

MICHELLE MENDES DA ROCHA GOMES

**PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DA
ESTERIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS
OBTIDOS POR HIDRÓLISE DE ÓLEO RESIDUAL
DE PEIXE**

EQ/UFRJ

SETEMBRO DE 2009

PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DA ESTERIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS OBTIDOS POR HIDRÓLISE DE ÓLEO DE PEIXE

MICHELLE MENDES DA ROCHA GOMES

Tese submetida ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre.

Orientador: Prof. Dr. Donato A. G. Aranda

Co-Orientador: Prof.^a Denise Maria Guimarães Freire

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Setembro de 2009

**PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DA
ESTERIFICAÇÃO DOS ÁCIDOS GRAXOS OBTIDOS
POR HIDRÓLISE DE ÓLEO DE PEIXE**

MICHELLE MENDES DA ROCHA GOMES

Tese submetida ao corpo docente do Programa de Pós-graduação em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre.

Aprovada por:

_____ Orientador

Prof. Dr. Donato A. G. Aranda

_____ Co-orientador

Prof. Dr. Denise Maria Guimarães Freire

_____ Examinador

Prof. Dr. Nei Pereira Junior

_____ Examinador

Prof. Dr. Marta Antunes Pereira Langone

_____ Examinador

Dr. Luciana Camacho Rodrigues

Rio de Janeiro, RJ – Brasil

Setembro de 2007

GOMES, Michelle Mendes da Rocha

Produção de biodiesel a partir da esterificação dos ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleo de peixe / Michelle Mendes da Rocha Gomes – Rio de Janeiro – 2009.

Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Escola de Química – EQ – 2009.

Orientadores: Prof. Dr. Donato A. G. Aranda , Prof^ª. Dr. Denise Maria Guimarães Freire

1. Hidrólise de triacilglicerídeos sobre ácido nióbico. 2. Esterificação de ácidos graxos obtidos por hidrolise. 3. Cinética química I. Aranda, Donato Alexandre Gomes (Orientador), Freire, Denise Maria Guimarães (co-Orientador). II. Produção de biodiesel a partir da esterificação dos ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleo de peixe

Um dia sem rir é um dia desperdiçado.

(Charles Chaplin)

“Não se acostume com o que não o faz feliz,

Revolte-se quando julgar necessário.

Alague seu coração de esperanças,

Mas não deixe que ele se afogue nelas.

Se achar que precisa voltar, volte!

Se perceber que precisa seguir, siga!

Se estiver tudo errado, comece novamente.

Se estiver tudo certo, continue.

Se sentir saudades, mate-a.

Se perder um amor, não se perca!

Se o achar, segure-o!”

(Fernando Pessoa)

Dedico esta dissertação aos meus pais, Lúcia Regina e José Alberto pelo apoio de sempre, pelos sacrifícios realizados, e por todo o amor e dedicação com os quais compartilharam minhas conquistas. AMO MUITO VOCÊS!

AGRADECIMENTOS

- ♥ Aos meus pais Alberto e Lúcia meus maiores líderes, que sempre me auxiliaram e me incentivaram na busca de meus sonhos, acreditando sempre em meu potencial.

- ♥ À minha irmã, pelo companheirismo e amizade que já duram 18 anos.

- ♥ Ao meu avô querido, por sempre me defender, me bajular e me enaltecer mesmo quando eu não mereço.

- ♥ Aos amigos, Daniella, Tati, Ritinha, Vânia e Salo, Andrea e Murilo, que se mostraram amigos pra todas as horas.

- ♥ As minhas amigas de graduação as MAP's, por alegrarem minha vida com mil e um encontros. Agradeço em especial à Amina Potter por mostrar que nem a distancia é capaz de diminuir nossa amizade. Amiga, Obrigada por tudo.

- ♥ Ao meu namorado, Sidney Augusto de Oliveira Jr., por ser muito mais que um namorado, por ser meu amigo, meu companheiro, meu conselheiro, por me ajudar, saber me ouvir, por estar presente em minha vida e em minha rotina de uma maneira que eu jamais pude imaginar. Sou muito feliz por te ter em minha vida.

- ♥ Ao meu querido professor e orientador Donato Aranda por sempre estimular, incentivar e auxiliar o meu amadurecimento profissional confiando e acreditando em mim mesmo quando eu me sentia insegura.

- ♥ À Chaline, Jussara, Leonard, Luana e Maíra por todos os momentos maravilhosos que passamos dentro e fora do laboratório, pelos sorvetes, cafezinhos, caminhadas na praia, por terem paciência de me ouvir quando tudo parecia dar errado. Obrigada por entrarem na minha vida! Sem vocês o Mestrado seria muito mais triste e difícil.

- ♥ Ao grupo do Laboratório Greentec que tornaram meus dias mais alegres e divertidos, em especial ao Reinaldo pela ajuda com os reatores, a Carla e a Paulinha pela ajuda durante os experimentos mais fedorentos de nossas vidas.

- ♥ À Prof.^a Denise Freire pela alegria, agilidade, simpatia e profissionalismo.

- ♥ Ao povo do Laboratório de Biotecnologia Microbiana, em especial à Elisa, Melissa e Matheus meus micro companheiros, à Jaque pela ajuda com as enzimas. À todos os demais obrigada pelas boas risadas nos intervalos, e por me receberem de braços abertos.

- ♥ Ao Waldemar por facilitar meu trabalho doando o resíduo de peixe sempre que foi preciso

- ♥ À Deus, por guiar meus passos, iluminar meus caminhos e me dar forças para lutar sempre.

- ♥ E a todas as outras pessoas que contribuíram de forma direta ou indireta para a realização deste trabalho.

RESUMO

GOMES, Michelle Mendes da Rocha. **Produção de biodiesel a partir da esterificação dos ácidos graxos obtidos por hidrólise de óleo de peixe.** Orientadores: Donato Alexandre Gomes Aranda EQ/UFRJ e Denise Maria Guimarães Freire IQ/UFRJ. Rio de Janeiro: UFRJ/EQ; 2009. Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos.

Hoje, devido ao progressivo esgotamento das fontes de combustíveis fósseis, o mundo vive com uma possível crise energética conduzindo à busca de combustíveis alternativos a partir de fontes renováveis e ambientalmente corretas. Um combustível alternativo que vem sendo estudado por pesquisadores de todo o mundo, é o biodiesel. O biodiesel, um combustível para motores diesel, é feita a partir de fontes biológicas renováveis como óleos vegetais e gorduras animais. É biodegradável, atóxico e benéfico para o ambiente. Nesse contexto, a fabricação do biodiesel de resíduos de peixe contribuirá duplamente para uma solução ambiental, sendo uma alternativa para a redução destes resíduos que descartados agridem o meio ambiente e reduzindo a emissão de poluentes na atmosfera. Neste trabalho, foi produzido um biodiesel proveniente de gordura residual de peixe através do processo de hidroesterificação. Este processo permite o uso de qualquer matéria-prima graxa, transformando-os em biodiesel independente da sua acidez e da umidade. A hidrólise foi realizada de duas maneiras por via química, sob uma temperatura de 300°C, e enzimática, com o uso de lipases provenientes de *Penicillium simplicissimum*. Obtendo-se conversões máximas de 93,35% e 88,74%. A Esterificação do ácido graxo obtida por via enzimática foi realizada sob a condição de 200°C, com 15% de concentração de catalisador (ácido níobico) e razão molar de metanol/ ácido graxo de 3,0, atingindo uma conversão máxima de 56,57%. Nas reações de esterificação dos ácidos graxos obtidos por hidrólise química, foram observados os efeitos da razão molar metanol/ácido graxo (1,2; 2,1 e 3), da temperatura (150, 175 e 200°C) e da concentração de catalisador (5, 10 e 15%) sobre a conversão e a taxa inicial da reação, atingindo uma conversão máxima de 92%. Nesta reação os dados foram observados segundo o planejamento experimental (fatorial 2³ com 3

pontos centrais) traçado e analisado pelo programa Statistic 7.0. As concentrações de ácidos graxos e ésteres foram monitorados, nos tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos, por medidas titulométricas de acidez. Foi utilizada também, a modelagem baseada em conceitos fenomenológicos e foi testada com o intuito de possibilitar a extrapolação das condições e elucidar as taxas de reação para a esterificação do ácido graxo estudado, indicando o limite superior como mais adequado para o processo.

ABSTRACT

GOMES, Michelle Mendes da Rocha. **Production of biodiesel from the esterification of fatty acids obtained by hydrolysis of fish oil.** Guiding: Donato Alexandre Gomes Aranda, EQ/UFRJ and, Denise Maria Guimarães Freire IQ/UFRJ. Rio de Janeiro, 2009. Dissertation (Master's degree in Technology of Chemical and Biochemical Processes).

Today, because of the gradual depletion of sources of fossil fuels, the world lives on a possible energy crisis leading to the search for alternative fuels from renewable feedstocks and environment friendly. One alternative fuel that is being studied by researchers from around the world is biodiesel. Biodiesel, an alternative diesel fuel, is made from renewable biological sources such as vegetable oils and animal fats. It is biodegradable, nontoxic and environmentally beneficial. In this context, the making of biodiesel from waste fish materials will double to an environmental solution, and an alternative to the reduction of waste discarded that attack the environment and reducing the emission of pollutants in the atmosphere. In this sense, biodiesel was produced from residual fish fat through the process of hydroesterification. This process allows the use of any fatty raw material. These materials are processed into biodiesel independent of acidity and moisture they hold. The hydrolysis was performed in two ways by chemical route, under a temperature of 300 ° C, and enzymatic one with the use of lipase from *Penicillium simplicissimum* obtaining maximum conversion of 93.35% and 88.74%. The esterification of the fatty acid obtained by enzymatic hydrolysis was performed under the condition of 200 ° C with 15% concentration of catalyst (niobic acid) and molar ratio of methanol / fatty acid 3.0, reaching a maximum conversion of 56.57%. In the esterification reactions, the effects of the molar ratio methanol:fatty acid (1,2; 2,1 e 3), temperature (150, 175 and 200°C) and catalyst concentration (5, 10 and 15% m/m) on conversion and initial rate of reaction, reaching a maximum conversion of 92%. This reaction were treated according to experimental design (factorial 2³ with 3 central points) designed and analyzed by the Statistic 7.0 software. The concentrations of fatty acids and ethers were monitored, in the times 5, 10, 15,

20, 25, 30, 45 and 60 minutes, as measured by acidity. It was also used, the modeling based on phenomenological concepts and was tested with a view to making extrapolation to the conditions and to elucidate the reaction rates for esterification of fatty acid studied, indicating the upper limit is more appropriate for the process.

LISTA DE FIGURAS

	Página	
Figura 2.1.	Comparação da composição de diferentes matérias primas quanto ao seu teor de ácidos graxos.	5
Figura 2.2	Composição química dos triglicerídeos.	11
Figura 2.3	Craqueamento ou Pirólise de óleos e gorduras.	14
Figura 2.4	Reação de transesterificação	16
Figura 2.5	Etapas do processo de hidroesterificação.	17
Figura 2.6	Reação da hidrólise.	18
Figura 2.7	Reação de esterificação.	19
Figura 4.1	Reator autoclave.	29
Figura 5.1	Curva cinética de produção de ácido graxo por hidrólise enzimática	44
Figura 5.2	Conversões das hidrólises químicas em diferentes temperaturas sem catalisador e razão molar óleo/água 1:25.	46
Figura 5.3	Conversão das reações de hidrólise química em diferentes temperaturas com 10% de catalisador e razão molar óleo/água 1:25.	46
Figura 5.4	Conversão das reações de hidrólise química a 200°C na presença e na ausência de catalisador e razão molar óleo/água 1:25.	47
Figura 5.5	Conversão das reações de hidrólise química a 250°C na presença e na ausência de catalisador e razão molar óleo/água 1:25.	48
Figura 5.6	Conversão das reações de hidrólise química a 300°C na presença e na ausência de catalisador e razão molar óleo/água 1:25.	48
Figura 5.7	Curva cinética de produção de biodiesel com ácido graxo proveniente da hidrólise enzimática	51
Figura 5.8	Pontos centrais para esterificação do ácido graxo proveniente da gordura residual de óleo de peixe	52

	utilizando metanol.	
Figura 5.9	Comparação entre os valores preditos x os valores observados para o modelo global do ácido graxo com metanol anidro.	57
Figura 5.10	Gráfico de Pareto para o modelo global do ácido graxo de peixe com metanol.	58

	Página	
Tabela 2.1	Carga poluidora de indústrias instaladas em Niterói.	4
Tabela 2.2	Estruturas químicas dos ácidos graxos mais comuns.	12
Tabela 2.3	Vantagens do etanol sobre o metanol	19
Tabela 2.4	Principais características de lipases produzidas por fungos do gênero <i>Penicillium</i> .	25
Tabela 4.1	Meio de crescimento para <i>P. simplicissimum</i>	30
Tabela 4.2	Níveis para o planejamento fatorial 2^3 – Processo de esterificação com ácidos graxos provenientes da hidrólise química.	34
Tabela 4.3	Matriz de planejamento fatorial 2^3 para as reações de esterificação com ácido graxo proveniente da hidrólise química.	35
Tabela 5.1.	Teor de ácidos graxos em percentagem presentes da amostra de óleo residual de indústria pesqueira.	42
Tabela 5.2	Hidrólise da gordura residual de peixe em ácidos graxos pela rota enzimática	44
Tabela 5.3	Acidez das amostras secas em diferentes temperaturas sem e com (10% m/m) de catalisador após 60 minutos.	45
Tabela 5.4	Esterificação química de ácido graxo obtido por hidrólise enzimática.	50
Tabela 5.5	Conversões obtidas para o planejamento da reação com ácido de peixe com metanol.	51
Tabela 5.6	Parâmetros dos coeficientes normalizados, seus erros e desvio padrão do modelo de regressão linear.	53
Tabela 5.7	Gráficos de valores preditos pelo modelo versus observados experimentalmente para cada tempo.	55

Tabela 5.8	Parâmetros obtidos para os modelos de regressão global para as reações de esterificação dos ácidos graxos de resíduo de peixe com o uso do metanol anidro.	56
Tabela 5.9	Valores das constantes k_1 , k_2 , k_{eq} , X_{eq} e resíduos quadrados obtidos no Simulador de Determinação para Parâmetros Cinéticos.	59
Tabela 5.10	Gráficos dos dados experimentais e simulados de todos os experimentos realizados.	61

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO:	1
2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	3
2.1. A INDÚSTRIA PESQUEIRA DA BAÍA DE GUANABARA	3
2.2. DEFINIÇÃO DE BODIESEL.....	5
2.3. CONTEXTO HISTÓRICO.....	7
2.3. BODIESEL NO BRASIL	7
2.4. VANTAGENS DO BODIESEL	9
2.5. COMPOSIÇÃO E ESTRUTURA DE ÓLEOS E GORDURAS.....	11
2.6. PROCESSOS DE PRODUÇÃO DO BODIESEL.....	13
2.6.1. Pirólise ou craqueamento térmico	14
2.6.2. Micro- emulsificação	15
2.6.3. Transesterificação.....	15
2.6.4. Hidroesterificação	17
2.7. NIÓBIO	20
2.8. LIPASES	21
2.8.1. Aplicação das Lipases.....	22
2.8.1.1. Na indústria de óleos e gorduras	22
2.8.1.2. No tratamento de efluentes.....	23
2.8.1.3. Na produção de biodiesel	24
2.8.2. Produção de lipases por <i>Penicillium</i> sp.	24
2.9. ANÁLISE ESTATÍSTICA (PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL)	26
2.10. MODELAGEM CINÉTICA.....	27
3. OBJETIVOS	28
3.1. GERAIS	28
3.2. ESPECÍFICOS.....	28
4. MATERIAIS E MÉTODOS	29
4.1. PREPARO DA SUSPENSÃO DE ESPOROS	30
4.2. FERMENTAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO (FES):	30
4.3. OBTENÇÃO DO EXTRATO ENZIMÁTICO BRUTO.....	31
4.4. QUANTIFICAÇÃO DA ATIVIDADE LIPÁSICA	31
4.5. DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ÁGUA.	32
4.6. HIDRÓLISE ENZIMÁTICA - GERAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS	32
4.7. HIDRÓLISE QUÍMICA - GERAÇÃO DE ÁCIDOS GRAXOS.....	32
4.8. ESTERIFICAÇÃO – GERAÇÃO DE ÉSTERES METÍLICOS	33
4.9. PLANEJAMENTO DE EXPERIMENTOS.....	34
4.9.1. Matriz de planejamento.....	34
4.9.2. Análise estatística do planejamento	36
4.9.3. Regressão Linear Múltipla – Modelo Global.....	36
4.10. MODELAGEM DA REAÇÃO DE ESTERIFICAÇÃO	37
4.11. ANÁLISE DOS PRODUTOS	40
4.11.1. Determinação do índice de acidez – Titulometria de Neutralização.....	40

5. RESULTADOS	42
5.1. ANÁLISE DA MATÉRIA-PRIMA	42
5.2. DOSAGEM DA ATIVIDADE LIPASE:	43
5.3. REAÇÕES DE HIDRÓLISE ENZIMÁTICA:	43
5.4. REAÇÕES DE HIDRÓLISE QUÍMICA	45
5.5. REAÇÕES DE ESTERIFICAÇÃO	49
5.5.1. Ácidos graxos provenientes da hidrólise enzimática	49
5.5.2. Ácidos graxos provenientes da hidrólise química	51
5.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA DO PLANEJAMENTO EXPERIMENTAL	53
5.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA DO PROCESSO GLOBAL	56
5.8. CINÉTICA QUÍMICA DAS REAÇÕES	58
6. CONCLUSÃO	63
7. SUGESTÕES	65
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	66

1. Introdução:

Há algumas décadas o mundo tem buscado um desenvolvimento sustentável, ambientalmente correto, socialmente justo e economicamente viável. No entanto, a maior parte de toda a energia mundialmente consumida provém do petróleo, do carvão e do gás natural que são fontes limitadas e com previsão de esgotamento em um futuro próximo.

Além disso, os efeitos provocados pelo uso de combustíveis fósseis e toda a questão ambiental de um modo geral, têm sido objeto de discussão pela comunidade científica, órgãos governamentais e sociedade, de forma cada vez mais intensa. Os temas mais freqüentes estão relacionados à utilização do petróleo para a geração de energia emitindo gases poluentes para a atmosfera durante a combustão nos motores contribuindo para o efeito estufa e outros danos à vida na Terra. Tais efeitos tendem a se agravar com o aumento da necessidade por habitação, alimentação e energia, tendo em vista a expectativa de crescimento da população mundial para os próximos cinquenta anos, que pode atingir cerca dos dez bilhões de habitantes, intensificando ainda mais a preocupação com as questões ambientais (Okkerse e Van Bekkum, 1999).

Tendo em vista este desequilíbrio ambiental em que o mundo se encontrava, em 1997, foi assinado o Protocolo de Kyoto, que visava uma ação coletiva entre os países signatários, que se comprometeram em reduzir a emissão dos gases causadores do efeito estufa.

O Brasil, apesar de não estar entre os signatários, buscou colaborar com os objetivos mundiais, adotando o uso de energias limpas e renováveis, visando à busca por combustíveis alternativos, substituindo o diesel por biodiesel em motores de combustão interna.

Estudos realizados em 1983 por Pryde e colaboradores mostraram que os triglicerídeos de óleos vegetais e gorduras animais seriam uma alternativa promissora. Entretanto os principais problemas para o uso direto como combustíveis eram: a alta viscosidade, a baixa volatilidade e capacidade de lubrificação, a polimerização durante a estocagem, e a grande quantidade de resíduos de carbono após a combustão. Por essa razão, o desenvolvimento de derivados de óleos vegetais e gorduras animais mais similares em relação aos

derivados do petróleo têm sido amplamente estimulados (Fukuda; Kondo e Enoda; 2001).

Nesse contexto, a produção de biodiesel vem sendo majoritariamente produzida por transesterificação de um óleo vegetal com um álcool. A transesterificação industrial ocorre por catálise alcalina gerando inevitavelmente sabões, exigindo invariavelmente matérias primas semi-refinadas (mais caras). Este problema, afeta o rendimento e dificultam a separação da glicerina do biodiesel. Para resolver esse problema, a transesterificação utiliza grandes quantidades de ácidos para quebrar a emulsão, elevando o custo operacional.

O processo de hidroesterificação (hidrólise seguida de esterificação) é uma boa alternativa na produção de biodiesel. Esse processo permite o uso de qualquer matéria prima graxa (gordura animal, óleo vegetal, óleo de fritura usado, borras ácidas de refino de óleos vegetais, entre outros) que será totalmente transformada em biodiesel independente da sua acidez e umidade. Esse é um grande diferencial quando comparado ao processo convencional de transesterificação (Rocha, 2008).

Assim, óleos residuais, como o óleo de resíduos de peixes tornam-se uma opção para a obtenção do biodiesel, já que a produção pesqueira mundial gera anualmente um montante de aproximadamente 66,5 milhões de toneladas métricas de resíduos, que implicam em problemas sociais, ambientais e econômicos. A fabricação do biodiesel utilizando estes resíduos de peixe contribuirá duplamente para o ambiente, pois além de reduzir a liberação destes resíduos para o ambiente, reduziremos também a emissão de poluentes na atmosfera (Araújo, 2008).

Aliado à esta biotecnologia não podemos deixar de citar a importância que as enzimas vêm adquirindo como alternativa à catálise química não apenas por não ser ambientalmente correta, mas também por trabalharem em condições mais brandas, proporcionando a diminuição de gastos com energia e minimizando a degradação térmica dos compostos, além de evitar a formação de subprodutos, que posteriormente terão que ser removidos (Castro *et al.*, 2004; Freire e Castilho, 2000).

2. Revisão bibliográfica

2.1. A Indústria pesqueira da Baía de Guanabara

Ao longo dos anos, a Baía de Guanabara vem sendo afetada pelo lançamento de efluentes líquidos de origem doméstica e industrial. Em alguns trechos o acúmulo desses resíduos resulta em uma alteração significativa na qualidade das águas, pois sua capacidade de autodepuração é inferior à necessária para absorver tal carga orgânica.

As indústrias de processamento de pescado em conserva contribuem de modo expressivo para o quadro descrito acima. Os despejos industriais apresentam altas concentrações de matéria orgânica, sólidos em suspensão e óleos e graxas (O&G), que na maioria das vezes, são lançados na Baía após tratamento em grau incompatível com seu potencial poluidor (Silva e Batista, 2003).

Um estudo realizado pelo Programa de Despoluição da Baía de Guanabara (PDBG) relata que existem mais de 14.000 indústrias lançando seus efluentes, dentre elas 26 não atendem a nenhum dos parâmetros de lançamento considerados prioritários pela Fundação Estadual de Engenharia e Meio Ambiente FEEMA. Destas 26 empresas que não atendem aos parâmetros de lançamento, seis são indústrias de conservas de pescado (Silva e Batista, 2003).

Na maioria dos casos, os despejos do processamento do pescado são lançados nos cursos de água adjacentes às indústrias sem um tratamento adequado, contribuindo para a poluição do meio ambiente (Aguiar, 1987). Além disso, ocorre a redução do nível de oxigênio dissolvido pela ação de microrganismos aeróbios consumidores da matéria orgânica. A presença de óleos e graxas pode formar filmes oleosos na superfície dos corpos receptores, impedindo a difusão do oxigênio da atmosfera para a água e causando a morte da biota.

A localização espacial dessas empresas é um agravante dos problemas de poluição, particularmente no que se refere ao lançamento de efluentes líquidos no corpo receptor da Baía de Guanabara. A tabela 2.1 apresenta a carga poluidora, em termos de matéria orgânica biodegradável, ou seja,

demanda bioquímica de oxigênio (DBO), gerada por indústrias instaladas em diversas localidades do município de Niterói/RJ.

Tabela 2.1. Carga poluidora de indústrias instaladas em Niterói.

Localidade	Carga poluidora (kg DBO/dia)
Gardim	4.174
Neves	5.678
Jurujuba	2.025
Barreto/i. Do caju	3.319
Mercado São Sebastião	2.617
Total	17.813

Fonte: Aguiar (1987).

A principal matéria prima da indústria de pescado são as sardinhas e os atuns. As sardinhas são classificadas como pescado de médio teor oleoso (5 – 15%) e elevados teores de proteínas (15 – 20%) sendo o componente majoritário a água (70 – 80%). Entretanto, esta composição média varia significativamente com as estações do ano e a região de captura (Silva e Batista, 2003).

Na figura 2.1, podemos observar as diferentes composições quanto ao teor de éster das matérias primas hoje utilizadas para a produção de biodiesel, dentre elas a gordura de peixe que apresenta 28% de sua composição em ômega 3, ou seja ácido linoléico.

Figura 2.1. Comparação da composição de diferentes matérias primas quanto ao seu teor de ácidos graxos.



2.2. Definição de Biodiesel

No Brasil, a definição é estabelecida pela lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, na qual o biodiesel é o biocombustível derivado de biomassa renovável para uso em motores a combustão interna com ignição por compressão ou, conforme regulamento para geração de outro tipo de energia, que possa substituir parcial ou totalmente os combustíveis de origem fóssil. Esta definição, bastante ampla, inclui diversas opções tecnológicas como o uso de:

- Óleos vegetais *in natura*;
- Misturas binárias óleo/diesel, álcool/diesel e ésteres/diesel;
- Micro-emulsões;
- Hidrocarbonetos derivados da pirólise de biomassa vegetal como o bagaço de cana (algo que muitos vêm denominando biodiesel doce);
- Óleos vegetais craqueados
- Misturas ternárias álcool/diesel/co-solventes. (Ramos, 2006).

O biodiesel é um combustível proveniente de fontes renováveis como óleos vegetais, gorduras animais ou resíduos industriais que, estimulados por um catalisador, reagem quimicamente com o álcool metílico ou etílico. Existem diferentes espécies de oleaginosas no Brasil das quais se pode produzir o biodiesel, entre elas mamona, dendê, girassol, babaçu, soja e algodão.

Esse combustível destaca-se por ter muitas vantagens em relação ao diesel convencional: é seguro, renovável, não tóxico e biodegradável, contém quantidades de enxofre insignificantes e sua maior lubricidade aumenta a vida útil dos motores diesel. Além disso, tem um número de cetano elevado (acima de 60 comparado a somente 40 para o diesel regular), um ponto de fulgor elevado (acima de 130 °C) e na sua queima emite 70% a menos de hidrocarbonetos, 80% menos dióxido de carbono e 50% menos de particulados (Parente, 2003). Os benefícios ambientais com o uso do biodiesel podem, ainda, gerar vantagens econômicas para o país. O Brasil poderia enquadrar o biodiesel nos acordos estabelecidos no protocolo de Kyoto (Lima, 2004).

Na União Europeia, a definição de biodiesel é mais restrita e define biodiesel como sendo; “ésteres metílicos produzidos a partir de óleos vegetais ou animais, com qualidade de combustível para motores diesel, para utilização como biocombustível” (Diretiva 2003/30/CE do Parlamento Europeu, 2003). Assim sendo, o biodiesel europeu tem de ser obtido utilizando-se metanol no processo de produção.

Segundo a norma, ASTM D 6751, 2008 (ASTM – American Society of Testing and Materials), nos Estados Unidos, o biodiesel é definido como sendo mono-álquil ésteres de ácidos graxos de cadeia longa, produzidos a partir de óleos vegetais ou animais, para ser utilizado em motores de ciclo diesel. Esta norma também delimita as especificações para este produto.

As especificações para biodiesel no Brasil, reguladas pela Resolução ANP 7, de 19 de março de 2008, são menos restritivas que na Europa, de forma a permitir a produção do biodiesel com base em diversas matérias primas.

2.3. Contexto Histórico

A idéia de aproveitar os óleos vegetais como matéria prima para combustíveis não é nova. Em 1895, Rudolf Diesel inventou um motor de injeção indireta que funcionava à base de uma variedade de óleos vegetais. No ano 1900, o próprio Rudolph Diesel, apresentou um protótipo de motor na Exposição Universal de Paris, que foi acionado com óleo de amendoim. Além deste, foi usado também óleo cru (petróleo filtrado) e óleo de peixe como combustível. (Gazzoni, 2008).

Na década de 30, o governo francês incentivava as experiências com o óleo de amendoim visando conquistar a independência energética, pois esta cultura era muito difundida em suas colônias na África.

A II Guerra Mundial limitou as rotas de abastecimento causando uma aguda escassez de combustíveis, estimulando pesquisas na área com o intuito de descobrir e desenvolver novos substitutos para o petróleo. Com isso, o combustível de origem vegetal foi utilizado extensamente em vários países, incluindo a China, a Índia e a Bélgica. Em 1941 e 1942, havia uma linha de ônibus entre Bruxelas e Louvain, que utilizava combustível obtido a partir do óleo de palma (Knothe, 2001). Porém, o desenvolvimento dos combustíveis alternativos foi praticamente abandonado quando o fornecimento de petróleo foi restabelecido no final da Guerra, principalmente devido a abundância de petróleo importado do Oriente Médio, por preços muito acessíveis.

No Brasil, nos anos 60, as indústrias Matarazzo buscavam produzir óleo através dos grãos de café. Para tanto, usavam o álcool da cana-de-açúcar na lavagem do café para retirar impurezas impróprias para o consumo humano. A reação entre o álcool e o óleo de café resultou na liberação de glicerina, formando em éster etílico que hoje é conhecido por biodiesel (Silva, 2008)

2.3. Biodiesel no Brasil

No Brasil, a utilização de combustíveis líquidos obtidos de vegetais cultivados para motores a fim de diminuir dependência do petróleo, foi utilizada como uma interessante alternativa devido às sucessivas crises do petróleo, de 1973 a 1974 e de 1979 a 1980. Somado à crise do petróleo, a crise do açúcar

dava impulso ao programa de governo denominado Pró-Álcool. Assim sendo, passou-se a produzir álcool em grande escala e, em 1979, aproximadamente 80% da frota de veículos produzida no país eram movidas com motores a álcool (Silva, 2008).

Ainda receosas com a crise do petróleo, várias universidades brasileiras se dedicaram a estudar a produção de combustíveis que pudessem substituir o diesel aproveitando diversas matérias primas de origem vegetal. A transesterificação no Brasil foi iniciada na Universidade Federal do Ceará, em 1979, com o objetivo, de desenvolver as propostas do Prof. Melvin Calvin (Prêmio Nobel de Química), apresentadas no Seminário Internacional de Biomassa, em Fortaleza, em 1978 (Parente 2003). Em 1980 foi feito o depósito da 1ª patente de Biodiesel no Brasil (PI 8007957), pelo Dr. Expedito Parente.

No entanto, a prioridade política foi concedida, naquele momento, para o desenvolvimento do programa do álcool (PROÁLCOOL), que teve seu auge a meados da década de 80. A complexidade de montar um programa de produção, processamento e distribuição do combustível alternativo, sem o apoio oficial, determinou que a crise transcorresse sem que o programa de combustíveis alternativos para o diesel fosse implantado.

O Prof. Goldemberg (1988) sinalizou para as vantagens de instalar uma indústria de combustíveis derivados dos óleos vegetais. No entanto, ele alertou para a necessidade de obter-se bons rendimentos agrícolas, já que, de outra forma, o gasto de energia nas operações de colheita e de transporte da matéria prima seria muito elevado (STI- MIC, 1985).

O combustível normalmente utilizado para o transporte de cargas e passageiros no Brasil é o diesel de petróleo, que é importado em elevada proporção, em função das limitações da capacidade de refino. O aproveitamento dos óleos vegetais transesterificados como combustíveis, permitiria evitar a importação de diesel de petróleo, fortalecendo a independência energética do país.

A escassez de petróleo estimulou a realização de diversos estudos que aconselharam a utilização de bicompostíveis, como substitutos do combustível diesel. Um dos documentos mais representativos foi o relatório do MIC (1985) sobre o uso de combustíveis líquidos como substitutos do diesel de petróleo. A principal conclusão desses estudos foi que os óleos vegetais representam uma

alternativa tecnicamente viável, sendo que sua rentabilidade depende da relação de preços em cada momento (Pinto *et al.*, 2005).

A partir de 1998 os setores de Pesquisa e Desenvolvimento (P&D) retomaram os projetos para uso de biodiesel no Brasil. Em dezembro de 2004 o Programa de Produção e Uso do Biodiesel é lançado e em janeiro de 2005 foi sancionada a Lei 11.097, que dispõe sobre a introdução do biodiesel na matriz energética brasileira, estabelecendo percentuais mínimos de mistura de biodiesel.

Entre os anos de 2005 a 2007 estabeleceu-se como meta a adição de 2% de biodiesel ao diesel mineral. De 2008 a 2012, estes 2% tornam-se obrigatórios, gerando a necessidade de aproximadamente 1 bilhão de litros por ano. Porém, no dia 1º de julho de 2008, o óleo diesel comercializado em todo o Brasil passou a conter, obrigatoriamente, 3% de biodiesel. Esta regra foi estabelecida pela Resolução nº 2 do Conselho Nacional de Política Energética (CNPE), publicada em março de 2008, que aumentou de 2% para 3% o percentual obrigatório de mistura de biodiesel ao óleo diesel. A partir de 2013, torna-se obrigatória a adição de 5% de biodiesel ao diesel, o que significa um mercado de aproximadamente 2,4 bilhões de litros (Pinto *et al.*, 2005).

A produção e o uso do biodiesel no Brasil propiciam a redução das importações de diesel resultando em uma economia de US\$ 410 milhões por ano, além de reduzir a dependência externa referente ao produto de 7% para 5%.

A dimensão do mercado no Brasil e no mundo assegura grande oportunidade para o setor agrícola. Com a ampliação do mercado do biodiesel, milhares de famílias brasileiras serão beneficiadas, principalmente agricultores do semi-árido brasileiro, com o aumento de renda proveniente do cultivo e comercialização das plantas oleaginosas utilizadas na produção do biodiesel. A produção de biodiesel já gerou cerca de 600 mil postos de trabalho no campo, de acordo com dados do Ministério do Desenvolvimento Agrário.

2.4. Vantagens do Biodiesel

O biodiesel apresenta vários pontos positivos quando comparados ao diesel. Sua principal característica é ser renovável, além de possuir um alto

valor energético, baixo conteúdo de enxofre, o que permite uma queima limpa do combustível, reduzindo assim as emissões de SO_x, CO, hidrocarbonetos não-queimados e partículas sólidas. (Ma e Hanna, 1999) Além disso, apresenta excelentes propriedades lubrificantes podendo ser utilizado nos motores a diesel com pequenas ou até mesmo nenhuma modificação (Ratanawilai *et al.*, 2005).

Dentre as vantagens ambientais destaca-se a redução de 78% das emissões poluentes como o dióxido de carbono, que é o principal gás responsável pelo efeito de estufa que está alterando o clima à escala mundial. A liberação de material particulado é 50% menor e as emissões de óxidos de enxofre também são reduzidas já que o biodiesel puro não contém enxofre. Além disso, o biodiesel é renovável e biodegradável (Aranda, 2005).

De fato, os bicomcombustíveis surgem como resposta às necessidades de redução de emissões de gases de efeito de estufa, acentuadas pelos objetivos a atingir no âmbito do Protocolo de Kyoto.

Desta forma, podemos destacar as seguintes vantagens ambientais, associadas ao biodiesel (Srivastava e Prasad, 2000):

- É uma fonte limpa e renovável de energia que vai gerar emprego e renda para o campo, pois o país abriga o maior território tropical do planeta.
- O uso como combustível proporciona ganho ambiental para todo o planeta, pois colabora para diminuir a poluição e o efeito estufa.
- Possibilidade de utilização dos créditos de carbono vinculados ao Mecanismo de Desenvolvimento Limpo decorrentes do Protocolo de Kyoto.
- Tem alto poder lubrificante e pode aumentar a vida útil do motor.
- Tem risco de explosão baixo. Ele precisa de uma fonte de calor acima de 150°C para explodir, facilitando seu transporte e armazenamento.
- Pouca emissão de partículas de carbono. O biodiesel é um éster e, por isso, já tem dois átomos de oxigênio na molécula facilitando a combustão completa.
- Contribui ainda para a geração de empregos no setor primário, que no Brasil é de suma importância para o desenvolvimento social e prioridade

de nosso atual governo. Com isso, reduz o êxodo rural e favorecendo o ciclo da economia auto-sustentável essencial para a autonomia do país.

- Redução da emissão de poluentes locais com melhorias na qualidade de vida e da saúde pública.
- Cetanagem mínima de 51.
- Não contêm aromáticos (benzeno).
- Estável e com boa atividade.

2.5. Composição e estrutura de óleos e gorduras

Os óleos e gorduras são substâncias de origem vegetal, animal ou microbiana, são solúveis em solventes orgânicos e insolúveis em água. Segundo Moretto & Fett (1989) a principal diferença entre um óleo e uma gordura é na sua aparência física. De um modo geral, os óleos são descritos como substâncias líquidas à temperatura ambiente, enquanto as gorduras caracterizam-se como substâncias sólidas.

Como podemos observar na figura 2.2, os óleos e gorduras são formados, principalmente, por triglicerídeos ou triacilgliceróis, resultante da combinação entre três moléculas de ácido graxo e uma molécula de glicerol (glicerina).

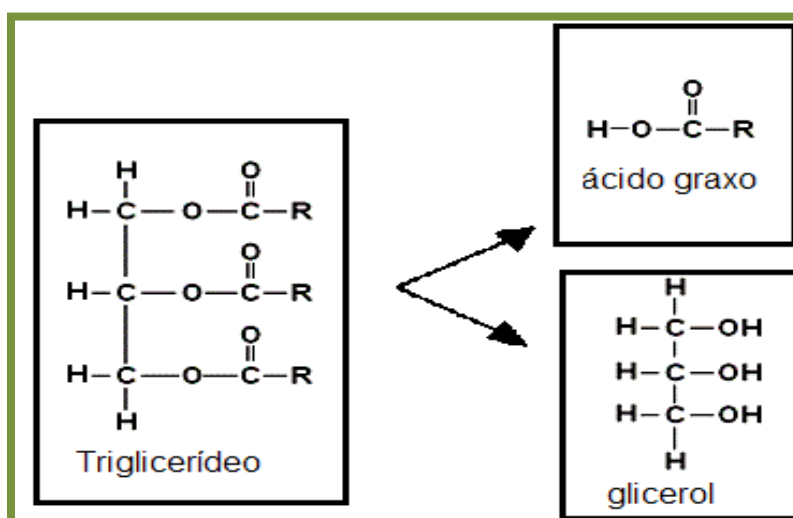


Figura 2.2 - Composição química dos triglicerídeos

A análise da composição dos ácidos graxos constitui o primeiro passo para a avaliação da qualidade do óleo bruto e/ou seus produtos de

transformação. Para determinar a composição, em ácidos graxos, métodos cromatográficos (cromatografia líquida e gasosa) e ressonância magnética nuclear de hidrogênio podem ser utilizados (Wust, 2004).

Os ácidos graxos presentes nos óleos e gorduras são constituídos, geralmente, por ácidos carboxílicos que contêm de 4 a 30 átomos de carbono e podem ser saturados ou insaturados. (Wust, 2004). As estruturas de ácidos graxos comuns e sua nomenclatura são dadas na Tabela 2.2.

Tabela 2.2: Estruturas químicas dos ácidos graxos mais comuns

Ácidos graxos	Nomenclatura IUPAC	Estrutura	Fórmula
Láurico	Dodecanóico	12:0	$C_{12}H_{24}O_2$
Mirístico	Tetradecanóico	14:0	$C_{14}H_{28}O_2$
Palmítico	Hexadecanóico	16:0	$C_{16}H_{32}O_2$
Estearico	Octadecanóico	18:0	$C_{18}H_{36}O_2$
Araquídico	Eicosanóico	20:0	$C_{20}H_{40}O_2$
Behênico	Docosanóico	22:0	$C_{22}H_{44}O_2$
Ligonocérico	Tetracosanóico	24:0	$C_{24}H_{48}O_2$
Oleico	Cis-9-Octadecenóico	18:1	$C_{18}H_{34}O_2$
Linoleico	Cis-9,cis-12-Octadecadienóico	18:2	$C_{18}H_{32}O_2$
Linolênico	Cis-9, cis-12 cis15-Octadecatrienóico	18:3	$C_{18}H_{30}O_2$
Erúcido	Cis-13-Docosenóico	22:1	$C_{22}H_{42}O_2$

Fonte: (Srivastava, 1999).

A distinção dos óleos com base no seu grau de insaturação, no tamanho das moléculas e pela presença ou não de grupos químicos reflete diretamente nas qualidades do biocombustível produzido.

Dessa forma, quanto maior a cadeia hidrocarbônica, maior o número de cetano, a lubrificidade do combustível, o ponto de névoa e o ponto de entupimento. Conseqüentemente moléculas exageradamente grandes devido ao processo de pré-aquecimento tornam o combustível de uso difícil em regiões com temperaturas baixas.

Quanto às insaturações, quanto menor o número de duplas ligações, maior a cetanagem do combustível, ocasionando uma melhor qualidade da combustão. Por outro lado, um aumento no número de cetano ocasiona também um aumento no ponto de névoa e de entupimento (maior sensibilidade aos climas frios). Entretanto a armazenagem ou transporte de combustível com número de insaturações elevado (menos estáveis) provocam a oxidação, degradação e polimerização do mesmo, ocasionando um menor número de cetano ou formação de resíduos sólidos.

Dessa forma, tanto os ésteres alquílicos de ácidos graxos saturados (láurico, palmítico, esteárico) como os de poli-insaturados (linoléico, linolênico) possuem alguns inconvenientes, uma vez que são pouco resistentes à oxidação e o número de cetano é geralmente baixo. Porém, são mais facilmente degradados desaparecendo do meio ambiente em períodos de tempo mais curtos, sendo mais vantajosos do ponto de vista ambiental.

Os óleos saturados do tipo esteárico ou palmítico são pouco fluídos (grande viscosidade), mas são resistentes à oxidação. Encontram-se normalmente no estado sólido à temperatura ambiente. Geralmente, apresentam um índice de cetano excelente. Porém sua alta viscosidade, aliados à resistência à oxidação dificultam a sua degradação, remoção e limpeza.

De uma forma geral, um biodiesel com predominância de ácidos graxos combinados mono-insaturados (oléico, ricinoléico) são os que apresentam os melhores resultados.

2.6. Processos de produção do biodiesel

Os processos mais investigados para a produção do biodiesel são a pirólise, a micro-emulsificação e a transesterificação (Ferrari *et al.*, 2005;

Sharma *et al.*, 2001). O biodiesel também pode ser obtido a partir de outros processos tais como a hidroesterificação na qual foi baseada esta dissertação.

2.6.1. Pirólise ou craqueamento térmico

O processo de craqueamento ou pirólise de óleos e gorduras, conforme ilustrado na reação (i) da Figura 2.3, é a conversão de uma substância em outra através do aquecimento desta, seja a pressão atmosférica ou na ausência de ar ou oxigênio, a temperaturas superiores a 450°C (Weisz *et al.*, 1979 *apud* Ma & Hanna, 1999).

Nas condições reacionais, o triglicerídeo é decomposto, levando à formação de ácidos carboxílicos, acroleína e cetenos, conforme descrito na Equação (i) da Figura 2.3, que, por serem bem menos estáveis que o ácido carboxílico, é facilmente decompostos levando à formação de ésteres, ácidos carboxílicos e hidrocarbonetos (Chang e Wan, 1947).

Na seqüência, a decomposição térmica dos ácidos carboxílicos pode acontecer por descarbonilação ou descarboxilação, conforme ilustrado, respectivamente, pelas equações (ii) e (iii) da Figura 2.3. No primeiro caso, ocorre a formação de água, CO₂ e um hidrocarboneto com uma nova insaturação terminal, enquanto que no segundo são gerados CO₂ e um hidrocarboneto, sem a formação de novas insaturações.

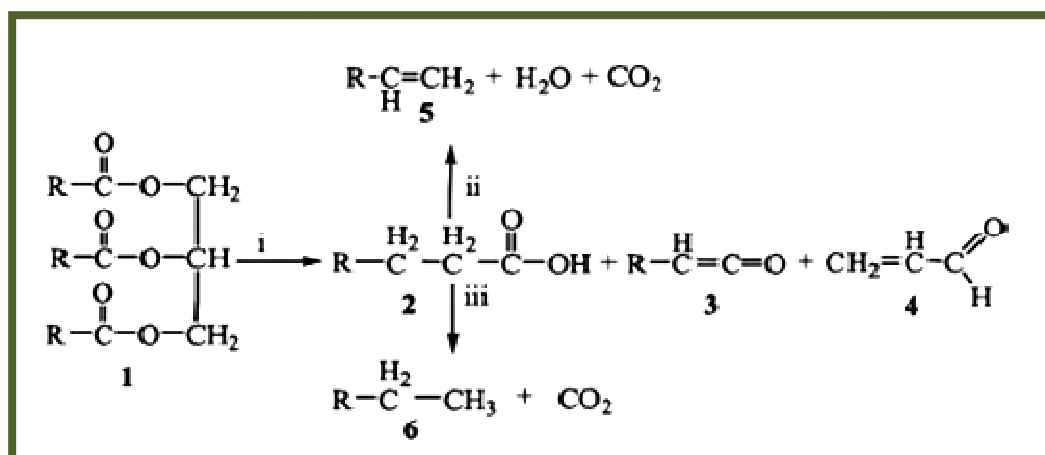


Figura 2.3 – Craqueamento ou pirólise de óleos e gorduras.

A pirólise de triglicerídeos (1), leva à formação de ácidos carboxílicos (2), cetenos (3), acroleína (4) e hidrocarbonetos com (5) ou sem (6)

insaturações terminais. Note que as equações não estão balanceadas e que os grupos R podem ser diferentes em cada caso (Suarez *et al.*, 2007).

Apesar da simplicidade do uso de altas temperaturas para realizar o craqueamento, a grande desvantagem é a obtenção de compostos oxigenados no produto final, que o tornam levemente ácido (Suarez *et al.*, 2007).

O óleo pirolizado apresenta níveis aceitáveis de enxofre, água e material particulado, porém possui níveis inaceitáveis de cinzas, depósitos de carbono e alto ponto de névoa (Sharma *et al.*, 2001). Além disso, o equipamento para pirólise possui elevado custo e a remoção do oxigênio diminui seus benefícios ambientais produzindo um combustível mais próximo ao da gasolina que do diesel (Pinto *et al.*, 2005).

2.6.2. Micro- emulsificação

Micro emulsões são dispersões isotrópicas, termodinamicamente estáveis, formadas por óleo, água, surfactante e geralmente uma molécula pequena anfifílica, chamada co-surfactante (Schwab *et al.*, 1987).

Apresentam inconvenientes tais como formação de coque e combustão incompleta, dificultando seu uso em larga escala (Ferrari *et al.*, 2005).

2.6.3. Transesterificação

Este processo, também conhecido com alcoólise, consiste na reação de uma gordura ou de um óleo com um álcool, dando origem a uma mistura de ésteres (biodiesel) e glicerol. Geralmente são utilizados óleos / gorduras com acidez menores ou iguais a 1%, pois estes apresentam uma maior concentração de triacilglicerídeos.

Para melhorar a taxa da reação e, portanto, o rendimento pode-se fazer uso de um catalisador. Por ser uma reação reversível, utiliza-se álcool em excesso para deslocar o equilíbrio para obter o máximo de éster. Entre os alcoóis, o metanol e o etanol são os mais usados principalmente o metanol por apresentar cadeia polar e curta (Ma & Hanna, 1999).

Após a transesterificação, teremos no meio reacional uma mistura de ésteres, glicerol, álcool, catalisador e tri-, di- e mono glicerídeos. O co-produto,

glicerol, deve ser recuperado devido ao seu valor como um insumo para as indústrias farmacêuticas e de cosméticos (Ma & Hanna, 1999).

A Figura 2.4 ilustra a reação de transesterificação com metanol.

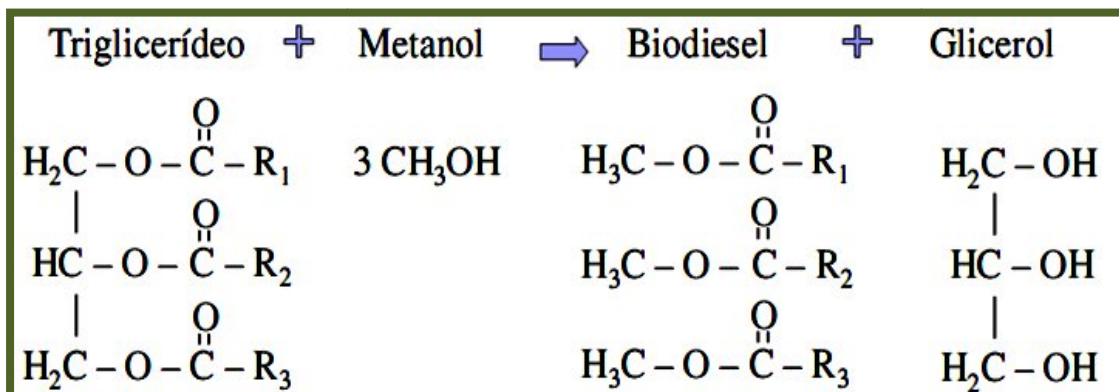


Figura 2.4 - Reação de transesterificação

A mesma reação se realizada com etanol é mais complexa, pois requer maior tempo reacional, e um etanol isento de água (o etanol anidro possui cerca de 7000 ppm de água, muito mais que o metanol, que possui 100 ppm), assim como uma matéria prima isenta de umidade (Vieira, 2005 e Candeia *et al*, 2005).

A reação pode ser catalisada por bases (NaOH, KOH, carbonatos ou alcóxidos), ácidos (HCl, H₂SO₄ e HSO₃-R) ou enzimas (lipases). A catálise alcalina ocorre de maneira mais rápida apresentando maior rendimento, seletividade, e menores problemas relacionados à corrosão dos equipamentos. Os catalisadores mais eficientes para esse propósito são KOH e NaOH, que são os mais empregados comercialmente (Khan *et al*, 2002).

O processo de transesterificação catalisada por ácidos apresenta um rendimento muito elevado em alquiléster, mas as reações costumam ser lentas, precisando de temperaturas acima de 100°C e mais de 3 h para alcançar conversão completa. Além disso, a contaminação com ácidos residuais pode gerar corrosão nos motores fazendo-se necessário a eliminação completa desses ácidos, o que implica em muitas etapas de purificação (Canakci e Van Gerpen, 1999).

A utilização de lipases isoladas e lipases imobilizadas como catalisadores enzimáticos vêm sendo uma das alternativas propostas na literatura para a obtenção de altas conversões em ésteres. Porém, o alto custo

destes catalisadores aliado à sua rápida desativação na presença de álcool tem inviabilizado o seu uso comercial (Vieira, 2005).

2.6.4. Hidroesterificação

O processo de hidroesterificação é uma interessante alternativa na produção de biodiesel. É um processo que envolve uma etapa de hidrólise seguida de esterificação (Figura 2.5). É uma alternativa ao processo convencional de produção de biodiesel, pois favorece a utilização de matérias primas (óleos de plantas oleaginosas, resíduos gordurosos industriais, e óleos de frituras) de qualquer teor de ácidos graxos e umidade, uma vez que todos os triacilglicerídeos presentes no óleo serão transformados por hidrólise (Dario, 2006). Como cerca de 80% do custo de produção do biodiesel é proveniente do custo da matéria prima, a hidroesterificação permite um significativo salto na viabilidade da produção de biodiesel (Aranda, 2005)

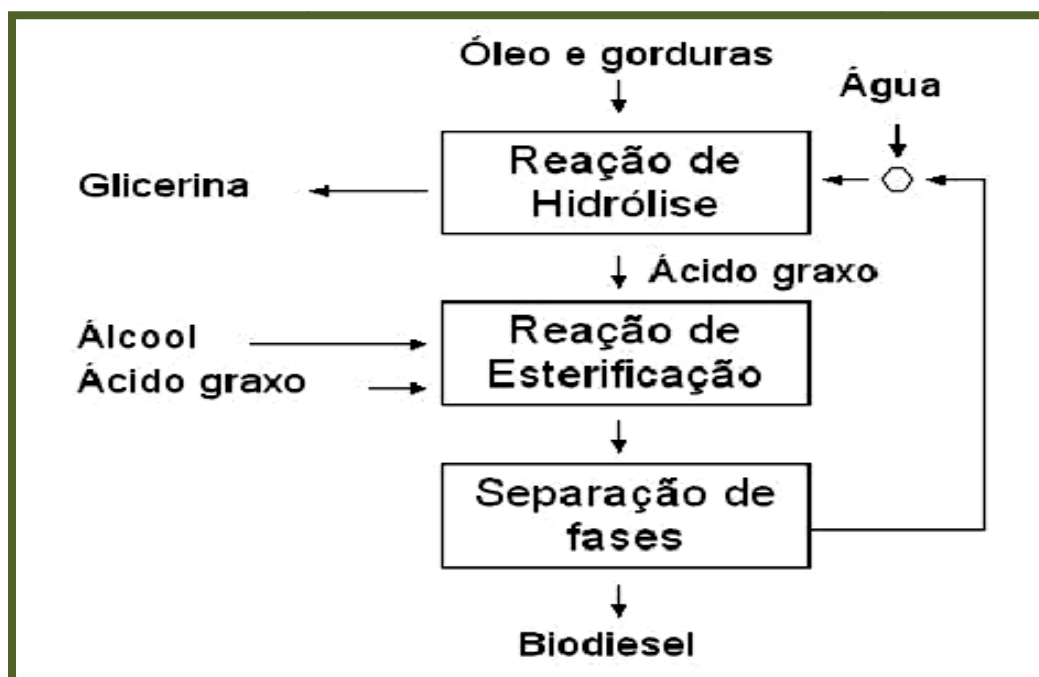


Figura 2.5 – Etapas do processo de hidroesterificação.

Um dos primeiros passos para a obtenção de derivados químicos de óleos vegetais é a hidrólise, que conduz a glicerol, mono e diglicerídeos e uma mistura de ácidos graxos. As transformações de óleos e gorduras são predominantemente baseadas em processos químicos convencionais (Rooney

e Weatherley, 2001). No caso da hidrólise, o processo mais utilizado é o Colgate-Emery, que opera sob temperaturas e pressões elevadas, ocasionando reações secundárias que exigem posteriores operações de separação e purificação (Gunstone, 1999; Rooney e Weatherley, 2001).

A hidrólise em si é uma reação química que ocorre entre um triacilglicerídeo e a água produzindo ácidos graxos e como subproduto o glicerol (Figura 2.6). Esta reação pode ocorrer na presença de catalisadores ácidos ou básicos.

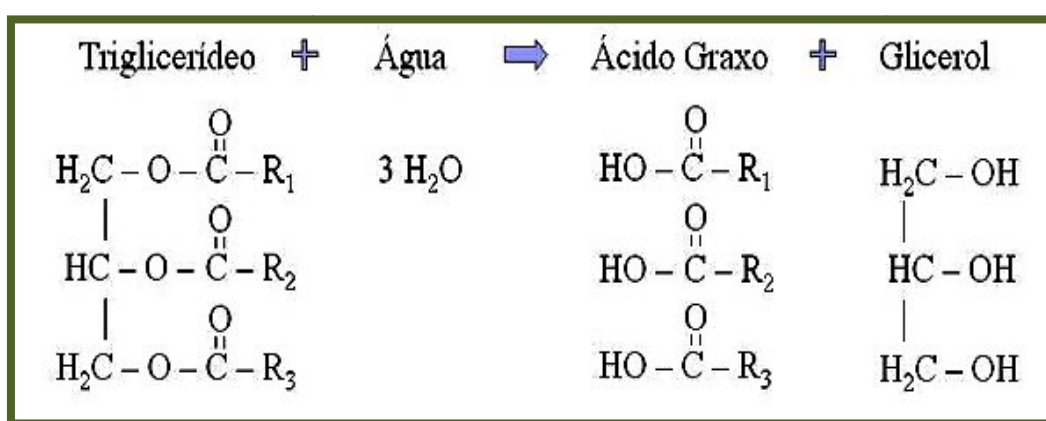


Figura 2.6 – Reação da hidrólise.

Após a hidrólise, os ácidos graxos gerados, são esterificados com metanol ou etanol, obtendo-se o metil ou etil éster com elevada pureza. O glicerol não sofre qualquer alteração por parte de interação com o metanol ou com o biodiesel, uma vez que é removido ao final do processo de hidrólise. Além disso, a glicerina obtida é mais pura que a glicerina advinda do processo de transesterificação.

A esterificação gera então o biodiesel e como subproduto a água, que pode ser reutilizada no processo de hidrólise, fechando o ciclo (Figura 2.7). Isso evita problemas de contaminação do biodiesel com resíduos de glicerina livre ou total (mono, di e triglicerídeos). Gera-se um biodiesel de mais elevada pureza, sem necessidade de etapas de lavagem que geram efluentes e o elevado consumo de compostos químicos.

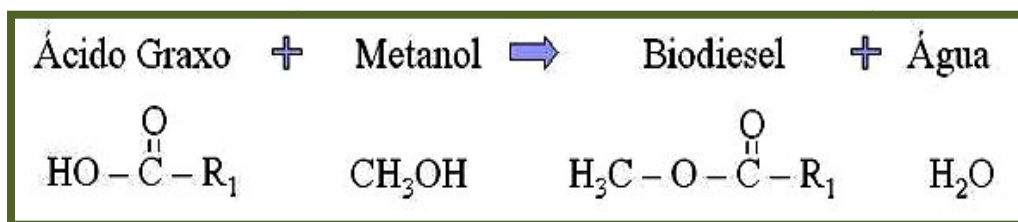


Figura 2.7 – Reação de esterificação.

Rittner (1995) avaliou que a eficiência das reações de hidrólise pode alcançar cerca de 98 a 99 % de conversão, em condições de processamento apropriadas.

O processo de esterificação pode ser realizado com metanol ou com etanol. Na tabela 2.3 são apresentadas as vantagens do etanol sobre o metanol dentre as quais se destacam auto-suficiência e baixa toxidez. (Jaeger, *et al*, 1999).

Tabela 2.3: Vantagens do etanol sobre o metanol

Características	Etanol	Metanol
Auto-suficiência	Sim	Não
Despesas com importação	Não	Sim
Geração de empregos no país	Muitos	Poucos
Impacto na cadeia produtiva	Grande	Pequeno
Tecnologia de transesterificação dominada	Sim	Sim
Potencial de exportação da tecnologia	Sim	Não
Compatibilidade com materiais	Maior	Menor
Toxicidade	Moderada	Elevada
Impacto em caso de acidentes	Baixo	Alto
Renovável	Sim	Não
Viabilidade econômica comparativa	Equivalente	Equivalente

No entanto, o metanol ainda é o álcool mais utilizado devido a seu baixo custo e por reagir mais rapidamente com o óleo vegetal do que os outros alcoóis. A literatura é praticamente unânime em relatar que a rota etílica é mais

lenta que a metílica. Na verdade, os estudos cinéticos publicados não levam em conta a diferença no teor de água entre o metanol e o etanol.

No Brasil o etanol é considerado anidro a partir de 99,3% (7000 ppm de água), enquanto que o metanol é anidro tipicamente com 99,99% (100 ppm de água), e em algumas plantas atinge-se 50 ppm de água. Essa diferença é importante para a velocidade da reação, uma vez que a umidade é um forte promotor da saponificação. Além disso, outra dificuldade apresentada pelo etanol está na sua recuperação pois é capaz de se ligar a água formando um composto azeótropo dificultando sua purificação.

2.7. Nióbio

O nióbio e o tântalo possuem forte afinidade aparecendo na natureza estreitamente associados em minerais e rochas. Na crosta terrestre, o nióbio participa com 24 g/t e o tântalo com 2g/t. Não ocorrem no estado livre, aparecendo sempre combinados com oxigênio (Foggiatto & Lima, 2003).

Mais de 90% do minério de nióbio do mundo está no Brasil, com minas em Minas Gerais (Araxá) e Goiás (Catalão). O nióbio apresenta significativa importância para a balança comercial brasileira, representando 43% do faturamento externo da indústria nacional de ferroligas. Do consumo total de nióbio explorado, 10% são utilizados na produção de óxido de nióbio. A maior parte da produção de óxido de nióbio hidratado ($\text{Nb}_2\text{O}_5 \cdot n\text{H}_2\text{O}$) é destinada à indústria de superligas, para fabricação de turbinas pelas indústrias aeronáuticas e aeroespaciais (Foggiatto & Lima, 2003).

O óxido de nióbio $\text{Nb}_2\text{O}_5 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ é considerado um sólido ácido forte, exibindo alta atividade catalítica e seletividade para algumas reações como esterificação e condensação (Tither, 2001).

Nos últimos anos a tendência é a substituição de catalisadores homogêneos tradicionais por sólidos ácidos, pois eles reduzem os gastos do processo devido à possibilidade de regeneração, reduzindo os problemas de corrosão e formação de sal, minimizando a produção de efluentes com a remoção apenas física do processo. (de La Cruz, 2004) No entanto, para serem viáveis, esses catalisadores devem exibir atividades e seletividades comparáveis as da catálise homogênea (Wilson e Clark, 2000).

Estudos recentes demonstram que os catalisadores contendo nióbio apresentam melhor desempenho industrial que os sistemas catalíticos tradicionais (Tanabe 1987, 1990, 2003; Nowak & Ziolk, 1999).

Dessa forma, devido à sua acentuada acidez e ao fato de ser um produto nacional, o nióbio destaca-se como potencial substituto de catalisadores homogêneos.

2.8. Lipases

As lipases, catalisadores enzimáticos utilizados na produção de biodiesel, são carboxilesterases que catalisam a hidrólise de ligações éster em triglicerídeos, produzindo diglicerídeos, monoglicerídeos, glicerol e ácidos graxos (Jaeger et al., 1999).

A hidrólise é controlada pela quantidade de água presente no meio reacional; podendo ocorrer a síntese reversa, possibilitando diversas reações de bioconversão, tais como reações de interesterificação, esterificações, alcoólises, acidólises e aminólises. Essas reações ocorrem com elevada régio e/ou enâncio seletividade, conferindo a estas enzimas um grande potencial biotecnológico (Ferrer et al., 2001; Freire e Castilho, 2000; Pandey et al., 1999).

As lipases apresentam altas concentrações de aminoácidos hidrofóbicos que ocupam posições estratégicas na estrutura conformacional da molécula, conferindo características peculiares de interação com substratos hidrofóbicos.

Dentre as mais diversas fontes de lipase existentes, apenas as de origem microbianas parecem apresentar significado comercial (Sharma et al., 2001). Geralmente são extracelulares e contém uma região N-terminal, que atua como catalisador na determinação da estrutura final da molécula. Essa região permite a translocação da enzima para o exterior celular e protege a molécula da atuação de proteases no ambiente intracelular (Jaeger et al., 1999).

A determinação das propriedades das lipases é imprescindível para a sua utilização industrial. Elas são selecionadas em função de algumas características, tais como seletividade ao substrato, pH e temperatura ótima; estabilidade térmica ou a solventes orgânicos, entre outras.

2.8.1. Aplicação das Lipases

Com o avanço do entendimento do metabolismo microbiano, dos processos de fermentação e dos métodos de recuperação, as técnicas de produção enzimática tem se tornado cada vez mais satisfatória. Além disso, os métodos que requerem a utilização destes biocatalisadores em seus processos também vêm apresentando um aumento de demanda, tornando-as objeto de intenso estudo, devido ao seu vasto campo de utilização (Sharma et al., 2001).

O uso dos catalisadores enzimáticos tem sido favorecido, pois os mesmos possuem maior especificidade que outros catalisadores químicos, apresentam menor número de etapas da reação, poucos problemas na separação de subprodutos e menor consumo de energia. (Pandey et al., 1999). No caso específico das lipases, estas são altamente versáteis, permitindo que seja utilizada não somente nas indústrias de detergentes, onde sua aplicação está basicamente relacionada a reações de hidrólise, mas também na indústria alimentícia, farmacêutica, de química fina, de cosméticos, de óleos e gorduras, de couros, de polpa e papel, no tratamento de efluentes industriais, e na produção de biodiesel, com exploração também das reações de síntese e transesterificação destas enzimas (Sharma et al., 2001).

A seguir, estão descritas algumas informações descritas na literatura com relação ao uso para degradação de resíduos e produção de biocombustíveis das lipases.

2.8.1.1. Na indústria de óleos e gorduras

Na indústria óleo química, as lipases apresentam várias aplicações, uma vez que reduzem os gastos com energia e diminuem a degradação térmica dos compostos, quando comparado às vias químicas tradicionais (Vulfson, 1994).

Uma aplicação relevante consiste na utilização de lipases para modificação de óleos vegetais contendo um alto teor de ácidos graxos poliinsaturados (PUFAs). Os PUFAs livres e seus monos e diglicerídeos são utilizados na síntese de produtos farmacêuticos, como anticolesterolêmicos, anti-inflamatórios e trombolíticos (Jaeger e Reetz, 1998). As lipases podem, ainda, ser utilizadas para produção de lipídeos estruturados utilizados na

alimentação parenteral e enteral em substituição a óleos vegetais (Björkling et al., 1991), e também na produção de bio-lubrificantes a partir de reações de esterificação, por exemplo, de alcoóis presentes no rejeito de destilarias com ácido oléico (Dörmö et al., 2004), ou a partir da transesterificação de óleos vegetais (Shieh et al., 2003).

2.8.1.2. No tratamento de efluentes

Os laboratórios de Biotecnologia Microbiana (LaBiM) e de Controle de Poluição (LCP) da UFRJ, têm se dedicado ao estudo do uso de enzimas no tratamento de efluentes como alternativa ou complemento aos tratamentos convencionais. (Camarotta e Freire, 2006). O tratamento de efluentes gordurosos, tais como os oriundos de abatedouros e de indústrias de laticínios e pescado representam um vasto campo para o emprego de lipases. Diversos trabalhos, deste grupo, apontam para o uso de preparados enzimáticos obtido por fermentação no estado sólido como excelente alternativa para o tratamento de efluentes ricos em gorduras oriundos da indústria alimentícia (Leal 2000; Jung et al., 2002; Leal et al., 2002; Rosa et al., 2006).

As lipases também vêm sendo utilizadas na degradação de óleos no solo, provenientes de derramamentos, ou conversão de resíduos de poliésteres a produtos úteis como ácidos graxos não esterificados e lactonas (Piras et al., 1994).

As lipases podem ser empregadas no tratamento de efluentes com alto teor de gorduras como aquelas geradas nas indústrias de laticínios, frigoríficos, matadouros e pescados.

Rosa (2004) operando biorreatores anaeróbios com o efluente contendo elevado teor de gordura (1200 mg O&G/L) previamente hidrolisada obteve resultados com boa eficiência de remoção de DQO (87 a 95%), comprovando a contribuição efetiva da etapa de pré hidrólise enzimática na seqüência de tratamento.

Efluentes de matadouros contêm alto teor de sólidos, que representam 30 a 75% de sua carga poluidora, dificultando a aplicação dos processos anaeróbios para o tratamento desses efluentes. A aplicação de pré-tratamentos

para hidrolisar os sólidos em suspensão, especialmente gorduras, pode melhorar a digestão anaeróbia.

O emprego de *pools* enzimáticos produzidos por fermentação no estado sólido (FES) a partir de rejeitos industriais de custo reduzido pode representar importante contribuição como adjuvante no tratamento de efluentes ricos em material lipídico e protéico como, por exemplo, os gerados nas indústrias de pescados, transformando-os em substância mais facilmente assimilável pelo consórcio microbiano presente no tratamento posterior.

2.8.1.3. Na produção de biodiesel

Outra aplicação das lipases que tem gerado grande interesse é na produção de biodiesel. Atualmente a via química de produção de biodiesel a partir de óleos vegetais já se encontra bem estabelecida industrialmente, já a via enzimática, catalisada especificamente por lípases é uma alternativa interessante para redução dos impactos ambientais.

Apesar de existirem diversas lipases sendo produzidas em larga escala e aplicadas comercialmente, a plena utilização industrial destas enzimas passa necessariamente pela redução dos custos de produção, principalmente em aplicações que demandam elevadas concentrações de enzimas e que o produto possua baixo valor agregado, como tratamento de efluentes e produção de biodiesel (Camarota e Freire, 2006).

Desta forma, o emprego da FES como sistema produtivo pode representar uma alternativa interessante para a produção de enzimas industriais a custos reduzidos (Hölker et al., 2004; Castilho et al., 2000), devido principalmente à possibilidade de utilização de resíduos agroindustriais como meio de cultivo.

2.8.2. Produção de lipases por *Penicillium sp.*

A fermentação no estado sólido (FES) é muito similar ao *habitat* natural dos fungos, por isso estes fungos filamentosos possuem uma grande facilidade de se adaptar à FES, principalmente devido as suas características fisiológicas (Holker et al., 2004). As hifas presentes em sua estrutura física permitem uma

maior acessibilidade aos nutrientes, principalmente nos estágios finais da fermentação, quando os nutrientes da superfície encontram-se exauridos (Mitchell et al., 2002).

Além disso, a maioria dos fungos possui capacidade de crescer em meios com baixo pH e produzem enzimas extracelulares hidrolíticas para degradar as macromoléculas presentes no substrato sólido, favorecendo assim o seu uso em FES (Rahardjo et al., 2006).

Em 1996, Freire isolou em torta de babaçu, uma cepa do fungo filamentoso *Penicillium sp.*, que se mostrou uma excelente produtora de lipase. Três anos mais tarde, Jesus e colaboradores (1999), demonstraram que as etapas de purificação da lipase produzida por esta cepa em fermentação submersa contribuíam para o aumento da sua estabilidade quando havia variações de pH, provavelmente devido à retirada de substâncias que influenciavam na sua estabilidade. Foi observado também, que todos os preparados enzimáticos (brutos ou purificados) apresentam maior estabilidade em pH 7,0.

Na Tabela 2.4, Guttarra (2007) apresenta as principais características das lipases produzidas por diversos fungos do gênero *Penicillium* quanto ao pH e temperatura ideais ao crescimento e também a faixa de estabilidade do pH e da temperatura suportadas por este gênero.

Tabela 2.4: Principais características de lipases produzidas por fungos do gênero *Penicillium*.

	pH ótimo	Temperatura ótima (°C)	Estabilidade ao pH	Estabilidade térmica (°C/min)	Referência
P. simplicissimum	5,0	37	5-7	50/15	Sztajer et al., 1992
P. expansum	9,0	45	6-10	30/60	Stöcklein et al., 1993
P. wortmanii	7,0	45	-	50/60	Costa e Peralta, 1999
P. abeanum	7-8	25-30	-	-	Sugihara et al., 1996
P. restrictum	7	37	7-8	45/240	Freire et al., 1997b
P. camembertii	8,0	48	4-8	-	Tan et al., 2004

Fonte: Gutarra, (2007)

Segundo Jesus *et al.* (1999), esta lipase possui elevados níveis de atividade hidrolítica sobre triacilgliceróis de cadeia longa e média e baixos níveis de atividade hidrolítica sobre triacilgliceróis de cadeia curta. Como as gorduras do leite apresentam em sua composição ácidos graxos de cadeia média e longa, esta enzima é interessante para utilização na sua hidrólise.

2.9. Análise estatística (planejamento experimental)

O planejamento de experimentos é uma ferramenta de análise estatística que tem por objetivo desenvolver e aperfeiçoar processos, pois determinam quais variáveis exercem maior influência no desempenho deste. Dessa forma melhorias como o aumento de rendimento, redução do tempo de reação, redução da variação do processo e melhor concordância entre valores obtidos experimentalmente e os previstos podem ser aplicadas, possibilitando a redução do custo operacional. Esse método permite resolver, eficientemente, esses problemas durante os estágios iniciais do processamento do produto (Montgomery, 2003).

O planejamento fatorial é usado para descrever um fenômeno através de um modelo matemático, realizando o mínimo de experimentos possíveis, permitindo eficiência e economia no processo experimental com a seleção do modelo plausível e estimação eficiente dos parâmetros do modelo selecionado (Calado & Montgomery, 2003).

A escolha dos critérios, tais como, as variáveis independentes envolvidas (controladas no processo, também chamadas de fatores ou regressores), a faixa de variação destas (que delimita a quantidade de níveis) e a variável de resposta (grandeza medida), devem ser pré-definidas para dar objetividade à realização do planejamento (Calado & Montgomery, 2003).

Algumas características são consideradas para verificação da adequabilidade do modelo calculado, como: baixo desvio padrão, tanto dos parâmetros quanto do modelo, coeficiente de determinação próximo à unidade, análise dos resíduos através dos gráficos de valores previstos versus observados ou probabilidade normal de resíduos, por exemplo, onde ambos devem apresentar valores próximos à linha da normalidade, significância dos parâmetros e suas interações.

Normalmente, a modelagem é iniciada com um modelo linear, se no caso em estudo, este modelo não se adequar, modelos mais complexos devem ser utilizados (quadrático ou cúbico). É importante ressaltar que todas as variáveis independentes (ou fatores) são analisadas nas suas formas codificadas (ou escalonadas).

Muitos pesquisadores utilizam o planejamento experimental para a realização de experimentos para a produção de biodiesel. O objetivo destes pesquisadores é reduzir o tempo necessário para o desenvolvimento de processos, reduzirem custos e aumentar a produtividade.

2.10. Modelagem cinética

O estudo da modelagem cinética tem por objetivo a capacidade de estimar parâmetros referentes a uma reação. Com o uso desta ferramenta é possível fornecer informações sobre as condições em que a reação ocorre isto implica em variações nas concentrações de reagentes e também na formação do produto ao longo do tempo.

Desse modo, a realização de um estudo prévio da cinética da reação de esterificação pode de certa forma, fornecer resultados próximos aos resultados experimentais, obtendo-se valores aproximados para conversões e rendimentos de reações. Na literatura, a aplicação da modelagem cinética no estudo de reações de transesterificação é bem difundida (Darnoko & Cheryan., 2000; Nouredini & Zhu., 1997; Wenkel, *et al.*, 2006) o que mostra o potencial dessa abordagem de modelagem que pode ser estendida ao estudo das reações de esterificação.

No presente trabalho a modelagem cinética é aplicada no estudo da cinética da produção de biodiesel sendo analisada sobre três diferentes abordagens da reação de esterificação. Nestes casos, analisa-se a influência do excesso de álcool, a remoção de água e também presença de compostos envenenantes. A validação da modelagem proposta foi realizada correlacionando os resultados experimentais com os dados simulados.

3. Objetivos

3.1. Gerais

- O objetivo deste trabalho foi estudar a síntese de ésteres metílicos (biodiesel) de óleo residual de indústria pesqueira, através do processo de hidroesterificação (processo de esterificação precedido pelo processo de hidrólise).

3.2. Específicos

- Avaliar a geração de ácidos graxos usando o processo de hidrólise do óleo residual de indústria pesqueira. Avaliar os efeitos da temperatura reacional, pressão, agitação e o uso de lípases como catalisador.

- Avaliar a geração de ésteres metílicos a partir da esterificação dos ácidos graxos do óleo residual de peixe obtido como produtos da hidrólise, utilizando como catalisador o óxido de nióbio em pellet. Avaliaram-se os efeitos da temperatura reacional, razão molar metanol/ácido graxo e quantidade de catalisador.

- Analisar as condições reacionais da esterificação através de ferramentas estatísticas para prever de forma mais eficiente, a influência das principais variáveis do processo sobre a conversão da reação e a qualidade do produto final.

- Verificar a influência do excesso de álcool, a remoção de água e também presença de compostos envenenantes através da análise da modelagem cinética da reação de esterificação.

- Correlacionar os resultados experimentais com os dados simulados.

4. Materiais e métodos

As reações de hidrólise e esterificação química foram realizadas em reator batelada (Parr Instruments Inc. - Modelo 4842), do tipo autoclave, feito em aço inoxidável, de volume útil de 600mL e pressão máxima de trabalho de 10.000psi. Esse reator possui tubo para a retirada de amostras, bem como sistema de agitação e manta externa para aquecimento (Figura 4.1).

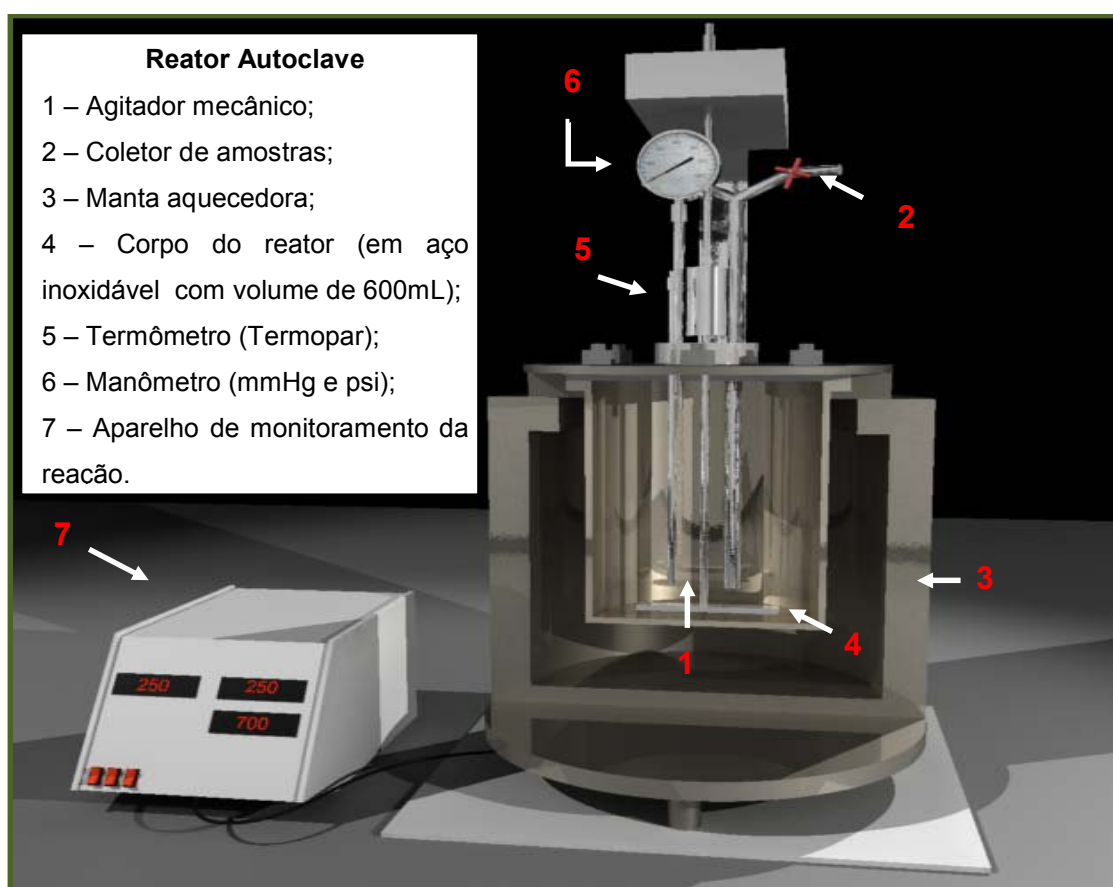


Figura 4.1 - Reator autoclave. (Lima, 2007)

Para a produção de ácidos graxos (reações de hidrólise) foi utilizado como matéria prima, o óleo residual de indústria pesqueira. Como a matéria prima usada já continha em sua composição um excesso de água (agente hidrolisante), não foi necessário adicionar mais desta na reação. Já para a produção de biodiesel (reações de esterificação) foram utilizados como matérias primas, os ácidos graxos provenientes da hidrólise do óleo de peixe.

4.1. Preparo da suspensão de esporos

A cepa de *Penicillium simplicissimum* utilizada neste trabalho foi isolada da fermentação natural de rejeitos da amêndoa de babaçu e selecionada como produtora de lipase tanto por fermentação submersa (Freire, 1996), quanto por fermentação no estado sólido (Gutarra, 2003). A cepa que é estocada em nitrogênio líquido foi cedida para este trabalho por Melissa Limoeiro Estrada Gutarra pertencente à equipe da Professora Denise Maria Guimarães Freire

A obtenção de esporos foi realizada através do crescimento do fungo a 30°C por 7 dias em meio conforme mostrado na tabela abaixo.

Tabela 4.1: Meio de crescimento para *P. simplicissimum*

Reagente	Concentração (% m/v)
Sulfato de amônio	0,5%
Amido solúvel	2%
Fosfato de potássio monobásico	0,05%
Carbonato de Ca	0,5%
Sulfato de Magnésio	0,025%
Extrato de levedura	0,1%
Agar	2,5%
Óleo de oliva	1%

Os esporos foram raspados e suspensos em tampão fosfato estéril (0,05M, pH 7,0), formando a suspensão de esporos. A concentração de esporos foi determinada através de contagem ao microscópio óptico em câmara de Neubauer.

4.2. Fermentação no estado sólido (FES):

Foram empregados biorreatores do tipo bandeja (cilíndricos) com 15 g de torta de babaçu, perfazendo uma altura de leito de 1 cm. A torta de babaçu foi usada como meio basal para a fermentação no estado sólido suplementada com óleo de oliva, melaço a 6,25% (m/m). Os meios foram inoculados com 2 x

10^4 esporos/mL e as fermentações foram conduzidas a 30°C por 3 dias, em estufas com injeção de ar úmido com 95% de saturação.

4.3. Obtenção do extrato enzimático bruto

Em FES, ao final da fermentação, foram adicionados 5 mL de tampão fosfato (0,1 M, pH 7,0) por grama de torta de babaçu inicial. A extração do preparado enzimático foi realizada em agitador rotatório a 35°C e velocidade de agitação de 200 rpm por 20 minutos. Posteriormente, a torta foi prensada para a obtenção do extrato enzimático bruto, o qual foi centrifugado a 2000rpm por 2 minutos para remoção de sólidos mais finos (Gutarra *et al.*, 2005; Godoy *et al.*, 2009).

4.4. Quantificação da atividade lipásica

A atividade lipásica foi medida pelo método espectrofotométrico, que se baseia na formação de um produto cromóforo (p-nitrofenol) a partir da reação de hidrólise do p-nitrofenil laurato catalisada por lipases. A solução do substrato foi preparada utilizando-se 0,25 mL de p-nitrofenil laurato 2,5 mM em 2,2 mL de tampão fosfato de sódio 25 mM, pH 7,0. A reação foi iniciada pela adição de 50 μL do extrato enzimático e conduzida a 30°C . A formação do p-nitrofenol foi acompanhada em espectrofotômetro a 412 nm. Uma unidade de atividade lipásica (U) é definida como a quantidade de enzima necessária para hidrolisar 1 μmol de p-nitrofenil laurato por minuto nas condições de ensaio. A atividade lipásica foi expressa em U/mL em FES. O cálculo da atividade enzimática foi feito pela equação 1 (Godoy *et al.*, 2009):

$$A = \frac{\alpha \cdot V_f}{V_a \cdot F} \quad \text{Equação 1}$$

Onde: A_L = atividade (U/mL), α = coeficiente angular da reta (Abs x tempo), F = fator (Abs x concentração de produto), V_f = volume final (mL), V_a = volume de amostra (mL), F_d = fator de diluição.

4.5. Determinação do teor de água do óleo residual.

A umidade foi determinada (Gombert *et al.* 1999 e Palma *et al.* 2000) gravimetricamente através da perda de água em uma amostra após 24 horas de secagem em estufa a 70°C. O cálculo da umidade será realizado utilizando-se a equação abaixo descrita:

$$U = \frac{(\quad)}{\quad} .100$$

Equação 2

Sendo: U = umidade (%), Pu = peso da amostra úmida (g) e Ps = peso da amostra seca (após 24 h)

4.6. Hidrólise enzimática – geração de ácidos graxos

O processo de hidrólise enzimática foi realizado no laboratório de biotecnologia microbiana (LaBiM), no qual foi investigada a eficiência da lipase do fungo *Penicillium simplicissimum* na hidrólise do óleo residual de indústria pesqueira.

A enzima foi adicionada, após quantificar sua atividade enzimática em aproximadamente 30 U/mL conforme descrito no item 4.4, ao reator contendo 450g da gordura residual, foi adicionado 600mL de enzima obtida, de modo que a cada 12h, durante 2 dias, 150mL da enzima foram adicionados, a 45°C, sob agitação mecânica.

A extração do ácido graxo foi realizada por sucessivas lavagens com hexano, e em seguida foi colocado em funis de decantação para precipitação dos resíduos sólidos presentes na amostra inicial. Após decantar, o solvente foi eliminado no rotaevaporador a 65-75°C.

4.7. Hidrólise química – geração de ácidos graxos

O óleo residual de indústria pesqueira foi o único reagente adicionado ao copo do reator, pois este já continha 25% de água em sua composição. A

agitação utilizada durante o processo foi fixada em 500 rpm e a temperatura em 300°C.

O progresso da reação foi avaliado segundo medidas do índice de acidez (%) das alíquotas amostrais retiradas nos tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos.

Ao término de cada reação de hidrólise, o produto foi submetido à secagem para retirada de água. Não foi possível separar o glicerol do ácido graxo, pois o produto desta hidrólise não decantava, sendo assim inviável separar o ácido graxo do glicerol.

4.8. Esterificação – geração de ésteres metílicos

Nas reações de esterificação, os reagentes, ácido graxo de óleo residual de peixe e metanol, foram adicionados ao copo do reator juntamente com o catalisador. O catalisador foi previamente calcinado (a 200°C por 1 hora) segundo descrito por Santos *et al.* (2005). A agitação (500rpm) foi mantida constante, pois como observado por Rodrigues *et al.*, 2005 e Carvalho *et al.*, 2005, acima destas rotações não foram encontradas conversões significativas. A temperatura foi fixada e mantida constante.

O progresso da reação foi avaliado segundo medidas do índice de acidez (%) das alíquotas amostrais retiradas nos tempos 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos. Mesmo sabendo-se que 80% do óleo vegetal são convertidos a biodiesel nos primeiros 10 a 20 minutos de contato entre os reagentes (Veljkovic *et al.*, 2006 e Marchetti *et al.*, 2006).

Os tempos de reação para todos os experimentos foram fixados em 60 minutos, pois, segundo descrito por Rodrigues *et al.*, (2005) e Furuta *et al.*, (2004) apesar de tempos superiores a 20 minutos não provocarem aumentos significativos na conversão reacional, podem favorecer a observação da cinética da reação como um todo, uma vez que se tratam de reações pouco conhecidas.

Como na reação de esterificação não há formação de glicerol, o produto foi diretamente submetido à secagem para a retirada da água e do metanol residual. Quando utilizado o catalisador, o mesmo pode ser recuperado por filtração.

4.9. Planejamento de experimentos

4.9.1. Matriz de planejamento

As variáveis utilizadas nas reações de esterificação foram: razão molar (RM) metanol/ácido graxo; temperatura reacional (T) e quantidade de catalisador (C). Ambas foram analisadas segundo o planejamento fatorial 2^3 . Os níveis utilizados para cada variável são descritos na tabela 4.2 para as reações de esterificação.

Tabela 4.2: Níveis para o planejamento fatorial 2^3 – Processo de esterificação com ácidos graxos provenientes da hidrólise química.

Variáveis	Nível inferior (-1)	Ponto central (0)	Nível superior (+1)
RM (mol)	1,2	2,1	3
T (°C)	150	175	200
C (%m/m)	5	10	15

No processo de esterificação, a razão molar metanol/ácido graxo foi de 1,2, por estar próximo à razão-molar estequiométrica (1 mol de ácido graxo : 1 mol de metanol) e de 3,0 por estar representando um excesso de metanol. Ambas foram escolhidas por também terem sido utilizadas em estudos previamente realizados em laboratório (Gonçalves et al., 2007). A temperatura variou de 150 a 200, pois como relatado por Furuta et al. (2004) e Carvalho et al. (2005), o processo de esterificação ácida requer elevadas temperaturas para que possa ocorrer, sobretudo na ausência de catálise homogênea.

Já a variável quantidade de catalisador (C) foi realizada como nível inferior igual a cinco e superior igual a quinze.

A partir destes limites foi possível realizar a montagem da matriz de planejamento, segundo suas variáveis reais e escalonadas (entre parênteses) para a reação de esterificação (Tabela 4.3).

Tabela 4.3: Matriz de planejamento fatorial 2^3 para as reações de esterificação com ácido graxo proveniente da hidrólise química.

Experimentos	RM (mol)	T (°C)	C (%m/m)
1	3 (+1)	200 (+1)	15 (+1)
2	1,2 (-1)	150 (-1)	5 (-1)
3	1,2 (-1)	200 (+1)	5 (-1)
4	3 (+1)	150 (-1)	15 (+1)
5	3 (+1)	200 (+1)	5 (-1)
6	1,2 (-1)	150 (-1)	15 (+1)
7	3 (+1)	150 (-1)	5 (-1)
8	1,2 (0)	200 (+1)	15 (+1)
9	2,1 (0)	175 (0)	10 (0)
10	2,1 (0)	175 (0)	10 (0)
11	2,1 (0)	175 (0)	10 (0)

Os experimentos 9 a 11 corresponderam às triplicatas do ponto central (níveis zero) definido pelo planejamento. Os resultados obtidos a partir desses experimentos possibilitaram o cálculo do desvio padrão dos parâmetros (ϵ) e do modelo (ϵ^*) como um todo e, por conseguinte, uma visão da variância do experimento em estudo.

Para os ácidos graxos gerados por hidrólise enzimática a esterificação foi realizada apenas sobre a condição de 200°C de temperatura, 15% de catalisador e razão molar de metanol/ ácido graxo igual a 3,0.

4.9.2. Análise estatística do planejamento

Para o tratamento estatístico dos resultados, a conversão do reagente, no caso da esterificação, composto predominantemente por ésteres, foi calculada em relação ao conteúdo de ácidos graxos (Conversão - %) presentes no meio reacional durante um período de tempo (entre 5 e 60 minutos). Este resultado foi considerado como sendo a resposta quantitativa do sistema - conversão (η).

A avaliação estatística dos efeitos principais e de interação, bem como a adequação das respostas obtidas dos planejamentos fatoriais e modelos matemáticos, foi realizada com auxílio do programa STATISTICA, versão 6.0. A equação matemática (ou modelo de regressão) é uma maneira de se prever os efeitos que as variáveis aleatórias causam no sistema reacional. Geralmente essa determinação é iniciada com a predição de um modelo linear, devido à busca por modelos matemáticos mais simples que permitam uma descrição adequada do sistema. Se caso este modelo não representar adequadamente o sistema em estudo, modelos mais complexos como os modelos quadráticos ou cúbicos podem ser propostos (Domingos, 2005). A equação matemática utilizada para o planejamento fatorial com três fatores foi dada por:

$$Y = a + b.T + c.RM + d.C + e.T.RM + f.T.C + g.RM C + h.T RM C \quad \text{Equação 3}$$

Onde, a , b , c , d , e , f , g e h foram os parâmetros estimados

É importante ressaltar que o planejamento foi analisado com as variáveis aleatórias na forma codificada (entre -1 e $+1$). Isto se tornou necessário devido o fato das variáveis utilizadas no planejamento serem de diferentes ordens de grandeza, como por exemplo, 250°C de temperatura e 5% de catalisador (Lima, 2007).

4.9.3. Regressão Linear Múltipla – Modelo Global

Adicionado ao modelo empírico linear gerado para a conversão ao longo da reação foi possível traçar um modelo linear global, que pudesse relacionar

todos os dados experimentais obtidos (incluindo cada tempo, de 5 a 60 minutos) em todo o processo. Em tal situação, está-se interessado em filtrar as variáveis candidatas para se obter um modelo de regressão que contenha o “melhor” subconjunto de regressores. Para essa predição foi utilizada a técnica de eliminação regressiva, pelos métodos de “*forward stepwise*” e “*backward stepwise*”. Os algoritmos começam com todos os k’s candidatos a regressores (variáveis ou fatores) do modelo, então o regressor com menor estatística parcial F é eliminado. Assim, ocorre com o grupo de regressores restantes, aquele com potencial para a eliminação será encontrado. O algoritmo termina quando nenhum regressor a mais pode ser eliminado.

Para essa predição foram utilizadas como variáveis aleatórias, a razão molar etanol/ácido graxo (mol/L - R), a massa de catalisador (g - Mc.), a temperatura reacional (°C - T), o volume do reator (mL - V) e o logaritmo natural do tempo (Lnt) e como variável resposta, a conversão global (ηG). Para tanto a equação 4, abaixo foi proposta:

$$Y = i + j.T + l.R + m.Mc + n.V + o.Lnt$$

Equação 4

onde *i, j, l, m, n* e *o* foram os parâmetros estimados.

4.10. Modelagem da reação de esterificação

A modelagem aplicada neste trabalho é baseada em conceitos fenomenológicos e foi testada com intuito de possibilitar extrapolação das condições e elucidar as taxas de reação para a esterificação do ácido graxo estudado.

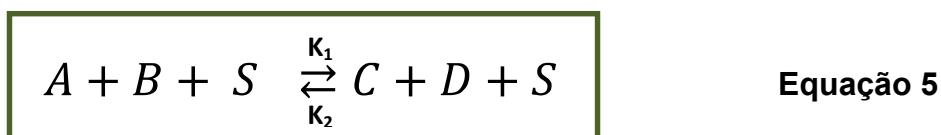
Os parâmetros foram calculados com auxílio do programa Fortran (versão 6.0) através das análises entre as conversões e os tempos medidos do ácido graxo com o metanol. A determinação para que o modelo seja adequado foi estipulada pela análise dos mínimos quadrados (quanto menor a diferença ao quadrado dos valores previstos e observados, melhor a adequabilidade do modelo) e pelo gráfico dos valores simulados sobre os valores experimentais (quanto mais afastados os pontos da linha, maior o erro).

Para análise foi utilizado um Simulador para Determinação de Parâmetros Cinéticos para estimar as constantes k_1 e k_2 de um modelo reversível, utilizando a rotina inversa R2W, sendo k_1 a constante de formação do produto e k_2 a constante da reação reversível. O modelo testado foi desenvolvido pelo professor Diógenes Câmara (IPRJ –UERJ), em 2009.

Os valores de parâmetros solicitados pelo programa são: volume do reator, massa do ácido graxo utilizado, peso molecular do ácido graxo utilizado, massa do álcool utilizado, peso molecular do ácido graxo utilizado e os dados experimentais.

A modelagem aplicada neste trabalho está relacionada com a cinética de reação heterogênea, em que sítios ativos em materiais adsorventes sólidos micro porosos atuam catalisando a reação. Estes sítios específicos estão sujeitos à formação de materiais carbonáceos, que podem desativá-los levando à redução da atividade catalítica, com sérias implicações para o processo.

Na abordagem de modelagem cinética com concentração constante de sítios usada, a reação de esterificação consiste em uma reação reversível, ilustrada na equação 5, com concentração constante de sítios. De acordo com a equação abaixo, um ácido graxo livre (representado por A) reage com um álcool de cadeia curta (representado por B) mediante os sítios ativos do catalisador heterogêneo (representados por S_t), formando os ésteres (representado por C) e a água (representado por D). (Barbosa, Câmara, & Aranda, 2009).



Os modelos cinéticos que descrevem o caso I estão listados abaixo, mostrando no primeiro termo do lado esquerdo, respectivamente, a variação da concentração de biodiesel, de água, ácido graxo e álcool. Os termos k_1 e k_2 representam, respectivamente, as constantes cinéticas de formação e consumo de biodiesel. (Barbosa, Câmara, & Aranda, 2009).

$\frac{dC}{dt} = \dots$	Equação 6
$\frac{dC}{dt} = \dots$	Equação 7
$\frac{dC}{dt} = \dots$	Equação 8
$\frac{dC_a}{dt} = \dots$	Equação 9

Com intuito de verificar se o modelo proposto se adequou aos dados experimentais, foram calculados os valores de k_{eq} , a partir dos valores de k_1 e k_2 obtidos no Simulador para Determinação de Parâmetros Cinética, conforme descrito na equação 9. Obtendo este valor de k_{eq} , foram calculados os valores de X_{Aeq} para cada experimento realizado, podendo analisar, dessa forma, a proximidade aos dados experimentais. Os cálculos de X_{Aeq} foram calculados de acordo com as equações 11 e 12, sendo uma para razão molar de 1,2 (no equilíbrio) e outra para de 3,0 (caso onde a estequiometria da reação é diferente, entre o etanol e o ácido graxo utilizado), respectivamente.

$= \dots$	Equação 10
$= \frac{(\dots) \cdot (\dots)}{(\dots) (\dots)} = \frac{(\dots)}{(\dots)} = \dots \Rightarrow$	Equação 11
$= \frac{(\dots) \cdot (\dots)}{(\dots) (\dots)}$ $= \frac{(\dots)}{1 - (\dots)}$	Equação 12

4.11. Análise dos produtos

O produto final das reações de esterificação, o biodiesel, usando ácidos graxos obtidos por hidrólise química ou enzimática foi submetido a medidas de determinação do índice de acidez por titulometria de neutralização.

4.11.1. Determinação do índice de acidez

O índice de acidez favorece a determinação das conversões reacionais e do conteúdo de ácidos graxos livres presentes nos produtos formados. O método de titulação por neutralização proporcionou a determinação das quantidades de hidróxido de potássio necessárias para neutralizar os ácidos graxos livres, presentes em solução. Neste método entre 1- 4 g de amostra foram coletado nos diferentes tempos reacionais, em um erlenmeyer que continha 3 gotas de NaOH 0,01mol/L, 1mL de fenolftaleína e 25mL de Etanol P.A. Esta solução foi titulada contra uma solução de NaOH 0,25mol/L padronizada. O volume gasto nesta titulação foi inserido na equação abaixo, a qual proporcionou a determinação do conteúdo de ácidos graxos (%) presentes na reação.

$$\text{Índice de Acidez (\%)} = [(7,05 \times V) / (MA)]$$

Equação 13

Onde: MA é a massa da amostra (g) e V é o volume (mL) de NaOH 0,25mol/L gasto na titulação.

Observe que durante a titulação foi utilizado como agente titulante o NaOH e no momento da realização do cálculo foi necessário a utilização do valor 7,05. Este valor é produto da multiplicação da concentração do NaOH (0,00025mol/mL), pela a massa do ácido oléico (282g/mol) por 100. No caso da esterificação, a conversão foi calculada através da utilização de um tempo 0, segundo a equação 14:

$$\text{Conversão Esterificação} = \eta (\%) = [(A-B) / (A)] \times 100$$

Equação 14

Onde: A é a acidez do tempo 0 (%) e B é a acidez da amostra (%) titulada naquele determinado tempo.

Este branco se trata de uma amostra da mistura reacional, retirada antes do início de cada reação, no momento da preparação dos reagentes, o qual continha uma mistura homogênea dos reagentes utilizados, no caso da hidrólise corresponde ao com e sem enzima; e no caso da esterificação trata-se de ácido graxo de óleo residual de peixe e metanol com catalisador.

Com o intuito de se obter valores de acidez, para as reações de hidrólises de ambas as matérias primas, que mais se aproximassem do valor real da reação, foi necessária a utilização da equação a baixo, uma vez que a água utilizada como reagente hidrolisante favorece a diluição das amostras. Neste estudo, a acidez determinada no momento da coleta das alíquotas, foi chamada de acidez aparente, pois nestas alíquotas havia a presença da água utilizada como reagente e, para a nova acidez calculada, agora com a correção da água presente em excesso, foi dado o nome de acidez verdadeira (A_v), sendo o valor desta correspondente à conversão obtida no processo:

$$\text{Conversão Hidrólise} = \eta (\%) = A_v (\%) = (A_t) \times \left(\frac{(A_s - A_u) \times 100}{A_s} \right) / 100 + (A_t)$$

Equação 15

Onde, A_s é a acidez do seco, que se trata do produto final da reação após ser submetido à lavagem e secagem; A_u é a acidez da última alíquota retirada na curva cinética, ou seja, a acidez do tempo de 60 minutos e A_t é a acidez da alíquota no tempo t, medida durante a curva cinética.

Esse procedimento foi considerado necessário devido à dificuldade de se encontrar tempo hábil para que as alíquotas retiradas durante a execução da cinética da reação fossem separadas do glicerol e em seguida evaporadas e delas retiradas a água e assim medida a acidez verdadeira.

A análise do teor de acidez foi realizada segundo a norma AOCS Ca 5a-40.

5. Resultados

5.1. Análise da matéria prima.

Neste trabalho foi utilizado como matéria prima o óleo residual proveniente de uma indústria pesqueira localizada em São Gonçalo, no estado do Rio de Janeiro.

Inicialmente a amostra foi caracterizada como gordura por ser sólida em temperatura ambiente e em seguida foi medido o seu teor de acidez e umidade, uma vez que, é de suma importância obter o conhecimento das características químicas da matéria prima a serem utilizadas em uma reação. Estas propriedades são determinantes para a escolha da reação a ser utilizada.

A gordura utilizada nesta dissertação apresenta em sua composição, uma alta quantidade de ácidos graxos livres, aproximadamente 28,17%, e teor de umidade de aproximadamente 25 %.

Abaixo se encontra a caracterização do óleo residual de indústria pesqueira quanto ao teor de ácidos graxos presentes na amostra. Na tabela 5.1 podemos observar as concentrações em percentagem dos ácidos graxos detectados na amostra.

Tabela 5.1. Teor de ácidos graxos em percentagem presentes da amostra de óleo residual de indústria pesqueira.

Teor de ácidos graxos em %	
Palmítico	6,57
Esteárico	0,39
Oléico	12,58
Linoléico	1,1
Linolênico	0,07
Linoléico	0,14

Não foi possível detectar 100% da composição da amostra, devido a problemas de entupimento da coluna de cromatografia.

Devido a estas características, alto teor de água e alta acidez, foram realizados reações de hidrólise, optando-se por produzir o biodiesel pela rota da hidroesterificação, pois na hidrólise, a água é utilizada como reagente

favorecendo a quebra de moléculas de triacilglicerídeos sendo possível utilizar qualquer tipo de matéria prima, sendo ela rica em triacilglicerídeo ou em ácidos graxos, não importando assim o teor de acidez. Já na reação de transesterificação, devido ao excesso de água, ocorreria a produção de sabão interferindo negativamente no rendimento do processo.

Neste estudo, foram realizados dois tipos diferentes de hidrólise, uma enzimática (utilizando lipases provenientes do fungo *Penicillium simplicissimum*), e outra química, com e sem o uso de catalisadores.

5.2. Dosagem da atividade lipase:

As enzimas de *P. simplicissimum*, usada neste trabalho foram obtidas conforme descrito nos métodos 4.1, 4.2 e 4.3. A dosagem foi realizada pelo método espectrofotométrico usando p-nitrofenol também descrito acima no método 4.4.

Em 2007, Gutarra descreveu a caracterização do processo fermentativo para a produção de enzimas, lipases, pelo fungo *Penicillium simplicissimum*, o mesmo utilizado nesta dissertação.

Gutarra, 2007, obteve nas mesmas condições que as testadas neste trabalho, uma atividade lipásica de 58,89 U/mL, porém nesta dissertação o máximo de atividade obtida foi 30 U/mL. Essa baixa atividade pode ter ocorrido pelo tempo em que a cepa do fungo encontrava-se estocada na geladeira.

Por outro lado, Vargas (2004), relata ter encontrado um bom desempenho na produção desta mesma enzima com atividades variando de 30 a 33 U/mL, afirmando que esta é considerada uma boa atividade.

5.3. Hidrólise enzimática – geração de ácidos graxos

Nas reações de hidrólise enzimática foi utilizada a lipase com atividade de 30U/mL. Como esta enzima apresentava uma baixa atividade quando comparada aos resultados obtidos por Gutarra (2007), foi inoculado o dobro da concentração inicialmente calculada.

Na tabela 5.2 podemos observar a curva cinética de produção de ácido graxo proveniente da hidrólise enzimática utilizando lipases extraídas de *P. simplicissimum*.

A acidez das amostras foram medidas a cada 12h, período em que eram acrescentadas as enzimas.

Tabela 5.2. Hidrólise da gordura residual de peixe em ácidos graxos pela rota enzimática

Tempo (h)	Acidez (%)	Conversão (%)
0	26,16	28,18
12	36,66	39,49
24	48,51	52,26
36	67,91	73,16
48	75,27	81,09
Amostra seca	82,38	88,74



Figura 5.1. Curva cinética de produção de ácidos graxos por hidrólise enzimática da gordura residual de indústria pesqueira.

A amostra de ácido graxo obtida após as 48h foi solubilizada em hexano para poder extrair, pelo rota evaporador, todos os resíduos sólidos não solúveis em hexano presente nesta.

5.4. Reações de hidrólise química - geração de ácidos graxos

Neste trabalho, a hidrólise química, foi baseada nos estudos de Lima (2007), onde as melhores condições para realização da hidrólise, de óleo de soja, se deram nas maiores condições testadas, ou seja, temperatura de 300°C, 20% de catalisador e proporção de óleo/água de 1:20.

Para verificarmos a necessidade de se usar catalisadores na reação foram realizadas seis reações no total. Três delas contendo 10% (%m/m), em relação à massa de óleo, de catalisador e três dela sem adição de catalisador e foram comparadas nas mesmas temperaturas, a 200°C, a 250°C e a 300°C.

Como podemos observar na tabela abaixo, quando analisamos a acidez da amostra seca (AS) verificamos que não há necessidade de usarmos catalisadores, pois em todas as temperaturas testadas, a reação não sofre, ou sofre pouca influência do catalisador.

Tabela 5.3. Acidez das amostras secas em diferentes temperaturas sem e com (10% m/m) de catalisador após 60 minutos.

	Acidez (%)	
	Sem catalisador	Com catalisador
200°C	61,87	59,60
250°C	67,45	74,94
300°C	93,35	92,18

Os resultados obtidos evidenciam através da figura abaixo que mesmo sem utilizar catalisadores químicos na reação o rendimento desta não foi afetado, ao contrário, foi melhor que os resultados da figura 5.3, no qual as reações foram realizadas com uma concentração de 10% (%m/m) de catalisador.



Figura 5.2. Conversões das hidrólises químicas em diferentes temperaturas sem catalisador, e razão molar óleo/água 1:25.



Figura 5.3. Conversão das reações de hidrólise química em diferentes temperaturas com 10% de catalisador e razão molar óleo/água 1:25.

Em ambos os gráficos, figura 5.2 e 5.3, observa-se que assim como nos estudos de Lima (2007), a temperatura de 300°C foi a que apresentou maior conversão. Na amostra seca, observa-se também que a acidez aumenta ao evaporarmos o excesso de água. Isto ocorre porque a água usada como

agente hidrolisante favorece a diluição das amostras. Dessa forma, a amostra seca é importante para calcularmos a real acidez do ácido graxo formado.

Nas figuras 5.4, 5.5 e 5.6 podemos observar o comportamento cinético da reação quando comparadas em uma mesma temperatura variando apenas a concentração de catalisador.

Podemos observar que as reações de menores temperaturas apresentaram menor conversão dentro do tempo analisado, ou seja, o aumento da temperatura favoreceu a formação de ácidos graxos.

Conforme evidenciado pelos gráficos abaixo, os tempos de 45 e 60 minutos e a amostra seca, quando analisadas na mesma temperatura, não apresentam diferença significativa quando utilizado ou não catalisador.



Figura 5.4. Conversão das reações de hidrólise química a 200°C na presença e na ausência de catalisador e razão molar óleo/água 1:25.

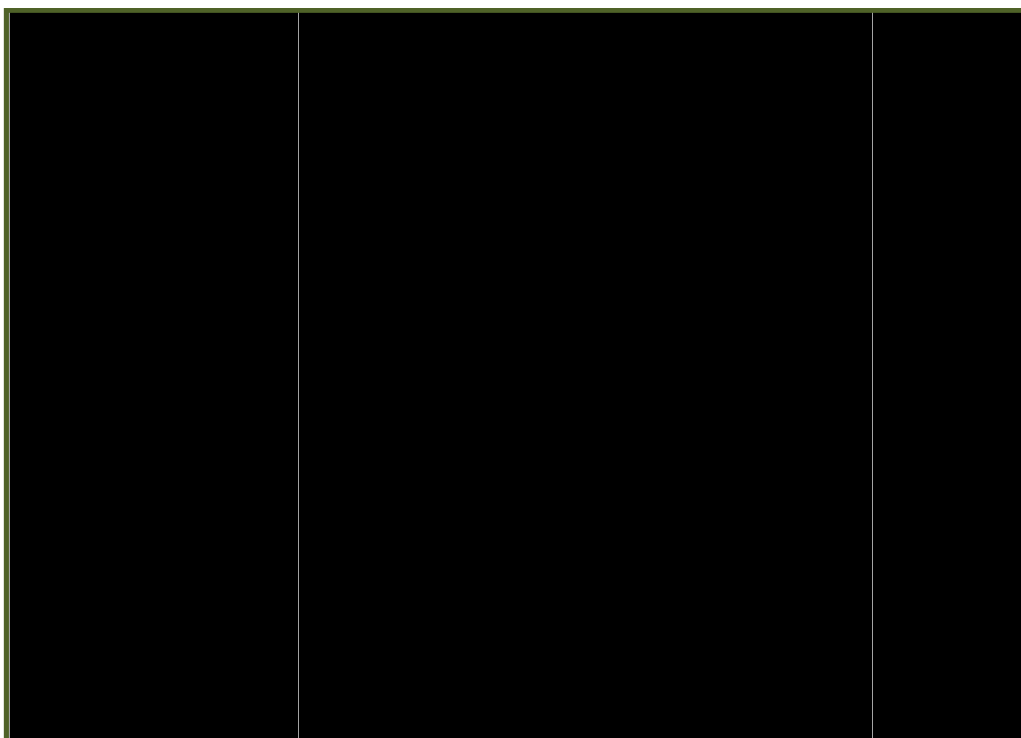


Figura 5.5. Conversão das reações de hidrólise química a 250°C na presença e na ausência de catalisador e razão molar óleo/água 1:25.



Figura 5.6. Conversão das reações de hidrólise química a 300°C na presença e na ausência de catalisador e razão molar óleo/água 1:25.

Devido ao fato da matéria prima conter uma alta concentração de água, uma possível explicação para o baixo desempenho das reações com catalisador seria o fato desta água se ligar aos sítios ativos impedindo assim uma boa atuação do óxido de nióbio, pois antes de ser utilizado na reação o nióbio precisa ser calcinado justamente para eliminar toda a água que possa estar presente em sua estrutura, o que minimizaria sua atuação.

A melhor condição obtida nestes testes para dar prosseguimento a este trabalho foi, hidrolisar a gordura residual a uma temperatura de 300°C, sem adicionar água, uma vez que está já representa um quarto da matéria prima utilizada, e sem o uso de óxido de nióbio, pois conforme observado a presença deste na reação não apresenta significância.

Além disso, este método apresenta uma peculiaridade, por se tratar de uma matéria prima residual, o resultado da hidrólise foi de difícil separação, assim sendo, o glicerol obtido como subproduto não pôde ser separado, pois seriam necessárias inúmeras lavagens para completa retirada dos resíduos sólidos o que dificultaria o processo, tornando-o mais lento e caro.

Dessa forma o produto proveniente da hidrólise química destinada à segunda etapa do processo, a esterificação, é composto por ácidos graxos, glicerol, e resíduos não identificados. O excesso de água presente na amostra foi evaporado em placa de aquecimento com a ajuda de um agitador mecânico automático.

5.5. Reações de esterificação

5.5.1. Ácidos graxos provenientes da hidrólise enzimática

Os ácidos graxos provenientes desta hidrólise apresentaram uma cor ligeiramente mais clara que o ácido graxo proveniente da hidrólise química, este fato deve ter ocorrido principalmente devido a baixa temperatura em que foi produzida, pois na hidrólise produzida com a ajuda de enzimas a temperatura não ultrapassou os 45°C, e na química a temperatura utilizada foi de 300°C.

Na tabela 5.4 podemos observar a curva cinética de produção de biodiesel, utilizando ácidos graxos provenientes da hidrólise enzimática. Nota-

se que a maior conversão ocorreu aos 15 minutos em que foi de 6,86% para 31,33%.

Tabela 5.4. Esterificação química de ácido graxo obtido por hidrólise enzimática.

Tempo (min)	Acidez (%)	Conversão (%)
5	86,72	2,27
10	82,66	6,86
15	60,94	31,33
20	56,02	36,87
25	55,42	37,54
30	54,99	38,03
45	49,54	44,17
60	39,77	55,18
Amostra seca	38,54	56,57

Esta reação apresentou uma boa conversão ao final da reação indicando que a combinação entre a hidrólise enzimática e a esterificação química pode ser promissora para este tipo de rejeito industrial. A conversão final atingiu 56,57% e foi calculada após a evaporação total do hexano.

Este resultado pode ser otimizado realizando-se um trabalho planejamento fatorial para determinar as melhores condições para a matéria prima ser submetida e produzir conseqüentemente biodiesel.

Na figura 5.7 podemos analisar a curva cinética e ver a notória conversão em biodiesel no tempo de 15 minutos e sua gradual conversão após este tempo.

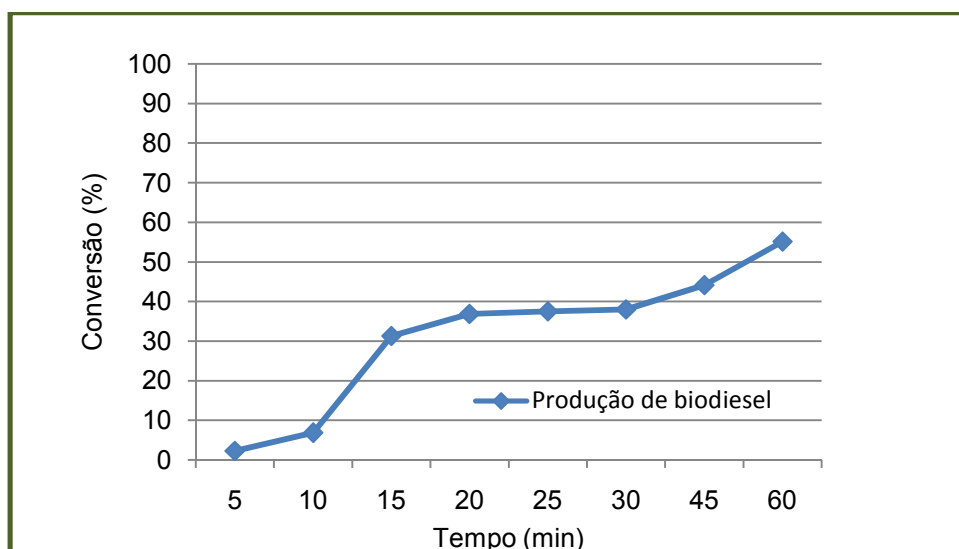


Figura 5.7. Curva cinética de produção de biodiesel com ácido graxo proveniente da hidrólise enzimática

5.5.2. Ácidos graxos provenientes da hidrólise química

Os resultados experimentais obtidos através do planejamento fatorial completo da reação de esterificação do ácido graxo proveniente da hidrólise química da gordura residual de óleo de peixe encontram-se na tabela abaixo descritos.

Tabela 5.5. Conversões obtidas para o planejamento da reação com ácido de peixe com metanol.

Acidez do Ácido Graxo: %											
Exp	Temp	RM	CAT	5'	10'	15'	20'	25'	30'	45'	60'
1	150	1,2	5	12,29	16,73	26,75	35,13	30,55	26,98	38,64	45,97
2	200	1,2	5	35,29	41,48	49,93	51,15	51,17	51,67	54,47	56,81
3	150	3	5	35,50	28,06	27,05	38,81	29,60	31,15	44,01	54,39
4	200	3	5	51,08	67,93	71,38	71,82	77,12	77,77	84,67	87,79
5	150	1,2	15	28,74	33,92	37,15	42,04	42,57	43,68	52,28	66,94
6	200	1,2	15	61,56	62,49	65,44	66,29	65,60	69,63	70,43	70,68
7	150	3	15	69,08	72,57	76,35	81,00	75,81	78,35	83,44	82,44
8	200	3	15	83,49	83,79	88,66	91,58	91,64	93,20	91,79	92,11

Os pontos centrais foram utilizados para construir uma estimativa do erro (ϵ), assumindo que este é válido para todos os pontos do modelo. Estes estão ilustrados no gráfico abaixo.



Figura 5.8. Pontos centrais para esterificação do ácido graxo proveniente da gordura residual de óleo de peixe utilizando metanol.

De todas as reações do planejamento, pode ser observado, que a maior conversão a ésteres foram obtidas no limite superior, utilizando 15% de catalisador, temperatura de 200°C e razão molar metanol /ácido graxo igual a 3,0. Já a menor conversão ocorreu no limite inferior, utilizando 5% de catalisador, temperatura de 150°C e razão molar metanol /ácido graxo igual a 1,2.

Em 2005, VIEIRA observou que a presença de água no meio reacional ainda pode hidrolisar os ésteres formados e inativar a maioria dos catalisadores heterogêneos por inibição da taxa de reação. Nota-se, que a síntese de ésteres de ácidos graxos em maiores concentrações de água é termodinamicamente desfavorável, pois a água é um dos produtos da esterificação, portanto, quando a reação ocorre em presença de mais água, o equilíbrio é fortemente deslocado no sentido dos reagentes (princípio de Le Chatelier).

5.6. Análise estatística do planejamento experimental

Através das respostas obtidas experimentalmente (conversão), foram estabelecidos pela análise do planejamento fatorial completo, os valores de coeficientes de determinação (R^2) e o desvio padrão para cada planejamento, através dos pontos centrais. Os resultados empíricos obtidos foram analisados pelo método ANOVA do programa Statistica 6, por ser um procedimento que avalia o grau de inter-correlação dos materiais em análise, indicando que os modelos obtidos estão adequados para os ajustes aos dados da variável de resposta, pois possuem valores altos de R^2 (acima de 0,99) e pequenos desvios.

Os modelos lineares demonstram como a conversão em ésteres é influenciada pela temperatura (T), concentração de catalisador (C) e razão molar (R).

Os parâmetros calculados para as reações nos tempos de 5, 10, 15, 20, 25, 30, 45 e 60 minutos, para todos os ácidos, tanto nas reações com o metanol anidro quanto com etanol hidratado, estão dispostos na Tabela 5.6.

Tabela 5.6. Parâmetros dos coeficientes normalizados, seus erros e desvio padrão do modelo de regressão linear.

$Y = a + b.T + c.RM + d.C + e.T.RM + f.T.C + g.RM.C + h.T.RM.C$										
Tempo	a	b	c	d	e	f	g	H	Desvio Padrão dos Coeficientes	Desvio Padrão do Modelo
5	47,13	10,73	12,66	13,59	-3,23	1,08	2,91	-1,37	0,13	0,14
10	50,87	13,05	12,22	12,32	-0,28	-3,10	2,77	-4,06	0,07	0,39
15	55,34	13,51	10,52	11,56	0,65	-3,36	5,08	-4,64	0,11	0,10
20	59,73	10,48	11,07	10,50	0,41	-1,78	4,99	-3,83	0,03	0,01
25	58,01	13,38	10,53	10,90	2,46	-3,66	4,28	-4,26	0,02	0,002
30	59,05	14,02	11,06	12,16	1,35	-3,81	3,50	-4,13	0,03	0,01
45	64,97	10,37	11,01	9,52	1,88	-3,75	2,12	-4,33	0,13	0,13
60	69,64	7,21	9,54	8,40	3,56	-3,85	-0,31	-2,08	0,06	0,02

*Todos os valores apresentaram $p < 0,05$.

Através desta tabela podemos observar que a variável que apresentou mais influência durante toda a reação, sob um ponto de vista geral, foi em primeiro lugar a temperatura, depois a quantidade de catalisador e por último a razão molar.

Para a análise da temperatura isoladamente podemos dizer que sua maior significância na reação foi no tempo de 30 minutos, enquanto que a razão molar e o catalisador foram mais significativos no tempo de 5 minutos. Para ambas as variáveis o tempo de 60 minutos de reação foi o que apresentou menor significância.

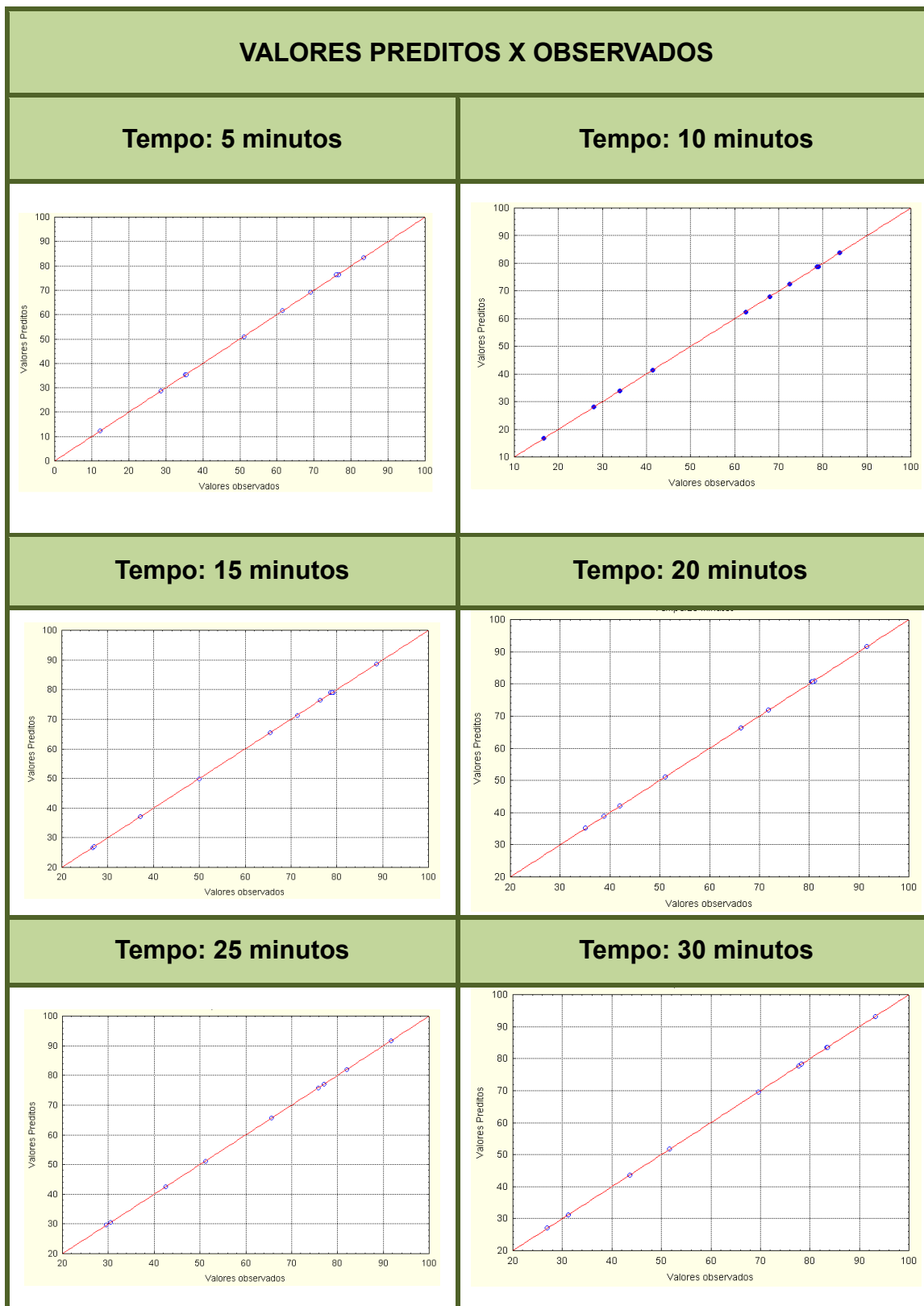
Quando analisamos a interação entre duas variáveis, a temperatura x razão molar e a razão molar x catalisador foram as interações que mais influenciaram. Já a interação entre o catalisador e a temperatura foi desfavorável praticamente durante toda a reação. Podemos então concluir que com o aumento da temperatura na reação ocorre uma possível desativação do catalisador químico utilizado.

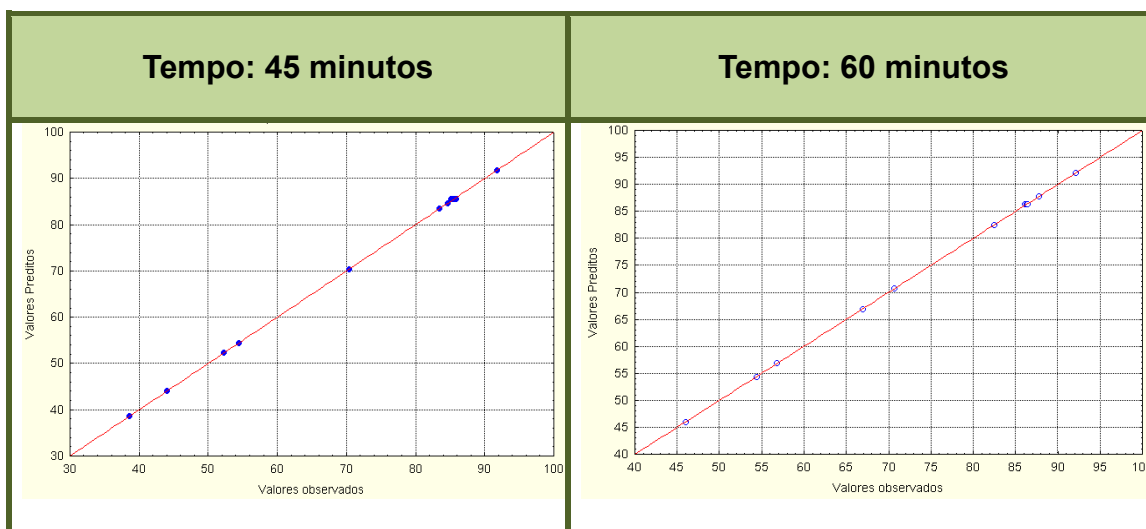
Este fato deve ocorrer devido ao excesso de resíduos presentes na matéria prima usada no início do processo, pois conforme relatado por Lima e Gonçalves em 2007, o aumento da temperatura influencia positivamente a reação, aumentando consecutivamente a conversão.

Se tomarmos, por exemplo, o tempo de 60 minutos observou que a razão molar apresentou maior significância que as demais variáveis; temperatura e catalisador. Analisando as interações entre as variáveis notamos que neste mesmo tempo de reação a interação entre a temperatura e a razão molar foi a única que influenciou positivamente a reação, ressaltando mais uma vez a possibilidade de desativação do catalisador.

Quando analisadas as interações entre as três variáveis, pode-se observar que em nenhum tempo de reação houve influência positiva destas. Os modelos designados pelo programa se adequaram perfeitamente aos dados experimentais em todos os casos, fato que pode ser comprovado nos gráficos mostrados na tabela 5.7 em que existe uma comparação entre os valores previstos pelo modelo e os valores obtidos experimentalmente. A reta representa a equação $y=x$, ou seja, quanto mais próximo da reta os pontos experimentais estiverem, mais próximos estão os valores previstos pelo modelo.

Tabela 5.7. Gráficos de valores preditos pelo modelo versus observados experimentalmente para cada tempo.





5.7. Análise estatística do processo global

Além dos modelos para cada tempo, o estudo estatístico através de regressão múltipla também mostrou que os modelos das equações globais (mostrados na Tabela 5.8) podem descrever a conversão do processo (Y), cujas variáveis independentes selecionadas foram: razão molar metanol/ácido graxo (R), temperatura (T), massa de catalisador (M), volume total dos reagentes (V) e o logaritmo natural do tempo (Lnt t), devido ao comportamento da curva cinética.

Os parâmetros da equação do modelo global, i , j , l , m , n e o , podem estar sem normalização (válidos para os valores reais das variáveis independentes) ou normalizados (válidos com os valores das variáveis entre -1 e +1 do planejamento).

Tabela 5.8. Parâmetros obtidos para os modelos de regressão global para as reações de esterificação dos ácidos graxos de resíduo de peixe com o uso do metanol anidro.

$Y = i + j.R + l.T + m.M + n.V + o.Lnt$		
Coeficientes:	S/ Nom.	Norm.
i	$-87,25 \pm 13,22$	-
j	$12,31 \pm 1,75$	$0,44 \pm 0,06$
l	$0,46 \pm 0,06$	$0,46 \pm 0,06$

<i>m</i>	1,48 ± 0,21	0,44 ± 0,06
<i>n</i>	<u>0,0</u>	-
<i>o</i>	7,46 ± 1,78	0,26 ± 0,06
R²	0,6743	

Valores sublinhados não tiveram $p < 0,05$. Sendo $x \pm \epsilon$, igual a parâmetros \pm desvio padrão.

A adequação destes modelos aos dados pôde ser constatada através das observações dos coeficientes de determinação (R^2), os quais se mantiveram próximos de 1. Este fenômeno pôde ser qualitativamente observado na figura 5.9, no qual é claramente notada a proximidade dos dados à linha da normalidade, não tendenciosos, caracterizando um bom ajuste do modelo aos dados obtidos experimentalmente, o que implica na confirmação da adequabilidade do modelo predito.

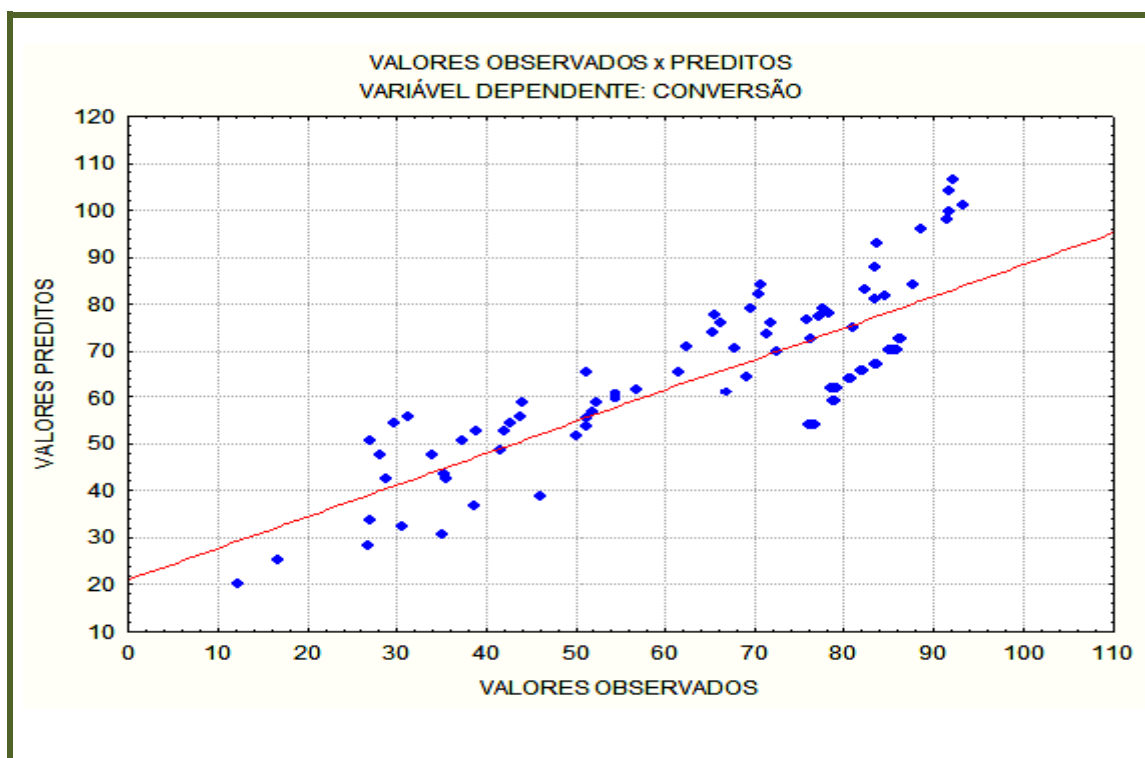


Figura 5.9 - Comparação entre os valores preditos x os valores observados para o modelo global do ácido graxo com metanol.

A influência de cada parâmetro pode ser observada, de uma maneira mais clara, através dos gráficos de Pareto dispostos abaixo, onde se tem, a temperatura de reação como a variável que mais influenciou nas reações, seguido da massa de catalisador, razão molar e o tempo.

A influência do tempo de reação no modelo global, assim como a insignificância do volume do reator, também pôde ser observada nas esterificações de ácidos graxos saturados na presença de metanol, realizada por Gonçalves, 2007.

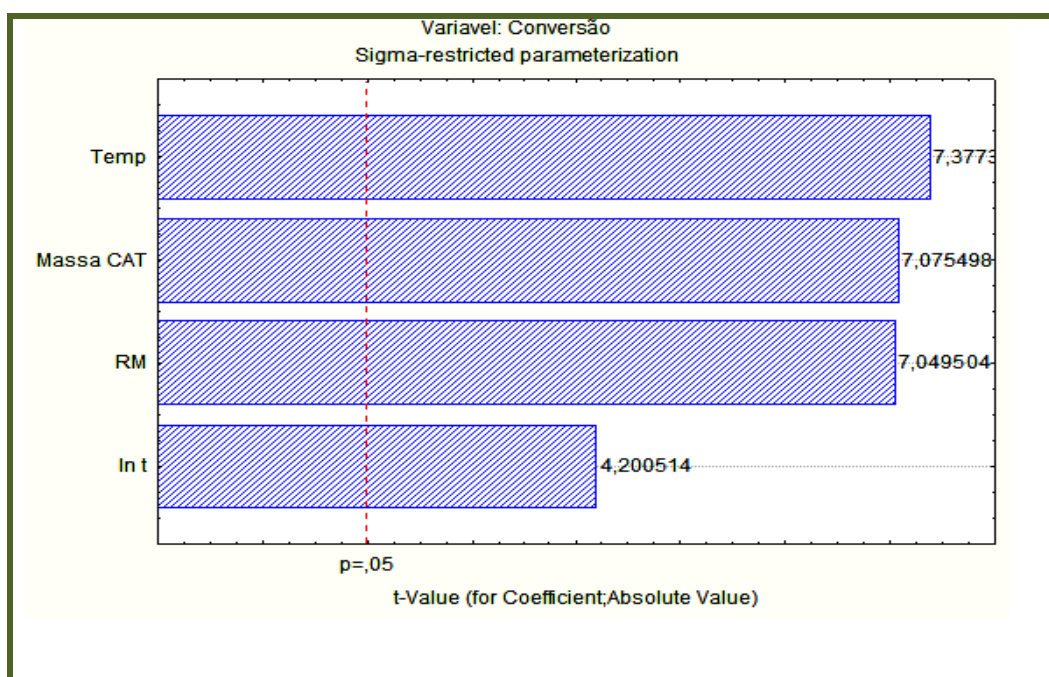


Figura 5.10 – Gráfico de Pareto para o modelo global do ácido graxo de peixe com metanol.

Os resultados obtidos corroboram com os estudos realizados por Gonçalves, 2007, que apontam a temperatura como a variável de maior influência nas reações de esterificação com os ácidos graxos saturados e insaturados na presença de metanol.

5.8. Cinética química das reações

A partir das constantes cinéticas determinadas pelo Simulador de Determinação para Parâmetros Cinéticos, pode-se fazer uma analogia entre os experimentos, para se observar qual a variável que mais influenciou no

processo de formação do biodiesel, pela constante k_1 e qual influencia a reação reversível, ou seja, o processo de consumo de biodiesel, k_2 .

Na tabela 5.9 podemos observar os valores de k_1 e k_2 em todos os experimentos realizados, assim como os valores dos resíduos quadrados, X_{Aeq} (calc) (conversão calculada no equilíbrio) e k_{eq} (constante no equilíbrio, calculada a partir de valores de k_1 e k_2 simulados pelo programa).

Tabela 5.9 – Valores das constantes k_1 , k_2 , k_{eq} , X_{eq} e resíduos quadrados obtidos no Simulador de Determinação para Parâmetros Cinéticos.

Ácido Graxo de Peixe – Metanol									
Exp	Temp	RM	CAT	k_1	k_2	k_{eq}	X_{eq} (calc.)	X_A (60 min)	Resíduos quadrados
1	150	1,2	5	1.88	3.73	0.504	0.42	0,46	31.85
2	200	1,2	5	8.41	9.23	0.911	0.49	0,57	41.27
3	150	3,0	5	5.78	1.35	4.281	0.91	0,54	68.38
4	200	3,0	5	5.28	3.15	1.676	0.82	0,87	100.56
5	150	1,2	15	3.95	1.43	2.762	0.62	0,67	149.89
6	200	1,2	15	0.31	0.11	2.818	0.63	0,70	50.06
7	150	3,0	15	0.11	7.73	0.014	0.18	0,82	63.62
8	200	3,0	15	8.92	1.76	5.068	0.92	0,92	0.66

Pode-se observar que quase todas as reações apresentaram valores de k_1 superiores aos valores de k_2 , indicando que o equilíbrio da reação é deslocado no sentido de formação dos produtos, favorecendo assim a produção de biodiesel.

A reação apresentou K_2 maior que K_1 nos experimentos 1 e 2; quando utilizamos a menor concentração de catalisadores (5%) combinando com a razão molar de metanol inferior (1,2) independente da temperatura utilizada. Já no experimento 7, o uso da temperatura no limite inferior (150°C), influenciou a reação de maneira negativa deslocando o equilíbrio da reação no sentido de formação dos reagentes.

A razão molar foi outra variável que influenciou bastante os experimentos. De acordo com os resultados obtidos pelo simulador, podemos observar que as razões molares no nível superior influenciaram positivamente a reação, pois o K_1 foi maior que o K_2 em todos os casos exceto no experimento 7.

A razão molar quando testada no limite inferior e combinada com uma baixa concentração de catalisadores desloca o equilíbrio no sentido de formação de reagentes, porém se for usada juntamente com o limite superior de catalisador (15%), seu equilíbrio é deslocado para direita, favorecendo a produção de biodiesel.

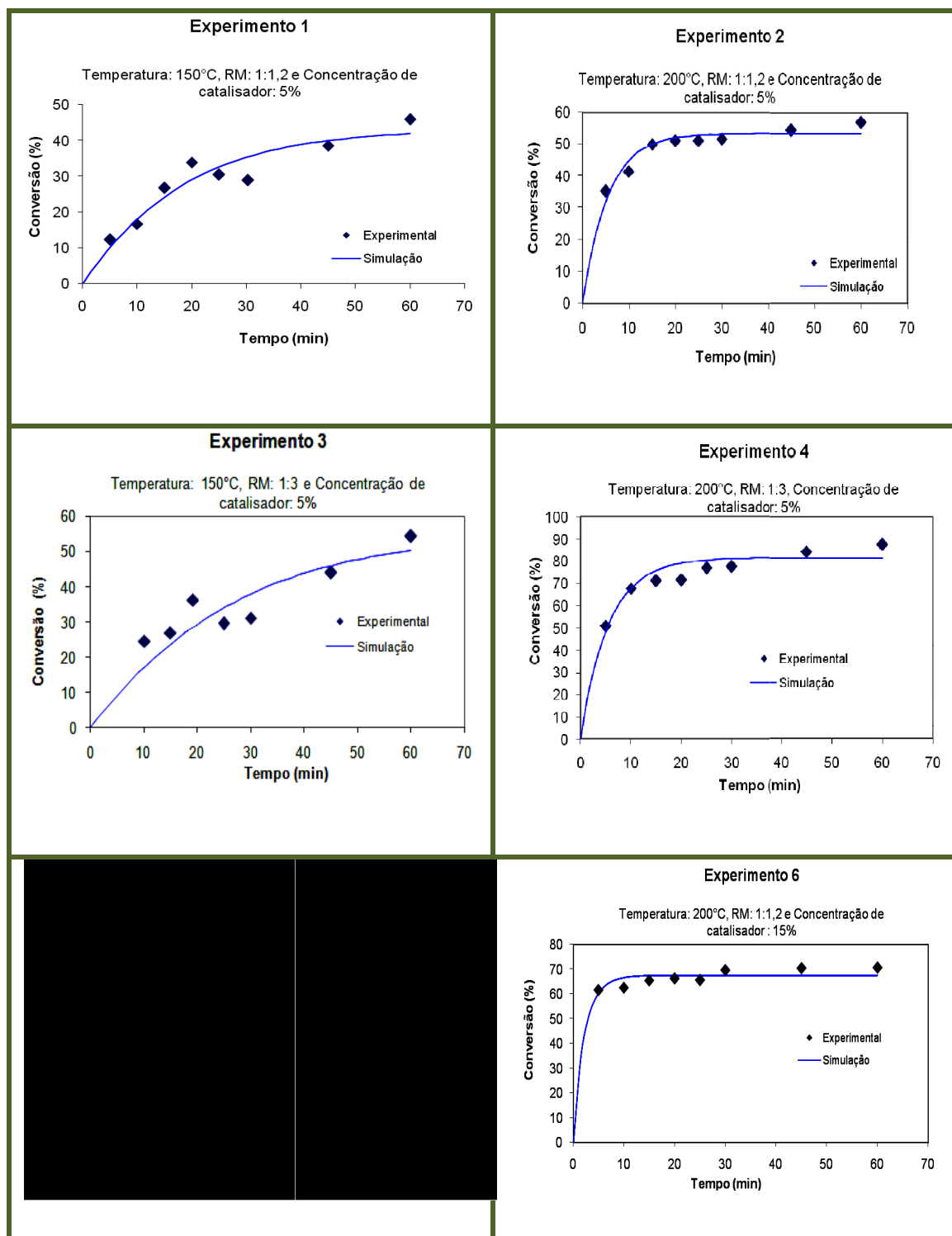
De acordo com os fatores observados, na análise da constante de formação de biodiesel, tem-se que a temperatura e a concentração de catalisador influenciam diretamente no aumento da conversão dos ácidos graxos a ésteres, assim como na análise do planejamento linear.

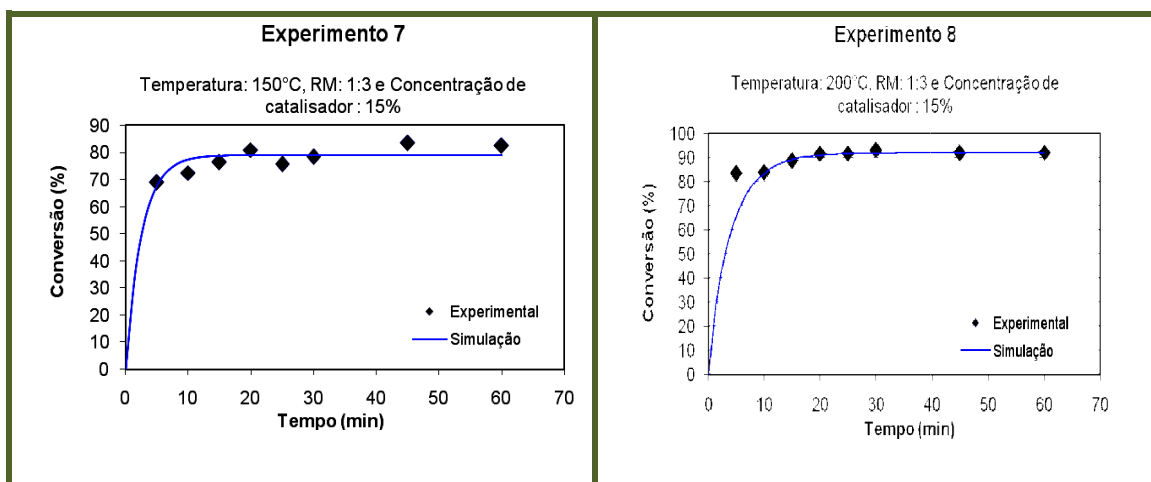
O X_{eq} foi calculado com base nos valores de k_1 e k_2 obtidos pelo programa de simulação, com intuito de verificar a similaridade destes com os dados obtidos experimentalmente, verificando assim a adequabilidade do modelo aos experimentos. (Leão, 2009)

É importante ressaltar, que o X_{eq} calculado, nestes casos, se trata de um valor figurativo, pois no tempo de 60 minutos, a reação ainda não atingiu o equilíbrio. A constante de equilíbrio (k_{eq}) é característica de cada reação, altera-se apenas com a mudança da temperatura, ou seja, se a reação estivesse alcançado o equilíbrio ter-se-ia valores de k_{eq} iguais para cada temperatura, o que não ocorre. (Leão, 2009)

Na tabela 5.10, pode ser verificada, através dos exemplos representados nos gráficos, que o modelo se adequou a maioria dos experimentos realizados, sendo verificado que o X_{eq} calculado ficou muito próximo a conversão experimental.

Tabela 5.10 – Gráficos dos dados experimentais e simulados de todos os experimentos realizados.





De acordo com os gráficos apresentados acima, podemos afirmar que o experimento 8, realizado nas condições de temperatura, razão molar e concentração de catalisadores no limite superior, foi a reação em que os pontos experimentais mais se adequaram à simulação, isso pode ser observado não apenas com o gráfico como também com o valor de X_{eq} de 0,92 igual ao valor de X_A .

Outro dado importante neste mesmo experimento, 8, é que este apresentou o resíduo quadrado de 0,66, que dentre todos os experimentos foi o menor, mostrando a adequabilidade dos pontos experimentais aos pontos simulados.

Os experimentos 3 e 7 foram os que apresentaram os X_{eq} mais discrepantes do X_A das reações. Como ambos foram realizados em baixas temperaturas, supõe-se que a homogeneização do ácido graxo com os demais reagente não tenha sido tão eficaz, comprometendo o rendimento da reação.

Todos os experimentos apresentaram resíduos quadráticos que podem ser considerados baixos, evidenciando que todas as reações se adequaram aos dados simulados.

6. Conclusão

A matéria prima estudada apresenta uma grande dificuldade pra ser manipulada para o processo de produção de biodiesel, pois se trata de um rejeito industrial contendo inúmeros resíduos.

Por outro lado, apresenta um grande potencial uma vez que agregamos valor a um produto inicialmente considerado rejeito transformando em sub produto, pois apresenta potencial para a produção de biodiesel principalmente utilizando o processo de hidroesterificação devido a sua elevada acidez.

A hidrólise enzimática apresentou resultados satisfatórios, levando-se em consideração que não conseguimos obter a atividade lipásica esperada, de aproximadamente 60U/mL.

Quando analisamos a esterificação química utilizando-se ácidos graxos provenientes de hidrólise enzimática, observamos que ainda é necessário aprofundar mais os estudos nesse tipo de reação.

É importante realizar num próximo estudo o planejamento fatorial completo assim como o feito na esterificação química utilizando-se ácidos graxos produzidos por hidrólise química, pois evidenciaria as melhores condições para serem empregadas neste processo.

Outra reação importante que deve ser feita é a utilização de enzimas para fazer a esterificação, ou seja, uma hidroesterificação enzimática, assim poderá comparar os dois processos, o químico e o enzimático.

A hidroesterificação química mostrou-se muito eficaz, e seu rendimento foi melhor que a esterificação que usou ácidos graxos provenientes da hidrólise enzimática.

Por se tratar de uma reação relativamente mais rápida que a que se utilizaram enzimas foi realizado um planejamento experimental, e podemos perceber que sua melhor conversão deu-se no limite superior.

Modelos empíricos foram estimados com bons ajustes pela análise estatística dos dados de conversão a ésteres metílicos, obtidos através de um planejamento experimental.

A temperatura foi à variável que mais influenciou, em todos os testes realizados, seguida pela razão molar e concentração de catalisadores, quando avaliado o planejamento linear no tempo de 60 minutos.

O estudo cinético, empregando a modelagem cinética com concentração constante de sítios, se obteve os maiores valores da constante de velocidade do biodiesel, em experimentos com razão molar de 3, 200°C de temperatura e concentração de catalisador de 15%, ou seja, no limite superior. Este experimento foi o que melhor se adequou ao valor simulado.

7. Sugestões

- ❖ Estudar um método eficaz para remoção dos resíduos antes do processamento da matéria prima.
- ❖ Produzir uma lipase com atividade superior a 30U/mL e utilizá-la para comparar com os resultados obtidos nesta dissertação.
- ❖ Fazer o planejamento fatorial completo da hidrólise enzimática variando principalmente a temperatura e a quantidade de enzimas utilizadas, como também da esterificação química usando estes ácidos graxos.
- ❖ Realizar o processo completo de hidrólise e esterificação enzimática
- ❖ Realizar testes utilizando etanol ao invés de metanol testando assim sua viabilidade neste processo.
- ❖ Testar a viabilidade dos processos na ausência de catalisadores.
- ❖ Realizar novos experimentos, com temperaturas distintas, variando a razão molar etanol/ácido graxo e concentração de catalisador, para averiguar a diferença na estimativa da energia aparente de ativação entre experimentos com e sem catalisador.
- ❖ Realizar experimentos em reator diferencial para elaboração mais precisa da taxa de reação para cinética heterogênea.
- ❖ Investigar a desativação do catalisador (envelhecimento, depósito de material estranho sobre as porções ativas do catalisador - entupimento ou envenenamento), a fim de possibilitar a regeneração de catalisador.

8. Referências bibliográficas

AGUIAR, A. L. C. Estudo dos efluentes líquidos das indústrias fluminenses de pescado em conserva – diagnóstico e alternativas de tratamento. Dissertação de mestrado. PEQ/COPPE, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 1987.

ARANDA, D.A.G., *et al.* Estudo de catalisadores homogêneos na produção de biodiesel a partir da esterificação de ácidos graxos. *Anais do 13º Congresso Brasileiro de Catálise*, 2006.

ARAÚJO, K.L.G.V. *et al.* Influência da atmosfera e razão de aquecimento na estabilidade térmica do óleo e biodiesel etílico de peixe. Embrapa. Disponível em: <http://www.cpamn.embrapa.br/agrobioenergia/trabalhos/103.PDF>. Acesso em: 12 jun. 2008.

ASTM D6751-08. Specification for biodiesel (B100). Nov. 2008 Disponível em: http://www.biodiesel.org/pdf_files/fuelfactsheets/bdspec.pdf. Acesso em: 21 dez. 2008.

BARBOSA, L. S. N. S., CÂMARA, L. D. T., ARANDA, D. A. G. Influência das condições reacionais na otimização da produção de biodiesel a partir de ácido graxo utilizando catalisadores heterogêneos. *Anais do 15º Congresso Brasileiro de Catálise - 2009*, p. 6, 2009.

BJÖRKLING, F.; GODTFEDSEN, S.E.; KIRK, O. The future impact of industrial lipases. *TIBTECH*, v.9, p.360-363, 1991.

CALADO, V.; MONTGOMERY, D.C. Planejamento de experimentos usando o Statistica. E-papers. Rio de Janeiro - Brasil. *Revista Biodiesel*, 2003.

CAMMAROTA, M.C., FREIRE, D.M.G. A review on hydrolytic enzymes in the treatment of wastewater with high oil and grease content. *Bioresour Technol*, 97:2195-2210, 2006.

CANAKCI, M., VAN GERPEN, J., Biodiesel production via acid catalysis. Transactions ASAE 42, 1203–1210, 1999.

CANDEIA, R.A. *et al.* Análise comparativa do biodiesel derivado do óleo de soja obtido com diferentes alcoois. Biodiesel, 2005.

CARVALHO, L. G.; BRITTO, P. P.; MATOVANELLI, R.; CAMACHO, L.; ANTUNES, O.A. C.; ARANDA, D. G. A. Esterificação do ácido graxo de palma via catálise heterogênea. Anais do 13º Congresso Brasileiro de Catálise e 3º Congresso de Catálise do Mercosul. V. 4, p. 1-4. Foz de Iguaçu – Brasil, 2005.

CASTILHO, L.R., POLATO, C.M.S., BARUQUE, E.A., SANT'ANNA JR, G.L., FREIRE, D.M.G. Economic analysis of lipase production by *Penicillium restrictum* in solid- state and submerged fermentations. *Biochem Eng J* 4:239-247. 2000

CASTRO, H.F. *et al.* Modificação de óleos e gorduras por biotransformação. Química Nova, v.27, p.146-156, 2004.

CHANG, C.C. e WAN, S.W. China's motor fuels from tung oil. *Ind. Eng.Chem.* V. 39, p.1543-1548, 1947.

DARNOKO. D., CHERYAN, M. Kinetics of Palm Oil Transesterification in Batch Reactor. *JAOCS*, v.77, p.1263-1267, 2000.

DARIO, M., Recuperação de glicerina oriunda do processo de produção de biodiesel – Um processo químúrgico, Monografia de graduação em química bacharelado. Universidade Federal de Mato Grosso. Mato Grosso - Brasil. 2006.

DE LA CRUZ, M. H. C. Aplicação de Catalisadores a Base de Nióbio em Reações de Alquilação de Compostos Aromáticos. Tese de Doutorado. Instituto

de Química – Centro de Tecnologia. Universidade Federal do Rio de Janeiro, 2004.

DIRECTIVA, 2003/30/CE do parlamento europeu e do conselho. Relativa à promoção da utilização de biocombustíveis ou de outros combustíveis renováveis nos transportes. Jornal oficial da união europeia, 08 maio 2003. Disponível em: <http://www.ebb-eu.org/legis/OJ%20promotion%20POR.pdf>
Acesso em: 21 abr. 2008.

DOMINGOS, A.K. Otimização da etanolise de óleo de *Raphanus sativus* L. E avaliação de sua estabilidade à oxidação. Dissertação de Mestrado, Instituto de Química - UFPR. Curitiba - Brasil. 2005.

DÖRMÖ, N.; *et al.* Manufacture of an environmental-safe biolubrificant from fuel oil by enzymatic esterification in solvent-free system. *Biochem Eng J*, v.21, p.229-234, 2004.

FERRARI, R. A.; OLIVEIRA, V. S.; SCABIO, A. Biodiesel de Soja – Taxa de Conversão em Ésteres Etílicos, Caracterização Físico química e Consumo em Gerador de Energia. *Química Nova*, v. 28, n.1, p.19-23, 2005.

FERRER, P.; MONTESINOS, J.L.; VALERO, F.; SOLÀ, C. Production of native and recombinant lipases by *Candida rugosa*. *Appl Biochem Biotechnol*, v.95, p.221-255, 2001.

FOGGIATTO, B.; LIMA, J. R. B. Análise macroeconômica dos principais bens minerais brasileiros. Departamento de Engenharia Minas e de Petróleo da EPUSP. Projeto cnpq/PIBIC 2002/2003.

FREIRE, D.M.G. & CASTILHO, L.R. Lipases produzidas por fermentação submersa e em meio sólido. *Rev. Bras Farm.*, v.8, p.48-56, 2000.

FREIRE, D.M.G. Seleção de microorganismos lipolíticos e estudo da produção de lipase por *Penicillium restrictum*. Tese de Doutorado, Universidade

Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Bioquímica. Instituto de Química. Rio de Janeiro, Brasil, 174 pp, 1996.

FUKUDA, H.; KONDO, A.; ENODA, H. Biodiesel fuel production by transesterification of oils- review. *Journal of bioscience and bioengineering*, 5.ed, v.92, p.405-416, 2001.

FURUTA, S.; MATSUHASHI, H.; ARATA, K. Biodiesel fuel production with solid super acid catalysis fixed bed reactor under atmospheric pressure. *Catalysis Communications*. V. 5, p. 721–723. Saitana – Japan. 2004.

GAZZONI, D.L. História e biodiesel. Portal Biodiesel Br. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/biodiesel/historia/biodiesel-historia.htm>. Acesso em: 18 abr. 2008.

GODOY, M.G. ; [GUTARRA, M.L.E.](#) ; MACIEL, F.M. ; FELIX, S.P. ; BEVILAQUA, J.V. ; MACHADO, O.L.T. ; [FREIRE, D.M.G.](#) . Use of a low-cost methodology for biodegradation of castor bean waste and lipase production. *Enzyme and Microbial Technology*, v. 44, p. 317-322, 2009.

GOLDEMBERG, J. Energia para o desenvolvimento econômico. TAQ, TA Queiroz Editor. 1988.

GOMBERT, A. K., LOPES, A.P., CASTILHO, L.R., FREIRE, D.M.G. Lipase, amylase and protease production by *Penicillium restrictum* in a solid-state fermentation using babassu oil cake. *Process Biochem.* 35(1-2):85-90. 1999.

GONÇALVES, J.A. Influência do tamanho da cadeia carbônica e do grau de insaturação dos ácidos graxos na esterificação sobre ácido níobico para a produção de biodiesel. Dissertação de Mestrado da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro – RJ. 2007

GUNSTONE, F. D. Enzymes as biocatalysts in the modification of natural lipids, *Journal of the Science of Food and Agriculture*, v.79, n. 12, p. 1535-1549, 1999.

GUTARRA, M.L.E. Produção de lipase por Fermentação no estado sólido: seleção de fungos produtores e estudo das condições de cultivo. Tese de Mestrado, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Bioquímica. Instituto de Química. Rio de Janeiro, Brasil, 127 p, 2003.

GUTARRA, M.L.E., CAVALCANTI, E.D.C., FREIRE, D.M.G.; CASTILHO, L.R.; SANT'ANNA JR, G. L. Lipase production by solid-state fermentation: cultivation conditions and operation of tray and packed-bed bioreactors. *Appl Biochem Biotechnol*, 121:105-116, 2005.

GUTARRA, M. L. E. Produção de lipase pelo fungo *penicillium simplicissimum*: caracterização do processo fermentativo e do produto e desenvolvimento de biorreator para fermentação no estado sólido. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Rio de Janeiro. Departamento de Bioquímica. Instituto de Química. Rio de Janeiro, Brasil, 127 pp, 2007.

HÖLKER, U., HÖFER, M., LENZ, J. Biotechnological advantages of laboratory-scale solid-state fermentation with fungi. *Appl Microbiol Biot*, 64:175-186, 2004

JAEGER, K.E., REETZ, T.M. Microbial lipases from versatile tools for biotechnology. *Trends Microbiol*, v.16, p.396-403, 1998.

JAEGER, K-E.; DIJKSTRA, B.W.; REETZ, M.T. Bacterial Biocatalysts: Molecular biology, three-dimensional structures, and biotechnological applications of lipases. *Annu Rev Microbiol*, v.53 p.315-351, 1999.

JESUS, M.F.C.O., BRANCO, R.N., SANT'ANNA JR, G.L., FREIRE, D.M.G., SILVA JR, J.G. *Penicillium restrictum* lipases: a comparative study and characterization of enzymes with different degrees of purity. *Braz J Chem Eng*, 16:113-118, 1999

JUNG, F.; CAMMAROTA, M.C.; FREIRE, D.M.G. Impact of enzymatic pre-hydrolysis on batch activated sludge systems dealing with oily waste waters. *Biotechnol Letters*, v.24, p.1797-1802, 2002.

KHAN, A. K. Research into Biodiesel: Kinetics catalyst and development. Tese (Mestrado de Engenharia Química) – Faculdade de Engenharia Química, Universidade de Queensland. Brisbane, Queensland, Australia, 2002.

KNOTHE, G. Perspectivas históricas de los combustibles diesel basados em aceites vegetales. *Revista A&G*, 47, Tomo XII, n. 2, 2001.

LEAL, M.C.M.R., FREIRE, D.M.G., CAMMAROTA, M.C., SANT'ANNA JR., G.L. Effect of enzymatic hydrolysis on anaerobic treatment of dairy wastewater. *Process Biochem*, 41:1173-1178, 2000.

LEAL, M.C.M.R.; CAMMAROTA, M.C.; FREIRE, D.M.G. & SANT'ANNA JR, G.L. Hydrolytic enzymes as coadjuvants in the anaerobic treatment of dairy wastewaters. *Braz J Chem Eng*. 19(2): 175-180, 2002

LEÃO, L.S. Estudo empírico e cinético da esterificação de ácidos graxos saturados sobre o Ácido Nióbbico. Dissertação de Mestrado da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro. Rio de Janeiro – RJ. 2009

Lei nº 11.097. 13 jan. 2005. Subchefia para Assuntos Jurídicos. Presidência da República Casa Civil. Disponível em: http://www.biodiesel.gov.br/docs/lei11097_13jan2005.pdf. Acesso em: 15 maio. 2008.

LIMA, D. G.; *et al.* Diesel-like fuel obtained by pyrolysis of vegetable oils. *J. Anal. Appl. Pyrolysis*. Vol.71, p. 987–996. 2004. Disponível em: www.elsevier.com/locate/jaap. Acesso em: 05 dez. 2007.

LIMA, L.L. PRODUÇÃO DE BIODIESEL A PARTIR DA HIDROESTERIFICAÇÃO DOS ÓLEOS DE MAMONA E SOJA. Dissertação de

Mestrado da Escola de Química da Universidade Federal do Rio de Janeiro.
Rio de Janeiro – RJ. 2007

MA, F.; HANNA, M.A.; Biodiesel production: a review. *Bioresource Technology*, 1ed, v.70, p1-15, out. 1999.

MARCHETTI, J. M.; MIGUEL, V. U., ERRAZY, A. F. Heterogeneous esterifications of oil with high amount of free fatty acids. *Fuel*. Bahía Blanca - Argentina. 2006.

MITCHELL, D.A., BEROVIC, M., KRIEGER, N. Overview of solid state bioprocessing. *Biotechnol Ann Rev* 8:183-225, 2002.

MONTGOMERY, D.C.; RUNGER, G.C. *Applied Statistics and Probability for Engineers*. 3ª Edição. Ed. John Wiley & Sons. Nova York – Estados Unidos da América. 2003.

MORETTO, E.; FETT, R. *Óleos e gorduras vegetais: processamento e análises*. 2º ed. Rev. Florianópolis: UFSC. 1989

NOUREDDINI, H.; ZHU, D. Kinetics of Transesterification Soybean Oil. *JAOCS*, v.74, p.1457-1461, 1997.

NOWAK, I; ZIOLEK, M. Niobium compounds: Preparation, Characterization, and Application in Heterogeneous Catalysis. *Chem. Rev.*; 99; 3603-3624; 1999.

OKKERSE, C. VAN BEKKUM, H.; From Fossil to Green. *Green Chemistry*, p.107-114, abr. 1999.

PALMA, M.B., PINTO, A.L., GOMBERT, A.K., SEITZ, K.H., KIVATINITZ, S.C., CASTILHO, L.R., FREIRE, D.M.G. Lipase production by *Penicillium restrictum* using solid waste of industrial babassu oil production as substrate. *Appl Biochem Biotech*, 84: 1137-1145. 2000.

PANDEY, A.; et al. Recent developments in microbial inulinases – its production, properties and industrial aplicat. *Appl Biochem Biotechnol*, v.81, p.35-52, 1999.

PARENTE, E. J.de S. et al. Biodiesel: uma aventura tecnológica num país engraçado. Fortaleza: Tecbio, 68p. , 2003.

PINTO, A. C. et al. Biodiesel: an overview. *J. Braz. Chem. Soc.* V.16, p. 1313-1330, 2005.

PIRAS, A., BRIGODOT, I.M. , LALOT, T. Pat. WO-9426812. 1994.

PRYDE, E.H.; Vegetable oil as diesel fuel: overreview. *Journal of American Oil Chemistry Society*, v.60, p.1557-1558, 1983

RAHARDJO, Y.S.P., TRAMPER, J., RINZEMA, A. Modeling conversion and transport phenomena in solid-state fermentation: a review and perspectives. *Biotechnol Adv*, 24:161-179, 2006

RAMOS, L.P. Sobre a Definição Técnica do Biodiesel. *Portal Biodiesel Br*, 12 maio 2006. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/colunistas/ramos/definicao-tecnica-biodiesel.htm>.

Acesso em: 08 ago. 2007.

RATANAWILAI, S., SUPPALUKPANYA, K., TONGURAI, C.,” Biodiesel from Crude Palm Oil by Sulfonated Vanadia-Titania Catalyst”, PSU-UNS International Conference on Engineering and Environment - ICEE-2005, Novi Sad, 19-21 Maio, 2005.

RITTNER, H.; Sabão: Tecnologia e utilização; São Paulo; H. Rittner, 1995.

ROCHA, L.L.L.; et al.; Estudo empírico da hidrólise de óleos vegetais. *Portal do biodiesel*. Disponível em: www.biodiesel.gov.br/docs/congresso2007/producao/35.pdf. Acesso em: 05 jun. 2008.

RODRIGUES, B. W.; CONSTANTINO, A. M. ; CARVALHO, L. G. ;PINTO, P. P. B.; ZOTIN, F. M. Z.; ARANDA, D.G. A. Esterificação de ácido graxo de palma utilizando catalisadores heterogêneos. In. Anais do 13° Congresso Brasileiro de Catálise e 3° Congresso de Catálise do Mercosul. V.4. Foz de Iguaçu - Brasil. 2005.

ROONEY, D.; WEATHERLEY, L.R. The effect of reaction conditions upon lipase catalysed hydrolysis of high oleate sunflower oil in a stirred liquid-liquid reactor, *Process Biochemistry*, v.36, n. 10, p. 947-953, 2001.

ROSA, D.R. Tratamento enzimático/biológico de efluente com alto teor de gordura. Dissertação de Mestrado, IQ/UFRJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil,2004.

ROSA, D.R., CAMMAROTA, M.C., FREIRE, D.M.G. Production and utilization of a novel solid enzymatic preparation produced by *Penicillium restrictum* in activated sludge systems treating wastewater with high levels of oil and grease. *Environ Eng Sci*, 23:813-822, 2006.

SANTOS, R. T. P.; CAMACHO, L.; CARVALHO, L.G.; BRITTO, P. P.; FURTADO, N. C.; COSTA, C. C. P.; ARANDA, D. A. G., Estimação de parâmetros cinéticos na esterificação homogênea para produção de biodiesel. 13° Congresso Brasileiro de Catálise e 3° Congresso de Catálise do Mercosul. P.1-5. Foz de Iguaçu -PR. 2005.

SCHWAB, A. W., *et al.* Catalytic conversion of used oil to hydrocarbon fuels in a fractionating pyrolysis reactor, *J. Am. Oil Chem. Soc.* V.65, p.1781, 1987.

SHARMA, R.; CHISTI, Y.; BANERJEE, U.C. Production, purification, characterization, and applications of lipases. *Biotechnol Adv*, v.19; p.627-662, 2001.

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

SILVA, C.C.C.M. Produção de biodiesel a partir do óleo de soja utilizando hidrotalcita como catalisador. Dissertação (Mestrado em Tecnologia de Processos Químicos e Bioquímicos) – Universidade Federal do Rio de Janeiro – UFRJ, Escola de Química, 118p, set. 2008.

SILVA, R. G. ; BATISTA, M. A. “Processos industriais e sistemas de tratamento de efluentes na indústria de conserva de pescado: Estudo de caso Coqueiro indústria de pescado”, RJ. Monografia de especialização. Engenharia sanitária e ambiental, UERJ, Rio de Janeiro, RJ, Brasil, 2003.

SRIVASTAVA, A; PRASAD, R.: Triglycerides-based diesel fuels. *Renew. Sust. Energ. Rev*, v.4, p.111-133, 2000.

STI – MIC. Produção de combustíveis líquidos a partir de óleos vegetais. (CETEG, MG). Série Documentos, n.16, 1985.

SUAREZ, P. A. Z.; MENEGHETTI, S. M. P.; MENEGHETTI, M. R. Transformação de Triglicerídeos em Combustíveis, *Materiais Poliméricos e Insumos Químicos: Algumas Aplicações da Catálise na Oleoquímica*. *Quim. Nova*, v. 30, n.3, p.667-676, 2007.

TANABE K. Application of niobic oxides as catalysts. *Catalysis Today*, 8; 1-11; 1990.

TANABE K. Catalytic application of niobium compounds. *Catalysis Today*, 78; 65-77; 2003.

TANABE K. Niobic Acid as an unusual acidic solid material. *Mat. Chem. Phys.*; 17; 217-225; 1987.

TITHER, G. Progress in niobium markets and technology - 1981-2001. Reference Metals Company, Inc. 1000 Old Pond Road Bridgeville, PA 15017-0217, U.S.A.

Vantagens do Biodiesel. Portal Biodiesel Br. Disponível em: <http://www.biodieselbr.com/biodiesel/vantagens/vantagens-biodiesel.htm>.

Acesso em: 15 jan. 2009.

VARGAS, G. D. L. P. Estudo da produção de lipase por *Penicillium simplicissimum* utilizando torta de soja como substrato. Dissertação de Mestrado, Programa de mestrado em engenharia de alimentos, URI- Campus, Erechim, RS, Brasil, 2004.

VELJKOVIC´, V.B.; LAKIC´EVIC´, S.H.; STAMENKOVIC´, O.S.; TODOROVIC´, Z.B.; LAZIC´, M.L., Biodiesel production from tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) Seed oil with a high content of free fatty acids. P. 1-5. Fuel. Leskovac – Serbia and Montenegro. 2006.

VIEIRA, A.P.A. Síntese de ésteres monoalquílicos de ácido palmítico utilizando lipase imobilizada e zeólitas. 13º Congresso Brasileiro de Catálise e 3º Congresso de Catálise do Mercosul. Foz de Iguaçu – Brasil, p.1-5, 2005.

VULFSON, E.N. Industrial applications of lipases. *In*: Woolley, P., Peterson, S.B. Lipases – their structure, biochemistry and applications. Cambridge: Cambridge Univ. Press. P.271-288. 1994.

WENKEL, B.; TAIT, M.; MÓDENES, A.; KROUMOV, A. Modelling Chemical of Soybean Oil Transesterification Process for Biodiesel Production Bioautomation. v.5, p.12-22, 2006.

WILSON, K.; CLARK, J. H. Solid acids and their use as environmentally friendly catalysts in organic synthesis. Pure applied chemistry, v. 72, p. 355-360, 2000.

WUST, E. Estudo da viabilidade técnico-científica da produção de biodiesel a partir de resíduos gordurosos. Dissertação (Mestrado em Engenharia Ambiental), Centro de Ciências Tecnológicas, da Universidade Regional de Blumenau – FURB, 11 ago. 2004.