008; RASHID et al., 2012).

O rendimento de ésteres alquílicos dependerá da quantidade de álcool adicionada na reação, do tempo, da temperatura, do tipo e concentração de catalisador e tipo da matéria-prima lipídica. A conversão a ésteres metílicos é favorecida pelo aumento da temperatura (ENCINAR; GONZÁLEZ; RODRÍGUES-RAMIREZ, 2005). Com o etanol, contudo o rendimento pode aumentar com a redução de temperatura (BOUAID; MARTINEZ; ARACIL, 2007; CENOCH; HÁJEK; SKOPAL, 2010b), promovendo uma redução do consumo de energia.

2.2.3 Catalisadores

Os catalisadores são substâncias imprescindíveis a qualquer processo que pretenda ter rendimento industrial. Os catalisadores podem ser divididos em duas categorias: os homogêneos que estão na mesma fase das substâncias reagentes, enquanto os catalisadores heterogêneos estão em uma fase diferente (BROWN; HOLME, 2010).

Na produção de biodiesel, os catalisadores mais usados e os mais comuns são os alcalinos (NaOH e KOH) e os alquilados metálicos (metóxido ou etóxido de sódio), de fácil emprego e de custo acessível (MENEGHETTI et al., 2006). Entretanto, para alcançar altos teores de ésteres, estes catalisadores exigem uma matéria-prima pura, principalmente livre de água e ácidos graxos livres (FREEDMAN; PRYDE; MOUNTS, 1984; MA; CLEMENTS; HANNA, 1998). Já os catalisadores ácidos são os mais indicados para as matérias-primas com elevado teor de ácidos graxos livres e água (HASS; FOGLIA, 2006), sendo o ácido sulfúrico, ácido clorídrico, ácido sulfônico e fosfórico os mais utilizados (SENDZIKIENE et al., 2004; KURZIN et al., 2007). Altos rendimentos de ésteres são alcançados com estes catalisadores, porém são pouco aplicados porque a reação é lenta e danificam os equipamentos (LAM; LEE; MOHAMED, 2010; MARCHETTI; MIGUEL; ERRAZU, 2007).

Os catalisadores homogêneos são mais robustos e, por serem líquidos, facilitam a reação devido à rápida e homogênea distribuição no meio de reação. Por outro lado, a sua

remoção e recuperação são dificultadas e o catalisador após reação é descartado como resíduo (MBARAKA; SHANKS, 2006).

Os catalisadores heterogêneos apresentam vantagens sobre os homogêneos por serem facilmente separados do produto, reduzem significativamente o número de etapas de purificação e possibilitam a sua reutilização (HASS; FOGLIA, 2006). Os catalisadores insolúveis incluem sílicas e zeólitas (MBARAKA; SHANKS, 2006), complexos metálicos como estanho, chumbo, zinco, ferro, entre outros (ABREU et al., 2003; ABREU et al., 2005), guanidinas em polímeros orgânicos (SCHUCHARDT et al., 1998; PETER, et al., 2002), e lipases imobilizadas em diferentes suportes (WATANABE et al., 2000; NARANJO et al., 2008; RODRIGUES et al., 2008; SHAO et al., 2008).

Esses catalisadores podem operar sem tratamento térmico, em poucas horas de reação sem sofrer desativação rápida (SCHUCHARDT et al., 2006). Abreu et al. (2005) aplicaram óxido de estanho como catalisador em sistema heterogêneo, e após três horas de reação obtiveram um rendimento de 93% na conversão de ésteres metílicos. O catalisador foi recuperado sem grandes perdas e reutilizado.

A utilização de catalisadores enzimáticos, tais como as lipases, é uma área crescente e interessante na produção de biodiesel. Trata-se de um processo limpo, o que significa sem prejuízos ao ambiente, o catalisador pode estar imobilizado, evitando a geração de resíduos líquidos, além de se trabalhar com temperaturas em torno de 30°C, quando da produção de ésteres metílicos (SHIMADA et al., 2002).

As enzimas lipases obtidas de microrganismos *Mucor miehei*, *Rhizopus oryzae*, (BAN et al., 2001; BAN et al., 2002), *Candida antarctica B* (SAMUKAWA et al., 2000), *Pseudomonas cepacia* (BAN et al., 2002) e *Candida rugosa* (SHAO et al., 2008) são capazes de catalisar a metanólise e etanólise. As lipases imobilizadas em diferentes suportes como resinas (*Pseudomonas cepacia*) (LIU et al., 2010), e de *Candida antartica B*, imobilizadas em resina de acrílico (Novozym[®]435), carvão ativado (*Candida antartica B*) (NARANJO, et al., 2010), em quitosana (*Candida rugosa*) (CHIOU; WU, 2004) e diatomáceas e gel (*Lipase PS*) tiveram ação na transesterificação (RANGANATHAN et al., 2008). Atualmente a Novozym[®]435 é a lipase mais investigada como catalisador enzimático na produção de biodiesel (WATANABE et al., 1999; SAMUKAWA et al., 2000; SHIMADA et al., 2002; DU et al., 2004; LI et al., 2006; ROYON et al., 2007; HERNANDÉZ-MATÍN; OTERO et al., 2008; OGNJANOVC; BREZBRADIC-JUGOVIC, 2009, AZÓCAR et al., 2010).

2.2.4. Fatores que afetam a reação de transesterificação

A qualidade da matéria-prima e as condições experimentais da reação desempenham papel importante na obtenção do biodiesel. Os fatores de maior relevância para alcançar elevados teores de ésteres são: teor de ácidos graxos livres e água, tempo e temperatura de reação, tipo e quantidade de catalisador e razão molar do álcool em relação ao óleo.

O teor de ácidos graxos livres e água são parâmetros chave para determinar a viabilidade química e econômica na transesterificação (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006). A presença de elevados teores de ácidos graxos livres (AGL) e água afetam o rendimento de biodiesel, principalmente na reação de transesterificação com catalisador alcalino. Quando os AGL estão acima de 1% na presença de catalisador alcalino (NaOH), a reação de saponificação é favorecida. Com isso, a produção de ésteres é reduzida por falta do catalisador na reação transesterificação, o sabão formado provoca emulsão e não há separação da fase éster da fase glicerol. A água também contribui para a saponificação (MA; HANNA, 1999). Ma, Clements, Hanna (1998) constataram que com o aumento do teor de água o rendimento de ésteres metílicos reduziu drasticamente. Os catalisadores enzimáticos toleram presença de AGL e água (SHIEH; LIAO; LEE, 2003). Já os catalisadores ácidos, são os mais recomendados na transesterificação de matérias-primas com elevados teores de água e AGL (KILDIRAN; YÜCEL; TÜRKAY, 1996; TIWARI, KUMAR; RAHEMAM, 2007).

A razão molar (RM) é a variável mais importante que afeta o rendimento dos ésteres. O excesso de álcool aumenta o rendimento com catalisadores químicos, entretanto desativa o catalisador enzimático em particular quando o álcool é insolúvel na mistura da reação (MEHER; SAGAR; NAIK, 2006; ANTCZAC et al., 2009). Em reações enzimáticas, alguns autores realizaram adição de metanol e etanol em etapas (WATANABE et al., 1999; SHIMADA et al., 2002; RODRIGUES et al, 2010) para preservar a enzima, outros trabalhos adicionaram co-solvente para promover a diluição do aceptor de acila (LI et al, 2006; AZÓCAR et al., 2010).

Apesar da reação de transesterificação necessitar de três moles de álcool, ela é favorecida quando a razão molar é de pelo menos 1:6 (óleo:álcool) (ENCINAR; GONZÁLEZ; RODRÍGUEZ-REINARES, 2005; KUCEK et al., 2007; RASHID; ANWAR, 2008; DOMINGOS et al., 2008; CENOCH; HÁJEK; SKOPAL, 2010b; RASHID et al., 2012). Porém, razões superiores a 1:6 de óleo:metanol na reação ocasionaram redução no rendimento de ésteres com catalisador alcalino pois o grupo hidroxila do metanol pode atuar como emulsificante, dificultando a separação das fases (RASHID; ANWAR, 2008)

Em reação de etanolise com excesso de etanol, a separação entre a fase éster e glicerol é dificultada pela afinidade do etanol ao glicerol e formação de sabão, exigindo aquecimento para evaporação e recuperação do etanol, e separação das fases (CENOCH; HÁJEK; SKOPAL, 2010b).

O tempo e temperatura da reação dependem principalmente da composição da matéria-prima a ser empregada. Geralmente quanto maior a temperatura, mais rápido ocorre a conversão. A temperatura influencia na redução da viscosidade e facilita o contato dos reagentes com catalisadores heterogêneos (FREEDMAN; PRYDE; MOUNTS, 1986; MEHER; SAGAR; NAIK, 2006).

Como já comentado, o tipo do catalisador utilizado dependerá da matéria-prima e sua qualidade. A quantidade de catalisador deve ser determinada para cada matéria-prima e condições experimentais da reação de transesterificação. Os catalisadores básicos e ácidos geralmente são aplicados em concentrações de no máximo 3% (FREEDMAN; BUTTESFIELD; PRYDE, 1986; VICENTE; MATÍNEZ; ARACIL, 2004). Já os catalisadores enzimáticos demonstraram que à medida que sua concentração aumenta, o tempo de conversão diminui, entretanto, deve ser evitado o excesso de catalisador para evitar problemas com a separação do produto (HERNANDÉZ-MARTÍN; OTERO, 2008.).

2.2.5 Qualidade do biodiesel

Independentemente da matéria-prima oleaginosa ou a rota tecnológica (metflica ou etflica), a aceitação do biodiesel deve ser assegurada (RAMOS et al., 2003). A qualidade do biocombustível é afetada pela presença de reagentes que não foram transformados em produtos como acilgliceróis, álcool, glicerol, ácidos graxos livres e resto de catalisadores. Os contaminantes podem levar a problemas operacionais pelo depósito de carbono no motor quando é utilizado o biodiesel (KNOTHE, 2006).

Buscando padronizar o produto, normas de qualidade foram elaboradas nas três maiores regiões do mundo (América do Norte, América do Sul e União Européia) produtoras de biodiesel. A ASTM (*American Society for Testing and Material*) representa a norma americana que especifica as características mínimas do biodiesel na região, o *Comité Européen de Normalisation* (CEN) na União Européia e a Agência Nacional de Gás Natural e Biocombustíveis (ANP) no Brasil (CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010).

No Brasil a Resolução ANP no 7, de 19/03/2008 estabelece a especificação do biodiesel comercializado em todo o território nacional (ANP, 2008).

2.2.6 Aspectos econômicos e ambientais

O principal fator econômico na produção de biodiesel está em seu custo relacionado com a matéria-prima (material oleaginoso e álcool), o processamento e a logística (MA; HANNA, 1999). De acordo com especialistas em processamento de biodiesel, é frequente a discussão sobre estratégias de minimização dos custos de produção. Além dos insumos diretamente utilizados, a logística do produto tem grande peso. A ideia da unidade de extração junto da produção de biodiesel vem sendo proposta, entretanto elas geralmente são construídas longe dos centros consumidores, o que gera gasto com transporte do produto. Entretanto, se estas unidades estiverem nos centros consumidores de biodiesel, o problema será o transporte de grãos e co-produto (torta ou farelo) (CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010). Com isso estudos de viabilidade econômica e energética podem ser realizados para encontrar a solução destes problemas.

O asseguramento de que o biodiesel é um combustível ambientalmente limpo e que apresenta vantagens comparáveis ao diesel, vem sendo discutida por trabalhos científicos através de análise de ciclo de vida (ACV) (ANGARITA et al., 2008) e fluxo de energia (PIMENTEL; PATZEK, 2005; CAVALETTI; ORTEGA, 2010) e emergia (CAVALETTI; ORTEGA, 2010). Nestas análises, a cadeia produtiva é avaliada desde as atividades realizadas no campo até a matéria-prima. Cavaletti e Ortega (2010) e Smith, Janzen e Newlands (2007) concluíram que o déficit de energia na produção de biodiesel está na produção agrícola, devido principalmente ao combustível utilizado no campo, os agroquímicos e fertilizantes.

2.3 CONCLUSÕES

É desejável que a extração da fração lipídica da matriz oleaginosa seja eficiente e simples, com eliminação de etapas de processamento e baixa geração de resíduos; e que o óleo apresente características adequadas para possibilitar elevados rendimentos em biodiesel.

O uso do etanol e de óleo de soja no Brasil é plenamente justificável. O etanol pode ser utilizado como solvente no processo de extração e ainda ser aproveitado como aceptor de acila em reação de transesterificação direta em miscela (óleo:etanol).

REFERÊNCIAS

ABREU, F. R.; LIMA, D. G.; HAMÚ, E. H.; EINLOFT, S.; RUBIM, J. C.; SUAREZ, P. A. Z. New metal catalysts for soybean oil transesterification. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 80, n. 6, p. 601-604, 2003.

ABREU, F. R.; ALVES, M. B.; MACEDO, C. C. S.; ZARAB, L. F.; SUAREZ, P. A. Z. New multi-phase catalytic systems based on tin compounds active for vegetable oil transesterification reaction. **Journal of Molecular Catalysis A: Chemical**, Amsterdam, v. 227, p. 263–267, 2005.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCMBUSTÍVEL – ANP. Disponível em: www.anp.gov.br. Acesso em: 02 mar. 2012.

ALCANTARA, R.; AMORES, J.; CANOIRA, L.; FIDALGO, E.; FRANCO, M. J.; NAVARRO, A. Catalytic production of biodiesel from soy-bean oil, used frying oil and tallow. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 18, p. 515-527, 2000.

ALENCAR, J. W.; ALVES, P. B.; CRAVEIRO, A. A. Pyrolysis of Tropical Vegetable Oils. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 31, n. 6, p. 1268-1270, 1983.

ALMEIDA, R. L.; RAVAGNANI, M. A. S. S.; MODENES, A. N. Soybean oil extraction in belt extractors with miscella recirculation. **Chemical Engineering and Processing**, Lausanne, v. 49, p. 996-1005, 2010.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY – AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 5. ed. Champaign, 2003.

ANGARITA, E. E. Y.; LORA, E. E. S.; COSTA, R. E.; LAMÔNICA, H. M.; FINGUERUT, J.; RAMIREZ, G. A. S.; NASCIMENTO, M. A. R. Produção de óleos vegetais e biodiesel: tecnologia e análise de ciclo de vida. In: CORTEZ, L. A. B.; LORA, E. E. S.; GOMEZ, E. O. **Biomassa para energia**. Campinas: Editora Unicamp, 2008. 732 p.

ANTCZAK, M. S.; KUBIAK, A.; ANTCZAK, T.; BIELECKI, S. Enzymatic biodiesel synthesis – key factors affecting efficiency of the process. **Renewable Energy**, Oxford, v. 34, p. 1185-1194, 2009.

AZÓCAR, L.; CIUDAD, G.; HEIPIEPER, H. J.; MUÑOZ, R.; NAVIA, R. Improving fatty acid methyl ester production yield in a lipase-catalyzed process using waste frying oils as feedstock. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 109, n. 6, p. 609–614, 2010.

BALAT, M. Production of biodiesel from vegetable oils: a survey. **Energy Sources, Part A**, London, v. 29, p. 895-913, 2007.

BAN, K.; KAIEDA, M.; MATSUMOTO, T.; KONDO, A.; FUKUDA, H. Whole cell biocatalyst for biodiesel fuel production utilizing *Rhizopus oryzae* cells immobilized within biomass support particles. **Biochemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 8, p. 39-43, 2001.

BAN, K.; HAMA, S.; NISHIZUKA, K.; KAIEDA, M.; MATSUMOTO, T.; KONDO, A.; NODA, H.; FUKUDA, H. Repeated use of whole-cell biocatalysts immobilized within biomass support particles for biodiesel fuel production. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 17, p. 157–165, 2002.

BECKEL, A. C.; SMITH, A. K. Alcohol extraction improves soya flour flavor and color. **Food Industries**, Washington, DC, v. 16, p. 616-664, 1944.

BECKEL, A. C.; BELTER, P. A.; SMITH, A. K. Solvent effects on the products of soybean oil extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 25, n. 1, p. 7-9, 1948.

BILICH, F.; DA SILVA, R. **Análise do potencial brasileiro na produção de biodiesel**. Curitiba: Biodieselbr, 2007. Disponível em: www.biodieselbr.com.br. Acesso em: 16 set. 2007.

BINDHU, C. H.; REDDY, J. R. C.; RAO, B. V. S. K.; RAVINDER, T.; CHAKRABARTI, P. P.; KARUNA, M. S. L.; PRASAD, R. B. N. Preparation and evaluation of biodiesel from *Sterculia foetida* seed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, 2011. DOI 10.1007/s11746-011-1969-7.

BIODIESELBR. **História e biodiesel**. Curitiba: Biodieselbr, 2012. <http://www.biodieselbr.com/biodiesel/historia/biodiesel-historia.htm>. Acesso: 02 de março de 2012.

BOUAID, A., MARTINEZ, M.; ARACIL, J. A comparative study of the production of ethyl esters from vegetable oils as a biodiesel fuel optimization by factorial design. **Chemical Engineering Journal**, Amsterdam, v. 134, p. 93–99, 2007.

BRASIL. Ministério de Ciência e Tecnologia e Inovação - MCTI, 2012. <http://www.mct.gov.br>. Acesso: 03/03/2012.

BRINGE, N. A. Composição do óleo de soja para a produção de biodiesel. In: KNOTH, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

BROWN, L. S.; HOLME, T. A. **Química geral aplicada à engenharia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 653 p.

CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; PINHEIRO, N. P. A indústria de produção de biodiesel no Brasil. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; SILVA, J. F. V. **Complexo agroindustrial de biodiesel no Brasil: Competitividade das cadeias produtivas de matérias-primas**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2010.

CAVALETTI, O.; ORTEGA, E. Integrated environmental assessment of biodiesel production from soybean in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 18, p. 55-70, 2010.

CERNOCH, M.; HAJÉK, M.; SKOPAL, F. Ethanolysis of rapeseed oil – Distribution of ethyl esters, glycerides and glycerol between ester and glycerol phases. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 2071–2075, 2010a.

- CERNOCH, M.; HAJÉK, M.; SKOPAL, F. Study of effects of some reaction conditions on ethanolysis of rapeseed oil with dispergation. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 1213–1219, 2012b.
- CHISTI, Y. Biodiesel from microalgae. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 25, p. 294–306, 2007.
- CHIOU, S.-H.; WU, W.-T. Immobilization of *Candida rugosa* lipase on poly(allyl glycidyl ether-co-ethylene glycol dimethacrylate) macroporous polymer particles. **Biomaterials**, Guildford, v. 25, p. 197-204, 2004.
- COSTA, F. C.da; HESCHL, H. C. **Gestão do conhecimento na cadeia produtiva de biodiesel**. Curitiba: Biodieselbr, 2007. Disponível em: www.biodieselbr.com.br. Acesso em: 16 set. 2007.
- DENG, X.; FANG, Z.; LIU, Y. Ultrasonic transesterification of *Jatropha curcas* L. oil to biodiesel by a two-step process. **Energy Conversion and Management**, Oxford, v. 51, p. 2802–2807, 2010.
- DOMINGOS, A. K.; SAAD, E. B.; WIHELM, H. M.; RAMOS, L. P. Optimization of the ethanolysis of *Raphanus sativus* (L. Var.) crude oil the response surface methodology. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 1837-1845, 2008.
- DU, W.; XU, Y. Y.; LIU, D. H.; LI, Z. B. Study on acyl migration in immobilized lipozyme TL-catalyzed transesterification of soybean oil for biodiesel production. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 37, p. 68-71, 2005.
- DUNN, R.O. Propriedades a baixas temperaturas e desempenho do biodiesel. KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006, p. 91-132.
- ENCINAR, J. M.; GONZÁLEZ, J. F.; RODRÍGUEZ, A. TEJEDOR, A. Biodiesel fuels from vegetable oils: transesterification of *Cynara cardunculus* l. oils with ethanol. **Energy and Fuels**, Washington, DC, v. 16, p. 443-450, 2002.
- ENCINAR, J. M.; GONZÁLEZ, J. F.; RODRÍGUEZ-REINARES, A. Biodiesel from used frying oil. variables affecting the yields and characteristics of the biodiesel. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, Washington, DC, v. 44, n. 15, p. 5491-5499, 2005.
- ENCINAR, J. M.; GONZÁLEZ, J. F.; RODRÍGUEZ-REINARES, A. Ethanolysis of used frying oil. Biodiesel preparation and characterization. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam, v. 88, p. 513-522, 2007.
- FELIZARDO, P.; CORREIA, M. J. N.; RAPOSO, I.; MENDES, J. F.; BERKEMEIER, R.; BORDADO, J. M. Production of biodiesel from waste frying oils. **Waste Management**, Amsterdam, v. 26, p. 487-494, 2006.
- FERNANDO, S.; HANNA, M. Development of a novel biofuel blend using ethanol-biodiesel-diesel microemulsions: EB-Diesel. **Energy & Fuels**, Washington, DC, v. 18, p. 1695-1703, 2004.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; MOUNTS, T. L. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 61, p. 1-6, 1984.

FREEDMAN, B.; BUTTESFIED, R. O.; PRYDE, E. H. Transesterification kinetics of soybean oil. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 63, p. 1375-1380, 1986.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. REVIEW: Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 92 n. 5, p.405-416, 2001.

GANDHI, A. P.; JOSHI, K. C.; JHA, K.; PARIHAR, V. S.; SRIVASTAV, D. C.; RAGHUNADH, P.; KAWALKAR, J.; JAIN, S. K.; TRIPATHI, R. N. Studies on alternative solvents for the extraction of oil soybean. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 38, p. 369-375, 2003.

HAAS, M. J.; FOGLIA, T. A. Matérias-primas alternativas e tecnologia para a produção de biodiesel. In: KNOTH, G.; GERPEN, J.V.; FRAHL, J.; RAMOS, L.P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

HALIM, R.; DANQUAH, M. K.; WEBLEY, P. A. Extraction of oil from microalgae for biodiesel production: A review. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 30, p. 709–732, 2012.

HERNÁNDEZ-MARTÍN, E.; OTERO, C. Different enzyme requirements for the synthesis of biodiesel: Novozym[®] 435 and Lipozyme[®] TL IM. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 277–286, 2008.

JI, J.; WANG, J.; LI, Y.; YU, Y.; XU, Z. Preparation of biodiesel with the help of ultrasonic and hydrodynamic cavitation. **Ultrasonics**, London, v. 44, p. e411–e414, 2006.

JOHNSON, L. A.; LUSAS, E. W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 60, n. 2, p. 229-242, 1983.

KASHYAP, M. C.; AGRAWAL, Y. C.; GHOSH, P. K.; JAYAS, D. S.; SARKAR, B. C.; SINGH, B. P. N. Oil extraction rates of enzymatically hydrolyzed soybeans. **Journal of Food Engineering**, London, v. 81, p. 611–617, 2007.

KILDIRAN, G.; YÜCEL, S. O.; TÜRKAY, S. *In-situ* Alcoholysis of Soybean Oil. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 73, n. 2, p. 1-4, 1996.

KNOTHE, G. A história dos combustíveis derivados de óleos vegetais. KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006, p. 5-18.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006. 340 p.

KÖRBITZ, W. O estado da arte do biodiesel na Ásia, nas Américas, na Austrália e na África do Sul. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

KUCEK, K. T.; OLIVEIRA, M. A. F. C.; WILHELM, H. M.; RAMOS, L. P. Ethanolysis of refined soybean oil assisted by sodium and potassium hydroxides. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 84, n. 4, p. 385-392, 2007.

KURZIN, A. V.; EVDOKIMOV, A. N.; PAVLOVA, O. S.; ANTIPINA, V. B. Synthesis and Characterization of Biodiesel Fuel Based of Esters of Tall Oil Fatty Acids. **Russian Journal of Applied Chemistry**, New York, v. 80, n. 5, p. 842-845, 2007.

LAM, M. K.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 28, p. 500-518, 2010.

LEHNINGER, A. L. Proteínas. In: _____. **Princípios de bioquímica**. 4. ed. São Paulo: Sarvier, 2006.

LI, H.; PORDESIMO, L.; WEISS, J. High intensity ultrasound-assisted extraction of oil from soybeans. **Food Research International**, Essex, v. 37, n. 7, p. 731-738, 2004.

LI, L.; DU, W.; LIU, D.; WANG, L.; LI, Z. Lipase-catalyzed transesterification of rapeseed oils for biodiesel production with a novel organic solvent as the reaction medium. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 43, p. 58-62, 2006.

LIAO, C. C.; CHUNG, T. W. Analysis of parameters and interaction between parameters of the microwave-assisted continuous transesterification process of *Jatropha* oil using response surface methodology. **Chemical Engineering Research and Design**, London, v. 89, p. 2575-2581, 2011.

LIMA, S. M. V.; CASTRO, A. M. G. A indústria A agroindústria de óleo vegetal para a produção de biodiesel. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; SILVA, J. F. V. **Complexo agroindustrial de biodiesel no Brasil: Competitividade das cadeias produtivas de matérias-primas**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2010.

LIU, K. **Soybean: chemistry, technology and utilization**. Gaithersburg, Maryland: Chapman & Hall, 1999. 113 p.

LIU, Y.; ZHANG, X.; TAN, H.; YAN, Y.; HAMEED, B.H. Effect of pretreatment by different organic solvents on esterification activity and conformation of immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase. **Process Biochemistry**, v. 45, p. 1176-1180, 2010.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 70, p. 1-15, 1999.

MA, F.; CLEMENTS, L. D.; HANNA, M. A. The effects of catalyst, free fatty acids, and water on transesterification of beef tallow. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 41, n. 5, p. 1261-1264, 1998.

MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U.; ERRAZU, A. F. Possible methods for biodiesel production. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 11, p. 1300–1311, 2007.

MBARAKA, I. K.; SHANKS, B. H. Conversion of oils and fats using advanced mesoporous heterogeneous catalysts. **Transactions of the ASAE**, St. Joseph, v. 83, n. 2, p. 79-91, 2006.

MEHER, L. C.; SAGAR, D. V.; NAIK, S. N. Technical aspects of biodiesel production by transesterification - a review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, Amsterdam, v. 10, p. 248-268, 2006.

MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; WOLF, C. R.; SILVA, E. C.; LIMA, G. E. S.; COIMBRA, M. A.; SOLETTI, J. I.; CARVALHO, S. H. V. Ethanolysis of castor and cottonseed oil: a systematic study using classical catalysts. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 83, n. 9, p. 819-822, 2006b.

MIAO, X.; WU, Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. **Bioresource Technology**, Essex, v. 97, p. 841–846, 2006.

NARANJO, J. C.; CÓRDOBA, A.; GIRALDO, L.; GARCÍA, V. S.; MORENO-PIRAJÁN, J. C. Lipase supported on granular activated carbon and activated carbon cloth as a catalyst in the synthesis of biodiesel fuel. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 66, p. 166–171, 2010.

NIMCEVIC, D.; PUNTIGAM, R.; WÖRGETTER, M.; GAPES, J. R. Preparation of rapeseed oil esters of lower aliphatic alcohols. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 77, n. 3, p. 275-280, 2000.

NWOKALO, E. The need to increase consumption of pulses in the developing world. In: NWOKALO, E.; SMART, J. **Food and feed from legumes and oilseeds**. London: Chapman & Hall, 1996. p. 3-11.

OGNJANOVIC, N.; BEZBRADICA, D.; KNEZEVIC-JUGOVIC, Z. Enzymatic conversion of sunflower oil to biodiesel in a solvent-free system: process optimization and the immobilized system stability. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, p. 5146–5154, 2009.

PETER, S. K. F.; GANSWINDT, R.; NEUNER, H. P.; WEIDNER, E. Alcoholysis of triacylglycerols by heterogeneous catalysis. **European Journal Lipid Science. Technology**, v. 104, p. 324–330, 2002.

PIMENTEL, D.; PATZEK, T. W. Ethanol production using corn, switchgrass, and wood; biodiesel production using soybean and sunflower. **Natural Resources Research**, New York, v. 14, n. 1, p. 65-76, 2005.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J. B. Biodiesel: An overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 16, n. 6B, p. 1313-1330, 2005.

RANGATATHAN, S. V.; NARASIMHAN, S. L.; MUTHUKUMAR, K. An overview of enzymatic production of biodiesel. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 3975-3981, 2008.

RAGIT, S. S.; MOHAPATRA, S. K.; KUNDU, K.; GILL, P. Optimization of neem methyl ester from transesterification process and fuel characterization as a diesel substitute. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 35, p. 1138-1144, 2011.

RAMOS, L. P.; KUCEK, K. T.; DOMINGOS, A. K.; WILHELM, H. M. Biodiesel: um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Biociência, Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, DF, v. 31, p. 28-37, 2003.

RASHID, U.; ANWAR, F. Production of biodiesel through optimized alkaline-catalyzed transesterification of rapeseed oil. **Fuel**, Guildford, v. 87, p. 265-273, 2008.

RASHID, U.; IBRAHIM, M.; ALI, S.; ADIL, M.; HINA, S.; BUKHARI, I.H.; YUNUS, R. Comparative study of the methanolysis and ethanolysis of maize oils using alkaline catalysts. **Grasas y Aceites**, Madrid, v. 63, n. 1, Enero-Marzo, p. 35-43, 2012.

REGITANO D'ARCE, M. A. B. **Ensaio de extração de óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) com álcool etílico**. 1985. 132 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Extração e refino de óleos vegetais. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006a. p. 300-351.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Produtos protéicos de soja. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006b. p. 355-402.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; VIEIRA, T. M. S. Ampla gama de vegetais e sebo animal são base para biodiesel. **Visão Agrícola: Agroenergia**, Piracicaba, p. 11-12, jan/jun, 2008.

RODRIGUES, R. C.; VOLPATO, G.; WADA, K.; AYUB, M. A. Z. Enzymatic synthesis of biodiesel from transesterification reactions of vegetable oils and short chain alcohols. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 85, p. 925-930, 2008.

RODRIGUES, R. C.; PESSELA, B. C. C.; VOLPATO, G.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; GUIBAN, J. M.; AYUB, M. A. Z. Two step ethanolysis: A simple and efficient way to improve the enzymatic biodiesel synthesis catalyzed by an immobilized-stabilized lipase from *Thermomyces lanuginosus*. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 45, p. 1268-1273, 2010.

ROYON, D.; DAZ, M.; ELLENRIEDER, G.; LOCATELLI, S. Enzymatic production of biodiesel from cotton seed oil using *t*-butanol as a solvent. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, p. 648-653, 2007.

SAKA, S.; KUSDIANA, D. Biodiesel fuel from rapeseed oil as prepared in supercritical methanol. **Fuel**, Guildford, v. 80, p. 225-231, 2001.

SAMUKAWA, T.; KAIEDA, M.; MATSUMOTO, T.; BAN, K.; KONDO, A.; SHIMADA, Y.; NODA, H.; FUKUDA, H. Pretreatment of immobilized *candida antarctica* lipase for biodiesel fuel production from plant oil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 90, n. 2, p. 180-183, 2000.

SANGALETTI, N.; VIEIRA, T. M. F. S.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; BORTOLETTI, G. M. Caracterização de miscela etanólica como matéria-prima para a produção de ésteres etílicos. In: CONGRESSO DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BIODIESEL, 6., 2009, Montes Claros, MG. Lavras: UFLA, 2009.

SHAO, P.; MENG, X.; HE, J.; SUN, P. Analysis of immobilized *Candida rugosa* lipase catalyzed preparation of biodiesel from rapeseed soapstock. **Food and Bioproducts Processing**, Amsterdam, v. 86, p. 283–289, 2008.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELIA, R.; VARGAS, M. V. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 199-210, 1998.

SCHWAB, A. W.; BAGBY, M. O.; FREEDMAN, B. Preparation and properties of diesel fuels from vegetable oils. **Fuel**, Guildford, v. 66, p. 1372-1378, 1987.

SENDZIKIENE, E.; MAKAREVICIENE, V.; JANULIS, P.; KITRYS, P. Kinetics of free fatty acids esterification with methanol in the production of biodiesel fuel. **European Journal Lipid Science Technology**, Weinheim, v. 106, p. 831–836, 2004.

SHAH, S.; APARNA, S.; GUPTA, M. N. Extraction of oil from *Jatropha curcas* L. seed kernels by combination of ultrasonication and aqueous enzymatic oil extraction. **Bioresource Technology**, Essex, v. 96, n. 1, p. 121–123, 2005.

SHIEH, C. J.; LIAO, H. F.; LEE, C. C. Optimization of lipase-catalyzed biodiesel by response surface methodology. **Bioresource Technology**, Essex, v. 88, p. 103-106, 2003.

SHIMADA, Y.; WATANABE, Y.; SUGIHARA, A.; TOMINAGA, Y. Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, Amsterdam, v. 17, n. 3-5, p. 133-142, 2002.

SINGH, S. P.; SINGH, D. Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, London, v. 14, p. 200–216, 2010.

SMITH, E.G.; JANZEN, H.H.; NEWLANDS, N.K. Energy balances of biodiesel production from soybean and canola in Canada. **Canadian Journal of Plant Science**. v. 87, p. 793-801, 2007.

SORIANO JUNIOR, N. U.; NARANI, A. Evaluation of biodiesel derived from *Camelina sativa* oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, 2011. DOI 10.1007/s11746-011-1970-1.

TIWARI, A. K.; KUMAR, A.; RAHEMAN, H. Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: An optimized process. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 31, p. 569-575, 2007.

VICENTE, G.; MARTÍNEZ, M.; ARACIL, J. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems. **Bioresource Technology**, Essex, v. 92, p. 297–305, 2004.

WATANABE, Y.; SHIMADA, Y.; SUGIHARA, A.; TOMINAGA, Y. Stepwise ethanolysis of tuna oil using immobilized *Candida antarctica* lipase. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 88, n. 6, p. 622-626, 1999.

WATANABE, Y.; SHIMADA, Y.; SUGIHARA, A.; NODA, H.; FUKUDA, H.; TOMINAGA, Y. Continuous production of biodiesel fuel from vegetable oil using immobilized *Candida antarctica* lipase. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 77, n. 4, p. 355-360, 2000.

3. OBTENÇÃO DE MISCELAS ETANÓLICAS DE ÓLEO DE SOJA PARA PRODUÇÃO DE ÉSTERES ETÍLICOS

RESUMO

O óleo vegetal é normalmente obtido por extração com hexano e a proposta de substituição deste solvente, derivado de petróleo por etanol se reveste de grande importância por aportar impactos positivos de ordem ambiental e econômica, ainda pouco explorados. Esta opção se justifica principalmente para países como o Brasil, em que a produção de etanol já é consagrada e reconhecida mundialmente. A matéria-prima glicéridica (óleo vegetal ou gordura animal) é o componente de maior custo para produção de biodiesel por reação de transesterificação. A extração do óleo de soja com etanol resulta em duas misturas, uma rica em óleo (mistura rica) e outra rica em etanol (mistura pobre). A mistura pobre pode ser reutilizada no processo de extração e a mistura rica pode ser utilizada diretamente para produção de biodiesel sem a necessidade de dessolventização e de etapas de refino. O objetivo deste trabalho foi realizar extração de óleo de soja laminada em extrator intermitente em escala semi-piloto, com recirculação de mistura pobre. A solubilidade do nitrogênio e a atividade ureática foram determinadas no farelo resultante da extração como indicadores de qualidade para produção de ração. A extração do óleo com etanol na proporção de 1:2 m/v (soja laminada:solvente) foi realizada à temperatura de 78°C, por uma hora sob agitação mecânica. Deste processo, após resfriamento da mistura (25-30°C), três fases foram obtidas: a superior, rica em etanol (mistura pobre); a intermediária, rica em óleo (mistura rica) e a inferior (goma). Para o estudo da extração quatro ensaios foram realizados: com dois (2B), três (3B), quatro (4B) e cinco (5B) banhos de imersão da soja laminada no solvente. Nos primeiros banhos de cada ensaio foi utilizada mistura pobre como solvente e no último banho, etanol a 99% (v/v). A mistura ainda quente foi drenada para separação da massa de soja e resfriada à temperatura de ambiente de (25-30°C). A cada banho foi retirada pequena quantidade de farelo para a verificação da eficiência de extração. As misturas após resfriadas e separadas foram filtradas e tiveram seu volume medido para cada banho. Ambas foram caracterizadas quanto à concentração de lipídeos, álcool, água, ácidos graxos livres, fósforo e fosfolipídeos. O melhor rendimento, 83%, e um teor de óleo residual no farelo de 4,2%, com o extrator semi-piloto e recirculação de mistura pobre e etanol a 99% foi atingido com a aplicação de quatro banhos. As características da mistura pobre se mantiveram estáveis em todos os ensaios com 4,2% de sólidos não voláteis, 1,6% de óleo e 91% de álcool. A mistura rica apresentou valores médios de 0,4% de ácidos graxos livres, 0,31% de água e 0,57% de fosfolipídeos. Estes parâmetros são considerados adequados como matéria-prima alternativa na produção de biodiesel, o que elimina a necessidade de etapas de refino da mistura rica. Além disso, o farelo após extração do óleo resultou em produto claro, isento de compostos antinutricionais, elevado teor de proteína (48%) e INS entre 12 a 16%, sendo próprio para alimentação animal.

Palavras-chave: Extração. Etanol. Farelo. Compostos antinutricionais. Biodiesel.

ABSTRACT

Vegetable oil is usually obtained by extraction with hexane and the proposed replacement of this petroleum derived solvent with ethanol is of great importance due to its positive impacts on environmental and economic aspects, which are both little explored. This option is justified especially in countries like Brazil, where ethanol production is already established and recognized worldwide. The fat feedstock (vegetable oil or animal fat) is the largest cost component for biodiesel production by transesterification reaction. The extraction of soybean oil with ethanol solvent results in two miscella, one that is rich in oil (rich miscellae) and another rich in ethanol (poor miscellae). The poor miscellae can be reused in the extraction process and the rich miscellae can be used directly for biodiesel production without the need of dissolving and refining steps in biodiesel production. The objective of this study was to extract oil from soybean flakes by using an intermittent semi-pilot scale extractor , recirculating the poor miscellae. Nitrogen solubility and urease activity were determined in the meal resulting from the extraction as quality indicators for feed production. The oil extraction with ethanol in the ratio 1:2 w / v (soybean flakes: solvent) was carried out at a temperature of 78°C for one hour under stirring. In this process, after cooling the miscella (25-30°C), three phases were obtained: the upper, rich in ethanol (poor miscellae), the intermediate, rich in oil (rich miscellae) and the bottom (gum). For the extraction study, four trials were carried out: two (2B), three (3B), four (4B) and five (5B) cycles of soybean flakes immersion in solvent. In the first cycle of each trial, the poor miscellae phase was used as solvent and, in the last cycle, ethanol 99% (v/v). The hot miscella were drained from the soybean meal and cooled to room temperature (25-30°C). Extraction efficiency was monitored every cycle for meal oil content. The poor and rich miscella were characterized according to the concentration of lipids, alcohol, water, free fatty acids, phosphorus and phospholipids. Four cycles (poor miscellae and 99% ethanol) achieved the best results for soybean oil production (83% efficiency and 4.2% oil in the meal). The characteristics of the poor miscellae were constant in all tests, 4.2% non-volatile solids, 1.6% oil and 91% ethanol. The rich miscellae showed mean values of 0.4% free fatty acids, 0.31% water and 0.57% phospholipids. These parameters are considered the rich miscellae a suitable alternative feedstock for biodiesel production, eliminating the need for further rich miscellae refining. Besides, the meal obtained after the oil extraction resulted in a clear product, free from antinutritional compounds, high protein content (48%) and INS between 12 to 16%, suitable for animal feeding.

Keywords: Extraction. Ethanol. Meal. Antinutritional compounds. Biodiesel.

3.1 INTRODUÇÃO

A disponibilidade de matéria-prima a preços competitivos é um dos grandes desafios para a expansão de produção e uso de biodiesel. A soja está entre as espécies agrícolas convencionais mais importantes para a produção de biodiesel no Brasil (DURÃES, 2010). O custo da matéria-prima envolve desde o cultivo até sua extração e eventual refino, seja ela proveniente de origem animal ou vegetal. Segundo Lam, Lee e Mohamed, (2010) e Castro, Lima e Pinheiro (2010) a matéria-prima é responsável por mais de 80% dos custos de produção de biodiesel.

O óleo vegetal pode ser extraído por prensa ou por solvente. A prensagem é o processo mais recomendado para matérias-primas com altos teores de óleo, o que raramente se aplica à soja. A extração por solvente é uma alternativa mais eficiente à prensagem para a extração do óleo de grãos oleaginosos, sobretudo para os que têm teores não tão elevados de óleo, como a soja (REGITANO-D'ARCE, 2006a). O método de extração por solvente tem sido definido como um processo de transferência de materiais (óleo) de uma fase para outra com o propósito de separar um ou mais componentes de uma mistura (JOHNSON; LUSAS, 1983).

Existem dois métodos de extração por solvente: de imersão e de percolação. No primeiro o grão preparado é mantido imerso no solvente, sob agitação, por período de tempo até a drenagem e, no segundo, os grãos são dispostos no extrator em camadas de altura calculada para proporcionar rápida embebição seguida de lixiviação do solvente do material a extrair. Sendo um processo contínuo, a aplicação do solvente ocorre em contra-corrente com a coleta da miscela por gravidade (REGITANO-D'ARCE, 2006a).

A extração do óleo geralmente é realizada com solventes derivados do petróleo, como o hexano, que solubiliza o óleo intracelular, sem reagir com outros componentes da matéria oleaginosa. Este solvente apresenta algumas desvantagens, tais como a inflamabilidade, a explosividade, a toxidez e o custo variável com o preço do mercado internacional do petróleo. Gandhi et al. (2003) verificaram que alguns solventes como n-hexano, n-heptano, n-propanol, álcool isopropílico e etanol podem ser utilizados como solventes alternativos na extração de óleo de soja, com a condição de se ter que trabalhar com temperaturas próximas ao ponto de ebulição para a maior eficiência do processo.

O etanol foi empregado como solvente na extração de óleo, pela primeira vez, por volta do ano de 1934 pela Companhia de Soja Manchuriana, localizada em Daren, hoje na China. O processo de extração de óleo a quente gerava uma miscela que, uma vez resfriada,

produzia duas fases: uma fase densa com 95% de óleo e outra fase leve, com pequena quantidade de óleo (JOHNSON; LUSAS, 1983). Este processo foi posteriormente estudado por Magne e Skau (1953), Rao e Arnold (1958), Hron e Koltun (1984), Regitano-d'Arce (1985; 1991), Kwiatkowski e Cheryan (2002), Freitas et al. (2007) entre outros. Rao e Arnold (1956; 1958) estudaram o etanol como solvente de 14 oleaginosos.

A extração com etanol é tão eficiente quanto com o hexano, chegando-se a teores de óleo residual no farelo inferiores a 0,62% (BECKER; BELTER; SMITH, 1946; SMITH, 1952). O processo com etanol, contudo, envolve gastos de energia muito maiores do que o com hexano, uma vez que exige que a extração ocorra a temperaturas próximas do ponto de ebulição (RAO; ARNOLD, 1956) para ser eficiente e demandar uma etapa de retificação do etanol para recuperação da água absorvida dos grãos para o seu reuso como solvente.

A alternativa encontrada por Beckel, Belter e Smith (1948a), Rao e Arnold (1958), Hron e Koltun (1984), Regitano-d'Arce (1985), Abraham et al. (1991), Kwiatkowski e Cheryan (2002), entre outros, foi a reutilização da fase leve ou miscela etanólica após a separação de fases, como solvente no início dos processos de extração. Graças a isso, atingiu-se uma economia de 3/4 do gasto de energia em relação ao processo de extração com hexano (BECKEL; BELTER; SMITH, 1948a). A miscela pobre em óleo (rica em etanol) manteve sua composição em 85 ciclos de reutilização com 4,3 a 5,5% de sólidos solúveis a temperaturas de até 20°C (BECKEL; BELTER; SMITH, 1948a). Regitano-d'Arce (1985) viabilizou a extração de óleo de sementes de girassol com álcool etílico absoluto em extrator de bancada graças à reciclagem e reuso da miscela pobre como solvente nas etapas iniciais do processo. As misturas pobres eram continuamente produzidas de cada etapa da extração após o resfriamento (até 30°C), do qual se obtinham duas fases distintas, uma miscela rica em óleo e outra rica em álcool.

Hron e Koltun (1984), através da recirculação de miscela etanólica e aplicando no farelo o último banho com etanol 95%, encontraram três fases distintas: uma fase superior (miscela etanólica), uma fase de óleo emulsificado e a fase inferior, composta pela goma. Estes mesmos autores reutilizaram a miscela pobre pelo menos 100 vezes.

De acordo com Rao e Arnold (1958) e Abraham et al. (1991), a miscela rica em óleo (miscela oleosa) apresentou 4% de etanol e até 92,8% de óleo (em caroço de algodão laminado). Freitas et al. (2007) obtiveram uma miscela rica contendo 75% de óleo e 25% de etanol ao utilizarem o etanol como solvente na extração do óleo em castanha-do-Brasil.

Com isso, o uso do etanol cuja tecnologia de produção é totalmente dominada no Brasil, parece ser uma boa alternativa, além de provir de fonte renovável. O óleo e álcoois de

cadeia curta (metanol ou etanol) são os principais reagentes na produção de biodiesel por transesterificação. O uso de miscela rica em óleo, não refinada, nesta reação, reduziria o custo da matéria-prima na produção de biodiesel.

Saad et al. (2008) e Tomazin Junior (2008) estudaram a viabilidade de esterificação direta da miscela oleosa com metóxido de sódio na concentração de 1% como catalisador produzindo biodiesel com rendimento aproximado de 92%, parcialmente adequado às especificações previstas na Resolução nº42 da ANP (2007).

O farelo de soja, resultante da extração do óleo com solvente, é um produto altamente protéico, extremamente valorizado para emprego em rações ou na produção de derivados protéicos para indústria de alimentos (REGITANO-D'ARCE; VIEIRA, 2008). A qualidade da proteína e a ausência de fatores antinutricionais são desejáveis no aproveitamento deste co-produto na alimentação humana e animal. O processamento térmico adequado garante o aproveitamento da proteína e a eliminação destes fatores (REGITANO-D'ARCE, 2006b). O farelo de soja proveniente da extração de óleo com etanol apresenta alto teor de proteína, aroma e sabor mais agradável, coloração mais clara, além da baixa toxidez do solvente. O etanol contribui para a remoção de saponinas, esteróis e açúcares (BECKEL; SMITH, 1944; BECKEL; BELTER; SMITH, 1948b). Os oligossacarídeos, presentes na soja, não são degradados por processos térmicos, porém graças ao emprego do etanol, esses agentes de flatulência são removidos (REGITANO-D'ARCE, 2006b).

O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de extração de óleo de soja para a produção de miscela rica (oleosa) em extrator intermitente em escala semi-piloto, através da recirculação da miscela pobre (etanólica), gerada pelo uso de etanol anidro comercial como solvente. A miscela rica em óleo foi estudada como matéria-prima alternativa de mais baixo custo para produção de biodiesel. A solubilidade do nitrogênio e atividade ureática foram determinadas no farelo como indicadores de qualidade para produção de ração animal.

3.2 MATERIAL E MÉTODOS

3.2.1 Material

Soja recém-laminada cedida pelas empresas Cargill S/A e ADM S/A e etanol comercial com grau de pureza a 99,7% (v/v). Todos os demais reagentes empregados nas análises foram de grau analítico.

3.2.2 Extração de óleo de soja

3.2.2.1 Extração de óleo com etanol

A extração ocorreu por imersão em equipamento descrito por Saad et al. (2008), consistindo de um tanque (capacidade 13 litros) com camisa dupla para circulação de água aquecida por duas resistências, contendo um cesto interno vazado, ambos de aço inox, que sustentam um saco de tecido de algodão, onde se coloca o material a ser extraído sob agitação promovida por uma hélice, acionada por um motor (200 oscilações/min). O sistema contou com um termostato, um condensador e termômetro. As condições de temperatura de extração, concentração etanólica do solvente e tempo de extração (duração dos banhos) foram definidas com base nos trabalhos de Rao e Arnold (1956) e Arnold e Choudhury (1962). A temperatura para extração foi a de ebulição do etanol (78°C), e a proporção soja:solvente foi de 1:2 m/v. A soja laminada antes do início da extração permaneceu por 30 min em tanque para embebição com $\frac{1}{4}$ do volume de etanol em relação ao volume total adicionado posteriormente de solvente. O tempo de extração foi de 60 minutos para cada banho. Após a extração de cada banho, a miscela, ainda quente, foi drenada do tanque durante dez minutos e resfriada naturalmente até a temperatura ambiente. A soja parcialmente desengordurada foi mantida no tanque, aguardando a drenagem da miscela de extração, para imediatamente receber a nova fase solvente de extração que foi nova miscela pobre ou etanol puro, como último banho.

Após o resfriamento da miscela, três fases foram identificadas: fase goma, fase rica em óleo (miscela rica ou oleosa) e fase rica em álcool (miscela pobre ou etanólica). A fase goma depositou-se no fundo do recipiente e foi recuperada quando as mistelas foram retiradas por sifonação. A miscela rica em óleo foi separada da miscela pobre e filtrada em filtro de papel qualitativo sob vácuo. A miscela pobre foi reservada em um tanque e reutilizada nas extrações posteriores.

A cada banho, ambas mistelas (rica e pobre) foram caracterizadas de acordo com o item 3.2.3. A cada banho foram retiradas amostras de soja para determinação de teor de lipídeos conforme o item 3.2.4.

Dadas as dificuldades encontradas para recuperar o etanol após extração, devido à sua hidratação, procurou-se reaproveitar a miscela pobre e aplicar etanol a 99% no último banho, para garantir a retirada máxima de óleo da matriz, conforme procedimento adotado por

Regitano-d'Arce (1991). Com isso, o processo de extração teve repetidos ensaios com distintos números de banhos, o que permitiu definir o procedimento ideal para alcançar o teor de óleo residual mínimo no farelo. Os ensaios foram: a) dois banhos de imersão, um com miscela pobre e outro com etanol a 99% (2B); b) três banhos, primeiro e segundo banhos com miscela pobre e o terceiro com etanol a 99% (3B). c) quatro banhos, primeiro, segundo e terceiro banhos com miscela pobre e o quarto com etanol a 99% (4B). d) cinco banhos, primeiro, segundo, terceiro e quarto banhos com miscela pobre e o quinto com etanol a 99% (5B).

A miscela pobre adicionada nos banhos foi caracterizada conforme descrito no item 3.2.3.

3.2.3 Caracterização das miscelas

As miscelas (rica e pobre) foram caracterizadas quanto ao teor de lipídeos por Hara e Radin (1978); teor de fósforo (ASTM D 4951); índice de acidez, pelo método Ca 5a-40 da AOCS (2003), teor de álcool, por destilação e leitura em densímetro digital modelo DMA-48 marca Anton Paar e material não volátil pelo método Ca 2b-38 da AOCS (2003). O teor de água ou de hidratação (%) da miscela pobre foi determinado através do cálculo: $100\% - (\% \text{ teor de álcool} + \% \text{ material não volátil})$. O teor de fosfolipídeos foi calculado, multiplicando-se o teor de fósforo pelo fator 30, segundo a AOCS (2003).

Somente a miscela rica foi caracterizada quanto ao índice de iodo pelo método Cd 1d – 92 da AOCS (2003), índice de peróxido, Cd 8b-90 da AOCS (2003), viscosidade cinemática a 40°C (mm^2/s), com viscosímetro capilar de Ostwald-Fenske nº 100, teor de água, pelo método D6304 da ASTM (2003), estabilidade à oxidação a 110°C pelo Rancimat (EN 14112), massa específica a 20°C (com densímetro manual), material insaponificável, Ca 6b-53 da AOCS (2003), perfil de ácidos graxos segundo a Hartman e Lago (1973).

O perfil de ácidos graxos foi determinado por cromatografia gasosa de alta resolução, utilizando-se um cromatógrafo a gás (HP 5890), equipado com uma coluna capilar SUPELCO – SP 2560, 100 m x 0,25 mm, a um detector de ionização de chama. A programação de temperatura foi 130°C (1,0 min) a 170°C (6,5°/min), 170°C a 215°C (2,75°C/min), 215°C (12 min), 215°C a 230°C (40°/min), 230°C (6 min). As temperaturas do injetor e detector foram de 270°C e 280°C, respectivamente. As amostras (0,3 μl) foram injetadas pela técnica de injeção direta. Ácidos graxos de 6, 8, 10, 12, 14, 15, 16 (cis e trans), 17, 18 (cis e trans), 20, 22 e 24 átomos de carbono, saturados e insaturados, foram identificados por comparação

com os dados obtidos do CG de padrões autênticos metilados e eluídos nas mesmas condições.

3.2.4 Caracterização da soja laminada e farelo

Os farelos das extrações 2B, 3B, 4B e 5B foram dessolventizados em capela de exaustão em temperatura ambiente.

A soja laminada e o farelo tiveram teores de lipídeos totais e residuais determinados segundo método Ba 3-38 da AOCS (2003). A umidade e material volátil foram determinados pelo método Ba 2a-38 (AOCS, 2003). A caracterização da fração protéica foi feita através da determinação do teor de nitrogênio segundo Johnson e Ulrich (1974), do teor de proteína foi calculado multiplicando o resultado anterior pelo fator de 5,71 (AOCS, 2003), pelo índice de nitrogênio solúvel (INS), segundo o método Ba 11-65 da AOCS (2003) e da atividade ureática Ba 9-58 da AOCS (2003). Todos os valores foram calculados com base na matéria úmida.

3.2.5 Rendimento de miscela rica e eficiência da extração

O volume de miscela rica recolhido depois da filtração foi determinado em proveta de vidro. A partir do volume foi calculada a massa (g) de miscela rica pela sua massa específica ($0,910 \text{ g/cm}^3$) em que $d = m/v$. O rendimento de miscela rica (RMR) (%) foi a relação entre massa de miscela rica (g) e massa de soja laminada (g) utilizada na extração, multiplicada por 100.

O óleo extraído da soja foi calculado através da diferença do teor de lipídeos da soja laminada (%), com o teor de lipídeos das amostras de soja (%) retiradas após cada banho.

A eficiência da extração foi calculada pela equação:

$$EE = \frac{(LS - LE)}{LS} \times 100 \quad (3.1)$$

em que:

EE = eficiência da extração (%)

LE = massa de lipídeos extraídos (%)

LS = teor de lipídeos na soja laminada (%)

Após a extração, o óleo que permaneceu no farelo, foi denominado óleo residual do farelo (ORF), e teve a fração lipídica determinada pelo método citado no item 3.2.4.

3.2.6 Análise estatística

Os ensaios de extração foram repetidos até 20 vezes. O teste de Tukey foi aplicado para determinar a diferença entre médias de eficiência de extração (%) e rendimento de miscela rica (%) ao nível de 5% de significância através do *software* *Statística* versão 7.0 (2004). Todas as determinações analíticas foram realizadas pelo menos em duplicata. Apenas os ensaios cujo coeficiente de variação foi menor que 10% foram considerados para interpretação na discussão que segue.

3.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.3.1 Extração de óleo com reuso de miscela pobre

A soja laminada (matéria-prima para extração) apresentou 8,5% de umidade, 38% de proteína e 24,5% de óleo. A eficiência da extração utilizando etanol como solvente em escala semi-piloto, e as características de mistelas provenientes desse processo para a produção de biodiesel foram estudadas.

Tabela 3.1 – Eficiência da extração¹ com etanol em cada banho

Banho	Ensaio							
	2B		3B		4B		5B	
	O ¹ (%)	EE (%)	O ¹ (%)	EE (%)	O ¹ (%)	EE (%)	O ¹ (%)	EE (%)
1º	2,3 ± 0,2	9,4 ± 1,8	1,8 ± 0,2	7,4 ± 2,0	1,5 ± 0,3	6,1 ± 0,3	5,8 ± 0,1	19,6 ± 0,1
2º	14,2 ± 1,9	57,5 ± 1,7	5,6 ± 2,2	22,8 ± 2,2	4,0 ± 0,2	16,3 ± 1,5	5,0 ± 0,9	24,4 ± 1,5
3º			11,5 ± 0,6	46,9 ± 0,5	7,5 ± 0,3	24,5 ± 3,2	8,0 ± 0,8	32,6 ± 0,8
4º					12,8 ± 0,6	36,0 ± 0,6	1,8 ± 0,1	7,3 ± 0,1
5º							0,5 ± 0,1	2,1 ± 0,1
Final	16,5 ^c ± 1,7	67,2 ± 1,1	18,9 ^b ± 0,5	77,1 ± 0,5	20,3 ^a ± 0,6	82,9 ± 0,6	21,1 ^a ± 0,1	85,9 ± 0,1

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão

^{a, b, c} indicam a diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ao nível de significância 5% entre as médias dos ensaios

O: óleo extraído do farelo (%)

EE: Eficiência da extração (%)

O rendimento em óleo extraído com o emprego da miscela pobre aumentou com o número de banhos de imersão. Três banhos com miscela pobre e um último banho com etanol a 99% (ensaio 4B) foram suficientes para alcançar máxima remoção de óleo do farelo (20,3%), com uma eficiência de extração de 82,9% no processo. Isto foi confirmado através da comparação do teor de óleo extraído nos ensaios 4B e 5B, que não diferiram estatisticamente ($p \leq 0,05$) (Tabela 3.1).

Arnold e Choudhury (1962) extraíram 18,9% do óleo de soja em extração com etanol a 99% e temperatura de 71°C. Regitano-d'Arce (1985) em extrator intermitente obteve eficiência da extração de 82,8% de óleo de semente de girassol laminada com etanol absoluto em condições semelhantes à realizada neste estudo (Figura 3.1). Kwiatkowski e Cheryan (2002) alcançaram eficiência de 70% na extração de milho triturado com etanol a 99%.

As misturas obtidas após resfriamento à temperatura ambiente, separação da goma e filtração, uma rica em álcool (miscela pobre), com até 91% (v/v) de etanol, e outra rica em óleo (miscela rica), com 90% (m/m) de óleo de soja, tinham características muito próximas às das misturas produzidas por Rao e Arnold (1958) ao trabalharem com caroço de algodão com etanol em planta piloto em sistema contracorrente (Tabela 3.3).

A miscela pobre reutilizada a cada banho apresentou uma composição constante de 90,8% (v/v) de álcool, 1,6% de lipídeos, 4,25% de material não-volátil, índice de acidez 1,4 mg KOH/g de miscela e 5% de água. Beckel, Belter e Smith (1948a) encontraram concentrações entre 4,3 e 5,5% de materiais não voláteis em inúmeros ciclos de reutilização, uma faixa bastante estreita, demonstrando a estabilidade da composição da miscela pobre.

A miscela pobre, apresentando concentração etanólica ao redor de 91% (v/v) de álcool, não conseguiu remover totalmente o óleo presente no material oleaginoso porque a total miscibilidade do óleo com etanol 90% ocorre somente em temperatura de 90°C (MAGNE; SKAU, 1953). Entretanto, o emprego da miscela pobre promoveu o desengorduramento parcial da soja, necessitando a aplicação de etanol anidro apenas no último banho realizado com etanol a 99% (Figura 3.1).

Embora tenha-se tomado o cuidado de utilizar miscela pobre com a mesma concentração alcoólica e trabalhado com temperatura e agitação controlada, o primeiro banho do ensaio 5B apresentou maior remoção de material lipídico comparado ao primeiro banho dos demais ensaios (Figura 3.1). Não foi possível justificar a causa desta diferença de óleo extraído.

A capacidade de extração aumenta com o aumento da concentração de etanol em temperatura próxima do ponto de ebulição do etanol (78°C) (RAO; ARNOLD, 1956; RAO;

ARNOLD, 1958; ARNOLD; CHOUDHURY, 1962; REGITANO-D'ARCE, 1985). Arnold e Choudhury (1962) extraíram óleo de soja laminada com etanol a 90% com eficiência da extração de até 60% com umidade de 7-8% na soja laminada, com etanol absoluto a eficiência foi maior que 75%.

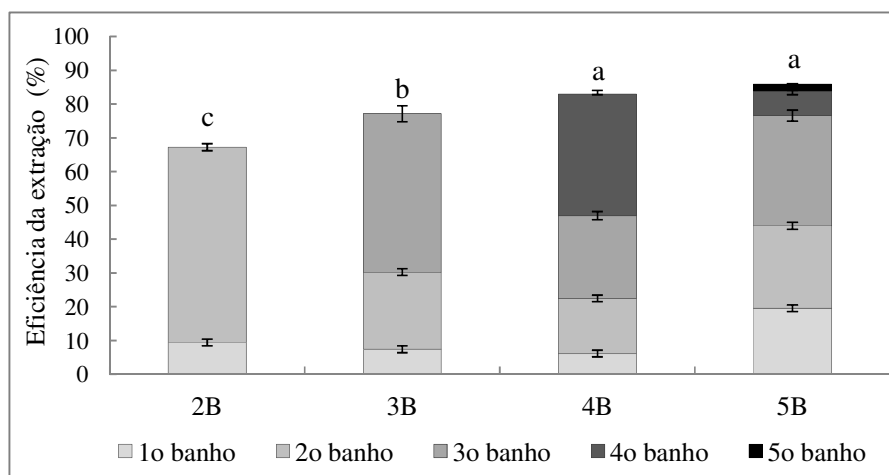


Figura 3.1 – Eficiência da extração dos ensaios com dois, três, quatro e cinco banhos. ^{a, b, c} indicam a diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ao nível de significância 5% entre as médias dos ensaios. (Condições experimentais por banho: 1:2 (massa soja laminada:volume de etanol a 99%), tempo 60 min sob agitação constante de 200 oscilações por min)

O óleo residual do farelo foi diminuindo à medida que o rendimento em massa de miscela rica foi aumentando (Tabela 3.2), indicando a transferência do óleo contido no farelo para a miscela. A massa de miscela rica em quatro banhos (4B) não foi diferente estatisticamente ($p \leq 0,05$) da massa de miscela rica obtida quando cinco banhos (5B) foram realizados.

Através dos resultados apresentados nas Tabelas 3.1 e 3.2, concluiu-se que quatro banhos foram suficientes para obter maior rendimento em óleo nas dadas condições.

O teor de óleo residual do farelo pode ser uma função da umidade da matéria-prima (8,5%) ou tempo de contato da matéria-prima com o solvente ou miscela (SMITH, 1952). A redução da umidade, a pré-prensagem ou banhos de etanol a 99% garantem o esgotamento total do óleo e aumentam a eficiência de extração. Entretanto, há maior gasto de energia, o que procurou evitar neste trabalho.

Tabela 3.2 – Rendimento de miscela rica, óleo residual do farelo e características químicas de miscela rica nos ensaios de extração

Ensaio	RMR ¹ (%)	ORF ¹ (%)	Lipídeos ¹ (% m/m)	Álcool ¹ (% m/m)
2B	14,9 ± 1,5 ^b	8,0 ± 1,8	89,6 ± 0,4	7,2 ± 0,3
3B	15,1 ± 1,1 ^b	5,60 ± 0,5	89,5 ± 1,2	7,2 ± 0,1
4B	16,8 ± 1,2 ^a	4,2 ± 0,6	89,9 ± 1,0	6,5 ± 0,1
5B	17,0 ± 1,2 ^a	3,4 ± 0,1	89,7 ± 0,1	7,0 ± 0,1

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão.

^{a, b} Médias seguidas de diferentes letras nas linhas diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ao nível de significância 5%.

O número de banhos também não alterou a composição final da miscela rica quanto ao teor de lipídeos e teor de etanol, independentemente do número de banhos que se adotou para o processo de extração de soja laminada (Tabela 3.2).

Rao e Arnold (1958) obtiveram 6,64% de óleo residual, no farelo de caroço de algodão ao utilizarem etanol a 99% nas condições de reação semelhantes às apresentadas na Figura 3.1. Teores mais baixos, da ordem de 1,8% de óleo residual somente foram atingidos quando a umidade da matéria-prima foi reduzida para 1,8%. Beckel, Belter e Smith (1948a) encontraram 6 a 8% de etanol na miscela rica em óleo de soja e de 1 a 4% de óleo na miscela pobre. Abraham et al. (1991) obtiveram miscela rica com 4% de etanol e miscela pobre com 3% óleo de caroço de algodão.

3.3.2 Caracterização de misturas

As misturas (rica e pobre) de cada banho (1, 2, 3 e 4) provenientes do ensaio 4B foram analisadas individualmente. As análises foram feitas em triplicatas e as médias e desvio padrão podem ser encontrados na Tabela 3.3. Ao final, todas as misturas foram misturadas e o produto final também foi analisado.

O crescente rendimento em óleo na miscela rica dos primeiros banhos é esperado, pois, por ser higroscópico, o etanol primeiramente retira a umidade da matéria-prima e junto com ela os ácidos graxos livres, fosfolipídeos, açúcares, pigmentos, etc. (JOHNSON; LUSAS, 1983; NIEH; SNYDER, 1990). A miscela pobre demonstrou não reter mais que 1,8% de lipídeos em temperatura ambiente (Tabela 3.3).

O teor de álcool em miscela rica e pobre foi maior no último banho, e isto confirma que a miscela pobre nos primeiros banhos remove não apenas lipídeos, mas componentes (acima citados) tornando o último banho com etanol a 99% mais eficiente na remoção de óleo de boa qualidade e de coloração mais clara (Figura 3.2).

Tabela 3.3 – Características químicas de miscela rica e miscela pobre dos banhos do ensaio 4B

Miscela rica						
Banho	Lipídeos (%)	Álcool (% m/m)	IA	AGL (%)	Fósforo (mg/kg)	FLP (%)
1°	87,9 ± 1,3	6,2 ± 0,4	3,7 ± 0,3	1,9 ± 0,3	565,8 ± 0,0	1,70 ± 0,0
2°	90,9 ± 0,5	5,8 ± 0,4	1,2 ± 0,2	0,6 ± 0,2	151,1 ± 0,0	0,45 ± 0,0
3°	91,8 ± 1,2	5,7 ± 0,7	0,7 ± 0,1	0,4 ± 0,1	23,8 ± 0,0	0,07 ± 0,0
4°	90,8 ± 0,5	7,1 ± 0,5	0,4 ± 0,1	0,2 ± 0,1	1,9 ± 0,0	0,01 ± 0,0
Miscela final	90 ± 1,0	6,5 ± 1,0	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,1	189,9 ± 0,0	0,57 ± 0,0

Miscela pobre						
Banho	Lipídeos (%)	Álcool (% v/v)	IA	AGL (%)	Fósforo (mg/kg)	FLP (%)
1°	1,8 ± 0,2	87,3 ± 1,2	1,9 ± 0,2	1,0 ± 0,2	274,6 ± 0,0	0,8 ± 0,0
2°	1,8 ± 0,2	89,2 ± 0,7	1,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1	319,7 ± 0,0	1,0 ± 0,0
3°	1,6 ± 0,2	89,9 ± 0,8	1,6 ± 0,1	0,8 ± 0,1	244,8 ± 0,0	0,7 ± 0,0
4°	1,7 ± 0,2	93,7 ± 0,7	0,8 ± 0,1	0,4 ± 0,1	34,5 ± 0,0	0,1 ± 0,0
Miscela final	1,6 ± 0,1	90,8 ± 0,8	1,4 ± 0,1	0,7 ± 0,1	144,1 ± 0,0	0,4 ± 0,0

IA: Índice de acidez (mg KOH/g miscela)

AGL: Ácidos graxos livres (% em ácido oléico)

FLP: Fosfolipídeos

Apesar de conter ácidos graxos livres (0,7%) e fosfolipídeos (0,4%), a miscela pobre, por apresentar 90,8% de álcool em sua composição e extrair ácidos graxos livres, fosfolipídeos e componentes de cor, promove um pré-refino na miscela rica (Tabela 3.3) (JOHNSON; LUSAS, 1983; NIEH; SNYDER, 1990).

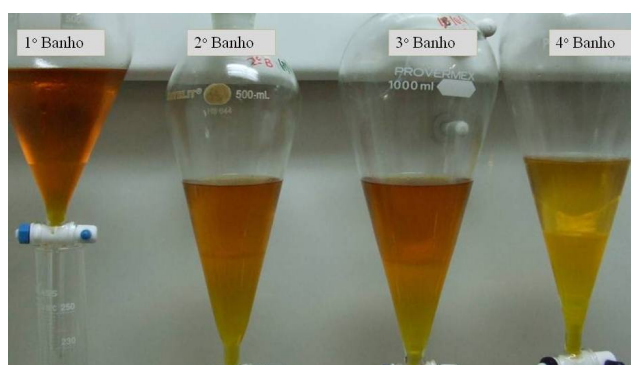


Figura 3.2 – Miscela de cada banho do ensaio 4B após resfriamento. Camada superior = miscela pobre e camada inferior = miscela rica

Karnofsky (1949) desenvolveu um processo de quatro etapas no qual o primeiro passo foi extrair compostos antinutricionais ou indesejados do caroço de algodão, tais como

aflatoxina, gossipol, ácidos graxos livres e outros materiais não lipídeos com aplicação de etanol a 90%.

A Figura 3.3 indica que o etanol promove uma contínua extração dos ácidos graxos livres (AGL) no decorrer da extração, produzindo um valor de $0,8 \pm 0,1$ mg KOH/g (0,4 % AGL) na miscela rica final.

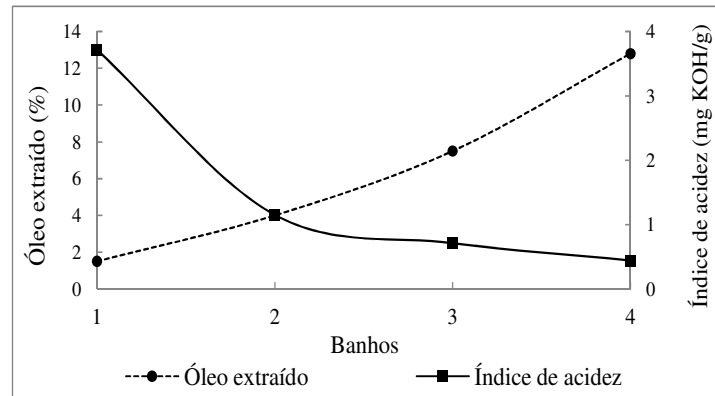


Figura 3.3 – Índice de acidez de miscela rica obtidas nos banhos 1, 2, 3 e 4

Arnold e Choudhury (1962) produziram óleo de soja com 0,8% de ácidos graxos livres com etanol a 99% e 0,6% de AGL com etanol a 90%, sem reutilização de miscela. Rao e Arnold (1958) extraíram 0,7% de AGL no óleo de caroço de algodão com recirculação de miscela pobre e etanol a 95%. Em geral, óleos brutos por não serem refinados apresentam entre 0,5 a 3% AGL (DORSA, 2004).

O mesmo comportamento dos AGL foi apresentado pelos fosfolipídeos (Figura 3.4).

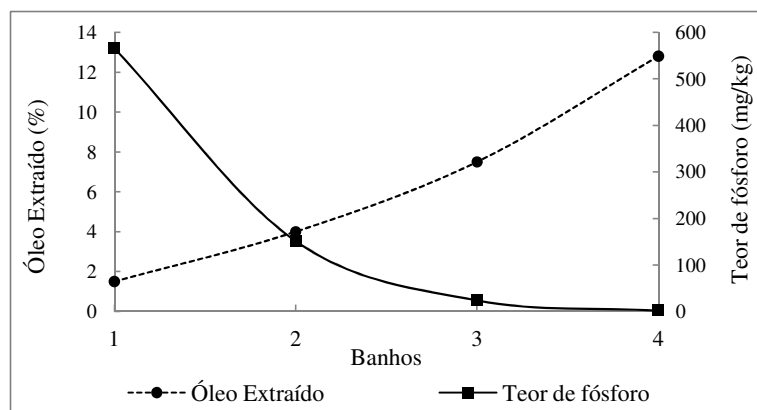


Figura 3.4 – Teor de fósforo de miscelas ricas obtidas nos banhos 1, 2, 3 e 4

Nieh e Snyder (1990) confirmaram essa afinidade dos fosfolipídeos com álcoois hidratados ao encontrarem 820 mg P/kg em óleo de soja extraído com etanol a 90%. Já Gandhi et al. (2003) removeram apenas 4 mg P/kg óleo de soja com etanol a 99%.

A miscela rica final apresentou teor de fósforo de 189,9 mg P/kg miscela e 0,57% de fosfolipídeos. Arnold e Choudhury (1962) obtiveram 5,3% de fosfolipídeos em óleo de soja bruto extraído com etanol 90% e 3,3% com etanol absoluto.

Saad et al. (2008) encontraram um teor de fósforo de 200 mg P/kg, e 0,6% de fosfolipídeos. O teor de ácidos graxos livres foi de 0,4% em ácido oléico no óleo de soja bruto extraído com etanol absoluto. A quantidade de fosfolipídeos presentes em óleo bruto de soja pode chegar a 2,5% (DORSA, 2004; REGITANO D'ARCE, 2006a).

3.3.3 Características do farelo de soja

A determinação da atividade ureática foi aplicada para indicar a eliminação dos compostos antinutricionais da soja. O índice de solubilidade de nitrogênio (ISN) serviu para indicar o melhor uso do farelo após cada término de extração.

Os resultados do teste da urease, o índice de solubilidade de nitrogênio e da proteína estão apresentados na Tabela 3.4.

Tabela 3.4 – Propriedades do farelo dos ensaios 2B, 3B, 4B e 5B

Ensaio	Proteína (%)	ISN	Atividade Ureática (Δ pH)
2B	47,0 \pm 2,6	15,3 \pm 1,9	0,01
3B	48,4 \pm 1,7	16,1 \pm 2,0	0,01
4B	48,6 \pm 1,3	12,8 \pm 1,6	0,00
5B	48,6 \pm 2,9	14,6 \pm 1,5	0,00
Soja Laminada	37,6 \pm 2,3	91,9 \pm 0,3	2,33

INS: Índice de solubilidade do nitrogênio.

Δ pH: diferença de unidade de pH

O farelo proveniente da extração não sofreu tostagem, entretanto a exposição por pelo menos duas horas a 78°C na presença de etanol, provavelmente desnaturou completamente a urease e os compostos antinutricionais (fitohemaglutininas e inibidores de proteases) com 0,00 Δ pH em comparação com a soja laminada que apresentou 2,33 Δ pH (Tabela 3.4).

A utilização da soja na alimentação de animais monogástricos requer um farelo de alta concentração proteica e isento de compostos antinutricionais. Os dois principais parâmetros

de qualidade da soja referem-se à atividade ureática, mantido na faixa de 0,05 a 0,3 unidades de pH, e ao índice de solubilidade proteica de 70 a 85% (MENDES et al., 2004).

Na ração de ruminantes, o importante é teor de proteína bruta, com digestibilidade máxima por influir diretamente sobre a disponibilidade de nitrogênio para o crescimento dos microrganismos no rúmen e na quantidade de proteína disponível no trato digestivo para digestão e absorção (SILVA et al., 2002).

Os INS dos farelos desta pesquisa apresentados na Tabela 3.4 permaneceram entre 12,8 a 16,1%, com teor total de proteína de aproximadamente 48%. De acordo com Mendes et al. (2004) e Silva et al. (2002) esses valores são apropriados para produção de ração para animais ruminantes.

Gandhi et al. (2003) encontraram 54% de proteína, nenhuma atividade ureática e 13,0% de índice de solubilidade do nitrogênio (INS), próximos dos apresentados na Tabela 3.4

Beckel, Belter e Smith (1948b) avaliaram a qualidade do farelo de soja proveniente de extração de óleo por etanol. Os autores observaram que o farelo apresentava aroma e sabor mais agradável que os farelos tostados. Segundo os autores, a remoção dos fosfolipídeos e dos pigmentos torna o farelo mais claro (Figura 3.5) e ainda remove o sabor de feijão cru que permanece quando é utilizado hexano como solvente.

Além do mais, a extração com etanol contribui para a remoção dos agentes de flatulência, o que endossa seu uso como solvente no processo de extração de óleo de soja (REGITANO D'ARCE, 2006b).

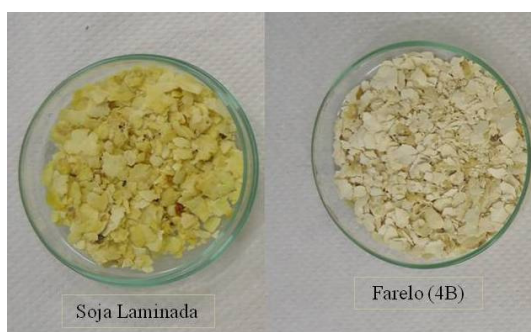


Figura 3.5 – Soja laminada e farelo do ensaio 4B após quatro banhos

A Figura 3.6 demonstra a descoloração da soja laminada a cada banho, principalmente quando é aplicado o etanol a 99% no último banho.



Figura 3.6 – Farelo dos banhos do ensaio 4B

O farelo de soja proveniente da extração utilizando etanol como solvente pode ser destinado à ração animal, sem tratamento adicional, por apresentar alto teor de proteína (48%), isento de compostos antinutricionais e, ainda, algum lipídeo (4,2% de óleo) como fonte de energia (SILVA et al., 2002). Além disso, este óleo pode agregar valor ao farelo vendido destinado à fábrica de ração.

3.3.4 Miscela rica para produção de biodiesel

Os resultados apresentados na Tabela 3.5, comprovam a qualidade da miscela rica como matéria-prima para a reação de transesterificação, sem necessidade de refino da fase lipídica.

Tabela 3.5 – Composição e caracterização da miscela rica proveniente do ensaio de extração de óleo de soja com 4 banhos de imersão

Parâmetros	Miscela rica ¹
Lipídeos (%)	90,0 ± 1,0
Álcool (%)	6,5 ± 0,1
Material não-volátil (%)	91,7 ± 0,4
Fósforo (mg P/kg)	189,9 ± 0,0
Material insaponificável (%)	1,0 ± 0,2
Índice de iodo (g/100g)	115,6 ± 2,0
Índice de peróxido (meq/kg)	10,9 ± 0,2
Índice de acidez (mg KOH/g)	0,8 ± 0,1
Viscosidade cinemática a 40° C (mm ² /s)	21,3 ± 1,0
Massa específica (kg/m ³ a 20° C)	910,0 ± 0,1
Água (%)	0,3 ± 0,2
Estabilidade oxidativa a 110° C (h) - Rancimat	20 a 24

¹ Resultados relativos à média ± desvio padrão de pelo menos duas repetições de cada extração realizada.

Alguns compostos, contudo, podem reduzir a eficiência de conversão em ésteres. Um deles é a presença de água na matéria-prima para produção de biodiesel, visto que ela ocasiona a formação de sabões de ácidos graxos, reduzindo o rendimento de ésteres alquílicos (VICENTE; MARTÍNEZ; ARACIL, 2004).

Além da água, o índice de acidez também afeta a obtenção de altos rendimentos. Ambos influenciam negativamente a reação à medida que suas concentrações aumentam. Índice de acidez superior a 1,0 mg KOH/g (0,5% AGL) e teores de água mais altos do que 0,3% de água comprometem a completa conversão de ésteres por catalisadores básicos (FREEDMAN; PRYDE; MOUNTS, 1984; MA; CLEMENTS; HANNA, 1998; HAAS; FOGLIA, 2006).

A reação de transesterificação por lipases não é afetada mesmo com teores de 5,8% de água, em que foram alcançados rendimentos de ésteres metílicos de até 90,9% a partir de óleo de soja (SHIEH; LIAO; LEE, 2003). Os ácidos graxos livres não interferem na reação de transesterificação, pois as lipases têm a capacidade de esterificá-los quando esterificados nos acilgliceróis e na forma livre em uma única etapa (HAAS; FOGLIA, 2006).

A miscela rica experimental apresentou 0,3% de água e 0,8 mg KOH/g (0,4% acidez), e demonstrou ser aplicável como matéria-prima na produção de biodiesel por transesterificação com catalisador químico básico e enzimático.

O teor de álcool presente na miscela rica (6,5% m/m) pode participar como acceptor de acila na reação de transesterificação não havendo necessidade de refino (Tabela 3.5).

Quanto mais reduzida a presença de fosfolipídios na matéria-prima, maior será o rendimento na transesterificação. Os fosfolipídios por serem bons agentes emulsificantes, dificultam a etapa de purificação da fase éster, quando da aplicação de catalisador básico e são altamente danosos para o catalisador enzimático (ASTM, 2003). Os teores de fósforo até 300 mg/kg não afetam a reação de transesterificação (GERPEN; KNOTHE, 2006). Freedman, Pryde e Mounts (1984) chegaram a 83% de rendimento em ésteres metílicos a partir de óleo bruto de soja apresentando 953 mg P/kg com catalisador básico. A miscela rica experimental apresentou concentração de fósforo de 189,9 mg P/kg, o que demonstra a viabilidade de seu uso.

A composição em ácidos graxos da miscela rica experimental esteve próxima à do óleo de soja. Os ácidos graxos insaturados estiveram presentes em mais de 80% da composição de miscela rica o que pode indicar vulnerabilidade a oxidação do biodiesel produzido com miscela rica o que pode indicar vulnerabilidade a oxidação do biodiesel produzido com miscela rica (Tabela 3.6). Porém, a elevada concentração dos ácidos graxos insaturados evita a solidificação do biodiesel em locais de clima frio (ANP, 2012).

Tabela 3.6 – Composição de ácidos graxos em micela rica de óleo de soja e óleo de soja

Perfil de ácidos graxos	Miscela rica (%)	Óleo de soja ¹ (%)
Ácido palmítico (C 16:0)	13,13	11,4
Ácido esteárico (C 18:0)	2,92	3,2
Ácido oléico (C 18:1)	23,71	21,8
Ácido linoléico (C 18:2)	51,52	54,9
Ácido linolênico (C 18:3)	8,72	8,3

¹: Fonte: Gunstone (1996).

Além das características químicas exigidas para a matéria-prima destinada para produção de biodiesel, um fator de grande importância é a estabilidade oxidativa do óleo.

O estudo da estabilidade à oxidação de óleos é de fundamental importância para seu controle de qualidade, principalmente no que diz respeito a seu armazenamento. (VELASCO; ANDERSEN; SKIBSTED, 2004). A estabilidade da oxidação de um material lipídico é função do grau de insaturação de seus ácidos graxos e da presença de antioxidantes. Quanto maior o grau de insaturação do óleo, menor será a sua estabilidade, conforme deve demonstrar o seu Período de Indução (PI) medido pelo Rancimat (KNOTHE; DUM, 2003).

O óleo de soja refinado tem período de indução de 10 horas a 100°C (REGITANO D'ARCE, 2006a). A miscela rica experimental, com 90% de óleo, apresentou um período de indução (PI) de 20 a 24 horas a 110°C. Esta alta estabilidade pode estar relacionada com a presença do etanol além da presença dos compostos antioxidantes, como os tocoferóis, flavonas e misturas de fosfolípidos presentes no óleo de soja (ORDÓÑEZ et al., 2005). Os tocoferóis em óleo de soja refinado apresentam concentração inferior (940-990 mg/kg) ao óleo de soja bruto (1680 mg/kg) (GUNSTONE, 1996).

O período de indução exigido para o material oleaginoso para a produção de biodiesel não é especificado pela Agência Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustível (ANP), mas pode-se deduzir que quanto mais alto, mais seco e isento de metais for o óleo ou gordura, maior será a estabilidade oxidativa dos ésteres produzidos, medida especificada pela ANP (2010).

3.4 CONCLUSÕES

A extração em escala semi-piloto com recirculação de miscela pobre apresentou eficiência de 82,9%. A massa de óleo extraída no ensaio com quatro banhos de imersão não apresentou diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$) em relação ao ensaio com cinco

banhos. Com isso, definiu-se o processo com três banhos com miscela pobre e um último banho com etanol a 99% como opção para a extração de óleo de lâminas de soja. Ajustes devem ser feitos para reduzir o teor de óleo residual no farelo, que ainda ficou mais alto do que o desejável para aplicação industrial (cerca de 1%).

A redução do teor de água na soja laminada (8,5%) poderia melhorar a eficiência do processo. A água presente em ambas as misturas (rica e pobre) é proveniente da soja laminada; ela é arrastada para a miscela devido à sua afinidade com o etanol (BECKEL; BELTER; SMITH, 1948; JOHNSON; LUSAS, 1983). Apesar do consumo de energia, a redução do teor de água da matéria-prima pode ser considerada conveniente para reduzir a diluição do etanol que afeta sua força como extrator de óleo (RAO; ARNOLD, 1958).

A miscela pobre apresentou composição constante em todos os ensaios de extração, o que permitiu seu reuso e promoveu um pré-refino na miscela rica.

O farelo resultou em produto claro, isento de compostos antinutricionais, de elevado teor de proteína (48%) e índice de nitrogênio solúvel entre 12 a 16%, sendo considerado próprio para alimentação animal.

A miscela rica em óleo apresentou características adequadas para produção de biodiesel via reação de transesterificação química básica e enzimática, sem a necessidade de etapas posteriores de refino. Além disso, o etanol residual pode ser utilizado como aceptor de acila na transesterificação contribuindo ainda mais para que a miscela rica seja matéria-prima alternativa para produção de biodiesel.

Em suma, o processo é viável tecnicamente para a produção de insumo de qualidade para indústria de biodiesel.

REFERÊNCIAS

ABRAHAM, G.; DECOSSAS, K. M.; HRON, R. J.; KUK, M. S. Process engineering economic evaluation of the ethanol extraction of cottonseed. preliminary analysis. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 68, n. 6, p. 418-421, 1991.

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEL – ANP. Disponível em: www.anp.gov.br. Acesso em: 24 out. 2010.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY – AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 5. ed. Champaign, 2003.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. West Conshohocken, PA, 2003.

ARNOLD, L. K.; CHOUDHURY, R. B. R. Ethanol extraction of soybean oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 39, p. 379-380, 1962.

BECKEL, A. C.; SMITH, A. K. Alcohol extraction improves soya flour flavor and color. **Food Industries**, Washington, DC, v. 16, p. 616-664, 1944.

BECKEL, A. C.; BELTER, P. A.; SMITH, A. K. Laboratory study of continuous vegetable oil extraction. **Industrial and Engineering Chemistry. Analytical Edition**, Easton, v. 18, p. 56-58, 1946.

BECKEL, A. C.; BELTER, P. A.; SMITH, A. K. The Nondistillation Alcohol Extraction Process for Soybean. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, Jan:10-11, 1948a.

BECKEL, A. C.; BELTER, P. A.; SMITH, A. K. Solvent effects on the products of soybean oil extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 25, n. 1, p. 7-9, 1948b.

CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; PINHEIRO, N. P. A indústria de produção de biodiesel no Brasil. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; SILVA, J. F. V. **Complexo agroindustrial de biodiesel no Brasil: Competitividade das cadeias produtivas de matérias-primas**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2010.

DORSA, R. **Tecnologia de óleos vegetais**. Campinas: Ideal, 2004. 463 p.

DURÃES, F. O. M. Apresentação. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; SILVA, J. F. V. **Complexo agroindustrial de biodiesel no Brasil: Competitividade das cadeias produtivas de matérias-primas**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2010.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; MOUNTS, T. L. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 61, n. 10, p. 1-6, 1984.

FREITAS, S. P.; FREITAS-SILVA, O.; MIRANDA, I. C.; COELHO, M. A. Z. Extração e fracionamento simultâneo do óleo da castanha-do-Brasil com etanol. **Ciência e Tecnologia dos Alimentos**, Campinas, v. 27, p. 14-17, 2007. Suplemento.

GANDHI, A. P.; JOSHI, K. C.; JHA, K.; PARIHAR, V. S.; SRIVASTAV, D. C.; RAGHUNADH, P.; KAWALKAR, J.; JAIN, S. K.; TRIPATHI, R. N. Studies on alternative solvents for the extraction of oil soybean. **International Journal of Food Science and Technology**, Oxford, v. 38, p. 369-375, 2003.

GUNSTONE, F. D. **Fatty acid and lipid chemistry**. London: Blackie Academic & Professional, 1996. 252 p.

GERPEN, J. V.; KNOTHE, G. Produção de biodiesel. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

HAAS, M. J.; FOGLIA, T. A. Matérias-primas alternativas e tecnologia para a produção de biodiesel. In: KNOTH, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 90, n. 1, p. 420-426, 1978.

HARTMAN, L.; LAGO, R.C.A. **Lab. Practices**, 1973

HRON, S. R.; KOLTUN, S. P. An aqueous ethanol extraction process for cottonseed oil. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 61, n. 9, p. 1457-1460, 1984.

JOHNSON, C. M.; ULRICH, A. Analytical methods. In: SARRUGE, J. R.; HAAG, H. P. **Análises químicas em plantas**. Piracicaba: ESALQ/Departamento de Química, 1974. p. 4-10.

JOHNSON, L. A.; LUSAS, E. W. Comparison of alternative solvents for oils extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 60, n. 2, p. 229-242, 1983.

KARNOFSKY, G. The theory of solvent extraction. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 26, n. 10, p. 564-569, 1949.

KNOTHE, G.; DUNN, R. O. Dependence of oil stability index of fatty compounds on their structure and concentration and presence of metals. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 80, p. 1021-1026, 2003.

KWIATKOWSKI, J. R.; CHERYAN, M. Extraction of oil from ground corn using ethanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 79, n. 8, p. 825-829, 2002.

LAM, M. K.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 28, p. 500-518, 2010.

MA, F.; CLEMENTS, L.D.; HANNA, M.A. The effects of catalyst, free fatty acids, and water on transesterification of beef tallow. **American Society of Agricultural Engineers**, v. 41, n. 5, p. 1261-1264, 1998.

MAGNE, F. C.; SKAU, E. L. Phase equilibrium data pertaining to the extraction of cottonseed oil with ethanol and 2-propanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 30, n. 7, p. 288-291, 1953.

MENDES, W. S.; SILVA, I. J.; FONTES, D. O.; RODRIGUEZ, N. M.; MARINHO, P. C.; SILVA, F. O.; AROUCA, C. L. C.; SILVA, F. C. O. Composição química e valor nutritivo da soja crua e submetida a diferentes processamentos térmicos para suínos em crescimento. **Arquivo Brasileiro de Medicina Veterinária e Zootecnia**, Belo Horizonte, v. 56, n. 2, p. 207-213, 2004.

NIEH, C. D.; SNYDER, H. E. Solvent extraction of oil from soybean flour ii--pilot plant and two-solvent extractions. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 68, n. 4, p. 250-253, 1991.

ORDÓÑEZ, J. A. P.; RODRÍGUEZ, M. I. C.; ÁLVAREZ, L. F.; SANZ, M. L. G.; MINGUILLÓN, G. D. G. F.; LORENZO, H. P.; CORTECERO, M. D. S. Lipídeos. In: _____. **Tecnología de alimentos: Componentes dos alimentos e processos**. Porto Alegre: Artmed, 2005. v. 1, p. 34-49.

RAO, R. K.; ARNOLD, L. K. Alcoholic extraction of vegetable oils. II. Solubilities of corn, linseed, and tung oils in aqueous ethanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 33, p. 82-84, 1956.

RAO, R. K.; ARNOLD, L. K. Alcoholic extraction of vegetable oils. V. Pilot plant extraction of cottonseed by aqueous ethanol. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 35, p. 277-281, 1958.

REGITANO D'ARCE, M.A.B. **Ensaio de extração de óleo de girassol (*Helianthus annuus* L.) com álcool etílico**. 1985. 132 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba, 1985.

REGITANO D'ARCE, M.A.B. **Extração de óleo de girassol com etanol: cinética, ácido clorogênico, fração insaponificáveis**. 1991. 145 p. Tese (Doutorado) – Faculdade de Ciências Farmacêuticas, Universidade de São Paulo, São Paulo, 1991.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Extração e refino de óleos vegetais. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006a. cap. 7, p. 300-351.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Produtos protéicos de soja. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006b. cap. 7, p. 355-402.

REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; VIEIRA, T. M. S. Ampla gama de vegetais e sebo animal são base para biodiesel. **Visão Agrícola: Agroenergia**, Piracicaba, p. 11-12, jan/jun. 2008.

SAAD, F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; TOMAZIN JÚNIOR, C.; VIEIRA, T. M. S.; MATTOS, E. Produção de biodiesel a partir de óleo bruto de soja extraído com etanol. **Revista em Agronegócios e Meio Ambiente**, Maringá, v.1, n.2, p. 211-217, maio/ago, 2008.

SHIEH, C. J.; LIAO, H. F.; LEE, C. C. Optimization of lipase-catalyzed biodiesel by response surface methodology. **Bioresource Technology**, Essex, v. 88, p. 103-106, 2003.

SILVA, L.D.F.; RAMOS, B.M.O.; RIBEIRO, E.L.A.; MIZUBUTI, I.Y.; ROCHA, M.A.; MORAES, F.L.Z. Degradabilidade ruminal *in situ* da matéria seca e proteína bruta de duas variedades de grão de soja com diferentes teores de inibidor de tripsina, em bovinos. **Revista Brasileira de Zootecnia**, Viçosa, v. 31, n. 3, p. 1251-1257, 2002.

SMITH, A. S. Evaluation of extraction rate measurements. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 29, n. 10, p. 421-425, 1952.

STAT SOFT INC. **Statistica**. Data analysis software system. Version 7. 2004. Disponível em: <<http://www.statsoft.com>>.

TOMAZIN JUNIOR, C. **Extração de óleo de soja com etanol e transesterificação etílica na miscela.** 2008. 64 p. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Centro de Energia Nuclear na Agricultura, Universidade de São Paulo, Piraciaba, 2008.

VELASCO, J., ANDERSEN, M. L.; SKIBSTED, L. H. Evaluation of oxidative stability of vegetable oils by monitoring the tendency to radical formation. A comparison of electron spin resonance spectroscopy with the RANCIMAT method and differential scanning calorimetry. **Food Chemistry**, Barking, v. 85, p. 623-632, 2004.

VICENTE, G.; MARTÍNEZ, M.; ARACIL, J. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems. **Bioresource Technology**, Essex, v. 92, p. 297–305, 2004.

4. TRANSESTERIFICAÇÃO QUÍMICA DIRETA DE MISCELA ETANÓLICA DE ÓLEO DE SOJA

RESUMO

O biodiesel é um biocombustível alternativo que oferece vantagens ambientais em relação ao diesel de petróleo por ter origem em uma fonte renovável e por emitir menos gases do efeito estufa em sua combustão. Entretanto, o alto custo da matéria-prima pode tornar a sua produção inviável. Alternativas de óleos vegetais não-comestíveis e residuais são cada vez mais procuradas para redução de custos de produção. A miscela rica, proveniente da extração de óleo de soja utilizando etanol a 99% como solvente, apresenta características químicas e físicas que permitem produção de biodiesel por transesterificação direta. Os catalisadores químicos alcalinos são os mais utilizados para a produção de biodiesel em escala industrial por serem mais acessíveis e mais baratos, além de não acarretarem problemas de corrosão das instalações. As proporções de catalisador, acceptor de acila e a temperatura variam com o tipo de matéria-prima utilizada. A metodologia de superfície de resposta (MSR) pode ser aplicada na otimização de um processo industrial para identificação das condições operacionais que maximizem rendimento de produção. O objetivo do trabalho foi estudar o processo de transesterificação de miscela rica com catalisador alcalino (NaOH) e etanol como acceptor de acila para produção de biodiesel de alta qualidade. As variáveis independentes avaliadas foram: concentração de catalisador (C), temperatura (T) e razão molar (RM) entre óleo e etanol. As reações foram conduzidas em reator de bancada, sob agitação constante, por 60 min. O biodiesel foi caracterizado e comparado com os limites estabelecidos pela Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biodiesel. As melhores condições experimentais para a transesterificação, indicadas pelo modelo matemático de segunda ordem ajustado foram: RM 1:12, C 0,67% e T 30°C, com rendimento observado de 97,2%. A miscela rica é uma matéria-prima adequada para uso na produção de ésteres etílicos por transesterificação direta com catalisador básico.

Palavras-chave: Biodiesel. Ésteres etílicos. Catalisador alcalino. Análise de superfície de resposta.

ABSTRACT

Biodiesel is an alternative biofuel that offers environmental advantages over petroleum diesel because it comes from a renewable source and emit less greenhouse gases on combustion. However, the high cost of the raw material can render its production impossible. Alternative non-edible vegetable oils and waste are increasingly sought to reduce production costs. The rich miscellae, from the soybean oil extraction using 99% ethanol as solvent, shows chemical and physical characteristics that allow production of biodiesel by direct transesterification. The chemical alkaline catalysts are the most used to produce biodiesel on an industrial scale because they are more accessible and cheaper, and would entail no corrosion problems of the facilities. The proportion of catalyst, acyl acceptor and temperature vary with the type of raw material used. The response surface methodology (RSM) can be applied to the optimization of an industrial process to identify operating conditions that maximize production yields. Herein, the objective was to study the transesterification process of the rich miscellae with an alkaline catalyst (NaOH) and ethanol as the acyl acceptor for high quality biodiesel production. The independent variables were: catalyst concentration (C), temperature (T) and molar ratio (MR) between oil and ethanol. The reactions were conducted in batch reactor under constant agitation for 60 min. The biodiesel was characterized and compared to the limits established by the Brazilian National Petroleum, Gas and Biofuels Agency (ANP). Optimum conditions for the transesterification, as indicated by a second order mathematical model were: MR 1:12, C 0.67% and T 30°C, with an expected yield of 97.2%. Thus, the rich miscellae proved to be a suitable raw material for use in the production of ethyl esters by direct transesterification with an alkaline catalyst.

Keywords: Biodiesel. Ethyl esters. Alkaline catalyst. Response surface methodology.

4.1 INTRODUÇÃO

A produção de biodiesel desperta interesse, principalmente pelo benefício ambiental, por ser derivada de fonte renovável e poluir menos que o diesel de petróleo, além de poder substituir totalmente o diesel (SINGH; SINGH, 2010). A via mais utilizada para a produção de biodiesel é a reação de transesterificação, em que um mol de triacilglicerol (óleo vegetal ou gordura animal) reage com três moles de um mono-álcool de cadeia curta, tipicamente metanol ou etanol, na presença de um catalisador, produzindo três moles de éster alquílico de ácido graxo e um mol de glicerol (SCHUCHARDT; SERCHELIA; VARGAS, 1998).

Os óleos vegetais como soja, girassol, canola, caroço de algodão, palma e amendoim são as mais utilizadas na produção de biodiesel, e sua escolha depende da disponibilidade e dos custos da matéria-prima (PINTO et al., 2005; KNOTHE, 2006b; CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010). Como já comentado nos capítulos anteriores, o uso de óleo vegetal refinado acarreta um aumento nos custos de produção de biodiesel da ordem de 80%, inviabilizando o seu emprego (LAM; LEE; MOHAMED, 2010). A utilização de óleo de fritura (FELIZARDO et al., 2006; ENCIMAR; GONZÁLEZ; RODRÍGUES-REINARES, 2007), de resíduos industriais originários de agroindústria (KURZIN et al., 2007; RASHID et al., 2009) e de óleos vegetais não comestíveis (ALCANTARA et al., 2000; TIWARI; KUMAR; RAHEMAN, 2007) desponta como alternativa de baixo custo ao diesel de petróleo (VASUDEVAN; BRIGGS, 2008).

O biodiesel de boa qualidade promove combustão segura para os motores e para o meio ambiente. Os álcoois monoalquílicos, glicerol, catalisador, ácidos graxos livres, mono-, di- e triacilgliceróis compõem a mistura do biodiesel final, podendo ocasionar problemas operacionais e ambientais (KNOTHE, 2006; MONTEIRO et al., 2008; CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010). Por isso, normas e padrões de qualidade foram estabelecidos para padronizar o produto e tornar seu uso sustentável (CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010).

O metanol como aceptor de acila é o álcool mais utilizado na produção de biodiesel pela rápida conversão e altos rendimentos no processo (MENEGETTI et al., 2006a), entretanto tem a desvantagem de ser derivado de petróleo e altamente tóxico comparado ao etanol, o qual é facilmente manipulável, de fonte renovável e de uso plenamente justificável em um país como o Brasil. A transesterificação com etanol como aceptor de acila e catalisador alcalino vem sendo cada vez mais investigada e aperfeiçoada, apresentando resultados equiparados aos provenientes do uso de metanol com rendimentos de ésteres

etílicos de 98,5% (NIMCEVIC et al., 2000), 97,2% (KUCEK et al., 2007), 94,5% (DOMINGOS et al., 2008).

Os catalisadores básicos homogêneos apresentam um papel importante na reação de transesterificação em escala industrial sendo, os mais comuns os hidróxidos (NaOH e KOH) e os alquilados metálicos (metóxido ou etóxido de sódio), que são de fácil emprego e baixo custo (GERPEN; KNOTHE, 2006; REGITANO-D'ARCE, 2006). Entre os diferentes catalisadores alcalinos testados por Vicente, Martínez e Aracil, (2004) e Meneghetti et al. (2006b) os que promoveram maiores rendimentos em ésteres foram os metóxidos (KOCH₃, NaOCH₃). Mendown, Veizaga e Querini (2011) demonstraram que o NaOH e KOH ao serem diluídos com álcool são convertidos em um mol de água a cada mol de metóxido ou etóxido produzido, favorecendo a reação de saponificação. Entretanto, em reação de transesterificação foi obtido ésteres etílicos com rendimentos de 97,2% com uso de NaOH (KUCEK et al., 2007) e rendimento de 95,5% com KOH (SANTOS et al., 2007).

O rendimento de ésteres pode variar com o tipo de matéria-prima, temperatura, razão molar do aceptor de acila e concentração de catalisador (GERPEN; KNOTHE, 2006). Domingos et al. (2008) obtiveram em óleo de semente de rabanete (*Raphanus sativus*) 94,5% de conversão de ésteres etílicos com 0,6% de NaOH, razão molar 1:11,7 (óleo:etanol) e temperatura de 38° C. Kucek et al. (2007) obtiveram 97,2% de ésteres etílicos utilizando óleo de soja refinado em razão molar 12:1 de etanol:óleo, 0,3% NaOH a 70°C. Santos et al. (2007) conduziram a transesterificação de óleo de babaçu com razão molar de 6:1 álcool etílico:óleo com 1% do catalisador (KOH) a 25°C, resultando em 95,5% de conversão dos triacilgliceróis em ésteres etílicos. Nimcevic et al. (2000) converteram 98,5% de óleo de canola em ésteres etílicos com 1,5% de KOH, razão molar de 1:6 (óleo:etanol) a 65°C. Rashid et al. (2008) à partir de óleo de girassol produziram 97,1% de ésteres metílicos com razão molar de 1:6 (óleo:metanol) e 1,0% de catalisador (NaOH) a 60°C.

A qualidade da matéria-prima é um parâmetro importante para que se atinja altos rendimentos na produção de biodiesel. Os ácidos graxos livres (AGL) e a água presentes no óleo têm efeito significativo no rendimento de ésteres da transesterificação de glicerídeos usando catalisadores alcalinos ou ácidos. Além disso, eles interferem na separação dos ésteres de ácidos graxos e glicerol (MA; HANNA, 1999). Apesar do alto rendimento e baixo custo ao utilizar catalisador básico, a formação de sabão na transesterificação utilizando catalisador NaOH é inevitável, e a presença de sabão e alto teor de fósforo emulsificam e solubilizam outros materiais lipolíticos, dificultando a separação da fase éster do glicerol (VICENTE; MARTÍNEZ; ARACIL, 2004; GERPEN; KNOTHE, 2006). Para lipídios com teor de ácidos

graxos livres entre 0,5 e 4%, a perda de catalisador que ocorre com a saponificação durante a transesterificação alcalina é suficiente para comprometer a eficiência do processo, desde que não compensada pela adição de uma quantidade maior de catalisador no início da reação (HASS; FOGLIA, 2006).

A miscela rica proveniente da extração de óleo de soja com etanol a 99% permite a transesterificação direta, sem refino, por apresentar índice de acidez de 1,0 mg KOH/g e teores reduzidos de fósforo (189,9 mg/kg). A transesterificação direta de miscela rica pode reduzir o custo de produção de biodiesel, por dispensar a etapa de dessolventização e refino, que envolvem custos energéticos e geração de co-produtos que devem ter um destino definido. Freedman, Pryde e Mounts (1984) obtiveram 83% de rendimento em ésteres metílicos com óleo de soja bruto apresentando índice de acidez 1,67 mg KOH/g e 953 mg fósforo/kg. Kildiran, Yücel e Türkay (1996) realizaram extração e etanolise em única etapa de reação, usando farinha de soja (com 23% de óleo), na presença de catalisador ácido com rendimentos de ésteres etílicos de até 60%. Shi e Bao (2008) obtiveram conversão de 99,3% de ésteres metílicos a partir da transesterificação direta de miscela (óleo de canola + hexano) com 1,1% de catalisador NaOH. Da mesma forma, Quian, Shi e Yun (2010), com óleo de *Jatropha curcas* alcançaram 98% de ésteres metílicos.

A metodologia de superfície de resposta (MSR) é uma técnica de otimização baseada em planejamentos fatoriais utilizada desde a década de 50 para modelar diversos processos químicos (BARROS NETO et al., 2010). A modelagem é normalmente feita ajustando-se modelos simples (lineares ou quadráticos) de “n” variáveis às respostas obtidas nos ensaios. Esta metodologia vem sendo cada vez mais empregada na otimização de processos de produção de biodiesel, visando a obtenção de altos rendimentos em ensaios laboratoriais, o que permite uma redução de tempo e gasto de materiais (KUCEK et al., 2007; DOMINGOS et al., 2008; RASHID et al., 2009).

O objetivo deste trabalho foi avaliar o processo de transesterificação direta de miscela rica aplicando catalisador alcalino e etanol como o aceptor de acila. A MSR foi utilizada para indicar as melhores condições experimentais para obter maior rendimento em ésteres etílicos a partir das variáveis independentes temperatura, catalisador (NaOH) e equivalente molar (óleo:etanol). O biodiesel produzido a partir das melhores condições experimentais foi caracterizado para avaliação da qualidade do produto final.

4.2 MATERIAL E MÉTODOS

Os ensaios foram realizados no Laboratório de Óleos e Gorduras, Laboratório de Açúcar e Álcool e Laboratório de Bioquímica do Departamento de Agroindústria, Alimentos e Nutrição da Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz” - ESALQ-USP (Piracicaba – SP).

4.2.1 Material

A miscela rica (óleo:etanol) em óleo de soja foi à matéria-prima utilizada para produção de biodiesel. A miscela rica foi obtida através da extração de óleo por imersão de soja laminada em etanol como descrito no Capítulo 3.

A miscela rica foi caracterizada quanto ao teor de lipídeos de soja, pelo método de extração líquido-líquido segundo Hara e Radin (1978), teor de álcool assumido como o teor de etanol (%m/m) obtido por destilação e medição em densímetro digital modelo DMA-48 marca Anton Paar, teor de água pelo método D6304 (ASTM, 2003), ácidos graxos livres método Ca 5a-40 da AOCS (2003), fósforo pelo método D4951 da ASTM (2003).

O hidróxido de sódio em micropérolas, etanol a 99% e sulfato de sódio anidro foram de grau analítico.

4.2.2 Transesterificação química básica

4.2.2.1 Etanólise de miscela rica

A produção de biodiesel foi conduzida baseando-se no método aplicado por Kucek et al. (2007), com agitação magnética e controle de temperatura. Em balão de fundo chato de 250 mL, acoplado a condensador, foram adicionados 112 g de miscela rica (equivalente a 100 g de óleo de soja) aquecido à temperatura desejada de reação sob agitação constante. Foi adicionado catalisador hidróxido de sódio previamente dissolvido em etanol (formação do etóxido de sódio). O teor de etanol da miscela foi determinado (7,6% m/m), e acrescentado um volume adicional para se atingir as razões estabelecidas no delineamento. A quantidade de catalisador, a proporção óleo:etanol e a temperatura da reação de transesterificação foram empregadas de acordo com a Tabela 4.1 e o tempo de reação foi 60 minutos. Após esse

período foi evaporado o excesso de etanol em rota evaporador por 30 minutos a 70°C sob vácuo. Após a separação das fases, uma fase éster e outra fase glicerol, os ésteres foram lavados cinco vezes com porções de 10% (v/m) com água a 80°C e filtrados sobre sulfato de sódio anidro.

O rendimento de ésteres etílicos foi determinado de acordo com as seguintes equações:

$$RB = \frac{Met}{Mo} \times 100 \quad (4.1)$$

$$RP = \frac{Mep}{Mo} \times 100 \quad (4.2)$$

$$RE = \frac{RP \times E}{100} \quad (4.3)$$

em que,

RB = rendimento bruto de éster etílico antes da purificação;

Met = massa do éster etílico antes da purificação;

Mo = massa de óleo utilizado na etanólise;

RP = rendimento de éster etílico após purificação com sulfato de sódio;

Mep = massa de éster etílico após purificação;

RE = rendimento de éster etílico efetivamente produzido.

E = porcentagem de éster etílico contido na fase éster purificado.

4.2.2.2 Desenho experimental e análise de superfície de resposta

Foi aplicado um planejamento experimental fatorial 2^3 com delineamento do ponto central e analisada a superfície de resposta nos ensaios com o objetivo de definir as condições em que foi obtido o maior rendimento de ésteres etílicos, através do ajuste de modelo linear ou quadrático.

O delineamento experimental (Tabela 4.1) foi aplicado com três variáveis explanatórias (temperatura, catalisador NaOH e razão molar óleo:etanol) e 5 níveis.

Os ensaios foram efetuados em ordem aleatória, segundo o procedimento determinado por Barros Neto et al. (2010). Com os valores resultantes do rendimento de ésteres etílicos foi realizada a análise de regressão múltipla pelo método de superfície de resposta para estabelecer os parâmetros que levaram ao máximo rendimento.

Tabela 4.1 – Faixas de estudo das variáveis explanatórias na transesterificação química da miscela oleosa

Variáveis	Símbolo	Níveis				
		-1,68	-1	0	+1	+1,68
Razão molar (Óleo:etanol mol/mol)	RM	1: 3	1:5	1:7,5	1:10	1:12
Temperatura (°C)	T	30	36	45	54	60
Catalisador (NaOH % m/m)*	C	0,2	0,4	0,6	0,8	1,0

*em relação à massa de óleo na miscela

Após a análise dos efeitos, os termos não significativos ($p > 0,05$) foram eliminados e foi ajustada uma equação polinomial de segunda ordem (eq. (4.4)). Esta equação descreve a relação entre a variável resposta (rendimento de ésteres etílicos) com as variáveis independentes (RM, T, C).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (4.4)$$

em que:

Y = Rendimento em ésteres etílicos (%) – (RE)

β_0 = coeficiente de regressão do termo intercepto

β_i = coeficiente de regressão do termo linear

β_{ii} = coeficiente de regressão do termo quadrático

β_{ij} = coeficiente de regressão do termo de interação

X_i e X_j = variáveis independentes codificadas

O modelo obtido foi avaliado com base no coeficiente de determinação (R^2) e no teste F (KHURI; CORNELL, 1987). O coeficiente de determinação é uma medida da proporção da variação total da resposta explicada pelo modelo. O teste F, que testa a significância da regressão e da falta de ajuste do modelo, foi realizado por meio da análise de variância com auxílio do aplicativo “Statística 7” com nível de confiança de 95%. O gráfico de superfície e de contorno foram obtidos pelo modelo linear ou quadrático ajustado onde, manteve-se constante uma variável independente enquanto foram mudadas as outras duas variáveis.

4.2.3 Métodos analíticos

Teor de ésteres etílicos segundo *Comité Européen de Normalisation* (EN14103), índice de acidez pelo método Ca 5a-40 da AOCS (2003), teor de álcool assumido como o etanol foi determinado por destilação e medição em densímetro digital modelo DMA-48 marca Anton Paar, fósforo (método Ca 12-55 da AOCS (2003)), estabilidade à oxidação a 110°C em Rancimat (método EN 14112), teor de sabões (método Cc-17-95 da AOCS (2003)). Os ésteres etílicos produzidos na melhor condição definida pela análise de superfícies de resposta foram caracterizados conforme as especificações descritas pela Resolução ANP N°7 de 19/03/2008.

4.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A miscela rica foi caracterizada e apresentou 90% (m/m) de teor de lipídeos, 0,31% de teor de água, 0,5% de ácidos graxos livres, 189,9 mg de P/kg de miscela e 7,6% (m/m) de teor de etanol (razão molar de 1:1,65 óleo:álcool).

Não houve separação de fases nos ensaios 1, 3, 4, 5, 6, 7, 13, 16 e 17 o que pode ser atribuído à presença de sabão e de fosfolipídeos, que emulsificam e solubilizam outros materiais lipídicos, dificultando esta separação (GERPEN; KNOTHE, 2006). Quando a concentração dos reagentes e a temperatura de reação favorece a saponificação, o sabão emulsifica a fase apolar de ésteres com a fase polar de glicerol (CERNOCH; HÁJEK; SKOPAL, 2010).

O baixo rendimento de ésteres etílicos nos ensaios 1, 3, 13 e 17 foi devido à baixa concentração de etanol e/ou catalisador, que resultou em reação de transesterificação incompleta, e com isso maior concentração dos produtos intermediários, os di- e monoacilgliceróis. A não separação de fases foi atribuída às propriedades emulsificantes dos monoacilgliceróis (RASHID; ANWAR, 2008; CERNOCH; HÁJEK; SKOPAL, 2010). Resultados como estes foram encontrados por Kucek et al. (2007) e Domingos et al. (2008) em reação de transesterificação com catalisador alcalino.

Os ensaios 5 e 7 não tiveram a fase éster separada da fase glicerol por que a razão molar foi menor que 1:6 óleo:etanol. Baixas quantidades de álcool na reação de transesterificação com catalisador alcalino favorecem a formação de di- e monoacilgliceróis e com isso a emulsificação (RASHID; ANWAR, 2008; CERNOCH; HÁJEK; SKOPAL, 2010).

Embora os ensaios 4, 6 e 17 tenham sido realizados com concentração molar superior a 1:6 óleo:etanol, também não houve separação das fases. A temperatura elevada no ensaio 4 e 17 pode ter sido o fator determinante para a dificuldade de separação. Temperaturas elevadas favorecem a formação de sabão e reduzem a produção de éster, favorecendo a emulsificação das fases (CERNOCH; HÁJEK; SKOPAL, 2010). No ensaio 6, apesar de não se saber ao certo, especula-se que a concentração de hidróxido de sódio possa ter favorecido a formação de sabão e a não separação das fases. O etanol aumenta a solubilidade do catalisador na fase óleo-éster acelerando a saponificação (MENDOWN; VEIGAZA; QUERINI, 2011).

Os valores dos ensaios nulos foram substituídos pela média dos demais ensaios, em que houve separação de fases. Este recurso é estatisticamente válido nos casos em que dados são insuficientes para fazer a análise de regressão e gerar a superfície de resposta (Tabela 4.2).

Tabela 4.2 – Delineamento experimental para as variáveis em estudo e o rendimento de ésteres etílicos obtido em cada ensaio

Ensaio	RM óleo:etanol	T (°C)	C (% p/p)	RB (%)	RP (%)	E (%)	RE (%)
1	(1:5)	36	0,4	nsf	91,3*	56,8	51,8
2	(1:10)	36	0,4	104,3	99,1	88,7	87,9
3	(1:5)	54	0,4	nsf	91,3*	49,3	45,0
4	(1:10)	54	0,4	nsf	91,3*	88	80,3
5	(1:5)	36	0,8	nsf	91,3*	94,6	86,4
6	(1:10)	36	0,8	nsf	91,3*	80,4	73,4
7	(1:5)	54	0,8	nsf	91,3*	83,5	76,2
8	(1:10)	54	0,8	95,4	87,4	96,8	84,6
9	(1:7,5)	45	0,6	98,8	90,2	88,4	79,7
10	(1:7,5)	45	0,6	97,8	90,0	89,6	80,6
11	(1:7,5)	45	0,6	99,2	90,3	89,6	80,9
12	(1:7,5)	45	0,6	99,7	89,6	89,9	80,6
13	(1:3)	45	0,6	nsf	91,3*	53,6	48,9
14	(1:12)	45	0,6	104,4	96,0	93,7	90,0
15	(1:7,5)	30	0,6	102,4	94,4	94,3	89,06
16	(1:7,5)	60	0,6	nsf	91,3*	73,6	67,2
17	(1:7,5)	45	0,2	nsf	91,3*	44,2	40,4
18	(1:7,5)	45	1,0	92,7	84,7	99,3	84,1

*: média dos ensaios que obtiveram separação de fases.

nsf: não houve separação de fases.

Ésteres etílicos foram produzidos por transesterificação direta da miscela rica em óleo com catalisador alcalino (hidróxido de sódio) e etanol como aceptor de acila. Os ensaios do

ponto central (RM de 1:7,5, T de 45°C, C de 0,6%), apresentaram média de $80,27 \pm 0,25\%$ (Tabela 4.2).

A alternativa de substituição por médias deixa claro que esta opção tem a vantagem de produzir um conjunto de dados consistente, entretanto, apresenta a desvantagem de fornecer resultados com baixa variação em relação a média geral, o que pode mascarar alguns efeitos ou ainda mudar a tendência da correlação e regressão (STATISTICA 7.0, 2004).

Os ensaios 2, 14 e 15 foram os que apresentaram maior rendimento de ésteres etílicos, em que a razão molar de manteve acima de 1:6 (óleo:etanol) e a concentração de catalisador e a temperatura foram menor ou igual ao do ponto central.

As concentrações de fósforo, sabão, etanol e índice de acidez foram determinadas para os ensaios em que se verificou a separação das fases (Tabela 4.3).

O índice de acidez ficou abaixo do limite máximo permitido apresentado na Resolução nº7 de 19/03/2008 (Tabela 4.3) da Agência Nacional de Petróleo (ANP), em todos os ensaios. Entretanto a concentração de fósforo dos ensaios 2, 8, 9, 10, 11 e 12 e a porcentagem de etanol nas amostras de biodiesel de todos os ensaios ficaram acima dos limites máximos permitidos nas dadas condições de reação (Tabela 4.2). A presença de sabão no biodiesel não é limitada pela ANP (2012), mas sua presença é indesejada porque além de dificultar a separação e purificação das fases pode danificar os motores por acúmulo de impurezas (VICENTE; MARTÍNEZ; ARACIL, 2004).

O biodiesel produzido no ensaio 15 foi o que apresentou características mais adequadas, com baixa acidez e fósforo. O excesso de etanol pode ser removido por evaporação.

Tabela 4.3 – Caracterização dos ésteres etílicos produzidos por transesterificação química

Ensaio	Índice de acidez mg KOH/g	Fósforo mg P/kg	Sabão mg oleato de etila/kg	Etanol (%)	RE (%)
2	0,12	101,5	9,6	3,7	87,7
8	0,08	64,6	0,8	2,2	84,6
9	0,10	21,6	10,2	1,9	79,7
10	0,09	15,2	10,2	2,0	80,6
11	0,12	20,8	11,0	2,4	80,9
12	0,11	10,5	12,4	2,6	80,6
14	0,10	ND	8,2	4,1	90,0
15	0,10	ND	1,8	2,1	89,1
18	0,10	ND	0,5	1,3	84,1

ND: não detectado pelo método

A Tabela 4.4 apresenta a estimativa dos efeitos sobre o rendimento de ésteres etílicos do processo. O valor p ($p \leq 0,05$) mostra que os efeitos lineares e suas interações tiveram significativa influência sobre o rendimento de ésteres etílicos. Apenas a concentração do catalisador e a razão molar apresentaram efeitos quadráticos significativos.

Tabela 4.4 - Estimativa dos efeitos das variáveis explanatórias sobre o RE

	Efeito	Desvio padrão	Nível descritivo (p)
Média	80,2665	0,253228	0,000000*
RM (L)	19,8895	0,274646	0,000006*
RM (Q)	-6,0831	0,285672	0,000227*
T (L)	-7,3335	0,274646	0,000115*
T (Q)	0,0562	0,285672	0,856733
C(L)	18,9065	0,274646	0,000007*
C (Q)	-11,2186	0,285672	0,000036*
RM (L) x T (L)	5,1642	0,358684	0,000726*
RM (L) x C (L)	-18,9847	0,358684	0,000015*
T (L) x C (L)	3,8537	0,358684	0,001724*

*: estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p \leq 0,05$)

L = linear

Q = Quadrático

As variáveis lineares razão molar e concentração do catalisador proporcionaram aumentos de 19,89 e 18,91% de RE quando suas concentrações foram aumentadas de 1:5 para 1:10 e de 0,4% para 0,8%, respectivamente. Entretanto, a interação entre a razão molar e a concentração do catalisador mostra que RM é maior quando C é menor, situação demonstrada no ensaio 14.

A variável temperatura apresentou baixa influência quando comparada às interações razão molar e concentração do catalisador. Comparando os ensaios de maior rendimento (Tabela 4.2), observa-se aumento de somente 0,93% de RE entre os ensaios 14 e 15. Como a diferença entre as condições de transesterificação desses ensaios foi a razão molar e a temperatura, a análise dos resultados indica que é possível usar temperaturas mais brandas e razão molar menor.

A análise de regressão permitiu o ajuste do modelo quadrático representado a seguir, após a exclusão dos termos não significativos.

$$RE = 80,27 + 9,94RM - 3,66T + 9,45C - 3,04RM^2 - 5,61C^2 + 2,58RM.T - 9,49RM.C + 1,93T.C \quad (4.5)$$

O valor de $F_{\text{calculado}}$ para regressão foi três vezes maior que o F_{Tabelado} ao nível de confiança de 95%, indicando que o modelo é válido e pode ser usado para fins preditivos (Tabela 4.5).

Tabela 4.5 - Análise de variância (ANOVA) para o rendimento (RE%) do processo de produção de ésteres etílicos

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	4030,57	9	447,8407	9,96
Resíduo	359,87	8	44,9831	
Falta de ajuste	359,09	5	71,8186	279,09
Erro puro	0,77	3	0,2573	
Total	4390,43	17		
$R^2 = 0,918$				
Ajuste $R^2 = 0,826$				

$F_{\text{Tabelado}}(9;8) = 3,39$ $F_{\text{Tabelado}}(5;3) = 9,01$

Embora Barros Neto et al. (2010) considere uma regressão ideal para fins preditivos cerca de dez vezes maior do ponto de distribuição F, é relevante lembrar que 50% dos valores foram substituídos pela média de RP (Tabela 4.2), podendo acarretar imprecisão na análise de regressão. Desta forma foi considerado que a variação em torno da média é explicada pela regressão indicando que 91,8% da variação no RE é explicado pelo modelo.

A falta de ajuste foi significativa com $F_{\text{calculado}}$ maior que o F_{Tabelado} . Isso pode ser explicado pelo erro puro, que foi extremamente baixo. Dado o coeficiente de determinação alto, aliado ao resultado do teste F para regressão, pode-se considerar a superfície de resposta válida (Figura 4.1).

A análise de superfície de resposta do gráfico de contorno permitiu a identificação das condições operacionais de maior rendimento em ésteres etílicos com menor gasto de energia (temperatura), concentração de catalisador e etanol dentro da faixa estudada. As melhores condições indicadas pelo modelo empírico na transesterificação direta da miscela rica foram RM de 1:12 (nível 1,68), T de 30°C (nível -1,68) e C 0,67% (nível 0,84).

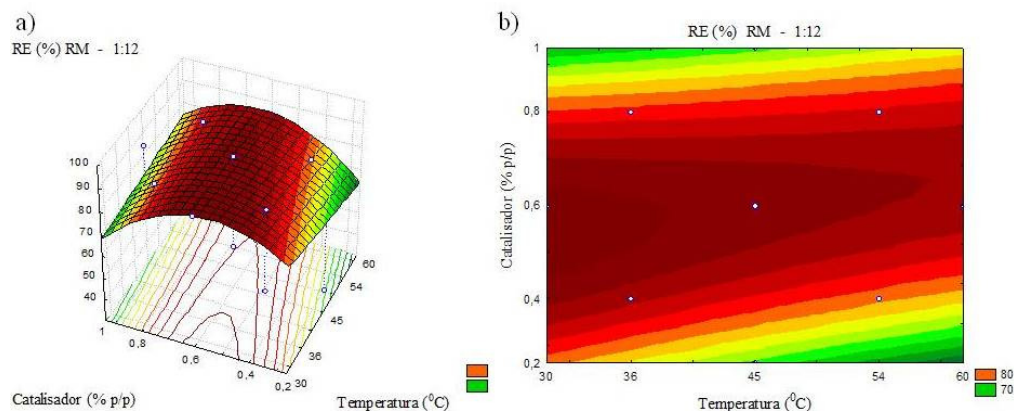


Figura 4.1 – Superfície de resposta (a) e gráfico de contorno (b) proveniente do modelo empírico (eq. 4.5) quando RM for 1:12 (óleo:etanol). (Condições experimentais: C 0,67% e T 30°C, sob agitação constante por 60 min)

Ésteres etílicos foram produzidos nestas condições para a validação prática do modelo teórico obtido (Tabela 4.6). O rendimento de ésteres etílicos foi de 97,2%, com 0,37% de coeficiente de variação. Esta alta conversão mostra que o modelo quadrático foi satisfatório para produção de éster a partir de miscela etanólica com catalisador básico hidróxido de sódio.

As determinações de sabão, etanol e éster foram realizadas antes e depois da lavagem e secagem, utilizando o sulfato de sódio como adsorvente para avaliar a purificação da fase éster (Tabela 4.6). A concentração de sulfato de sódio anidro foi equivalente a 10% da massa de óleo na miscela.

Tabela 4.6 – Caracterização dos ésteres etílicos antes e depois da purificação

Purificação	Sabão **	Etanol (%m/m)	% Éster etílico
Antes	6,64 (0,00)*	2,06 (0,06)*	97,5 (0,00)*
Depois	0,64 (0,04)*	0,74 (0,04)*	97,1 (0,38)*

* = Desvio padrão

** = mg de sabão como oleato de sódio/kg

Comparando os valores entre as Tabelas 4.3 e 4.6, foi possível avaliar que as condições experimentais interferem na retirada das impurezas pelo adsorvente, seja por excesso de etanol, seja pela concentração de catalisador ou pela mudança de temperatura. Houve remoção de 90,36% de sabão e 64,08% de etanol da fase éster purificada com sulfato de sódio anidro quando a reação foi realizada nas condições ideais indicada pelo modelo empírico (Tabela 4.6). Entretanto, a remoção do etanol e de outros componentes não foi suficiente para se enquadrar aos limites determinados pela Resolução nº 7 de 2008 da Agência

Nacional de Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis (ANP). A Tabela 4.7 apresenta as características físicas e químicas de alguns parâmetros exigidos pela ANP.

Tabela 4.7 – Caracterização dos ésteres etílicos produzidos por transesterificação direta da miscela etanólica de soja nas condições otimizadas

Características	Método de ensaio	Limites ANP	Resultados
Aspecto (25° C)	-	LII	LII
Massa específica a 20° C (kg/m ³)	ABNT NBR 7148	850-900	876,0
Viscosidade Cinemática a 40° C (mm ² /s)	ABNT NBR 10441	3,0-6,0	4,86
Teor de água (mg/kg)	ASTM D 6304	máx. 500	1027,7
Ponto de fulgor (°C)	ABNT NBR 14598	mín. 100	49,6
Cinzas sulfatadas (% massa)	ABNT NBR 6294	máx. 0,02	< 0,005
Cálcio + Magnésio (mg/kg)	ABNT NBR 15556	máx. 5	< 1,0 (Ca) < 1,0 (Mg)
Sódio + Potássio (mg/kg)	ABNT NBR 15556	máx. 5	< 1,0 (Na) < 1,0 (K)
Corrosividade ao cobre, 3h a 50° C	ABNT NBR 14359	máx.1	1
Índice de acidez (mg KOH/g)	ABNT NBR 14448	máx. 0,50	0,12
Glicerina total (% massa)	ASTM D 6584	máx. 0,25	0,368
Glicerina livre (% massa)	ASTM D 6584	máx. 0,02	0,109
Monoglicerídeos (% massa)	ASTM D 6584	-	0,846
Diglicerídeos (% massa)	ASTM D 6584	-	0,219
Triglicerídeos (% massa)	ASTM D 6584	-	0,071
Ponto de entupimento de filtro a frio (°C)	ASTM D 6371	máx. 19	-5
Estabilidade à oxidação a 110° C (h)	EN 14112	mín. 6	6,68
Resíduo de carbono (% massa)	ASTM D 4530	máx. 0,050	0,027
Contaminação total (mg/kg)	EN ISO 12662	máx. 24	15,6
Teor de éster (% massa)	EN 14103	mín. 96,5	97,8
Rendimento de ésteres etílicos (% massa)			97,2
Enxofre total (mg/kg)	ASTM D 5453	máx. 50	< 1,0
Fósforo (mg/kg)	ASTM D 4951	máx. 10	< 1,0
Etanol (% massa)	*	máx. 0,2	0,74

LII: límpido e isento de impurezas

*: destilação e densímetro digital

O teor de água foi duas vezes maior. A presença de água no biodiesel pode promover o crescimento microbiano, corroer tanque, formar emulsão e causar hidrólise. Isto levará a entupimento de filtro e travamento de peças (KNOTHE, 2006a; MONTEIRO et al., 2008; CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010). Entretanto, a água proveniente de sucessivas lavagens pode ter permanecido dispersa com o etanol, mostrando que o adsorvente não foi capaz da removê-la.

O ponto de fulgor ficou aproximadamente duas vezes menor que o permitido, o que o torna mais inflamável que o próprio diesel (55-62°C) (GERPEN, 2006). Esta situação é plenamente justificada pela concentração elevada de etanol que foi quase quatro vezes superior à recomendada pela ANP. Isto mostra que o tempo de evaporação e/ou o número de lavagens foram insuficientes para a completa remoção do etanol.

O nível de glicerol total de 0,24% corresponde a uma reação que atinge 97,7% de rendimento. Gerpen e Knothe (2006) explicam que o glicerol é produzido durante a reação de transesterificação e mesmo após uma reação completa, pequenas quantidades de tri-, di- e monoacilgliceróis permanecerão no produto final. O glicerol total corresponde à soma do glicerol ligado aos acilgliceróis e o glicerol livre remanescente no produto. Limites para glicerol estão presentes nas especificações de biodiesel porque teores excessivos podem causar depósitos nos tanques e entupimentos em filtros de combustível (KNOTHE, 2006a; CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010). Além do mais, a sua combustão pode formar acroleína, originada do glicerol, que apresenta propriedades cancerígenas (CHIUNG-YU et al., 2008).

O glicerol livre apresentado na Tabela 4.7 foi cinco vezes maior que o permitido, ele representa 30% do glicerol total. A diferença entre o glicerol livre e o glicerol total, 0,26%, representa o glicerol ligado, resultado próximo ao permitido. Neste caso, o excesso de glicerol é proveniente do glicerol livre o qual é essencialmente insolúvel no biodiesel desde que não haja co-solventes como alcoóis. Neste caso, a elevada concentração de etanol ocasionou a diluição do glicerol na fase éster. Para Gerpen e Knothe (2006), a maior parte do glicerol livre e etanol remanescente podem ser removidos durante as etapas de lavagem com água quente.

Portanto, para que esses parâmetros estejam dentro dos limites determinados pela ANP, deve-se aumentar o número de lavagens para eliminar o excesso de etanol e glicerol livre, aplicar um adsorvente mais eficiente que o sulfato de sódio para a remoção da água e demais impurezas como terras clarificantes, bauxita ou bentonita (PAULA, et al., 2011) ou ainda, promover uma evaporação definitiva do etanol.

Dentre os dezoito parâmetros do biodiesel que apresentaram características adequadas para ANP, o ponto de entupimento de filtro a frio foi o de maior relevância, de -5°C, indicando que uso é perfeitamente apropriado em regiões de clima frio (ANP, 2012). Esta característica está associada à composição dos ácidos graxos de óleo de soja, em que mais de 80% são de cadeia graxa insaturada, com baixo ponto de solidificação (Tabela 3.6).

Segundo Lobo, Ferreira e Cruz (2009) o fósforo que é proveniente dos fosfolipídeos, deve ser removido do óleo antes do processo de transesterificação para evitar comprometimento dos catalisadores automotivos. Entretanto, o teor de fósforo presente na

miscela rica foi reduzido drasticamente ao longo do processo de transesterificação, chegando a menos de 1 mg P/kg no biodiesel final. Apesar dos dados serem insuficientes para explicar em que etapa do processo o fósforo foi removido, acredita-se que a remoção ocorreu devido à higroscopicidade dos fosfolipídeos (ERICKSON, 1995) durante a etapa de lavagem com água aquecida a 80°C.

A transesterificação direta de miscela rica pode ser uma alternativa promissora para localidades distantes de grandes centros abastecedores de diesel. O processo contribui para a redução de gasto de energia por poder ser realizado em uma única planta, utilizando somente etanol como solvente na extração e aceptor de acila na reação de transesterificação, reduzindo a produção de resíduo gerado em uma indústria de refino de óleo.

4.4 CONCLUSÕES

Foi possível obter um alto rendimento em ésteres etílicos, 97,2% em reação de transesterificação direta da miscela etanólica de óleo de soja com catalisador químico (NaOH), nas condições definidas por meio da aplicação da metodologia de superfície de resposta: RM 1:12, C 0,67% e T 30°C, por 60 min sob agitação constante. Para que atenda totalmente aos parâmetros estabelecidos pela ANP (2008), a etapa de purificação necessita mais estudos.

A miscela etanólica de óleo de soja mostrou-se uma alternativa tecnicamente viável para produção de ésteres etílicos por transesterificação direta com catalisador básico.

REFERÊNCIAS

AGÊNCIA NACIONAL DO PETRÓLEO, GÁS NATURAL E BIOCOMBUSTÍVEL – ANP. Disponível em: www.anp.gov.br. Acesso em: 30 jan. 2012.

ALCANTARA, R.; AMORES, J.; CANOIRA, L.; FIDALGO, E.; FRANCO, M. J.; NAVARRO, A. Catalytic production of biodiesel from soy-bean oil, used frying oil and tallow. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 18, p. 515-527, 2000.

AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY – AOCS. **Official methods and recommended practices of the American Oil Chemists' Society**. 5. ed. Champaign, 2003.

AMERICAN SOCIETY FOR TESTING AND MATERIALS - ASTM. West Conshohocken, PA, 2003.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010. 414 p.

CHIUNG-YU, P.; HSI-HSIEN, Y.; CHENG-HANG, L.; SHU-MEI, C. Effects of the biodiesel blend fuel on aldehyde emissions from diesel engine exhaust. **Atmospheric Environment**, Oxford, v. 42, p. 906–915, 2008.

CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; PINHEIRO, N. P. A indústria de produção de biodiesel no Brasil. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; SILVA, J. F. V. **Complexo agroindustrial de biodiesel no Brasil**: Competitividade das cadeias produtivas de matérias-primas. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2010.

CERNOCH, M.; HAJÉK, M.; SKOPAL, F. Study of effects of some reaction conditions on ethanolysis of rapeseed oil with dispergation. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 1213–1219, 2012.

DOMINGOS, A. K.; SAAD, E. B.; WIHELM, H. M.; RAMOS, L. P. Optimization of the ethanolysis of *Raphanus sativus* (L. Var.) crude oil the response surface methodology. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 1837-1845, 2008.

ENCINAR, J. M.; GONZÁLEZ, J. F.; RODRÍGUEZ-REINARES, A. Ethanolysis of used frying oil. Biodiesel preparation and characterization. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam, v. 88, p. 513-522, 2007.

ERICKSON, D.R. Bleaching/Adsorption Treatment. In: ERICKSON, D.R. **Practical handbook of soybean processing and utilization**. Champaign and St. Louis, AOCS, 1995. P. 203-17.

FELIZARDO, P.; CORREIA, M. J. N.; RAPOSO, I.; MENDES, J. F.; BERKEMEIER, R.; BORDADO, J. M. Production of biodiesel from waste frying oils, **Waste Management**, Amsterdam, v. 26, p. 487-494, 2006.

FREEDMAN, B.; PRYDE, E. H.; MOUNTS, T. L. Variables affecting the yields of fatty esters from transesterified vegetable oils. **Journal of American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 61, n. 10, p. 1-6, 1984.

GERPEN, J. V.; KNOTHE, G. Produção de biodiesel. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

GERPEN, J. V. Conceitos básicos sobre motores diesel e seus combustíveis. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

HARA, A.; RADIN, N. S. Lipid extraction of tissues with a low-toxicity solvent. **Analytical Biochemistry**, New York, v. 90, n. 1, p. 420-426, 1978.

HAAS, M. J.; FOGLIA, T. A. Matérias-primas alternativas e tecnologia para a produção de biodiesel. In: KNOTH, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

KHURI, A. I.; CORNELL, J. A. **Response surfaces: design and analyses**. 2. ed. New York: Marcel Dekker, 1987. 510 p.

KILDIRAN, G.; YÜCEL, S. O.; TÜRKAY, S. *In-situ* Alcoholysis of Soybean Oil. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 73, n. 2, p. 1-4, 1996.

KNOTHE, G. Analyzing biodiesel: standards and other methods. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 83, n. 10, p. 823-833, 2006a.

KNOTHE, G.. Introdução. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006b. p. 1-3.

KUCEK, K. T.; OLIVEIRA, M. A. F. C.; WILHELM, H. M.; RAMOS, L. P. Ethanolysis of refined soybean oil assisted by sodium and potassium hydroxides. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 84, n. 4, p. 385-392, 2007.

KURZIN, A. V.; EVDOKIMOV, A. N.; PAVLOVA, O. S.; ANTIPINA, V. B. Synthesis and Characterization of Biodiesel Fuel Based of Esters of Tall Oil Fatty Acids. **Russian Journal of Applied Chemistry**, New York, v. 80, n. 5, p. 842-845, 2007.

LAM, M. K.; LEE, K. T.; MOHAMED, A. R. Homogeneous, heterogeneous and enzymatic catalysis for transesterification of high free fatty acid oil (waste cooking oil) to biodiesel: A review. **Biotechnology Advances**, Oxford, v. 28, p. 500-518, 2010.

LÔBO, I.P.; FERREIRA, S.L.C.; CRUZ, R.S. Biodiesel: Parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova**, São Paulo, v. 32, n.6, p. 1596-1608, 2009.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 70, p. 1-15, 1999.

MENDOW, G.; VEIZAGA, N. S.; QUERINI, C. A. Ethyl ester production by homogeneous alkaline transesterification: Influence of the catalyst. **Bioresource Technology**, Essex, v. 102, p. 6385-6391, 2011.

MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; WOLF, C. R.; SILVA, E. C.; LIMA, G. E. S.; COIMBRA, M. A.; SILVA, L. L.; SERRA, T. M.; CAUDURO, F.; OLIVEIRA, L. G. Biodiesel from castor oil: a comparison of ethanolysis versus metanolysis. **Energy & Fuels**, Washington, DC, v. 20, p. 2262-2265, 2006a.

MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R.; WOLF, C. R.; SILVA, E. C.; LIMA, G. E. S.; COIMBRA, M. A.; SOLETTI, J. I.; CARVALHO, S. H. V. Ethanolysis of Castor and Cottonseed Oil: A Systematic Study Using Classical Catalysts. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 83, n. 9, p. 819-822, 2006b.

MONTEIRO, M. R.; AMBROZIN, A. R. P.; LIÃO, L. M.; FERREIRA, A. G. Critical review on analytical methods for biodiesel characterization. **Talanta**, London, v. 77, p. 593-605, 2008.

NIMCEVIC, D.; PUNTIGAM, R.; WÖRGETTER, M.; GAPES, J. R. Preparation of rapeseed oil esters of lower aliphatic alcohols. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 77, n. 3, p. 275-280, 2000.

PAULA, A.J.A.; KRÜGEL, M.; MIRANDA, J.P.;ROSSI, L.F.S.; COSTA NETO, P.R. Utilização de argilas para purificação de biodiesel. **Química Nova**, São Paulo, v. 34, n. 1, p. 91-95, 2011.

PINTO, A. C.; GUARIEIRO, L. L. N.; REZENDE, M. J. C.; RIBEIRO, N. M.; TORRES, E. A.; LOPES, W. A.; PEREIRA, P. A. P.; ANDRADE, J. B. Biodiesel: An overview. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 16, p. 1313-1330, 2005.

QIAN, J.; SHI, H.; YUN, Z. Preparation of biodiesel from *Jatropha curcas* L. oil produced by two-phase solvent extraction. **Bioresource Technology**, Essex, v. 101, p. 7025–7031, 2010.

RASHID, U.; ANWAR, F.; ANSARI, T. M.; MOSER, B. R.; ASHRA, S. Production of sunflower oil methyl esters by optimized alkali-catalyzed methanolysis. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 32, p. 1202-1205, 2008.

RASHID, U.; ANWAR, F.; ANSARI, T. M.; ARIF, M.; AHMAD, M. Optimization of alkaline transesterification of rice bran oil for biodiesel production using response surfacemethodology. **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**, Oxford, v. 84, p. 1364-1370, 2009.

RASHID, U.; ANWAR, F. Production of biodiesel through optimized alkaline-catalyzed transesterification of rapeseed oil. **Fuel**, Guildford, v. 87, p. 265–273, 2008.

REGITANO-D`ARCE, M. A. B. Extração e refino de óleos vegetais. In: OETTERER, M.; REGITANO-D`ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006. cap. 7, p. 300-351.

SANTOS, N. A.; LIMA, A. E. A.; CONCEIÇÃO, M. M.; SANTOS, I. M.; SOUZA, A. G. **Estudo térmico do biodiesel babaçu e avaliação dos parâmetros físico-químicos do biodiesel e misturas**. Curitiba: Biosieselbr, 2007. Disponível em: www.biodieselbr.com.br. Acesso em: 16 set. 2007.

SHI, H.; BAO, Z. Direct preparation of biodiesel from rapeseed oil leached by two-phase solvent extraction. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 9025–9028, 2008.

SCHUCHARDT, U.; SERCHELIA, R.; VARGAS, M. V. Transesterification of vegetable oils: a review. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, São Paulo, v. 9, n. 1, p.199-210, 1998.

SINGH, S. P.; SINGH, D. Biodiesel production through the use of different sources and characterization of oils and their esters as the substitute of diesel: A review. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**, London, v. 14, p. 200-216, 2010.

STAT SOFT INC. **Statistica**. Data analysis software system. Version 7. 2004. Disponível em: <<http://www.statsoft.com>>.

TIWARI, A. K.; KUMAR, A.; RAHEMAN, H. Biodiesel production from jatropha oil (*Jatropha curcas*) with high free fatty acids: An optimized process. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 31, p. 569-575, 2007.

VASUDEVAN, P. T.; BRIGGS, M. Biodiesel production—current state of the art and challenges. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology**, Hampshire, v. 35, p. 421-430, 2008.

VICENTE, G.; MARTÍNEZ, M.; ARACIL, J. Integrated biodiesel production: a comparison of different homogeneous catalysts systems. **Bioresource Technology**, Essex, v. 92, p. 297–305, 2004.

5. TRANSESTERIFICAÇÃO ENZIMÁTICA DE MISCELA ETANÓLICA RICA DE ÓLEO DE SOJA

RESUMO

A miscela rica proveniente da extração de óleo de soja com etanol pode ser matéria-prima promissora por dispensar o processo de refino, reduzindo o custo da produção de biodiesel. Ela apresenta em sua composição 90% de óleo de soja, até 7,6% de etanol (razão molar de 1:1,65 óleo:etanol), 0,31% de água, 0,5% de ácidos graxos livres e 0,57% de fosfolipídeos. Essas características permitem transesterificação direta, sem necessidade de degomagem e neutralização. Enzimas imobilizadas vêm sendo cada vez mais utilizadas como catalisadores na produção de biodiesel por não gerar resíduos, pela facilidade de separação do glicerol e pela possibilidade de reutilização da enzima. A Novozym[®]435, uma lipase imobilizada de *Candida antarctica B*, é amplamente utilizada em reações de transesterificação de ésteres alquílicos por apresentar especificidade e robustez. O objetivo desse trabalho foi investigar a produção de biodiesel a partir da transesterificação direta da miscela rica em óleo utilizando o catalisador enzimático Novozym[®]435 e etanol como aceptor de acila, procurando-se chegar à otimização do processo com a possibilidade de reuso das enzimas. Foi avaliado a importância da adição gradativa do etanol e o efeito do tempo de reação. As condições experimentais para maior rendimento de ésteres etílicos (REE %) foram determinadas pelo método de análise de superfície de resposta, em que a temperatura (T_e), a concentração do catalisador (C_e) e a razão molar de etanol-óleo (RM_e) foram as variáveis exploratórias. A reutilização das lipases imobilizadas foi testada com sucessivas lavagens de miscela rica e solventes (etanol 96%, isopropanol e terc-butanol) em temperatura ambiente. Ensaio utilizando os co-solventes isopropanol e terc-butanol em concentrações de 0,5 a 100% de solvente foram realizados para prolongar a estabilidade da enzima. A miscela rica foi diretamente transesterificada sem adição gradativa de etanol. As melhores condições experimentais indicadas pelo modelo matemático ajustado foram: T_e 40°C, RM_e 1:4,5 e C_e 9,5% por 24 horas, o que promoveu REE de 85,4%. A lipase Novozym[®]435 não foi recuperada com sucessivas lavagens dos solventes. O terc-butanol como co-solvente aumentou o rendimento de ésteres etílicos de 85% para 94%. Entretanto, não manteve a atividade da enzima por mais que três ciclos. Os fosfolipídeos contribuíram para a rápida desativação da Novozym[®]435. A miscela rica tem grande potencial como matéria-prima de baixo custo na produção de biodiesel com catalisador Novozym[®]435.

Palavras-chave: Ésteres etílicos de ácidos graxos. Biodiesel. Novozym[®]435. Lipase. *Candida antarctica B*.

ABSTRACT

The production of biodiesel is not economically competitive with petroleum diesel due to the high cost of feedstock. The rich miscellae from the extraction of soybean oil with ethanol may be a promising raw material, 90% soybean oil, up to 7.6% ethanol (molar ratio of 1:1,65 oil: ethanol), 0.31% water, 0.5% of free fatty acids and 0.57% phospholipids. These characteristics allow direct transesterification, with no need for degumming and neutralization steps. Immobilized enzymes have been increasingly used as catalysts in the production of biodiesel as they do not produce waste, they are easy to separate from glycerol and they are reusable. Novozym[®]435, an immobilized lipase from *Candida Antarctica B*, is widely used in transesterification of alkyl esters due to its high specificity and robustness. The aim of this study was to investigate the production of biodiesel from oil-rich miscellae direct transesterification with Novozym[®]435 and ethanol as acyl acceptor. The experimental conditions for the highest yield of ethyl esters (REE%) were determined by the response surface methodology (RSM), in which the temperature (T_e), the catalyst concentration (C_e) and the molar ratio of ethanol-oil (RM_e) were the explanatory variables. The reuse of immobilized lipases was tested by successive washes of the rich miscellae and solvents (96% ethanol, isopropanol and tert-butanol) at room temperature. Trials using the co-solvent isopropanol and tert-butanol at concentrations from 0.5 to 100% of solvent were conducted in order to keep enzyme active. The rich miscellae was directly transesterified without gradual ethanol addition. Optimum conditions were indicated by the adjusted mathematical model: T_e 40°C, RM_e 1:4.5 and C_e 9.5% for 24 hours, which promoted 85.4% EER. The lipase Novozym[®]435 was not recovered with successive washes of the solvents. The tert-butanol as a co-solvent increased the yield of ethyl esters from 85% to 94%. However it did not keep the enzyme activity for more than three cycles. Phospholipids contributed to the rapid deactivation of Novozym[®]435. The rich miscellae has great potential as a low cost feedstock for biodiesel production with catalyst Novozym[®]435.

Keywords: Fatty acid ethyl esters. Biodiesel. Novozym[®]435. Lipase. *Candida antarctica B*

5.1 INTRODUÇÃO

O biodiesel, além de reduzir os gases do efeito estufa é biodegradável e de fonte renovável (KNOTHE et al., 2006). É obtido a partir da reação de transesterificação, reação entre uma molécula de triglicerídio, com três moléculas de álcool de cadeia simples (metanol ou etanol) na presença de um catalisador, resultando em três moléculas de alquil éster e uma molécula de glicerol (BALAT, 2007). Numerosas são as matérias-primas para a produção de biodiesel tais como soja, canola, amendoim, coco, palma, arroz, dentre outras fontes de origem vegetal, além de gordura de origem animal (BILICH; DA SILVA, 2007; HAAS; FOGLIA, 2006). Entretanto, a produção de biodiesel não é economicamente competitiva com a do diesel por utilizar preferencialmente óleos comestíveis que passam por processo de refino, encarecendo o produto (MA; HANNA, 1999). A utilização de óleos residuais de cozinha (SHIMADA et al., 2002; HALIM; KAMARUDDIN, 2008; AZÓCAR et al., 2010), microalgas (MIAO; WU, 2006), óleos não comestíveis como semente de mamão (*Carica papaya*) e rambutam (*Nephelium lappaceum*) (WINAYANUWATTIKUN et al., 2008), planta stillingia (LI; ZENGH; YAN, 2010), *Jatropha curcas* (SU et al., 2011) e castanha-da-índia (*Sterculia foetida*) (BINDHU et al., 2011) vem sendo investigadas para minimizar este custo.

A miscela rica proveniente da extração de óleo com etanol apresenta em sua composição 90% de lipídeos e até 7,6% de etanol (RM 1:1,65 óleo:etanol). O etanol presente pode ser utilizado como aceptor de acila durante a produção de biodiesel. A transesterificação direta da miscela rica em óleo de soja pode ser uma alternativa promissora, pois elimina a necessidade de refino reduzindo o custo da matéria-prima.

Watanabe et al. (2002) realizaram ensaios misturando óleo bruto de soja com óleo de soja refinado e observaram a redução de ésteres metílicos à medida que a concentração de fosfolipídeos aumentava na reação metanólica. Entretanto, os fosfolipídeos são agentes emulsificantes (GERPEN; KNOTHE, 2006) e podem favorecer a formação de emulsão entre a miscela rica e o etanol, atuando de forma positiva na redução das gotículas de etanol, reduzindo o contato direto do solvente na enzima.

A utilização de catalisadores enzimáticos envolvendo lipases podem ser uma excelente alternativa na reação de transesterificação ou interesterificação, pois trata de um processo limpo, o que significa impactos ambientais menores. Lipases imobilizadas evitam a geração de resíduos líquidos, o glicerol pode ser separado com facilidade e o catalisador pode ser reutilizado (FUKADA et al., 2001; AKOH et al., 2007).

A Novozym[®]435 é o nome comercial da lipase B da *Candida antarctica*, imobilizada em resina de acrílico (polimetilmetacrilato) (JOSÉ et al., 2011). É a lipase mais investigada como catalisador enzimático por sua robustez e, especificidade (HERNANDEZ-MARTÍN; OTERO, 2008; ANTCZAK et al., 2009) e excelente conversão de ésteres, chegando a 100% de rendimento na produção de biodiesel (SAMUKAWA et al., 2000; WATANABE et al., 2002; SHIMADA et al., 2002; LI et al., 2006; ROYON et al., 2007; HALIM; KAMARUDDIN, 2008; OGNJANOVIC; BREZBADICA; KVZEVIC-JUGOVIC, 2009; AZÓCAR et al., 2010; JOSÉ et al., 2011).

A variação de rendimento de ésteres alquílicos está relacionada com a matéria-prima e condições reacionais como tempo, agitação (ANTCZAK et al., 2009), razão molar (óleo:etanol), concentração de catalisador enzimático e temperatura. O tempo de reação para obter alto rendimento varia com a concentração da lipase Novozym[®]435 e com o equivalente molar do aceptor de acila. Watanabe et al. (1999) e Ognjanovic et al. (2008) obtiveram conversão em ésteres metílicos de 96 e 99%, respectivamente, após 50 horas com 3% da Novozym[®]435 e equivalente molar 1:3 (óleo:metanol). Azócar et al. (2010) conseguiram até 100% em ésteres metílicos após 12 horas de reação, 15% de lipase imobilizada e 1:3,8 óleo:metanol. Hernández-Matín e Otero (2008) atingiram 85% em ésteres etílicos após 7 horas de reação com 50% de enzimas e equivalente de 1:4,5 de óleo:etanol. Su et al. (2011) com 13,7% de Novozym[®]435, equivalente molar 1:3,75 (óleo:aceptor de acila) em 13,3 horas.

O metanol e etanol por serem compostos alifáticos de cadeia curta são fortes agentes desnaturantes de enzimas. Estes alcoóis em excesso na reação podem provocar a completa inativação da enzima (ANTCZAK et al., 2009). A adição gradativa de metanol (SAMUKAWA et al., 2000; SHIMADA et al., 2002; DU et al., 2005; AZÓCAR et al., 2010) e etanol (WATANABE et al., 1999) demonstram aumento de rendimento dos ésteres de alquila e a preservação da lipase Novozym[®]435 durante a reação de transesterificação. A lipase imobilizada é frequentemente desativada por alcoóis de cadeia curta devido à imiscibilidade entre os triglicerídeos e o etanol ou metanol. Quando estes álcoois são adsorvidos pela enzima imobilizada, a entrada dos triglicerídeos é bloqueada parando a reação (CHEN; WU, 2003). Entretanto, a agitação constante pode reduzir as gotículas de álcool ou, ainda, sua completa dissolução, reduzindo o seu contato com as enzimas. Desta forma, as enzimas ficam protegidas da inativação e a transesterificação em uma única etapa fica garantida (ANTCZAK et al., 2009).

A preservação da enzima e sua reutilização são de grande importância devido ao seu alto custo na produção de biodiesel. A lavagem com solventes como acetona (SOUMANOU; BORNSCHEUER, 2003), ter-butanol (CHEN; WU, 2003) e n-hexano (RODRIGUES et al., 2008) foram aplicadas com êxito na recuperação da atividade de lipases imobilizadas na remoção de impurezas.

O uso de solvente orgânico no substrato (óleo:álcool) consiste em mútua solubilidade do substrato e aumento na estabilidade da enzima (ANTCZAK et al., 2009). A presença de substâncias hidrofílicas e hidrofóbicas no substrato pode melhorar o desempenho da enzima (CARREA; OTTOLINA; RIVA, 1995) por eliminar efeitos negativos causados pela insolubilidade e adsorção do metanol e glicerol no suporte durante a reação de transesterificação (SU; WEI, 2008). Desta forma, o solvente pode eliminar a necessidade do uso gradativo do álcool (SU; WEI, 2008; ANTCZAK et al., 2009). A hidrofobicidade do solvente é expressa como $\log P$ (P é o coeficiente de partição entre 1 octanol-água) (CARREA; OTTOLINA; RIVA, 1995), o qual tende a ser maior para compostos com estruturas apolares extensas e menor ou negativo para compostos altamente polares (LIDE, 2005). Liu et al. (2010) verificaram que a atividade enzimática da lipase imobilizada de *Pseudomonas cepae* tratada com solvente orgânico não dependeu apenas da hidrofobicidade, mas também do grupo funcional. Estruturas ramificadas são mais favoráveis à estabilidade da atividade enzimática do que estruturas lineares, e estão relacionadas com a conformidade da enzima. O terc-butanol destaca-se entre os solventes pela eficiência na estabilização de lipases em reações de transesterificação e esterificação (DAMSTRUP et al., 2005; LI et al., 2006; ROYON et al., 2007; HALIM; KAMARUDDIN, 2008; DUAN; DU; LIU, 2010; LI; ZHENG; YAN, 2010; AZÓCAR et al., 2011).

O objetivo desse trabalho foi utilizar a miscela rica em óleo como matéria-prima alternativa na produção de biodiesel por transesterificação enzimática. O método de análise de superfície de resposta foi aplicado para encontrar as melhores condições experimentais do processo, visando o maior rendimento em ésteres etílicos. O tempo, razão molar óleo:etanol, concentração de lipase e temperatura foram as variáveis explanatórias. Ensaio de reutilização da enzima Novozym[®]435 foram realizados com sucessivas lavagens com miscela rica, isopropanol, terc-butanol e etanol 96%. O terc-butanol e isopropanol foram utilizados para prolongar a estabilidade da enzima em sucessivas reações de uso.

5.2 MATERIAL E MÉTODOS

As mistelas etanólicas de óleo de soja foram produzidas na ESALQ/USP. As etapas de estudo da reação de transesterificação enzimática, reutilização e purificação das enzimas foram desenvolvidas no Núcleo Científico e Tecnológico de Biorecursos (BIOREN) localizado na Universidad de La Frontera, Temuco, Chile.

5.2.1 Material

A mistela rica (óleo:etanol) em óleo de soja foi a matéria-prima utilizada para produção de biodiesel com lipases imobilizadas. A mistela rica foi obtida através da extração de óleo por imersão de soja laminada em etanol, como descrito no Capítulo 3. A caracterização da mistela rica em óleo foi determinada através dos métodos descritos no item 4.2.1 do Capítulo 4. A mistela rica apresentou 90% (m/m) de lipídeos, 0,31% de água, 0,5% de ácidos graxos livres, 189,9 mg/kg de fósforo e 7,6% (m/m) de etanol.

O catalisador foi a Novozym[®]435 (lipase de *Candida antártica B* imobilizada em resina macroporosa) fornecida pela Novozyme S/A (Bagsvaerd, Denmark). O heptadecanoato de metila utilizado como padrão interno em cromatografia foi da Sigma-Aldrich. O etanol, isopropanol e terc-butanol foram de grau analítico. O papel de filtro foi Whatman n^o1.

5.2.2 Imagens da mistela rica em microscópio

A mistela rica foi analisada em microscópio óptico marca Olympus, modelo CX31. Gotas de mistela rica, incubadas por 30 minutos sob agitação (200 oscilações/minutos) nas temperaturas de 20° e 40°C, foram colocadas em uma lâmina de vidro e, imediatamente, as imagens foram registradas com ampliação de 4X.

5.2.3 Reação de transesterificação com enzima Novozym[®]435

O estudo das melhores condições experimentais foi realizado em de três etapas: (1) etanolise, (2) estudo do tempo de reação (3) ensaios determinando as melhores condições para alcançar rendimento máximo em ésteres etílicos. Foi aplicado um planejamento experimental

fatorial e análise de superfícies de respostas com três variáveis exploratórias (temperatura, razão molar óleo:etanol e concentração da lipase imobilizada).

Todos os ensaios foram realizados em frascos de 4 mL contendo 1,12 g de miscela rica (equivalente a 1 g de óleo de soja), incubados em câmara sob agitação orbital de 200 oscilações/min e temperatura controlada.

5.2.3.1 Etanolise

Ensaio foram realizados, para avaliar a necessidade de adicionar o etanol gradativamente na reação de transesterificação em miscela rica de óleo de soja. A reação foi realizada nas condições apresentadas no ponto central do delineamento experimental apresentada na Tabela 5.1 (RM_e 1:4,5; T_e 40°C; C_e 9,5%) pelo período de 35 horas, sob agitação constante de 200 oscilações/min.

Três ensaios foram realizados baseados nos métodos descritos por Watanabe et al. (1999) e Shimada et al. (2002) com modificações: a) adição de etanol em uma única etapa, com adição de 4,5 equivalentes molares de etanol no início da reação; b) duas etapas, com adição de 1/3 de equivalente molar de etanol no início da reação e, após 3 horas, os 2/3 de equivalente molar de etanol restantes; c) três etapas, adição de 1/3 de equivalente molar de etanol no início da reação, 1/3 após 3 horas e 1/3 equivalente molar de etanol restante após 6 horas.

Foram retiradas alíquotas nos tempos de 2, 3, 4, 6, 8, 12, 16, 18, 22, 24, 28 e 35 horas e armazenadas imediatamente a 4°C para posterior quantificação dos ésteres etílicos. Os dados foram ajustados no modelo cinético de primeira ordem em que a velocidade da reação foi determinada pela formação do produto (rendimento de ésteres etílicos) em função do tempo (h). Todos os ensaios foram realizados em triplicata.

5.2.3.2 Tempo de reação

O melhor tempo de reação foi determinado depois de definida a forma de adição de etanol na reação (item 5.2.3.1). Os ensaios foram realizados retirando amostras a cada 2 horas, até completar 48 horas nas mesmas condições experimentais do ponto central (RM_e 1:4,5; T_e 40°C; C_e 9,5%). O tempo de reação foi selecionado pela equação cinética de primeira ordem.

Todos os ensaios foram realizados em triplicata. Apenas aqueles ensaios cujo coeficiente de variação foi menor que 10% foram considerados nas análises seguintes.

5.2.3.3 Desenho experimental e análise estatística

Após a determinação das doses de etanol adicionado na reação e do tempo de conversão do rendimento de ésteres etílicos, ensaios foram realizados seguindo um planejamento experimental fatorial 2^3 . Os níveis e as variáveis em estudo estão apresentados na Tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Faixas de estudo das variáveis explanatórias na transesterificação enzimática da miscela rica

Variáveis Independentes	Símbolos	Níveis				
		-1,68	-1	0	+1	+1,68
Razão molar (Óleo:etanol mol/mol)	RM _e	1: 3	1: 3,6	1: 4,5	1: 5,4	1: 6
Temperatura (°C)	T _e	30	34	40	46	50
Catalisador - Novozym [®] 435 (% m/m)*	C _e	4	6,4	9,5	12,8	15

*em relação à massa de óleo na miscela

Adotou-se a análise de regressão múltipla e o método de superfície de resposta para determinar as condições ideais para maior rendimento na produção de ésteres etílicos a partir de miscela rica. A análise contou com dezoito valores distribuídos em oito pontos para cada ápice do cubo, quatro pontos no centro e seis pontos nas axiais do cubo. Cada ensaio foi conduzido em duplicata.

Os ensaios foram efetuados em ordem aleatória, segundo o procedimento descrito por Barros Neto et al. (2010). Os dados obtidos foram ajustados em uma equação polinomial de segunda ordem (eq. (5.1)). Esta equação descreve a relação entre a variável resposta (rendimento de ésteres etílicos) com as variáveis independentes (RM_e, T_e, C_e).

$$Y = \beta_0 + \sum_{i=1}^3 \beta_i X_i + \sum_{i=1}^3 \beta_{ii} X_i^2 + \sum_{i=1}^2 \sum_{j=i+1}^3 \beta_{ij} X_i X_j \quad (5.1)$$

em que:

Y = Rendimento em ésteres etílicos (%) – (REE)

β_0 = coeficiente de regressão do termo intercepto

β_i = coeficiente de regressão do termo linear

β_{ii} = coeficiente de regressão do termo quadrático

β_{ij} = coeficiente de regressão do termo de interação

X_i e X_j = variáveis independentes codificadas

O modelo estatístico usado para descrever as respostas do planejamento fatorial foi formulado a partir dos termos de cada efeito e avaliado com base no coeficiente de determinação (R^2) e no teste F (BARROS NETO et al., 2010). O coeficiente de determinação é uma medida da proporção da variação total da resposta explicada pelo modelo. O teste F, que testa a significância da regressão e da falta de ajuste do modelo, foi realizado por meio da análise de variância com auxílio do aplicativo “Statistica 7” com nível de confiança de 95%. Somente os termos significativos ($p \leq 0,05$) foram considerados na equação. As superfícies de resposta e gráficos de contorno foram obtidos por meio do modelo quadrático ajustado.

5.2.4 Análise dos ésteres etílicos

O rendimento dos ésteres etílicos foi determinado por cromatografia gasosa e espectrometria de massa de acordo com o método descrito pelo *Comité Européen de Normalisation* (EN14103).

5.2.5 Reutilização das enzimas imobilizadas

Os ensaios foram realizados em triplicata a partir da determinação das melhores condições de reação indicada pela análise de superfície de resposta. A cada 24 horas de reação as enzimas foram filtradas em papel filtro Whatman nº 1 e colocadas novamente para reagir, isto foi repetido até que a conversão estagnou. A fase éster foi coletada para determinar o rendimento em éster etílico (%) o qual foi o parâmetro para avaliar os ciclos de reutilização (24 horas). O teste de Tukey foi aplicado para determinar a diferença entre médias de rendimento em ésteres etílicos (%) para cada ciclo de utilização da enzima ao nível de 5% de significância através do *software* Statistica versão 7.0 (2004). Apenas aqueles ensaios cujo coeficiente de variação foi menor que 10% foram considerados nas análises seguintes.

5.2.6 Recuperação das enzimas imobilizadas

A recuperação de enzimas foi testada de acordo com o método descrito por Chen e Wu (2003) e Ognjanovic, Bezbradica e Knezevic-Jugovic (2009) à temperatura ambiente. Os ensaios foram realizados em triplicata a partir da determinação das melhores condições de reação apontada pela análise dos gráficos de superfície de resposta.

A miscela rica, isopropanol, terc-butanol e etanol 96% foram os solventes testados para remoção das impurezas no interior do suporte após a reação de transesterificação. Os ensaios foram: a) controle: sem tratamento de lavagem; b) lavagem com miscela rica: as enzimas foram filtradas e lavadas por três vezes com 1 mL de miscela rica; c) lavagem com isopropanol: as enzimas foram filtradas e lavadas por três vezes com 1 mL de isopropanol, seguido de três lavagens com 1 mL de miscela rica; d) lavagem com terc-butanol: as enzimas foram filtradas e lavadas por três vezes com 1 mL de terc-butanol, seguido de três lavagens com 1 mL de miscela rica; e) lavagem com etanol 96%: as enzimas foram filtradas e lavadas por três vezes com 1 mL de etanol 96%, seguido de três lavagens com 1 mL de miscela rica. Em seguida, as enzimas foram colocadas para reagir por mais 24 horas. Este procedimento foi mantido até estabilização na conversão dos ésteres etílicos.

Os dados experimentais foram analisados seguindo o modelo cinético de primeira ordem. Todos os ensaios foram realizados pelo menos em triplicata. Apenas os ensaios cujo coeficiente de variação foi menor que 10% foram considerados nas análises seguintes.

A superfície e a morfologia das microesferas da Novozym[®]435 antes e depois do contato com solvente foram examinadas através da análise de microscopia eletrônica de varredura (*scanning electron microscopy analysis* - SEM) usando o equipamento JEOL JSM6380LV.

5.2.7 Transesterificação enzimática com co-solvente

A reação de transesterificação direta de miscela rica com lipase Novozym[®]435 na presença de diferentes solventes (isopropanol e terc-butanol) foi testada. As condições de reação foram as determinadas pela análise de superfície de resposta (v. acima).

A quantidade de solvente adicionado na reação foi determinada baseando-se no método descrito por Li et al. (2006). Os ensaios foram realizados em frascos individuais

adicionando concentrações de 0,5, 0,75, 1, 2,5, 5, 10 e 100% de isopropanol em relação à massa de óleo de soja. Da mesma forma procedeu-se com o terc-butanol nas concentrações de 0,5, 0,75, 1, 2,5, 5, 10, 12,5, 15 e 100% em relação à massa de óleo de soja. Todos os ensaios foram realizados em triplicata. O teste de Tukey foi aplicado para avaliar a diferença entre as médias com nível de significância de 5% na conversão em ésteres etílicos (STATISTICA 7.0, 2004). Apenas aqueles ensaios cujo coeficiente de variação foi menor que 10% foram considerados nas análises seguintes.

Após a escolha do solvente e sua dose ótima, ensaios foram realizados para determinar a estabilidade da lipase Novozym[®]435. As enzimas, após cada ciclo de 24 horas, foram filtradas e retornaram imediatamente para uma nova reação. Os ensaios foram repetidos até que houvesse clara estabilidade na curva de conversão. As médias apresentadas foram as com coeficiente de variação menor que 10%.

5.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.3.1 Etanolise em etapas

A toxicidade do etanol e metanol às enzimas associada à redução do rendimento em ésteres na reação de transesterificação enzimática foi demonstrada em muitos estudos (WATANABE et al., 1999; SHIMADA et al., 2002; SOUMANOU; BORNSCHEUER, 2003; ROYON et al., 2007; RODRIGUES et al., 2010). Isto se deve principalmente à insolubilidade do metanol e etanol em óleo. A elevação da temperatura de reação reduz essa dificuldade.

As fotos através de microscópio óptico ilustram a dispersão entre o etanol e o óleo contido na miscela rica nas temperaturas de 20° e 40°C. Em temperatura de 20°C sob agitação, o etanol manteve-se em pequenas gotículas disperso no óleo (Figura 5.1 (a)), já a 40°C ele foi completamente dissolvido (Figura 5.1 (b)).

Essas imagens demonstram que a miscela rica em óleo aquecida a temperatura de 40°C, forma uma solução homogênea, e com isso o contato direto do etanol com a lipase é reduzido consideravelmente, facilitando a adição do etanol em uma única etapa.

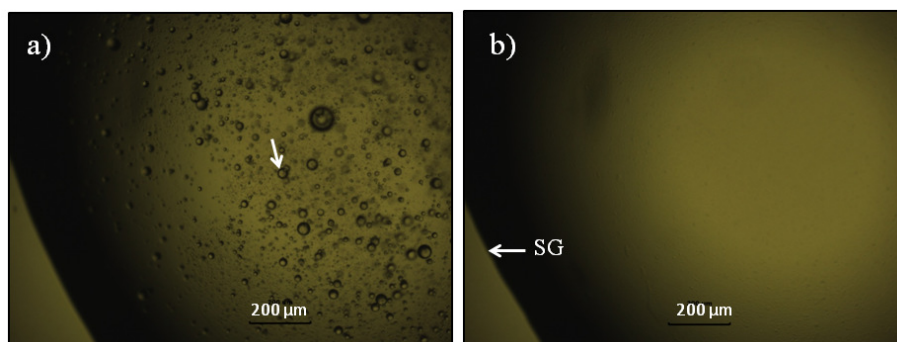


Figura 5.1 – Imagens de miscela rica em microscópio óptico (ampliação 4x) (a) Temperatura de 20°C. A seta mostra gotículas de etanol dispersas. (b) Temperatura de 40°C. A seta e SG indica a superfície da gota. Condições experimentais: RM 1:1,65 (óleo:etanol) sob agitação de 200 oscilações/min por 30 min

Por isso, ensaios foram realizados para avaliar a influência da adição do etanol gradativamente na reação de transesterificação em miscela rica de óleo de soja (Tabela 5.2).

A conversão no ensaio de três etapas apresentou-se mais lenta que os demais ensaios. Isto pode estar relacionado com a falta de substrato (etanol) na reação, o que é evidenciado no ensaio em duas etapas em que REE apresentou aumento de três vezes entre o tempo de duas e seis horas após adição de 2/3 de etanol (Tabela 5.2). Além disso, o excesso de etanol sob agitação constante pode ter atuado como diluente evitando a fixação do glicerol no suporte da lipase durante os ensaios de única e duas etapas (STEVENSON; STANLEY; FUNEAUX, 1994; WATANABE et al., 2000).

Tabela 5.2 – Rendimento de ésteres etílicos (REE %) sem e com adição gradativa de etanol no período de 35 horas

Tempo de reação	Única etapa*	Duas etapas**	Três etapas***
2	18,3 ± 0,2	8,5 ± 0,3	6,5 ± 0,5
3	19,5 ± 6,1	15,4 ± 2,2	9,14 ± 0,6
6	53,2 ± 0,3	28,5 ± 0,4	31,8 ± 3,5
8	60,5 ± 1,4	44,9 ± 1,9	43,4 ± 1,1
12	70,5 ± 2,9	53,9 ± 3,3	57,8 ± 1,7
24	84,1 ± 15	80,2 ± 2,0	85,0 ± 0,0
28	89,2 ± 2,1	91,8 ± 0,4	84,4 ± 2,8
35	90,0 ± 1,1	87,7 ± 2,8	80,0 ± 0,2

*: Todo etanol adicionado ao início da reação

** : Adição de 2/3 de etanol após 3 horas do início da reação.

*** : Adição de 1/3 de etanol após 3 horas e 1/3 após 6 horas do início da reação.

Os fosfolipídeos presentes na miscela rica, por serem agentes emulsificantes (GERPEN; KNOTHE, 2006), também podem ter ajudado a promover a dispersão do etanol na reação, o que diminuiu a superfície de contato entre enzimas e etanol, e facilitou a transesterificação em única etapa.

Ademais, a lipase imobilizada Novozym[®]435 é considerada mais robusta que outras lipases por apresentar maior resistência aos álcoois de cadeia curta, especialmente ao etanol (HERNANDEZ-MARTÍN; OTERO, 2008).

O mecanismo da reação de transesterificação por lipases foi melhor descrito pelo modelo cinético Ping Pong Bi Bi, em que dois reagentes distintos (triacilgliceról e álcool) geram compostos intermediários (di- e monoacilgliceróis) e dois produtos (ésteres alquílicos e glicerol) (XU; DU; LIU, 2005; AL-ZUHAIR; LING; JU, 2007; PESSOA; MAGALHÃES; FALCÃO, 2010). A reação é reversível, e com isso excesso de álcool é requerido para mover o equilíbrio da formação do produto (NARANJO et al., 2010).

Ao ignorar a formação dos di- e monoacilgliceróis a reação pode ser vista de forma simplificada, em que:

1 molécula de triacilglicerol (TAG) + 3 moléculas de etanol \leftrightarrow 3 moléculas de ésteres etílicos + 1 glicerol.

Assim, esta reação pode ser assumida como de primeira ordem como uma função da conversão dos TAG em ésteres etílicos e a adição de etanol gradativamente em determinado tempo de reação.

Após 24 horas de reação a conversão de ésteres tendeu à estagnação. Com isso, a correlação entre o rendimento de ésteres etílicos e o tempo para todos os ensaios foi representada pela equação exponencial que obedece à reação de primeira ordem $y = a(1 - e^{-kt})$, em que: y = rendimento de éster etílico (%), t = tempo de reação (h), a é a concentração inicial dos triacilgliceróis e k a constante de velocidade que representa a função da condição experimental em hora. O ajuste dos dados experimentais permitiu estimar os valores do coeficiente e da constante (Tabela 5.3). O coeficiente de determinação (R^2) garantiu o bom ajuste dos dados experimentais ao modelo cinético de primeira ordem, o que permitiu avaliar os diferentes ensaios.

A adição em única etapa atinge, no limite da função, um rendimento máximo menor que nos ensaios de adição gradual. Todavia, a regressão dos dados experimentais previu que o ensaio de única etapa apresentou valor próximo ao assintótico ($y_{99\%}$) da função em tempo reduzido, duas vezes menor que os demais ensaios (Tabela 5.3). A constante de velocidade (k)

foi duas vezes maior no ensaio de única etapa, demonstrando que a conversão de ésteres etílicos foi acelerada pela maior quantidade de etanol na reação. O tempo de reação é um dos principais fatores considerados para a adoção do processo em escala industrial, portanto o tempo de 67 ou 72 horas de reação para obter rendimentos de ésteres próximos a 100% pode ser inviável economicamente.

Tabela 5.3 – Parâmetros a e k e o efeito calculado para os três ensaios sobre 99% do valor de y no limite da função ($t \rightarrow \infty$)

Ensaio	Dados modelados					Dados experimentais	
	a	k	R^2	$t_{99\%}$	$y_{99\%}$	t_{exp}	y_{exp}
Única etapa	86,2937	0,1416	0,988	33	85,5	35	90,0
Duas etapas	101,8639	0,0643	0,987	72	$\approx 100,0$	35	87,7
Três etapas	96,8752	0,0694	0,980	67	96,0	35	80,0

t_{exp} : tempo experimental (h);

y_{exp} : rendimento de ésteres etílicos (%) experimental;

$t_{99\%}$: tempo predito (h) pela equação sobre 99% do valor de y no limite da função ($t \rightarrow \infty$);

$y_{99\%}$: rendimento de ésteres etílicos calculado sobre 99% do valor de y no limite da função ($t \rightarrow \infty$) pela equação $y = a(1 - e^{-kt})$.

A Figura 5.2 ilustra as funções modeladas e os dados experimentais para os diferentes ensaios em única etapa, duas etapas e três etapas.

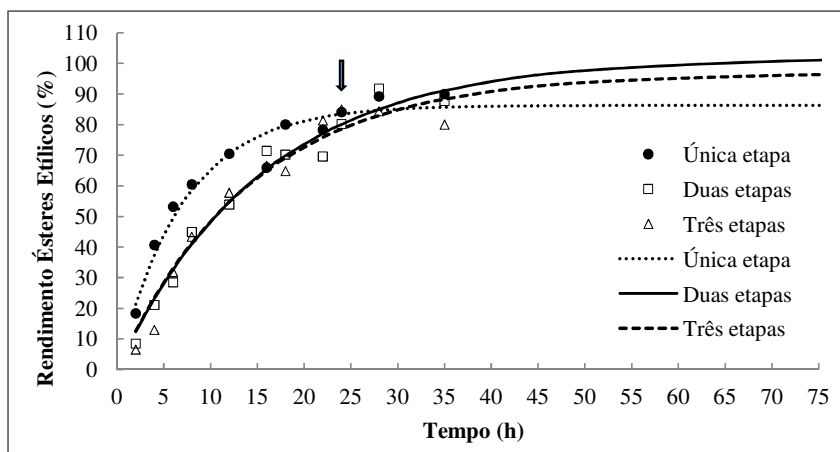


Figura 5.2 – Conversão em éster etílico sem e com adição gradativa de etanol. A seta indica o tempo de 35 horas. (Condições experimentais: T_e 40°C, RM_e 1:4,5 e C_e 9,5%, sob agitação de 200 oscilações/min por 35 horas)

Os dados experimentais demonstraram que o ensaio em única etapa obteve maior rendimento (90%) em 35 horas e, de acordo com os dados modelados, houve estagnação da reação a partir deste tempo (Figura 5.2). Desta forma, a adição em única etapa apresentou

melhor perfil industrial na produção de ésteres etílicos em menor tempo por transesterificação enzimática com miscela rica.

Assim, considerando a emulsificação da miscela com etanol, a robustez da Novozym[®] 435 e avaliando os dados experimentais e modelados, os ensaios posteriores foram seguidos adicionando o etanol em uma única etapa.

5.3.2 Tempo de reação ótima

O tempo de reação varia de acordo com a matéria-prima, temperatura de reação, razão molar do óleo:álcool e principalmente concentração de catalisador. Pesquisadores têm demonstrado que a relação tempo e catalisador é inversamente proporcional, em que aumentando a concentração de enzima reduz-se o tempo de conversão máxima (WATANABE et al., 1999; OGNJANOVIC et al., 2008; AZÓCAR et al., 2010; SU et al., 2011).

A conversão de triacilgliceróis em ésteres etílicos na transesterificação de miscela rica foi acompanhada de tempo por um período de 48 horas. A equação cinética de primeira ordem foi aplicada para demonstrar o período necessário para a estagnação da formação de produto. A equação utilizada foi $y = a(1 - e^{-kt})$, em que: y = representa o rendimento de éster etílico (%), t = tempo de reação (h), a é a concentração inicial dos triacilgliceróis e k a constante de velocidade que respresenta a função da condição experimental em hora. Os valores dos parâmetros foram: $a = 84,4568$, $k = 0,1138$ e $R^2 = 0,99$.

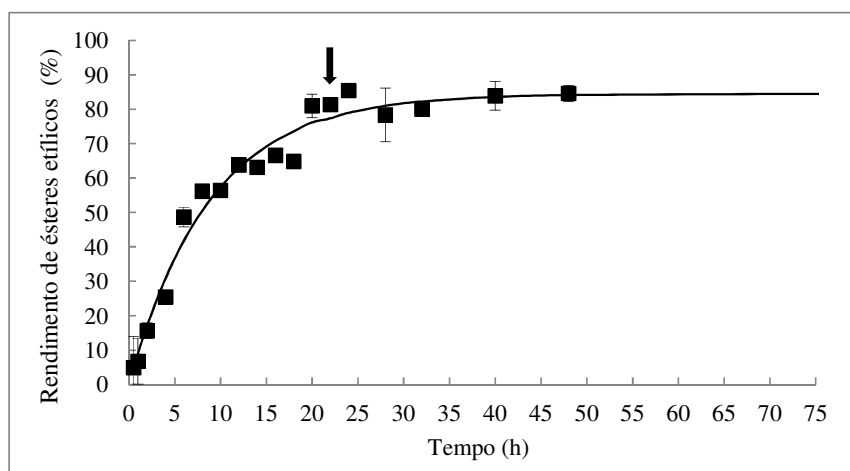


Figura 5.3 – Conversão em éster etílico durante o período de reação. A seta indica o tempo de 24 horas.

(Condições experimentais: T_c 40°C, RM_c 1:4,5 e C_c 9,5%, sob agitação de 200 oscilações/min por 48 horas)

De acordo com a regressão dos dados experimentais, o efeito calculado sobre 99% do valor de y no limite da função ($t \rightarrow \infty$) foi de 83,75% REE em função do tempo de 42 horas, apresentando valor assintótico após 72 horas com 84,46% REE (Figura 5.3). Os dados experimentais apresentaram REE (%) para os tempos 22, 24, 28, 40 e 48 horas de 81, 85, 78, 84 e 85%, respectivamente. A reduzida diferença entre os rendimentos juntamente com os dados modelados pela equação permitiu concluir que 24 horas foi o tempo adequado.

Sendo assim, os ensaios de transesterificação enzimática a partir de miscela rica pela análise de regressão e análise de superfície de resposta foi realizada adicionando o etanol em única etapa, sob agitação de 200 oscilações/min em agitador rotativo por 24 horas.

5.3.3 Etanólise enzimática

A miscela rica proveniente da extração de óleo de soja com o etanol como solvente foi submetida à reação de transesterificação com variação na concentração do catalisador lipase Novozym[®] 435, da temperatura de reação e da razão molar (óleo:etanol).

Tabela 5.4 – Delineamento experimental dos níveis reais para as variáveis em estudo e rendimento de ésteres etílicos obtidos e os previstos pelo modelo para cada ensaio

Ensaio	RM _e (óleo:etanol)	T _e (°C)	C _e (% p/p)	REE _{experimental} (%)	REE _{previsto} (%)
1	(1:3,6)	34	6,2	59,48	62,10
2	(1:5,4)	34	6,2	64,78	64,45
3	(1:3,6)	46	6,2	73,27	73,37
4	(1:5,4)	46	6,2	79,30	78,99
5	(1:3,6)	34	12,8	72,37	72,03
6	(1:5,4)	34	12,8	75,05	73,86
7	(1:3,6)	46	12,8	76,85	76,53
8	(1:5,4)	46	12,8	83,42	81,62
9	(1:4,5)	40	9,5	80,99	82,28
10	(1:4,5)	40	9,5	84,27	82,28
11	(1:4,5)	40	9,5	84,58	82,28
12	(1:4,5)	40	9,5	81,79	82,28
13	(1:3)	40	9,5	68,96	68,08
14	(1:6)	40	9,5	72,76	74,33
15	(1:4,5)	30	9,5	73,11	72,75
16	(1:4,5)	50	9,5	86,63	88,74
17	(1:4,5)	40	4	64,45	63,05
18	(1:4,5)	40	15	70,83	73,61

REE: Rendimento ésteres etílicos produzidos por enzimas.

A Tabela 5.4 apresenta o delineamento experimental com combinações das variáveis exploratórias e as respectivas respostas de rendimentos de ésteres etílicos observadas e previstas pelo modelo.

O ensaio 16 foi o que apresentou maior conversão com 86% REE. Entretanto, somente 2% a mais em REE do que os ensaios 10 e 11, executados em temperaturas 10°C superiores.

A Tabela 5.5 apresenta a estimativa dos efeitos sobre a produção de ésteres etílicos pelas enzimas.

Tabela 5.5 - Estimativa dos efeitos das variáveis explanatórias sobre o REE

	Efeito	Desvio padrão	Nível descritivo (<i>p</i>)
Média	82,27750	0,613803	0,000000*
RM _e (L)	3,72291	0,692096	0,000126*
RM _e (Q)	-7,84576	0,683106	0,000000*
T _e (L)	9,51776	0,750181	0,000000*
T _e (Q)	-1,08684	0,738031	0,164646
C _e (L)	6,28279	0,802201	0,000003*
C _e (Q)	-9,88505	0,808448	0,000000*
RM _e (L) x T _e (L)	1,63047	0,963537	0,114428
RM _e (L) x C _e (L)	-0,25900	0,963735	0,792343
T _e (L) x C _e (L)	-3,38724	0,963398	0,003796*

*: estatisticamente significativos a 95% de confiança ($p \leq 0,05$)

L = linear

Q = Quadrático

O valor p ($\leq 0,05$) mostra que todos os efeitos lineares tiveram influência significativa no REE, o efeito quadrático foi significativo para as variáveis concentração de catalisador e razão molar e somente a interação entre temperatura e concentração de catalisador apresentou efeito significativo na conversão de ésteres.

A temperatura e a concentração do catalisador foram as variáveis de maior influência no rendimento, que aumentou em 9,52% quando a temperatura passou de 34° a 46°C. Da mesma forma, quando a concentração do catalisador foi acrescida de 6,4 para 12,8% houve aumento no rendimento de 6,28% em média. A análise dos pontos axiais mostra que com o aumento da concentração para 15% há redução no rendimento de 9,88% em média, indicando que houve passagem pelo ponto ótimo.

A redução do rendimento de ésteres etílicos ocorrido na presença de elevadas concentrações do catalisador nos ensaios 5, 6, 7, 8 e 18 pode ser explicado pela baixa

homogeneização, reduzindo a superfície de contato enzima e substrato (Tabela 5.4). O fato de que quanto maior a concentração de enzima, maior deve ser a rotação da mistura foi constatado por Paola et al. (2009).

A interação entre temperatura e concentração de catalisador mostra que o maior rendimento está quando a temperatura é maior e a concentração do catalisador é menor (Tabela 5.5). O parâmetro razão molar tem maior influencia quando a relação molar aumenta até 1:6, o que prova a redução de 7,84% do rendimento em ésteres.

O modelo quadrático ajustado após a análise dos efeitos é:

$$REE = 82,28 + 1,86RM_e + 4,76T_e + 3,14C_e - 3,92RM_e^2 - 4,94C_e^2 - 1,69T_e.C_e \quad (5.2)$$

Os termos lineares estão representados por RM_e , T_e e C_e , os termos quadráticos RM_e^2 , C_e^2 e a interação $T_e.C_e$. Os termos lineares positivos indicam o aumento de REE e os negativos a sua redução quando aumenta a variável em questão. Os parâmetros não significativos ($p > 0,05$) foram ignorados.

Tabela 5.6 - Análise de variância (ANOVA) para avaliar a qualidade do modelo quadrático

Fonte de variação	Soma Quadrática	Graus de liberdade	Média Quadrática	Teste F
Regressão	1331,27	9	147,9185	37,74
Resíduo	70,56	18	3,9198	
Falta de ajuste	36,186	5	7,2373	2,74
Erro puro	34,369	13	2,6438	
Total	1401,822	27		
$R^2 = 0,9497$				
Ajuste $R^2 = 0,9245$				
$F_{\text{Tabelado (9;18)}} = 2,46$ $F_{\text{Tabelado (5;13)}} = 3,03$				

O modelo quadrático ajustado explica 94,97% da variação. O valor do $F_{\text{calculado}}$ para a regressão foi 15 vezes maior do que o F_{Tabelado} com ($p \leq 0,05$) e a falta de ajuste não foi significativa, o que permite concluir que o modelo é válido e útil para fins preditivos (Tabela 5.6).

A Figura 5.4 apresenta a superfície de resposta ajustada ao modelo matemático e o gráfico de contorno. A análise da figura permite a identificação das condições operacionais que sugerem o maior rendimento de ésteres etílicos com menor gasto de energia,

concentração de catalisador e etanol. Com isso, as melhores condições indicadas pelo modelo empírico na transesterificação enzimática da miscela foram RM_e de 1:4,5 (nível 0), T_e de 40°C (nível 0) e C_e 9,5% (nível 0).

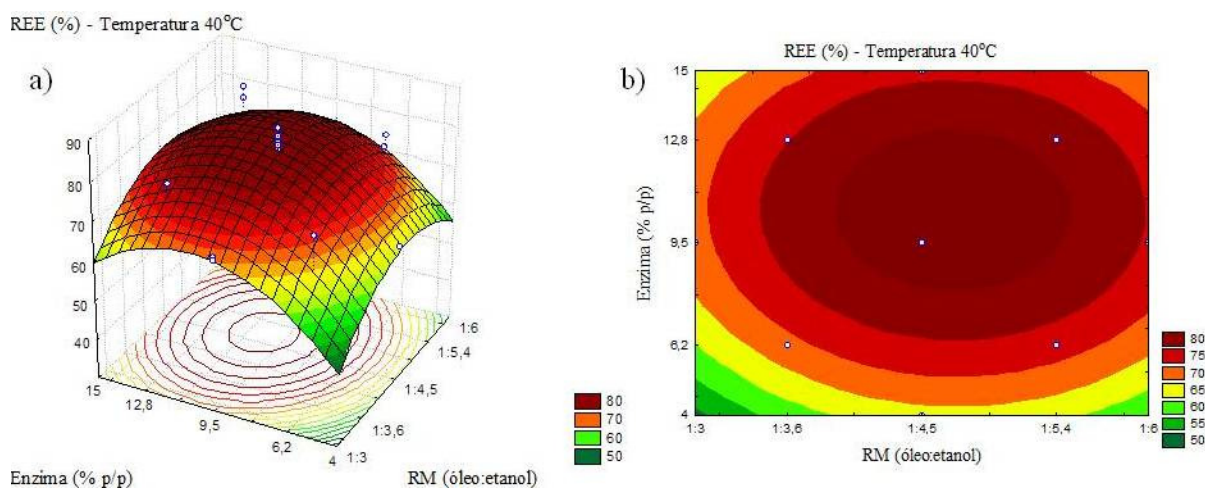


Figura 5.4 – Superfície de resposta (a) e gráfico de contorno (b) gerados a partir do modelo empírico (eq. 5.2) na temperatura de 40°C. (Condições experimentais: RM_e 1:4,5 e C_e 9,5%, sob agitação de 200 oscilações/min por 24 horas)

Portanto, as condições citadas acima foram adotadas e ensaios de validação prática do modelo teórico, realizados em triplicata, que resultaram numa conversão de 85,43% REE com 0,76% coeficiente de variação.

Embora o óleo vegetal refinado apresente maiores rendimentos, o custo elevado desta matéria-prima torna a produção de biodiesel inviável (BALAT, 2007; ANTCZAK et al., 2009). Apesar de Watanabe et al. (2002) terem verificado baixa conversão de ésteres metílicos de óleo bruto de soja utilizando 4% de lipase Novozym[®] 435, a miscela rica aqui estudada apresentou REE próximo ao obtido por Hernández-Martín e Otero (2008), que utilizaram óleo de soja refinado com 50% de lipase Novozym[®] 435 em 7 horas de reação com 1:4,5 (óleo:etanol). Isto permite concluir que o uso de miscela rica como matéria-prima pode ser uma excelente alternativa para reduzir custos de produção de biodiesel.

5.3.4 Reutilização e recuperação das enzimas imobilizadas

A reutilização de lipase Novozym[®]435 é ilustrada na Figura 5.5 onde se pode ver que o rendimento de ésteres etílicos apresentou decréscimo de 30% entre ciclo 1 (85,4%) e ciclo 2 (54,1%) com diferença estatística significativa ($p \leq 0,05$).

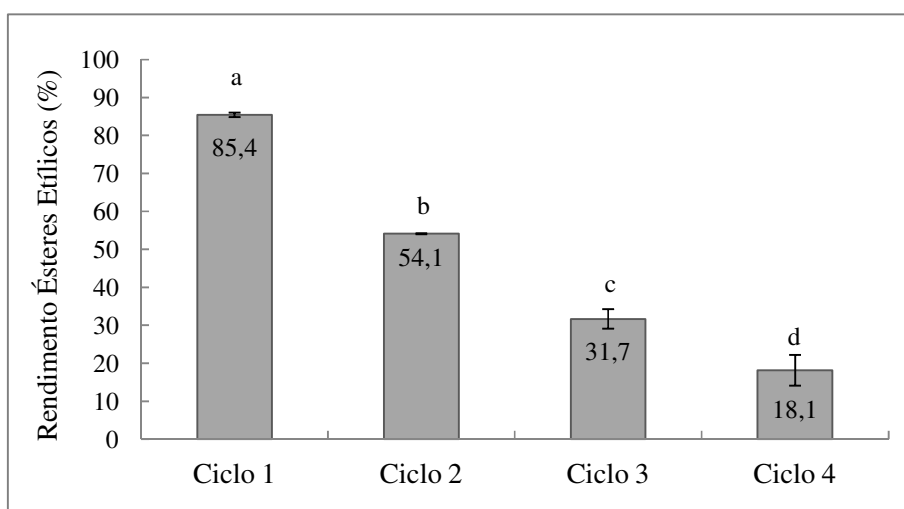


Figura 5.5 – Rendimento de ésteres etílicos nos ciclos de reutilização enzimática. As letras diferentes indicam que as médias tiveram diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ao nível de significância 5%. (Condições experimentais: T_e 40°C, RM_e 1:4,5 e C_e 9,5%, sob agitação de 200 oscilações/min por 24 horas)

A desativação enzimática pode ser causada pela adsorção de glicerol (DOSSAT; COMBES; MARTY, 1999; WATANABE et al., 2000; BÉLAFI-BAKÓ et al., 2002; DU; XU; LIU, 2003) e fosfolípídeos (WATANABE et al., 2002) pelo suporte. O glicerol adsorvido forma uma camada hidrofílica na superfície do suporte a qual impede o contato entre as enzimas e o substrato hidrofóbico (DOSSAT; COMBES; MARTY, 1999; DU; XU; LIU, 2003). A remoção do glicerol e a restauração da atividade de lipase imobilizada foram possíveis com sucessivas lavagens de solventes hidrofílicos, como o isopropanol (DU; XU; LIU, 2003).

Álcoois com três ou mais átomos de carbono levaram à regeneração de até 75% de enzimas imobilizadas quando lavadas com terc-butanol e de 56% com 2-butanol (CHEN; WU, 2003). Maceiras et al. (2009) mantiveram o rendimento de ésteres metílicos constante por quatro ciclos lavando a Novozym[®]435 com 1-butanol.

Com isso, a recuperação das enzimas foi investigada a partir de sucessivas lavagens com diferentes solventes. Isopropanol, terc-butanol, etanol 96% e a miscela rica foram utilizados com o objetivo de remover impurezas fixadas no suporte e adsorvidas pelas lipases imobilizadas.

A Figura 5.6 demonstrou a conversão de ésteres etílicos em função do tempo. A equação exponencial empírica foi a que melhor explicou o ajuste dos dados experimentais pela função: $y = ae^{(kt)}$ na qual: y = conversão relativa do rendimento de ésteres etílicos (%), t = tempo de reação (h). O parâmetro a correspondeu à diferença de concentração de ésteres etílicos iniciais e ao longo do tempo (após 24 horas de reação) e k é o parâmetro que indica a velocidade de conversão em ésteres pela lipase, em que quanto maior o valor de k , maior será a atividade enzimática. Portanto, a conversão dos ésteres etílicos ao longo do tempo do experimento pode ser assumida com comportamento cinético de primeira ordem.

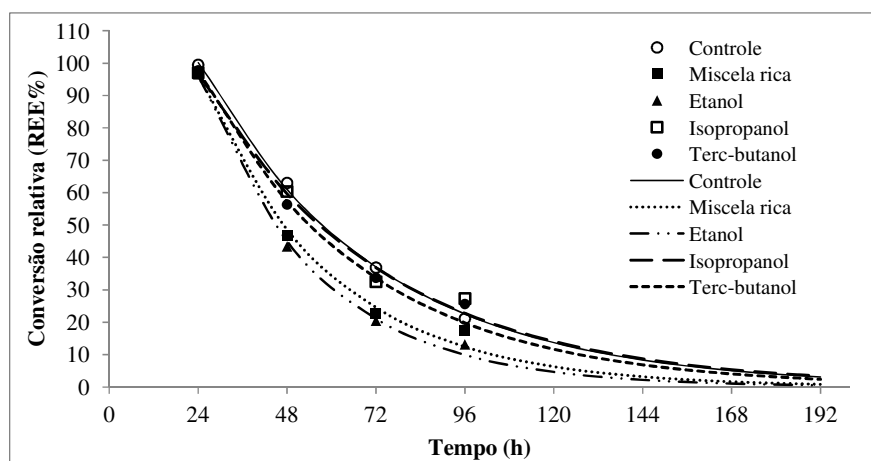


Figura 5.6 – Conversão relativa de ésteres etílicos na recuperação das enzimas após lavagens com diferentes solventes. (Condições experimentais: T_c 40° C, RM_c 1:4,5 e C_c 9,5%, sob agitação de 200 oscilações/min por 24 horas)

Os dados experimentais obtidos após 48 horas apresentaram redução da atividade enzimática de 53, 50, 41, 36, e 37% para os ensaios com etanol 96%, miscela rica, terc-butanol, controle e isopropanol, respectivamente. A cada reuso (24 horas) a atividade enzimática da lipase foi tendendo à desativação completa, não apresentando sinais de recuperação após sucessivas lavagens com solvente e miscela rica (Figura 5.6).

A Tabela 5.7 apresenta os valores dos parâmetros de regressão do controle e de todos os tratamentos com solventes.

Tabela 5.7 - Parâmetros a e k para os tratamentos com solvente

Tratamento	Parâmetros			Dados experimentais	
	a	k	R^2	x_{exp}	y_{exp}
Etanol 96%	205,00	-0,03159	0,997	48	43,4
Miscela rica	189,82	-0,02840	0,996	48	46,8
Terc-butanol	165,67	-0,02212	0,999	48	56,3
Controle	164,67	-0,02069	0,998	48	63,0
Isopropanol	156,27	-0,02005	0,987	48	60,4

x_{exp} : tempo (h);

y_{exp} : conversão relativa do rendimento de ésteres etílicos (%) experimental;

Os valores de k demonstraram maior decréscimo da atividade enzimática nas lavagens empregando etanol 96% e miscela rica, seguida do terc-butanol. Embora, o controle e a lavagem com isopropanol apresentaram valores de k maiores dos demais tratamentos, ainda assim foi observado o decréscimo da atividade da lipase, a qual perdeu afinidade pelo meio reacional após sua primeira utilização. Este comportamento pode ter sido ocasionado pela ocupação irreversível do sítio ativo por outras moléculas ainda no primeiro ensaio da reação (Tabela 5.7).

Naranjo et al. (2010) verificaram que a redução de ésteres etílicos após a reutilização da lipase *Candida antarctica B* ocorre principalmente pela imiscibilidade entre os triacilgliceróis e o álcoois de cadeia curta, como o metanol e o etanol. As pequenas gotículas de álcool dispersas no óleo atacam o suporte e são adsorvidas pela lipase bloqueando a entrada do acilglicerol. Com isso, a rápida desativação da enzima, apresentada na Figura 5.5 e 5.6 pode ter sido ocasionada pela adição de etanol em única etapa de etanol.

De acordo com José et al. (2011), o polimetilmetacrilato (PMMA), material que constitui o suporte da enzima imobilizada Novozym[®]435, dissolve em álcool. Além disso, o álcool difunde para o interior do catalisador, permanecendo fortemente adsorvido. O etanol altera a textura dos canais das esferas, aumentando as irregularidades do polímero.

As Figuras 5.7 e 5.8 mostram as irregularidades e deformações na superfície e no interior do suporte da Novozym[®]435 através de imagens de microscopia eletrônica de varredura. As esferas após um e quatro ciclos (controle) de uso apresentaram maior rugosidade na superfície e desuniformidade do material polimérico no seu interior comparado com a esfera intacta (Figura 5.7).

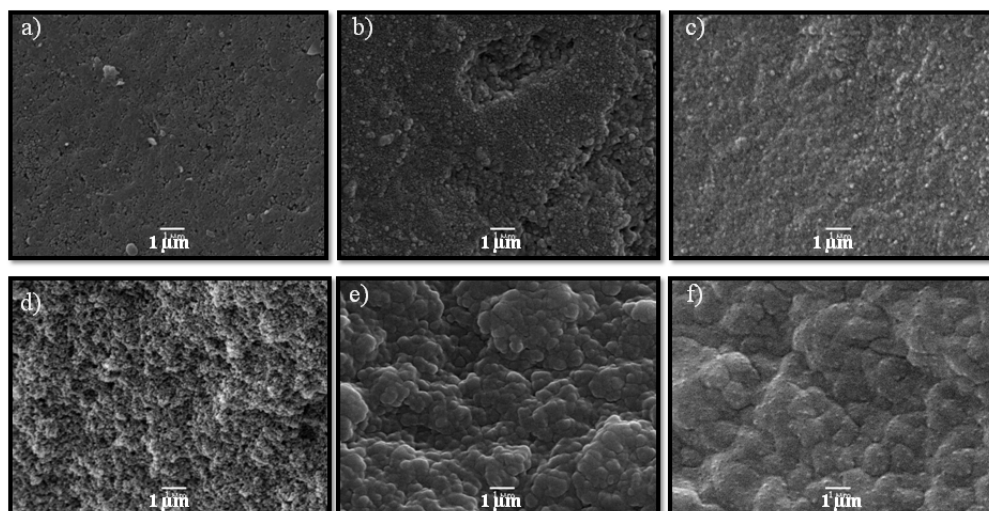


Figura 5.7 – Microscopia eletrônica de varredura *magnitude (10000X)* da (a) superfície da esfera da Novozym[®]435 intacta (b) superfície esfera após um ciclo (c) superfície da esfera após quatro ciclos (d) metade da esfera intacta da Novozym[®]435 (e) metade da esfera após um ciclo (f) metade da esfera após quatro ciclos

As esferas após lavagens com solventes e miscela rica apresentaram irregularidades e deformações (Figura 5.8) comparadas com a esfera intacta apresentada na Figura 5.7 (a) e (d).

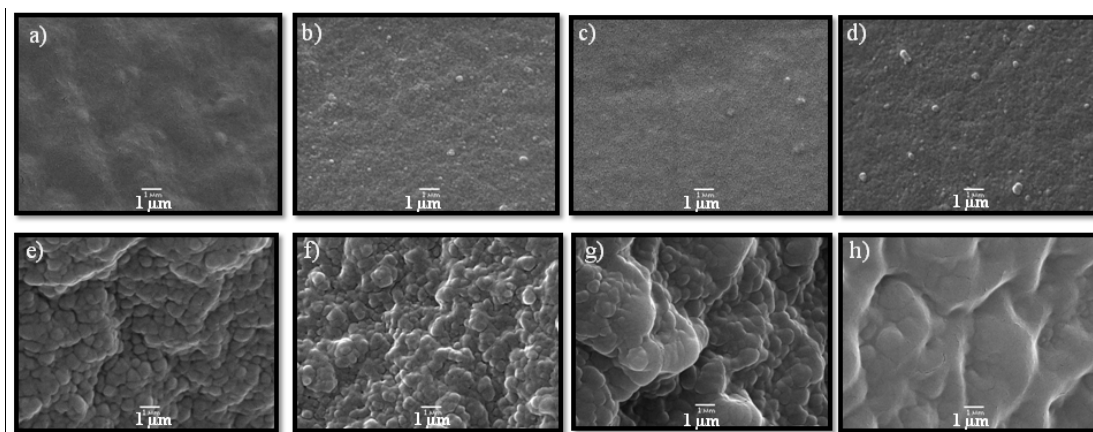


Figura 5.8 – Microscopia eletrônica de varredura *magnitude (10000X)* da (a) superfície da esfera da Novozym[®]435 após lavagem com miscela rica (b) superfície da esfera após lavagem com etanol 96% (c) superfície esfera após lavagem com isopropanol (d) superfície esfera após lavagem com terc-butanol (e) metade da esfera após lavagem com miscela rica (f) metade da esfera após lavagem com etanol 96% (g) metade da esfera após lavagem com isopropanol (h) metade da esfera após lavagem com terc-butanol

Pelas imagens (Figuras 5.7 e 5.8) foi possível confirmar a existência de deformações que demonstram lixiviação do suporte e a perda de lipases provocando a redução na conversão de ésteres após cada reuso.

As enzimas imobilizadas tratadas somente com miscela rica foram as que sofreram rápida desativação e isso pode ser atribuído à presença dos fosfolipídeos. Chen e Wu (2003), Soumanou e Bornscheur (2003), Rodrigues et al. (2008) e Azócar et al. (2011) obtiveram resultados satisfatórios lavando as enzimas com diferentes solventes, entretanto seus ensaios foram com óleo refinado ou purificado de diferentes oleaginosas e adicionando etanol gradativamente. A presença de fosfolipídeos na miscela rica pode ter levado à desativação enzimática por envenenamento catalítico provocado pelo fósforo, porém, a presença de 7,6% de etanol em sua composição pode ter contribuído ainda mais com esta rápida desativação.

O glicerol pode ter acentuado a redução de atividade enzimática mesmo com sucessivas lavagens de solvente e sob agitação de 200 oscilações/min (BÉLAFI-BAKÓ et al., 2002; DU; XU; LIU, 2003; NARANJO et al., 2010),

Desta forma, conclui-se que os solventes não foram capazes de remover as impurezas da superfície do suporte, principalmente os fosfolipídeos. O uso de solventes apolares como hexano, heptano ou clorofórmio poderia remover os fosfolipídeos. Entretanto, estes solventes, além de serem altamente inflamáveis e tóxicos, não solubilizam alcoóis como etanol e glicerol (SU; WEI, 2008; HALIM; KAMARUDDIN, 2008).

Buscando reduzir o contato dos fosfolipídeos no suporte da Novozym[®]435 e diluir o etanol e glicerol durante a reação, foi adicionado co-solvente para aumentar o tempo de vida útil do catalisador para a reação de transesterificação da miscela rica.

5.3.5 Transesterificação utilizando co-solvente

A reutilização de enzimas é de grande interesse para a indústria em buscar redução de custos nos processos. O uso de solvente e co-solvente na reação de transesterificação foram estudadas por muitos pesquisadores (LI et al., 2006; HALIM; KAMARUDDIN, 2008; ROYON et al., 2007; SU; WEI, 2008; AZÓCAR et al., 2011), mostrando aumento no rendimento de ésteres, e aumentando a estabilidade da atividade enzimática da Novozym[®]435 durante seu reuso.

Álcoois como metanol, etanol e glicerol tem baixa solubilidade em solventes polares como hexano, heptano e isooctano, que apresentam $\log P > 2$. O terc-butanol e o isopropanol são considerados solventes moderadamente polares com $\log P = 0,8$ e $0,05$, respectivamente.

Com esta propriedade ambos promovem a solubilidade do substrato e co-produto (glicerol) durante a produção de ésteres evitando a desativação prematura da enzima (CARREA; OTTOLINA; RIVA, 1995; LI et al., 2006; HALIM; KAMARUDDIN, 2008; TANG et al., 2008).

O efeito do isopropanol e terc-butanol utilizados como co-solventes foi avaliado na reação de transesterificação com miscela rica e a lipase imobilizada Novozym[®]435 (Figura 5.9).

O terc-butanol utilizado como co-solvente obteve melhor desempenho na conversão de ésteres etílicos do que o isopropanol. Houve aumento de 18% de conversão com a adição de 5% de terc-butanol e de apenas 6% com adição de 0,5% de isopropanol. Concentrações abaixo e acima de 5% de terc-butanol apresentaram menores conversões e diferiram estatisticamente com nível de significância $p \leq 0,05$ (Figura 5.9).

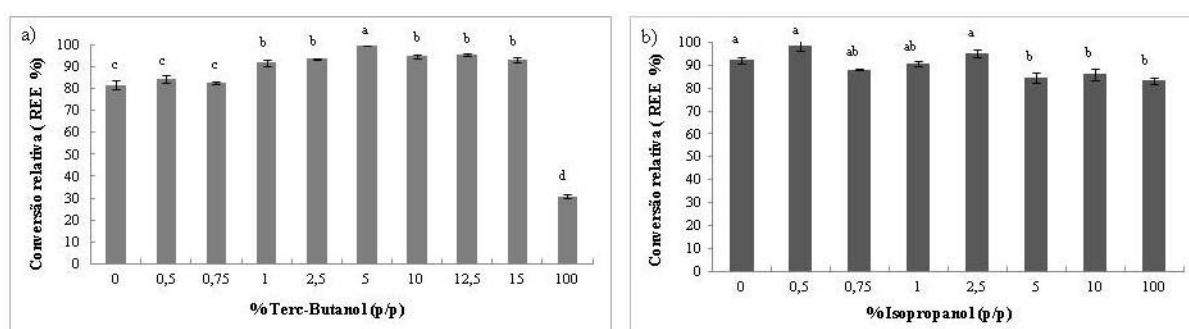


Figura 5.9 – Efeito de diferentes concentrações de (a) terc-butanol e (b) isopropanol na reação de transesterificação da miscela rica. As letras sobre barras indicam a diferença estatística significativa pelo teste de Tukey ao nível de significância 5% entre as médias dos tratamentos. (Condições experimentais: T_c 40°C, RM_c 1:4,5 e C_c 9,5% sob agitação de 200 oscilações/min por 24 horas)

Sucessivos ensaios foram realizados, reutilizando as enzimas imobilizadas. A cada ciclo (24 horas) as enzimas foram filtradas e imediatamente colocadas sem nenhum tratamento em nova reação de transesterificação com miscela rica (Figura 5.10).

A conversão de REE (%) permaneceu superior a 70% por até três ciclos (Figura 5.10). Li et al. (2006) alcançaram 200 ciclos, Li, Zheng e Yan (2010) 30 ciclos e Azócar et al. (2011) 17 ciclos, utilizando terc-butanol como co-solvente na reação de transesterificação com metanol e enzima Novozym[®]435.

Considerando que o etanol permaneceu dissolvido à temperatura de reação de 40°C (Figura 5.1), o número reduzido de eventos de reciclagem demonstrou que o terc-butanol apenas retardou em três ciclos a desativação da lipase Novozym[®]435. Todavia, o rendimento

de ésteres etílicos alcançou 94% na presença de 5% de ter-butanol. Isto demonstrou que a propriedade moderadamente hidrofílica do terc-butanol manteve o glicerol e fosfolipídeos dissolvidos no substrato, retardando o contato destas impurezas com o suporte da Novozym[®]435.

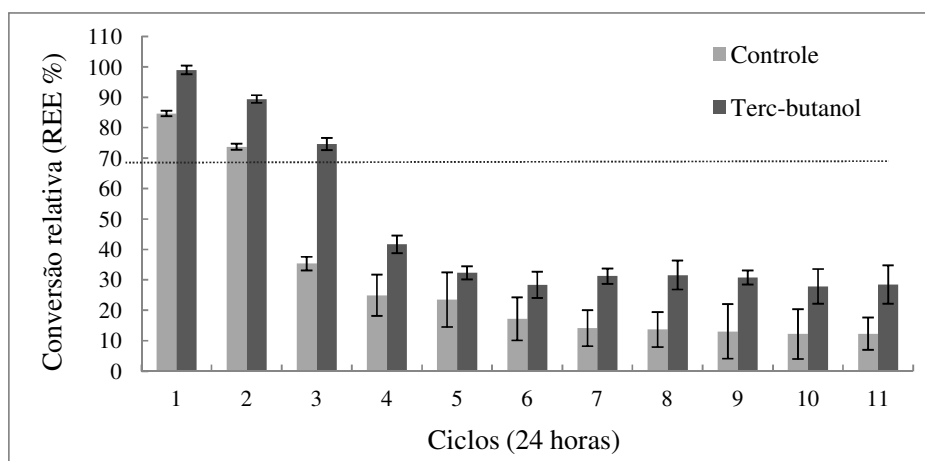


Figura 5.10 – Conversão relativa em REE (%) no decorrer dos ciclos. Linha pontilhada representa 70% de conversão. (Condições experimentais: T_e 40°C, RM_e 1:4,5 e C_e 9,5% sob agitação de 200 oscilações/min por 24 horas)

Apesar do efeito negativo dos fosfolipídeos, a miscela rica é diretamente transesterificável por catálise enzimática além de ser matéria-prima mais barata que os demais óleos comestíveis por não necessitar refino. A substituição das enzimas pode ser compensada a cada três ciclos quando aplicado o terc-butanol como co-solvente.

Estudos direcionados à avaliação dos gastos de entrada e saída de energia devem ser realizados para confirmar se é ou não viável a transesterificação de miscela rica com Novozym[®]453 na presença ou não de co-solvente (terc-butanol), juntamente com o reuso do catalisador. Afinal, a recuperação de solvente e renovação de catalisador envolvem demanda que reflete no custo.

5.4 CONCLUSÕES

A miscela rica é diretamente transesterificável com catalisador enzimático Novozym[®]435 sem adição gradativa de etanol. Através da análise de superfície de resposta, as melhores condições experimentais indicadas pelo modelo empírico foram: T_e 40°C, RM_e

1:4,5 e C_e 9,5% por 24 horas, com conversão máxima de 85,4% em rendimento de ésteres etílicos.

A lipase Novozym[®]435 não foi recuperada com sucessivas lavagens de miscela rica, isopropanol, terc-butanol e etanol 96%. Não houve a remoção de impurezas e a desativação da lipase foi provocada principalmente pela forte ligação dos fosfolipídeos no suporte. O etanol presente na miscela pode ter contribuído para o decréscimo da atividade enzimática.

O terc-butanol como co-solvente aumentou o rendimento de ésteres etílicos de 85% para 94%, entretanto não manteve a atividade da enzima por mais que três ciclos. Os fosfolipídeos contribuíram para a rápida desativação da Novozym[®]435.

A miscela rica tem grande potencial como matéria-prima de baixo custo na produção de biodiesel com catalisador Novozym[®]435. A viabilidade econômica e ambiental deve ser avaliada quanto à substituição do catalisador a cada três ciclos e o uso de solvente terc-butanol na reação.

REFERÊNCIAS

AKOH, C. C.; CHANG, S. W.; LEE, G. C.; SHAW, J. F. Enzymatic approach to biodiesel production. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, Easton, v. 55, p. 8995-9005, 2007.

AL-ZUHAIR, S.; LING, F.W.; JUN, L.S. Proposed kinetic mechanism of the production of biodiesel from palm oil using lipase. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 42, p. 951–960, 2007.

ANTCZAK, M. S.; KUBIAK, A.; ANTCZAK, T.; BIELECKI, S. Enzymatic biodiesel synthesis – key factors affecting efficiency of the process. **Renewable Energy**, Oxford, v. 32, p. 1185-1194, 2009.

AZÓCAR, L.; CIUDAD, G.; HEIPIEPER, H. J.; MUÑOZ, R.; NAVIA, R. Improving fatty acid methyl ester production yield in a lipase-catalyzed process using waste frying oils as feedstock. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 109, n. 6, p. 609–614, 2010.

AZÓCAR, L.; CIUDAD, G.; HEIPIEPER, H. J.; MUÑOZ, R.; NAVIA, R. Lipase-catalyzed process in an anhydrous medium with enzyme reutilization to produce biodiesel with low acid value. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 112, n. 6, p. 583–589, 2011.

BALAT, M. Production of biodiesel from vegetable oils: a survey. **Energy Sources, Part A**, London, v. 29, p. 895-913, 2007.

BILICH, F.; DA SILVA, R. **Análise do potencial brasileiro na produção de biodiesel**. Curitiba: Biodieselbr, 2007. Disponível em: www.biodieselbr.com.br. Acesso em: 16 set. 2007.

BÉLAFI-BAKÓ, K.; KOVÁCS, F.; GUBICZA, L.; HANCSÓK, J. Enzymatic biodiesel production from sunflower oil by *Candida antarctica* lipase in a solvent-free system, **Biocatalysis and Biotransformation**, Amsterdam, v. 20, n. 6, p. 437–439, 2002.

BINDHU, C. H.; REDDY, J. R. C.; RAO, B. V. S. K.; RAVINDER, T.; CHAKRABARTI, P. P.; KARUNA, M. S. L.; PRASAD, R. B. N. Preparation and evaluation of biodiesel from *Sterculia foetida* seed oil. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, 2011. DOI 10.1007/s11746-011-1969-7.

BARROS NETO, B.; SCARMINIO, I. S.; BRUNS, R. E. **Como fazer experimentos**. 4. ed. Porto Alegre: Bookman, 2010. 414 p.

CARREA, G.; OTTOLINA, G.; RIVA, S. Role of solvents in the control of enzyme selectivity in organic media. **Trends in Biotechnology**, Cambridge, v. 13, n.2, p. 62-70, 1995.

CHEN, J. W.; WU, W. T. Regeneration of immobilized *Candida antarctica* lipase for transesterification. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 96, n. 5, p. 466-469, 2003.

DAMSTRUP, M. L.; JENSEN, T.; SPARSØ, F. V.; KIIL, S. Z.; JENSEN, A. D.; XU, X. Solvent optimization for efficient enzymatic monoacylglycerol production based on a glycerolysis reaction. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 82, n. 8, p. 559-564, 2005.

DOSSAT, V.; COMBES, D.; MARTY, A. Continuous enzymatic transesterification of high oleic sunflower oil in a packed bed reactor: influence of the glycerol production. **Enzyme and Microbial Technology**, Surrey, v. 25, p. 194–200, 1999.

DU, W.; XU, Y.; LIU, D. Lipase-catalysed transesterification of soya bean oil for biodiesel production during continuous batch operation. **Biotechnology Applied Biochemistry**, London, v. 38, p. 103–106, 2003.

DU, W.; XU, Y. Y.; LIU, D. H.; LI, Z. B. Study on acyl migration in immobilized lipozyme TL-catalyzed transesterification of soybean oil for biodiesel production. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 37, p. 68-71, 2005.

DUAN, Z. Q.; DU, W.; LIU, D. H. Novozym 435-catalyzed 1,3-diacylglycerol preparation via esterification in t-butanol system. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 45, p. 1923-1927, 2010.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; NODA, H. REVIEW: Biodiesel Fuel Production by Transesterification of Oils. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 92 n. 5, p. 405-416, 2001.

GERPEN, J. V.; KNOTHE, G. Produção de biodiesel. In: KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

HAAS, M. J.; FOGLIA, T. A. Matérias-primas alternativas e tecnologia para a produção de biodiesel. In: KNOTH, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006.

HALIM, S. F. A.; KAMARUDDIN, A. H. Catalytic studies of lipase on FAME production from waste cooking palm oil in a tert-butanol system. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 43, p. 1436–1439, 2008.

HERNÁNDEZ-MARTÍN, E.; OTERO, C. Different enzyme requirements for the synthesis of biodiesel: Novozym[®] 435 and Lipozyme[®] TL IM. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 277–286, 2008.

JOSÉ, C.; BONETTO, R. D.; GAMBARO, L. A.; TORRES, M. P. G.; FORESTI, M. L.; FERREIRA, M. L.; BRIAND, L. E. Investigation of the causes of deactivation–degradation of the commercial biocatalyst Novozym[®] 435 in ethanol and ethanol–aqueous media. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 71, p. 95–107, 2011.

KNOTHE, G.; GERPEN, J. V.; FRAHL, J.; RAMOS, L. P. **Manual de biodiesel**. São Paulo: Edgard Blucher, 2006b. 340 p.

LI, L.; DU, W.; LIU, D.; WANG, L.; LI, Z. Lipase-catalyzed transesterification of rapeseed oils for biodiesel production with a novel organic solvent as the reaction medium. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 43, p. 58–62, 2006.

LI, Q.; ZHENG, J.; YAN, Y. Biodiesel preparation catalyzed by compound-lipase in co-solvent. **Fuel Processing Technology**, Amsterdam, v. 91, p. 1229–1234, 2010.

LIDE, D. R. Octanol–water partition coefficients. In: _____. **Handbook of chemistry and physics**. 85. ed. Boca Raton: CRC Press, 2005–2006. 2544 p.

LIU, Y.; ZHANG, X.; TAN, H.; YAN, Y.; HAMEED, B. H. Effect of pretreatment by different organic solvents on esterification activity and conformation of immobilized *Pseudomonas cepacia* lipase. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 45, p. 1176–1180, 2010.

MA, F.; HANNA, M. A. Biodiesel production: a review. **Bioresource Technology**, Essex, v. 70, p. 1–15, 1999.

MACEIRAS, R.; VEJA, M.; COSTA, C.; RAMOS, P.; MÁRQUEZ, M. C. Effect of methanol content on enzymatic production of biodiesel from waste frying oil. **Fuel**, Guildford, v. 88, p. 2130–2134, 2009.

MIAO, X.; WU, Q. Biodiesel production from heterotrophic microalgal oil. **Bioresource Technology**, Essex, v. 97, p. 841–846, 2006.

NARANJO, J.C.; CÓRDOBA, A.; GIRALDO, L.; GARCÍA, V.S.; MORENO-PIRAJÁN, J.C. Lipase supported on granular activated carbon and activated carbon cloth as a catalyst in the synthesis of biodiesel fuel. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 66, p. 166–171, 2010.

OGNJANOVIC, N.; BEZBRADICA, D.; KNEZEVIC-JUGOVIC, Z. Enzymatic conversion of sunflower oil to biodiesel in a solvent-free system: process optimization and the immobilized system stability. **Bioresource Technology**, Essex, v. 100, p. 5146–5154, 2009.

PESSOA, F.L.P.; MAGALHÃES, S.P.; FALCÃO, P.W.C. Production of biodiesel via enzymatic ethanolysis of the sunflower and soybean oils: modeling. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, New York, v. 161, p. 238–244, 2010.

RODRIGUES, R. C.; VOLPATO, G.; WADA, K.; AYUB, M. A. Z. Enzymatic synthesis of biodiesel from transesterification reactions of vegetable oils and short chain alcohols. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 85, p. 925-930, 2008.

RODRIGUES, R. C.; PESSELA, B. C. C.; VOLPATO, G.; FERNANDEZ-LAFUENTE, R.; GUISAN, J. M.; AYUB, M. A. Z. Two step ethanolysis: A simple and efficient way to improve the enzymatic biodiesel synthesis catalyzed by an immobilized-stabilized lipase from *Thermomyces lanuginosus*. **Process Biochemistry**, Oxford, v. 45, p. 1268-1273, 2010.

ROYON, D.; DAZ, M.; ELLENRIEDER, G.; LOCATELLI, S. Enzymatic production of biodiesel from cotton seed oil using *t*-butanol as a solvent. **Bioresource Technology**, Essex, v. 98, p. 648–653, 2007.

SAMUKAWA, T.; KAIEDA, M.; MATSUMOTO, T.; BAN, K.; KONDO, A.; SHIMADA, Y.; NODA, H.; FUKUDA, H. Pretreatment of immobilized *candida antarctica* lipase for biodiesel fuel production from plant oil. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 90, n. 2, p. 180-183, 2000.

SHIMADA, Y.; WATANABE, Y.; SUGIHARA, A.; TOMINAGA, Y. Enzymatic alcoholysis for biodiesel fuel production and application of the reaction to oil processing. **Journal of Molecular Catalysis B-Enzymatic**, Amsterdam, v. 17, n. 3-5, p. 133-142, 2002.

SOUMANOU, M.; BORNSCHEUER, U. Improvement in lipase-catalyzed synthesis of fatty acid methyl esters from sunflower oil. **Enzyme and Microbial Technology**, Surrey, v. 33, n. 1, p. 97-103, 2003.

STAT SOFT INC. **Statistica**. Data analysis software system. Version 7. 2004. Disponível em: <<http://www.statsoft.com>>.

SU, E.; WEI, D. Improvement in lipase-catalyzed methanolysis of triacylglycerols for biodiesel production using a solvent engineering method. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 55, p. 118–125, 2008.

SU, E.; DU, L.; GONG, X.; WANG, P. Lipase-catalyzed irreversible transesterification of *Jatropha Curcas* L. seed oil to fatty acid esters: an optimization study. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 88, p. 793–800, 2011.

STEVENSON, D. E.; STANLEY, R. A.; FURNEAUX, R. H. Near-quantitative production of fatty acid alkyl esters by lipase-catalyzed alcoholysis of fats and oils with adsorption of glycerol by silica gel. **Enzyme and Microbiology Technology**, Surrey, v. 16, p. 478–484, 1994.

TANG, X. Y.; PAN, Y.; LI, S.; HE, B. F. Screening and isolation of an organic solvent-tolerant bacterium for high-yield production of organic solvent-stable protease. **Bioresource Technology**, Essex, v. 99, p. 7388-7392, 2008.

XU, Y.; DU, W.; LIU, D. Study on the kinetics of enzymatic interesterification of triglycerides for biodiesel production with methyl acetate as the acyl acceptor. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 32, p. 241–245, 2005.

WATANABE, Y.; SHIMADA, Y.; SUGIHARA, A.; TOMINAGA, Y. Stepwise ethanolysis of tuna oil using immobilized *Candida antarctica* lipase. **Journal of Bioscience and Bioengineering**, Osaka, v. 88, n. 6, p. 622-626, 1999.

WATANABE, Y.; SHIMADA, Y.; SUGIHARA, A.; NODA, H.; FUKUDA, H.; TOMINAGA, Y. Continuous Production of Biodiesel Fuel from Vegetable Oil Using Immobilized *Candida antarctica* Lipase, **Journal of the American Oil Chemists' Society**, v. 77, n. 4, p. 355-360, 2000

WATANABE, Y.; SHIMADA, Y.; SUGIHARA, A.; TOMINAGA, Y. Conversion of degummed soybean oil to biodiesel fuel with immobilized *Candida antarctica* lipase. **Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic**, Amsterdam, v. 17, p. 151-155, 2002.

WINAYANUWATTIKUN, P.; KAEWPIBOONA, C.; PIRIYAKANANONA, K.; TANTONGA, S.; THAKERNKARNKITA, W.; CHULALAKSANANUKUL, W.; YONGVANICHA, T. Potential plant oil feedstock for lipase-catalyzed biodiesel production in Thailand. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 32, p. 1279–1286, 2008.

6. FLUXO DE ENERGIA NA CADEIA PRODUTIVA DE BIODIESEL

RESUMO

As viabilidades tecnológica, energética, econômica e ambiental de um sistema produtivo devem ser analisadas para decidir e adequar as melhores condições de execução do processo. O óleo refinado de soja é uma matéria-prima de alto custo para a produção de biodiesel, pois envolve as etapas de cultivo do grão, extração do óleo e refino. Com a possibilidade do uso da miscela etanólica rica em óleo de soja para produção de biodiesel, dispensa-se a dessolventização e as etapas de refino exigidas para uso comestível. A análise de fluxo de materiais e de fluxo de energia são recursos que permitem avaliar sistemas de produção e identificar as etapas que demandam mais energia para aperfeiçoamento dos processos. O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise comparativa entre o processo convencional de produção de biodiesel empregado no país e o processo de transesterificação direta da miscela etanólica de óleo de soja com base no fluxo de energia. Os fluxos de energia comprovaram que a obtenção da matéria-prima graxa é a etapa que mais demandou energia na produção de biodiesel. A extração com hexano em escala industrial mostrou-se energeticamente mais viável devido ao elevado consumo de etanol na etapa de extração de óleo em escala semi-piloto. O processo de refino embora represente a etapa de menor energia demandada (2,0%), é responsável pela geração de resíduos e co-produtos que devem ser tratados. A etapa de produção de biodiesel a partir de miscela rica e catalisador químico foi energeticamente a mais viável. De modo geral, a transesterificação com óleo refinado, etanol e catalisador químico apresentou o menor fluxo de energia (60,9 MJ/kg), e isso foi atribuído ao processo de extração. O balanço de energia demonstrou que a miscela rica tem potencial para produzir biodiesel de maneira competitiva ao biodiesel com óleo refinado e ao diesel.

Palavras-chave: Fluxo de materiais. Soja. Ésteres etílicos. Ésteres metílicos. Transesterificação.

ABSTRACT

The technological, energetic, economical and environmental feasibility of a production system should be analyzed to determine and adjust the best conditions for implementing the process. Refined soybean oil is a high-cost feedstock for biodiesel production, because it involves crop production, oil extraction and refining. By using the soybean oil ethanolic miscellae to produce biodiesel, desolventizing and refining are steps that are required just for edible purposes. Material and energy flow analysis are tools used to evaluate production systems and to identify the most energy demanding steps, in order to improve the processes. The objective of this study was to establish a comparative analysis between the conventional biodiesel production process in Brazil and the direct soybean oil ethanolic miscellae transesterification based on the energy flow. Energy flows confirmed that biodiesel feedstock production is the most energy demanding step. Commercial scale hexane oil extraction proved to be more energetically feasible for biodiesel production than the semi pilot scale ethanol oil extraction. Although refining process accounts for low energy demand (2%), it generates wastes and co-products, that need further treatments. The biodiesel production stage from rich micellae and chemical catalyst was more feasible energetically. In a general way, refined oil transesterification, ethanol and chemical catalysis presented the lowest energy flow (60.9% MJ/kg), due to the extraction process. Energy balance showed that rich miscellae has potential to produce biodiesel competitive in relation to refined oil biodiesel production and diesel.

Keywords: Material flow. Energy flow. Chemical process feasibility. Biodiesel.

6.1 INTRODUÇÃO

A viabilidade econômica, energética e ambiental da produção de biodiesel vem sendo amplamente questionada e analisada por muitos pesquisadores. O balanço energético das culturas de girassol (PIMENTEL; PATZEK, 2005), canola (SMITH; JANZEN; NEWLANDS, 2007) e de soja (PIMENTEL; PATZEK, 2005; SMITH; JANZEN; NEWLANDS, 2007; CAVALETT; ORTEGA, 2010) para produção de biodiesel demonstraram que a etapa agrícola é que mais demanda energia, devido ao elevado consumo de fertilizante aplicado durante o cultivo.

A segunda etapa que mais demanda energia é a obtenção do óleo por extração com solvente hexano, especialmente por causa da dessolventização do farelo e recuperação do solvente (PIMENTEL; PATZEK, 2005; SMITH; JANZEN; NEWLANDS, 2007).

Desde a década de 1940 já se falava da viabilidade técnica e de energia em utilizar o etanol como substituto do hexano na extração de óleo. Como já apresentado no Capítulo 3, o uso de etanol como solvente na extração de óleo elimina a etapa de destilação do solvente e de refino da miscela extraída (óleo + solvente), que é substituída por um período de resfriamento (até 30°C), que permite a obtenção de duas fases, uma miscela rica em óleo e outra miscela rica em álcool. Esse processo promove um pré-refino, com a remoção parcial dos fosfolipídeos e dos ácidos graxos livres.

Beckel, Belter e Smith (1948) realizaram balanço de energia entre os processos de extração com etanol e hexano em planta industrial. Eles demonstraram que o processo com etanol exigiu teoricamente $\frac{3}{4}$ da energia utilizada no processo com hexano, e que esta diferença estava na recuperação do solvente. Além disso, o etanol apresenta vantagens sobre o hexano por ser menos tóxico e ser de fonte renovável.

O fluxo de materiais é um método de análise física de um processo de produção para determinar a convergência de insumos em um sistema de produção. O conhecimento e relação completa dos fluxos de materiais subsidiam quaisquer análises ambientais (análise de energia, síntese de energia, análise de ciclo de vida e inventários de carbono) e econômicas. Esses insumos podem ser utilizados diretamente (insumos transformados para que um produto seja obtido) ou indiretamente, (insumos que não sofrem transformação: mão-de-obra, energia demandada e infra-estrutura) (ROMANELLI; MILAN, 2010).

A análise de energia é uma técnica usada para examinar o caminho pelo qual fontes de energia são aproveitadas para desempenhar funções úteis. Por meio dela os pontos de maior

demanda de energia podem ser encontrados e se possível remediados em uma cadeia produtiva (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979).

A etapa de produção de biodiesel tem como principais insumos o óleo e o álcool (metanol ou etanol). A adoção pela rota metílica e etílica vai depender da eficiência do processo e o custo do álcool (CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010). Atualmente o etanol vem ganhando espaço na indústria de biodiesel devido principalmente aos apelos ambientais e econômicos, como é o caso do Brasil (RAMOS et al., 2003).

Angarita (2008) e colaboradores analisaram a possibilidade de se inserir uma usina integrada entre a produção de cana de açúcar e biodiesel. A ideia foi extrair o óleo com etanol e simultaneamente realizar a esterificação. Saad et al. (2008) e Tomazin Junior (2008) testaram a esterificação da miscela rica após a extração de óleo de soja com etanol e, produziram biodiesel com rendimento em massa aproximado de 92% na presença de catalisador metóxido de sódio. A produção de biodiesel a partir da transesterificação direta de miscela rica com acceptor de acila etanol, na presença de catalisador enzimático e químico foram realizados e apresentados nos capítulos anteriores.

O objetivo deste trabalho foi realizar uma análise comparativa do ponto de vista energético entre o processo convencional de produção de biodiesel a partir de óleo degomado e neutralizado de soja e o processo de transesterificação direta da miscela óleo-etanol. Os fluxos de materiais e de energia foram apresentados separadamente para cada etapa do processo: obtenção da soja laminada, extração com hexano e etanol como solvente, e produção de biodiesel com diferentes matérias-primas e catalisadores. O sumário do fluxo de energia e o balanço energético foram elaborados e a energia demandada das etapas foi comparada e discutida.

6.2 MATERIAL E MÉTODOS

A miscela rica proveniente da extração de óleo de soja com etanol foi submetida à reação de transesterificação com catalisador químico e enzimático como apresentados nos Capítulos 4 e 5. Os fluxos de material e os de energia possibilitaram a avaliação da viabilidade energética de produzir biodiesel utilizando miscela etanólica rica em óleo de soja. A avaliação foi concentrada nas etapas que mais demandaram energia, desde o processamento da soja laminada até o biodiesel final. A viabilidade do processo foi

determinada após comparar os fluxos de energia da produção industrial de ésteres etílicos e metílicos a partir de óleo de soja refinado e a partir de miscela rica de óleo de soja

6.2.1 Processamento de miscela rica e reação de transesterificação.

Os dados de extração de óleo com etanol e a reação de transesterificação direta da miscela rica em óleo foram obtidos em laboratório.

A extração de óleo com etanol ocorreu em planta semi-piloto nas condições apresentadas no Capítulo 3. Após resfriamento da miscela, duas fases líquidas foram obtidas: uma fase rica em óleo (miscela rica), com até 90% de óleo e outra fase rica em álcool (miscela pobre), com até 91% de etanol. A miscela pobre foi reutilizada como solvente nas extrações posteriores. A extração contou com quatro banhos (ciclos) em que os três primeiros foram de miscela pobre e o quarto ciclo, com etanol a 99%.

A miscela rica depois de filtrada foi submetida à reação de transesterificação química básica e enzimática nas condições de reação apresentadas na Tabela 6.2.

As características químicas da miscela rica e do óleo refinado, nos processos avaliados, estão apresentadas na Tabela 6.1.

Tabela - 6.1. Características do óleo degomado e da miscela rica em óleo

Óleo degomado ¹		Miscela rica	
Triglicerídeos	97,43%	Teor de lipídeos	90,00%
Ácidos graxos livres	0,75%	Ácidos graxos livres	0,50%
Fosfolipídeos	0,02%	Fosfolipídeos	0,57%
Materiais insaponificáveis	1,50%	Materiais insaponificáveis	1,00%
Outros	0,30%	Etanol	7,60%
		Água	0,31%

¹USDA and USDE (1998)

6.2.2 Fluxo de materiais

Os fluxos de materiais do processo em escala industrial e semi-piloto estão apresentados em tabelas com as entradas e saídas de materiais utilizados no processo de laminação, extração, refino e produção de biodiesel.

O método aplicado para análise física do processo foi o baseado no descrito por Romanelli e Milan (2010), seguindo três passos: 1. diagrama; 2. fluxo de materiais com insumos diretamente utilizados; 3. fluxo de materiais com os insumos indiretamente utilizados.

1. O diagrama, que no nosso estudo vem a ser o fluxograma, ilustra as etapas consideradas do processo em estudo (Figura 6.1.):

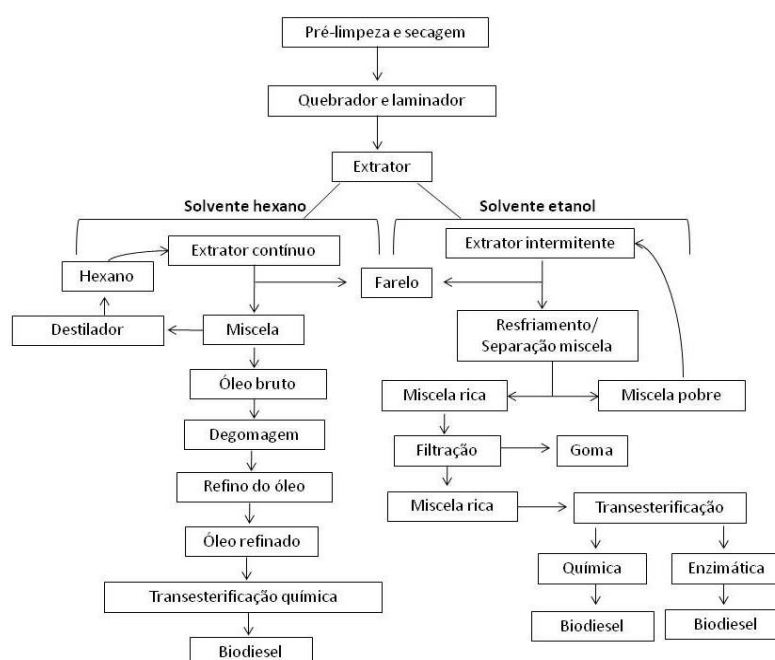


Figura 6.1 – Etapas consideradas nos cálculos dos fluxos de energia na produção de biodiesel

2. Determinação do fluxo de materiais com os insumos diretamente utilizados: foram considerados os insumos na ordem em que entram no processo de produção de biodiesel, deste o preparo da soja até reação de transesterificação, calculados em massas (kg) relativas às quantidades dos produtos químicos (solventes, ácidos, bases e catalisadores) envolvidos em cada etapa.

3. Determinação do fluxo de materiais com os insumos indiretamente utilizados: foi considerada apenas a demanda de energia sob a forma de eletricidade, vapor, diesel e gás natural. Os equipamentos e mão-de-obra não foram contabilizados por apresentarem valores baixos comparados aos demais itens utilizados.

Os insumos direta e indiretamente consumidos na planta industrial no preparo e na extração foram calculados com base nos dados de indústrias americanas (USDA e USDE, 1998) que são semelhantes às encontradas no Brasil. Já os dados da indústria de refino do

óleo, considerados no cálculo, foram os citados por Dorsa (2004). O processo comercial da extração de óleo de soja com hexano foi comparado com a extração em escala semi-piloto utilizando o etanol como solvente.

Tabela 6.2 – Parâmetros utilizados nos cálculos de fluxos de materiais e de energia da produção de biodiesel

	Óleo de soja		Miscela rica de óleo de soja ³		
	Via química ¹	Via química ²	Via química	Via enzimática	Via enzimática
Matéria-prima	Óleo de soja	Óleo de soja	MRF	MRF	MRF
Álcool usado	Etanol	Metanol	Etanol	Etanol	Etanol
Razão óleo:álcool	1:12	1:6	1:12	1:4,5	1:4,5
Catalisador	NaOH 0,3%	NaOH 1,0%	NaOH 0,67%	9,5% enzimas	9,5% enzimas
Temperatura	70°C	60°C	30°C	40°C	40°C
Co-solvente	-	-	-	-	5% terc-butanol
Ésteres Alquílicos	97,2%	90,0%	97,2%	85,4%	93%
Tempo reação (h)	2	1	1	24	24

¹:Kucek et al. (2007)

²: Keera, Sabagh, Taman (2011)

³: Valores apresentados nos capítulos 4 e 5.

MRF: Miscela rica filtrada

O processo de produção de biodiesel por reação de transesterificação pode variar entre usinas. Isto vai depender do tipo de matéria-prima e aceptor de acila (metanol ou etanol) empregados na obtenção dos ésteres (CASTRO; LIMA; PINHEIRO, 2010).

O processo de produção de biodiesel otimizado por Kucek et al. (2007) por rota etílica e Keena, Sabagh e Taman (2011) por rota metílica foram comparadas ao processo de transesterificação de miscela rica em óleo (Tabela 6.2).

Os valores calculados dos insumos do fluxo de materiais estão apresentados no Apêndice A.

6.2.3 Fluxos de energia

A partir dos fluxos de materiais foram calculados os fluxos de energia. Para isso, a quantidade dos insumos diretamente e indiretamente utilizados foi multiplicada pelo seu respectivo índice de energia incorporada (MJ/unidade). A energia incorporada (EI) de cada insumo foi obtida na literatura. Nas tabelas 6.3 a 6.7 são apresentados em ordem sequencial os itens e insumos que compõem o processo de produção de biodiesel bem como os valores de energia demandada em cada etapa.

A energia contida (EC) no farelo foi calculada somando a energia contida na fração protéica mais a fração lipídica. Considerou-se que o farelo tostado contém 50% de proteína e 1,5 % de teor de lipídeos em peso seco (REGITANO-D'ARCE, 2006). O farelo não tostado apresentou 48% de proteína e 4% de lipídeos em peso. A energia contida na fração protéica foi determinada por meio da multiplicação entre a massa de proteína (g) e energia contida na proteína 16,75 kJ/g (4 kcal/g). A energia contida na fração lipídica foi obtida pela multiplicação da massa de lipídeos (g) por 37,68 kJ/g (9 kcal/g).

A quantidade de calor demandada (Q) foi calculada por meio do produto da massa de uma substância pelo seu calor específico e pela variação de temperatura ($Q = m.c.\Delta T$) (BROWN; HOLME, 2010). O parâmetro calor foi adotado para padronizar a energia proveniente dos equipamentos utilizados no aquecimento dos reagentes e dos produtos da reação tais como o agitador magnético e a água do rota-evaporador. O calor demandado para o aquecimento da miscela rica, no preparo do catalisador, na evaporação do excesso de solvente e na água de lavagem, foi contabilizado e exibido no item energia em calor (Q). Os valores calculados estão apresentados no Apêndice A.

6.2.4 Balanço de energia

O balanço de energia foi obtido conforme Eq. 6.1, considerando como processo a produção de um quilo de biodiesel.

$$BE = \sum \text{Energia de saída} - \sum \text{Energia de entrada} \quad (6.1)$$

em que:

BE = balanço de energia (MJ);

\sum Energia de saída = soma da energia de saída (MJ);

\sum Energia de entrada = soma da energia de entrada dos insumos direta e indiretamente utilizados (MJ).

Para a energia de saída, foram realizados cálculos contabilizando apenas o biodiesel produzido e também considerando os co-produtos obtidos durante os diferentes processos de produção: casca, farelo e glicerina.

6.3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

A Figura 6.2 ilustra o balanço de massa das etapas envolvidas no processo para obtenção de 1000 kg de óleo degomado.

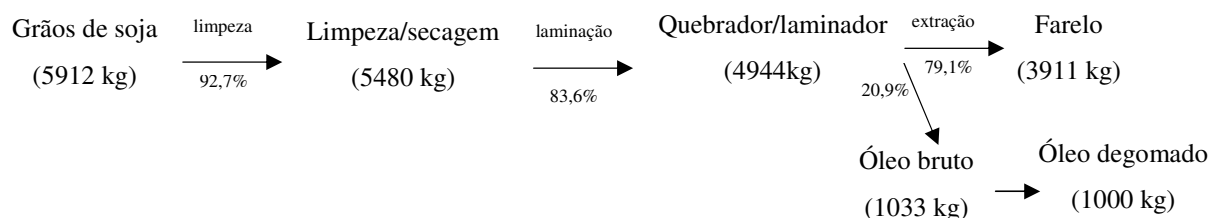


Figura 6.2- Balanço de massa do processo de extração para produzir de 1000 kg de óleo degomado (USDA e USDE, 1998)

Para se chegar a uma tonelada de óleo de soja, são necessárias seis toneladas de grãos, visto que a soja apresenta 18 a 20% de lipídeos, demandando 5870 MJ de energia (PIMENTEL; PATZEK, 2005).

A energia necessária para a produção de 1000 kg de soja laminada é de 9722 MJ, 72% da qual advém do cultivo da soja (Tabela 6.3). Com este alto custo energético da matéria-prima, todo o processo que se segue, já é onerado.

Tabela 6.3 - Fluxos de materiais e energia (FE) no preparo de soja para extração na obtenção 1000 kg de soja laminada

Item	Entrada	Fluxo de materiais		Fluxo de energia	
		Unid.	Quantidade	EI	MJ
1	Soja	kg	1196	5,87 ^b	7021
2	Eletricidade	kWh	51,3 ^a	15,00 ^c	770
3	Vapor	kg	91,9 ^a	4,49 ^c	413
4	Gás Natural	MJ	1333,0 ^a	1,14 ^c	1520
Energia total					9722
Saída					
5	Casca	kg	88,5	15,48 ^d	1370
Energia de saída					1370

^a: USDA e USDE (1998);

^b: Pimentel e Patzek (2005);

^c: Boustead e Hancock (1979);

^d: Poder calorífico MJ/kg (BUFFINGTON, 2008)

A extração com etanol demandou mais energia do que a com hexano devido à diferença entre os volumes de solvente utilizados em escala industrial e em escala semi-piloto (Tabela 6.4). A planta industrial contínua apresentada por USDA e USDE (1998) trabalha com recuperação e reuso de mais de 99% do hexano utilizados nos processos de extração e de tostagem do farelo. Em extrator intermitente o etanol é reciclado, porém, a cada ciclo de extração o volume adicionado deste solvente foi 10 vezes maior do que o utilizado em planta industrial com hexano. O etanol representou 33% do fluxo de energia, o que torna necessário reduzir 60% do seu volume para que esta etapa seja competitiva quanto a viabilidade energética.

Tabela 6.4 - Fluxos de materiais e de energia da extração do óleo com hexano e etanol

Item	Entrada	Unid.	Fluxo de materiais		EI	Fluxo de energia	
			Extração Hexano	Extração Etanol		Extração Hexano	Extração Etanol
			Quant.	Quant.		MJ	MJ
6	Soja laminada	kg	4944,00	4979,00	9,72 ^d	48056,00	48396,00
7	Eletricidade	kWh	130,70 ^a	15,70	15,00 ^c	1960,50	235,50
8	Vapor	kg	1639,92 ^a		4,49 ^c	7363,24	
9	Hexano	kg	9,99 ^a		48,60 ^c	485,41	
10	Etanol	L		9957,20	2,44 ^c		24295,52
11	Água	m ³	0,02 ^a	0,12	2,37 ^c	0,05	0,28
12	Filtro	kg		19,92	29,00		577,19
Energia total						57865,30	73504,49
Saída							
13	Óleo degomado	kg	1000,00				
14	Miscela	kg		1000,00			
15	Farelo	kg	3911,00 [*]	3938,00 ^{**}	15,4 ^b	60229,40	60645,20
Energia de saída						60229,40	60645,20

*: Farelo tostado;

** : Farelo não tostado;

^a: USDA e USDE (1998);

^b: Poder calorífico do farelo (MJ/kg) (PATZEK, 2009);

^c: Boustead e Hancock (1979);

^d: Entrada de energia produção de grão de soja (Tabela 6.3);

^e: Macedo (2008)

Como já citado, o processo de tostagem é uma das etapas que mais demandam energia no processo de obtenção de óleo e farelo (PIMENTEL; PATZEK, 2005; SMITH; JANZEN; NEWLANDS, 2007). O farelo ainda úmido de hexano deve ser tostado para eliminação do

solvente, que é tóxico, e inativação dos compostos antinutricionais. O farelo obtido da extração com etanol não necessita de tostagem porque os compostos antinutricionais foram eliminados durante a extração, conforme os resultados apresentados no Capítulo 3. O farelo é o co-produto mais abundante na cadeia produtiva de biodiesel de óleo de soja, representando 79% da soja laminada que entra no processo (USDA; USDE, 1998). A energia atribuída ao farelo pode ser interpretada de duas maneiras: 1) energia contida ou alimentar, que se trata da energia potencial química no farelo disponível na digestão; 2) energia liberada pelas ligações químicas, a qual é percebida pela combustão do farelo em calorímetro, também definida como poder calorífico (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979). Apenas a energia química do farelo foi contabilizada no balanço de energia.

Os farelos tostado (proveniente da extração com hexano) e não tostado (proveniente da extração com etanol) apresentaram energia contida de 34,7 GJ e 38,0 GJ, respectivamente. O farelo não tostado é mais energético (3,3 GJ) devido ao teor de lipídeos em sua composição, o que agrega valor ao produto. De acordo com Smith, Janzen; Newlands (2007), o que favorece o balanço energético da produção de biodiesel é a energia incorporada ao biocombustível somado a dos co-produtos (farelo e glicerol).

Tabela 6.5 - Fluxos de material e de energia do processo de refino do óleo de soja

Item	Entrada	Fluxo de materiais		Fluxo de energia	
		Unid.	Quant.	EI	MJ
16	Óleo degomado	kg	1002,0 ^a	57,86 ^b	57975,7
17	Elettricidade	kWh	12,6 ^a	15,00 ^c	189,0
18	Vapor	kg	209,4 ^a	4,49 ^c	940,2
19	Diesel	kg	3,6 ^a	53,73 ^c	193,4
20	Água	m ³	0,3 ^a	2,37 ^c	0,7
21	Ar comprimido	m ³	1,3 ^a	0,84 ^c	1,1
22	NaOH	kg	4,5 ^a	47,70 ^d	214,6
23	Ácido fosfórico	kg	0,5 ^a	20,78 ^e	10,4
24	Ácido cítrico	g	10,0 ^a		
25	Terras clarificantes	kg	3,5 ^a	0,07 ^f	0,2
Energia total					59525,3
Saída					
26	Óleo refinado	kg	1000,0		

^a: Dorsa (2004);

^b: Entrada de energia na produção de soja laminada (Tabela 6.4);

^c: Boustead e Hancock (1979);

^d: Soda caustica produzida a partir de cloreto de sódio (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979);

^e: Produção de ácido fosfórico 75% a partir de fosfato (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979);

^f: Argila proveniente do solo (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979)

O fluxo de energia no processo de refino de 1000 kg de óleo degomado mostrou ser a etapa que menos demandou energia (Tabela 6.5). Porém, nesta etapa do processo, são gerados pelo menos dois resíduos de operação: a borra e as terras clarificantes, provenientes do processo de neutralização e clarificação do óleo, respectivamente. Como o foco deste trabalho foi fluxo de energia, não foi analisado o impacto que esses resíduos podem ocasionar ao ambiente.

A vantagem de produzir miscela rica está em não necessitar de refino, o que favorece o balanço energético e não gera resíduo.

A etapa de produção do biodiesel, com óleo refinado e miscela rica, teve seu fluxo de energia apresentado nas Tabelas 6.6 e 6.7 respectivamente. Entre os processos de produção de biodiesel utilizando óleo refinado, a transesterificação com etanol (etanólise) é mais viável energeticamente do que utilizando metanol (metanólise). Conforme o fluxo de energia, o metanol foi o componente que mais demandou energia nesta etapa (Tabela 6.6).

Tabela 6.6 - Fluxos de materiais e fluxos de energia na produção de 1000 kg de biodiesel a partir de óleo refinado e catalisador químico

Item	Entrada	Fluxo de materiais			EI	Fluxo de energia	
		Unid.	Etanólise	Metanólise		Etanólise	Metanólise
			Quant. ^a	Quant. ^b		MJ	MJ
27	Óleo refinado	kg	980,0	1058,0	59,57 ^c	58339,4	62982,7
28	Calor (Q)	MJ	841,0	228,0		841,0	228,0
29	Metanol	kg		192,0	42,99 ^e		8254,0
30	Etanol	L	437,3		2,44 ^d	1067,0	
31	Água	m ³	0,60	1,0	2,37 ^c	1,4	2,4
32	NaOH	kg	2,9	10,6	47,70 ^f	138,3	505,6
33	Sulfato de sódio	kg	100,0	100,0	4,69 ^g	469,0	469,0
Energia total						60856,1	72441,7
Saída							
34	Biodiesel	kg	1000,0	1000,0	37,0 ^h	37000,0	37000,0
35	Glicerina*	kg	105,0	105,0	25,3 ⁱ	2656,5	2656,5
Energia de saída						39656,5	39656,5

Q: Energia em forma de calor;

*: Glicerina bruta contém 80% de glicerol;

^a: Kucek et al. (2007);

^b: Keera, Sabagh e Taman (2011);

^c: Entrada de energia na produção de soja laminada somada ao do refino (Tabela 6.5);

^d: Macedo, Seabra e Silva (2008);

^e: Boustead e Hancock (1979);

^f: Soda caustica produzida a partir de cloreto de sódio (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979);

^g: Produzido a partir do cloreto de sódio e ácido sulfúrico (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979);

^h: Poder calorífico (MJ/kg) (USDA; USDE, 1998);

ⁱ: Poder calorífico da glicerina bruta (MJ/kg) (TRIGO et al. 2012)

Tabela 6.7 - Fluxos de materiais e energia na produção de 1000 kg de biodiesel com miscela rica e catalisador químico e enzimático

Item	Entrada	Fluxo de materiais				EI	Fluxo de energia		
		Unid.	Via química	Via enzimática			Via química	Via enzimática	
			Quant.	Quant.	Quant.		MJ	MJ	MJ
36	Miscela rica	kg	1088,0	1239,0	1138,0	73,50 ^a	79968,0	91066,5	83643,0
37	Calor (Q)	MJ	785,0	682,0	806,0		785,0	682,0	806,0
38	Etanol	L	244,6	81,1	92,5	2,44 ^b	596,8	197,9	225,7
39	Água	m ³	0,5			2,37 ^c	1,2		
40	NaOH	kg	6,7			47,70 ^d	319,6		
41	Novozym [®] 435	kg		105,9	97,3	348,96 ^f		36954,9	33953,8
42	Sulfato de sódio	kg	100,0			4,69 ^e	469,0		
43	Terc-butanol	kg			51,2	47,04 ^g			2408,4
Energia total							82139,6	128901,3	121036,9
Saída									
44	Biodiesel	kg	1000	1000	1000	37,0 ^h	37000,0	37000,0	37000,0
45	Glicerina*	kg	105	105	105	25,3 ⁱ	2656,5	2656,5	2656,5
Energia de saída							39656,5	39656,5	39656,5

Q: Energia em forma de calor;

*: Glicerina bruta contém 80% de glicerol;

^a: Entrada de energia na produção de soja laminada (Tabela 6.5);

^b: Macedo, Seabra e Silva (2008);

^c: Boustead e Hancock (1979);

^d: Soda caustica produzida a partir de cloreto de sódio (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979);

^e: Produzido a partir do cloreto de sódio e ácido sulfúrico (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979);

^f: Fibra acrílica (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979). O suporte da Novozym[®]435 é constituído de um polímero de ácido metacrílico ligado ao vinilbenzeno, o que forma a resina polimetilmetacrilato (JOSÉ et al. 2011), conhecida como acrílico;

^g: Produção do propileno proveniente da nafta (BOUSTEAD; HANCOCK, 1979). O terc-butanol é derivado do isobutano, o qual é co-produto da produção do óxido de propileno;

^h: Poder calorífico (MJ/kg) (USDA; USDE, 1998);

ⁱ: Poder calorífico da glicerina bruta (MJ/kg) (TRIGO et al. 2012);

Quanto à produção de biodiesel com miscela rica, a transesterificação por via química foi a mais viável energeticamente (Tabela 6.7). A catálise enzimática demandou 1,6 vez mais energia que a reação via química, o que foi atribuído à quantidade de Novozym[®]435 e em especial à composição do suporte em que a lipase foi imobilizada, composto de polimetilmetacrilato (Tabela 6.7). A energia demandada pelo suporte da enzima correspondeu a 28% do fluxo de energia na produção de 1000 kg de biodiesel. Avaliando o processo em um contexto geral dentro do estudo proposto, a obtenção da matéria-prima (cultivo e laminação da soja) foi o que demandou mais energia no processo, seguida da extração e da produção do biodiesel (Tabela 6.8).

A extração do óleo foi a segunda etapa de maior demanda de energia. O etanol como solvente em extrator intermitente não demonstrou ser energeticamente viável comparado ao hexano em extrator tipo carrossel devido o elevado consumo de etanol (Tabelas 6.4 e 6.8).

Pelo fluxo de energia verificou-se que a etapa de transesterificação por via química com miscela rica foi a que menos demandou energia, seguida da etanólise e metanólise com óleo refinado. A catálise enzimática com a Novozym[®]435 na presença ou não de co-solvente foram as que mais demandaram energia (Tabela 6.7 e Figura 6.3).

Embora muitos trabalhos cite que a reação enzimática tem a vantagem, frente ao catalisador químico, de não gerar resíduos, o presente trabalho demonstrou que a viabilidade desse processo somente será possível com o desenvolvimento de novos suportes para imobilizar as lipases.

Tabela 6.8 – Inventário dos fluxos de energia das etapas do processo e balanço energético para produzir um quilo de biodiesel

Etapas do processo	Fluxo de energia									
	Extração Hexano				Extração Etanol					
	Etanólise		Metanólise		Via química		Enzima		Enzima e co-solvente	
	MJ	%	MJ	%	MJ	%	MJ	%	MJ	%
	Energia de Entrada									
Cultivo da soja	34,1	56,0	36,8	50,7	38,0	46,4	43,3	33,6	39,8	32,8
Laminação	13,1	21,6	14,2	19,6	14,7	17,8	16,7	12,91	15,3	12,7
Extração	9,6	15,8	10,4	14,4	27,3	33,2	31,1	24,1	28,5	23,5
Refino	1,5	2,5	1,6	2,2						
Transesterificação	2,5	4,1	9,5	13,1	2,2	2,6	37,8	29,3	37,4	31,0
Energia de entrada total	60,8		72,4		82,1		128,9		121,0	
	Energia de saída									
Casca da soja	6,6	6,3	7,2	6,5	7,4	6,5	8,4	6,8	7,8	6,7
Farelo	59,4	56,2	63,8	57,6	66,0	58,4	75,1	61,0	69,0	59,3
Biodiesel	37,0	35,0	37,0	33,5	37,0	32,8	37,0	30,1	37,0	31,8
Glicerina	2,6	2,5	2,6	2,4	2,6	2,3	2,6	2,1	2,6	2,2
Energia de saída total	105,8		110,7		113,1		123,2		116,4	
	Balanço de energia									
Sem co-produtos	-23,8		-35,4		-45,1		-91,9		-84,0	
Com co-produtos	44,9		38,2		31,0		-5,7		-4,6	

O menor fluxo de energia entre os processos analisados foi o processo utilizando óleo refinado, catalisador químico e etanol como aceptor de acila que demandou 60,8 MJ/kg de biodiesel seguido do processo com metanol e óleo refinado (Figura 6.3).

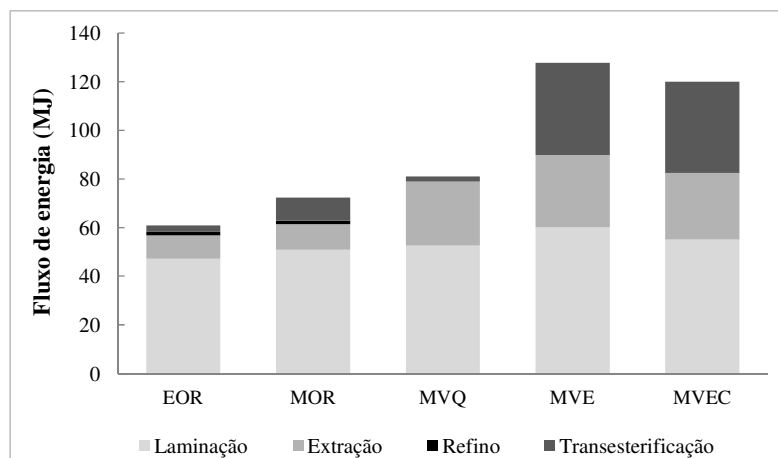


Figura 6.3 – Fluxo de energia dos processos avaliados da produção de biodiesel: etanólise do óleo refinado (EOR), metanólise do óleo refinado (MOR), miscela rica via química (MVQ), miscela rica via enzimática (MVE) e miscela rica via enzimática com co-solvente (MVEC)

O balanço de energia para a cadeia produtiva de biodiesel foi negativo quando a energia de saída dos co-produtos não foram contabilizadas. Entretanto, com o seu acréscimo, três dos cinco processos avaliados apresentaram balanço energético positivo, sendo um deles a produção de biodiesel com miscela rica.

O retorno sobre o investimento de energia, (*Energy Return on Investment-EROI*) é a quantidade de energia de saída dividida pela quantidade de energia de entrada no processo. Quando o EROI apresentar valor maior que 1 significa que o sistema produz mais energia do que consome, comprovando a viabilidade energética do processo (ULGIATI, 2001; CAVALETTI; ORTEGA, 2010). O EROI foi de 1,7, 1,5 e 1,4 para os processos produtivos de biodiesel com óleo refinado por etanólise, por metanólise e o com miscela rica por via química, respectivamente. O biodiesel produzido por etanólise (óleo refinado) demonstrou ser o mais viável, seguido da metanólise (óleo refinado) e da transesterificação direta da miscela rica por via química.

A produção de biodiesel com o uso de catalisador Novozym[®] 435 apresentou balanço energético negativo, o que foi atribuído à elevada energia demandada na produção do suporte (Tabela 6.7).

O diesel apresenta energia incorporada de 54 MJ/kg e 45 MJ/kg de energia de saída, o que resulta em balanço energético negativo quando não se contabiliza a energia de saída dos co-produtos gerados durante a destilação fracionada do petróleo (BOUSTEAD; HANCOCK,

1979). Os processos de produção de biodiesel avaliados apresentaram balanço energético negativo, com valores inferiores ao do diesel, quando a energia de saída dos co-produtos não foi contabilizada. Porém, o quadro se reverte ao incluir a energia dos co-produtos, em que todos os processos apresentaram balanço energético superior ao do diesel, o que reforça a importância de incluir a energia de saída dos co-produtos apresentada neste estudo juntamente com de Smith, Janzen; Newlands (2007).

Os co-produtos contribuíram largamente para a viabilidade energética dos processos para produção de biodiesel, o quais representaram mais de 60% da energia de saída, em que o farelo apresentou mais de 50% desta energia, seguido da casca de soja (>6%) e o glicerol (>2%) (Tabela 6.8).

Embora o balanço de energia demonstrasse viabilidade na produção de biodiesel com miscela rica e catalisador químico, o fluxo de energia indicou que o processo de extração deve ser aperfeiçoado. O extrator pode ser melhorado e o consumo de etanol reduzido. Com a melhora desta etapa a demanda de energia será reduzida e o processo se tornará energeticamente viável e ambientalmente sustentável ao substituir o hexano pelo etanol.

6.4 CONCLUSÕES

Os fluxos de energia comprovam que a obtenção da matéria-prima graxa é a etapa que mais demandou energia na produção de biodiesel. A extração com hexano em escala industrial mostrou-se energeticamente mais viável devido ao elevado consumo de etanol na etapa de extração de óleo em escala semi-piloto. O processo de refino embora represente a etapa de menor demanda (2,0%), é responsável pela geração de resíduos e co-produtos que devem ser tratados. A etapa de produção de biodiesel a partir de miscela rica e catalisador químico foi energeticamente a mais viável, o que justifica a necessidade de aperfeiçoar a extração com etanol.

De modo geral, a transesterificação com óleo refinado, etanol e catalisador químico apresentou o menor fluxo de energia (60,8 MJ/kg), e isso foi atribuído a etapa de extração com hexano. O desenvolvimento de modelos de extratores e otimização do processo para a produção de miscela rica em escala industrial podem levar a sua viabilidade energética.

A energia de saída dos co-produtos favorecem o balanço de energia, o qual demonstrou que a miscela rica tem potencial para produzir biodiesel de maneira competitiva ao biodiesel com óleo refinado e ao diesel.

Além disso, o farelo proveniente da extração com etanol apresenta mais energia alimentar e não necessita de tostagem, o que representa vantagem perante a extração com solvente hexano.

REFERÊNCIAS

ANGARITA, E.E.Y.; LORA, E.E.S.; COSTA, R.E.; LAMÔNICA, H.M.; FINGUERUT, J.; RAMIREZ, G.A.S.; NASCIMENTO, M.A.R. Produção de óleos vegetais e biodiesel: tecnologia e análise de ciclo de vida. In: CORTEZ, L.A.B.; LORA, E.E.S.; GOMEZ, E.O. **Biomassa para energia**. Campinas: Editora Unicamp. 2008. 732 p.

BECKEL, A. C.; BELTER, P. A.; SMITH, A. K. The Nondistillation Alcohol Extraction Process for Soybean. **Journal of the American Oil Chemists' Society**, Chicago, Jan:10-11, 1948.

BOUSTEAD, I.; HANCOCK, G. F. **Handbook of industrial energy analysis**. England: Ellis Horwood, 1979. 422 p.

BROWN, L. S.; HOLME, T. A. **Química geral aplicada à engenharia**. São Paulo: Cengage Learning, 2010. 653 p.

BUFFINGTON, D.E. Performing energy calculations, **Report H83**. Pennsylvania State University, p. 4, 2008.

CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; PINHEIRO, N. P. A indústria de produção de biodiesel no Brasil. In: CASTRO, A. M. G.; LIMA, S. M. V.; SILVA, J. F. V. **Complexo Agroindustrial de Biodiesel no Brasil: Competitividade das cadeias produtivas de matérias-primas**. Brasília, DF: Embrapa Agroenergia, 2010.

CAVALETTI, O.; ORTEGA, E. Integrated environmental assessment of biodiesel production from soybean in Brazil. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 18, p. 55-70, 2010.

DORSA, R. **Tecnologia de óleos vegetais**. Campinas: Ideal, 2004. 463 p.

KEERA, S. T.; EL SABAGH, S. M.; TAMAN, A. R. Transesterification of vegetable oil to biodiesel fuel using alkaline catalyst. **Fuel**, Guildford, v. 90, p. 42-47, 2011.

KUCEK, K. T.; OLIVEIRA, M. A. F. C.; WILHELM, H. M.; RAMOS, L. P. Ethanolysis of refined soybean oil assisted by sodium and potassium hydroxides. **Journal American Oil Chemists' Society**, Chicago, v. 84, n. 4, p. 385-392, 2007.

MACEDO, I. C.; SEABRA, E. A.; SILVA, J. E. A. R. Green house gases emissions in the production and use of ethanol from sugarcane in Brazil: The 2005/2006 averages and a prediction for 2020. **Biomass and Bioenergy**, Amsterdam, v. 32, p. 582-595, 2008.

PATZEK, T.W, A first law thermodynamic analysis of biodiesel production from soybean. **Bulletin of Science, Technology & Society**, London, v. 29, n. 3, p. 94-204, 2009.

PIMENTEL, D.; PATZEK, T. W. Ethanol Production Using Corn, Switchgrass, and Wood; Biodiesel Production Using Soybean and Sunflower. **Natural Resources Research**, New York, v. 14, n. 1, p. 65-76, 2005.

RAMOS, L.P.; KUCEK, K.T.; DOMINGOS, A.K.; WILHELM, H.M. Biodiesel: um projeto de sustentabilidade econômica e sócio-ambiental para o Brasil. **Revista de Biotecnologia, Ciência e Desenvolvimento**, Ed. 31, jul.-dez., p. 28-37, 2003

REGITANO-D'ARCE, M. A. B. Produtos protéicos de soja. In: OETTERER, M.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; SPOTO, M. H. F. **Fundamentos de ciência e tecnologia de alimentos**. São Paulo: Manole, 2006b. cap. 7, p. 355-402.

ROMANELLI, T. L.; MILAN, M. Material flow determination through agricultural machinery management. **Scientia Agricola**, Piracicaba, v. 67, n. 4, p. 375-495, 2010.

SAAD, F.; REGITANO-D'ARCE, M. A. B.; VIEIRA, T. M. S.; MATTOS, E. Produção de mistelas hidroalcoólicas para a transesterificação direta. In: CONGRESSO NACIONAL DE PLANTAS OLEAGINOSAS, ÓLEOS, GORDURAS E BODIESEL, 4., 2007, Varginha, MG. Lavras: UFLA, 2007.

SMITH, E.G.; JANZEN, H.H.; NEWLANDS, N.K. Energy balances of biodiesel production from soybean and canola in Canada. **Canadian Journal of Plant Science**. v. 87, p. 793-801, 2007.

TOMAZIN JUNIOR, C. **Extração de óleo de soja com etanol e transesterificação etílica na miscela**. 2008. 64 p. Dissertação (Mestrado) – Escola Superior d Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piraciaba, 2008.

TRIGO, I.L.A.; MARTINI, A.M.; FRANCISCO, E.; HUSAMI, M.S. **Biodiesel - Barriers, Potential and Impacts**. Disponível em: www.esru.strath.ac.uk/EandE/Web_sites/06-07/Biodiesel/experiment.htm. Acesso em: 29 jun. 2012.

ULGIATI, S. A comprehensive energy and economic assessment of biofuels: when “green” is not enough. **Critical Reviews in Plant Sciences**, London, v. 20, n. 1, p. 71–106, 2001.

USDA/USDE. **Life cycle inventory of biodiesel and petroleum diesel for use in an urban bus**. Washington, DC: USDA, 1998. 314 p.

7. CONSIDERAÇÕES FINAIS

A extração do óleo de soja laminada com três banhos de miscela pobre e um último banho com etanol 99% (v/v) apresentou eficiência de 83%, sendo o procedimento adotado para a produção de miscelas. Porém, a eficiência deve ser melhorada buscando reduzir o óleo residual do farelo por meio de outros modelos de extratores. A miscela rica (óleo:etanol) em óleo apresentou características adequadas para ser utilizada na produção de biodiesel. Além disso, o farelo apresentou propriedades adequadas para uso em alimentação animal, com isenção de compostos antinutricionais e alto teor protéico (48% na base úmida), sem passar por tratamento térmico.

Quanto à transesterificação direta de miscela rica, o método de superfície de resposta foi satisfatório para determinar as melhores condições experimentais de reação na transesterificação direta com catalisador químico (NaOH) e enzimático (Novozym[®]435).

O rendimento em ésteres etílicos com catalisador químico foi 97,2%, entretanto o número de lavagens no biodiesel deverá ser aumentado para enquadrar os quatro parâmetros (etanol, glicerol, água e ponto de fulgor) dentro dos limites estabelecidos pela ANP (2008). Adsorventes devem ser testados para remover o glicerol e a água, dispensando a utilização de água.

A reação de transesterificação com catalisador enzimático (Novozym[®]435) foi realizada adicionando o etanol em uma única etapa por período de 24 horas de reação. A conversão chegou até 85,4%, o que ainda pode ser melhorada. As enzimas imobilizadas não puderam ser reutilizadas e tampouco recuperadas após sucessivas lavagens de solvente. Os fosfolipídeos aderidos ao suporte podem ter sido a principal causa da rápida desativação.

O terc-butanol como co-solvente na reação contribuiu com a dissolução do óleo e glicerol, e com isso, aumentou o rendimento dos ésteres chegando até 94%. Entretanto, não evitou a rápida inutilização da enzima pela fixação dos fosfolipídeos e/ou glicerol no suporte.

Enzimas comerciais podem ser aplicadas para remover o fósforo dos fosfolipídeos, aumentando a concentração de material lipídico e eliminação do fósforo no meio reacional. A análise do processo com acréscimo da etapa de degomagem poderia ser avaliada, haja vista os fosfolipídeos também agregarem valor energético sob a forma de lecitina.

O fluxo de energia comprovou que a extração do óleo é a etapa que demanda mais energia na produção de biodiesel. A obtenção da miscela apresentou maior demanda de energia devido a quantidade do etanol entrando no processo. Entretanto, o etanol é de fonte

prontamente renovável e merece credibilidade frente aos insumos derivados do petróleo. Além disso, a miscela não passa por processo de dessolventização e refino, o que evita geração de co-produtos.

O fluxo de energia demonstrou que a produção de biodiesel a partir de miscela rica utilizando o catalisador químico foi o mais viável comparada aos processos convencionais aplicados nas indústrias produtoras de biodiesel. A transesterificação direta da miscela utilizando o catalisador enzimático Novozym[®]435 foi a que mais demandou energia devido ao suporte do catalisador empregado. A reação com enzimas tem como principal importância separar o glicerol dos ésteres e de não gerar resíduos de lavagens. A busca por suportes mais baratos pode levar à viabilidade do processo.

Perante as conclusões apresentadas é possível afirmar que é viável a transesterificação de miscela rica. Entretanto, o processo de extração deve ser aplicado em outros extratores para reduzir o consumo de etanol e aumentar a eficiência do processo. A comparação entre uma planta tradicionalmente utilizada na indústria de extração de óleos com uma planta semi-piloto apenas aponta em que ponto houve maior demanda e como poderá ser minimizada.

Esse processo, se aperfeiçoado, pode suprir e baratear o combustível em localidades distantes das unidades fornecedoras de diesel. Em poucas etapas operacionais, é possível extrair a matéria-prima e transesterificá-la diretamente utilizando o mesmo solvente, sendo o etanol menos tóxico que o hexano.

APÊNDICE

APÊNDICE A

Preparo e laminação

1	Soja	1196 kg	
2	Eletricidade		
	Eletricidade	0,04293 kWh/kg	(USDA and USDE, 1998)
	Soja no processo	1196 kg	
	Total de eletricidade	51,3 kWh	
3	Vapor		
	Vapor	41,431 kcal/kg	(USDA and USDE, 1998)
	Conversão	539,6 kcal/kg vapor	Pauling (1960)
	Vapor	0,07687 kg/kg	
	Soja no processo	1196 kg	
	Total de vapor	91,9 kg	
4	Gás Natural		
	Gás Natural	266,275 kcal/kg	(USDA and USDE, 1998)
	Soja no processo	1196 kg	
	Gás natural	318464,9 kcal	
	Conversão	4186,8 J/kcal	
	Total de gás natural	1333 MJ	
5	Casca (7,4% da soja)	88,5 kg	

Extração do óleo

6	Soja laminada extração hexano	4944 kg	(USDA and USDE, 1998)
	Soja laminada extração hexano	4979 kg	(Obtidos no trabalho)
7	Eletricidade		
	Extração com hexano		
	Eletricidade	0,02643 kWh/kg	(USDA and USDE, 1998)
	Soja laminada no processo	4944 kg	
	Total de eletricidade	130,7 kWh	
	Extração com etanol		
	Eletricidade	0,00079 kWh/Kg	(Obtidos no trabalho)
	Tempo de extração	4 horas	
	Soja laminada no processo	4979 kg	
	Total de eletricidade	15,7 kWh	
8	Vapor		

	Vapor	179 kcal/kg	(USDA and USDE, 1998)
	Conversão	539,6 kcal/kg vapor	
	Vapor	0,3317 kg/kg soja	
	Soja laminada no processo	4944 kg	Pauling (1960)
	Total de vapor	1639,92 kg	
9	Hexano		
	Hexano	0,00202 kg/kg	(USDA and USDE, 1998)
	Soja laminada no processo	4944 kg	
	Total de hexano	9,99 kg	
10	Etanol		
	Etanol	2 L/kg	(Obtidos no trabalho)
	Soja laminada no processo	4979 kg	
	Total de etanol	9957,2 L	
11	Água		
	Extração com hexano		
	Água	0,00328 L/kg	(USDA and USDE, 1998)
	Soja laminada no processo	4944 kg	
	Volume de água	16,23 L	
	Conversão	0,001 m ³ /L	
	Total de água	0,02 m ³	
	Extração com etanol		
	Água	0,05 L/kg	(Obtidos no trabalho)
	Capacidade do equipamento	2 kg	
	Água	0,025 L/kg	
	Soja laminada no processo	4979 kg	
	Volume de água	124,5 L	
	Conversão	0,001 m ³ /L	
	Total de água	0,12 m ³	
12	Filtro de papel		
	Filtro de papel	0,004 kg/kg	(Obtidos no trabalho)
	Soja laminada no processo	4979 kg	
	Total de papel	19,92 kg	
13	Óleo degomado	1000 kg	(USDA and USDE, 1998)
14	Miscela etanólica	1000 kg	(Obtidos no trabalho)
15	Farelo		
	Extração com hexano	3911 kg	(USDA and USDE, 1998)
	Extração com etanol	3938 kg	(Obtidos no trabalho)

Refino do óleo

16	Óleo degomado	1002 kg	(USDA and USDE, 1998)
17	Eletricidade		
	Eletricidade	0,01255 kWh/kg	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Total de eletricidade	12,6 KWh	
18	Vapor		
	Vapor	0,209 kg/kg óleo	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Total de vapor	209,4 kg	
19	Diesel		
	Diesel	0,0036 kg/kg óleo	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Total de diesel	3,6 kg	
20	Água		
	Água	0,2925L/kg	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Volume de água	293,1 L	
	Conversão	0,001 m ³ /L	
	Total de água	0,3 m ³	
21	Ar comprimido		
	Ar comprimido	0,00117 m ³ /kg	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Ar comprimido no processo	1,17 m ³	
	Densidade ar	1,12 kg/ m ³	
	Total de ar comprimido	1,3 kg	
22	Hidróxido de sódio		
	Hidróxido de sódio	0,00448 kg/kg	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Total de hidróxido de sódio	4,5 kg	
23	Ácido fosfórico		
	Ácido fosfórico	0,0005 kg/kg	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Total de ácido fosfórico	0,5 kg	
24	Ácido cítrico		
	Ácido cítrico	0,01 g/kg óleo	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Total de ácido cítrico	10,0 g	
25	Terras clarificantes		

	Terras clarificantes	0,0035 kg/kg óleo	(Dorsa, 2004)
	Óleo degomado	1002 kg	
	Total de terras clarificantes	3,5 kg	
26	Óleo refinado	1000 kg	(USDA and USDE, 1998)
	Produção de Biodiesel		
27	Óleo refinado	980 kg	Kucek et al. (2007)
	Óleo refinado	1058 kg	Keera, Sabagh e Taman. (2011)
	Biodiesel com óleo de soja refinado e etanol		Kucek et al. (2007)
28	Quantidade de calor (Q)		
	Primeira etapa transesterificação		
	Calor específico de óleo de soja (c)	1960 J/kg K	http://www.sucrana.com.br/tabelas/densidade-relativa.pdf . Acesso 20 novembro 2011.
	Óleo de soja refinado (m)	980 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	70°C	
	Quantidade de energia óleo de soja ($Q_o=m.c.(Tf-Ti)$)	96040000 J	
	Total de energia	96,0 MJ	
	Segunda etapa transesterificação		
	Calor específico de óleo de soja (c)	1960 J/kg K	Kucek et al. (2007) http://www.sucrana.com.br/tabelas/densidade-relativa.pdf . Acesso 20 novembro 2011.
	Óleo de soja refinado (m)	980 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	30°C	
	Quantidade de energia óleo de soja ($Q_o=m.c.(Tf-Ti)$)	19208000 J	
	Total de energia	19,2 MJ	
	Aquecimento etanol		
	Primeira fase transesterificação		
	Calor específico do etanol a 20°C (c)	2420 J/kg K	Kucek et al. (2007) Pereira e Andrade (1998)
	Etanol (m)	552 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	70°C	
	Quantidade de energia ($Q_c=m.c.(Tf-Ti)$)	66792000 J	
	Total de energia para aquecer etanol	66,8 MJ	
	Segunda fase transesterificação		
	Calor específico do etanol a 20°C (c)	2420 J/kg K	Kucek et al. (2007) Pereira e Andrade (1998)
	Etanol (m)	276 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	30°C	

	Quantidade de energia ($Q_c=m.c.(T_f-T_i)$)	6679200 J	
	Total de energia para aquecer etanol	6,7 MJ	
	Aquecimento da água do rota-evaporador		Kucek et al. (2007)
	Calor específico água (c)	4180 J/kg K	Brown e Holme (2009)
	Água no sistema (m)	3000 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	60°C	
	Quantidade de energia etanol ($Q_a=m.c.(T_f-T_i)$)	501600000 J	
	Total de energia	502 MJ	
	Aquecimento da água de lavagem		Kucek et al. (2007)
	Calor específico água (c)	4180 J/kg K	Brown e Holme (2009)
	Água no sistema (m)	600 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	80°C	
	Quantidade de energia etanol ($Q_a=m.c.(T_f-T_i)$)	150480000 J	
	Total de energia	150 MJ	
	Biodiesel com óleo de soja refinado e metanol		Keera, Sabagh, Taman (2011)
28	Quantidade de energia térmica (Q)		
	Calor específico de óleo de soja (c)	1960 J/kg K	http://www.sucrana.com.br/tabelas/densidade-relativa.pdf . Acesso 20 novembro 2011.
	Óleo de soja refinado (m)	1058 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	60°C	
	Quantidade de energia óleo de soja ($Q_o=m.c.(T_f-T_i)$)	82947200 J	
	Total de energia	83 MJ	
	Aquecimento metanol		Keera, Sabagh, Taman (2010)
	Calor específico do metanol a 25°C (c)	2533 J/kg K	Pereira e Andrade (1998)
	Metanol (m)	196 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	60°C	
	Quantidade de energia ($Q_c=m.c.(T_f-T_i)$)	19858720 J	
	Total de energia para aquecer etanol	20 MJ	
	Aquecimento da água de lavagem		
	Calor específico água (c)	4180 J/kg K	Brown e Holme (2009)
	Água no sistema (m)	1000 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	50°C	
	Quantidade de energia etanol ($Q_a=m.c.(T_f-T_i)$)	125400000 J	
	Total de energia	125 MJ	

29	Metanol		
	Óleo refinado	1058 kg	Keera, Sabagh, Taman (2011)
	Metanol na reação (razão molar 1:6 óleo:etanol)	192 kg	
	Total de metanol adicionado a cada reação	192 Kg	
30	Etanol		
	Óleo refinado	980 kg	Kucek et al. (2007)
	Primeira etapa		
	Etanol na reação (razão molar 1:12 óleo:etanol)	552 kg	
	Segunda etapa		
	Etanol presente na reação 50% (razão molar 1:12 óleo:etanol)	276 kg	
	Etanol recuperado (70%)	483 kg	
	Massa de etanol adicionado	345 kg	
	Gravidade específica do etanol	0,789 kg/L	
	Total de etanol	437,3 L	
31	Água		
	Biodiesel óleo refinado (via química) com etanol		Kucek et al. (2007)
	Água por lavagem	100 L	
	Número de lavagens	6	
	Volume de água	600 L	
	Conversão	0,001 m ³ /L	
	Total de água	0,60 m ³	
	Biodiesel óleo refinado (via química) com metanol		Keera, Sabagh e Taman (2011)
	Água por lavagem	100 L	
	Número de lavagens	10	
	Volume de água	1000 L	
	Conversão	0,001 m ³ /L	
	Total de água	1,0 m ³	
32	Catalisador		
	Biodiesel óleo refinado (via química) com etanol		Kucek et al. (2007)
	Hidróxido de sódio (NaOH)	0,3% (m/m óleo)	
	Óleo de soja refinado	980 kg	
	Total de hidróxido de sódio	2,9 kg	
	Biodiesel óleo refinado (via química) com metanol		Keera, Sabagh e Taman (2011)
	Hidróxido de sódio (NaOH)	1,0% (m/m óleo)	
	Óleo de soja refinado	1058 kg	
	Total de hidróxido de sódio	10,6 kg	
33	Sulfato de sódio		

	Biodiesel óleo refinado (via química) com etanol		Kucek et al. (2007)
	Sulfato de sódio	10% (m/m biodiesel)	
	Ésteres etílicos (biodiesel)	1000 kg	
	Total sulfato de sódio	100 kg	
	Biodiesel óleo refinado (via química) com metanol		Keera, Sabagh e Taman (2011)
	Sulfato de sódio	10% (m/m biodiesel)	
	Ésteres etílicos (biodiesel)	1000 kg	
	Total de sulfato de sódio	100 kg	
34	Biodiesel	1000 kg	
35	Glicerina	105 kg	
36	Miscela rica		
	Miscela rica (via química)	1088 kg	(Obtidos no trabalho)
	Miscela rica (via enzimática)	1239 kg	(Obtidos no trabalho)
	Miscela rica com co-solvente (via enzimática)	1138 kg	(Obtidos no trabalho)
37	Quantidade de calor (Q)		
	Biodiesel miscela rica (via química)		(Obtidos no trabalho)
	Quantidade de calor para aquecer miscela rica ($Q = m \cdot c \cdot (T_f - T_i)$)		(Obtidos no trabalho)
	Calor específico de óleo de soja (c)	1960 J/kg K	http://www.sucrana.com.br/tabelas/densidade-relativa.pdf . Acesso 20 novembro 2011.
	Óleo da miscela rica (m)	1006 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	30°C	
	Quantidade de calor no aquecimento do óleo de soja (Q_o)	19717600 J	
	Calor específico do etanol a 20°C (c)	2420 J/kg K	Pereira e Andrade (1998)
	Etanol (7,6% massa miscela) (m)	83 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	30°C	
	Quantidade de calor etanol (Q_e)	2001896 J	
	$Q_e + Q_o$	21719496 J	
	Total de calor no aquecimento de miscela rica	21,7 MJ	
	Preparo do catalisador		(Obtidos no trabalho)
	Calor específico do etanol a 20°C (c)	2420 J/kg K	Pereira e Andrade (1998)
	Etanol (m)	469 kg	
	Temperatura inicial (Ti)	20°C	
	Temperatura final (Tf)	30°C	

Quantidade de calor ($Q=m.c.(T_f-T_i)$)	11349800 J	
Total de calor para aquecimento do etanol	11,3 MJ	
Aquecimento da água do rota-evaporador (Obtidos no trabalho)		
Calor específico água (c)	4180 J/kg K	Brown e Holme (2009)
Água no sistema (m)	3000 kg	
Temperatura inicial (T_i)	20°C	
Temperatura final (T_f)	70°C	
Quantidade de calor ($Q = m.c.(T_f-T_i)$)	627000000 J	
Total de calor para aquecimento da água	627 MJ	
Aquecimento da água de lavagem (Obtidos no trabalho)		
Calor específico água (c)	4180 J/kg K	Brown e Holme (2009)
Água no sistema (m)	500 kg	
Temperatura inicial (T_i)	20°C	
Temperatura final (T_f)	80°C	
Quantidade de calor ($Q_a=m.c.(T_f-T_i)$)	125400000 J	
Total de calor no aquecimento de água	125 MJ	
Biodiesel com miscela rica (via enzimática) (Obtidos no trabalho)		
Quantidade de calor para aquecer miscela rica ($Q= m.c.(T_f-T_i)$) (Obtidos no trabalho)		
Calor específico de óleo de soja (c)	1960 J/kg K	http://www.sucrana.com.br/tabelas/densidade-relativa.pdf . Acesso 20 novembro 2011.
Óleo da miscela rica (m)	1144 kg	
Temperatura inicial (T_i)	20°C	
Temperatura final (T_f)	40°C	
Quantidade de calor aquecimento óleo de soja (Q_o)	44844800 J	
Calor específico do etanol a 20°C (c)	2420 J/kg K	Pereira e Andrade (1998)
Etanol (7,6% miscela rica) (m)	94 kg	
Temperatura inicial (T_i)	20°C	
Temperatura final (T_f)	40°C	
Quantidade de calor I (Q_e)	4549600 J	
$Q_e + Q_o$	49394400 J	
Total de calor no aquecimento de miscela rica	49,4 MJ	
Aquecimento de etanol (Obtidos no trabalho)		
Calor específico do etanol a 20°C (c)	2420 J/kg K	Pereira e Andrade (1998)
Etanol (m)	113 kg	
Temperatura inicial (T_i)	20°C	
Temperatura final (T_f)	40°C	
Quantidade de calor ($Q_c=m.c.(T_f-T_i)$)	5469200 J	
Total de calor no aquecimento de etanol	5,5 MJ	
Aquecimento da água do rota-evaporador		
Calor específico água (c)	4180 J/kg K	Brown e Holme (2009)
Água no sistema (m)	3000 kg	

Temperatura inicial (Ti)	20°C	
Temperatura final (Tf)	70°C	
Quantidade de calor ($Q_a = m.c.(Tf-Ti)$)	627000000 J	
Total de calor no aquecimento de água	627 MJ	
Biodiesel miscela rica com co-solvente (via enzimática)		(Obtido no trabalho)
Quantidade de calor (Q)		
Quantidade de calor para aquecer miscela rica ($Q = m.c.(Tf-Ti)$)	(Obtidos no trabalho)	
Calor específico de óleo de soja (c)	1960 J/kg K	http://www.sucrana.com.br/tabelas/densidade-relativa.pdf . Acesso 20 novembro 2011.
Óleo da miscela rica (m)	1052 kg	
Temperatura inicial (Ti)	20°C	
Temperatura final (Tf)	40°C	
Quantidade de calor aquecimento óleo de soja (Q_o)	41238400 J	
Calor específico do etanol a 20°C (c)	2420 J/kg K	Pereira e Andrade (1998)
Etanol (7,6% miscela rica) (m)	86 kg	
Temperatura inicial (Ti)	20°C	
Temperatura final (Tf)	40°C	
Quantidade de calor l (Q_e)	4162400 J	
$Q_e + Q_o$	45400800 J	
Total de calor no aquecimento de miscela rica	45,4 MJ	
Aquecimento de etanol		(Obtidos no trabalho)
Calor específico do etanol a 20°C (c)	2420 J/kg K	Pereira e Andrade (1998)
Etanol (m)	121 kg	
Temperatura inicial (Ti)	20°C	
Temperatura final (Tf)	40°C	
Quantidade de calor ($Q_c = m.c.(Tf-Ti)$)	5856400 J	
Total de calor no aquecimento de etanol	5,8 MJ	
Aquecimento da água do rota-evaporador		
Calor específico água (c)	4180 J/kg K	Brown e Holme (2009)
Água no sistema (m)	3000 kg	
Temperatura inicial (Ti)	20°C	
Temperatura final (Tf)	80°C	
Quantidade de calor ($Q_a = m.c.(Tf-Ti)$)	752400000 J	
Total de calor no aquecimento de água	752 MJ	
Aquecimento do terc-butanol		(Obtidos no trabalho)
Calor específico do terc-butanol a 20°C (c)	215,35 J/mol K	
Terc-butanol (m)	51 kg	
Molaridade terc-butanol	74,12g/mol	
Número de moles	688 moles	
Temperatura inicial (Ti)	20°C	

Temperatura final (Tf)	40°C
Quantidade de calor ($Q_c = m.c.(T_f - T_i)$)	2963216 J
Total de calor no aquecimento de terc-butanol	3,0 MJ

38 Etanol

Biodiesel miscela rica (via química) (Obtido no trabalho)

Etanol presente na miscela rica (7,6%) (E_m)	83 kg
Miscela rica	1088 kg
Etanol na reação (razão molar 1:12 óleo:etanol) (E_r)	552 kg
Etanol adicionado na reação ($E_r - E_m$)	470 kg
Etanol recuperado (70%)	276 kg
Gravidade específica	0,789 kg/L
Total de etanol adicionado	244,6 L

Biodiesel miscela rica (via enzimática) (Obtido no trabalho)

Etanol presente na miscela rica (7,6%) (E_m)	94 kg	(Obtido no trabalho)
Miscela rica	1239 kg	
Etanol na reação (razão molar 1:4,5 óleo:etanol) (E_r)	207 kg	
Etanol adicionado na reação ($E_r - E_m$)	113 kg	
Etanol recuperado (70%)	48 kg	
Gravidade específica	0,789 kg/L	
Total de etanol adicionado	81,1 L	

Biodiesel miscela rica com co-solvente (via enzimática) (Obtido no trabalho)

Etanol presente na miscela rica (7,6%) (E_m)	86 kg	(Obtido no trabalho)
Miscela rica	1138 kg	
Etanol na reação (razão molar 1:4,5 óleo:etanol) (E_r)	207 kg	
Etanol adicionado na reação ($E_r - E_m$)	121 kg	
Etanol recuperado (70%)	48 kg	
Gravidade específica	0,789 kg/L	
Total de etanol adicionado	92,5 L	

39 Água

Biodiesel miscela rica (via química) (Obtido no trabalho)

Água por lavagem	100 L
Número de lavagens	5
Volume de água	500 L
Conversão	0,001 m ³ /L
Total de água	0,5 m ³

40	Catalisador químico		
	Biodiesel miscela rica (via química)		(Obtido no trabalho)
	Hidróxido de sódio (NaOH)	0,68% (m/m óleo)	
	Miscela rica	1088 kg	
	Total de hidróxido de sódio	6,7 kg	
41	Catalisador enzimático		
	Biodiesel miscela rica (via enzimática)		(Obtido no trabalho)
	Enzima imobilizada Novozym [®] 435	9,5% (m/m óleo)	
	Miscela rica	1239 kg	
	Massa de óleo na miscela	1115	
	Total enzima imobilizada Novozym [®] 435	105,9 kg	
	Catalisador enzimático com co-solvente		
	Enzima imobilizada Novozym [®] 435	9,5% (m/m óleo)	(Obtido no trabalho)
	Miscela rica	1138 kg	
	Massa óleo de soja	1024	
	Total enzima imobilizada Novozym [®] 435	97,3 kg	
42	Sulfato de sódio		
	Sulfato de sódio	10% (m/m biodiesel)	(Obtido no trabalho)
	Ésteres etílicos (biodiesel)	1000 kg	
	Total sulfato de sódio	100 kg	
43	Terc-butanol		
	Concentração de terc-butanol	5% (m/m óleo)	(Obtido no trabalho)
	Massa terc-butanol	50g/kg	
	Massa óleo de soja na miscela	1024 kg	
	Total terc-butanol	51,2 kg	
44	Biodiesel	1000 kg	
45	Glicerina	105 kg	