

Estudo de Parâmetros Operacionais na Produção de Biodiesel Etílico de Óleo de Macaúba usando Lipase de *Aspergillus oryzae* e seu Inventário de Ciclo de Vida

Palavras-Chave: BIOCOMBUSTÍVEIS, ÓLEOS VEGETAIS, ETANOL.

Autores:

Rubens Lucas Pateis, FEA – UNICAMP

Maria Luiza M. B. B. Gonçalves, FEA – UNICAMP

Prof. Dra. Marcela Cravo Ferreira, FT – UNICAMP

Prof. Dr. Guilherme José Maximo (orientador), FEA – UNICAMP

1. INTRODUÇÃO

Nos últimos anos, a busca por combustíveis de menor impacto ambiental tem ganhado destaque no Brasil, impulsionada por políticas públicas que incentivam a utilização de biocombustíveis. A Lei nº 11.097, de 13 de janeiro de 2005, introduziu os biocombustíveis na matriz energética nacional, enquanto a Lei nº 13.576, de 26 de dezembro de 2017, estabeleceu a Política Nacional de Biocombustíveis, conhecida como RenovaBio (BRASIL, 2005; BRASIL, 2017). Esta política visa fortalecer e ampliar os investimentos em pesquisas voltadas para a produção, otimização e aperfeiçoamento de biodiesel a partir de fontes vegetais. A crescente demanda por biocombustíveis renováveis tem levado à exploração de novas fontes de óleo além das tradicionais, como o óleo de soja, que atualmente é a principal matéria-prima utilizada na produção de biodiesel (APROBIO, 2023). Nesse cenário, a Macaúba (*Acrocomia aculeata*) se destaca como uma alternativa promissora. Esta palmeira nativa da Mata Atlântica é valorizada não apenas por sua alta produtividade por hectare, mas também por não ser utilizada como fonte alimentar, o que a torna uma opção viável para a produção de biodiesel, fomentando a agricultura familiar e geração de empregos regionais. Os frutos da Macaúba são compostos por aproximadamente 53% de polpa (mesocarpo) e 26% de semente, ambos com alto teor de óleo (Figura 1). O óleo extraído da polpa é predominantemente composto por ácido oleico (C18:1), que representa cerca de 59% do total, seguido pelo ácido palmítico (C16:0) com 21,8% e ácido linoleico (C18:2) com 11,6% (GOIS AQUINO et al., 2008; AIRES; QUEIROZ, 2016). Essa composição rica em ácidos graxos insaturados torna o óleo de Macaúba uma opção atrativa para a produção de biodiesel, contribuindo para a redução das emissões de gases de efeito estufa.

O biodiesel é produzido a partir da reação de transesterificação de óleos ou gorduras vegetais ou animais e um álcool (metanol ou etanol), e tem como produto final glicerol, e uma mistura de ésteres, conforme mostra a Figura 2. Embora o metanol seja frequentemente empregado como álcool nas reações de transesterificação para produção de biodiesel, o etanol obtido a partir da cana-de-açúcar tem se mostrado uma alternativa viável para aumentar a sustentabilidade dos processos químicos (GOLDEMBERG et al, 2008). No entanto, o etanol apresenta algumas desvantagens em relação ao tempo de reação e miscibilidade comparado ao metanol (BASSO et al., 2012). Apesar disso, o biodiesel etílico produzido apresenta melhores propriedades de escoamento a frio do que o metílico (MAXIMO et al, 2018), que é um dos principais desafios para a utilização do biodiesel em regiões de clima frio.

A reação de transesterificação pode ser catalisada de forma homogênea ou heterogênea, sendo a catálise homogênea a mais comum na indústria (COSTA, 2011). Esta pode ser básica ou ácida. Além dos catalisadores químicos, a catálise enzimática, com uso de lipases, tem ganhado destaque por seu menor impacto ambiental (GODOY, 2019; GAMBA, 2009). Neste caso destaca a enzima da linha comercial Eversa Transform da empresa Novozymes (2016), produzida a partir do fungo *Aspergillus oryzae*, que converte triglicerídeos em ésteres e glicerol em etapas, alcançando conversões de 90 a 99% (FAROBIE et al., 2021). As lipases oferecem vantagens como menor geração de resíduos e a possibilidade de trabalhar com óleos de alta acidez sem desacidificação prévia (GODOY, 2019).

Considerando que o óleo de macaúba é uma matriz potencial para produção de biodiesel, que duas principais estratégias para produção de biodiesel com menor impacto ambiental é a utilização do processo enzimático e do bioetanol, o principal objetivo deste trabalho foi o estudo do efeito do bioetanol e da qualidade do

óleo na produção de biodiesel etílico de macaúba via catálise enzimática com lipase de *Aspergillus oryzae* e o levantamento de inventários de ciclo de vida para estudo futuro do seu desempenho ambiental.



Figura 1. Macaúba. Esquerda) Palmeira da macaúba; Direita) Fruto em corte: Mesocarpo (amarelo) e Semente (branco).
Fonte: Adaptado de Queiroz, 2016

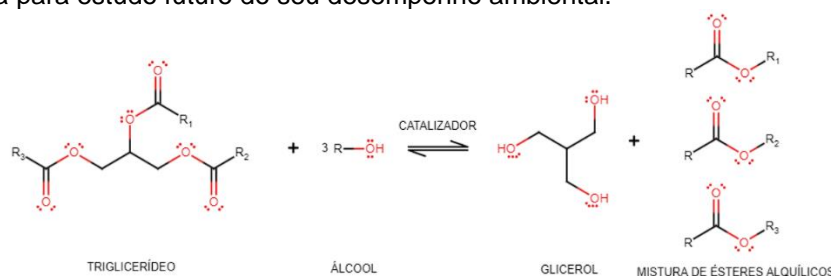


Figura 2. Reação de transesterificação de triglicerídeos (R1, R2 e R3 = cadeia de ácido graxo) com álcool (R = cadeia carbônica do álcool utilizado), formando glicerol e mistura de ésteres alquílicos. Fonte: Machado, 2013.

2. METODOLOGIA

2.1. Produção de biodiesel etílico de óleo de Macaúba via catálise enzimática

Foi usado óleo de polpa de Macaúba cedido gentilmente pela empresa INOCAS (Patos de Minas, MG), enzima Eversa Transform 2.0 (Novozymes Ltda, Bagsvaerd, Dinamarca), etanol (pureza de 99,9 % em massa, Merk, Darmstadt). O óleo foi caracterizado quanto ao teor de acidez (Titulador 808 Titrande, Metrohm, Herisau método Ca 5-40, AOCs, 2017), composição de ácidos graxos por cromatografia gasosa (CG Clarus 600, Perkin Elmer, Waltham, método Ce 1-62, AOCs, 2017), teor de água por equipamento Karl Fisher (701 KF, Mettler Toledo, Columbus, método D-6304, ASTM, 2001), total de triacilgliceróis (TAG) e acilgliceróis parciais (diacilgliceróis, DAG e monoacilgliceróis, MAG) por Cromatografia de Exclusão de Tamanho (HPSEC) em Cromatógrafo Líquido de Alta Eficiência (HPLC LC20AT, Shimadzu, Kyoto, método proposto por Aryee, 2011). A determinação dos teores dos compostos foi realizada utilizando curvas de calibração desenvolvidas utilizando misturas de concentração conhecidas de AG, TAG e acilgliceróis parciais.

O processo de transesterificação foi realizado em batelada, em célula de vidro encamisada acoplado a agitador mecânico (RW 2 Digital, IKA, Delft) e um banho termostático (Marconi, Brasil). Os parâmetros operacionais foram mantidos constantes para os testes e definidos conforme sugestões da empresa Novozymes (2016) e de trabalhos anteriores do grupo de pesquisa (PASSOS et al., 2024): 40°C, razão óleo:etanol 1:4,5 (razão molar), 2,5% de enzima (em massa) e 3,4% de água (em massa). O tempo de reação foi fixado em 30h e a agitação em 900 rpm, também de acordo com estudos anteriores (PASSOS et al., 2024). A adição de água é recomendada pelo fabricante da enzima para garantir boa performance da mesma. A quantidade de etanol adicionada foi controlada para garantir a produção de ésteres etílicos, sem prejudicar a ação da enzima. Com os parâmetros fixos, a composição do biodiesel produzido e a conversão (%) foram avaliados. Foram estudados óleos com 6 níveis de acidez, até 40%, sendo a acidez máxima, aproximadamente, encontrada pela empresa INOCAS, conforme comunicação da mesma. Também foi avaliada mistura de AG (100% de AG), supondo acidez limite para óleo de baixa qualidade. Para obtenção de óleos com diferentes níveis de acidez, o óleo foi inicialmente submetido a processo de desacidificação química utilizando NaOH, segundo metodologia descrita por Rodrigues (2011). Na sequência, a concentração de ácidos no óleo desacidificado foi posteriormente controlada pela adição dos ácidos graxos (AG) livres usando os AG majoritários oléico e palmítico (Sigma-Aldrich, pureza > 90% m/m) do óleo de polpa de macaúba. O estudo da acidez do óleo visa avaliar a possibilidade de usar óleos de diferentes qualidades, reduzindo etapas de pré-tratamento, reduzindo tempo e custo de operação. Após a transesterificação, amostras do meio reacional foram coletadas para quantificação do teor de AG livres, TAG, DAG, MAG, ésteres etílicos e etanol pela técnica HPSEC (HPLC LC20AT, Shimadzu, Kyoto, método de Aryee, 2011). Os teores foram identificados por curvas de calibração, utilizando misturas de concentração conhecidas de AG, TAG, MAG, DAG, ésteres etílicos e etanol. O teor de glicerol foi obtido pela estequiometria (Figura 2) de acordo com a metodologia descrita por Bejarano-Alva et al. (2020). A conversão foi calculada pela Equação 1, onde N_i é o número de mols do acilglicerol i (TAG, DAG ou MAG) no início (i) ou fim (f) do processo. As reações foram realizadas em duplicata e as análises em triplicata.

$$\text{Conversão (\%)} = \left[1 - \frac{(3 \cdot N_{TAG,f} + 2 \cdot N_{DAG,f} + 1 \cdot N_{MAG,f})}{(3 \cdot N_{TAG,i} + 2 \cdot N_{DAG,i} + 1 \cdot N_{MAG,i})} \right] \cdot 100 \quad (1)$$

2.2. Inventários de ciclo de vida na produção do biodiesel etílico de óleo de Macaúba

Após estudo experimental da produção do biodiesel etílico de Macaúba foram construídos inventários de produção, contendo informações dos insumos, serviços utilizados ou produtos e coprodutos produzidos com o produção do biodiesel etílico de macaúba por catálise enzimática. A construção dos inventários, foi feita com base nas orientações das normas ISO 14040:2006 e 14044:2006 (ISO 2006a, 2006b), que define os critérios para aplicação e utilização da ferramenta de Análise do Ciclo de Vida na Indústria. Ou seja, tem como objetivo criar condições para que trabalhos futuros façam o estudo de desempenho ambiental deste produto de acordo com esta

metodologia. Considerou-se, neste trabalho, 1ª e 2ª fase das normas (Definição do Objetivo e Escopo e Análise de Inventário). Os limites (fronteiras) foram definidos para a fase industrial, ou seja, da extração do óleo da polpa de macaúba até a produção do biodiesel etílico. Os dados foram obtidos a partir da harmonização de informações coletadas: i) dos trabalhos sobre produção de óleo e biodiesel de macaúba de Cardoso (2016) e Rodrigues (2021), estudo de Garcia et al. (2014), que avaliou o desempenho ambiental na produção de óleo de girassol, Viana (2008) que avaliou o inventário de ciclo de vida na produção de biodiesel etílico de óleo de girassol, Potrich et al. (2020), que avaliaram o desempenho ambiental na produção de óleo de soja, Lima et al. (2017), que avaliaram a produção de óleo e biodiesel de algodão e Harding et al. (2007) que avaliou inventários para produção de biodiesel por catálise enzimática; ii) dados experimentais obtidos neste trabalho; iii) catálogos de equipamentos e comunicações com empresas de processamento de óleos vegetais.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1. Produção de biodiesel etílico de óleo de polpa de Macaúba com diferentes níveis de acidez

Inicialmente o óleo, com acidez superior a 30%, foi desacidificado. Após o processo foi obtido óleo com teor de 5,6 % de AG e 94,4 % de TAG, não sendo identificados teores significativos de acilgliceróis parciais, MAG e DAG. Após análise do perfil de ácidos graxos do óleo de Macaúba foram identificados os dois principais ácidos graxos majoritários, sendo o ácido oleico e ácido palmítico, nos teores de 57,9% (m/m) e 17,9% do total de ácidos graxos, em acordo com Basso et al. (2014). A proporção desses AGL foi normalizada na razão 3:1, aproximadamente, em ácido oleico : ácido palmítico. Nesta proporção, os AG foram adicionados no óleo de macaúba com 5,6% (m/m) de AG. Após a adição, as seguintes misturas foram obtidas: óleo com 5,6%, 10%, 15%, 20%, 30%, 40% e 100% (m/m) de AG, utilizadas, portanto, para produção de biodiesel etílico.

A Figura 3 mostra o sistema reacional no início e após as 30 horas de processo de transesterificação para 2 condições de acidez (30% e 100% em massa). É possível observar que a coloração da amostra na Figura 3A e 3B está relacionada a presença de tocoferóis no óleo de macaúba, compostos antioxidantes e que conferem cor ao sistema. No caso das amostras da Figura 3C e 3D, não há coloração característica, pois, neste caso, o sistema foi produzido apenas com padrões de ácidos graxos. Após a obtenção dos biodieseis, sua acidez final e conversão estão representados na Tabela 1; para a análise de conversão, foi utilizada a Equação 1. A Figura 4 mostra os cromatogramas das amostras produzidas a partir das diferentes condições de acidez.



(A) (B) (C) (D)

Figura 3. Sistema reacional com 30% de acidez no início (A) e após 30 horas de reação (B); sistema de equilíbrio para a amostra de 100% de acidez no início (C) e após 30 horas de reação (D).

Tabela 1. Teor de Acidez dos biodieseis e suas conversões após reação*

% Acidez Óleo	% Acidez biodiesel	% Conversão
5,6	2,87	97,11
10	3,38	96,68
15	2,17	96,85
20	2,23	96,93
30	4,16	97,52
40	2,63	95,97
100	7,20	93,99

* sem teor significativo de TAG, MAG ou DAG.
(Fonte: Próprio Autor).

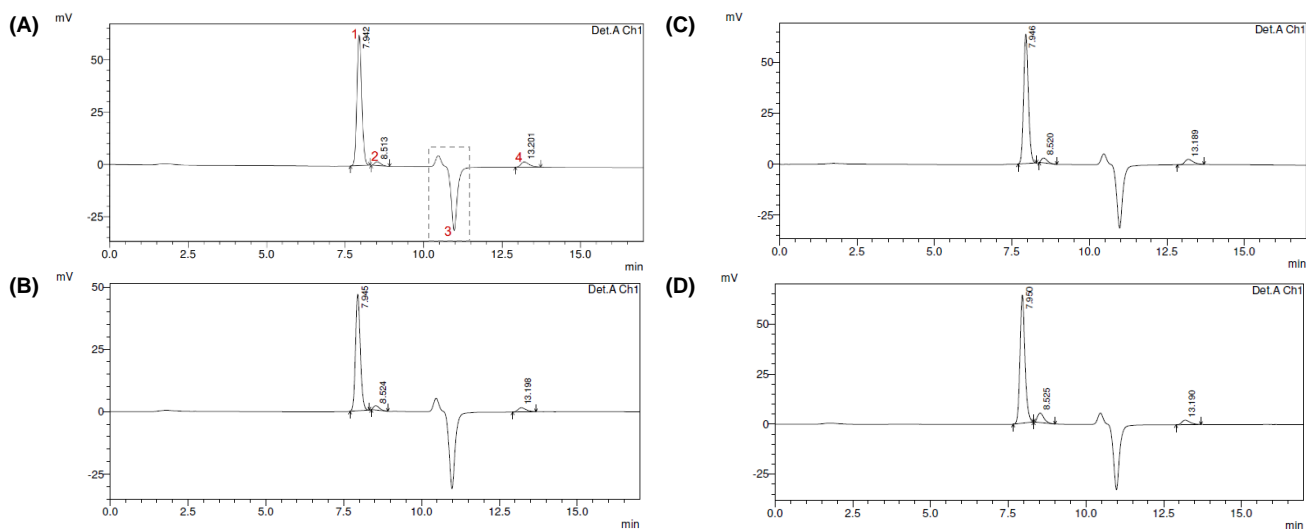


Figura 4. Cromatogramas das amostras com (A) 5,6%, (B) 20%, (C) 30% e (D) 100% de AG. Em (A) estão indicados os picos relacionados ao teor de 1 - ésteres, 2 - AGL, 3 - picos característicos do método, 4 - etanol (Fonte: Próprio Autor).

Em todos os cromatogramas (Figura 4) o primeiro pico (1) indica o teor de ésteres, o segundo (2) os AG livres restantes, o terceiro (destacado) é característico do método (3), e o quarto (4) o etanol residual da amostra. A ausência de teores significativos de acilgliceróis (TAG, MAG e DAG) e a baixa concentração de AG mostram a grande habilidade da enzima na produção de Biodiesel etílico, mesmo com óleos de alta acidez (baixa qualidade). Quanto à conversão, de modo geral, foram obtidos ótimos resultados, tendo todos, com exceção do 100% de acidez, uma conversão maior que 95,0%. Entretanto, mesmo para o Biodiesel produzido apenas com AG livres, a conversão foi significativa, sendo possível purificar o biodiesel com etapa adicional de desacidificação, com uso de resina de troca iônica, por exemplo.

3.2 Inventários da produção de biodiesel etílico de Macaúba por catalise enzimática

Para a elaboração dos inventários para o processo de produção do óleo de macaúba e do biodiesel etílico de macaúba, ou seja, dentro dos limites da fase industrial, visando criar banco de dados para trabalhos posteriores relacionados ao seu desempenho ambiental, é necessária compreensão detalhada do processo, com a quantificação das correntes de entrada e saída. As correntes de massa foram obtidas por balanço de massa, utilizando dados da literatura (mencionados acima) e experimentais deste trabalho. A demanda energética (eletricidade e calor) foi obtida da literatura (LIMA et al., 2017; HARDING et al. 2008), catálogos de equipamentos, e readequada para as vazões deste trabalho. Como o transporte é função da distância (km) e massa (ton) transportada entre os locais de plantio, plantas de extração e biodiesel, o mesmo não foi calculado. O fluxograma de processo foi construído e apresentado na Figura 5. O processo de obtenção do óleo foi realizado via extração por prensagem mecânica (à frio) em equipamento contínuo do tipo rosca-sem-fim (conforme aplicado pela empresa INOCAS). Inicialmente o fruto recebido é despulpado (5% de perda) em despulpadeira mecânica (DP001), sendo separadas a polpa do endocarpo e amêndoa. A polpa é submetida à secagem em mesa secadora (MS001) (rendimento 10%) e na sequência prensado em prensa tipo *expeller* (P001, Rendimento 95%). A amêndoa é um coproduto de valor comercial, rico em óleo vegetal, que pode ser submetido a extração posterior; o endocarpo é uma corrente de biomassa que pode ser usada para queima ou outra finalidade; o farelo é um coproduto que possui teor relevante de proteína e óleo residual, dependendo do rendimento da extração (considerado aqui como) – pode ser comercializado como ração animal ou submetido à tratamentos posteriores de extração protéica ou lipídica. O óleo bruto é filtrado (5% de perda, FI001), para remoção de resíduos sólidos, e submetido à produção de biodiesel. Considerou-se produção em batelada, em reator isotérmico (RE001). O óleo é previamente aquecido à 40°C no próprio reator, sendo esta etapa ocorrendo nas condições experimentais apresentadas. Na sequência a corrente de glicerol e enzima é removida da corrente de biodiesel por centrifugação (C101); o etanol é evaporado em evaporador (EV001) sendo o mesmo reutilizado para produção do biodiesel. O teor de água é corrigido no reator, conforme valor obtido após a evaporação do mesmo. Supondo que o biodiesel removido possui teor de AG livres dentro dos padrões de qualidade da ANP (BRASIL, 2023), não é necessário etapa de purificação adicional. Sobre a corrente de glicerol, o mesmo possui alto valor comercial para uso em outras atividades produtivas, sendo que a remoção da enzima, na sua forma líquida, deve ser removida para utilização.

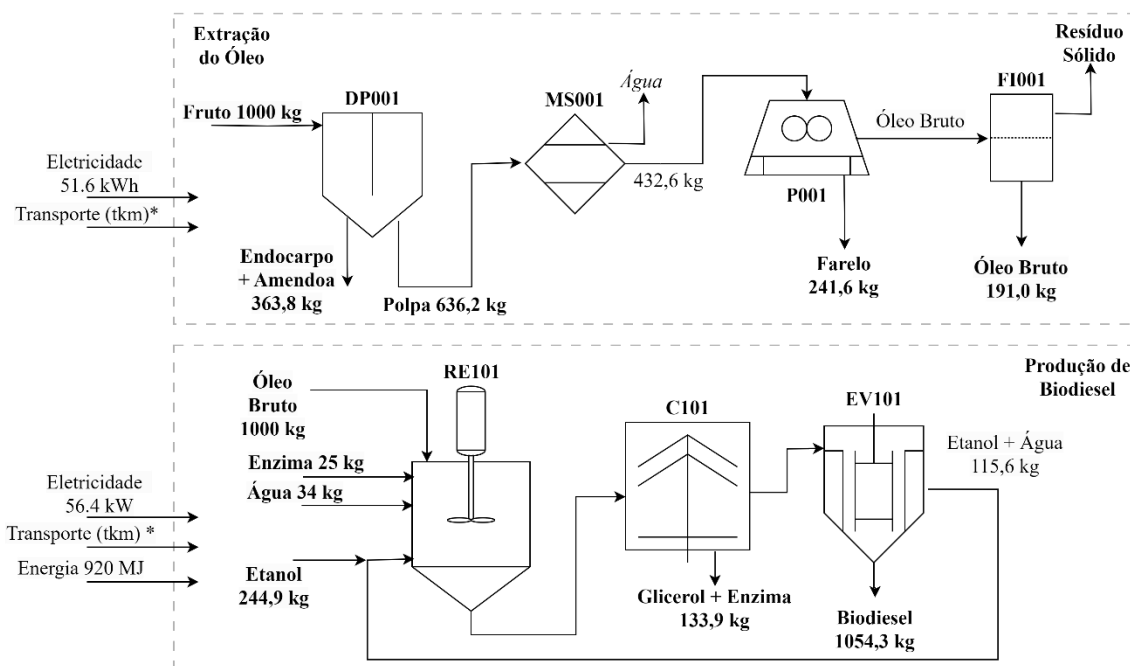


Figura 5. Fluxograma do processo de produção do óleo de macaúba e produção do biodiesel (Fonte: Próprio Autor).

4. CONCLUSÕES

Este trabalho, sobre a produção de biodiesel etílico a partir do óleo de Macaúba de diferentes níveis de qualidade (acidez), utilizando lipase de *Aspergillus oryzae*, demonstra um potencial significativo para a sustentabilidade ambiental e a diversificação das fontes de biocombustíveis no Brasil. Os resultados aqui obtidos indicam que a utilização de catalisadores enzimáticos, especificamente a lipase de *Aspergillus oryzae* (nome comercial Eversa Transform, Novozymes) mostra-se viável, uma vez que foram obtidos ótimos valores de conversão (> 95%) mesmo em altos valores de acidez do óleo, reduzindo possíveis etapas prévias de purificação, necessárias para processos convencionais de produção de biodiesel com catalisadores químicos. A continuidade do estudo, incluindo a análise do ciclo de vida, será crucial para validar a viabilidade econômica e ambiental dessa alternativa energética.

5. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- APROBIO. **Consumo de biodiesel deve crescer 15,5% em 2023**, 2023. Disponível em: <<https://aprobio.com.br/noticia/pconsumo-de-biodiesel-deve-crescer-155-em-2023p>>. Acesso em: 10 mai. 2023.
- ARYEE, A. N. A. et al. Identification and quantitation of reaction intermediates and residuals in lipase-catalyzed transesterified Oils by HPLC. **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 165, n. 1, p. 155–177, 2011.
- AOCS **Official Methods and Recommended Practices of the AOCS**, 7th Ed., AOCS Press: Urbana, Illinois, USA 2017
- ASTM **Annual Book of ASTM Standards**. American Society for Testing and Materials: Conshohocken, USA, 2001
- BASSO, R. C. et al. Liquid–liquid equilibrium of pseudoternary systems containing glycerol+ ethanol+ ethylic biodiesel from crambe oil (*Crambe abyssinica*) at T/K=(298.2, 318.2, 338.2) and thermodynamic modeling. **Fluid Phase Equilibria**, v. 333, p. 55-62, 2012.
- BRASIL. **Renovacalc**. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Brasília, 2023. Disponível em <<https://www.gov.br/anp/pt-br/assuntos/renovabio/renovacalc>> Acesso em 15 Maio 2023
- BRASIL. **Lei nº 13.576, de 26 de dezembro de 2017**, Presidência da República, Secretaria-Geral, Subchefia para Assuntos Jurídicos, Brasília, 2017.
- BRASIL. **Resolução ANP nº 920, de 4 de abril de 2023**. Agência Nacional do Petróleo, Gás Natural e Biocombustíveis, Brasília, 2023
- BEJARANO-ALVA, I. J. et al. High conversion of palm olein to ethyl esters using a strong anion exchange resin: study of the operational parameters. **Journal of the Brazilian Chemical Society**, v. 31, n. 7, p. 1401-1412, 2020.
- CARDOSO, A.N. et al. Inventário do Ciclo de Vida do óleo de Macaúba (*Acrocomia aculeata*). In: **Congresso da Rede Brasileira de Tecnologia de Biodiesel**, 6., 2016, Natal - Rio Grande do Norte. Natal: 2016. p. 1-2.
- COSTA, P.P.K.G. **Catalisadores químicos utilizados na síntese de biodiesel**. Artigos, EMBRAPA, Brasília, 2011.
- FAROBIE, O. et al. Biodiesel production from crude palm oil under different free fatty acid content using Eversa® Transform 2.0 Enzyme. **Int. J. Renew. Energy Res**, v. 11, n. 4, p. 1590-1596, 2021.
- GARCIA, K. R. L. et al. Avaliação do Ciclo de Vida do Óleo de Girassol. **Congresso Brasileiro Sobre Gestão Pelo Ciclo De Vida**, São Bernardo do Campo, Brasil, 2014.
- GOIS AQUINO F. et al. **Distribuição geográfica das espécies Acronomia Aculeata e Caryocar Brasiliense Cambess no bioma cerrado**. Disponível em <www.ppmac.org/sites/default/files/distribuicao_geografica_macauba_pequi_no_cerrado.pdf>. Acesso 30 abr. 2023
- GOLDEMBERG, J. et al. The sustainability of ethanol production from sugarcane. **Energy Policy**, v. 36, n. 6, p. 2086-2097, 2008.
- HARDING, K. G. et al. A life-cycle comparison between inorganic and biological catalysis for the production of biodiesel. **Journal of cleaner production**, v. 16, n. 13, p. 1368-1378, 2008.
- ISO. **Environmental management – life cycle assessment – principles and framework. ISO 14040:2006**. International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland, 2006a.
- ISO. **Environmental management – life cycle assessment – requirements and guidelines. ISO 14044:2006**. International Organization for Standardization. Geneva, Switzerland, 2006b.
- LIMA, A. M. F. et al. Environmental impacts of the biodiesel production chain of cotton seed in Bahia, Brazil. **Clean Technologies and Environmental Policy**, v. 19, p. 1523-1534, 2017.
- LÔBO I. P. et al. Biodiesel: parâmetros de qualidade e métodos analíticos. **Química Nova** v.32, 2009.
- MAXIMO, G. J. et al. **Improving the cold flow behavior of methyl biodiesel by blending it with ethyl esters**. **Fuel**, v. 226, p. 87-92, 2018.
- NOVOZYMES. **Novozymes Eversa® Transform 2.0**. Bagsvaerd, Dinamarca. 2016
- PASSOS R. M. et al. Ethyl biodiesel production from crude soybean oil using Enzymatic degumming-transesterification associated process. **Article Submitted**, 2024.
- POTRICH, E. et al. Replacing hexane by ethanol for soybean oil extraction: Modeling, simulation, and technoeconomic-environmental analysis. **Journal of Cleaner Production**, Amsterdam, v. 244, n. 20, p. 118660, 2020.
- QUEIROZ L.A. **Analysis of post-harvest procedures of macuba fruit (*Acronomia aculeata*) and refining the pulp**. Tese de Doutorado, UFMG, Belo Horizonte, 2016
- RODRIGUES, A.S. **Inventário do ciclo de vida da produção de biodiesel utilizando macaúba como fonte de matéria-prima**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2021
- RODRIGUES, C.E.C. **Utilização de solvente biorenovável nos processos de extração e desacidificação de óleos vegetais**. Tese de Doutorado. Universidade de São Paulo, São Paulo, 2011.
- VIANA, M.M. **Inventário do ciclo de vida do biodiesel etílico do óleo de girassol**. 2008. Tese (Doutorado). Universidade de São Paulo, São Paulo, 2008.